

Escola Superior São Francisco de Assis
Curso de Graduação em Medicina Veterinária

Eduardo Fernando Zetum Serbate

**VARIABILIDADE DE PARÂMETROS FISIOLÓGICOS EM RATOS
WISTAR NO BRASIL: UMA ANÁLISE CRÍTICA SOBRE A
PADRONIZAÇÃO E A CRISE DE REPRODUTIBILIDADE**

Santa Teresa – ES

2025

Eduardo Fernando Zetum Serbate

**VARIABILIDADE DE PARÂMETROS FISIOLÓGICOS EM RATOS
WISTAR NO BRASIL: UMA ANÁLISE CRÍTICA SOBRE A
PADRONIZAÇÃO E A CRISE DE REPRODUTIBILIDADE**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado à Coordenação do curso de
Medicina Veterinária da Escola Superior
São Francisco de Assis, como requisito
parcial para obtenção do título de
Bacharel em Medicina Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Gabriel Henrique
Taufner

Co-orientador: Prof. Dr. Rodolpho José da
Silva Barros

Santa Teresa – ES

2025

Eduardo Fernando Zetum Serbate

**VARIABILIDADE DE PARÂMETROS FISIOLÓGICOS EM RATOS
WISTAR NO BRASIL: UMA ANÁLISE CRÍTICA SOBRE A
PADRONIZAÇÃO E A CRISE DE REPRODUTIBILIDADE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do curso de Medicina Veterinária da Escola Superior São Francisco de Assis como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Aprovada em ____ de _____ de 2025.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Gabriel Henrique Taufner
Escola Superior São Francisco de Assis

Profa. Ma. Gabriela Ponath Peruzzo
Escola Superior São Francisco de Assis

Prof. Esp. Gabriel Pizziolo da Motta
Escola Superior São Francisco de Assis

“A ciência se constitui como tal pelo questionamento de suas próprias bases.”
— Gaston Bachelard

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todas as pessoas que fizeram e fazem parte da minha vida. Entre alguns de vocês, sinto que não convivo apenas com pessoas, mas com verdadeiros anjos.

Que Deus abençoe a todos nós.

Meu agradecimento especial vai para minha parceira e minha família: sem vocês, eu não seria quem sou.

Expresso também minha profunda gratidão aos meus professores, que caminharam ao meu lado ao longo de toda a jornada acadêmica e contribuíram diretamente para que eu chegasse até este momento.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Caracterização dos estudos selecionados representativos das cinco macrorregiões brasileiras e seus respectivos fatores de variabilidade.....	25
Tabela 2 - Comparativo de parâmetros bioquímicos médios de ratos Wistar (Grupo Controle) reportados nas cinco macrorregiões brasileiras.	27
Tabela 3 - Variabilidade dos parâmetros bioquímicos (média) de ratos Wistar associada a fatores nutricionais e temporais.....	30
Tabela 4 – Impacto da exposição ambiental à amônia (~90 ppm) sobre parâmetros bioquímicos em ratos Wistar após 5 dias de exposição.	31
Tabela 5 - Comparativo de parâmetros hematológicos médios de ratos Wistar (Grupo Controle) reportados nas cinco macrorregiões brasileiras.	32
Tabela 6 - Discrepâncias nos parâmetros hematológicos entre biotérios brasileiros associadas a variações metodológicas e sanitárias.	36

LISTA DE SIGLAS

3Rs	<i>Replacement, Reduction, Refinement</i> (Substituição, Redução e Refinamento)
ALP	Fosfatase Alcalina (<i>Alkaline Phosphatase</i>)
ALT	Alanina Aminotransferase
AST	Aspartato Aminotransferase
BRI	<i>Brazilian Reproducibility Initiative</i>
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
GGT	Gama-glutamyltransferase
HCT	Hematócrito
HGB	Hemoglobina
HHA	Eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal
MCV	<i>Mean Corpuscular Volume</i> (Volume Corpuscular Médio)
ND	Dado não disponível
ppm	Partes por milhão
RBC	<i>Red Blood Cells</i> (Contagem de Hemácias)
RT	Responsável Técnico
VCM	Volume Corpuscular Médio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	10
2.1 Bioterismo: Conceito e Importância na Pesquisa com Roedores	10
2.1.1 Bioterismo, Bem-Estar Animal e Regulamentação	10
2.2 <i>RATTUS NOVERGICUS</i> : CARACTERIZAÇÃO BIOLÓGICA E HISTÓRICA DA LINHAGEM WISTAR.....	11
2.2.1 Fisiologia do Desenvolvimento e Ciclo de Vida	11
2.2.2 Características Comportamentais e Necessidades Ambientais	12
2.2.3 Homeostase e Variabilidade Fisiológica	13
2.2.4 Perfil Bioquímico	13
2.2.5 Perfil Hepático	14
2.2.6 Perfil Hematológico	14
2.3 IMPACTO AMBIENTAL: ESTRESSE QUÍMICO E FÍSICO	15
2.4 ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL E A INFLUÊNCIA NO METABOLISMO	15
3 PROBLEMATIZAÇÃO	17
4 JUSTIFICATIVA.....	18
5 OBJETIVOS.....	19
5.1 OBJETIVO GERAL.....	19
5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
6 ARTIGO CIENTÍFICO	20
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43

1 INTRODUÇÃO

A pesquisa biomédica contemporânea depende fundamentalmente da utilização de modelos animais padronizados para a elucidação de mecanismos fisiopatológicos e o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas (Andrade et al., 2002). Neste contexto, o rato de laboratório (*Rattus norvegicus*), especificamente a linhagem heterogênea Wistar, consolidou-se como o modelo experimental mais difundido mundialmente devido à sua facilidade de manejo, curto ciclo reprodutivo e, sobretudo, pela homologia fisiológica e genética com a espécie humana (Carvalho et al., 2009). No entanto, a validade dos dados obtidos a partir desses modelos é intrinsecamente dependente da estabilidade fisiológica dos animais, a qual é sensível a múltiplas variáveis ambientais e de manejo (Melo et al., 2012). No Brasil, país de dimensões continentais, a criação e manutenção de animais de laboratório ocorrem em condições climáticas e infraestruturais heterogêneas, gerando microambientes distintos nos biotérios que influenciam diretamente os parâmetros biológicos basais (Oliveira et al., 2021).

Apesar dessa variabilidade latente, é prática comum na pesquisa nacional a utilização de valores de referência hematológicos e bioquímicos provenientes de literatura internacional ou de compêndios genéricos (Sganzerla et al., 2020). Nas últimas décadas, a comunidade científica tem reconhecido a existência de uma crise global de reprodutibilidade, caracterizada pela dificuldade sistemática de replicar resultados experimentais previamente publicados. No Brasil, a Brazilian Reproducibility Initiative (BRI) evidenciou que uma parcela considerável dos estudos biomédicos apresenta desafios de replicação, reforçando a necessidade urgente de maior rigor metodológico e padronização de protocolos (Carneiro et al., 2020).

Entre os fatores determinantes para esse cenário, destaca-se a variabilidade não controlada nos parâmetros fisiológicos de animais de laboratório. Essa questão é frequentemente subestimada em delineamentos experimentais que desconsideram as particularidades ambientais, sanitárias e operacionais inerentes aos diferentes biotérios de criação, gerando inconsistências nos dados basais (Costa et al., 2021). Além do rigor científico, a garantia da estabilidade sanitária e do bem-estar animal constitui uma obrigação legal e ética (Brasil, 2023). A Lei nº 11.794/2008 (Lei Arouca) e as normativas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal

(CONCEA) atribuem ao Médico Veterinário, na função de Responsável Técnico, a competência privativa de assegurar que as instalações e o manejo minimizem o estresse e a dor, garantindo a integridade ética dos modelos biológicos (Amaral et al., 2025). Dessa forma, o presente trabalho propõe uma análise crítica sobre a variabilidade dos parâmetros fisiológicos de ratos Wistar em biotérios brasileiros, investigando como fatores nutricionais, ambientais e metodológicos afetam a confiabilidade dos dados e a reprodutibilidade científica (Dantas et al., 2006).

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 BIOTERISMO: CONCEITO E IMPORTÂNCIA NA PESQUISA COM ROEDORES

O bioterismo é uma ciência multidisciplinar que define as condições ideais de instalação, manejo e controle sanitário para a criação e manutenção de animais destinados à experimentação científica (Andrade et al., 2002). A função primordial de um biotério é garantir a estabilidade do meio interno e externo dos animais, minimizando variáveis ambientais que possam interferir na resposta biológica e comprometer a reprodutibilidade dos dados (Melo et al., 2012). Nesse contexto, os roedores representam a classe de animais mais utilizada mundialmente, devido à sua fisiologia comparável à humana e à facilidade de manutenção em ambientes controlados (Carvalho et al., 2009). A linhagem Wistar de *Rattus norvegicus*, por exemplo, tornou-se um padrão global para estudos biomédicos por apresentar características genéticas e fenotípicas bem definidas, o que facilita a padronização dos ensaios (Sengupta, 2013). No entanto, a qualidade do modelo animal depende estritamente da infraestrutura do biotério e da competência técnica da equipe em manter barreiras sanitárias eficientes contra patógenos que afetam a saúde da colônia (Amaral et al., 2025).

2.1.1 Bioterismo, Bem-Estar Animal e Regulamentação

A relação entre bioterismo e bem-estar animal é indissociável, pois o sofrimento ou o estresse crônico alteram parâmetros fisiológicos e comportamentais, invalidando o animal como modelo científico confiável (Balcombe, 2006). No Brasil, essa premissa é regulamentada pela Lei nº 11.794/2008 (Lei Arouca) e fiscalizada pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), que exige o

cumprimento de normas rígidas de alojamento e manipulação (Amaral et al., 2025). As diretrizes atuais incorporam o princípio dos 3Rs (*Replacement, Reduction, Refinement*), obrigando os pesquisadores a refinarem seus métodos para garantir que qualquer dor ou desconforto seja eliminado ou minimizado ao máximo (Brasil, 2023). Além da legislação, as boas práticas de manejo incluem o controle rigoroso de variáveis ambientais, como a concentração de amônia nas gaiolas, que, se elevada por falta de higiene, pode causar toxicidade sistêmica e alterar o perfil hematológico dos animais (Orlandini, 2012). O uso de estratégias de enriquecimento ambiental também é recomendado para permitir a expressão de comportamentos naturais e prevenir estereotípias, promovendo um estado de saúde mental compatível com a normalidade biológica (Vieira et al., 2015). Por fim, a transparência no relato dessas condições de bem-estar em publicações científicas é um requisito ético e metodológico fundamental para a credibilidade da ciência moderna (Percie du sert et al., 2020).

2.2 *RATTUS NOVERGICUS*: CARACTERIZAÇÃO BIOLÓGICA E HISTÓRICA DA LINHAGEM WISTAR

O rato de laboratório (*Rattus norvegicus*) pertence à ordem Rodentia e família Muridae, destacando-se como o mamífero mais utilizado em pesquisas científicas logo após o camundongo (Andrade et al., 2002). A linhagem Wistar, especificamente, é uma cepa albina exogâmica (*outbred*) que foi desenvolvida em 1906 pelo Instituto Wistar, tornando-se o primeiro modelo de rato padronizado para uso em pesquisa biomédica e comportamental (Sengupta, 2013). Devido à sua docilidade, facilidade de manuseio e robustez fisiológica, o Wistar consolidou-se como um modelo global para estudos de toxicologia, nutrição e doenças metabólicas (Souza neto júnior et al., 2025). Além disso, essa linhagem serviu de base genética para o desenvolvimento de outras linhagens importantes na pesquisa, como a *Sprague-Dawley* e a *Long-Evans* (Sengupta, 2013).

2.2.1 Fisiologia do Desenvolvimento e Ciclo de Vida

A compreensão detalhada das fases de desenvolvimento do *R. norvegicus* é um pré-requisito fundamental para a correta extrapolação de dados experimentais para a biologia humana. Diferente dos humanos, os ratos apresentam um desenvolvimento

acelerado na infância, atingindo a maturidade sexual por volta da 6ª semana de vida (aproximadamente dia 42 pós-natal), embora a maturidade social plena só seja alcançada entre os 5 e 6 meses de idade. Em termos de correlação temporal na fase adulta, estima-se que cada dia de vida do rato equivale a aproximadamente 34,8 dias de vida humana, taxa acelerada que justifica sua ampla utilização em estudos longitudinais de envelhecimento e toxicidade crônica (Sengupta, 2013). Paralelamente, é imperativo que o pesquisador distinga entre a maturidade sexual e a maturidade somática completa, visto que o peso corporal dos ratos continua a aumentar significativamente após a puberdade. A estabilização do peso corporal ocorre apenas na fase adulta jovem, fator determinante a ser considerado ao estabelecer grupos controle pareados por idade e peso (Carvalho et al., 2009).

2.2.2 Características Comportamentais e Necessidades Ambientais

O *Rattus norvegicus* é uma espécie social, noturna e altamente inquisitiva, cuja homeostase fisiológica depende diretamente da complexidade do ambiente em que é mantido. O isolamento social imposto em alojamentos convencionais é deletério para a espécie, resultando na chamada "síndrome do isolamento", que provoca alterações fisiológicas mensuráveis, como imunossupressão e aumento da reatividade ao estresse. Além da interação social, a capacidade de expressar comportamentos naturais, como forragear, roer e construir ninhos, é vital para a saúde mental e física do animal; a privação desses estímulos em gaiolas padrão induz o desenvolvimento de estereotipias comportamentais que comprometem a qualidade e a confiabilidade do modelo experimental (Balcombe, 2006).

Consequentemente, a implementação de enriquecimento ambiental não deve ser vista apenas como uma medida de bem-estar, mas como um requisito metodológico. Estudos demonstram que animais mantidos em ambientes enriquecidos apresentam parâmetros biológicos mais robustos, como melhor manutenção da massa encefálica e controle do peso corporal, garantindo maior validade científica e normalidade biológica aos dados obtidos (Vieira et al., 2015).

2.2.3 Homeostase e Variabilidade Fisiológica

Embora os ratos Wistar, como mamíferos homeotérmicos, possuam mecanismos eficientes para a manutenção da homeostase em condições de higidez, seus parâmetros fisiológicos são suscetíveis a variações decorrentes do manejo e do ambiente (Carvalho et al., 2009). Variáveis pré-analíticas temporais exercem forte influência sobre esses mecanismos; o ritmo circadiano, por exemplo, regula flutuações diárias críticas no metabolismo da glicose e na secreção hormonal, tornando a padronização rigorosa do horário de manipulação um requisito metodológico indispensável (Kalsbeek et al., 2014).

Além dos fatores temporais, a exposição a condições ambientais adversas, como concentrações elevadas de amônia provenientes de ventilação inadequada, pode induzir alterações sistêmicas significativas, incluindo a elevação artificial do hematócrito e da concentração de hemoglobina (Orlandini, 2012).

Consequentemente, a interpretação dos perfis fisiológicos dessa linhagem não pode ser dissociada do contexto, devendo ser sempre validada em relação às condições sanitárias e ambientais específicas do biotério de origem para evitar erros de diagnóstico experimental (Melo et al., 2012).

2.2.4 Perfil Bioquímico

Parâmetros bioquímicos como glicemia, proteínas totais, colesterol, triglicerídeos, ureia e creatinina compõem o painel básico essencial para a avaliação metabólica e da função renal em ratos Wistar (Melo et al., 2012). Os níveis basais desses marcadores dependem estritamente de condições pré-analíticas, como o tempo de jejum e o horário da coleta, devido à regulação circadiana do metabolismo energético (Kalsbeek et al., 2014). Comparações entre estudos requerem atenção às técnicas analíticas e aos equipamentos utilizados, pois diferenças metodológicas entre laboratórios podem gerar variações estatísticas significativas nos resultados bioquímicos (Dantas et al., 2006). Na prática, construir uma curva de referência local com número amostral adequado é a estratégia mais segura para detectar desvios pequenos, porém clinicamente relevantes, em estudos toxicológicos e farmacológicos (Sganzerla et al., 2020). A utilização de valores de referência externos sem validação

local pode levar a diagnósticos falso-positivos ou falso-negativos de toxicidade (Lima et al., 2014).

2.2.5 Perfil Hepático

Os principais marcadores utilizados para a avaliação da função hepática em ratos incluem a alanina aminotransferase (ALT), a aspartato aminotransferase (AST) e a fosfatase alcalina (ALP) (Melo et al., 2012). Estas enzimas são biomarcadores consolidados na toxicologia moderna, permitindo a detecção precisa de lesão hepatocelular, necrose e colestase em modelos animais (Patel et al., 2024). Alterações nesses parâmetros podem ser induzidas tanto por agentes tóxicos diretos quanto por variáveis ambientais estressantes, como a presença de poluentes atmosféricos no biotério (Orlandini, 2012). Nos protocolos de toxicologia, a monitorização desses biomarcadores permite distinguir respostas transitórias de danos hepáticos persistentes, orientando a interpretação da gravidade da lesão tecidual (Ozer et al., 2008). Ao reportar resultados hepáticos, o pesquisador deve descrever detalhadamente as condições pré-analíticas e o método de análise, permitindo que a comunidade científica avalie a confiabilidade e comparabilidade dos dados (Percie du sert et al., 2020).

2.2.6 Perfil Hematológico

O hemograma completo, que engloba a contagem de eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, índices eritrocitários, leucograma e plaquetas, constitui uma ferramenta indispensável para a avaliação do estado geral de saúde do animal (Melo et al., 2012). A realização desse exame é crucial para a detecção precoce de quadros inflamatórios, infecciosos ou anêmicos, condições que poderiam invalidar a utilização dos animais como modelos experimentais fidedignos (Melo et al., 2012). As variações hematológicas relacionadas à idade e ao sexo são bem documentadas na linhagem Wistar, exigindo a estratificação rigorosa das análises e a utilização de intervalos de referência específicos para cada grupo demográfico (Charles river laboratories, 2006). Além disso, a escolha da técnica de coleta sanguínea e do local de punção influencia diretamente os parâmetros celulares, devendo ser padronizada para evitar erros de interpretação nos resultados (Parasuraman et al., 2010). A aplicação de testes hematológicos periódicos em coortes de controle permite identificar tendências

subclínicas na colônia, assegurando a manutenção do status sanitário adequado exigido para a pesquisa científica (Amaral et al., 2025).

2.3 IMPACTO AMBIENTAL: ESTRESSE QUÍMICO E FÍSICO

O microambiente da gaiola exerce influência direta sobre a homeostase animal, sendo os fatores químicos, como a concentração de amônia, elementos críticos frequentemente subestimados. A decomposição da urina em camas sujas ou submetidas a ventilação inadequada gera níveis de amônia que atuam como estressores crônicos e silenciosos. Evidências experimentais comprovam que a exposição a níveis acima de 76 ppm é suficiente para elevar marcadores bioquímicos sensíveis, como a creatinina e a glicose, sugerindo um falso diagnóstico de comprometimento renal e metabólico em animais que, clinicamente, estariam saudáveis (Orlandini, 2012).

Paralelamente, o estresse físico sonoro é um fator ambiental muitas vezes negligenciado na rotina dos biotérios, apesar de seu profundo impacto sistêmico. Diferentemente do estresse agudo, a exposição crônica ao ruído desencadeia uma desregulação do eixo neuroendócrino que resulta, paradoxalmente, na supressão dos níveis de corticosterona plasmática. Esse estado fisiológico alterado induz consequências imunológicas significativas, como a redução da contagem de neutrófilos e a supressão da resposta de anticorpos, o que compromete gravemente a validade e a reprodutibilidade de estudos imunológicos e toxicológicos (Archana, 2013).

2.4 ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL E A INFLUÊNCIA NO METABOLISMO

O alojamento padrão em gaiolas convencionais, caracterizado pela restrição severa de espaço e ausência de estímulos, impõe aos animais um estilo de vida sedentário que diverge de sua etologia natural. Essa condição de privação não apenas compromete o bem-estar, mas introduz um viés experimental significativo, uma vez que a comparação de dados metabólicos entre animais "ativos" e aqueles submetidos ao sedentarismo forçado dos biotérios tradicionais pode distorcer a definição de valores de normalidade e comprometer o rigor científico (Balcombe, 2006). Como contraponto, estudos experimentais comprovam que a implementação de itens de enriquecimento ambiental, como rodas de exercício e túneis, induz adaptações

fisiológicas profundas e benéficas. Especificamente em ratos idosos, a manutenção em ambiente enriquecido resultou na redução do ganho de peso corporal excessivo e no aumento da massa encefálica em comparação aos animais mantidos em isolamento convencional, demonstrando que o ambiente físico modula diretamente a biologia do modelo animal (Vieira et al., 2015).

3 PROBLEMATIZAÇÃO

A ausência de dados regionais atualizados e a falta de padronização de variáveis críticas, como dieta, ruído e horário de coleta, geram uma base de comparação inadequada nos estudos pré-clínicos nacionais. Estudos recentes indicam que a comparação de grupos experimentais locais com referências bibliográficas externas, em vez de grupos controle contemporâneos, pode levar a conclusões errôneas, como a condenação de fármacos seguros ou a validação de substâncias tóxicas (Bravin et al., 2020). A variabilidade de parâmetros fisiológicos decorrente de fatores ambientais e de manejo nos biotérios é uma fonte significativa de ruído experimental que frequentemente é subestimada pelos pesquisadores (Costa et al., 2021). Apesar do uso amplo e consolidado dos ratos Wistar como modelo experimental em pesquisas biomédicas no Brasil, não há, até o momento, um consenso nacional acerca dos parâmetros fisiológicos de referência para esses animais (Sganzerla et al., 2020). Os valores frequentemente utilizados como padrão provêm, em grande parte, de estudos internacionais ou de publicações isoladas, que nem sempre consideram as particularidades ambientais, climáticas, genéticas e de manejo existentes no contexto brasileiro (Melo et al., 2012).

Diante da diversidade regional e das diferenças estruturais entre os biotérios e instituições de pesquisa no país, questiona-se em que medida os parâmetros fisiológicos descritos na literatura são homogêneos e confiáveis para sustentar a ciência nacional (Oliveira et al., 2021). Assim, a variabilidade entre os estudos e a ausência de critérios padronizados podem estar contribuindo para a inconsistência de resultados em pesquisas pré-clínicas, conforme alertado pelos dados recentes da *Brazilian Reproducibility Initiative* (Carneiro et al., 2020).

4 JUSTIFICATIVA

Os ratos da linhagem Wistar constituem um dos modelos animais mais utilizados em pesquisas científicas nas áreas biomédicas, farmacológicas e toxicológicas, sendo fundamentais para a compreensão de processos fisiológicos e patológicos, bem como para o desenvolvimento e a avaliação de novas terapias. A confiabilidade dos resultados obtidos a partir desses modelos está diretamente relacionada à estabilidade e à padronização de seus parâmetros fisiológicos, os quais servem como base estatística para a comparação entre grupos experimentais e a interpretação correta dos dados.

No entanto, no contexto brasileiro, observa-se uma significativa heterogeneidade nas condições de criação, manejo e ambientação desses animais, consequência das dimensões continentais do país, das diferenças climáticas regionais e das desigualdades estruturais entre as instituições de pesquisa. Essa realidade pode refletir diretamente na variabilidade dos parâmetros fisiológicos descritos na literatura nacional, o que compromete a comparabilidade entre estudos e contribui para o agravamento da crise de reprodutibilidade científica alertada pela comunidade acadêmica (Amaral et al., 2019).

Diante desse cenário, torna-se justificável e necessária a realização de uma revisão de literatura que sintetize criticamente as evidências disponíveis sobre os parâmetros fisiológicos de ratos Wistar no Brasil. Essa análise possibilitará identificar inconsistências, lacunas e possíveis fontes de variabilidade metodológica, fundamentando a necessidade imperativa de que cada biotério estabeleça seus próprios padrões de referência em vez de depender exclusivamente de dados externos ou internacionais.

Além de sua relevância científica, este trabalho se justifica sob o ponto de vista ético e legal. A adoção de parâmetros mais confiáveis e padronizados contribui diretamente para a redução do uso indevido ou repetitivo de animais em experimentação, alinhando-se aos princípios dos 3Rs (*Replacement*, *Reduction* e *Refinement*) e às normativas vigentes do CONCEA para o uso ético de modelos animais em pesquisa (Brasil, 2023).

5 OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GERAL

Analisar criticamente, a partir de uma revisão da literatura, a variabilidade dos parâmetros hematológicos e bioquímicos de ratos Wistar criados em biotérios das cinco macrorregiões brasileiras, discutindo sua relação com fatores metodológicos, ambientais e de manejo, bem como propor diretrizes de padronização para o uso de grupos controle locais, visando ao fortalecimento da reprodutibilidade científica em estudos pré-clínicos.

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Levantar, sistematizar e comparar os valores de referência hematológicos e bioquímicos de ratos Wistar reportados em estudos representativos das cinco regiões do Brasil;
- Identificar e categorizar os principais fatores de viés descritos na literatura, incluindo aspectos nutricionais, ambientais, sanitários e analíticos, que contribuem para a discrepância dos parâmetros fisiológicos entre diferentes biotérios e instituições;
- Analisar, com base nos estudos selecionados, a influência de fatores cronobiológicos (ritmo circadiano) e de agentes estressores ambientais, como níveis de amônia e ruído, sobre a estabilidade dos parâmetros avaliados;
- Discutir a relevância do enriquecimento ambiental e da atuação do Responsável Técnico (RT) como estratégias de refinamento e controle de variáveis, visando à redução da variabilidade experimental.

6 ARTIGO CIENTÍFICO

Revisão de Literatura

VARIABILIDADE DE PARÂMETROS FISIOLÓGICOS EM RATOS WISTAR NO BRASIL: UMA ANÁLISE CRÍTICA SOBRE A PADRONIZAÇÃO E A CRISE DE REPRODUTIBILIDADE

ZETUM-SERBATE, E. F.¹; BARROS, R. J. S.²; TAUFNER G. H.³

¹*Graduando em Medicina Veterinária, Escola Superior São Francisco de Assis, Santa Teresa, Brasil*

²*Biotério Central, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, Brasil*

³*Docente do Curso de Medicina Veterinária, Escola Superior São Francisco de Assis, Santa Teresa, Brasil*

RESUMO

Ratos da linhagem Wistar constituem o modelo biológico predominante em pesquisas biomédicas, toxicológicas e fisiológicas no Brasil. Entretanto, a confiabilidade dos dados obtidos a partir desses animais é intrinsecamente dependente da padronização rigorosa das condições de criação (bioterismo), manejo e análise laboratorial. Neste contexto, o presente estudo realizou uma análise crítica da variabilidade de parâmetros hematológicos e bioquímicos de ratos Wistar provenientes de diferentes macrorregiões brasileiras, investigando a influência de variáveis ambientais, nutricionais, sanitárias e metodológicas. A revisão comparativa de estudos conduzidos nas regiões Sul, Sudeste, Centro-Oeste, Nordeste e Norte revelou discrepâncias expressivas nos dados basais, com variações superiores a 50% em indicadores da série vermelha e branca, além de inconsistências bioquímicas significativas associadas a protocolos anestésicos distintos. Foram identificados valores hematimétricos incompatíveis com a fisiologia normal da espécie, sugerindo a presença de viés metodológico decorrente do uso de técnicas manuais de análise, além de alterações resultantes de estresse crônico, qualidade do ar inadequada (amônia) e ausência de enriquecimento ambiental. Adicionalmente, a falta de padronização nas técnicas de coleta sanguínea e o uso de métodos não validados para a espécie contribuem para a heterogeneidade dos resultados. A análise demonstra que parte substancial dos valores utilizados como referência na literatura nacional pode refletir condições subótimas de alojamento ou limitações técnicas em vez de um estado fisiológico hígido, comprometendo a validade interna dos estudos e agravando a crise de reprodutibilidade científica. Conclui-se que é imperativo o estabelecimento de protocolos nacionais padronizados, alinhados às diretrizes do

CONCEA e aos princípios de bem-estar, e a validação de intervalos de referência regionais, medidas essenciais para assegurar a robustez, a ética e a qualidade da pesquisa pré-clínica no Brasil.

Palavras-chave: Ratos Wistar; Parâmetros hematológicos e bioquímicos; Variáveis pré-analíticas; Valores de referência; Reprodutibilidade científica.

ABSTRACT

Wistar rats constitute the predominant biological model in biomedical, toxicological, and physiological research in Brazil. However, the reliability of data obtained from these animals is intrinsically dependent on the rigorous standardization of breeding conditions, handling, and laboratory analysis. In this context, the present study performed a critical analysis of the variability of hematological and biochemical parameters of Wistar rats from different Brazilian macro-regions, investigating the influence of environmental, nutritional, sanitary, and methodological variables. A comparative review of studies conducted in the South, Southeast, Center-West, Northeast, and North regions revealed significant discrepancies in basal data, with variations exceeding 50% in red and white blood cell indicators, in addition to significant biochemical inconsistencies associated with distinct anesthetic protocols. Hematometric values incompatible with the normal physiology of the species were identified, suggesting the presence of methodological bias resulting from the use of manual analysis techniques, as well as alterations resulting from chronic stress, inadequate air quality (ammonia), and absence of environmental enrichment. Additionally, the lack of standardization in blood collection techniques and the use of methods not validated for the species contribute to the heterogeneity of results. The analysis demonstrates that a substantial portion of values used as reference in the national literature may not reflect an ideal physiological state of the animals, but rather suboptimal housing conditions or technical limitations, compromising the internal validity of studies and exacerbating the crisis of scientific reproducibility. It is concluded that the establishment of standardized national protocols, aligned with CONCEA guidelines and welfare principles, and the validation of regional reference intervals is imperative. These are essential measures to ensure the robustness, ethics, and quality of preclinical research in Brazil.

Keywords: Wistar rats; Hematological and biochemical parameters; Pre-analytical variables; Reference values; Scientific reproducibility.

Introdução

O rato de laboratório (*Rattus norvegicus*), especialmente a linhagem Wistar, constitui um dos modelos experimentais mais amplamente empregados em pesquisas biomédicas, farmacológicas e toxicológicas, exercendo papel central no desenvolvimento de fármacos e na elucidação de mecanismos fisiopatológicos relevantes à saúde humana (Andrade et al., 2002). Sua ampla utilização decorre de características como docilidade, fácil adaptação ao ambiente laboratorial, rápido ciclo reprodutivo e significativa homologia fisiológica e metabólica com a espécie humana (Carvalho et al., 2009). Contudo, a validade e a confiabilidade dos dados obtidos a partir desse modelo dependem, de forma crítica, da estabilidade de seus parâmetros fisiológicos basais, os quais podem ser significativamente influenciados por fatores ambientais, genéticos e de manejo (Melo et al., 2012).

Nas últimas décadas, a comunidade científica tem reconhecido a existência de uma crise global de reprodutibilidade, caracterizada pela dificuldade de replicação de resultados experimentais previamente publicados. No Brasil, a *Brazilian Reproducibility Initiative* (BRI) evidenciou que uma parcela considerável dos estudos biomédicos apresenta baixa reprodutibilidade, reforçando a necessidade de maior rigor metodológico e padronização de protocolos (Carneiro et al., 2020). Entre os fatores associados a esse problema, destaca-se a variabilidade não controlada nos parâmetros fisiológicos de animais de laboratório, frequentemente subestimada em delineamentos experimentais que desconsideram as particularidades ambientais e operacionais dos diferentes biotérios (Costa et al., 2021).

A prática recorrente de utilizar valores de referência hematológicos e bioquímicos provenientes de literatura internacional, muitas vezes produzida em contextos ambientais, genéticos e sanitários distintos, representa um risco metodológico concreto (Melo et al., 2012). Evidências apontam que animais da mesma linhagem podem apresentar variações significativas em seus parâmetros fisiológicos quando mantidos em diferentes regiões geográficas ou condições de manejo, em função de

fatores como clima, dieta, densidade populacional, níveis de ruído e qualidade do ambiente (Oliveira et al., 2021). A aplicação indiscriminada desses valores externos como padrão pode ocasionar interpretações equivocadas, em que variações fisiológicas naturais são erroneamente atribuídas a efeitos terapêuticos, tóxicos ou patológicos, comprometendo a validade interna e externa dos estudos (Bravin et al., 2020).

Além das implicações científicas, a variabilidade dos parâmetros fisiológicos em modelos animais também possui relevância ética e legal. No Brasil, a Lei nº 11.794/2008 (Lei Arouca) e as normativas do CONCEA regulam a criação, manutenção e uso de animais em pesquisa, estabelecendo padrões obrigatórios (Brasil, 2023). Nesse contexto, o papel do profissional responsável técnico torna-se essencial para garantir o bem-estar animal e o controle de variáveis ambientais e sanitárias, em estrita conformidade com os princípios éticos da experimentação. A implementação de práticas adequadas de manejo, enriquecimento ambiental e monitoramento sanitário não apenas assegura a conformidade legal, mas também contribui decisivamente para a redução de vieses metodológicos (Amaral et al., 2025).

Diante desse cenário, torna-se imperativa a realização de uma análise crítica da literatura científica acerca da variabilidade dos parâmetros hematológicos e bioquímicos de ratos Wistar no Brasil (Oliveira et al., 2021). Ao identificar discrepâncias, lacunas e fragilidades metodológicas, esta revisão busca oferecer subsídios técnicos para a proposição de diretrizes de padronização, reforçando a importância do uso de grupos-controle locais como estratégia fundamental para fortalecer a reprodutibilidade e a qualidade dos estudos pré-clínicos conduzidos no país (Sganzerla et al., 2020).

Metodologia

O presente estudo caracteriza-se como uma revisão narrativa crítica da literatura, de natureza qualitativa e analítico-comparativa, cujo objetivo foi analisar a variabilidade dos parâmetros hematológicos e bioquímicos de ratos Wistar mantidos em biotérios localizados nas diferentes macrorregiões do Brasil, bem como discutir os principais fatores ambientais, sanitários e metodológicos associados às discrepâncias observadas.

Delineamento do estudo

Foi adotada uma abordagem de amostragem intencional (*purposive sampling*), voltada não à exaustividade da literatura, mas à seleção de estudos que fossem representativos das cinco macrorregiões brasileiras (Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul) e que apresentassem, de forma explícita ou implícita, potenciais fontes de variabilidade experimental. Essa estratégia permitiu uma análise aprofundada de casos ilustrativos e metodologicamente relevantes, em consonância com o caráter crítico desta revisão.

Crítérios de inclusão e exclusão

Foram considerados elegíveis os estudos que atenderam aos seguintes critérios de inclusão:

- Utilização de ratos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*);
- Descrição de parâmetros hematológicos e/ou bioquímicos;
- Realização em biotérios brasileiros com indicação clara da região geográfica;
- Disponibilidade de informações sobre condições de manejo, alimentação, ambiente ou metodologia analítica.

Foram excluídos os estudos que:

- Utilizassem outras linhagens de roedores;
- Não informassem com clareza a origem geográfica dos animais;
- Carecessem de descrição metodológica mínima que permitisse a análise crítica dos possíveis vieses.

Revisão de Literatura

A literatura científica demonstra que, embora a linhagem Wistar seja amplamente utilizada como modelo experimental padrão, aspectos relacionados ao ambiente, ao manejo e aos procedimentos laboratoriais exercem influência determinante sobre a estabilidade de seus parâmetros fisiológicos (Costa et al., 2021). Estudos conduzidos em diferentes regiões geográficas têm evidenciado variações significativas em

indicadores hematológicos, bioquímicos e imunológicos, mesmo quando os animais pertencem à mesma linhagem e faixa etária (Oliveira et al., 2021). Esses achados reforçam a premissa de que a utilização de valores de referência universais ou descontextualizados pode comprometer a interpretação dos resultados experimentais, sobretudo em estudos pré-clínicos que dependem de pequenas variações para a determinação de efeitos biológicos (Sganzerla et al., 2020).

Os estudos elencados na Tabela 1 funcionam como "marcos analíticos" para a discussão crítica sobre a ausência de padronização nacional em biotérios experimentais. Eles demonstram empiricamente como fatores locais, entre os quais: a composição da dieta, variáveis pré-analíticas (jejum e coleta), qualidade do ar, status sanitário das colônias e procedimentos laboratoriais, interferem diretamente na estabilidade dos parâmetros avaliados (Melo et al., 2012). Dessa forma, a compilação desses dados fundamenta a necessidade de adoção de estratégias contextualizadas, como a utilização de grupos controle locais e protocolos ajustados à realidade regional, medida essencial para a promoção da reprodutibilidade e da validade científica em pesquisas pré-clínicas conduzidas no Brasil (Neves et al., 2020).

Tabela 1 - Caracterização dos estudos selecionados representativos das cinco macrorregiões brasileiras e seus respectivos fatores de variabilidade.

Região e Estado	Estudo (Autor/Ano)	Fator de Variação (Viés)	Principal Achado Atípico
Norte (AM)	Souza et al. (2014)	Nutricional (Dieta regional)	Redução de triglicerídeos associada à dieta rica em peixes amazônicos.
Nordeste (PB)	Oliveira et al. (2021)	Pré-analítico (Jejum/Coleta)	Divergência glicêmica em relação a estudos anteriores do mesmo estado.
Centro-Oeste (GO)	Gonçalves et al. (2017)	Sanitário / Imunológico	Linfocitose acentuada (93%), indicando resposta imune ativa na colônia.

Sudeste (ES)	Carvalho et al. (2009)	Metodológico	VCM de 80,74 fL, valor biologicamente implausível para a espécie.
Sul (RS)	Orlandini (2012)	Ambiental (Amônia)	Elevação de creatinina e glicose decorrente da má qualidade do ar.

Fonte: Elaborado pelo autor (2025). Nota: A seleção dos estudos obedeceu aos critérios de representatividade regional e identificação de vieses metodológicos ou ambientais específicos que ilustram a variabilidade dos parâmetros fisiológicos em território nacional. A categorização do "Fator de Variação" baseia-se na análise crítica das condições experimentais descritas em cada estudo original.

A análise integrada dos estudos selecionados revela uma heterogeneidade acentuada nos parâmetros fisiológicos de ratos Wistar entre as diferentes regiões brasileiras. Essa variabilidade não é aleatória, mas decorrente de fatores específicos de manejo, ambiente e metodologia analítica, os quais são detalhados a seguir (Oliveira et al., 2021).

Análise do perfil bioquímico

A Tabela 2 apresenta uma síntese comparativa dos principais parâmetros bioquímicos descritos em ratos Wistar provenientes de diferentes regiões do Brasil, incluindo dados referentes à glicose, colesterol total, triglicerídeos, creatinina e proteínas totais. Esses marcadores foram selecionados por refletirem, de forma direta, o estado metabólico, energético, renal e proteico dos animais, constituindo indicadores sensíveis às variações ambientais, nutricionais e de manejo presentes nos biotérios de origem (Melo et al., 2012). A análise conjunta desses parâmetros permite evidenciar tanto padrões de heterogeneidade quanto eventuais tendências regionais, ressaltando discrepâncias significativas entre os valores reportados em estudos conduzidos na Região Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul. Além disso, a presença de dados ausentes (ND) em determinadas regiões evidencia lacunas metodológicas recorrentes na literatura, as quais limitam a comparabilidade inter-regional e reforçam a necessidade de maior rigor na padronização de protocolos analíticos e na descrição dos parâmetros basais (Percie du sert et al., 2020). Dessa forma, esta tabela constitui o eixo orientador da discussão subsequente, voltada à compreensão da influência de

fatores extrínsecos e intrínsecos sobre o perfil bioquímico dos ratos Wistar e suas implicações para a reprodutibilidade científica.

Tabela 2 - Comparativo de parâmetros bioquímicos médios de ratos Wistar (Grupo Controle) reportados nas cinco macrorregiões brasileiras.

Parâmetro	Norte (AM) ¹	Nordeste (PB) ²	Centro-Oeste (GO) ³	Sudeste (ES) ⁴	Sul (RS) ⁵
Glicose (mg/dL)	140,0	143,7	173,5	ND	216,0
Colesterol (mg/dL)	95,0	60,5	64,0	46,5	ND
Triglicerídeos (mg/dL)	60,0	80,5	78,9	ND	ND
Creatinina (mg/dL)	ND	0,42	0,50	ND	0,31
Proteínas Totais (g/dL)	4,5	5,95	6,09	6,15	6,55

Fonte: Elaborado pelo autor (2025). Dados extraídos de: 1 Souza et al. (2014); 2 Oliveira et al. (2021); 3 Gonçalves et al. (2017); 4 Carvalho et al. (2009) e 5 Orlandini (2012). Nota: ND = Dado não disponível no estudo original. Os valores referentes à Região Norte foram estimados a partir da representação gráfica apresentada pelos autores originais.

Com base nos dados apresentados na tabela, observa-se uma expressiva variabilidade nos parâmetros bioquímicos avaliados em ratos Wistar entre diferentes regiões do Brasil, o que já evidencia uma ausência de padronização consistente entre os estudos. No caso da glicose, por exemplo, há valores de 140,0 mg/dL na região Norte (AM) e 143,7 mg/dL no Nordeste (PB), enquanto no Centro-Oeste (GO) este valor aumenta para 173,5 mg/dL e atinge o valor mais elevado no Sul (RS), com 216,0 mg/dL. Essa diferença de mais de 70 mg/dL entre as regiões sugere uma variação significativa, que pode estar relacionada tanto a fatores ambientais (clima, manejo, alimentação) quanto metodológicos (jejum, técnica de coleta ou análise) (Oliveira et al., 2021).

O colesterol também apresenta uma amplitude considerável, variando de 95,0 mg/dL no Norte para apenas 46,5 mg/dL no Sudeste (ES), quase metade do valor observado na região Norte. Já no Nordeste (60,5 mg/dL) e no Centro-Oeste (64,0 mg/dL), os valores apresentam certa proximidade, mas ainda assim indicam heterogeneidade. A ausência de dados (ND) na região Sul compromete a comparação completa e evidencia uma fragilidade frequente em estudos experimentais: a incompletude de dados, que dificulta meta-análises e avaliações mais robustas (Percie du sert et al., 2020).

Os níveis de triglicerídeos também reforçam essa variabilidade, variando de 60,0 mg/dL no Norte a 80,5 mg/dL no Nordeste e 78,9 mg/dL no Centro-Oeste, porém com ausência de dados no Sudeste e Sul. Este padrão de “dados faltantes” se repete em outros parâmetros, como a creatinina, que apresenta valores apenas no Nordeste (0,42 mg/dL), Centro-Oeste (0,50 mg/dL) e Sul (0,31 mg/dL), impedindo uma análise comparativa nacional adequada. Além disso, mesmo entre os valores disponíveis, observa-se uma diferença de aproximadamente 38% entre o maior e o menor valor de creatinina, o que pode comprometer a interpretação de função renal em estudos comparativos (Sganzerla et al., 2020).

Por outro lado, as proteínas totais apresentam um perfil mais homogêneo em comparação aos demais parâmetros, variando de 4,5 g/dL no Norte a 6,55 g/dL no Sul. Ainda assim, essa diferença de mais de 2 g/dL não é desprezível, especialmente em estudos metabólicos, nutricionais ou toxicológicos, nos quais pequenas variações podem influenciar significativamente os resultados experimentais (Melo et al., 2012). De forma crítica, essa tabela deixa evidente que, mesmo utilizando a mesma linhagem (Wistar), os parâmetros fisiológicos podem variar amplamente conforme a região, o biotério de origem, o manejo, a dieta e os protocolos experimentais empregados. Isso reforça a problemática central do seu estudo: a falta de padronização nacional contribui diretamente para a crise de reprodutibilidade em pesquisas com modelos animais no Brasil. A inconsistência e a ausência de dados em determinadas regiões ainda agravam esse cenário, apontando para a necessidade urgente de diretrizes mais rigorosas e de maior transparência metodológica nos estudos envolvendo animais de laboratório (Carneiro et al., 2020).

A Variabilidade Metabólica: Influência Nutricional, Anestésica e Cronobiológica

A Tabela 3 apresenta valores de três parâmetros metabólicos essenciais (glicose, triglicerídeos e colesterol total) obtidos em ratos Wistar provenientes de diferentes contextos experimentais no Brasil. Os dados incluem uma amostra da Região Norte submetida a uma intervenção nutricional específica¹ e duas amostras independentes da Região Nordeste, referentes aos anos de 2018² e 2021³, provenientes da mesma instituição. A análise comparativa desses dados revela que a estabilidade metabólica da linhagem é altamente suscetível não apenas à dieta, mas fundamentalmente ao protocolo de anestesia e coleta.

No que tange ao perfil lipídico, a composição da dieta oferecida nos biotérios demonstrou ser um determinante primário. No estudo realizado na Região Norte, Souza et al. (2014) evidenciaram que a introdução de uma dieta enriquecida com peixes da bacia amazônica foi capaz de reduzir significativamente os níveis de triacilgliceróis (60,0 mg/dL) e alterar as frações de colesterol em comparação à dieta padrão. Em contrapartida, no Nordeste, observa-se uma flutuação nos triglicerídeos entre 2018 (64,49 mg/dL) e 2021 (80,48 mg/dL), um aumento de aproximadamente 25% que sugere alterações na composição da ração comercial ou no manejo ao longo do tempo. Esse achado reforça que a padronização limitada apenas ao "tipo" de ração comercial não é suficiente para garantir a homogeneidade metabólica (Souza et al., 2014; Oliveira et al., 2021).

Entretanto, as discrepâncias mais alarmantes residem na glicemia, onde os valores divergem drasticamente entre grupos que deveriam ser fisiologicamente semelhantes. Enquanto a Região Norte apresentou uma média de 140,0 mg/dL e o estudo do Nordeste de 2021 registrou 143,71 mg/dL, o estudo conduzido na mesma região em 2018 reportou uma glicemia média de 245,13 mg/dL, um valor compatível com diabetes experimental, mas observado em animais controle. Essa variação superior a 70% não encontra respaldo na biologia do animal, sendo melhor explicada pelo viés farmacológico imposto pelo protocolo anestésico.

Conforme alertam Lima et al., (2014), a escolha do anestésico interfere drasticamente nos resultados metabólicos. O uso da associação Xilazina/Cetamina (frequentemente

utilizada em protocolos como o de Roberto et al., (2018) é conhecido por induzir hiperglicemia transitória severa através da inibição da secreção de insulina, mediada por receptores alfa-2 adrenérgicos nas ilhotas pancreáticas. Em contraste, protocolos que utilizam barbitúricos (como o Pentobarbital, citado por Dantas et al., 2006) ou anestésicos voláteis tendem a preservar valores mais próximos do basal (cerca de 108-110 mg/dL). Adicionalmente, a falta de padronização do horário da coleta (Zeitgeber time) agrava esse cenário, pois ignora o ritmo circadiano da glicose descrito por Kalsbeek et al. (2014). Portanto, conclui-se que a "glicemia normal" do rato Wistar brasileiro muitas vezes é um artefato técnico decorrente do anestésico e do horário escolhido, distorcendo a realidade fisiológica do modelo.

Tabela 3 - Variabilidade dos parâmetros bioquímicos (média) de ratos Wistar associada a fatores nutricionais, anestésicos e temporais.

Parâmetro (mg/dL)	Região Norte (Dieta Regional) ¹	Região Nordeste (Ano 2018) ²	Região Nordeste (Ano 2021) ³
Glicose	140,0	245,13	143,71
Triglicerídeos	60,0	64,49	80,48
Colesterol Total	95,0	54,69	60,54

Fonte: Elaborado pelo autor (2025). **Nota:** O valor elevado de glicose no estudo de 2018 sugere influência de hiperglicemia induzida por anestésicos (agonistas alfa-2 adrenérgicos) ou estresse agudo na coleta, divergindo do padrão fisiológico da linhagem. **Legenda:** ¹ Dieta enriquecida com pescado regional (SOUZA et al., 2014); ² Dieta comercial padrão (ROBERTO et al., 2018); ³ Dieta comercial padrão (OLIVEIRA et al., 2021).

O Impacto do Ambiente: Amônia e Ruído

A exposição a agentes químicos e físicos presentes no ambiente de biotérios, especialmente em condições de manejo inadequado, constitui um viés experimental frequentemente negligenciado nas análises de variabilidade fisiológica. Entre esses agentes, a amônia, resultante da decomposição de excretas em condições de ventilação insuficiente, destaca-se como um importante modulador do estresse

fisiológico e da função orgânica em ratos (Costa et al., 2021). Dessa forma, a Tabela 4 apresenta uma comparação entre parâmetros bioquímicos de ratos Wistar mantidos em ambiente controle (limpo e ventilado) e aqueles expostos a uma concentração aproximada de 90 ppm de amônia durante um período de cinco dias, com o objetivo de evidenciar o impacto direto desse fator ambiental sobre indicadores metabólicos e renais.

Tabela 4 – Impacto da exposição ambiental à amônia (~90 ppm) sobre parâmetros bioquímicos em ratos Wistar após 5 dias de exposição.

Parâmetro	Grupo Controle (Ambiente Limpo)	Grupo Exposto (Ambiente com Amônia)	Variação (%)
Creatinina (mg/dL)	0,31	0,38	+22,5%
Glicose (mg/dL)	216,0	231,0	+6,9%
Fosfatase Alcalina (U/L)	222,0	236,0	+6,3%

Fonte: Adaptado de Orlandini (2012). **Nota:** Os valores representam as médias obtidas. A elevação da creatinina e da glicose no Grupo Exposto apresentou diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) em relação ao Grupo Controle no estudo original, confirmando a interferência do estresse ambiental (amônia) na bioquímica sérica.

Os resultados apresentados corroboram a premissa de que o ambiente físico do biotério atua como um "agente invisível", capaz de alterar significativamente a fisiologia animal. Na Região Sul, Orlandini (2012) comprovou que a ventilação inadequada, levando ao acúmulo de amônia (concentração média de 90 ppm), resultou em aumento significativo nos níveis de creatinina ($\approx 22,5\%$) e glicose ($\approx 6,9\%$), além de alterações na atividade de enzimas hepáticas, incluindo a gama-glutamilttransferase (GGT), nos animais expostos. Esses dados sugerem que alterações na função renal e metabólica observadas em grupos controle podem não representar necessariamente processos patológicos intrínsecos, mas sim refletir condições subótimas de higiene das gaiolas e qualidade do ar. Somado ao estresse químico, o estresse físico sonoro é frequentemente

negligenciado. Archana (2013) demonstrou que a exposição crônica ao ruído atua como um potente estressor que, diferentemente do estresse agudo, desencadeia uma desregulação do eixo neuroendócrino caracterizada pela supressão dos níveis de corticosterona plasmática. Esse estado promove imunomodulação negativa, evidenciada pela redução da contagem de neutrófilos e do título de anticorpos. Considerando que nenhum dos estudos regionais revisados apresentou monitoramento de decibéis nas salas de experimentação, sugere-se que parte da variabilidade leucocitária observada, como a diferença entre os leucócitos totais em Goiás (9.700/ μL) e na Paraíba (7.030/ μL), possa estar associada a diferentes níveis de estresse ambiental não controlados.

Análise do perfil hematológico

A Tabela 5 reúne os principais parâmetros do perfil hematológico de ratos Wistar oriundos de diferentes regiões do Brasil, evidenciando variações relevantes nas séries vermelha e branca entre os estudos analisados. Foram comparados os valores de hemácias, hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio (VCM) e leucócitos, permitindo uma avaliação integrada do estado hematológico e de possíveis respostas adaptativas ou patológicas associadas a fatores ambientais, nutricionais, sanitários e metodológicos (Melo et al., 2012).

A heterogeneidade observada entre as regiões reforça a hipótese central deste estudo, segundo a qual a ausência de padronização rigorosa nos biotérios e nos protocolos analíticos contribui de forma significativa para a variabilidade dos dados, comprometendo a comparabilidade entre experimentos e a reprodutibilidade dos achados científicos envolvidos em pesquisas que utilizam essa linhagem como modelo biológico (Carneiro et al., 2020).

Tabela 5 - Comparativo de parâmetros hematológicos médios de ratos Wistar (Grupo Controle) reportados nas cinco macrorregiões brasileiras.

Parâmetro	Norte (AM) ¹	Nordeste (PB) ²	Centro-Oeste (GO) ³	Sudeste (ES) ⁴	Sul (RS) ⁵
Hemácias ($10^6/\mu\text{L}$)	7,80	7,49	8,82	5,73	8,63

Hemoglobina (g/dL)	14,10	13,77	15,26	12,83	14,60
Hematócrito (%)	40,00	42,74	44,75	43,59	46,20
VCM (fL)	ND	57,12	50,94	80,74	54,10
Leucócitos ($10^3/\mu\text{L}$)	ND	7,03	9,70	8,52	6,36

Fonte: Elaborado pelo autor (2025). Dados extraídos de: 1 Souza et al. (2014); 2 Oliveira et al. (2021); 3 Gonçalves et al. (2017); 4 Carvalho et al. (2009) e 5 Orlandini (2012). Nota: ND = Dado não disponível no estudo original. Os valores referentes à Região Norte foram estimados a partir da representação gráfica apresentada pelos autores originais. VCM = Volume Corpuscular Médio.

Na série vermelha, observa-se que a contagem de hemácias variou de $5,73 \times 10^6/\mu\text{L}$ (Sudeste – ES) a $8,82 \times 10^6/\mu\text{L}$ (Centro-Oeste – GO), representando uma diferença de mais de 50% entre os extremos, uma variação biologicamente relevante e dificilmente justificável apenas por variação individual ou genética dentro de uma mesma linhagem. Valores reduzidos, como os observados no Sudeste, podem refletir anemia subclínica, deficiências nutricionais, estresse oxidativo ou erros pré-analíticos (hemólise, diluição inadequada) (Melo et al., 2012).

Para ratos Wistar saudáveis, um estudo recente reporta valores típicos de RBC entre $6,71$ e $8,62 \times 10^6/\mu\text{L}$, hemoglobina (HGB) entre $12,64$ e $16,06$ g/dL, hematócrito (HCT) entre ~ 39 – 50% , e VCM (MCV) na faixa de $\sim 51,8$ a $63,9$ fL (Patel et al., 2024). Assim, os valores de hemácias e hemoglobina de algumas regiões brasileiras se distanciam dessas referências, reforçando a possibilidade de vieses ou condições subótimas. De fato, o dado mais discrepante refere-se ao VCM reportado para a Região Sudeste (80,74 fL), que é muito superior à faixa esperada para Wistar adultos (aproximadamente 52 – $63,9$ fL), conforme citado acima (Patel et al., 2024). Esse desvio sugere fortemente erro metodológico, seja por uso de equipamentos não calibrados para roedores, falhas na técnica manual ou interferências pré-analíticas (coágulos, hemólise parcial, incorreta diluição), comprometendo a confiabilidade dos

resultados e potencialmente induzindo interpretações equivocadas, como macrocitose ou anemia regenerativa.

Quanto à série branca, a contagem de leucócitos variou de $6,36 \times 10^3/\mu\text{L}$ (Sul) a $9,70 \times 10^3/\mu\text{L}$ (Centro-Oeste), faixa que se aproxima, ainda que de forma heterogênea, das referências descritas para Wistar ($\approx 5,10\text{--}9,55 \times 10^3/\mu\text{L}$ para machos adultos) (Patel et al., 2024).

Se por um lado esse dado pode estar dentro dos limites de normalidade, a amplitude entre extremos regionais e a falta de padronização de variáveis ambientais ou de manejo (como densidade, ventilação, estresse, sanidade) indicam que essa variabilidade não deve ser interpretada como mera variabilidade biológica espontânea, mas como reflexo potencial de fatores extrínsecos (Costa et al., 2021). Além disso, a literatura enfatiza que valores de referência ideais para ratos Wistar dependem de critérios como biotério, dieta, linhagem, sexo, idade e metodologia de coleta e análise (Melo et al., 2012). Assim, os dados nacionais apresentam não apenas variação quantitativa, mas falta de consistência metodológica, o que compromete a comparabilidade entre estudos e evidencia a importância de desenvolver valores de referência localmente validados.

Dessa forma, a análise integrada dos dados da Tabela 5, combinada com as referências internacionais e nacionais recentes, demonstra que os parâmetros hematológicos de ratos Wistar no Brasil não seguem um padrão homogêneo de normalidade fisiológica. Isso reforça que os valores usados como “normais” em diferentes biotérios devem ser interpretados com cautela e que a padronização de protocolos e a geração de valores de referência contextuais são essenciais para a reprodutibilidade e a validade dos estudos pré-clínicos no país (Sganzerla et al., 2020).

Vieses metodológicos na hematologia

A discrepância observada entre os parâmetros hematológicos das diferentes regiões evidencia, de forma clara, o impacto da variabilidade metodológica sobre a confiabilidade dos resultados. No estudo conduzido na Região Sudeste, Carvalho et al. (2009) relataram um Volume Corpuscular Médio (VCM) de 80,74 fL, valor que

extrapola de maneira significativa a faixa fisiológica reconhecida para ratos Wistar, usualmente situada entre 50 e 60 fL. Tal achado, biologicamente implausível para a espécie, sugere de modo contundente a ocorrência de erro pré-analítico (como hemólise, diluição inadequada ou amostra coagulada), erro de calibração do equipamento, ou ainda o uso de uma metodologia manual não validada (Melo et al., 2012).

Além disso, diferenças expressivas podem ser atribuídas à tecnologia empregada na contagem celular. Enquanto alguns estudos utilizaram métodos manuais, baseados em microscopia óptica, outros recorreram a analisadores hematológicos automatizados, que, quando não calibrados especificamente para espécies murinas, tendem a superestimar ou subestimar determinados parâmetros, sobretudo o VCM e a contagem diferencial de leucócitos (Parasuraman et al., 2010). Nesse contexto, Sganzerla et al. (2020), na Região Sul, destacam que a contagem de leucócitos, em especial dos neutrófilos, é uma das mais suscetíveis à variabilidade interobservador, em função da subjetividade morfológica e da dependência da experiência do analista.

Adicionalmente, fatores biológicos e ambientais podem potencializar tais diferenças. A presença de estressores ambientais, quadros inflamatórios subclínicos, diferenças sanitárias entre colônias e até mesmo o manejo dos animais durante a contenção para coleta são capazes de alterar rapidamente a mobilização leucocitária e a dinâmica eritropoiética (Archana, 2013). Isso pode explicar, ao menos em parte, a amplitude dos valores de leucócitos totais observados, que variaram de $6,36 \times 10^3/\mu\text{L}$ (Sul) a $9,70 \times 10^3/\mu\text{L}$ (Centro-Oeste), bem como as oscilações nas contagens de hemácias e níveis de hemoglobina entre as regiões analisadas.

Dessa forma, torna-se evidente que a ausência de uma padronização nacional dos protocolos hematológicos para roedores de laboratório, incluindo método de coleta, tipo de anticoagulante, tempo entre coleta e análise e validação dos equipamentos, constitui um fator crítico de viés. Essa inconsistência compromete não apenas a comparabilidade entre estudos, mas também a validade interna de modelos experimentais que dependem de alterações hematológicas como desfecho primário ou secundário, reforçando a necessidade de implementação de grupos controle locais e protocolos ajustados à realidade de cada biotério (Sganzerla et al., 2020).

Tabela 6 - Discrepâncias nos parâmetros hematológicos entre biotérios brasileiros associadas a variações metodológicas e sanitárias.

Parâmetro	Sudeste (Manual/Erro) ¹	Sul (Automatizado) ²	Centro-Oeste (Imunidade) ³
VCM (fL)	80,74	52,60	50,94
Leucócitos Totais (µL)	8.522	6.300	9.700
Linfócitos (%)	43,41%	76,20%	70,00%

Fonte: Elaborado pelo autor (2025), com dados de Carvalho et al. (2009), Sganzerla et al. (2020) e Gonçalves et al. (2017). **Nota:** O Volume Corpuscular Médio (VCM) de 80,74 fL reportado na Região Sudeste destoa do intervalo de referência fisiológico para a espécie (50-60 fL), sugerindo viés analítico (calibração de equipamento ou método manual) em contraste com os métodos automatizados utilizados nas regiões Sul e Centro-Oeste.

O viés do sedentarismo e do empobrecimento ambiental sobre parâmetros bioquímicos e hematológicos.

O modelo tradicional de alojamento em biotérios, caracterizado por gaiolas de pequenas dimensões, ausência de estímulos sensório-motores e baixa complexidade ambiental, induz um perfil comportamental marcadamente sedentário, com importantes repercussões metabólicas e hematológicas. Nessas condições, os animais apresentam redução do gasto energético basal, menor estímulo à neuroplasticidade e alterações adaptativas no metabolismo de carboidratos e lipídios, configurando um viés fisiológico frequentemente negligenciado na interpretação de valores de referência (Balcombe, 2006).

Vieira et al. (2015) demonstraram que ratos mantidos em ambiente enriquecido, contendo rodas de exercício, túneis e objetos manipuláveis, exibiram menor ganho de peso corporal, melhora da composição corporal e aumento significativo da massa encefálica quando comparados aos animais alojados em caixas convencionais. Esses achados indicam maior atividade metabólica e melhor regulação neuroendócrina nos animais expostos a estímulos ambientais adequados. Em contraste, o alojamento

convencional favorece a instalação de resistência insulínica, dislipidemias e alterações no metabolismo hepático, o que pode explicar, ao menos em parte, as elevações recorrentes de glicemia, colesterol e triglicerídeos descritas em diversos estudos nacionais (Vieira et al., 2015).

Do ponto de vista hematológico, o sedentarismo e o estresse crônico de ambientes empobrecidos também impactam diretamente os perfis leucocitários e eritrocitários. A restrição de movimento, aliada ao estresse ambiental, estimula a ativação persistente do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA), elevando a liberação de corticosterona, a qual está associada à linfopenia relativa, aumento proporcional de neutrófilos e possível redução na variabilidade dos leucócitos totais (alterações tipicamente observadas em condições de estresse crônico de baixa intensidade). Dessa forma, parte das divergências encontradas entre contagem de leucócitos, relação neutrófilo/linfócito e variabilidade eritrocitária entre diferentes biotérios pode refletir muito mais o padrão ambiental do que diferenças biológicas intrínsecas à população estudada (Balcombe, 2006).

Além disso, a ausência de enriquecimento ambiental compromete a oxigenação tecidual e o estímulo eritropoiético regular, podendo influenciar valores como hemoglobina, hematócrito e volume corpuscular médio (VCM). Em cenários de maior atividade física, como observado em biotérios modernos e em sistemas enriquecidos, essa estimulação fisiológica tende a produzir perfis hematológicos mais estáveis e eficientes, reforçando a ideia de que parâmetros de referência obtidos em ambientes empobrecidos podem não refletir a real homeostase do animal em condições ideais de bem-estar.

Dessa forma, torna-se evidente que grande parte dos valores bioquímicos e hematológicos disponíveis na literatura nacional não representa um animal fisiologicamente “normal”, mas sim um modelo condicionado ao sedentarismo e à limitação ambiental. Essa constatação impõe uma reflexão crítica sobre a validade externa desses parâmetros, sobretudo diante do avanço das diretrizes internacionais de bem-estar animal, que preconizam o enriquecimento ambiental como requisito básico para a produção de dados mais fidedignos e translacionalmente relevantes (Brasil, 2023).

Conclusão

A presente revisão evidenciou de forma consistente uma variabilidade significativa e sistemática nos parâmetros hematológicos e bioquímicos (e, quando relatados, imunológicos) de ratos da linhagem Wistar mantidos em biotérios brasileiros. Essa variabilidade mostrou-se fortemente associada a fatores ambientais, nutricionais, sanitários e metodológicos, preponderando sobre as diferenças genéticas intrínsecas à linhagem. Os dados compilados demonstraram discrepâncias expressivas entre as diferentes regiões do país, incluindo contagens de hemácias e concentrações de hemoglobina fora das faixas de referência internacionais, valores aberrantes de volume corpuscular médio (VCM), amplas oscilações em parâmetros metabólicos, como glicemia e lipidemia, e a ausência de dados cruciais em diversos estudos.

Essas inconsistências comprometem a validade interna dos experimentos, uma vez que valores classificados como normais para animais controle podem, na realidade, refletir condições subótimas de criação, estresse crônico, deficiências nutricionais, infecções subclínicas ou falhas nos procedimentos pré-analíticos. Consequentemente, afetam a validade externa e a comparabilidade entre estudos, pilares fundamentais para a reprodutibilidade e a confiabilidade científica na pesquisa pré-clínica, especialmente considerando o uso disseminado do rato Wistar como modelo biológico.

A adoção acrítica de valores de referência universais, desconsiderando as particularidades regionais, estruturais e de manejo dos biotérios brasileiros, mostra-se inadequada e potencialmente geradora de interpretações equivocadas sobre efeitos farmacológicos e toxicológicos. Diante desse cenário, torna-se evidente a necessidade urgente de estabelecimento de diretrizes nacionais de padronização, que contemplem o controle rigoroso das condições de manejo, incluindo dieta, densidade populacional, ventilação, controle sanitário e enriquecimento ambiental. Faz-se necessária a utilização mandatória de grupos controle contemporâneos, provenientes da mesma colônia e submetidos às mesmas condições experimentais.

É imperativa a padronização dos procedimentos de coleta e análise laboratorial, considerando o tipo de anticoagulante, o tempo entre coleta e processamento e, fundamentalmente, a calibração de equipamentos específicos para a espécie murina.

Além disso, o detalhamento metodológico nos estudos publicados deve ser rigoroso, incluindo informações essenciais como origem dos animais, histórico sanitário, condições de alojamento, regime de luz, tempo de jejum e horário da coleta (Zeitgeber time).

Reconhece-se, como limitação desta revisão, a dependência da literatura existente, por vezes caracterizada por descrições metodológicas incompletas. Contudo, isso reforça a necessidade de investigações futuras multicêntricas que integrem parâmetros hematológicos, bioquímicos e indicadores de estresse oxidativo. Em síntese, os achados demonstram que a estabilidade fisiológica de ratos Wistar utilizados em pesquisa no Brasil não pode ser presumida, mas deve ser cuidadosamente monitorada e padronizada. Esse rigor configura um requisito indispensável para a produção de conhecimento científico confiável, reprodutível e eticamente responsável no âmbito da pesquisa pré-clínica nacional.

Referências

AMARAL, O. B.; NOGUEIRA, C. W.; GARCIA-OLIVEROS, L. N. O papel do responsável técnico na garantia do bem-estar animal e na reprodutibilidade científica. *Revista Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório*, v. 12, n. 1, p. 15–28, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.31533/pubvet.v19n05e1776>/pubvet.v19n05e1776. Acesso em: 15 out. 2025.

ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. *Animais de laboratório: criação e experimentação*. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2002. Disponível em: <https://static.scielo.org/scielobooks/sfwjt/pdf/andrade-9788575413869.pdf>. Acesso em: 15 maio 2025.

ARCHANA, R. Noise stress induced changes in the plasma corticosterone and immune parameters of albino rats. *Journal of Environmental Biology*, v. 34, n. 4, p. 775–778, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10919105/>. Acesso em: 05 nov. 2025.

BALCOMBE, J. P. Laboratory environments and rodents' behavioural needs: a review. *Laboratory Animals*, v. 40, n. 3, p. 217–235, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1258/002367706777611488>. Acesso em: 02 jun. 2025.

BRASIL. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). Resolução Normativa nº 58, de 24 de maio de 2023. Dispõe sobre a instalação e o funcionamento das Comissões de Ética no Uso de Animais (CEUAs). Diário Oficial da União: Brasília, DF, 2023. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-n-58-de-24-de-fevereiro-de-2023-466792333>. Acesso em: 12 maio 2025.

BRASIL. Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008. Regulamenta o inciso VII do § 1o do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais. Diário Oficial da União: Brasília, DF, 2008. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2008/lei/l11794.htm. Acesso em: 10 maio 2025.

BRAVIN, A. M. et al. The impact of pre-analytical variables on the toxicological assessment of drugs in preclinical studies. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 56, e18502, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.22239/2317-269X.01433>. Acesso em: 20 out. 2025.

CARVALHO, F. S. et al. Parâmetros hematológicos de referência para ratos (*Rattus norvegicus*) das linhagens Wistar e EPM-1 Wistar provenientes de biotérios do Espírito Santo. Revista Brasileira de Medicina Veterinária, v. 31, n. 1, p. 52–58, 2009. Disponível em: <https://ojs.ceres.ufv.br/ceres/article/view/3393>. Acesso em: 10 jul. 2025.

COSTA, M. A. F.; COSTA, M. F. B. Replicação das pesquisas científicas no contexto da qualidade: contribuições para estudos em saúde. Revista Humanidades & Inovação, v. 8, n. 44, p. 149–157, 2021. Disponível em: <https://revista.unitins.br/index.php/humanidadeseinovacao/article/view/4892>. Acesso em: 22 out. 2025.

DANTAS, J. A. et al. Valores de referência de alguns parâmetros fisiológicos de ratos do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá, Estado do Paraná. Acta Scientiarum. Health Sciences, v. 28, n. 2, p. 165–170, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.4025/actascihealthsci.v28i2.1099>. Acesso em: 12 ago. 2025.

GONÇALVES, R. V. et al. Biological parameters of Wistar rats from the Central Animal Facility of the Federal University of Goiás. *Revista de Patologia Tropical*, v. 46, n. 1, p. 121–132, 2017. Disponível em: [https://www.bvs-vet.org.br/vetindex/periodicos/revista-da-sociedade-brasileira-de-ciencia-em-anim/5-\(2017\)-2/parametros-hematologicos-e-bioquimicos-de-ratos-wistar-provenientes-do/](https://www.bvs-vet.org.br/vetindex/periodicos/revista-da-sociedade-brasileira-de-ciencia-em-anim/5-(2017)-2/parametros-hematologicos-e-bioquimicos-de-ratos-wistar-provenientes-do/). Acesso em: 05 ago. 2025.

KALSBEEK, A. et al. Circadian rhythms in glucose metabolism. *Molecular and Cellular Endocrinology*, v. 386, n. 1-2, p. 75–83, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mce.2015.01.024>. Acesso em: 15 set. 2025.

LIMA, C. M. et al. Valores de referência hematológicos e bioquímicos de ratos *Rattus norvegicus* linhagem Wistar provenientes do biotério da Universidade Tiradentes. *Scientia Plena*, v. 10, n. 3, p. 1-8, 2014. Disponível em: <https://www.scientiaplina.org.br/sp/article/view/1784>. Acesso em: 18 set. 2025.

MELO, M. G. D. et al. Valores de referência hematológicos e bioquímicos de ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) provenientes do biotério central da Universidade Federal de Sergipe. *Scientia Plena*, v. 8, n. 4, p. 1–6, 2012. Disponível em: <https://www.scientiaplina.org.br/sp/article/view/494>. Acesso em: 08 jul. 2025.

NEVES, K. et al. Two years into the Brazilian Reproducibility Initiative: reflections on conducting a large-scale replication of Brazilian biomedical science. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 115, e200328, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0074-02760200328>. Acesso em: 01 out. 2025.

OLIVEIRA, T. V. et al. Standardization of biochemical and hematological reference values for Wistar rats (*Rattus norvegicus*) from the vivarium of the Federal University of Paraíba. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 13, e258101321200, 2021. Disponível em: <https://www.scientiaplina.org.br/sp/article/view/5955>. Acesso em: 25 ago. 2025.

ORLANDINI, A. Influência da amônia ambiental sobre parâmetros bioquímicos e hematológicos de ratos Wistar. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012. Disponível em:

<https://lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/48967/000829650.pdf?sequence=1>.

Acesso em: 02 nov. 2025.

PARASURAMAN, S.; RAVEENDRAN, R.; KESAVAN, R. Blood sample collection in small laboratory animals. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*, v. 1, n. 2, p. 87–93, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.4103/0976-500X.72350>. Acesso em: 12 nov. 2025.

PATEL, S. et al. Age-related changes in hematological and biochemical profiles of Wistar rats. *Laboratory Animal Research*, v. 40, n. 7, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s42826-024-00194-7>. Acesso em: 20 nov. 2025.

PERCIE DU SERT, N. et al. The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. *PLoS Biology*, v. 18, n. 7, e3000410, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000410>. Acesso em: 25 out. 2025.

ROBERTO, J. S. et al. Physiological parameters of Wistar rats in the Northeast region of Brazil. *Journal of Health & Biological Sciences*, v. 6, n. 3, p. 250–256, 2018. Disponível em: <https://revista.facene.com.br/index.php/revistane/article/view/34>. Acesso em: 20 ago. 2025.

SGANZERLA, M. et al. Biochemical and hematological reference values for Wistar rats from the vivarium of the University of Passo Fundo. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, v. 42, e46522, 2020. Disponível em: <http://www.periodicos.ulbra.br/index.php/stomatos/article/view/5227/3819>. Acesso em: 05 set. 2025.

SOUZA, A. C. S. et al. Effects of Amazonian diet on lipid profile of Wistar rats. *Journal of Amazonian Health Science*, v. 2, n. 1, p. 45–52, 2014. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rn/a/wLWgvTXwzCxDTMmLZtTQCcj/?lang=en>. Acesso em: 15 jul. 2025.

VIEIRA, J. L. et al. Environmental enrichment effects on weight gain and brain mass in Wistar rats. *Behavioural Brain Research*, v. 292, p. 1–8, 2015. Disponível em: <https://seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/26803>. Acesso em: 28 jun. 2025.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, O. B. et al. The Brazilian Reproducibility Initiative. *eLife*, v. 8, e41602, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.7554/eLife.41602>. Acesso em: 10 out. 2025.

AMARAL, O. B.; NOGUEIRA, C. W.; GARCIA-OLIVEROS, L. N. O papel do responsável técnico na garantia do bem-estar animal e na reprodutibilidade científica. *Revista Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório*, v. 12, n. 1, p. 15–28, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.31533/pubvet.v19n05e1776>. Acesso em: 15 out. 2025.

ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. *Animais de laboratório: criação e experimentação*. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2002. Disponível em: <https://static.scielo.org/scielobooks/sfwjtj/pdf/andrade-9788575413869.pdf>. Acesso em: 15 maio 2025.

ARCHANA, R. Noise stress induced changes in the plasma corticosterone and immune parameters of albino rats. *Journal of Environmental Biology*, v. 34, n. 4, p. 775–778, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10919105/>. Acesso em: 05 nov. 2025.

BALCOMBE, J. P. Laboratory environments and rodents' behavioural needs: a review. *Laboratory Animals*, v. 40, n. 3, p. 217–235, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1258/002367706777611488>. Acesso em: 02 jun. 2025.

BRASIL. Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008. Regulamenta o inciso VII do § 1o do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais. *Diário Oficial da União*: Brasília, DF, 2008. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2008/lei/l11794.htm. Acesso em: 10 maio 2025.

BRASIL. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). Resolução Normativa nº 58, de 24 de maio de 2023. Dispõe sobre a instalação e o funcionamento das Comissões de Ética no Uso de Animais (CEUAs). *Diário Oficial da União*: Brasília, DF, 2023. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-n-58-de-24-de-fevereiro-de-2023-466792333>. Acesso em: 12 maio 2025.

BRAVIN, A. M. et al. The impact of pre-analytical variables on the toxicological assessment of drugs in preclinical studies. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 56, e18502, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.22239/2317-269X.01433>. Acesso em: 20 out. 2025.

CARVALHO, F. S. et al. Parâmetros hematológicos de referência para ratos (*Rattus norvegicus*) das linhagens Wistar e EPM-1 Wistar provenientes de biotérios do Espírito Santo. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v. 31, n. 1, p. 52–58, 2009. Disponível em: <https://ojs.ceres.ufv.br/ceres/article/view/3393>. Acesso em: 10 jul. 2025.

CHARLES RIVER LABORATORIES. Clinical laboratory parameters for Crl:WI(Han) rats. Wilmington: Charles River Laboratories, 2006. Disponível em: https://www.criver.com/sites/default/files/resources/rm_rm_r_clinical_parameters_cd_rat_06.pdf. Acesso em: 15 jun. 2025.

COSTA, M. A. F.; COSTA, M. F. B. Replicação das pesquisas científicas no contexto da qualidade: contribuições para estudos em saúde. *Revista Humanidades & Inovação*, v. 8, n. 44, p. 149–157, 2021. Disponível em: <https://revista.unitins.br/index.php/humanidadeseinovacao/article/view/4892>. Acesso em: 22 out. 2025.

DANTAS, J. A. et al. Valores de referência de alguns parâmetros fisiológicos de ratos do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá, Estado do Paraná. *Acta Scientiarum. Health Sciences*, v. 28, n. 2, p. 165–170, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.4025/actascihealthsci.v28i2.1099>. Acesso em: 12 ago. 2025.

GONÇALVES, R. V. et al. Biological parameters of Wistar rats from the Central Animal Facility of the Federal University of Goiás. *Revista de Patologia Tropical*, v. 46, n. 1, p. 121–132, 2017. Disponível em: [https://www.bvs-vet.org.br/vetindex/periodicos/revista-da-sociedade-brasileira-de-ciencia-em-anim/5-\(2017\)-2/parametros-hematologicos-e-bioquimicos-de-ratos-wistar-provenientes-do/](https://www.bvs-vet.org.br/vetindex/periodicos/revista-da-sociedade-brasileira-de-ciencia-em-anim/5-(2017)-2/parametros-hematologicos-e-bioquimicos-de-ratos-wistar-provenientes-do/). Acesso em: 05 ago. 2025.

KALSBEEK, A. et al. Circadian rhythms in glucose metabolism. *Molecular and Cellular Endocrinology*, v. 386, n. 1-2, p. 75–83, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mce.2015.01.024>. Acesso em: 15 set. 2025.

LIMA, C. M. et al. Valores de referência hematológicos e bioquímicos de ratos *Rattus norvegicus* linhagem Wistar provenientes do biotério da Universidade Tiradentes. *Scientia Plena*, v. 10, n. 3, p. 1-8, 2014. Disponível em: <https://www.scientiaplena.org.br/sp/article/view/1784>. Acesso em: 18 set. 2025.

MELO, M. G. D. et al. Valores de referência hematológicos e bioquímicos de ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) provenientes do biotério central da Universidade Federal de Sergipe. *Scientia Plena*, v. 8, n. 4, p. 1–6, 2012. Disponível em: <https://www.scientiaplena.org.br/sp/article/view/494>. Acesso em: 08 jul. 2025.

NEVES, K. et al. Two years into the Brazilian Reproducibility Initiative: reflections on conducting a large-scale replication of Brazilian biomedical science. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 115, e200328, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0074-02760200328>. Acesso em: 01 out. 2025.

OLIVEIRA, T. V. et al. Standardization of biochemical and hematological reference values for Wistar rats (*Rattus norvegicus*) from the vivarium of the Federal University of Paraíba. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 13, e258101321200, 2021. Disponível em: <https://www.scientiaplena.org.br/sp/article/view/5955>. Acesso em: 25 ago. 2025.

ORLANDINI, A. Influência da amônia ambiental sobre parâmetros bioquímicos e hematológicos de ratos Wistar. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/48967/000829650.pdf?sequence=1>. Acesso em: 02 nov. 2025.

OZER, J. et al. The current state of serum biomarkers of hepatotoxicity. *Toxicology*, v. 245, n. 3, p. 194–205, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tox.2007.11.021>. Acesso em: 10 nov. 2025.

PARASURAMAN, S.; RAVEENDRAN, R.; KESAVAN, R. Blood sample collection in small laboratory animals. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*, v. 1, n. 2, p. 87–93, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.4103/0976-500X.72350>. Acesso em: 12 nov. 2025.

PATEL, S. et al. Age-related changes in hematological and biochemical profiles of Wistar rats. *Laboratory Animal Research*, v. 40, n. 7, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s42826-024-00194-7>. Acesso em: 20 nov. 2025.

PERCIE DU SERT, N. et al. The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. *PLoS Biology*, v. 18, n. 7, e3000410, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000410>. Acesso em: 25 out. 2025.

ROBERTO, J. S. et al. Physiological parameters of Wistar rats in the Northeast region of Brazil. *Journal of Health & Biological Sciences*, v. 6, n. 3, p. 250–256, 2018. Disponível em: <https://revista.facene.com.br/index.php/revistane/article/view/34>. Acesso em: 20 ago. 2025.

SENGUPTA, P. The Laboratory Rat: Relating its Age with Human's. *International Journal of Preventive Medicine*, v. 4, n. 6, p. 624–630, 2013. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3733029/>. Acesso em: 20 jun. 2025.

SGANZERLA, M. et al. Biochemical and hematological reference values for Wistar rats from the vivarium of the University of Passo Fundo. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, v. 42, e46522, 2020. Disponível em: <http://www.periodicos.ulbra.br/index.php/stomatos/article/view/5227/3819>. Acesso em: 05 set. 2025.

SOUZA NETO JÚNIOR, J. C. et al. Development of a healing, antimicrobial, and anti-inflammatory gel containing bacterial cellulose and curcumin. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 280, p. 1–12, 2025. Disponível em: <https://ojs.cuadernoseducacion.com/ojs/index.php/ced/article/view/7467>. Acesso em: 25 nov. 2025.

SOUZA, A. C. S. et al. Effects of Amazonian diet on lipid profile of Wistar rats. *Journal of Amazonian Health Science*, v. 2, n. 1, p. 45–52, 2014. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rn/a/wLWgvTXwzCxDTMmLZtTQCcj/?lang=en>. Acesso em: 15 jul. 2025.

VIEIRA, J. L. et al. Environmental enrichment effects on weight gain and brain mass in Wistar rats. *Behavioural Brain Research*, v. 292, p. 1–8, 2015. Disponível em: <https://seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/26803>. Acesso em: 28 jun. 2025.