



Criação de Animais de Laboratório
VPT 2203/2020

Ana T. F. B. Antiorio
Médica-veterinária

ZEBRAFISH

SÃO PAULO

SETEMBRO/2020

ZEBRAFISH



Introdução

Biologia

Manejo e cuidados

Uso na pesquisa

Legislação - CONCEA

INTRODUÇÃO

- MODELO POPULAR EM PESQUISAS BIOMÉDICAS E EM ECOTOXICOLOGIA;
- CONSIDERADO UM MODELO ALTERNATIVO EM RELAÇÃO AOS ANIMAIS DE LABORATÓRIO CONVENCIONAIS;
- PARTICULARMENTE NO USO DE EMBRIÕES.



Reproductive Toxicology

Volume 33, Issue 2, April 2012, Pages 128-132



Zebrafish embryos as an alternative to animal experiments—A commentary on the definition of the onset of protected life stages in animal welfare regulations

Uwe Strähle ^a ✉, Stefan Scholz ^b ✉, Robert Geisler ^a ✉, Petra Greiner ^c, Henner Hollert ^d, Sepand Rastegar ^a, Axel Schumacher ^a, Ingrid Selderslaghs ^e, Carsten Weiss ^a, Hilda Witters ^e, Thomas Braunbeck ^f ✉

☒ Show more

<https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2011.06.121>

[Get rights and content](#)

BIOLOGIA

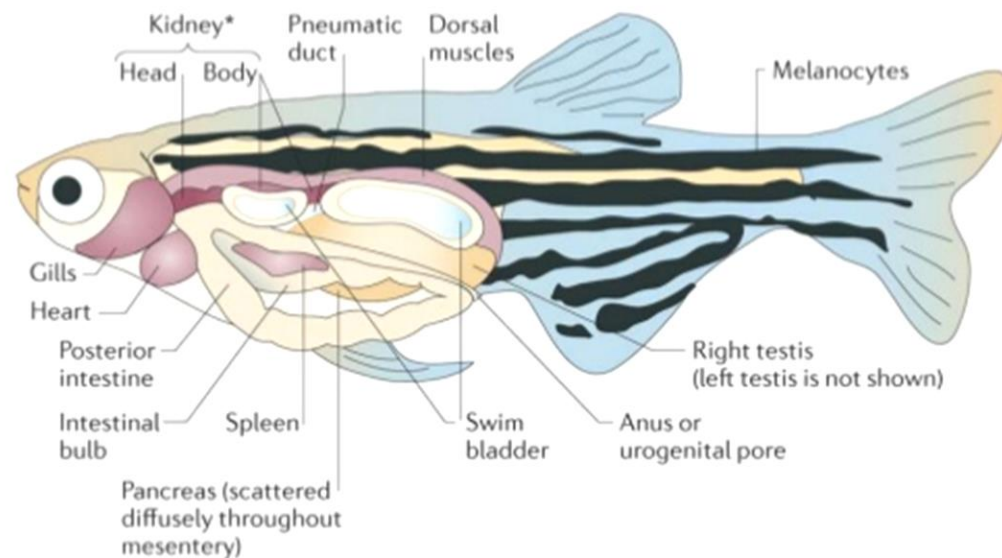
- DANIO RERIO (CIPRINÍDEO);
- NATIVO DO SUL DA ÁSIA (ÍNDIA, BANGLADESH E NEPAL);
- GRUPOS DE 5-20 INDIVÍDUOS;
- CORPOS D'ÁGUA DOCE DE CIRCULAÇÃO LENTA (ÁGUA MORNA);
- ÁREAS COM VEGETAÇÃO;
- ALIMENTAM-SE DE UMA VARIEDADE DE ZOOPLÂNCTON E INSETOS.



BIOLOGIA

- TAMANHO: 2-3 CM (ATÉ 5 CM);
- IDADE ADULTA: EM MÉDIA 90 DIAS;
- EXPECTATIVA DE VIDA: 2-3 ANOS;
- PEIXE TELEÓSTEO;
- WILD TYPE – AB (AB);
- MUTANTES;
- TRANSGÊNICOS.

Organs of Zebrafish

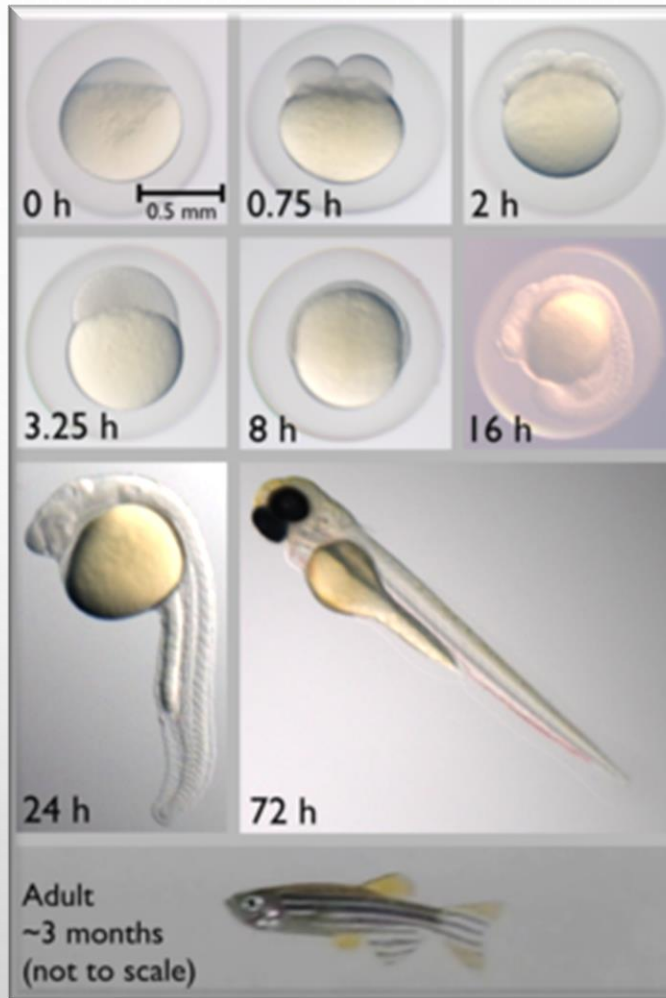


Nature Reviews | Cancer

Fonte: <https://www.nature.com/articles/nrc3589>

BIOLOGIA

- MATUREZADE SEXUAL: 3-6 MESES;
- 200-300 OVOS/DIA;
- LARVA ECLODE: 2,5-3 DIAS PÓS-FERTILIZAÇÃO.



BIOLOGIA

- DIETA VIVA (ARTÊMIA, ROTÍFEROS, PARAMECIUM);
- RAÇÃO COMERCIAL;
- ✓ PROTEÍNAS (29-60%);
- ✓ LIPÍDEOS (10-15%);
- ✓ CARBOIDRATOS (NÃO HÁ UMA EXIGÊNCIA NUTRICIONAL <5%);
- ✓ VITAMINAS E MINERAIS;
- FREQUÊNCIA: 3-5 X/DIA, DURANTE O PERÍODO CLARO;
- 1 A 5% DA BIOMASSA/DIA NA FASE ADULTA, 25 A 50% NA FASE JUVENIL (28 DPF) E 50 A 300% NA FASE LARVAL (4 DPF).



MANEJO E CUIDADOS

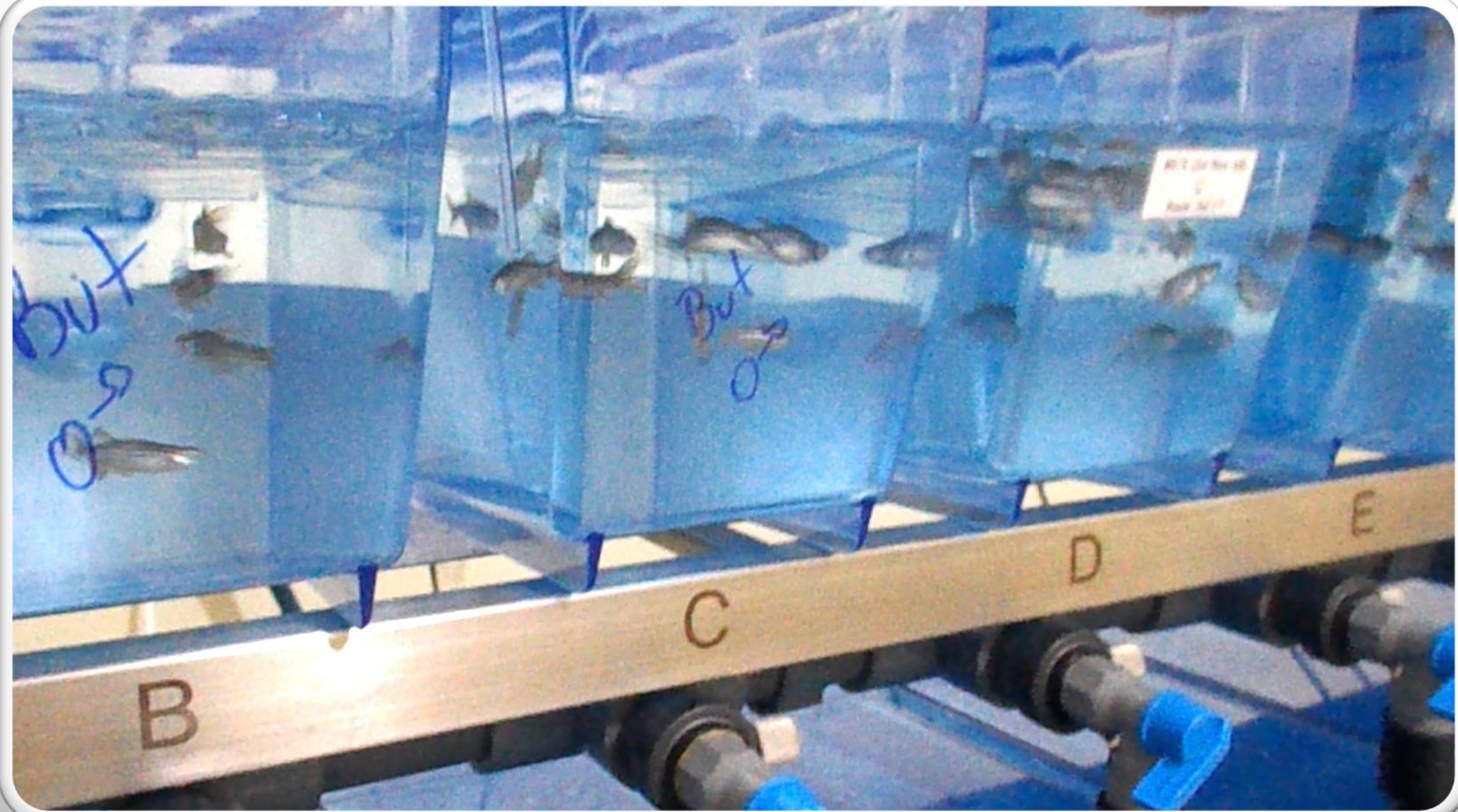
- QUALIDADE DA ÁGUA:
 - ✓ TEMPERATURA (26-28°C);
 - ✓ PH (6,8-7,5);
 - ✓ ALCALINIDADE (50-100 MG/L CaCO_3);
 - ✓ SALINIDADE (0,5-2 G/L);
 - ✓ OXIGÊNIO DISSOLVIDO (~7.8 MG/L A 28°C);
 - ✓ NITRITO: ZERO/NITRATO: ATÉ 200MG/ML
 - ✓ AMÔNIA: ZERO.



MANEJO E CUIDADOS

- HÁ 3 TIPOS DE ALOJAMENTO: ESTÁTICO; “FLOW THROUGH”; RECIRCULANTE;
- TIPOS DE FILTROS: MECÂNICO, QUÍMICO E BIOLÓGICO;
- LUZ UV.





MANEJO E CUIDADOS

BIOTÉRIO – EMBRAPA,
JAGUARIÚNA, SP

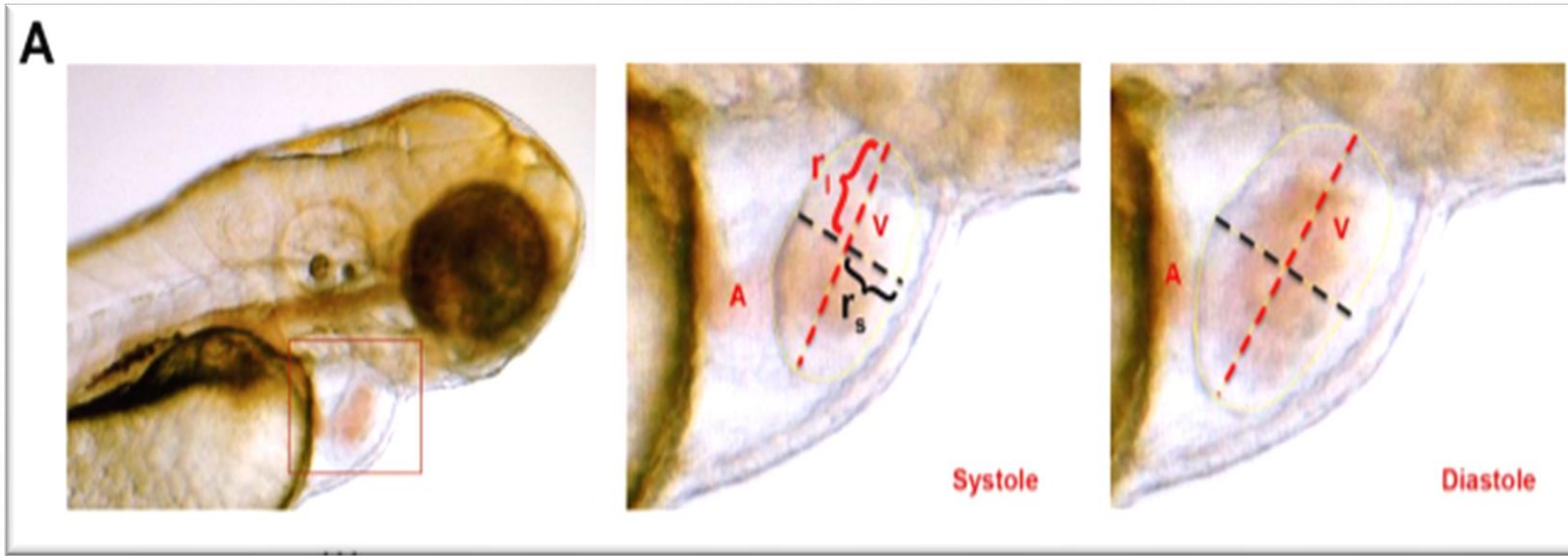
USO NA PESQUISA:

- (ECO) TOXICOLOGIA;
- CÂNCER;
- IMUNOLOGIA;
- DOENÇAS METABÓLICAS (POR EX. DIABETES);
- DOENÇAS MUSCULARES;
- DOENÇAS NEURODEGENERATIVAS;
- DOENÇAS GENÉTICAS;
- DESENVOLVIMENTO DE DROGAS, ETC.

VOLUME 14, NUMBER 5 • OCTOBER 2017
ISSN: 1545-8547

Zebrafish





RESEARCH ARTICLE

Differences in cardiovascular toxicities associated with cigarette smoking and snuff use revealed using novel zebrafish models

Maggie Folkesson, Natalia Sadowska, Svante Vikingsson, Matts Karlsson, Carl-Johan Carlhäll, Toste Länne, Dick Wågsäter, Lasse Jensen

Biology Open 2016 5: 970-978; doi: 10.1242/bio.018812

[Dis Model Mech.](#) 2012 Nov; 5(6): 726–732.

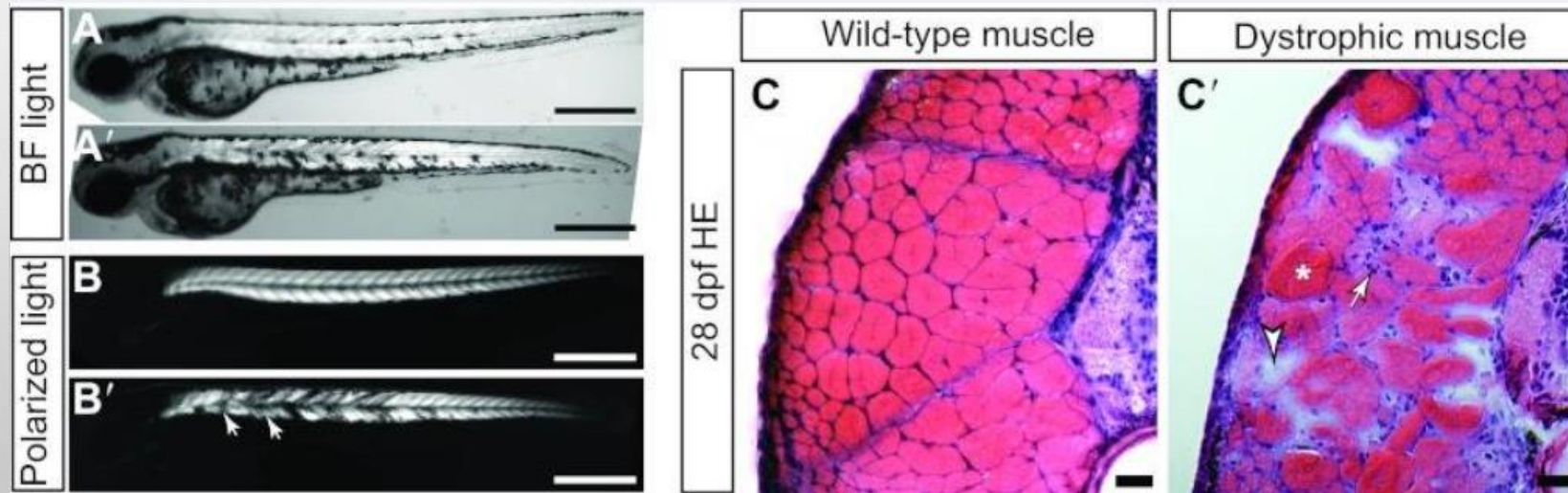
doi: [10.1242/dmm.010082](https://doi.org/10.1242/dmm.010082)

PMCID: PMC3484855

PMID: [23115202](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23115202/)

Zebrafish models flex their muscles to shed light on muscular dystrophies

[Joachim Berger](#)^{1,*} and [Peter D. Currie](#)^{1,*}



[Nature](#). Author manuscript; available in PMC 2012 May 9.

Published in final edited form as:

[Nature](#). 2011 Mar 24; 471(7339): 513–517.

doi: [10.1038/nature09806](https://doi.org/10.1038/nature09806)

PMCID: PMC3348545

NIHMSID: NIHMS263168

PMID: [21430779](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21430779/)

The SETDB1 histone methyltransferase is recurrently amplified in and accelerates melanoma

[Craig J. Ceol](#),^{1,*} [Yariv Houvras](#),^{1,2,*} [Judith Jane-Valbuena](#),³ [Steve Bilodeau](#),⁴ [David A. Orlando](#),⁴ [Valentine Battisti](#),⁵ [Lauriane Fritsch](#),⁵ [William M. Lin](#),³ [Travis J. Hollmann](#),⁶ [Fabrizio Ferré](#),⁷ [Caitlin Bourque](#),¹ [Christopher J. Burke](#),¹ [Laura Turner](#),¹ [Audrey Uong](#),¹ [Laura A. Johnson](#),³ [Rameen Beroukhim](#),³ [Craig H. Mermel](#),³ [Massimo Loda](#),⁶ [Slimane Ait-Si-Ali](#),⁵ [Levi A. Garraway](#),³ [Richard A. Young](#),⁴ and [Leonard I. Zon](#)¹

► [Author information](#) ► [Copyright and License information](#) [Disclaimer](#)

miniCoopR-EGFP 10% (n=125)



Tg(mitfa:BRAF^{V600E});p53(lf);mitfa(lf)

miniCoopR-SETDB1 53% (n=70)



Tg(mitfa:BRAF^{V600E});p53(lf);mitfa(lf)

miniCoopR-SETDB1 0% (n=49)

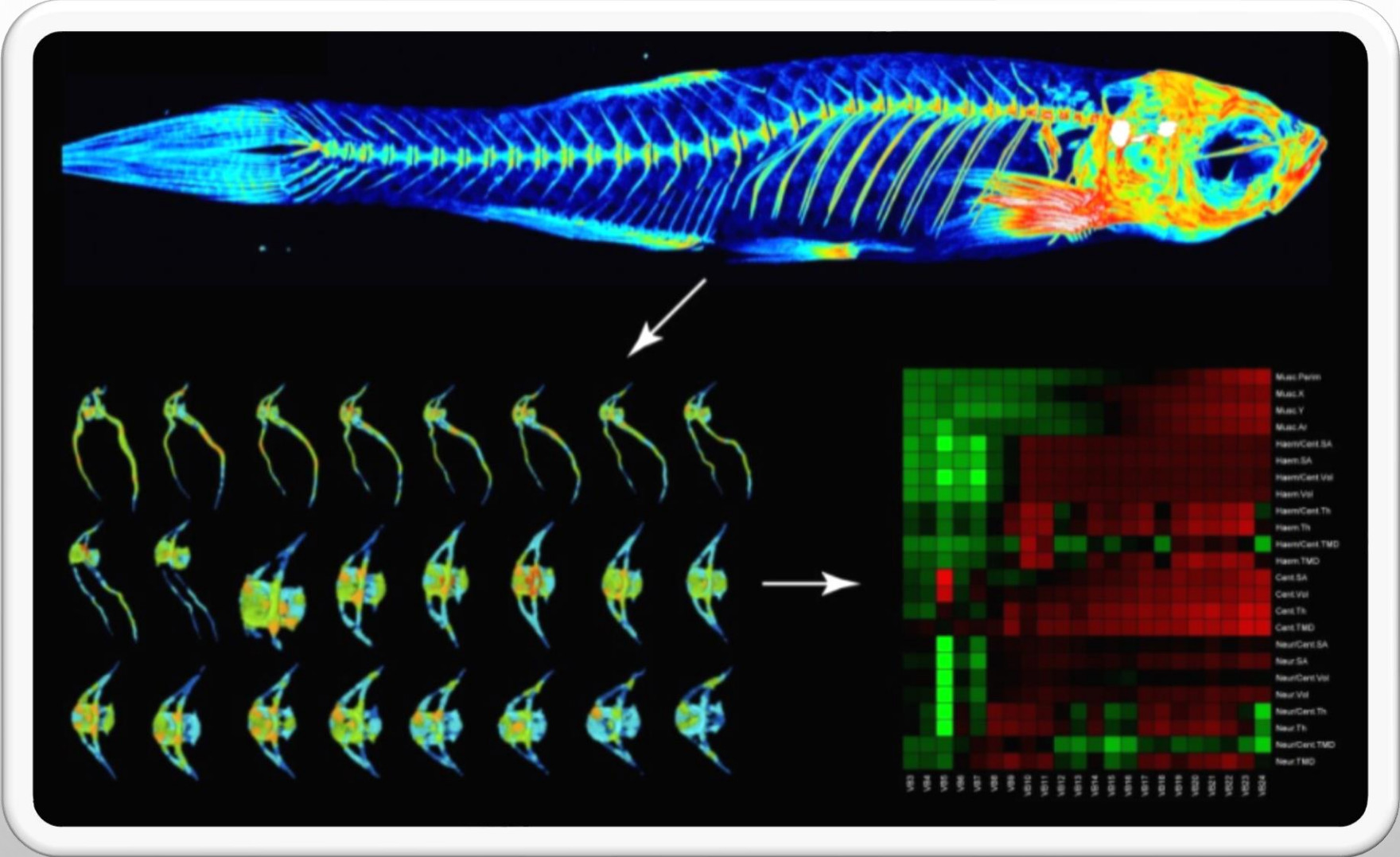


Tg(mitfa:BRAF^{V600E});mitfa(lf)

miniCoopR-SETDB1 0% (n=41)



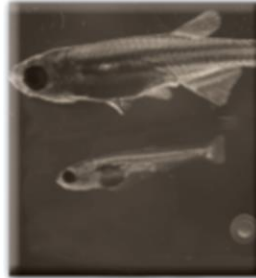
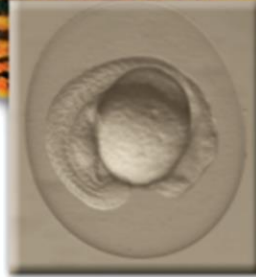
p53(lf);mitfa(lf)



[Musculoskeletal Systems Biology](https://blogs.uw.edu/ronkwon/)
 MSBL/Kwon Research Blog

<https://blogs.uw.edu/ronkwon/>

The Laboratory
ZEBRAFISH



Claudia Harper
Christian Lawrence

 CRC Press
Taylor & Francis Group

A Volume in The Laboratory Animal Pocket Reference Series



Research

Genomics

Resources

Community

Support

Sign In

Search expert curated zebrafish data

Any

heart contraction abnormal

Search

Fig. 1 of Monroe et al., 20

Genes

Search for genes, transcripts, clones, and other markers



Expression

Search for gene expression data, and annotated images



About ZFIN

The Zebrafish Information Network (ZFIN) is the database of genetic and genomic data for tl

<http://zfin.org/>

LEGISLAÇÃO CONCEA

- **RESOLUÇÃO NORMATIVA N°34 CONCEA, DE 27 DE JULHO DE 2017**

PEIXES MANTIDOS EM INSTALAÇÕES DE INSTITUIÇÕES DE ENSINO OU PESQUISA CIENTÍFICA PARA FINS DE ESTUDO BIOLÓGICO OU BIOMÉDICO I – LAMBARI (ASTYANAX), TILÁPIA (TILAPIA, SAROTHERODON E OREOCHROMIS) E ZEBRAFISH (DANIO RERIO)

- **RESOLUÇÃO NORMATIVA N°44 CONCEA, DE 01 DE AGOSTO DE 2019**

PEIXES MANTIDOS EM INSTALAÇÕES DE INSTITUIÇÕES DE ENSINO OU PESQUISA CIENTÍFICA – II

RESOLUÇÃO NORMATIVA N°34 CONCEA, DE 27 DE JULHO DE 2017

ANEXO I

PEIXES MANTIDOS EM INSTALAÇÕES DE INSTITUIÇÕES DE ENSINO OU PESQUISA CIENTÍFICA PARA FINS DE ESTUDO BIOLÓGICO OU BIOMÉDICO

- **LAMBARI**

ASTYANAX FASCIATUS (LAMBARI-DO-RABO-VERMELHO) *

- *ASTYANAX ALTIPARANAE* (LAMBARI-DO-RABO-AMARELO OU TAMBIÚ)

- **TILÁPIA**

TILAPIA RENDALLI (TILÁPIA DO CONGO) - 1953

- *OREOCHROMIS NILOTICUS* (TILÁPIA DO NILO) - 1971

- *SAROTHERODON HORNORUM* (TILÁPIA VERMELHA) - 1981

- **ZEBRAFISH**



ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL

- ✓ AMBIENTE MODIFICADO EM PROL DA MELHOR QUALIDADE DE VIDA E DA MAIOR SATISFAÇÃO DAS NECESSIDADES FISIOLÓGICAS, INCLUINDO ASPECTOS COMPORTAMENTAIS, REPRODUTIVOS, ETC.

EX.: CASCALHO, VEGETAÇÃO, ABRIGOS DE PVC, PEDAÇOS DE TIJOLOS E MADEIRA, USO DE CORES E OUTROS.




TRANSPORTE

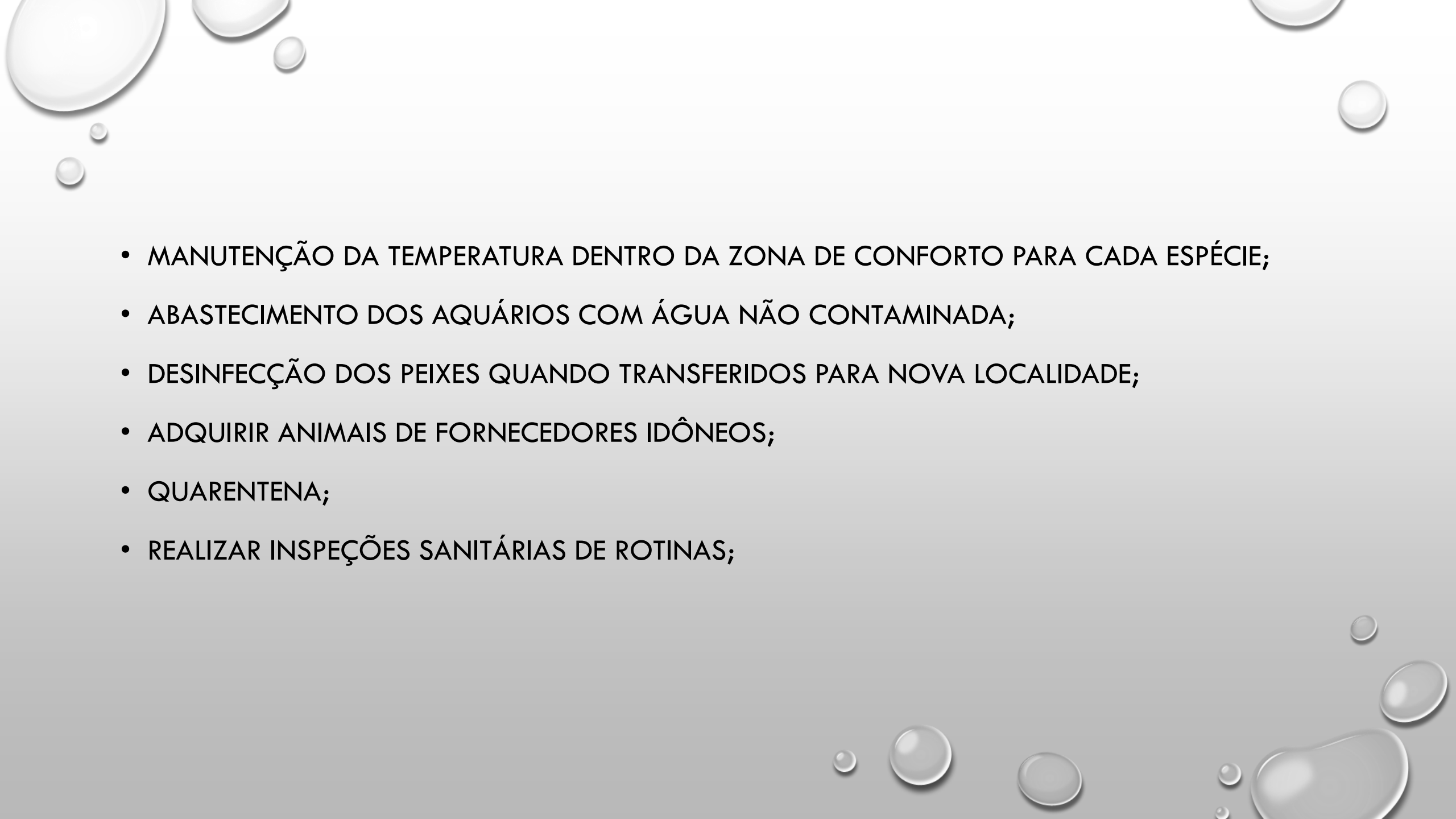
- ✓ O TRANSPORTE É FISIOLÓGICAMENTE ESTRESSANTE, ESPECIALMENTE QUANDO REALIZADO POR LONGAS DISTÂNCIAS. DESTA FORMA, O CONHECIMENTO DOS MÉTODOS IDEAIS É ESSENCIAL PARA GARANTIR A SAÚDE E SOBREVIVÊNCIA DOS ANIMAIS.
- JEJUM: 24 H ANTES DO TRANSPORTE;
- CAIXAS ESPECIALIZADAS COM SUPRIMENTO DE O₂;
- SACOS PLÁSTICOS: 8 A 10H, COM UMA BIOMASSA MÁX 50G/L;
- MANUTENÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA (AMÔNIA E O₂);
- ADICIONAR 3 A 6G/L DE NaCl;
- TEMPERATURA (USO DE ISOPOR OU EMBALAGENS TÉRMICAS).





PONTOS A SEREM CONSIDERADOS PARA MINIMIZAR A INSTALAÇÃO DE DOENÇAS EM PEIXES:

- MANUTENÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA;
 - CUIDADOS NO MANEJO ALIMENTAR E EXPERIMENTAL;
 - OXIGÊNIO DISSOLVIDO DENTRO DOS LIMITES DESEJÁVEIS PARA CADA ESPÉCIE;
 - CONCENTRAÇÃO DE AMÔNIA;
 - PH;
 - BIOMASSA – DENSIDADE DE ESTOCAGEM ADEQUADA;
 - EVITAR ACÚMULO DE MATÉRIA ORGÂNICA;
 - UTENSÍLIOS LIMITADOS PARA CADA AQUÁRIO;
- 

- 
- MANUTENÇÃO DA TEMPERATURA DENTRO DA ZONA DE CONFORTO PARA CADA ESPÉCIE;
 - ABASTECIMENTO DOS AQUÁRIOS COM ÁGUA NÃO CONTAMINADA;
 - DESINFECÇÃO DOS PEIXES QUANDO TRANSFERIDOS PARA NOVA LOCALIDADE;
 - ADQUIRIR ANIMAIS DE FORNECEDORES IDÔNEOS;
 - QUARENTENA;
 - REALIZAR INSPEÇÕES SANITÁRIAS DE ROTINAS;

- SEPARAR EM UNIDADES DE PRODUÇÃO;
- ATENTAR PARA ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS;
- RETIRAR ANIMAIS MORTOS OU DOENTES DOS TANQUES E AQUÁRIOS;
- DESTINO CORRETO DAS CARCAÇAS;
- DESINFETAR O MATERIAL DE USO ROTINEIRO;
- RESTRINGIR O USO DE ANTIBIÓTICOS;
- REALIZAR O CONTROLE DE PARASITAS;
- REALIZAR O CONTROLE DE VETORES E HI;
- CONTROLAR A POPULAÇÃO DE OUTROS ANIMAIS NAS PROXIMIDADES DOS TANQUES.

PROCEDIMENTOS EM ATIVIDADES DE PESQUISA E ENSINO

- EXAMES CLÍNICOS, CIRURGIA, ANESTESIA E DIAGNÓSTICO DEVEM SER REALIZADOS POR MÉDICOS-VETERINÁRIOS, OU POR PESSOAL TREINADO, NA PRESENÇA DE UM MÉDICO-VETERINÁRIO;
- O MANEJO DEVE SER REALIZADO EM AMBIENTE CALMO;
- APÓS RETIRADA DO AQUÁRIO, O PEIXE DEVE SER COLOCADO IMEDIATAMENTE EM ÁGUA COM ANESTÉSICO;
- UTILIZAR UM PANO OU TOALHA MOLHADA PARA MANUSEAR O ANIMAL;
- EVITAR CONTATO DAS MÃOS COM O CORPO DO ANIMAL PARA MINIMIZAR LESÕES;

ADMINISTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS

- FORMA MENOS INVASIVA: POR BANHO DE IMERSÃO;
- TODOS OS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DA ÁGUA DEVEM SER CONTROLADOS, UMA VEZ QUE PODEM INFLUENCIAR A FARMACODINÂMICA DE SUBSTÂNCIAS DISSOLVIDAS NA MESMA;
- AO SE OBSERVAR SINAIS DE TOXICIDADE, DEVE-SE TRANSFERIR PRONTAMENTE OS PEIXES PARA RECIPIENTE CONTENDO ÁGUA PURA E DEVIDAMENTE AERADA;
- PEIXES GRANDES E/OU COM RESPIRAÇÃO AÉREA OBRIGATÓRIA REQUEREM O USO DE ASPERSÃO DO FÁRMACO DIRETAMENTE NAS BRÂNQUIAS;
- OUTRAS VIAS QUE PODEM SER UTILIZADAS: SUBCUTÂNEA, INTRAMUSCULAR, INTRAVENOSA, INTRAPERITONEAL E INTRACELOMÁTICA ;
- ALGUMAS SUBSTÂNCIAS, COMO OS ADITIVOS, PODEM SER INCORPORADAS À DIETA A SER OFERECIDA AOS PEIXES.

COLHEITA DE TECIDOS, FLUIDOS, SECREÇÕES, EXCREÇÕES E ECTOPARASITOS

- BIÓPSIAS EXTERNAS POR RETIRADA DE FRAGMENTOS OU RASPAGEM : PELE, ESCAMAS, NADADEIRAS E BRÂNQUIAS;
- FEZES: PRESSIONA-SE A REGIÃO PRÓXIMA A ABERTURA ANAL OU POR SONDA CLOACAL;
- SÊMEN: PRESSIONA-SE A REGIÃO ABDOMINAL PRÓXIMO AO PORO UROGENITAL;
- BIÓPSIAS MUSCULARES E DE TECIDOS;
- SANGUE: PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS E MORFOLÓGICOS E PESQUISA DE HEMOPARASITAS;
- SANGUE: VASOS DA REGIÃO CAUDAL, LOCALIZADOS VENTROLATERALMENTE À MEDULA ESPINHAL*

* PARA TAL PROCEDIMENTO, O PEIXE PODE SER APENAS CONTIDO MECANICAMENTE (NO GRUPO CONTROLE EM ESTUDOS PARA VERIFICAR O EFEITO DE ANESTÉSICOS) OU AINDA ESTAR SOB EFEITO DE UM SEDATIVO OU ANESTÉSICO; A PUNÇÃO INTRA CARDÍACA É MENOS UTILIZADA, SENDO A ANESTESIA INDISPENSÁVEL NESTE CASO.



COLETA DE SANGUE

CIRURGIA EXPERIMENTAL

- CONHECIMENTO DA ANATOMIA DA ESPÉCIE;
- TÉCNICAS CIRÚRGICAS UTILIZADAS (EXEMPLOS):
INTUBAÇÃO ESOFÁGICA, A CANULAÇÃO DA AORTA DORSAL, CATETERISMO URINÁRIO, REMOÇÃO DO ÓRGÃO ENDÓCRINO PANCREÁTICO, CELIOTOMIA, BIÓPSIAS TECIDUAIS, CIRURGIAS REPRODUTIVAS E LESÃO MECÂNICA DIRETA DA REGIÃO MEDIAL TELENCEFÁLICA;
- AS CIRURGIAS EM PEIXES PODEM SER REALIZADAS TANTO COM O ANIMAL DENTRO DA ÁGUA QUANTO FORA DELA;
- REALIZAR MANIPULAÇÃO CUIDADOSA E MANTER A UMIDADE DA PELE.

CUIDADOS NO MANEJO

- MANTER O ANIMAL EM AMBIENTE TRANQUILO COM ÁGUA AERADA E EM CONDIÇÕES IDEAIS PARA A ESPÉCIE;
- SE HOUVER INFECÇÕES PARASITÁRIAS OU BACTERIANAS: TRATAR O ANIMAL ANTES DO PROCEDIMENTO CIRÚRGICO;
- REALIZAR JEJUM ANTES DE SUBMETER O ANIMAL A ANESTESIA PROFUNDA;
- APÓS A CIRURGIA COLOCAR O ANIMAL EM TANQUE DE RECUPERAÇÃO ATÉ QUE OS EFEITOS DA ANESTESIA NÃO SEJAM MAIS VISUALIZADOS;
- DEVOLVER O ANIMAL PARA O AMBIENTE DE ORIGEM;
- MANTER O ANIMAL EM ISOLAMENTO PARA FACILITAR A INSPEÇÃO.

ANALGESIA

- INDICATIVOS DE DOR: INAPETÊNCIA OU ANOREXIA APÓS PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS, VENTILAÇÃO RÁPIDA, POSIÇÃO ANORMAL E IMOBILIDADE;
- OPIOIDES: BUTORFANOL E MORFINA;
- ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO-ESTEROIDES: POR EX., CETOPROFENO E CARPROFENO;
- ANESTÉSICOS LOCAIS: POR EX., LIDOCAÍNA.

ANESTESIA

- FATORES QUE PODEM AFETAR A EFICIÊNCIA DO ANESTÉSICO: SOLUBILIDADE DO FÁRMACO, ÁREA DA SUPERFÍCIE BRANQUIAL, AMBIENTE (PH E TEMPERATURA);
- ANESTÉSICOS RECOMENDADOS PELO CFMV: BARBITÚRICOS OU OUTROS ANESTÉSICOS GERAIS INJETÁVEIS, HALOTANO, ISOFLURANO, SEVOFLURANO, MS-222 E HIDROCLORETO DE BENZOCAÍNA;
- OUTROS AGENTES: PROPOFOL, EUGENOL E ÓLEO DE CRAVO;
- DIMINUIÇÃO GRADATIVA DA TEMPERATURA DA ÁGUA;
- INICIALMENTE, OS ANESTÉSICOS INDUZEM UM EFEITO SEDATIVO. EM SEGUIDA, HÁ PERDA DE EQUILÍBRIO, MOBILIDADE, CONSCIÊNCIA E, POR FIM, DE AÇÃO REFLEXA.

EUTANÁSIA

DIRETRIZ DA PRÁTICA DE EUTANÁSIA DO CONCEA – RN 37, DE 15/02/2018

Recomendáveis	Benzocaína ou outro anestésico local (imersão)
	Sulfonato metano de tricaína -TMS ou MS222 (imersão)
	Eugenol ou óleo de cravo da Índia (imersão)
	Barbitúricos (por ex. tiopental 60-100 mg/kg) por via intraperitoneal
	Anestésicos gerais (por ex. propofol, etomidato, metomidato) via intravenosa
	Anestésicos inalatórios (concentração 5 – 10X da utilizada para anestesia), seguido de outro método para assegurar a morte
Aceitos com restrição	Atordoamento ou anestesia geral e decapitação
	Atordoamento e destruição do cérebro (perfuração craniana)
	Atordoamento e secção da medula espinhal
	2-Fenoxietanol (imersão)
	Atordoamento por eletronarcose, seguido de exsanguinação ou de outro método que assegure a morte
	Congelamento com nitrogênio líquido para pequenos peixes até 200 mg (0,2 g)
	Imersão em água com gelo, 0 a 4°C/10-20 minutos (apenas espécies de peixes estenotérmicos tropicais e subtropicais de pequeno porte)

NECRÓPSIA E DESCARTE DE CARÇAÇAS

- EM ESTUDOS BIOMÉDICOS COM USO DE PEIXES COMO MODELO ANIMAL TÉCNICAS NECROSCÓPICAS DEVEM SER REALIZADAS EM TODOS OS EXEMPLARES;
- COLETA-SE MATERIAL BIOLÓGICO PARA EXAMES HISTOPATOLÓGICO, MICROBIOLÓGICO, TOXICOLÓGICO, PARASITOLÓGICO E CITOLÓGICO, A FIM DE DETERMINAR A CAUSA MORTIS;
- AS CARÇAÇAS E RESTOS DE TECIDOS DEVEM SER ACONDICIONADOS EM SACO BRANCO COM SÍMBOLO DE INFECTANTE E MANTIDOS EM CÂMARA FRIA OU FREEZER ATÉ A COLETA POR EMPRESA ESPECIALIZADA;
- COM EXCEÇÃO DE LINHAGENS DOMESTICADAS, COMO É O CASO DO ZEBRAFISH E DAS TILÁPIAS-DO-NILO DE LABORATÓRIO, AMOSTRAS DE EXEMPLARES-TESTEMUNHO DEVEM SER DEPOSITADAS EM COLEÇÕES OFICIAIS DE MUSEUS OU OUTRAS INSTITUIÇÕES DE PESQUISA;
- SE OS ANIMAIS FOREM MANTIDOS VIVOS APÓS O ESTUDO, DEVEM CONTINUAR EM CATIVEIRO PARA EVITAR A INTRODUÇÃO DE DOENÇAS NO AMBIENTE.

Got Stress.?



OBRIGADA!