

**ANÁLISE HISTOLÓGICA DA MIOTOXICIDADE DO VENENO DE MICRURUS SPIXII
(COBRA CORAL AMAZÔNICA) EM MÚSCULO BIVENTER CERVICIS DE PINTAINHO
E SUA NEUTRALIZAÇÃO POR SORO ANTIELAPÍDICO**

**HISTOLOGICAL ANALYSIS OF THE MYOTOXICITY OF MICRURUS SPIXII
(AMAZONIAN CORAL SNAKE) VENOM IN CHICK BIVENTER CERVICIS MUSCLE
AND ITS NEUTRALIZATION BY ANTIELAPIDIC SERUM**

**ANÁLISIS HISTOLÓGICO DE LA MIOTOXICIDAD DEL VENENO DE MICRURUS
SPIXII (SERPIENTE CORAL AMAZÓNICA) EN MÚSCULO BIVENTER CERVICIS DE
POLLITO Y SU NEUTRALIZACIÓN POR SUERO ANTIELAPÍDICO**

 <https://doi.org/10.56238/arev8n2-068>

Data de submissão: 12/01/2026

Data de publicação: 12/02/2026

Fernanda Ruis Passos

Curso de Biomedicina

Instituição: Universidade de Sorocaba (UNISO)

E-mail: fer0feruiz@gmail.com

Orcid: 0009-0000-0254-3947

Wanessa Regis da Costa

Curso de Biomedicina

Instituição: Universidade de Sorocaba (UNISO)

E-mail: wrdcregis@gmail.com

Orcid: 0009-0001-6646-2916

Nathalia Margarida Cantuária

Pós-Graduanda em Ciências Farmacêuticas

Instituição: Universidade de Sorocaba (UNISO)

E-mail: nathmcantuaria@gmail.com

Orcid: 0000-0002-2481-3327

Patricia Lius Melo Alves

Docente no Curso de Biomedicina

Instituição: Universidade de Sorocaba (UNISO)

E-mail: patrícia.alves@prof.uniso.br

Orcid: 0000-0002-2267-3244

Jonas Eligio Garcia de Azevedo

Pós-Graduando em Ciências Farmacêuticas

Instituição: Universidade de Sorocaba (UNISO)

E-mail: jonaseligiogarcia@outlook.com

Orcid: 0000-0002-7172-4298

Stephen Hylop
Departamento de Farmacologia
Instituição: Universidade de Campinas (UNICAMP)
E-mail: hyslop@unicamp.br
Orcid: 0009-0006-5484-1288

Yoko Oshima-Franco
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas
Instituição: Universidade de Sorocaba (UNISO)
E-mail: yoko.franco@prof.uniso.br
Orcid: 0000-0002-4972-8444

RESUMO

Os venenos de cobras corais (*Micrurus spp.*) são neurotóxicos e miotóxicos. Microscopia de luz foi utilizada para avaliar a miotoxicidade do veneno de *Micrurus spixii* e o potencial de neutralização do dano celular pelo soro antielapídico. Foram estudados músculos provenientes de preparações de biventer cervicis de pintainho estimulados indiretamente durante 2 h, expostas a (n=3 cada) solução nutritiva de Krebs (controle negativo), veneno (10 µg/mL) e pré-incubação (30 min, 37 °C) de veneno (10 µg/mL) com 0,03 mL de soro antielapídico. Os músculos fixados em formalina 10% e mantidos em álcool 70% foram processados e emblocados em parafina para análise histológica. Cortes de 4 µm foram corados com hematoxilina-eosina e analisados em duplo-cego para verificar a presença de edema, vacúolos, condensação de miofibrilas e células ghost. A incubação com veneno reduziu drasticamente a proporção de células saudáveis, de 66,0 ± 0,1% no grupo controle para 0,92 ± 0,08% no grupo veneno ($p < 0,05$). A pré-incubação do veneno com soro antielapídico protegeu parcialmente contra esta redução (4,8 ± 0,42% de células saudáveis; $p < 0,05$ comparado ao veneno). O veneno aumentou a proporção de células com: edema, condensação de miofibrilas e células ghost, e dobrou a proporção de células vacuoladas. As alterações diminuíram em graus variados após pré-incubação com soro antielapídico. Os resultados mostram que o veneno causou alterações histomorfológicas em músculo biventer cervicis e que o soro antielapídico protegeu significativamente, em diferentes níveis, contra o dano celular na proporção testada de soro antielapídico:veneno.

Palavras-chave: *Biventer cervicis*. Microscopia de Luz. *Micrurus spixii*. Soro Antielapídico. Veneno de Serpente.

ABSTRACT

Coral snake (*Micrurus spp.*) venoms are neurotoxic and myotoxic. Light microscopy was used to assess the myotoxicity of *Micrurus spixii* venom and the potential for antielapidic serum to neutralize cellular damage. Chick biventer cervicis muscle preparations, indirectly stimulated for 2 h, were exposed to (n=3 each) Krebs nutrient solution (negative control), venom (10 µg/mL), and pre-incubation (30 min, 37 °C) of venom (10 µg/mL) with 0.03 mL of antielapidic serum. Muscles fixed in 10% formalin and maintained in 70% alcohol were processed and paraffin-embedded for histological analysis. 4 µm sections were stained with hematoxylin-eosin and analyzed in a double-blind manner to verify the presence of edema, vacuoles, myofibril condensation, and ghost cells. Incubation with venom drastically reduced the proportion of healthy cells, from 66.0±0.1% in the control group to 0.92±0.08% in the venom group ($p < 0.05$). Pre-incubation of the venom with antielapidic serum partially protected against this reduction (4.8±0.42% healthy cells; $p < 0.05$ compared to venom). The venom increased the proportion of cells with edema, myofibril condensation, and ghost cells, and doubled the proportion of vacuolated cells. These alterations were reduced to varying degrees after pre-incubation with antielapidic serum. The results show that the

venom caused histomorphological changes in biventer cervicis muscle and that antielapidic serum significantly protected, at different levels, against cellular damage at the tested antielapidic serum:venom ratio.

Keywords: *Biventer cervicis*. Elapid Antiserum. Light Microscopy. *Micrurus spixii*. Snake Venom.

RESUMEN

Los venenos de las serpientes coral (*Micrurus* spp.) son neurotóxicos y miotóxicos. Se utilizó microscopía de luz para evaluar la miotoxicidad del veneno de *Micrurus spixii* y el potencial de neutralización del daño celular por el suero antielapídico. Se estudiaron músculos de preparaciones de *biventer cervicis* de pollito estimulados indirectamente durante 2 h, expuesto a (n=3 cada una) solución nutritiva de Krebs (control negativo), veneno (10 µg/mL) y pré-incubación (30 min, 37 °C) del veneno (10 µg/mL) con 0.03 mL de suero antielapídico. Los músculos fijados en formalina al 10% y mantenidos en alcohol al 70% se procesaron y embebieron en parafina para el análisis histológico. Se tiñeron cortes de 4 µm con hematoxilina-eosina y se analizaron a doble ciego para verificar la presencia de edema, vacuolas, condensación de miofibrillas y células fantasma (ghost cells). La incubación con veneno redujo drásticamente la proporción de células sanas, del 66.0±0.1% en el grupo control al 0.92±0.08% en el grupo con veneno (p<0.05). La pre-incubación del veneno con suero antielapídico protegió parcialmente contra esta reducción (4.8±0.42% de células sanas; p<0.05 en comparación con el veneno). El veneno aumentó la proporción de células con edema, condensación de miofibrillas y células fantasma, y duplicó la proporción de células vacuoladas. Las alteraciones disminuyeron en grados variados después de la pre-incubación con suero antielapídico. Los resultados muestran que el veneno causó alteraciones histomorfológicas en el músculo *biventer cervicis* y que el suero antielapídico protegió significativamente, a diferentes niveles, contra el daño celular en la proporción ensayada de suero antielapídico:veneno.

Palabras clave: *Biventer cervicis*. Microscopía de Luz. *Micrurus spixii*. Suero Antielapídico. Veneno de Serpiente.

1 INTRODUÇÃO

Os acidentes ofídicos integram a lista de doenças tropicais negligenciadas definida pela Organização Mundial de Saúde (OMS). O ofidismo é considerado um importante problema de saúde pública pois afeta, principalmente, a população mais carente de países tropicais e subtropicais, incluindo o Brasil (Ministério da Saúde, 2019; World Health Organization, 2019).

Existem 80 espécies de serpentes do gênero *Micrurus* espalhadas pelas Américas e no Brasil já foram registradas 38 espécies, distribuídas por todo o país (Ministério da Saúde, 2024; Silva *et al.*, 2021a,b). A espécie *Micrurus spixii* é encontrada no Brasil nos estados do Acre, Amazonas, Mato Grosso, Pará e Rondônia, especialmente na região da floresta amazônica, onde é popularmente conhecida como cobra coral amazônica (Buononato *et al.*, 2021; Silva *et al.*, 2021a,b; Terra *et al.*, 2015). Os hábitos de vida das serpentes do gênero *Micrurus* são descritos como criptozóicos, ou seja, elas preferem locais úmidos, escuros e protegidos e, também, possuem hábitos fossoriais ou semi-fossoriais, vivendo enterradas ou semi enterradas, têm natureza evasiva, produzem pouco veneno e não se adaptam bem ao cativeiro (Marques e Sazima, 2021).

De modo geral, os venenos do gênero *Micrurus* são neurotóxicos, sendo que as neurotoxinas presentes podem atuar em alvos pré- ou pós-sinápticos, ou em ambos (Baudou *et al.*, 2021; Floriano *et al.*, 2021; Gutiérrez *et al.*, 2021). Existem duas principais famílias de toxinas envolvidas na ação neurotóxica desses venenos: α -neurotoxinas, também chamadas de toxina de três dígitos (3 FTx), com atuação em alvos pós-sinápticos ligando-se aos receptores nicotínicos colinérgicos e muscarínicos; e as β -neurotoxinas, que são fosfolipases A₂ (PLA₂) de classe I, que atuam em alvos pré-sinápticos e são capazes de reduzir a liberação da acetilcolina (ACh). Além da ação neurotóxica, os venenos destas serpentes apresentam atividade miotóxica ao hidrolisar fosfolipídeos na membrana plasmática, acarretando danos celulares, reação inflamatória e alterações na coagulação sanguínea (Carbajal-Saucedo *et al.*, 2014; de Roodt *et al.*, 2021; Gutiérrez *et al.*, 2021; Terra *et al.*, 2015). Devido ao alto conteúdo destas toxinas em venenos de cobras corais (Aird *et al.*, 2017; 2021; Floriano *et al.*, 2021), a neurotoxicidade periférica é a principal manifestação do envenenamento sistêmico por estas serpentes em humanos (Bucaretti *et al.*, 2016; 2021).

O tratamento padrão recomendado para o envenenamento por *Micrurus* spp. no Brasil é a administração do soro antielapídico bivalente, produzido em cavalos a partir de um *pool* de peçonhas de duas espécies (*M. frontalis* e *M. corallinus*) (Bucaretti *et al.*, 2021; Ho *et al.*, 2021; Ministério da Saúde, 2001). Para o envenenamento humano por corais, desde 1987 o Ministério da Saúde recomenda o uso de 10 ampolas do soro antielapídico bivalente por via intravenosa para assegurar um tratamento eficaz e padronizando, e minimizar os riscos de uma sub- ou superdosagem de

antiveneno (Bucaretschi *et al.*, 2016; 2021). Mesmo que os sintomas iniciais do envenenamento por corais sejam apenas dor ou parestesia discretas, o Ministério da Saúde ressalta a importância de considerar todos os casos como potencialmente graves, devido ao risco de insuficiência respiratória.

A variação inter- e intraespecífica é um fator reconhecido em venenos ofídicos (Casewell *et al.*, 2020; Chippaux *et al.*, 1991; Lomonte *et al.*, 2014; Sousa *et al.*, 2021; Tasoulis e Isbister, 2023; Yu *et al.*, 2020) e, de fato, estudos transcriptômicos e venômicos indicam diferenças qualitativas e quantitativas marcantes na proporção dos principais grupos de toxinas que compõem os venenos de *Micrurus* (Lomonte *et al.*, 2021; Rey-Suárez *et al.*, 2025; Sanz *et al.*, 2019b) o que pode resultar em perfis toxicológicos distintos entre espécies (Silva Jr e Aird, 2001; Dashevsky *et al.*, 2024), fato este também conhecido para o veneno de *M. spixii* (Sanz *et al.*, 2019a). Essa complexidade destaca a dificuldade da produção de um antiveneno que abranja todas as variações taxonômicas e geográficas neste gênero (de Roodt *et al.*, 2021; Ho *et al.*, 2021; Rodríguez-Vargas *et al.*, 2024; Vélez *et al.*, 2024).

O veneno de *M. spixii* possui uma predominância de 3FTx e PLA₂ (Sanz *et al.*, 2019a), sendo que uma PLA₂ neurotóxica e miotóxica já foi caracterizada deste veneno (Terra *et al.*, 2015), mas a capacidade neutralizante do soro antielapídico contra esta miotoxicidade ainda não foi avaliada. Assim, nesta investigação, avaliou-se através de microscopia de luz, a miotoxicidade causada pelo veneno de *M. spixii* em músculo *biventer cervicis* de pintainho e o potencial de neutralização desta atividade pelo soro antielapídico produzido com venenos de outras duas espécies (*M. frontalis* e *M. corallinus*).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 REAGENTES, VENENO E SORO ANTIELAPÍDICO

Os reagentes para a análise histológica foram de grau analítico obtidos de fornecedores de reconhecida qualidade (Merck, Êxodo Científica, entre outras). O veneno de *M. spixii* usado neste estudo foi fornecido pelo Instituto Butantan e foi um *pool* formado por extrações de serpentes adultos de ambos os sexos. O soro antielapídico (lote nº 090310-03A, validade: 03/2013) foi produzido pela Fundação Ezequiel Dias (FUNED, MG, Brasil) e obtido através do Centro de Informação e Assistência Toxicológica (CIATox) da Universidade de Campinas (Unicamp), sendo gentilmente fornecido pelo Prof. Dr. S. Hyslop. De acordo com o fabricante, 1 mL do antiveneno neutraliza 1,5 mg de veneno de *M. frontalis*. Este soro é produzido pela imunização de cavalos com uma mistura de venenos de *M. corallinus* e *M. frontalis*.

2.2 PREPARAÇÃO ISOLADA DE *BIVENTER CERVICIS* DE PINTAINHO

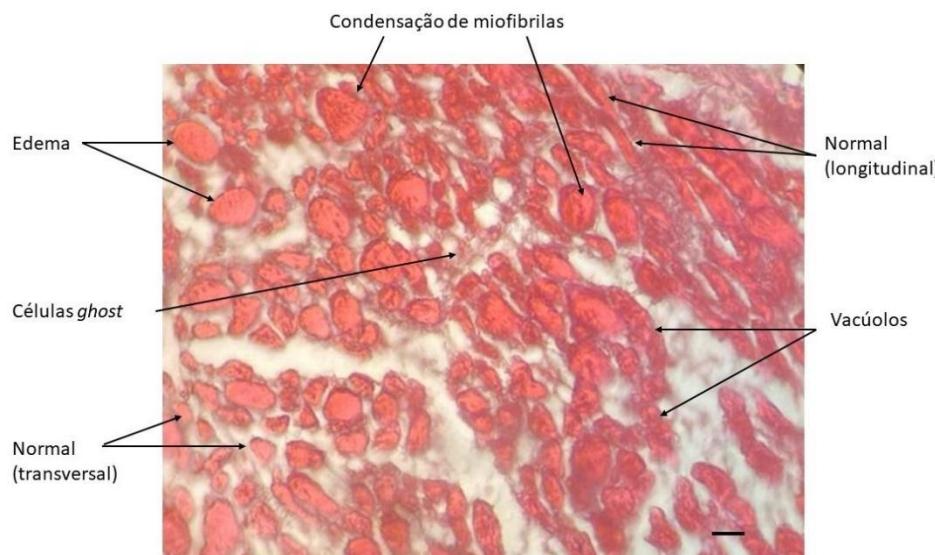
Os músculos estudados nesta investigação foram obtidos de experimentos *in vitro* com preparações isoladas de *biventer cervicis* (BC) de pintainho realizados por Cantuária (2022). Os protocolos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/Uniso, protocolo no. 229/2022). No caso dos protocolos envolvendo a neutralização por soro antielapídico, o veneno foi pré-incubado com soro antielapídico na proporção recomendada pelo fabricante (1 mL do soro neutraliza 1,5 mg do veneno de *M. frontalis*; Instituto Butantan) de modo que nestes experimentos com 10 µg de veneno/mL foram usados 0,03 mL (30 µL) de soro antielapídico seguido por incubação da mistura por 30 min a 37 °C antes da adição da mistura ao banho de órgãos contendo a preparação neuromuscular BC por 2 h.

2.3 ANÁLISE HISTOLÓGICA

A análise histológica foi feita conforme descrito anteriormente (Cantuária, 2022; Ferraz, 2013;). Ao término da incubação de 2 h (acima descrito), os músculos foram imediatamente fixados em formalina 10% e, posteriormente, mantidos em álcool 70%, até o processamento histológico de rotina. Cortes seriados (espessura de 4 µm) foram realizados em micrótomo (Cryostat 300 Ancap®) e, posteriormente, corados com hematoxilina-eosina (HE), antes de serem montados com lamínulas e coladas com Entellan (Merck®). As lâminas foram analisadas de modo duplo cego usando um fotomicroscópio AXIOSTAR Plus da Zeiss®. Para a contagem celular das imagens selecionadas primeiro foi verificada uma região adequada da lâmina, com boa quantidade de tecido para a leitura, nessas regiões foram definidas três linhas imaginárias, aleatórias e virtuais (início, meio e fim), onde realizou-se a contagem de células acima desta linha pré-definida. Após a análise quantitativa, foram selecionadas as melhores lâminas de cada grupo (controle Krebs, veneno, e veneno + soro antielapídico) para fotografar. Em estudo prévio, utilizando-se a técnica miográfica (Cantuária, 2022) e modelo de pré-incubação de veneno com soro antielapídico, realizou uma curva concentração-resposta, na qual diversas concentrações de veneno (5, 10, e 20 µg/mL) foram testadas em experimentos miográficos. Foi observado que a concentração de 5 µg/mL forneceu resultados insatisfatórios porque não causou lesões musculares claras que permitissem uma quantificação robusta da neutralização. Por outro lado, a concentração de 20 µg/mL resultou em um efeito tóxico exacerbado que impossibilitou a quantificação precisa da ação do soro antielapídico. Dessa forma, o trabalho de Cantuária (2022) estabeleceu a concentração de 10 µg/mL como a proporção ideal de veneno para os ensaios, por proporcionar um equilíbrio entre a indução do efeito e a possibilidade de avaliar a atividade neutralizante do soro antielapídico. Sendo assim, nesta investigação usamos a

concentração de 10 μg de veneno/mL baseado nos resultados do estudo anterior (Cantuária, 2022). As fotos das lâminas foram tiradas com aumento de 400X utilizando um Iphone 11 com câmera de 12MP (megapixels). Os tipos de lesões celulares foram definidos conforme mostrado na Figura 1.

Figura 1. Classificação dos tipos de lesão celular em músculo biventer cervicis de pintainho.



LEGENDA: Coloração: Hematoxilina-eosina. Barra = 1 cm = 40 μm .

Fonte: Elaboração Própria

2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram expressos pela média \pm erro padrão da média e analisados por análise de variância (ANOVA) de uma via, seguido pelo teste de múltiplas comparações de Tukey, com $p < 0,05$ indicando significância. As análises estatísticas foram feitas utilizando-se o software Origin 9.5 (OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA).

3 RESULTADOS

Neste estudo realizou-se a análise histológica por microscopia de luz em músculo biventer cervicis obtido de preparações neuromusculares isoladas usadas para avaliar a ação do veneno de *M. spixii* através de técnica miográfica. Os músculos analisados foram obtidos de preparações incubadas com solução Krebs (controle negativo), veneno (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) e veneno pré-incubado com soro antielapídico. A Figura 2 mostra a proporção (%) de células saudáveis, com edema, com vacúolos, com condensação de miofibrilas e células *ghost* (representado por espaços opticamente vazios resultantes da mionecrose da célula restando apenas núcleos dispersos no citoplasma), nos três grupos analisados.

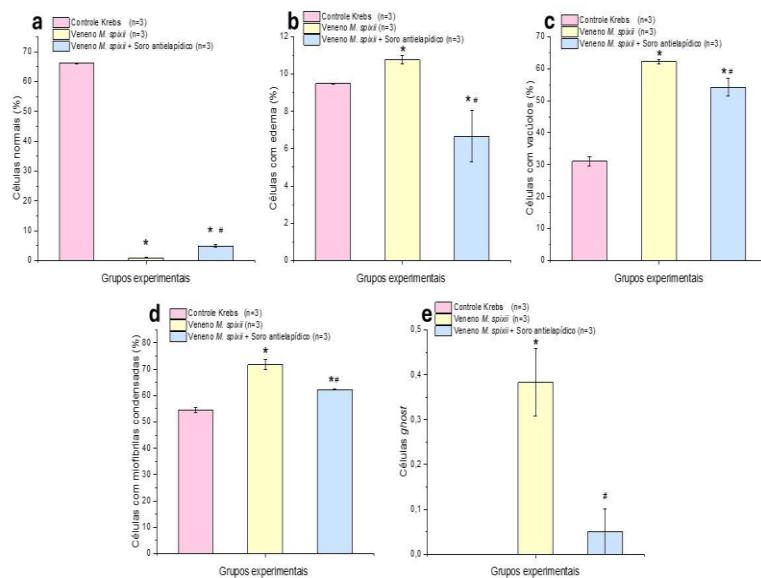
A incubação com o veneno reduziu marcadamente a porcentagem de células saudáveis ($0,92 \pm 0,08\%$ de células saudáveis) quando comparado ao controle, que apresentaram $66,1 \pm 0,1\%$ de células saudáveis. A pré-incubação com soro antielapídico elevou para $4,8 \pm 0,4\%$ as células saudáveis ($n=3$; $p<0,05$), uma proteção de 8% quando comparado ao grupo controle (Fig. 2a). O veneno causou um leve, mas significativo aumento na proporção de células com edema quando comparado ao controle (de $9,5 \pm 0,01\%$ para $10,8\% \pm 0,2\%$; $n=3$; $p<0,05$). Já o soro antielapídico protegeu contra este aumento causado pelo veneno, e reduziu a proporção de células com edema para um valor ($6,7 \pm 1,4\%$) menor que aquele visto no grupo controle (incubado com apenas solução de Krebs) (Fig. 2b).

A incubação com veneno dobrou a proporção de células vacuoladas quando comparado ao músculo controle (de $31,0 \pm 1,5\%$ no controle para $62,2 \pm 0,5\%$ com veneno; $n=3$; $p<0,05$), e a pré-incubação com soro antielapídico atenuou esta vacuolização em aproximadamente 13% (para $54,2 \pm 2,9\%$; $n=3$; $p<0,05$) (Fig. 2c). Em grupo controle, $54,5 \pm 1,0\%$ das células mostraram condensação de miofibrilas, e este valor aumentou para $71,7 \pm 1,9\%$ (um aumento de 31,5%) quando incubado com veneno. A pré-incubação com soro antielapídico reduziu a proporção de células com condensação de miofibrilas em 13,1% (para $62,3 \pm 0,2\%$, em comparação à proporção vista com veneno sozinho; $n=3$; $p<0,05$) (Fig. 2d).

Com relação às células *ghost*, a exposição ao veneno aumentou a frequência destas células (de $0 \pm 0\%$ no controle para $0,38 \pm 0,07\%$ com veneno), e este aumento foi quase abolido pela pré-incubação com soro antielapídico (para $0,05 \pm 0,05\%$; $n=3$; $p<0,05$ comparado ao veneno sozinho; não houve diferença significativa em relação ao controle) (Fig. 2e).

Os resultados mostram que, de modo geral, o soro antielapídico protegeu contra as alterações histomorfológicas causadas pelo veneno de *M. spixii*. Entretanto, o grau de neutralização variou conforme o parâmetro avaliado, com a maior proteção sendo observada em relação às células com edema (Fig. 2b) e células *ghost* (Fig. 2e). A proteção contra as outras alterações foi menor ($\leq 13\%$). Vale salientar que, em vários cortes histológicos, constatou-se a presença de dois ou mais tipos de dano em uma mesma célula. Além disso, no grupo controle (Krebs) foram encontrados diversos artefatos que podem ser resultante de fatores como armazenamento e manipulação durante a análise, o que justifica um aumento significativo em células danificadas no grupo controle (Krebs).

Figura 2. Análise quantitativa das lesões celulares em músculo biventer cervical de pintainho incubado com veneno de *M. spixii* sem ou após pré-incubação com o soro antielapídico



LEGENDA: Os parâmetros analisados foram: (a) Células normais, (b) Células com edema, (c) Células com vacúolos, (d) Células com miofibrilas condensadas, e (e) Células ghost. As colunas representam a média \pm EPM (n=3). *p<0,05 em relação ao controle (solução de Krebs), #p<0,05 em relação ao veneno.

Fonte: Elaboração Própria.

4 DISCUSSÃO

Os venenos de *Micrurus* spp. são constituídos principalmente por toxinas das famílias 3FTx e PLA₂ (Aird e Silva, 2021; Lomonte *et al.*, 2021).

As toxinas 3FTx constituem uma família de toxinas com diversas atividades, tais como neurotoxicidade, citotoxicidade, cardiotoxicidade, coagulotoxicidade, atividade proteolítica e inibição de acetilcolinesterase (Nirthanan, 2020). Análises recentes indicam que as 3FTx têm uma classificação bastante complexa e diversificada, com diversas subfamílias (Choudhury e Das, 2025; Hiremath *et al.*, 2024; Kini e Koh, 2025; Koh e Kini, 2025), incluindo as α -neurotoxinas responsáveis pela neurotoxicidade de venenos de *Micrurus* (Floriano *et al.*, 2021). Kleiz-Ferreira *et al.* (2021) analisaram as características estruturais das toxinas 3FTx encontradas em venenos de *Micrurus* e mostraram que os venenos de *M. spixii*, *M. frontalis* e *M. corallinus* possuem 3FTx que formam um subgrupo, o que indica certo grau de proximidade entre estes venenos. O bloqueio de receptores nicotínicos colinérgicos pós-sinápticos por α -neurotoxinas da família 3FTx é o principal mecanismo responsável pela neurotoxicidade e paralisia neuromuscular deste veneno *in vitro* e *in vivo* (Aird *et al.*, 2017; Floriano *et al.*, 2021; Vital Brazil *et al.*, 1995), embora possa haver também uma contribuição de PLA₂ (Terra *et al.*, 2015).

As PLA₂s ofídicas são enzimas dependentes de cálcio que podem causar neurotoxicidade, miotoxicidade e citotoxicidade direta em fibras esqueléticas, devido à sua capacidade de hidrolisar

glicerofosfolipídios, gerando ácidos graxos livres e lisofosfolipídeos. As PLA₂ classificadas no gênero *Micrurus* spp. pertencem à classe I de PLA₂ e exercem atividades como letalidade, neurotoxicidade, miotoxicidade, edema/inflamação e dor, além de afetar a coagulação (Aird e Silva Jr., 2017; 2021; Casais-e-Silva *et al.*, 2022; 2025; Floriano *et al.*, 2021; Gutiérrez *et al.*, 2021; Sanz *et al.*, 2019a; Setúbal *et al.*, 2025).

O veneno de *M. spixii* é miotóxico em camundongos e esta miotoxicidade tem sido atribuída à atividade PLA₂ (Barros *et al.*, 1994; Gutiérrez *et al.*, 1992; Terra *et al.*, 2015; Valeriano-Zapana *et al.*, 2013). Com respeito à miotoxicidade, após ruptura da membrana celular, ocorre alteração na permeabilidade da membrana, levando ao colapso do gradiente iônico gerando um influxo rápido de Ca²⁺ e efluxo de moléculas citosólicas, resultando em vários tipos de lesões teciduais (Gutiérrez e Ownby, 2003; Lomonte, 2023; López-Dávila *et al.*, 2024; Montecucco *et al.*, 2008).

Conforme mostrado, o veneno ocasionou lesões em quase todas as células esqueléticas do músculo biventer cervicis de pintinhos, com apenas 0,92% delas aparecendo saudáveis, comparado às 66,1% saudáveis em músculo controle. A Fig. 2 indica que vários tipos de lesões celulares foram observados no músculo. Barros *et al.* (1994) e Tambourgi *et al.* (1994) mostraram que o veneno de *M. spixii* causa edema em camundongos, com perfil de atividade semelhante aos venenos de *M. avery*, *M. hemprichii*, *M. ibiboboca* e *M. lemniscatus*. Considerando o que já é sabido sobre os efeitos de 3FTx e PLA₂, pode-se atribuir que o edema seja um evento induzido pela PLA₂ do veneno (Terra *et al.*, 2015), assim como observado com outros venenos de *Micrurus* (Casais-e-Silva *et al.*, 2022).

A presença de vacúolos e o aparecimento de regiões com condensação de miofibrilas refletem dano à membrana plasmática, seguido de desequilíbrio iônico e o influxo descontrolado de Ca²⁺, resultando em lesões no citoplasma que precedem a ruptura completa das fibras para levar, finalmente, à mionecrose (De Barros, 2017; Gutiérrez e Ownby, 2003; Montecucco *et al.*, 2008). A condensação de miofibrilas envolve a agregação de proteínas danificadas que formam corpos densos no citosol e leva à desorganização do padrão estriado da fibra muscular esquelética (Luna, 2010; Montecucco *et al.*, 2008).

O aparecimento de células *ghost* ocorre por conta da ruptura da membrana plasmática, da liberação de componentes citosólicos e influxo de Ca²⁺, e do colapso de gradiente iônico, gerando mionecrose tecidual. Essa lesão é caracterizada pelo desaparecimento da fibra muscular integral, restando apenas componentes citoplasmáticos agrupados de forma desorganizada na matriz extracelular (Gutiérrez e Ownby, 2003) que, ao microscópio óptico, apresenta-se com aspecto hialino representativo de áreas opticamente vazias. Conforme mostrado aqui, a exposição ao veneno resultou em pouca formação de células deste tipo (0,38%) quando comparado ao índice elevado de células

danificadas em geral (apenas 0,92% de células saudáveis comparado com 66,1% em músculo controle).

Os resultados desta investigação indicam que o soro antielapídico neutraliza a atividade miotóxica do veneno, com eficácia maior para a neutralização do edema e da formação de células *ghosts*. É de extrema importância este achado, uma vez que o edema é um dos primeiros efeitos que surgem em acidentes causados por venenos ofídicos que desencadeiam citotoxicidade local ou sistêmica (Seifert *et al.*, 2023). Como resultado da ação do soro elapídico, em nosso estudo, ao minimizar o edema impediu-se os eventos seguintes até a mionecrose, o que resultou em menor quantidade de células *ghost*. Para os outros danos celulares investigados, o grau de neutralização foi discreto ($\leq 13\%$).

Em investigação anterior, o soro antielapídico mostrou-se pouco eficaz contra a miotoxicidade deste veneno *in vivo* em camundongos, mesmo quando avaliado em uma proporção duas vezes maior que a recomendada pelo fabricante (Cantuária, 2024). Investigações com venenos de outras espécies de *Micrurus*, e.g., *M. corallinus* (Silva-Carvalho *et al.*, 2021a) e *M. d. carinicauda* (Silva-Carvalho *et al.*, 2022b), também relataram que o soro antielapídico foi pouco eficaz em neutralizar a miotoxicidade em ratos.

O soro antielapídico usado terapeuticamente é produzido usando um *pool* de venenos de apenas duas espécies de cobras corais, *M. corallinus* e *M. frontalis* (Ho *et al.*, 2021). É sabido que este antiveneno apresenta reatividade cruzada e capacidade neutralizante variáveis entre os venenos de *Micrurus* (Higashi *et al.*, 1995; Prieto da Silva *et al.*, 2001; Tanaka *et al.*, 2010; 2016), e esta variabilidade poderia explicar a neutralização parcial das lesões celulares aqui descritas. Tanaka *et al.* (2010) mostraram que a *M. spixii* possui um dos venenos mais letais deste gênero e notaram que o soro antielapídico não foi capaz de neutralizar completamente a atividade fosfolipásica deste veneno, além de mostrar-se pouco eficaz em proteger contra a letalidade do veneno (Tanaka *et al.*, 2010; 2016).

5 CONCLUSÃO

Os resultados desta investigação mostram que o veneno de *M. spixii* causa mionecrose em músculo *biventer cervicis* de pintainho e que esta atividade foi significativamente ($p < 0,05$) neutralizada pelo soro antielapídico após pré-incubação com o veneno. Sugere-se, de acordo com a literatura, que o dano celular tenha sido causado pela atividade fosfolipásica do veneno. O envolvimento de outros componentes do veneno, como as toxinas 3FTx e, eventualmente, metaloproteinases, ainda precisa ser avaliado.

AGRADECIMENTOS

À Dra. M. M. T. da Rocha por disponibilizar o veneno proveniente do Laboratório de Herpetologia – CDC – IB, para o estudo. À Uniso pelos recursos materiais e permanentes disponibilizados.

REFERÊNCIAS

- AIRD, S. D.; SILVA JR., N. J. Chemistry of coralsnake venoms. In: SILVA JR., N. J.; PORRAS, L. W.; AIRD, S. D.; PRUDENTE, A. L. C. (Org.). Advances in Coralsnake Biology: With an Emphasis on South America. Eagle Mountain, UT: Eagle Mountain Publishing LC, 2021. p. 399-484.
- AIRD, S. D. et al. Coralsnake Venomics: Analyses of Venom Gland Transcriptomes and Proteomes of Six Brazilian Taxa. *Toxins*, v. 9, n. 6, 1 jun. 2017. <https://doi.org/10.3390/toxins9060187>
- Barros, A. C. et al. Local effects induced by venoms from five species of genus *Micrurus* sp. (coral snakes). *Toxicon* : official journal of the International Society on Toxinology, v. 32, n. 4, p. 445–452, 1994. [https://doi.org/10.1016/0041-0101\(94\)90296-8](https://doi.org/10.1016/0041-0101(94)90296-8)
- BAUDOU, F. G. et al. South American snake venoms with abundant neurotoxic components. Composition and toxicological properties. A literature review. *Acta Tropica*, v. 224, p. 106119, 1 dez. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2021.106119>
- BUCARETCHI, F. et al. Coral snake bites (*Micrurus* spp.) in Brazil: a review of literature reports. *Clinical toxicology (Philadelphia, Pa.)*, v. 54, n. 3, p. 222–234, 15 mar. 2016. <https://doi.org/10.3109/15563650.2015.1135337>
- BUCARETCHI, F.; DE CAPITANI, E. M.; HYSLOP, S. Coralsnake envenomation in Brazil. In: SILVA JR., N. J.; PORRAS, L. W.; AIRD, S. D.; PRUDENTE, A. L. C. (Org.). Advances in Coralsnake Biology: With an Emphasis on South America. Eagle Mountain, UT: Eagle Mountain Publishing LC, 2021. p. 703-744.
- BUONONATO, M. A.; MELGAREJO, A. R.; PUORTO, G.; SILVA JR., N. J. Coralsnakes of medical interest in Brazil. In: SILVA JR., N. J.; PORRAS, L. W.; AIRD, S. D.; PRUDENTE, A. L. C. (Org.). Advances in Coralsnake Biology: With an Emphasis on South America. Eagle Mountain, UT: Eagle Mountain Publishing LC, 2021. p. 651-676.
- CANTUÁRIA, N. M. Influência da presença de crotamina na composição do veneno de *Crotalus durissus terrificus* sob abordagem neurobloqueadora e histológica. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade de Sorocaba (UNISO), Sorocaba, 2022. Acesso em: 25 ago. 2025.
- CANTUÁRIA, N. M. Avaliação das diferentes atividades tóxicas do veneno de *Micrurus spixii*, e a eficácia de neutralização do soro antielapídico, varespladib e neostigmina através de estudo in vitro, in vivo e ex vivo. 2024. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Sorocaba (UNISO), Sorocaba, 2024. Disponível em: <<https://uniso.br/mestrado-doutorado/farmacia/dissertacoes/2024/nathalia-margarida.pdf>>. Acesso em: 3 jul. 2025.
- CARBAJAL-SAUCEDO, A. et al. Neuromuscular activity of *Micrurus laticollaris* (Squamata: Elapidae) venom in vitro. *Toxins*, v. 6, n. 1, p. 359–370, 2014. <https://doi.org/10.3390/toxins6010359>

CASAIS-E-SILVA, L. L.; DA CRUZ-HOFLING, Maria Alice; TEIXEIRA, Catarina F. P. The edematogenic effect of *Micrurus lemniscatus* venom is dependent on venom phospholipase A2 activity and modulated by non-neurogenic factors. *Toxicology Letters*, v. 369, p. 12–21, 1 out. 2022. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2022.08.003>

CASAIS-E-SILVA, L. L. et al. *Micrurus lemniscatus* venom stimulates leukocyte functions in vivo. *Archives of toxicology*, v. 99, n. 4, p. 1591–1603, 1 abr. 2025. <https://doi.org/10.1007/s00204-025-03970-z>

CASEWELL, N. R. et al. Causes and Consequences of Snake Venom Variation. *Trends in Pharmacological Sciences*, v. 41, n. 8, p. 570–581, 1 ago. 2020.
<https://doi.org/10.1016/j.tips.2020.05.006>

CHIPPAUX, J. P.; WILLIAMS, V.; WHITE, J. Snake venom variability: methods of study, results and interpretation. *Toxicon*, v. 29, n. 11, p. 1279–1303, 1991. [https://doi.org/10.1016/0041-0101\(91\)90116-9](https://doi.org/10.1016/0041-0101(91)90116-9)

CHOUDHURY, M.; DAS, M. Snake Venom Three-Finger Neurotoxins and Neurotoxin-Like Proteins: Insights Into Their Structural and Functional Aspects Along With Their Pharmacological Potential. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, v. 137, n. 6, 1 dez. 2025.
<https://doi.org/10.1111/bcpt.70144>

DASHEVSKY, D. et al. Red-on-Yellow Queen: Bio-Layer Interferometry Reveals Functional Diversity Within *Micrurus* Venoms and Toxin Resistance in Prey Species. *Journal of molecular evolution*, v. 92, n. 3, p. 317–328, 1 jun. 2024. <https://doi.org/10.1007/s00239-024-10176-x>

de BARROS, N. Fosfolipase Asp-49 de *Bothrops jararacussu* encapsulada em lipossomas como terapia alternativa para leishmaniose cutânea. 2017. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2017. Disponível em:
https://tede.ufam.edu.br/bitstream/tede/6298/5/Tese_Neuza%20B.%20Barros.pdf. Acesso em: 9 jun. 2025.

de ROODT, A. R. et al. Cross-reactivity of some *Micrurus* venoms against experimental and therapeutic anti-*Micrurus* antivenoms. *Toxicon : official journal of the International Society on Toxinology*, v. 200, p. 153–164, 1 set. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2021.07.011>

FERRAZ, M. C. Estudo biomonitorado de compostos isolados da planta *Dipteryx alata* Vogel contra venenos ofídicos. 2013. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Sorocaba, Sorocaba, 2013. Disponível em: <https://repositorio.uniso.br/handle/uniso/589>. Acesso em: 28 set. 2025.

FLORIANO, R. S.; SCHEZARO-RAMOS, R.; HYSLOP, S. Neuropharmacology of coralsnake (*Micrurus*) venoms. In: SILVA JR., N. J.; PORRAS, L. W.; AIRD, S. D.; PRUDENTE, A. L. C. (Org.). *Advances in Coralsnake Biology: With an Emphasis on South America*. Eagle Mountain, UT: Eagle Mountain Publishing LC, 2021. p. 535-635.

GUTIÉRREZ, J. M.; OWNBY, C. L. Skeletal muscle degeneration induced by venom phospholipases A 2: Insights into the mechanisms of local and systemic myotoxicity. *Toxicon*, v. 42, n. 8, p. 915–931, 2003. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2003.11.005>

GUTIÉRREZ, J. M.; LOMONTE, B.; AIRD, S. D.; SILVA JR., N. J. Biological activities and action mechanisms of coralsnake venoms. In: SILVA JR., N. J.; PORRAS, L. W.; AIRD, S. D.; PRUDENTE, A. L. C. (Org.). *Advances in Coralsnake Biology: With an Emphasis on South America*. Eagle Mountain, UT: Eagle Mountain Publishing LC, 2021. p. 519-533.

GUTIÉRREZ, J. M. et al. Experimental myonecrosis induced by the venoms of South American *Micrurus* (coral snakes). *Toxicon*, v. 30, n. 10, p. 1299–1302, 1992. [https://doi.org/10.1016/0041-0101\(92\)90446-c](https://doi.org/10.1016/0041-0101(92)90446-c)

HIGASHI, H. G. et al. Antigenic cross-reactivity among components of Brazilian Elapidae snake venoms. *Brazilian journal of medical and biological research*, v. 28, n. 7, p. 767-771, 1995.

HIREMATH, K. et al. Three finger toxins of elapids: structure, function, clinical applications and its inhibitors. *Molecular diversity*, v. 28, n. 5, p. 3409–3426, 1 out. 2024. <https://doi.org/10.1007/s11030-023-10734-3>

HO, P. L.; YAMAGUCHI, I. K.; TAMBOURGI, D. V. Immunology of coralsnake venoms and antivenom production. In: SILVA JR., N. J.; PORRAS, L. W.; AIRD, S. D.; PRUDENTE, A. L. C. (Org.). *Advances in Coralsnake Biology: With an Emphasis on South America*. Eagle Mountain, UT: Eagle Mountain Publishing LC, 2021. p. 637-650.

KINI, R. M.; KOH, C. Y. Variations in “Functional Site” Residues and Classification of Three-Finger Neurotoxins in Snake Venoms. *Toxins*, v. 17, n. 8, 1 ago. 2025. <https://doi.org/10.3390/toxins17080364>

KLEIZ-FERREIRA, J. M. et al. Three-Finger Toxins from Brazilian Coral Snakes: From Molecular Framework to Insights in Biological Function. *Toxins*, v. 13, n. 5, 1 maio 2021. <https://doi.org/10.3390/toxins13050328>

KOH, C. Y.; KINI, R. M. Orphan Three-Finger Toxins from Snake Venoms: Unexplored Library of Novel Biological Ligands with Potential New Structures and Functions. *International journal of molecular sciences*, v. 26, n. 18, 1 set. 2025. <https://doi.org/10.3390/ijms26188792>

LOMONTE, B. Lys49 myotoxins, secreted phospholipase A2-like proteins of viperid venoms: A comprehensive review. *Toxicon*, v. 224, 1 mar. 2023. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2023.107024>

LOMONTE, B. et al. Venomous snakes of Costa Rica: biological and medical implications of their venom proteomic profiles analyzed through the strategy of snake venomics. *Journal of proteomics*, v. 105, p. 323–339, 13 jun. 2014. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2014.02.020>

LOMONTE, B. et al. Venomic analyses of coralsnakes. In: SILVA JR., N. J.; PORRAS, L. W.; AIRD, S. D.; PRUDENTE, A. L. C. (Org.). *Advances in Coralsnake Biology: With an Emphasis on South America*. Eagle Mountain, UT: Eagle Mountain Publishing LC, 2021. p. 485-518.

LÓPEZ-DÁVILA, A. J.; LOMONTE, B.; GUTIÉRREZ, J. M. Alterations of the skeletal muscle contractile apparatus in necrosis induced by myotoxic snake venom phospholipases A2: a mini-review. *Journal of muscle research and cell motility*, v. 45, n. 2, p. 69–77, 1 jun. 2024. <https://doi.org/10.1007/s10974-023-09662-4>

LUNA, K. P. O. Avaliação da resposta imune relacionada à ação dos venenos das serpentes *Bothrops erythromelas* e *Crotalus durissus cascavella*. 2010. Tese (Doutorado em Saúde Pública) – Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Recife, 2010. Disponível em: <<https://www.cpqam.fiocruz.br/bibpdf/2010luna-kpo.pdf>>. Acesso em: 15 jun. 2025.

MARQUES, O. A. V.; SAZIMA, I. The natural history of New World coralsnakes. In: SILVA JR., N. J.; PORRAS, L. W.; AIRD, S. D.; PRUDENTE, A. L. C. (Org.). *Advances in Coralsnake Biology: With an Emphasis on South America*. Eagle Mountain, UT: Eagle Mountain Publishing LC, 2021. p. 275-289.

Ministério da Saúde. Manual de diagnóstico e tratamento de acidentes por animais peçonhentos. 2. ed. Brasília, DF: Fundação Nacional de Saúde, 2001.

Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Vigilância em saúde no Brasil 2003|2019: Da criação da Secretaria de Vigilância em Saúde aos dias atuais. Boletim Epidemiológico, [Brasília, DF], v. 50, n. esp., p. 1-154, 2019. Disponível em: <<http://www.saude.gov.br/boletins-epidemiologicos>>. Acesso em: 17 ago. 2025.

Ministério da Saúde. Tratamento de acidentes ofídicos. [S. l.]: Ministério da Saúde, 2024. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/a/animais-peconhentos/acidentes-ofidicos/tratamento>>. Acesso em: 14 ago. 2025.

MONTECUCCO, C.; GUTIÉRREZ, J. M.; LOMONTE, B. Cellular pathology induced by snake venom phospholipase A2 myotoxins and neurotoxins: common aspects of their mechanisms of action. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*, v. 65, n. 18, p. 2897–2912, set. 2008. <https://doi.org/10.1007/s00018-008-8113-3>

NIRTHANAN, S. Snake three-finger α -neurotoxins and nicotinic acetylcholine receptors: molecules, mechanisms and medicine. *Biochemical pharmacology*, v. 181, 1 nov. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2020.114168>

PINHO, F. M.; PEREIRA, I. D. [Snake bites]. *Revista da Associação Médica Brasileira* (1992), v. 47, n. 1, p. 24–29, 2001. <https://doi.org/10.1590/S0104-42302001000100026>

PRIETO DA SILVA, A. R. et al. Cross reactivity of different specific *Micrurus* antivenom sera with homologous and heterologous snake venoms. *Toxicon*, v. 39, n. 7, p. 949-953, 2001. [https://doi.org/10.1016/s0041-0101\(00\)00233-6](https://doi.org/10.1016/s0041-0101(00)00233-6).

REY-SUÁREZ, P. et al. Assessment of venom variation and phylogenetic relationships of *Micrurus dumerilii* from three different regions of Colombia. *Biochimie*, v. 235, p. 93–105, 1 ago. 2025. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2025.06.003>

RODRÍGUEZ-VARGAS, A. et al. Immunological Cross-Reactivity and Preclinical Assessment of a Colombian Anticoral Antivenom against the Venoms of Three *Micrurus* Species. *Toxins*, v. 16, n. 2, 1 fev. 2024. <https://doi.org/10.3390/toxins16020104>

SANZ, L. et al. Comparative venomics of Brazilian coral snakes: *Micrurus frontalis*, *Micrurus spixii spixii*, and *Micrurus surinamensis*. *Toxicon : official journal of the International Society on Toxinology*, v. 166, p. 39–45, (2019a) <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2019.05.001>

SANZ, L. et al. New insights into the phylogeographic distribution of the 3FTx/PLA 2 venom dichotomy across genus *Micrurus* in South America. *Journal of Proteomics*, v. 200, p. 90–101, (2019b). <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2019.03.014>

SEIFERT, S. A.; ARMITAGE, J. O.; SANCHEZ, E. E. Snake Envenomation. *The New England journal of medicine*, v. 386, n. 1, p. 68–78, 6 jan. 2022. <https://doi.org/10.1056/nejmra2105228>

SETÚBAL, S. da S. et al. Unveiling the inflammatory response in macrophages induced by *Micrurus lemniscatus* venom. *Toxicon*, v. 268, 1 dez. 2025.
<https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2025.108634>

SILVA-CARVALHO, R. et al. In vivo treatment with varespladib, a phospholipase A2 inhibitor, prevents the peripheral neurotoxicity and systemic disorders induced by *Micrurus corallinus* (coral snake) venom in rats. *Toxicology letters*, v. 356, p. 54–63, (2022a).
<https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2021.11.003>

SILVA-CARVALHO, R. et al. Partial efficacy of a Brazilian coralsnake antivenom and varespladib in neutralizing distinct toxic effects induced by sublethal *Micrurus dumerilii carinicauda* envenoming in rats. *Toxicon : official journal of the International Society on Toxinology*, v. 213, p. 99–104, (2022b). <https://doi.org/10.1016/J.TOXICON.2022.04.014>

SILVA JR., N. J.; AIRD, S. D. Prey specificity, comparative lethality and compositional differences of coral snake venoms. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C Toxicology & Pharmacology*, v. 128, n. 3, p. 425-456, 2001.

SILVA JR., N. J. et al. New World coralsnakes: an overview. In: SILVA JR., N. J. et al. (Org.). *Advances in Coralsnake Biology: With an Emphasis on South America*. Eagle Mountain, UT: Eagle Mountain Publishing LC, 2021a. p. 115-139.

SILVA JR., N. J. et al. Coralsnake diversity in Brazil. In: SILVA JR., N. J. et al. (Org.). *Advances in Coralsnake Biology: With an Emphasis on South America*. Eagle Mountain, UT: Eagle Mountain Publishing LC, 2021b. p. 141-251.

SOUSA, L. F. et al. Individual Variability in *Bothrops atrox* Snakes Collected from Different Habitats in the Brazilian Amazon: New Findings on Venom Composition and Functionality. *Toxins*, v. 13, n. 11, art. 814, 2021. <https://doi.org/10.3390/toxins13110814>

TANAKA, G. D. et al. Diversity of *Micrurus* snake species related to their venom toxic effects and the prospective of antivenom neutralization. *PLoS neglected tropical diseases*, v. 4, n. 3, mar. 2010. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000622>

TANAKA, G. D. et al. *Micrurus* snake species: venom immunogenicity, antiserum cross-reactivity and neutralization potential. *Toxicon*, v. 117, p. 59-68, 2016.
<https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2016.03.020>

TASOULIS, T.; ISBISTER, G. K. A current perspective on snake venom composition and constituent protein families. *Archives of toxicology*, v. 97, n. 1, p. 133–153, 1 jan. 2023.
<https://doi.org/10.1007/s00204-022-03420-0>

TERRA, A. L. C. et al. Biological characterization of the Amazon coral *Micrurus spixii* snake venom: isolation of a new neurotoxic phospholipase A2. *Toxicon*, v. 103, p. 1-11, 2015.
<https://doi.org/10.1016/J.TOXICON.2015.06.011>

VALERIANO-ZAPANA, J. A. et al. Purificación y caracterización de una nueva PLA2 del veneno total de *Micrurus spixii*. *ECIPeru: Revista del Encuentro Científico Internacional*, v. 9, n. 2, p. 27-32, 2013.

VÉLEZ, S. T. et al. Standard quality characteristics and efficacy of a new third-generation antivenom developed in Colombia covering *Micrurus* spp. venoms. *Toxins*, v. 16, n. 4, art. 183, 2024. <https://doi.org/10.3390/toxins16040183>

VITAL BRAZIL, O.; FONTANA, M. D.; HELUANY, N. F. Mode of action of the coral snake *Micrurus spixii* venom at the neuromuscular junction. *Journal of Natural Toxins*, v. 4, p. 19-33, 1995.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Snakebite envenoming: a strategy for prevention and control. Geneva: WHO, 2019. Disponível em:
<https://www.who.int/publications/i/item/9789241515641>. Acesso em: 26 jul. 2025.

YU, C.; YU, H.; LI, P. Highlights of animal venom research on the geographical variations of toxin components, toxicities and envenomation therapy. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 165, n. B, p. 2994-3006, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.10.190>