

## **Apitoxina como ferramenta auxiliar na profilaxia da infecção contra SARS-CoV-2**

Apitoxin as an auxiliary tool in prophylaxis of infection against SARS-CoV-2

Apitoxina como herramienta auxiliar en la profilaxis de la infección contra el SARS-CoV-2

Recebido: 23/11/2021 | Revisado: 29/11/2021 | Aceito: 01/12/2021 | Publicado: 12/12/2021

### **Rilkaelle Gomes de Melo Cerqueira**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0835-9515>

Centro Universitário UniFacid Wyden, Brasil

E-mail: rilkaelle.cerqueira@gmail.com

### **Sofia Isis de Oliveira Ibiapina**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0966-1297>

Faculdade Aldemar Rosado, Brasil

E-mail: sofiaisis14@gmail.com

### **Mariana de Carvalho Moreira**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6710-8994>

Centro Universitário UniFacid Wyden, Brasil

E-mail: maridecm93@gmail.com

### **Lara Vitória De Araújo Costa Pereira**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6946-4936>

Centro Universitário UniFacid Wyden, Brasil

E-mail: laravitoriaacp@hotmail.com

### **Luciane Costa Silva**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0469-5092>

Centro Universitário UniFacid Wyden, Brasil

E-mail: costasilvaluciane2900@gmail.com

### **Marcela Coelho de Sá**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3797-0997>

Centro Universitário UniFacid Wyden, Brasil

E-mail: marcelacoelhodesa0908@gmail.com

### **Izaura Maria Rocha**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9023-5852>

Centro Universitário UniFacid Wyden, Brasil

E-mail: izaurl1rocha@hotmail.com

### **Liana Cynthia de Macedo Reis**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7304-7713>

Instituto Federal do Piauí, Brasil

E-mail: lianareis@ifpi.edu.br

### **Marcos André Arrais de Sousa**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7652-0198>

Centro Universitário UniFacid Wyden, Brasil

E-mail: marcosarraiss007@gmail.com

### **Amanda Laurindo Monteiro**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4832-4544>

Centro Universitário UniFacid Wyden, Brasil

E-mail: amandalaurindo\_@hotmail.com

### **Sérgio Augusto Dias Castro**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4064-9341>

Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná, Brasil

E-mail: sergio.castro@ifpr.edu.br

### **Augusto Cesar Evelin Rodrigues**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7469-981X>

Centro Universitário UniFacid Wyden, Brasil

E-mail: augustocevelin@yahoo.com.br

### **Francisco Laurindo da Silva**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6837-4509>

Centro Universitário UniFacid Wyden, Brasil

E-mail: flspb@yahoo.com.br

## **Resumo**

O SARS-CoV-2 faz parte do grupo familiar do betacoronavírus, responsável pelos maiores índices de morbimortalidade na população. Em março de 2020 o mundo entrou em estado de emergência devido a pandemia pelo betacoronavírus que ocasiona a doença Covid-19, por isso há a busca de terapêuticas eficazes para o controle da pandemia. A apitoxina vem despertando interesse pela possibilidade da sua utilização na modulação do sistema

imunológico na inativação de vírus. Nesse sentido, o projeto de pesquisa teve como objetivo principal analisar o uso da apitoxina como uma ferramenta auxiliar na profilaxia da infecção ocasionada pelo SARS-CoV-2. A apitoxina foi obtida de abelhas pertencentes à espécie *Apis Mellifera*, por meio de choque elétrico. Na execução dos ensaios foram utilizados ratos pertencentes a espécie Wistar, com aproximadamente 350g de peso e todos da mesma linhagem. Utilizou-se 15 animais nos experimentos. A dose de apitoxina inoculada nos animais foi 30 µg/mL. A coleta do sangue nos animais foi realizada em triplicata randomicamente, nos intervalos de tempo de 7, 14, 21 e 28 dias. Os testes sorológicos foram realizados pelo método imunocromatográfico para o SARS-CoV-2. Os resultados demonstraram a produção de IgM anti- SARS-CoV-2, nos intervalos de tempo em que foram feitas as coletas do sangue dos animais. Portanto, a apitoxina na concentração utilizada, de fato induziu a produção de anticorpos pertencentes a classe IgM contra o SARS-CoV-2 em modelos animais e pode ser utilizada como uma ferramenta auxiliar na modulação do sistema imune, contra o vírus que ocasiona a Covid-19.

**Palavras-chave:** SARS-CoV-2; Apitoxina; Coronavírus; Militina.

### Abstract

SARS-CoV-2 is part of the betacoronavirus family group, responsible for the highest morbidity and mortality rates in the population. In March 2020 the world entered a state of emergency due to a pandemic by betacoronavirus that causes Covid-19 disease, so there is a search for effective therapies for pandemic control. Apitoxin has aroused interest in the possibility of its use in the modulation of the immune system in the inactivation of viruses. In this sense, the main objective of the research project was to analyze the use of apitoxin as an auxiliary tool in the prophylaxis of infection caused by SARS-CoV-2. The apitoxin was obtained from bees belonging to the species *Apis Mellifera*, by means of electric shock. In the execution of the assays, rats belonging to the Wistar species were used, with approximately 350g of weight and all of the same lineage. 15 animals were used in the experiments. The dose of apitoxin inoculated in the animals was 30 µg/mL. Blood collection in the animals was performed in triplicate randomly, in the time intervals of 7, 14, 21 and 28 days. Serological tests were performed by immunochromatographic method for SARS-CoV-2. The results demonstrated the production of IgM anti- SARS-CoV-2, in the time intervals in which the blood collections of the animals were made. Therefore, the apitoxin in the concentration used, in fact induced the production of antibodies belonging to the IgM class against SARS-CoV-2 in animal models and can be used as an auxiliary tool in the modulation of the immune system against the virus that causes Covid-19.

**Keywords:** SARS-CoV-2; Apitoxin; Coronavirus; Militina.

### Resumen

El SARS-CoV-2 forma parte del grupo de la familia de los betacoronavirus, responsable de las mayores tasas de morbilidad y mortalidad de la población. En marzo de 2020 el mundo entró en estado de emergencia debido a una pandemia por betacoronavirus que causa la enfermedad Covid-19, por lo que hay una búsqueda de terapias efectivas para el control de la pandemia. La apitoxina ha despertado interés en la posibilidad de su uso en la modulación del sistema inmune en la inactivación del virus. En este sentido, el objetivo principal del proyecto de investigación fue analizar el uso de la apitoxina como herramienta auxiliar en la profilaxis de la infección causada por el SARS-CoV-2. La apitoxina se obtuvo de abejas pertenecientes a la especie *Apis Mellifera*, mediante descarga eléctrica. En la ejecución de los ensayos se utilizaron ratas pertenecientes a la especie Wistar, con aproximadamente 350g de peso y todas del mismo linaje. Se utilizaron 15 animales en los experimentos. La dosis de apitoxina inoculada en los animales fue de 30 µg/mL. La recolección de sangre en los animales se realizó por triplicado al azar, en los intervalos de tiempo de 7, 14, 21 y 28 días. Las pruebas serológicas se realizaron por método inmunocromatográfico para el SARS-CoV-2. Los resultados demostraron la producción de IgM anti-SARS CoV-2, en los intervalos de tiempo en los que se realizaron las colectas de sangre de los animales. Por lo tanto, la apitoxina en la concentración utilizada, de hecho indujo la producción de anticuerpos pertenecientes a la clase IgM contra el SARS-CoV-2 en modelos animales y puede ser utilizada como una herramienta auxiliar en la modulación del sistema inmune contra el virus que causa el Covid-19.

**Palabras clave:** SARS-CoV-2; Apitoxina; Coronavirus; Militina.

## 1. Introdução

Os surtos de vírus ARN, são um problema de saúde mundial, uma vez que, ocasionam alto índice de morbimortalidade em todo o mundo, principalmente os ocasionados por influenza A (H5N1,H1N1), sarampo e SARS-CoV com suas variações tipo beta, denominado SARS-CoV-2. Isso se dá devido a maior propensão a mutações genéticas e a falta de medidas terapêuticas eficazes para combater esses grupos virais (Amanat & Krammer., 2020).

O SARS-CoV-2 ou coronavírus vem crescendo de forma demasiada desde 2019 com dados exorbitantes. Conforme a OMS (2021), já foram registrados 198.234.951 de casos de covid-19 no mundo, chegando a atingir a marca de

19.917.855 casos confirmados e 556.370 mortes no Brasil, gerando, assim, grande impacto na saúde social e na economia em vários níveis. Considerando essa ameaça iminente, a busca por formas terapêuticas e profiláticas vem se tornando o principal tema de pesquisas no mundo para ajudar na reestabilização mundial (Covián, C; Retamal-Díaz A; Bueno, S. M., & Kalergis, A. M. 2020; Silveira, M. M, Moreira, G., & Mendonca, M., 2020).

Com isso, foi patenteada na China a primeira vacina em agosto de 2020. Porém, embora os avanços no sequenciamento genético e outros desenvolvimentos tecnológicos tenham acelerado o estabelecimento de várias plataformas de vacinas, várias incertezas ainda permanecem (Silveira, M. M, Moreira, G., & Mendonca, M. 2020). Nesse viés, ainda que pareça contra-intuitivo à primeira vista, vários venenos de animais, incluindo a apitoxina (veneno de abelha melífera), têm efeitos benéficos contra diversas doenças (Aufschnaiter A et al., 2020).

Quando a apitoxina entra em contato com o organismo, ela induz a diferenciação dos linfócitos B e T, produzindo anticorpos (imunoglobulinas) para combater antígenos, esses são divididos em IgM, IgG, IgE, IgA e IgD. Sendo assim, o veneno pode ser uma alternativa para tratar a pandemia em questão devido as suas propriedades anti-inflamatórias, antibacterianas e antivirais (Uddin et al., 2016).

A pesquisa teve a seguinte questão norteadora: A apitoxina tem potencial de induzir a síntese de imunoglobulinas que reajam contra o SARS-CoV-2?

O trabalho de pesquisa teve como objetivo principal analisar o uso da apitoxina como uma ferramenta auxiliar na profilaxia da infecção ocasionada pelo SARS-CoV-2. E como objetivos específicos verificar a produção de imunoglobulinas pertencentes as classes de IgM e IgG que reaja com antígenos desse vírus; determinar a ação da apitoxina como substância imunomoduladora do sistema imune contra o SARS-CoV-2 e recomendar a utilização da apitoxina na dosagem estudada como uma ferramenta auxiliar na profilaxia da infecção do SARS-CoV-2.

As infecções virais estão cada dia sendo mais frequentes e de ocorrência nos seres vivos, notadamente em humanos. Assim como as bactérias, os vírus passam por frequentes alterações genéticas, com isso, acabam condicionando-se a uma melhor adaptação aos seres. Várias são as tentativas farmacológicas e imunológicas no sentido do estabelecimento de estratégias que possam ser utilizadas no controle das infecções ocasionadas pelos vírus (Câmara, F; Câmara, D., & Moreno, M., 2020).

Na atualidade, estamos nos deparando com uma pandemia ocasionada pelo SARS-CoV-2 e sem possibilidade de tratamento preciso das pessoas acometidas pela infecção, haja visto que, trata-se de vírus em que as informações sobre ele ainda são muito incipientes (Favretto, I. C et al., 2021).

Portanto, o trabalho de pesquisa ora proposto teve relevância e se justifica, pelo fato do mesmo ter como enfoque principal, a utilização da apitoxina como uma substância imunomoduladora, de modo a induzir a síntese de imunoglobulinas que possam reagir com o SARS-CoV-2, principalmente das classes IgM e IgG. Confirmada essa hipótese, a apitoxina poderá ser utilizada como uma ferramenta auxiliar e de cunho imunológico, na profilaxia da infecção pelo SARS-CoV-2.

## **2. Metodologia**

Estudo experimental que foi realizado de acordo com as normas da Comissão Brasileira de Experimentos em Animais (COBEA) e submetido ao Comitê de Ética em Uso de Animais (CEUA) da FACID, para avaliação e autorização de sua realização, de acordo com a Lei 11.794 de 08/10/2008. O método utilizado foi o imunocromatográfico para o SARS-CoV-2.

Tratou-se de uma pesquisa tipo experimental, com abordagem qualitativa e transversal. A apitoxina utilizada para a realização deste trabalho foi coletada nos apiários do Laboratório piloto da Fazenda Nova, Zona Rural no município de Piracuruca-Piauí, com intermédio da Cooperativa de Apicultores- CODERVAP.

Para a coleta da amostra, foi utilizado o método de choque elétrico, através de eletrodos de aço inox, conectados a uma bateria e uma lâmina de vidro, posicionado na parte superior da comédia que contém em média 80 mil abelhas do tipo *Apis Mellifera* Brasileira, o mesmo reteve a apitoxina após o choque elétrico que induziu a picada de abelha e consequentemente a liberação na apitoxina nas placas de vidro.

Contudo, o choque elétrico é em proporção baixa em torno de 12,5V para não ocasionar danos às abelhas (Rosa. K. M, 2021). Após o posicionamento da caixa coletora sob a comédia, as abelhas pousaram nas placas de vidro e receberam o impulso elétrico, o qual fez com que liberassem a ferroada na tentativa de defesa, depositando a apitoxina. Posteriormente, as placas de vidro foram levadas para uma estufa fria para secar o veneno pôr em média 30 minutos, foram raspadas com lâminas, e mais tarde depositadas em vidros escuros, cobertos com papel alumínio e refrigerados para conservação.

A intervalos de 7,14,21 e 28 dias pós inoculação da apitoxina e do soro fisiológico foi obtido sangue total dos animais. Para tanto foram eleitos randomicamente 3 animais do grupo de 12 nos intervalos de tempo previamente estabelecido para a obtenção de sangue. Antes das coletas de sangue, os animais foram anestesiados com 0,09 mL dos anestésicos ketamina e lidocaína.

Com a utilização de uma seringa com agulha foi realizada a coleta de 2 mL de material biológico na jugular ou via subclava. O sangue foi depositado em tubos de Ependorf e centrifugado a 3.000g em microcentrifuga por 10 minutos. Após centrifugação foi obtido o soro, mediante a utilização de uma pipeta de Pasteur. Com auxílio de uma micropipeta com ponteira obteve 10 µL do soro do animal, o mesmo foi dispensado no orifício da placa teste, em seguida foi adicionado 3 gotas do diluente no mesmo orifício em que fora posto o soro. A placa teste foi deixada em repouso por 10 a 15 minutos. Em seguida pôde-se interpretar o resultado do teste.

Nos ensaios foram utilizados ratos da espécie Wistar, com aproximadamente 350g de peso e todos da mesma linhagem. Os animais foram mantidos em biotério, alimentados e com avaliação diária da saúde por médico veterinário. Utilizou-se 15 animais divididos em 2 grupos, sendo um grupo com 12 animais e um outro com 3 animais, como controle negativo. No primeiro grupo com 12 animais foi induzido apitoxina a uma concentração de 30 µg e no grupo controle negativo foi induzido 1 mL de soro fisiológico a 0,95%. Os animais foram mantidos em gaiolas apropriadas até utilização dos mesmos na obtenção do sangue total.

Após coleta do sangue, os animais foram sacrificados por administração de ketamina + xilazina (0,81 mg / kg, i.p.) e lidocaína (10 mg / kg, i.p.), conforme recomendado pelas Diretrizes de Prática de Eutanásia e pelas diretrizes brasileiras de boas práticas de eutanásia animal.

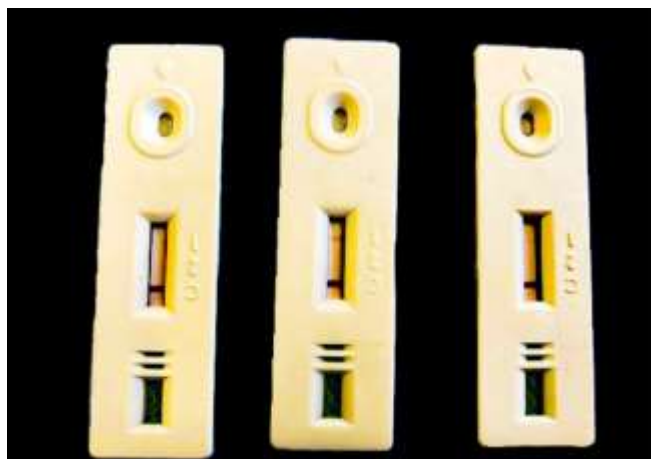
### 3. Resultados e Discussão

Na execução da pesquisa foram utilizados 12 ratos, pertencentes a raça Wister e apitoxina na concentração de 30 µg. As análises quanto à presença de anticorpos no sangue dos animais foram realizadas nos intervalos de tempo de 7, 14, 21 e 28 dias. Os animais foram selecionados randomicamente para as coletas do sangue. Outros 3 ratos foram utilizados apenas como controle com inoculação de soro fisiológico para determinar a qualidade dos testes imunocromatográficos.

Após 7, 14, 21 e 28 dias de inoculação da apitoxina nos ratos, foram coletados o sangue de 3 animais retirados aleatoriamente do painel de 12, por período de tempo determinado e realizado os testes imunocromatográficos. Nos testes

rápidos de diagnóstico, evidenciou-se a presença de anticorpos da classe IgM no sangue dos animais que reagiram cruzadamente com antígenos do SARS-CoV-2, na placa teste.

**Figura 1** – Realização do teste imunocromatográfico após 7 dias inoculação da apitoxina. Teresina-Piauí, 2021. N=12.



Fonte: Autores.

Na Figura acima pode-se observar a formação de dois traços vermelhos, indicando a indução de IgM em dois dos testes realizados no dia 7 após a inoculação da apitoxina. Apesar de claro, os testes indicam a positividade para a produção de anticorpos para SARS-CoV-2.

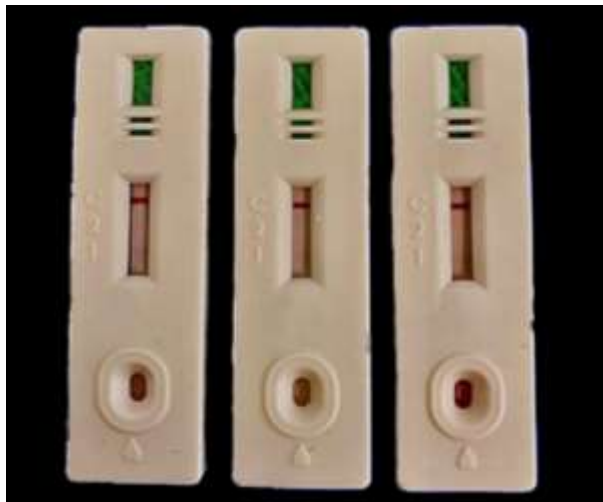
**Figura 2**- Realização do teste imunocromatográfico após 14 dias inoculação da apitoxina. Teresina-Piauí, 2021. N=12.



Fonte: Autores.

Nos testes realizados no dia 14 após a inoculação da apitoxina, apenas um positivou para SARS-CoV-2, sendo indicado pela figura acima no teste que se encontra ao meio da imagem, pode-se observar a formação de dois traços vermelhos no teste.

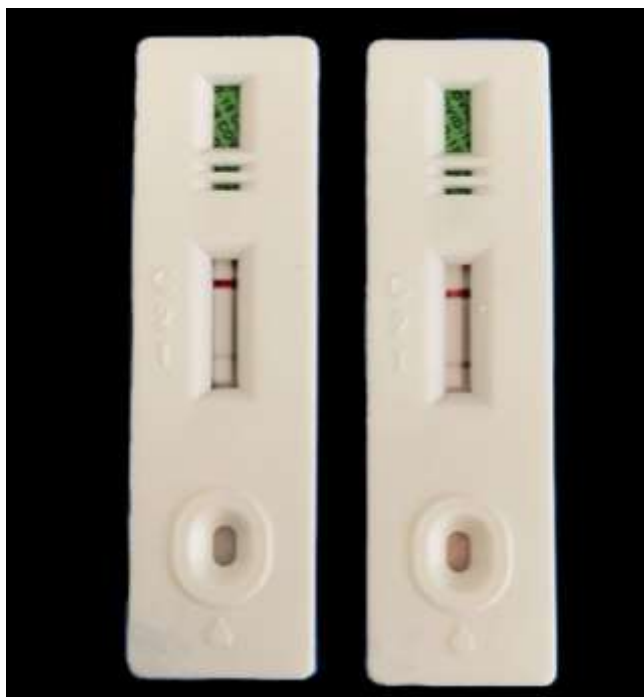
**Figura 3-** Realização do teste imunocromatográfico após 21 dias inoculação da apitoxina. Teresina-Piauí, 2021. N=12.



Fonte: Autores.

Já nos testes realizados no dia 21 após a inoculação da apitoxina, pode-se observar a formação de dois traços vermelhos em todos os testes realizados, em cada teste houve a formação de um traço mais escuro que indica o controle do teste e um traço mais claro que indica a formação de anticorpos do tipo IgM para Covid-19.

**Figura 4 -** Realização do teste imunocromatográfico após 28 dias inoculação da apitoxina. Teresina-Piauí, 2021. N=12.



Fonte: Autores.

No último dia do experimento, após 28 dias de inoculação da apitoxina pode-se observar a formação de dois traços vermelhos em todos os testes, um mais escuro indicando o controle do teste e um mais claro que indica a formação de anticorpos para Covid-19.

Com base nos resultados obtidos, a apitoxina na concentração utilizada de fato induziu a produção de imunoglobulinas da classe IgM que reagiu com antígenos do SARS-CoV-2 fixos na matriz da placa teste. Como é notório que o anticorpo IgM é produzido nos estágios iniciais do processo inflamatório, sendo também considerado marcador biológico de fase aguda de infecção e molécula importante na opsonização de agentes infecciosos (Zucoloto, L. F et al., 2020). Portanto, a utilização da apitoxina como uma ferramenta auxiliar, no que concerne a imunoprofilaxia contra a infecção por esse vírus faz-se eficaz.

O tratamento com a apitoxina apresenta-se em diversos outros estudos, destacando suas diversas propriedades. Moreira, D. R (2012) reforça o vasto potencial farmacológico da apitoxina que, por sua vez, teve eficiência biológica comprovada para diversos usos terapêuticos, como anti-inflamatório.

O pesquisador, Ali, M. (2012) destaca 18 componentes farmacologicamente ativos encontrados na apitoxina e, dentre eles, enzimas, aminas e peptídeos. Como exemplo de peptídeo, evidencia-se a melitina, que constitui como componente dominante da apitoxina, constituído por 40-60% de sua composição (Wehbe, et al., 2019).

Na literatura, a melitina apresenta diversos benefícios, tendo ação antiviral e antitumoral (Oršolić, 2011; Yang et al., 2011; Ratcliffe et al., 2011; Zhou et al., 2010; & Viana, G. A., 2015), além da capacidade de interagir e ativar células de defesa como leucócitos, mastócitos e macrófagos (Pereira, A. F. M., 2017) estimulando o sistema de defesa do organismo. Tais achados da literatura corroboram com o aumento da produção de anticorpos oriundo da apitoxina.

Quanto à positividade da presença de IgM no sangue dos animais, nos testes imunocromatográficos realizados, evidenciou-se que em pelo menos um animal de cada grupo de animais randomicamente houve a presença dessa imunoglobulina que reagia cruzadamente com antígenos do SARS CoV-2, totalizando em 75% do experimento positivo (Tabela 1).

**Tabela 1** – Demonstração da positividade quanto à presença de imunoglobulinas da classe IgM no soro por animais utilizados. Teresina-Piauí. N=12.

Rato	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias
1	Negativo			
2	Positivo			
3	Positivo			
4		Negativo		
5		Positivo		
6		Negativo		
7			Positivo	
8			Positivo	
9			Positivo	
10				Positivo
11				Positivo
12				Positivo

Fonte: Autores.

A utilização de animais em pesquisas é um método utilizado desde a antiguidade, quando utilizavam animais para aprofundar o conhecimento sobre algum objeto, contudo, era aplicado sem um método sistematizado de investigação,



porém, com o passar dos anos as práticas foram evoluindo e essa ação começou a ser incorporada de forma sistematizada e por pessoas capacitadas, tornando-se cada vez mais complexas com nível de exigências éticas elevado (Raymundo & Goldim., 2007).

Atualmente, a utilização de modelos animais em pesquisas básicas é uma questão que tem despertado várias discussões entre pesquisadores, mas continuam sendo uma ferramenta importante no direcionamento de estudos que no futuro possam trazer benefícios a outros seres vivos, principalmente aos humanos. De acordo com Sganzerla et al. (2020), os roedores são os animais mais utilizados em pesquisas experimentais por serem fisiologicamente e geneticamente mais semelhantes aos seres humanos.

A propósito, a linhagem não-endogâmica *Wistar* (*Rattus norvegicus*), é a mais utilizada no cenário científico por apresentar pequeno porte, baixo custo, ciclo biológico curto e alta similaridade com a genética humana, cerca de 80% do seu código genético é igual ao dos humanos (Mattaraia & Moura., 2012).

Agora, para se ter confiabilidade na pesquisa com a utilização de animais é necessário o uso de animais que sejam da mesma espécie, linhagem, idade e mesmo peso corporal, dessa forma minimiza a variabilidade e aumenta a validade dos resultados da pesquisa (Sganzerla J et al., 2020). Isso ficou evidenciado pelos resultados obtidos como mostrados na tabela 1.

#### 4. Conclusão

A apitoxina apresenta propriedades imonoreguladoras, quanto à produção de anticorpos que reagem cruzadamente com antígenos do SARS CoV-2. Evidenciou-se a síntese de imunoglobulinas da classe IgM no sangue dos ratos pertencentes a espécie *Wister*, que reagem com antígenos do SARS-CoV-2. Contudo, faz-se necessário a produção de mais artigos experimentais no que tange o assunto, visto que na literatura o tema é precário e o assunto é de extrema relevância para a comunidade científica. Por fim, diante do exposto e da relevância quanto a produção literária a apitoxina possa ser indicada como uma ferramenta auxiliar na profilaxia da infecção do SARS-CoV-2.

#### Referências

- Amanat, F., & Krammer, F. (2020). SARS-CoV-2 Vaccines: Status Report. *Immunity*. v. 52, n. 4, p. 583–9.
- Ali, M. A. A. S. M. (2012). Studies on bee venom and its medical uses. *International Journal of Advancements in Research & Technology*, v.1, n. 2, p. 69-83.
- Aufschnaiter, A. et al. (2020). Apitoxin and its components against cancer, neurodegeneration and rheumatoid arthritis: Limitations and possibilities. *Toxins*, v. 12, n. 2, p. 66.
- Câmera, F. P; Câmera, D. C. P; & Moreno, M. (2020). Covid-19: trajetória atual e futura. *Braz. J. Hea. Rev., Curitiba*, v. 3, n. 5, p. 13377-13382 set./out. 2020. ISSN 2595-6825.
- Covián, C; Retamal-Díaz A; Bueno, S. M., & Kalergis, A. M. (2020). A vacinação BCG pode induzir imunidade protetora treinada para SARS-CoV-2? *Frente. Immunol.* 11: 970. doi: 10.3389 / fimmu.2020.00970.
- Mattaraia, V. G. De M. & Moura, A. S. A. M. T. (2012). Produtividade de ratos *Wistar* em diferentes sistemas de acasalamento. *Ciência Rural*, v. 42, n. 8, p. 1490–1496.
- Moreira, D. R. (2012). Apiterapia no tratamento de patologias. *Revista Fapciência*, v. 9, n. 4, p. 21-29.
- Favretto, I. C et al. (2021). Fatores de risco associados ao acometimento pela COVID-19 em pacientes oncológicos: uma revisão sistemática. *R.Saúde Públ. Paraná*. v.4. n.2. p.12. <http://revista.escoladesaude.pr.gov.br/index.php/rspp/article/view/494/215>
- Oršolić, N. (2011). Bee venom in cancer therapy. *Cancer Metastasis Reviews*, v. 31, n. 1-2, p. 173-194.
- Pereira, A. F. M. (2017). *Ação da própolis, apitoxina e melitina de Apis*. p. 67.
- Ratcliffe, N. A.; Mello, C. B.; Garcia, E. S.; Butt, T. M., & Azambuja, P. (2011). Insect natural products and processes: New treatments for human disease. *Insect Biochemistry and molecular biology*, v. 41, n. 10, p. 747-769.



Raymundo, M.; & Goldim, J. (2007). *O uso de animais em pesquisas científicas*. [https://www.researchgate.net/publication/237488104\\_o\\_uso\\_de\\_animais\\_em\\_pesquisas\\_cientificas](https://www.researchgate.net/publication/237488104_o_uso_de_animais_em_pesquisas_cientificas)

Rosa, K. M et al. (2021). *Imidacloprido e fipronil em mel comercial de apis mellifera*. [Dissertação mestrado acadêmico campus Cascavel – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências exatas e tecnológicas, programa de pós-graduação de engenharia agrícola].

Silveira, M. M; Moreira, G. M. S. G., & Mendonca, M. (2020). DNA Vaccines Against COVID-19: Perspectives and Challenges . *Life Sci.* 267 , 118919. doi: 10.1016. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33352173/>.

Sganzerla, J. T et al. (2020). Análise hematológica de ratos Winstar para parâmetro de referência de grupos de controle em pesquisa experimental. *Stomatos*. v. 26. n. 50. p. 21-26

Uddin, M. B. et al. (2016). Inhibitory effects of bee venom and its components against viruses in vitro and in vivo. *Journal of Microbiology*, v. 54, n. 12, p. 853–866.

Viana, G. A. (2015). *Avaliação in vitro das atividades biológicas da apitoxina extraída de Apis mellifera do semiárido*. Mossoró. 60f: il. [Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-graduação em Ciência Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido].

Yang, E. J.; Kim, S. H.; Yang, S. C.; Lee, S. M., & Choi, S. M. (2011). Melittin restores proteasome function in an animal model of ALS. *Journal of Neuroinflammation*, v. 8, n. 1, p. 69-78.

Zhou, J.; Zhao, J.; Zhang, S.; Shen, J.; Qi, Y.; Xue, X.; Li, Y.; Wu, L.; Zhang, J.; Chen, F., & Chen, L. (2010). Quantification of melittin and apamin in bee venom lyophilized powder from *Apis mellifera* by liquid chromatography–diode array detector–tandem mass spectrometry. *Analytical Biochemistry*, v. 404, n. 2, p. 171-178.

Zucoloto, L. F. et al. (2021). Exames laboratoriais para o diagnóstico da covid-19: aplicações e limitações das técnicas. *Cadernos Camilliani e-ISSN: 2594-9640*, [S.l.], v. 17, n. 4, p. 2403-2415. <http://www.saocamilo-es.br/revista/index.php/cadernoscamilliani/article/view/459>