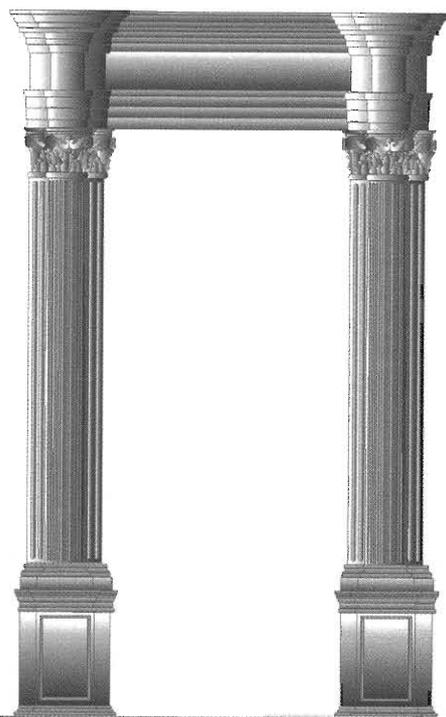


EXCAVACIONES ARQUEOLÓGICAS
EN EL ALBAICÍN (GRANADA). I.
EL CALLEJÓN DEL GALLO



Andrés M. Adroher Auroux y Antonio López Marcos
(Editores Científicos)

6.5. Estudio paleoparasitológico: técnicas ensayadas.

*Rocío Benítez**; *Cristina Dávila**; *Andrés Ma Adroher***, *Esperanza de Santiago**; *F. Javier Adroher**

** Depto. de Parasitología*

Facultad de Farmacia, Univ. de Granada

e-mail: rbenitez@ugr.es

*** Dpto de Prehistoria y Arqueología*

Facultad de Filosofía y Letras, Univ. de Granada

El parasitismo, una asociación biológica heteroespecífica negativa, parece existir desde el origen de la vida en la Tierra.

La Paleoparasitología, ciencia que estudia la evidencia de parásitos y su significado en materiales arqueológicos o paleontológicos, se inició como una simple observación de parásitos en restos antiguos en la primera mitad del siglo pasado.

Hoy día, gracias a esta ciencia, es posible detectar infecciones parasitarias situándolas en el espacio y en el tiempo, y seguir su dispersión a lo largo de las rutas migratorias de los hospedadores. Al contrario de lo que se pensaba, los parásitos dejan fósiles que permiten avalar varios aspectos de la vida de antiguas poblaciones humanas y de otros animales, salvajes y domésticos (Araújo et al. 1998; Bouchet et al. 1998; Araújo et al. 1999; Bouchet et al. 1999; Araújo y Ferreira 2000).

Los materiales sobre los que se realiza el estudio paleoparasitológico son, principalmente, tejidos momificados, huesos y coprolitos.

En el caso de los coprolitos que se encuentran libres en antiguos restos urbanos, el primer problema que se presenta en el estudio es la identificación del origen del material: ¿humano o materia fecal producida por animales domésticos o peridomésticos?

El tamaño, la forma, el color adquirido por el líquido de rehidratación, los restos alimenticios, así como la presencia de determinados parásitos, son parámetros que se utilizan en la identificación de su origen. Algunos autores, como el equipo de Ferreira en Brasil, están preparando un catálogo que sirva de guía para la identificación de coprolitos (Chame et al. 1991; Chame 1992).

El segundo problema que se presenta en el estudio de los coprolitos es el aislamiento de los parásitos en la muestra estudiada y su posterior identificación específica. Características morfológicas y tamaño siguen siendo parámetros clave para la correcta identificación. El coeficiente de regresión lineal entre longitud y anchura de un huevo de helminto es otro dato más en el diagnóstico, útil para diferenciar especies muy parecidas morfológicamente. Los protozoos no son fáciles de poner de manifiesto en restos arqueológicos; algunos quistes se han detectado en coprolitos humanos fechados en el 1800 a.C. y oocistos de *Eimeria* se han encontrado en coprolitos de ciervos (Ferreira et al. 1992).

Hasta mediados del siglo pasado muy pocos huevos y larvas de helmintos habían sido identificados en coprolitos. Esto cambió cuando Callen y Cameron (1960) introdujeron la técnica de rehidratación por fosfato trisódico como paso previo al análisis, y pudieron aplicarse técnicas rutinarias en el análisis clínico a los estudios paleoparasitológicos. Esto trajo como consecuencia un aumento en el número de muestras en las que se identificaban parásitos y, así, la Paleoparasitología comenzó su auge (Aspöck et

al. 1973; Ferreira et al. 1993; Aspöck et al. 1999; Araújo y Ferreira 2000).

6.5.1. Metodología utilizada en el estudio realizado en Granada.

La muestra analizada en Granada ha sido tierra procedente de la excavación que, en función de su origen, se dividió en tres lotes de 1 kg cada uno:

El lote 1 procedía de la UE 3142 (Fase E1a, 675-650 a. C.). El estrato sedimentario tenía un espesor que fluctuaba entre los 5 y 7 cm. y se había formado por la acumulación de ceniza y pequeños carbones resultado de la actividad desarrollada sobre el suelo del primer nivel de ocupación (SL337). La presencia de nudos y cereal observados durante el análisis carpológico nos llevó a considerar la posibilidad de que el ganado fuera encerrado durante la noche intramuros en esta zona próxima a la puerta. De este modo y con el fin de intentar corroborar esta hipótesis se recogió una muestra lo menos contaminada posible junto a la base de la muralla.

El lote 2 se podía equiparar a la anterior. Procede de la UE 3141 (Fase E1a, 675-650 a. C.) y fue recogida directamente en la zona del umbral de la entrada casi al exterior sobre un pseudopavimento de guijarros sobre el que quedaba una espesa capa cenicienta y carbonosa.

El lote 3 completaba el muestreo y se recogió a siete metros al este de la entrada sobre el nivel de suelo próximo a la muralla.

La bibliografía sobre técnicas de obtención de parásitos en muestras de tierra libre procedente de excavaciones arqueológicas es escasa (Bouchet et al. 1996). Por ello, algunas de las técnicas empleadas en nuestro estudio para concentrar los posibles elementos parasitarios que hubiere, son similares a las utilizadas para analizar coprolitos y sedimentos orgánicos por distintos autores (Reinhard et al. 1988; Bouchet et al. 1998; Bouchet et al. 1999; Jouy-Avantin et al. 1999); otras son empleadas habitualmente como técnicas de concentración de elementos parasitarios en heces en el diagnóstico de laboratorio (Golvan y Ambroise-Thomas 1984).

Previamente al estudio paleoparasitológico, para determinar la eficacia de las técnicas, 100 g de tierra de cada lote se contaminaron experimentalmente con huevos de *Toxocara canis* (nematodo) y con ooquistes de *Eimeria* sp. (protozoo). Con todas las técnicas detalladas seguidamente se aislaron ambos parásitos.

Para el estudio del material los lotes 1, 2 y 3 se dividieron independientemente, en fracciones de 100 g. A cada una de ellas se le aplicó la siguiente metodología:

- Dilución con fosfato trisódico al 0,5% durante 3 días, para rehidratar los posibles elementos parasitarios que hubiere en ella.
- Tamizado para eliminar los elementos más groseros de la muestra. Los tamices utilizados, sucesivamente, tenían una luz de malla de 300, 250, 110 y 40 micrómetros.

Como el tamaño de los huevos de helmintos oscila, generalmente, entre 180 y 30 μ m, las muestras obtenidas en la superficie del tamiz de 110 μ m y del de 40 μ m, así como la obtenida tras el paso por este último, se sometieron a diversas técnicas de concentración de elementos parasitarios.

Observación e identificación al microscopio óptico de las muestras tras concentración.

6.5.2. Técnicas de concentración utilizadas.

Al no tener indicios claros de las especies parásitas que podrían estar presentes en las muestras, se han utilizado diferentes técnicas que, en su conjunto, ponen de manifiesto una amplia gama de especies parásitas, tanto helmintos como protozoos.

Flotación

Técnicas basadas en la mayor o menor densidad de los elementos parasitarios respecto de una disolución acuosa de una sal determinada a concentración adecuada, dando lugar a una solución de densidad conocida, en este caso mayor que la de los parásitos, quedando éstos en la superficie de la solución.

Se han utilizado dos técnicas de concentración por flotación:

- a) Flotación espontánea, utilizando como líquido de dilución una solución saturada de cloruro sódico (densidad 1,2). A los 45 minutos se observa el sobrenadante.
- b) Flotación-centrifugación, utilizando como líquido de dilución sulfato de zinc al 33% (densidad 1,18). Se centrifuga a 3000 r.p.m. durante 5 minutos e inmediatamente se observa el sobrenadante.

Con los dos líquidos de dilución empleados en el estudio se aíslan los huevos de los helmintos parásitos más frecuentes del hombre y de otros animales, a excepción de los de los trematodos por ser operculados.

Sedimentación

El fundamento de la técnica es el mismo que el de la flotación pero, en este caso, se utiliza una solución de menor densidad que los parásitos, por lo que éstos se concentran en el sedimento. El líquido de dilución utilizado ha sido una solución de agua glicerinada al 0,5%. La mezcla obtenida (1 ml de muestra y 2 ml de agua glicerinada) se centrifuga a 1500 r.p.m. durante 1 minuto. Se decanta y se repite la operación hasta obtener un sobrenadante limpio. El sedimento obtenido se observa al microscopio óptico.

Método de Telemann modificado

Técnica rápida de realizar y que complementa las anteriores.

A 0,5 ml de muestra se le añade 1 ml de formalina al 10%. Tras agitar, se añade 1,5 ml de éter dietílico. Se agita nuevamente con precaución, destapando de vez en cuando para eliminar los vapores de éter acumulados y se centrifuga a 3000 r.p.m. durante 5 minutos. El sedimento obtenido se observa al microscopio óptico.

6.5.3. Resultados y discusión

En las muestras de nuestro estudio no se han observado elementos parasitarios.

Estos resultados negativos no pueden achacarse a la metodología empleada puesto que en las pruebas control realizadas con la tierra contaminada experimentalmente en nuestro laboratorio, los resultados fueron positivos en el 100% de los ensayos. En todas las muestras obtenidas con ambas técnicas de flotación como en los sedimentos observados tras concentrar las muestras con agua glicerinada o con el método de Telemann modificado, se recogieron huevos de *Toxocara canis* y ooquistes de *Eimeria* sp.

Esto permite afirmar que la metodología empleada por nosotros puede ser aplicada en los estudios paleoparasitológicos de tierras procedentes de excavaciones arqueológicas.

Tras una exhaustiva revisión bibliográfica, no hemos hallado ningún estudio paleoparasitológico en nuestro país, por lo que se puede afirmar que es la primera vez que se realiza en España este tipo de investigación.

Bibliografía.

- ARAÚJO, A. y FERREIRA, L.F. 2000, *Paleoparasitology and the antiquity of human host-parasite relationships*, Mem. Inst. Oswaldo Cruz 95, Suppl. 1, pp. 89-93.
- ARAÚJO, A., FERREIRA, L.F. y REINHARD, K. 1999, Dos caçadores de microbios à paleoparasitologia molecular, *Ciência Hoje* 26, 152, pp. 32-38.
- ARAÚJO, A., REINHARD, K., BASTOS, O.M., COSTA, L.C., PIRMEZ, C., IÑIGUEZ, A., VICENTE, A.C., MOREL, C.M. y FERREIRA, L.F. 1998, Paleoparasitology: Perspectives with new techniques, *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo* 40, 6, pp. 371-376.
- ASPÖCK, H., AUER, H. y PICHER, O. 1999, Parasites and parasitic diseases in prehistoric human populations in Central Europe, *Helminthologia* 36, 3, pp. 139-145.
- ASPÖCK, H., FLAMM, H. y PICHER, O. 1973, Darmparasiten in menschlichen Exkrementen aus prähistorischen Salzbergwerken der Hallstatt-Kultur (800-350 v. Chr.), *Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. A* 223, pp. 549-558.
- BOUCHET, F., BAFFIER, D., GIRARD, M., MOREL, P., PAICHELER, J.C. y DAVID, F. 1996, Paléoparasitologie en contexte pléistocène: premières observations à la Grande Grotte d'Arcy-sur-Cure (Yonne), France, *C. R. Acad. Sci. Paris, Sciences de la vie* 319, pp. 147-151.
- BOUCHET, F., BENTRAD, S. y PAICHELER, J.C. 1998, Enquête épidémiologique sur les helminthiases à la cour de Louis XIV, *M/s* 4, 14, pp. 463-466.
- BOUCHET, F., LEFÈVRE, C., WEST, D. y CORBETT, D. 1999, First paleoparasitological analysis of a Midden in the Aleutian Islands (Alaska): Results and limits, *J. Parasitol.* 85, 2, pp. 369-372.
- CALLEN, E.O. y CAMERON, T.W.M. 1960, A pre-historic diet revealed in coprolites, *New Scientist* 7, pp. 35-40.
- CHAME, M. 1992, Diagnóstico experimental de fezes e coprólitos nao humanos no Parque Nacional Serra da Capivara-Piauí, en A.J. González de Araújo, L.F. Ferreira, *Paleopatología, Paleoepidemiologia. Estudos Multidisciplinares.*, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, pp. 152-211.
- CHAME, M., FERREIRA, L.F., ARAÚJO, A. y CONFALONIERI, U. 1991, Experimental paleoparasitology: an approach to the diagnosis of animal coprolites, *Paleopathol. News* 76, pp. 7-9.
- FERREIRA, L.F., ARAÚJO, A., CONFALONIERI, U., CHAME, M. y RIBEIRO, B. 1992, Eimeria oocysts in deer coprolites dated from 9,000 years BP, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 87, pp. 105-106.
- FERREIRA, L.F., ARAÚJO, A. y DUARTE, A.N. 1993, Nematode larvae in fossilized animal coprolites from Lower and Middle Pleistocene sites, Central Italy, *J. Parasitol.* 79, 3, pp. 440-442.
- GOLVAN, Y.J. y AMBROISE-THOMAS, P. 1984, *Les nouvelles techniques en Parasitologie*, Flammarion Méd.-Sci., París.
- JOUY-AVANTIN, F., COMBES, C., LUMLEY, H., MISKOVSKY, J.C. y MONÉ, H. 1999, Helminth eggs in animal coprolites from a Middle Pleistocene site in Europe, *J. Parasitol.* 85, 2, pp. 376-379.
- REINHARD, K.J., CONFALONIERI, U., HERMANN, B., FERREIRA, L.F. y ARAÚJO, A. 1988, Recovery of parasite remains form coprolites and latrines: Aspects of paleoparasitological technique, *Homo* 37, 4, (1988), pp. 217-239.