



ArcheoSciences
Revue d'archéométrie

30 | 2006
Varia

Paléoparasitologie et immunologie. L'exemple d'*Entamoeba histolytica*

Paleoparasitology and immunology : the case of Entamoeba histolytica

Matthieu Le Bailly et Françoise Bouchet



Éditeur

Presses universitaires de Rennes

Édition électronique

URL : <http://archeosciences.revues.org/281>
DOI : 10.4000/archeosciences.281
ISBN : 978-2-7535-1595-6
ISSN : 2104-3728

Édition imprimée

Date de publication : 31 décembre 2006
Pagination : 129-135
ISBN : 978-2-7535-0456-1
ISSN : 1960-1360

Référence électronique

Matthieu Le Bailly et Françoise Bouchet, « Paléoparasitologie et immunologie. L'exemple d'*Entamoeba histolytica* », *ArcheoSciences* [En ligne], 30 | 2006, document 12, mis en ligne le 31 décembre 2008, consulté le 01 octobre 2016. URL : <http://archeosciences.revues.org/281> ; DOI : 10.4000/archeosciences.281

Ce document est un fac-similé de l'édition imprimée.

Article L.111-1 du Code de la propriété intellectuelle.

Paléoparasitologie et immunologie

L'exemple d'*Entamoeba histolytica*

Matthieu LE BAILLY* et Françoise BOUCHET*

Résumé : Afin de développer l'éventail des parasitoses mises en évidence en contextes archéologiques, et compléter les référentiels paléoparasitologiques, l'immunologie a été employée pour détecter la présence d'antigènes de l'amibe pathogène de l'homme *Entamoeba histolytica*. Provenant de différents sites à travers le monde, quatre-vingt-dix-neuf échantillons ont été testés. Les résultats complètent les connaissances sur la répartition géographique et les migrations des parasites au cours de l'histoire, et ouvrent de nouvelles perspectives à la Paléoparasitologie tant dans la détection des différentes formes parasitaires que dans les possibilités d'exploitation de ce domaine de recherche. Mais les résultats obtenus soulèvent de nombreuses questions concernant le potentiel de détection des outils immunologiques, la conservation des antigènes, ainsi que sur le rôle des processus taphonomiques dans la perte du signal antigénique.

Abstract : To diversify the parasitoses found in archaeological contexts, and to complete the paleoparasitological data, immunology were used to detect antigens of the human pathogenic amoeba *Entamoeba histolytica*. Collected from different worldwide sites, ninety-nine samples were tested. The results complete the knowledge about the geographic distribution and the migration of parasites throughout history, and open new perspectives to the Paleoparasitology concerning the detection of parasitic remains, and the possibilities of research. But these results raise many questions about the detection potential of the immunological techniques, the antigen conservation, and the role of taphonomy in the loss of antigenic signal.

Mots clés : Amibiase, Ancien et Nouveau Monde, *Entamoeba histolytica*, Immunologie, Paléoparasitologie.

Key words : Amoebiasis, Old and New World, *Entamoeba histolytica*, Immunology, Paleoparasitology.

1. INTRODUCTION

Depuis près de dix ans, les travaux réalisés sur les Helminthes parasites intestinaux conservés dans les sites archéologiques ont évolué de manière importante, essentiellement en matière de traitement et d'interprétation des résultats. Mais les études restent incomplètes car une partie non négligeable de la parasitologie, les unicellulaires (Protozoaires et Flagellés), renfermant les éléments les plus pathogènes des maladies parasitaires, était jusqu'ici très peu abordée. En effet, les témoins fossiles des unicellulaires parasites, en contextes archéologiques, sont rarement observés en microscopie optique. Le peu de résultats et de travaux

publiés en est la preuve (Witemberg, 1961 ; Fouant *et al.*, 1982 ; Faulkner *et al.*, 1989 ; Ferreira *et al.*, 1992 ; Allison *et al.*, 1999 ; Hidalgo-Arguello *et al.*, 2003). Mauvaise conservation, difficultés d'observation, mais surtout techniques de recherche inadaptées au matériel fossile, sont la cause de cette déficience.

Afin d'élargir l'éventail des connaissances sur la répartition et l'évolution des protozoonoses à travers le temps et l'espace, une étude exhaustive a été réalisée sur des échantillons archéologiques d'époques et de localisations géographiques différentes. Le matériel d'étude est composé d'échantillons de fèces fossiles (coprolithes), ou de sédiments contenant de la matière fécale conservée. Il était donc logique de tra-

* Université de Reims, UFR de Pharmacie, EA 3798, Laboratoire de Paléoparasitologie, CNRS UMR 5197, 51, rue Cognacq-Jay, 51096 Reims cedex. (matthieu.lebailly@univ-reims.fr)

vailler sur des parasites unicellulaires intestinaux. Parmi les nombreuses protozoonoses pouvant affecter l'homme, c'est l'amibe pathogène *Entamoeba histolytica* qui a été privilégiée pour ce travail. Ce choix s'est imposé de lui-même du fait de l'importance médicale actuelle de ce protozoaire, responsable d'environ un milliard de cas dans le monde et d'un million de décès chaque année. Pour finaliser cette recherche, l'outil immunologique a été choisi. Ces dernières années, des kits ont été mis à disposition, non plus orientés contre les anticorps sérologiques produits par l'hôte contre les pathogènes, mais directement contre les antigènes des parasites, présents à la surface des kystes des unicellulaires. Ces outils permettent par conséquent de mettre en évidence les protozoaires parasites intestinaux humains dans les échantillons de matière fécale et, potentiellement, dans du matériel archéologique.

2. MATÉRIELS

Les tests immunologiques ont été réalisés sur une partie des échantillons de la collection du Laboratoire de Paléoparasitologie de Reims (UMR 5197). Au total, quatre-vingt-dix-neuf échantillons de coprolithes et de sédiments riches en matière organique d'origine fécale ont été étudiés, qui se répartissent de la manière suivante.

2.1. Allemagne

Les échantillons allemands testés proviennent tous de villages lacustres situés sur les rives du lac de Constance (Hornstaad-Hörnle I), ou sur le pourtour du Federsee (Stockwiesen, Torwiesen II, Taschenwiesen et Gründwiesen). Ils sont datés, par dendrochronologie, du Néolithique, entre 3 900 et 2 500 ans avant J.-C. Les échantillons ont été prélevés dans les couches d'habitat des différents sites (Diekmann, 1990; Kolb, 1997; Schlichtherle et Hohl, 2002).

2.2. Suisse

Les échantillons de Suisse proviennent de deux sites très différents. Le premier, Arbon-Bleiche 3, est une ancienne cité lacustre néolithique (environ 3 400 ans avant J.-C.) située sur les bords du lac de Constance (Leuzinger, 2000; Jacomet *et al.*, 2005). Les prélèvements étudiés sont des échantillons de coprolithes et leurs sédiments sous-jacents.

Le second site, Chevenez, est daté des VII^e-IX^e siècles après J.-C. Les cinq échantillons ont été prélevés sur des squelettes, au niveau de la cavité abdominale et du sacrum.

2.3. France

Les prélèvements de Chalain sont des échantillons de coprolithes, associés à leurs sédiments sous-jacents, retrouvés dans la cité lacustre jurassienne (Chalain 3 et Chalain 19). Ils proviennent de couches d'habitat datées entre 3 200 et 3 100 ans avant J.-C. (Pétrequin et Pétrequin, 1988).

Les échantillons du site de Lattes (Hérault) sont issus d'un puits situé dans la cour intérieure d'une grande maison d'époque préromaine (I^{er}-II^e siècle après J.-C.). Les couches échantillonnées contenaient, parmi d'autres artefacts archéologiques, un squelette humain (Piqués et Buxó, 2005).

Le site de Pineuilh est situé près de la commune de Sainte-Foy-la-Grande, en Gironde. Il est daté de la fin du X^e siècle, début du XI^e siècle de notre ère. Neuf échantillons issus des couches sédimentaires du site ont été analysés.

Les échantillons d'Épinal proviennent des fouilles du Palais de Justice de 1999. Le matériel, de nature sédimentaire, a été prélevé dans les couches de comblement de plusieurs latrines datées entre les XIII^e et XVII^e siècles après J.-C.

2.4. Lituanie

Les échantillons de Lituanie sont issus de la découverte des squelettes des Grogards de l'armée napoléonienne, retrouvés à Vilnius. Les échantillons ont été prélevés au niveau des corps. Ils sont datés du XIX^e siècle de notre ère (Signoli *et al.*, 2004).

2.5. Grèce

Les échantillons de Grèce proviennent du site de Kouphovouno, daté entre 5 000 et 2 000 ans avant J.-C. Les prélèvements ont été effectués sur une série de squelettes retrouvés sur le site (Renard, 1997).

2.6. Égypte

Les échantillons du site d'Alexandrie ont été prélevés dans un carottage réalisé dans le port antique. Ils sont datés par radiocarbone entre le III^e et le VII^e siècle après J.-C. (Goiran *et al.*, 2000).

Les deux échantillons de Saqqarah sont des sédiments issus d'une jarre à rejet d'embaumement datée de la XXV^e dynastie (715 à 656 ans avant J.-C.) (Ziegler, 1997).

2.7. Nubie

Les échantillons nubiens ont été prélevés sur des squelettes et des momies naturelles d'une des nécropoles de l'île de Saï. Ils sont datés de la période méroïtique (275 BC à 300 AD) (Geus, 1995).

2.8. Chypre

Le matériel chypriote provient des fouilles de Shillourokambos. Les trois échantillons ont été prélevés en contexte sépulcral. Ils sont datés de la période précéramique, entre 7 500 et 7 000 ans avant J.-C. (Guilaine et Le Brun, 2003).

2.9. Israël

Les deux échantillons israéliens sont issus du site du Qumram, et proviennent de petites fosses reconnues comme étant des latrines (Harter *et al.*, 2004). L'occupation du site est évaluée autour du 1^{er} siècle avant J.-C. (De Vaux, 1961).

2.10. États-Unis

Le matériel américain provient d'un cimetière (Meadowlark cemetery) situé près de la ville de Manhattan, au Kansas (Pye *et al.*, 2004). Les cinq échantillons, datés du XIX^e siècle, ont été prélevés sur des squelettes, au niveau de la cavité abdominale.

Le tableau 1 détaille la liste des échantillons traités, leurs natures et leurs datations.

3. MÉTHODES

Parmi les techniques immunologiques disponibles et applicables à nos échantillons, c'est la technique ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) qui a été retenue pour tester la présence d'unicellulaires parasites dans les échantillons archéologiques. Le kit « *Entamoeba histolytica* II[®] », fabriqué par les laboratoires TechLab[®] aux États-Unis, a été utilisé. Il permet la détection des coproantigènes de l'amibe pathogène grâce à la mise en jeu d'anticorps monoclonaux spécifiques du parasite chez l'homme (Haque *et al.*, 1995; 1998; 2000; Mirelman *et al.*, 1997).

Avant de pouvoir tester les échantillons archéologiques bruts et souvent secs, il a fallu les réhydrater. La technique de réhydratation classique du laboratoire de Reims n'a pas été utilisée. Celle-ci emploie une solution de phosphate trisodique et de glycérol, à laquelle sont ajoutées quelques gouttes de formol qui préviennent le développement de champignons ou de bactéries (Le Bailly *et al.*, 2003). Bien que les concentrations en formol soient faibles, il est toujours contestable d'employer le formaldéhyde dont un des effets est de former des ponts méthylènes ou « ponts formol » entre les protéines (Hould, 1984; Exbrayat, 2000), rendant la fixation des anticorps problématique. De plus, la notice d'utilisation des kits ELISA spécifique de ne pas

Pays	Site	Nature	Datations	Nb d'éch.
Allemagne	Hornstaad	Sédiments	3900 BC	5
	Stockwiesen	Sédiments	2900 BC	9
	Torwiesen II	Sédiments	3200 BC	10
	Taschenwiesen	Sédiments	3900 BC	3
	Grundwiesen	Sédiments	2500 BC	3
Suisse	Arbon-Bleiche III	Sédiments/Coprolithes	3 400 BC	6
	Chevenez	Sédiments/Squelettes	7e-9e AD	5
France	Chalain	Sédiments/Coprolithes	3200-3100 BC	7
	Lattes	Sédiments/Squelettes	1er-2e AD	2
	Pineuilh	Sédiments	10e-11e AD	9
	Épinal	Sédiments	13e-17e AD	5
Lituanie	Vilnius	Sédiments/Squelettes	19e AD	6
Grèce	Kouphovouno	Sédiments/Squelettes	5000-2000 BC	5
Égypte	Alexandrie	Sédiments	3e-7e AD	9
	Saqqarah	Sédiments	715-656 BC	2
Nubie	Sai	Sédiments/Squelettes	275 BC à 350 AD	3
Chypre	Shillourokambos	Sédiments/Squelettes	7500-7000 BC	3
Israël	Qumram	Sédiments	100 BC	2
USA	Meadowlark cemetery	Sédiments/Squelettes	19e AD	5

Tableau 1 : Sites archéologiques provenant de la collection de Reims, étudiés en immunologie.

Table 1: Archaeological sites from the collection of Reims, studied with immunological techniques.

employer d'échantillons formolés depuis plus de 48 heures. Finalement, pour éviter toute modification des réactions de liaison anticorps/antigènes, la réhydratation du matériel archéologique s'est faite uniquement avec de l'eau ultrapure (Millipore®). Les échantillons réhydratés à l'eau ont été conservés dans un réfrigérateur à 4 °C pour éviter la prolifération de microorganismes gênants (algues, micromycètes).

Les échantillons archéologiques ainsi préparés ont été soumis aux tests ELISA. Les protocoles spécifiés dans les kits ont été appliqués sans aucune modification (Le Bailly, 2005). Les tests ELISA se font à l'aide de plaques creusées de 96 puits. Pour chaque test, deux puits ont été utilisés pour les contrôles positif et négatif (témoins), afin de vérifier la bonne réalisation du protocole. Les autres puits ont servi pour les échantillons archéologiques.

4. RÉSULTATS

Parmi les 99 échantillons testés, 17 se sont révélés positifs pour *Entamoeba histolytica*. Les échantillons positifs aux antigènes d'*E. histolytica* ont été testés trois fois avec le même test « Entamoeba histolytica II » de TechLab®, et ont donné les mêmes résultats. Le tableau 2 présente le détail des résultats.

5. DISCUSSION

Les données recueillies lors de ce travail concernent essentiellement l'Europe, et dans une moindre proportion, la Méditerranée orientale et l'Amérique du nord pour la période récente. Elles permettent de compléter les premières données sur la répartition chronogéographique d'*Entamoeba histolytica* (Gonçalves *et al.*, 2004).

Sur les quatre-vingt-dix-neuf testés au total, dix-sept échantillons se sont révélés positifs. Le détail apparaît dans le tableau 2. La proportion moyennement importante d'échantillons positifs semble témoigner d'une bonne conservation du signal antigénique recherché qui, dans le cas d'*E. histolytica*, est une adhésine membranaire présente à la surface des kystes du *Protozoa*. Des échantillons se sont révélés positifs sur le site grec de Kouphovouno, daté de la période de transition entre le Néolithique et l'Âge du bronze (5000-2000 BC). La présence du signal, depuis au moins 2000 ans av. J.-C., semble indiquer que celui-ci ne s'est pas modifié au cours du temps, ou que ces modifications, souvent d'ordre génétique, n'ont pas été suffisantes pour en changer la nature ou la configuration.

Site	Datations	Ech. testés	Ech. positifs
Hornstaad	3900 BC	5	0
Stockwiesen	2900 BC	9	0
Torwiesen II	3200 BC	10	0
Taschenwiesen	3900 BC	3	0
Grundwiesen	2500 BC	3	0
Arbon-Bleiche III	3400 BC	6	0
Chevenez	7e-9e AD	5	5
Chalain	3000-2500 BC	7	0
Lattes	1er-2e AD	2	2
Pineuilh	11e-13e AD	9	2
Épinal	17e-18e AD	5	0
Vilnius	19e AD	6	0
Alexandrie	3e-7e AD	9	0
Kouphovouno	5000-2000 BC	5	5
Saqqarah	700-300 BC	2	0
Sai	2700 BC à 1500 AD	3	0
Shillourokambos	7500-7000 BC	3	0
Qumram	100 BC	2	0
Meadowlark cemetery	19e AD	5	3

Tableau 2 : Liste des échantillons étudiés à Reims par la technique ELISA pour la détection d'*Entamoeba histolytica*.

Table 2: List of the samples studied in Reims with ELISA method for the detection of *Entamoeba histolytica*.

La compilation de ces informations donne un premier aperçu de l'évolution de l'amibiase au cours du temps. Ainsi la présence de cette parasitose sur le pourtour méditerranéen au Néolithique/Protohistoire contraste avec l'absence de celle-ci en Europe de l'ouest pour des périodes proches (Néolithique moyen et final), et pourrait être la conséquence d'un transport d'origine migratoire. De telles constatations ont déjà été faites pour d'autres parasitoses comme l'ascarirose (Loreille et Bouchet, 2003; Harter, 2003) ou les schistosomiasis (Bouchet et Paicheler, 1995; Bouchet *et al.*, 2002; Harter, 2003).

5.1. Positivité des échantillons

Le kit « Entamoeba histolytica II » commercialisé par TechLab® est le seul kit immunologique reconnu pour la détection spécifique *in vitro* de l'amibe pathogène *E. histolytica* (Haque *et al.*, 1998; Roy *et al.* 2005). L'antigène recherché est spécifique d'*E. histolytica*. Il s'agit de l'adhésine membranaire Gal/Gal NAc lectine. Contrairement à d'autres kits immunologiques commerciaux, le kit de TechLab® est le seul à permettre la distinction entre l'amibe pathogène *E. histolytica*, et les espèces non pathogènes comme *E. dispar* ou

E. moshkovskii (Mirelman *et al.*, 1997; Roy *et al.*, 2005). Les possibles réactions croisées avec d'autres organismes pathogènes, comme *Giardia lamblia* ou *Entamoeba coli*, ont été écartées par le fabricant (Furrows *et al.*, 2004). Cependant, il n'existe aucune donnée bibliographique concernant d'éventuelles réactions croisées avec les antigènes d'amibes libres de l'environnement telles *Naegleria sp.*, *Acanthamoeba sp.*...

Enfin, il est intéressant de mettre les résultats positifs en rapport avec la nature des échantillons. En effet, si au début des tests, aucune sélection d'échantillons n'a été réalisée, celle-ci s'est faite automatiquement, grâce à la spécificité importante du test employé envers un parasite humain. Les échantillons positifs sont dans 88 % des cas, des matériels prélevés directement sur des squelettes (Chevenez, Kouphovouno et Meadowlark cemetery), ou dans des couches associées à des restes humains (Lattes) (Tableau 1). La probabilité d'être en présence de faux-positifs dans les résultats des tests immunologiques est donc encore diminuée.

5.2. Négativité des échantillons

La négativité des échantillons soulève également de nombreuses questions :

- La première concernant la sensibilité des outils employés face à ce matériel particulier. D'infimes concentrations en antigènes peuvent être détectées par le kit E. histolytica II. En revanche, la présence d'une trop grande quantité d'inhibiteurs dans les échantillons peut limiter la formation des complexes anticorps/antigènes.

- De même, les traitements funéraires appliqués aux cadavres ou aux sépultures pourront être la cause de l'absence ou la perte d'un signal.

- Les conditions paléoenvironnementales de chaque site étudié doivent être prises en compte afin de vérifier la compatibilité des résultats épidémiologiques et des contraintes climatiques et écologiques nécessaires à la dissémination du parasite.

- Enfin, l'émission des kystes d'amibe étant irrégulière, l'absence d'antigène pourrait être simplement le reflet d'une période de non dissémination.

De telles interrogations trouveront peut-être des éléments de réponse au fur et à mesure des recherches et des collaborations interdisciplinaires.

6. CONCLUSIONS

La Paléoparasitologie débute les travaux en immunologie. Les résultats de cette étude, s'ajoutent à ceux de travaux antérieurs réalisés pour détecter des unicellulaires sanguins,

Plasmodium falciparum (Miller *et al.*, 1994; Cerruti *et al.*, 1999), *Trypanosoma cruzi* (Fornaciari *et al.*, 1992) et des helminthes, *Schistosoma sp.* (Deelder *et al.*, 1990; Miller *et al.*, 1992). Ils prouvent la possibilité d'utiliser l'outil immunologique sur le matériel archéologique, et mettent en exergue le caractère incontournable de ces techniques de pointe.

La mise en jeu dans les kits immunologiques d'anticorps monoclonaux spécifiques, pour la détection des antigènes de parasites humains, permet une identification plus précise des pathogènes mis en évidence. Ainsi il devient possible de caractériser les parasites au niveau spécifique, détermination rarement possible avec la seule observation microscopique des œufs d'helminthes (Bouchet *et al.*, 1989; Le Bailly *et al.*, 2003). Cette limite de la Paléoparasitologie n'est donc pas insurmontable.

Dans le futur, l'immunologie, mais aussi la biologie moléculaire, tiendront une place de plus en plus importante dans les études paléopathologiques, à la fois pour diversifier les parasitoses recherchées en contexte archéologique, mais également pour affiner le diagnostic paléoparasitologique. Les résultats de cette étude doivent ouvrir la porte à d'autres analyses, mais aussi d'autres méthodes de détection des unicellulaires, telles la PCR multiple en temps réel (Blessmann *et al.*, 2002; Verweij *et al.*, 2004), ou la PCR SHELTA, qui combine la technique PCR à l'immunodétection (Britten *et al.*, 1997; Furrows *et al.*, 2004).

L'étude réalisée à Reims est la première de cette envergure en Europe. Elle s'ajoute au travail initié lors d'une collaboration franco-brésilienne (programme COFECUB) (Gonçalves *et al.*, 2002; 2004), et complète en partie les données sur la répartition des protozoaires dans le monde. Si quelques hypothèses semblent germer concernant l'importance des migrations humaines dans le transport des parasitoses, les résultats restent pour le moment trop peu nombreux et doivent se multiplier pour être approfondis.

Remerciements

Ce travail a reçu le soutien du CNRS, de la société Millipore®, et des laboratoires Techlab® et Fumouze. Les auteurs tiennent à remercier leurs collègues de l'Institut Oswaldo Cruz de Rio de Janeiro au Brésil, le *Pr. Adauto Araujo* et le *Dr. Marcello LC Gonçalves*, ainsi que les responsables de fouilles qui nous ont confié leurs échantillons.

BIBLIOGRAPHIE

- ALLISON, M. J., BERGMAN, T. et GERSZTEN, E., 1999. Further Studies on Parasites in Antiquity, *American Journal of Clinical Pathology*, 112 (5), p. 605-609.
- BLESSMANN, J., BUSS, H., TON NU, P. A., DINH, B. T., VIET NGO, Q. T., LE VAN, A., ABD ALLA, M. D., JACKSON, T. F. H. G., RAVDIN, J. I. et TANNICH E., 2002. Real-Time PCR for Detection and Differentiation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* in Fecal Samples, *Journal of Clinical Microbiology*, 40 (12), p. 4413-4417.
- BOUCHET, F., AUDOIN, F., LEGER, N., MARCHAIS, R., BAUCHERON, F. et MUNOZ LA CASTA, J., 1989. Étude parasitologique des coprolithes et des sédiments de trois ensembles clos médiévaux de la rue de Lutèce (Île de la Cité) à Paris, *Revue d'Archéométrie*, 13, p. 13-21.
- BOUCHET, F., HARTER, S., PAICHELER, J. C., ARAUJO, A. et FERREIRA, L. F., 2002. First recovery of *Schistosoma mansoni* eggs from a latrine in Europe (15-16th centuries), *Journal of Parasitology*, 88 (2), p. 404-405.
- BOUCHET, F. et PAICHELER, J.-C., 1995. Paléoparasitologie : présumption d'un cas de bilharziose au xv^e siècle à Montbéliard (Doubs, France), *Compte-Rendu de l'Académie des Sciences de Paris (série III)*, 318, p. 811-814.
- BRITTEN, D., WILSON, S. M., MCNERNEY, R., MOODY, A. H., CHIODINI, P. L. et ACKERS, J. P., 1997. An Improved Colorimetric PCR-Based Method for Detection and Differentiation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* in Feces, *Journal of Clinical Microbiology*, 35 (5), p. 1108-1111.
- CERUTTI, N., MARIN, A., MASSA, E. R. et SAVOIA, D., 1999. Immunological investigation of malaria and new perspectives in paleopathological studies, *Bollettino Della Società Italiana Di Biologia Sperimentale*, 75 (3-4), p. 17-20.
- DEELDER, A. M., MILLER, R. L., DE JONGE, N. et KRIJGER, F. W., 1990. Detection of schistosome antigen in mummies, *Lancet*, 335 (8691), p. 724-725.
- DE VAUX, R., 1961. *L'archéologie et les manuscrits de la Mer Morte*, Londres, The Schewelch Lectures of the British Academy, Oxford University Press.
- DIECKMANN, B., 1990. *Zum Strand der archäologischen Untersuchungen in Hornstaad*, Ber Rom German Kommiss, 70, p. 84-109.
- EXBRAYAT, J.-M., 2000. *Méthodes classiques de visualisation du génome en microscopie photonique*, Tec et Doc, Paris.
- FAULKNER, C. T., PATTON, S. et JOHNSON, S. S., 1989. Prehistoric parasitism in Tennessee : Evidence from the Analysis of Desiccated Fecal Material Collected from Big Bone Cave, Van Buren County, Tennessee, *Journal of Parasitology*, 75 (3), p. 461-463.
- FERREIRA, L. F., ARAUJO, A., CONFALONIERI, U. E. C., CHAME, M. et RIBEIRO, B., 1992. *Eimeria* oocysts in deer coprolites dated from 9,000 years BP, *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 87 Suppl. I, p. 105-106.
- FORNACIARI, G., CASTAGNA, M., VIACAVA, P., TOGNETTI, A., BEVILACQUA, G. et SEGURA, E. L., 1992. Chaga's disease in a Peruvian Inca mummy, *Lancet*, 339 (8785), p. 128-129.
- FOUANT, M. M., ALLISON, M., GERSZTEN, E. et FOCACCI, G., 1982. Parasitos intestinales entre los indigenas precolombinos. *Revista Chungara*, 9, p. 285-299.
- FURROWS, S. J., MOODY, A. H. et CHIODINI, P. L., 2004. Comparison of PCR and antigen detection methods for diagnosis of *Entamoeba histolytica* infection, *Journal of Clinical Pathology*, 57, p. 1264-1266.
- GEUS, F., 1995. Archaeology and History of Saï Island, *The Sudan Archaeological Research Society*, 7, p. 79-98.
- GOIRAN, J.-P., MORHANGE, C., BOURCIER, M., CARBONEL, P. et MORIGI, C., 2000. Évolution des rivages d'Alexandrie à l'Holocène récent, marge occidentale du delta du Nil, Égypte, *Méditerranée*, 1-2, p. 83-90.
- GONCALVES, M. L. C., ARAUJO, A., DUARTE, R., PEREIRA DA SILVA, J., REINHARD, K., BOUCHET, F. et FERREIRA, L. F., 2002. Detection of *Giardia duodenalis* antigen in coprolites using a commercially available enzyme-linked immunosorbent assay, *Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 96 (6) p. 640-643.
- GONCALVES, M. L. C., SILVA, V., ANDRADE, C., ROCHA, G., LE BAILLY, M., BOUCHET, F., FERREIRA, L. F. et ARAUJO, A., 2004. Amoebiasis distribution in the past : first steps in using an immunoassay technique, *Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 98 (2) p. 88-91.
- GUILAINE, J. et LE BRUN, A., 2003. Le Néolithique de Chypre. Actes du Colloque International organisé par le Département des Antiquités de Chypre et l'École Française d'Athènes, Nicosie, 17-19 mai 2001, *Bulletin de Correspondance Hellénique*, supplément 43.
- HAQUE, R., ALI, K. M., AKTHER, S. et PETRI, W. A., 1998. Comparison of PCR, Isoenzyme Analysis, and Antigen Detection for Diagnosis of *Entamoeba histolytica* Infection, *Journal of Clinical Microbiology*, 36 (2) p. 449-452.
- HAQUE, R., MOLLAH, N. U., ALI, K. M., ALAM, K., EUBANKS, A., LYERLY, D. et PETRI, W. A., 2000. Diagnosis of Amebic Liver Abscess and Intestinal Infection with the TechLab *Entamoeba histolytica* II Antigen Detection and Antibody Tests, *Journal of Clinical Microbiology*, 38 (9) p. 3235-3239.
- HAQUE, R., NEVILLE, L. M., HAHN, P. et PETRI, W. A., 1995. Rapid Diagnosis of *Entamoeba* Infection by Using *Entamoeba* and *Entamoeba histolytica* Stool Antigen Detection Kits, *Journal of Clinical Microbiology*, 33 (10) p. 2558-2561.

- HARTER, S., 2003.** *Implication de la Paléoparasitologie dans l'étude des populations anciennes de la vallée du Nil et du Proche-Orient : études de cas*, Thèse de Doctorat, Université de Reims, France.
- HARTER, S., BOUCHET, F., MUMCUOGLU, K. Y. et ZIAS, J. E., 2004.** Toilet Practices Among Members of the Dead Sea Scrolls Sect at Qumran (100 BCE-68 CE), *Revue de Qumran*, 21 p. 579-585.
- HIDALGO-ARGUELLO, M. R., BANOS, N. D., GRANDES, J. F. et MARCOS, E. P., 2003.** Parasitological Analysis of Leonese Royalty from Collegiate-Basilica of St. Isidoro, Leon (Spain) : Helminths, Protozoa, and Mites, *Journal of Parasitology*, 89 (4), p. 738-743.
- HOULD, R., 1984.** *Techniques d'histopathologie et de cytopathologie*. Maloine, Paris.
- JACOMET, S., LEUZINGER, U. et SCHIBLER, J., 2005.** *Die Jungsteinzeitliche Seeufersiedlung Arbon-Bleiche 3 : Umwelt und Wirtschaft*, Frauenfeld, Amt für Archäologie (Archäologie im Thurgau ; 12).
- KOLB, M., 1997.** Die Seeufersiedlung Sipplingen und die Entwicklung der Horgener Kultur am Bodensee, in H. Schlichtherle (dir.), *Pfahlbauten rund um die Alpen*, Stuttgart, Theiss, p. 22-25.
- LE BAILLY, M., 2005.** *Évolution de la relation hôte/parasite dans les systèmes lacustres nord alpins au Néolithique (3900-2900 BC), et nouvelles données dans la détection des paléoantigènes de Protozoa*, Thèse de Doctorat, Université de Reims.
- LE BAILLY, M., HARTER, S. et BOUCHET, F., 2003.** À l'interface de la biologie et de l'archéologie : la Paléoparasitologie, *Archéopages*, 11, p. 12-17.
- LEUZINGER, U., 2000.** *Die Jungsteinzeitliche Seeufersiedlung Arbon-Bleiche 3*, Befunde, Frauenfeld, Amt für Archäologie (Archäologie im Thurgau 9).
- LOREILLE, O. et BOUCHET, F., 2003.** Ascariasis in Human and Pigs. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 98 Suppl. I, p. 39-46.
- MILLER, R. L., ARMELAGOS, G. J., IKRAM, S., DE JONGE, N., KRIJGER, F. W. et DEELDER, A. M., 1992.** Palaeoepidemiology of schistosoma infection in mummies, *British Medical Journal*, 304 (6826), p. 555-556.
- MILLER, R. L., IKRAM, S., ARMELAGOS, G. J., WALKER, R., HARER, W. B., SHIFF, C. J., BAGGETT, D., CARRIGAN, M. et MARET, S. M., 1994.** Diagnosis of *Plasmodium falciparum* infections in mummies using the rapid manual ParaSight™-F test, *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 88 (1), p. 31-32.
- MIRELMAN, D., NUHAMOWITZ, Y. et STOBLARSKY, T., 1997.** Comparison of Use of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay-Based Kits and PCR Amplification of rRNA Genes for Simultaneous Detection of *Entamoeba histolytica* and *E. dispar*, *Journal of Clinical Microbiology*, 35 (9), p. 2405-2407.
- PÉTREQUIN, A.-M. et PÉTREQUIN, P., 1988.** *Le Néolithique des lacs : préhistoire des lacs de Chalain et Clairvaux (4000-2000 avant J.-C.)*, Paris, Errance.
- PIQUÉS, G. et BUXÓ, R., 2005.** *Onze puits gallo-romains de Lattara (I^{er} s. av. n. è.-I^{er} s. de n. è.)*, Fouilles programmées 1986-2000. Collection Lattara 18, Lattes, ADALRL.
- PYE, J. W., SMITH, H. H. C. et ROPER, D. C., 2004.** Excavations at the Meadowlark cemetery, Manhattan, *Current Archaeology in Kansas*, 5, p. 77-92.
- RENARD, J., 1997.** Recherches en Laconie. Kouphovouno : hier, aujourd'hui, demain, *Dossiers d'archéologie*, 222, p. 14-15.
- ROY, S., KABIR, M., MONDAL, D., ALI, I. K. M., PETRI, W. A. et HAQUE, R., 2005.** Real-Time PCR Assay for Diagnosis of *Entamoeba histolytica* Infection, *Journal of Clinical Microbiology*, 43 (5), p. 2168-2172.
- SCHLICHTERLE, H. et HOHL, W., 2002.** Fortschritte der Ausgrabung in der endneolithischen Moorsiedlung Torwiesen II in Bad Buchau am Federsee, Kreis Biberach, Baden-Württemberg, *NAU*, 9, p. 61-65.
- SIGNOLI, M., ARDAGNA, Y., ADALIAN, P., DEVRIENDT, W., LALYS, L., RIGEADE, C., VETTE, T., KUNCEVICIUS, A., POSKIENE, J., BARKUS, A., PALUBECKAITE, Z., GARMUS, A., PUGACIAUSKAS, V., JANKAUSKAS, R. et DUTOUR, O., 2004.** Discovery of a mass grave of Napoleonic period in Lithuania (1812, Vilnius), *Compte Rendu Palévol*, 3, p. 219-227.
- VERWEIJ, J. J., BLANGE, R. A., TEMPLETON, K., SCHINKEL, J., BRIENEN, E. A. T., VAN ROOYEN, M. A. A., VAN LIESHOUT, L. et POLDERMAN, A. M., 2004.** Simultaneous Detection of *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, and *Cryptosporidium parvum* in Fecal Samples by Using Multiplex Rea-Time PCR, *Journal of Clinical Microbiology*, 42 (3), p. 1220-1223.
- WITENBERG, G., 1961.** Human parasites in archaeological findings, *Bulletin of Israel Exploration Society*, 25 (1-2), p. 86.
- ZIEGLER, C., 1997.** La mission archéologique du Louvre à Saqqarah : dernières découvertes. *CRAIBL*, Janvier-Mars, p. 169-177.