

Hantavirose: uma zoonose emergente e a necessidade de um diagnóstico rápido por RT-PCR

Hantavirose: an emerging zoonosis and the need for rapid diagnosis by RT-PCR

Werner Bessa Vieira¹

¹ Mestre - (Professor). Centro Universitário Uniprojeção, Brasília, DF, Brasil.

Resumo

A pecuária e a urbanização descontrolada fazem emergir várias zoonoses, entre elas a hantavirose. O hantavírus pertence à família *Bunyaviridae* e sua transmissão ocorre pelo contato direto com roedores, portadores naturais dos vírus, ou com aerossóis de suas excretas. Esse mecanismo de infecção sugere que pessoas que vivem, trabalham ou praticam alguma outra atividade, esportiva ou recreativa, em locais que são habitat desses roedores têm maiores riscos de serem infectadas. Métodos sorológicos são comumente utilizados para o diagnóstico laboratorial dos mais variados tipos de hantavírus. No entanto, técnicas moleculares como RT-PCR podem identificar o RNA viral em pessoas contaminadas, mesmo antes de aparecerem os sintomas. Técnicas moleculares podem ser mais rápidas e sensíveis, podendo ainda quantificar material genético do vírus em diferentes tipos de amostras. Não existe tratamento específico para a hantavirose, mas um suporte terapêutico adequado pode reduzir a taxa de letalidade. Porém, um bom suporte terapêutico depende da rapidez do diagnóstico. O uso de RT-PCR ou RT-qPCR é alternativa para o diagnóstico sorológico por ELISA, uma vez que são testes mais rápidos, têm alta especificidade e sensibilidade e alto valor preditivo positivo e negativo.

Palavras-chave: Ensaio de Imunoabsorção Enzimática; Técnicas de Diagnóstico Molecular; Síndrome Pulmonar por Hantavirus

Abstract

The livestock and uncontrolled urbanization cause several zoonoses to emerge, including hantavirus. Hantavirus belongs to the *Bunyaviridae* family and its transmission occurs through direct contact with rodents, natural carriers of viruses or with aerosols of their excreta. This mechanism of infection suggests that people who live, work or practice some other activity, sports or recreational, in places with these rodents, are more likely to be infected. Serological methods are commonly used for laboratory diagnosis of the most varied types of hantavirus. However, molecular techniques, such as RT-PCR, can identify viral RNA in infected people, even before symptoms appear. Molecular techniques can be faster and more sensitive, and can also quantify genetic material of the virus in different types of samples. There is no specific treatment for hantavirus pulmonary syndrome, but adequate therapeutic support may reduce the lethality rate. However, good therapeutic support depends on the speed of diagnosis. The use of RT-PCR or RT-qPCR is alternative for serological diagnosis by ELISA, since they are faster, have high specificity and sensitivity and high positive and negative predictive value.

Keywords: Hantavirus Pulmonary Syndrome; Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; Molecular Diagnostic Techniques

Correspondência

Werner Bessa Vieira

E-mail: wernerbessavieira@gmail.com

Recebido em 09/06/2021 | Aprovado em 04/03/2022 | DOI: 10.21877/2448-3877.202202153

INTRODUÇÃO

A hantavírose é uma zoonose viral aguda emergente, causada por vírus da família *Bunyaviridae*.⁽¹⁾ O primeiro caso da doença foi descrito na Coreia em 1950, ocasião na qual recebeu o nome de febre hemorrágica coreana.⁽²⁾ Seu agente etiológico foi isolado em 1977.

O vírus está presente em vários continentes, representando grande impacto para a saúde, com predominância da febre hemorrágica com síndrome renal (FHSR) na Eurásia e síndrome cardiopulmonar pelo hantavírus (SCPH) nas Américas.⁽³⁾

No Brasil, o primeiro caso de hantavírus foi descrito em 1993 no estado de São Paulo. Desde então, foram confirmados mais de 1.906 casos de SCPH até o ano de 2014, com predominância de casos na Região Sudeste, Sul e Centro-Oeste do país, sendo 40% deles envolvendo letalidade.^(1,4)

No Distrito Federal, a doença apareceu como um surto em 2004, e desde então vários casos fatais foram registrados.⁽⁵⁾

Esses microrganismos pertencem a um grande grupo de vírus com genoma de RNA negativo fita simples e têm roedores como reservatório natural assintomático.⁽⁶⁾

O genoma de RNA do hantavírus é composto por três segmentos de diferentes tamanhos: S (do inglês *small*: pequeno), codifica a proteína N e nucleoproteínas; M (*medium*: médio), codifica as proteínas G1 e G2 envolvidas no reconhecimento da célula hospedeira e invasão celular; e o segmento L (*large*: grande), que codifica a RNA polimerase.^(7,8)

A forma de transmissão da hantavírose ocorre pelo contato direto com roedores portadores naturais dos vírus ou com aerossóis de suas excretas.⁽⁶⁾ Esse mecanismo de infecção sugere que pessoas que vivem, trabalham ou praticam alguma outra atividade, seja esportiva ou recreativa, em locais que são habitat destes roedores, têm maiores riscos de serem infectadas.⁽⁹⁾

Segundo o Ministério da Saúde,⁽¹⁰⁾ os sintomas dessa doença percorrem quatro estágios.

O estágio prodromico, que dura de 2 a 8 dias, é caracterizado pela presença de sintomas inespecíficos como febre, mialgia, dores de estômago e sintomas gastrointestinais. Nesse estágio, o paciente busca atenção médica, mas raramente é feito um teste sorológico, e quando tal teste é realizado, o resultado geralmente é negativo.⁽⁹⁾

O estágio cardiopulmonar caracteriza-se pela presença de tosse seca que pode rapidamente evoluir para um quadro severo de falência respiratória, causando a morte. Os pacientes que sobrevivem ao estágio cardiopulmonar apresentam diminuição da capacidade respiratória e cardíaca, em um

estágio chamado de diurético. Por fim, o estágio de convalescença caracteriza-se por mal-estar e fadiga, podendo durar semanas ou meses.

O diagnóstico da hantavírose tem sido feito comumente por prova sorológica ELISA para identificação de IgM e IgG, imunofluorescência indireta, hemaglutinação passiva e *western blot*.⁽¹¹⁾

A transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) também tem sido usada para identificação do genótipo viral, mas ainda é pouco utilizada no diagnóstico da hantavírose.^(2,9,12-15)

A expansão agrícola no Brasil em direção ao Centro-Oeste e ao Norte, além do aumento do turismo rural, aproximou o homem de animais silvestres portadores naturais de zoonoses e vetores de muitas doenças. Pode-se tomar como exemplo a expansão da cultura da soja no norte do Mato Grosso, o que resultou na migração de uma grande quantidade de trabalhadores rurais de outros estados do Brasil para essa região.⁽¹⁶⁾ Foi após essa expansão que doenças como febre amarela, malária, leishmaniose, consideradas endêmicas, passaram a ter maior número de casos diagnosticados.⁽¹⁷⁾

Além da expansão agrícola, outro setor importante que possui papel no aparecimento de zoonoses é o turismo. Esse setor é campeão em crescimento na economia global, uma vez que um em cada quatro cidadãos de um país desenvolvido visita outro país. Dentro desse mercado, o segmento que mais tem crescido com uma média de 10% ao ano é o ecoturismo. Com relação às zoonoses associadas a essas práticas, são elas a brucelose, hepatite E, leptospirose, encefalite transmitida por carrapatos e a hantavírose.^(2,17)

Desse modo, considerando a expansão agrícola e o turismo rural, o artigo tem por objetivo reforçar, por meio de revisões da literatura, a possível relação entre as atividades desenvolvidas em ambiente natural ou rural com a emergência da hantavírose, bem como explicitar as características da doença especialmente no que concerne à busca de um diagnóstico rápido por RT-PCR como alternativa ao diagnóstico sorológico a fim de que sejam reduzidos drasticamente os óbitos causados por infecções por hantavírus.

METODOLOGIA

Para a elaboração desta revisão bibliográfica foi realizada uma busca por artigos em três bases de dados bibliográficos — PubMed, SciELO e LILACS. Foram selecionados artigos publicados entre 2013 e 2020, em linha portuguesa, inglesa e espanhola.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Epidemiologia do hantavírus no Brasil

As atividades humanas influenciadas pelas pressões socioeconômicas, como a agricultura, a pecuária, a habitação, a mineração, a construção de hidroelétricas, entre outras, provocam alterações da diversidade de plantas, animais e microrganismos. Como consequência, há a redução da biodiversidade, a introdução de espécies exóticas, a poluição e o aumento de vetores e reservatórios que promovem a transmissão de algumas doenças infecciosas.⁽¹⁸⁾

Acredita-se que a superfície da Terra foi alterada em mais de 75% e essas alterações estariam ligadas ao surgimento de epidemias de dengue, malária, chagas e surtos de hantavirose.⁽¹⁹⁾

Além disso, as alterações da estrutura dos ecossistemas perturbam os ciclos biogeoquímicos, o que pode favorecer uma espécie em detrimento de outra, podendo trazer sérios riscos à saúde humana.⁽²⁰⁾

No Brasil, no período de novembro de 1993 a dezembro de 2009, foram confirmados 1.169 casos de hantavírus. Desse total, 473 (40,5%) foram registrados na Região Sul, sendo assim distribuídos: 211 (18,0%) no estado de Santa Catarina, 184 (15,7%) no Paraná e 78 (6,7%) no Rio Grande do Sul.

Na Região Sudeste, ocorreram 372 casos (31,8%), sendo 236 (20,2%) em Minas Gerais e 136 (11,6%) em São Paulo. Em seguida vem a Região Centro-Oeste, com 176 casos (15,1%) no Mato Grosso, 66 (5,6%) no Distrito Federal e 51 (4,4 %) em Goiás.

Na Região Norte, foram registrados 80 casos, sendo 73 (6,2%) no estado do Pará, quatro (0,3%) no Amazonas e apenas três (0,2%) casos em Rondônia. Na Região Nordeste ocorreram 14 casos (1,2%), no Maranhão (11 casos), Rio Grande do Norte (dois casos) e Bahia (um caso).

Quanto ao local de residência, 48,3% dos infectados viviam na zona rural, 46,2% na zona urbana e 2,4% na zona periurbana. Já em 5,4% dos casos, essa informação não estava disponível. As investigações indicam que a maior parte das pessoas (cerca de 75%) foi infectada em meio rural ou silvestre. Cerca de 50% dos acometidos desenvolviam atividades ocupacionais ligadas ao ramo da agricultura ou da pecuária.⁽²¹⁾

Com relação à Região Centro-Oeste do Brasil, entre 2007 a 2013 foram notificados 1.171 casos suspeitos de hantavirose no estado de Goiás. Desse total, 73 casos foram confirmados.

O ano de 2007 foi o ano com menor número de casos confirmados (6 casos), ao passo que os anos de 2009 a 2011 apresentaram os maiores números de casos confirmados

(14 casos). Em 2013 houve apenas 8 casos confirmados, porém com 90% de letalidade.⁽¹⁾

No Distrito Federal, a hantavirose apareceu como um surto em 2004. Passado o surto, notificações da doença têm ocorrido nos últimos anos, apresentando altas taxas de mortalidade.⁽⁵⁾ Entre os anos de 2004 a 2014, foram confirmados 126 casos de hantavirose com prevalência de incidentes entre a faixa etária de 20 a 49 anos, em sua maioria homens.

No Distrito Federal a taxa de incidentes acumulada entre 2004 e 2013 foi de cinco casos por 100 mil habitantes, enquanto no restante do Brasil, entre 2001 a 2011, a taxa de incidentes acumulada foi de 0,080 casos por 100 mil habitantes.⁽²⁾ A região administrativa de São Sebastião foi a mais afetada pela hantavirose, com a ocorrência de 21 casos (30%) entre os anos de 2004 a 2009. Nesse mesmo período, houve muitas mudanças ambientais relacionadas aos fatores antrópicos, como a expansão urbana e as atividades agropastoris.⁽²²⁾

A expansão agrícola

O aumento das áreas cultivadas é um dos maiores problemas do século XXI. Segundo a Organização das Nações Unidas, a população global será de 9,7 bilhões em 2050 com uma demanda crescente por alimentos especialmente nos países em desenvolvimento, uma vez que nesses países há uma melhora na renda *per capita* e aumento da urbanização.

As nações como Rússia, Estados Unidos, Argentina, Austrália, Canadá e os membros da União Europeia já estão muito limitadas em espaço cultivável, sendo necessário um investimento tecnológico, fator que os torna inviáveis para concorrer com o mercado de países com grandes áreas cultiváveis.⁽¹⁶⁾

O Brasil é um desses países com grandes áreas cultiváveis e que teve sua expansão iniciada no Sul do país, indo em direção ao Cerrado. Regiões do Nordeste e do Norte do país têm experimentado o aumento do preço das terras em razão da possibilidade de crescimento das fronteiras agrícolas.⁽²³⁾

Por exemplo, o crescimento médio da área de colheita da cultura da soja no Brasil aumentou 1,76% ao ano entre os anos de 1994 a 2013. No entanto, entre os anos de 2002 a 2005 houve os maiores aumentos, com pico máximo de 7,83% em 2004. Nesse mesmo ano houve surto de hantavirose no Distrito Federal.

Atualmente, o chamado complexo soja-carne Brasil-China impulsionou a expansão da área cultivada no Brasil, uma vez que, para atender a demanda chinesa, o país tem buscado expandir suas fronteiras agrícolas em direção ao Centro-Oeste e Norte do Brasil.⁽²⁴⁾

Segundo o Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE),⁽²⁵⁾ a taxa consolidada de desmatamento para os nove estados da Amazônia Legal Brasileira (ALB), baseada nos dados gerados pelo Projeto de Monitoramento do Desmatamento na Amazônia Legal por Satélite (PRODES), mostrou uma taxa de 10.129km² de corte raso no período de agosto de 2018 a julho de 2019. O PRODES considera como desmatamento a remoção completa da cobertura florestal primária por corte raso, independentemente da futura utilização destas áreas.

Ocorre que, seja para cultivo ou pasto, o desmatamento de áreas nativas coloca o ser humano em contato direto com roedores, portadores naturais do hantavírus, aumentando, assim, os riscos de transmissão da doença.

Além do grande aumento da área de cultivo, especialmente no Cerrado, outros fatores podem estar envolvidos no surto que ocorreu no Distrito Federal em 2004. Pesquisas sugerem que a proximidade de residências das áreas silvestres, a expansão urbana e a criação de condomínios ou de assentamentos para a população vêm trazendo problemas não somente de ordem ambiental, como a perda de vegetação nativa ou comprometimento dos recursos hídricos, mas também problemas de ordem sanitária, como a proliferação de vetores e de animais, reservatórios de doenças infectocontagiosas

Diagnóstico da hantavirose

Na fase prodrômica, o quadro clínico das infecções por hantavírus (SCPH) tem em comum febre, mialgias, dor lombar, dor abdominal, cefaleia e sintomas gastrointestinais, com tempo de duração entre 1 a 6 dias.⁽¹⁰⁾

Nessa fase, a suspeita clínica da hantavirose está associada à avaliação de aspectos epidemiológicos e fatores de riscos, além de outros fatores associados, como: linfócitos atípicos >10%; plaquetopenia (<150.000 até 20.000 plaquetas/mm³); leucócitos normais ou elevados com desvio à esquerda (>5.600 células/mm³); hemoconcentração (>45%); VHS normal ou elevada; raios X normal ou com infiltrados intersticiais difusos, uni ou bilaterais.⁽¹⁰⁾

Na fase cardiopulmonar, a doença caracteriza-se por febre; dispneia; taquipneia; taquicardia; tosse seca; hipotensão; edema pulmonar não cardiogênico e choque circulatório. O início dessa fase ocorre geralmente a partir do sétimo dia e dura cerca de 5 dias, com taxa de letalidade variando entre 40% e 50%.

Na fase cardiopulmonar os exames clínicos mostram leucocitose; neutrofilia com desvio à esquerda com formas jovens; granulócitos imaturos; linfopenia relativa com

linfócitos atípicos; hemoconcentração; plaquetopenia; redução da atividade protrombínica e aumento no tempo parcial de tromboplastina; fibrinogênio normal; acidose metabólica; elevação nos níveis séricos de TGO, TGP e DHL; hipoproteinemia; albuminemia; proteinúria; hipoxemia arterial; raios X com infiltrado pulmonar bilateral, podendo ocorrer derrame pleural, uni ou bilateral.⁽¹²⁾

O diagnóstico precoce da hantavirose, principalmente durante a fase prodrômica, é importante para que o tratamento de suporte seja iniciado, evitando assim a progressão da doença. Porém, deve-se considerar que a fase prodrômica é indistinguível de outras doenças agudas febris. Assim, para um diagnóstico mais preciso devem ser considerados os aspectos epidemiológicos e exames laboratoriais.

Métodos sorológicos são comumente utilizados para o diagnóstico laboratorial dos mais variados tipos de hantavírus, incluindo imunoenensaio enzimático (ELISA), considerado padrão ouro, ensaio de imunofluorescência, ensaio de imunoblot e imunocromatografia.^(9,26-28)

O exame laboratorial para o diagnóstico do hantavírus da espécie Araraquara, comum no Cerrado, é feito por imunoenensaio enzimático (ELISA), com identificação de IgM e/ou IgG, usando uma proteína (N) recombinante, em *Escherichia coli*, do nucleocapsídeo, segmento menor (S).^(13,29)

Técnicas moleculares podem ser mais rápidas e sensíveis, podendo ainda quantificar material genético do vírus em diferentes tipos de amostras. Dentre elas, a RT-PCR (transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase) pode identificar RNA viral em pessoas contaminadas mesmo antes de aparecerem os sintomas.⁽⁹⁾

No Brasil, uma RT-PCR convencional foi capaz de detectar o hantavírus Araraquara em amostras de sangue e em ratos silvestres.⁽²⁶⁾

Uma evolução da RT-PCR convencional, a RT-qPCR (RT-PCR quantitativa) apresenta várias vantagens sobre a antecessora, incluindo rapidez, alta sensibilidade e quantificação. Essa técnica foi desenvolvida permitindo a detecção e quantificação de hantavírus das espécies *Puumala* e *Andes*.⁽²⁶⁾

No Brasil, a RT-qPCR foi usada para detectar hantavírus da espécie Juquitiba em roedores capturados na Mata Atlântica.⁽²⁶⁾

Os pacientes com SCPH têm alto nível de viremia e o diagnóstico molecular feito por RT-PCR pode identificar RNA no sangue do paciente precocemente.⁽²⁶⁾ Além disso, o RNA viral pode ser encontrado no organismo nos primeiros 7 a 10 dias da infecção antes mesmo de entrar no estágio cardiopulmonar.^(2,14,29)

Estudos comparativos entre diagnóstico ELISA e RT-qPCR mostraram que o segundo foi mais sensível, altamente específico e rendeu alto valor preditivo positivo e negativo. Em algumas amostras de sangue, o ELISA apresentou resultado falso negativo e o RT-qPCR pôde ser utilizado como contraprova, mostrando que essa técnica é excelente para diagnóstico.^(9,26,27)

CONCLUSÃO

A hantavirose é uma zoonose emergente que ocorre a partir do contato do homem com aerossóis de excretas de roedores silvestres, reservatórios naturais dos vírus. Esse contato é facilitado pela proximidade que o homem vem tendo com tais roedores, como consequência das pressões socioeconômicas e também das atividades de lazer e esporte em meio a ambientes naturais que são o habitat natural dos roedores.

As atividades humanas sob a influência de pressões socioeconômicas, tais como: a agricultura, a pecuária, a habitação, a mineração, a construção de hidroelétricas, entre outras, trouxeram consequências para o meio ambiente levando ao aumento dos casos de zoonoses. Por isso, uma vez que não há tratamento específico, faz-se necessário um suporte terapêutico adequado, o qual depende de um diagnóstico preciso e precoce.

Portanto, o uso de RT-PCR e/ou RT-qPCR são alternativas para o diagnóstico sorológico por ELISA, uma vez que são mais rápidos, têm alta especificidade e sensibilidade.

REFERÊNCIAS

- Filho HRM, Moreli ML, Sousa ALL, Costa VG. Estudo Transversal da Letalidade da Hantavirose no Estado de Goiás, 2007-2013. *Epidemiol. Serv. Saúde*, Brasília, 25(3):519-530, jul-set 2016.
- Dusi R, Bredt A, Freitas DRC, Bo MIR, Silva JAM, Oliveira SV, Tauil PL. Ten Years of a Hantavirus Disease Emergency in The Federal District, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, [s.l.], v. 49, n. 1, p.34-40, fev. 2016.
- Laine Outi, et al. Elevated thrombopoietin and platelet indices confirm active thrombopoiesis but fail to predict clinical severity of puumala hantavirus infection. *Medicine*, [s.l.], v. 95, n. 52, p.1-6, dez. 2016.
- Guterres A, Oliveira RC, Fernandes J, D'Andrea PS, Bonvicino CR, Bragagnolo C, et al. Phylogenetic analysis of the S segment from Juquitiba hantavirus: identification of two distinct lineages in *Oligoryzomys nigripes*. *Infect Genet Evol*. 2013 Aug;(18):262-8.
- Oliveira SV, Fonseca LX, Barros PMR, Pereira SVC, Caldas EP. Análise do Perfil Epidemiológico da Hantavirose no Brasil no Período de 2007 a 2012. *Rev Patol Trop*; 43:131-142. 2014.
- Li S, Rissanen I, Zeltina A, Hepojoki J, Raghwan J, Harlos K, Pybus OG, Huiskonen JTA. Molecular-Level Account of the Antigenic Hantaviral Surface. *Cell Reports*, [s.l.], v. 15, n. 5, p.959-967, maio 2016.
- Kleinfelter LM, Jangra RK, Jae LT, Herbert AS, Mittler E, Stiles KM, Wirchnianski AS, Kielian M, Brummelkamp TR, Dye JM, Chandrana K. Haploid Genetic Screen Reveals a Profound and Direct Dependence on Cholesterol for Hantavirus Membrane Fusion. *Mbio*, [s.l.], v. 6, n. 4, p.1-15, 30 jun. 2015.
- Iglesias AA, Bellomo CM, Martinez VP. Síndrome Pulmonar por Hantavirus en Buenos Aires, 2009-2014. *MEDICINA- Volumen 76* – n. 1, 2016.
- Vial C, Martinez-Valdebenito C, Riosa S, Martinez J, Viala P, Ferrer M, Riveraa JC, Perez R, Valdivieso F. Molecular method for the detection of Andes hantavirus infection: validation for clinical diagnostics. *Diagnostic Microbiology And Infectious Disease*, [s.l.], v. 84, n. 1, p.36-39, jan. 2016.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Manual de Vigilância, Prevenção e Controle das Hantavíroses. Brasília; Ministério da Saúde, 2013.
- Limongi, Jean Ezequiel et al. Serological survey of hantavirus in rodents in Uberlândia, Minas Gerais, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* [online]. 2013, v. 55, n. 3 [Accessed 19 September 2022], pp. 155-158. Available from: <<https://doi.org/10.1590/S0036-46652013000300003>>
- Navarrete M, Hott M, Caroca J, Leyton L, Venegas N, Ismail K, Saavedra F, Otth C. Correlación entre criterios clínicos y de laboratorio de casos notificados por sospecha de hantaviriosis y el resultado de la técnica de referencia. *Revista Chilena de Infectología*, [s.l.], v. 33, n. 3, p.275-281, jun. 2016.
- Santos IO, Figueiredo GG, Figueiredo LTM, Azevedo MRA, Novo NF, Vaz CAC. Serologic survey of hantavirus in a rural population from the northern State of Mato Grosso, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 46(1):30-33, Jan-Feb, 2013.
- Willemann MCA, Oliveira SV. Risk factors associated with hantaviriosis fatality: a regional analysis from a case-control study in Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, [s.l.], v. 47, n. 1, p.47-51, jan. 2014.
- Cordova CMM, Figueiredo LTM. Serologic Survey on Hantavirus in Blood Donors from the State of Santa Catarina, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, [s.l.], v. 56, n. 4, p.277-279, jul. 2014.
- Freitas RE, Mendonça MAA. Expansão Agrícola no Brasil e a Participação da Soja: 20 anos. *RESR, Piracicaba-SP*, v. 54, n. 3, p. 497-516, jul/set 2016.
- Zanella JRC. Zoonoses emergentes e reemergentes e sua importância para saúde e produção animal. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, [s.l.], v. 51, n. 5, p.510-519, maio 2016.
- Santos JP, Oliveira SV, Steinke VA. O Uso e a Cobertura da Terra e a Sua Relação com a Hantavirose na Região Integrada de Desenvolvimento do Distrito Federal e Entorno. *R. Raé Ga – Curitiba*, v. 37, p. 282 - 306, Ago/2016.
- Brearley, G. et al. Wildlife disease prevalence in human-modified landscapes. *Biological Reviews*, v.88, n. 2, p. 427-442, 2013.
- Gottdenker NL, Streicker DG, Faust CL, Carroll CR. Anthropogenic Land Use Change and Infectious Diseases: A Review of the Evidence. *EcoHealth*, vol. 11, n.4, p. 619-632. 2014.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Casos confirmados de hantavirose no Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 1993 a 2015. Secretaria de Vigilância em Saúde. 2015.
- Santos JP, Steinkel ET, Garcá-Zapata MTA. Uso e Ocupação do Solo e a Disseminação da Hantavirose na Região de São Sebastião, Distrito Federal: 2004 – 2008. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 44(1):53-57, jan-fev, 2011.
- Gasques JG, Botelho F, Bastos ET. Preço de terras e sua valorização. Brasília: Mapa/AGE, versão preliminar, 8p. 2015.
- Escher F, Wilkinson J. A economia política do complexo Soja-Carne Brasil-China. *Rev. Econ. Sociol. Rural*, Brasília, v. 57, n. 4, p. 656-678, oct-dec. 2019.
- INPE. A taxa consolidada de desmatamento por corte raso para os nove estados da Amazônia Legal (AC, AM, AP, MA, MT, PA, RO, RR e TO) em 2019 é de 10.129 km². 2020. Acesso em 19/01/2021. http://www.inpe.br/noticias/noticia.php?Cod_Noticia=5465.

26. Machado AM, Souza WM, Pádua M, Machado ARSR, Figueiredo LTM. Development of a One-Step SYBR Green I Real-Time RT-PCR Assay for the Detection and Quantitation of Araraquara and Rio Mamore Hantavirus. *Viruses*, 5, 2272-2281; 2013.
27. Jiang W, Yu H, Zhao K, Zhang Y, Du H, Wang P, Bai X. Quantification of Hantaan Virus with a SYBR Green I Based One-Step qRT-PCR Assay. *PLoS ONE*8(11): e81525. 2013.
28. Hepojoki IS, Rusanen J, Hepojoki J, Nurmi V, Vaheri A, Lundkvist A, Hedman K, Vapalahti O. Competitive Homogeneous Immunoassay for Rapid Serodiagnosis of Hantavirus Disease. *J Clin Microbiol.* 53:2292–2297. 2015.
29. Vieira CJSP, Silva DJF, Barreto ES, Siqueira CSH, Costa VG, Lourenço FJ, Moreli ML, Bronzoni RVM. Serological evidence of hantavirus infection in an urban area in Mato Grosso State, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, [s.l.], v. 49, n. 3, p.348-350, jun. 2016.