

Lucas Cardoso Pereira

**COMPARAÇÃO ENTRE TÉCNICAS DE AFERIÇÃO DA TEMPERATURA
CORPÓREA EM MICOS-ESTRELA CATIVOS (*Callithrix penicillata*) E SUA
RELAÇÃO COM PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS, PESO CORPORAL E
UMIDADE E TEMPERATURA DO AMBIENTE.**



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

Lucas Cardoso Pereira

**COMPARAÇÃO ENTRE TÉCNICAS DE AFERIÇÃO DA TEMPERATURA
CORPÓREA EM MICOS-ESTRELA CATIVOS (*Callithrix penicillata*) E SUA
RELAÇÃO COM PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS, PESO CORPORAL E
UMIDADE E TEMPERATURA DO AMBIENTE.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre.

Área de Concentração: Neurociências
Linha de Pesquisa: Neurociência comportamental
Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Marília Barros

Lucas Cardoso Pereira

**COMPARAÇÃO ENTRE TÉCNICAS DE AFERIÇÃO DA TEMPERATURA
CORPÓREA EM MICOS-ESTRELA CATIVOS (*Callithrix penicillata*) E SUA
RELAÇÃO COM PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS, PESO CORPORAL E
UMIDADE E TEMPERATURA DO AMBIENTE.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre.

Aprovado em 08 / 12 / 2015.

Prof^ª. Dr^ª. Marília Barros (presidente)
Departamento de Farmácia
Faculdade de Ciências da Saúde
Universidade de Brasília

Prof. Dr. Carlos Alberto Bezerra Tomaz
Departamento de Ciências Fisiológicas
Instituto de Biologia
Universidade de Brasília

Prof^ª. Dr^ª. Giane Regina Paludo
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária
Universidade de Brasília

Prof. Dr. Rafael Veríssimo – Suplente
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária
Universidade de Brasília

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

BANCA EXAMINADORA

Profª Drª Marília Barros (presidente)
Departamento de Farmácia
Faculdade de Ciências da Saúde
Universidade de Brasília

Prof. Dr. Carlos Alberto Bezerra Tomaz
Departamento de Ciências Fisiológicas
Instituto de Biologia
Universidade de Brasília

Profª Drª Giane Regina Paludo
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária
Universidade de Brasília

Prof. Dr. Rafael Veríssimo – Suplente
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária
Universidade de Brasília

‘O que difere os animais dos seres humanos, é que eles sofrem todo tipo de decepção como nós, e ainda assim permanecem puros.’

Welen Medeiros

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus não só por me iluminar e me carregar em suas mãos quando não tenho forças para ir adiante, mas também por colocar sempre no meu caminho vidas íntegras e iluminadas na sua grande parte de coração puro.

Agradeço também ao meu pai José Manoel, minha mãe Carmen Lucia, meu irmão Rafael, minha filha Caliandra, minha esposa Christiane, minha vózinha Tereza, a Silvana, Valeria e a minha orientadora Marília Barros, agradeço a todos pela paciência, por me fazerem acreditar e me motivarem a fazer o possível à realização de um sonho. A professora em especial, pois sem seu incrível profissionalismo, competência e paciência não seria eu o autor dessa pesquisa.

Agradeço aos meus grandes amigos João, Claudio, Rafael, Ricardo, Tiago, Vitor, Bruno, Edson, Estêvão por estarem presentes nos momentos fáceis e mais ainda presentes nos momentos difíceis onde me faziam olhar adiante e persistir no caminho certo.

Agradeço ao Laboratório Sabin em especial a Simone e a toda equipe do laboratório que sempre nos atenderam prontamente com extrema qualidade, a CAPES e a Universidade de Brasília por apoiarem e financiarem o nosso estudo. E a todos do Cpunb, em especial: Cecília, Marili, Renata, Geinaldo, Almir, seu Raimundo, Antonizete, professor Rafael e aos colegas Jonathan, Aline, Nathalia e Mariana. Aos professores Danilo e Clotilde por abrirem as portas do centro de primatologia para que eu pudesse fazer parte dessa equipe incrível.

Agradeço também a todos os professores e colegas, e vidas que ao longo da minha jornada lançaram sementes, que independente de seus frutos me fizeram uma pessoa melhor, sou eternamente grato a cada um de vocês.

LISTA DE ABREVIATURAS

CPUnB:	Centro de Primatologia da Universidade de Brasília
MT:	Membrana Timpânica
MTd:	Membrana Timpânica direita
MTe:	Membrana Timpânica esquerda
PNH:	Primata Não Humano
RT:	Retal
SC:	Subcutânea
SNC:	Sistema Nervoso Central
TA:	Temperatura do Ambiente
TC:	Temperatura Corpórea
UR:	Umidade Relativa
ZTN:	Zona Termoneutra

Resumo

A temperatura corporal (TC) é um fator determinante para os seres homeotérmicos, influenciando de forma direta tanto a sua fisiologia, quanto os processos comportamentais do indivíduo. Apesar de diferentes locais e métodos terem sido avaliados em diversas espécies, pouco ainda se sabe a respeito de primatas não humanos. Portanto, o presente estudo visou comparar a TC de micos-estrela (*Callithrix penicillata*), adultos e cativos, obtida via diferentes técnicas de aferição e correlacionar esses dados com parâmetros hematológicos via hemograma a partir de venopunção femoral, e temperatura e umidade relativa do ar. Os dados foram coletados em 27 sujeitos, machos e fêmeas, ao longo de 12 meses consecutivos (junho/2014 a maio/2015), sendo a TC aferida por via retal (RT; com um termômetro digital), subcutânea (SC; com um microchip previamente implantado na região subcutânea dorsal), e na membrana timpânica (esquerda - MTe e direita - MTd; com um termômetro infravermelho digital). Em agosto /2014, a temperatura SC demonstrou ter uma correlação linear positiva e um alto nível de concordância com as medições realizadas por via RT. A temperatura aferida nas MTe e MTd não diferiram entre si, mas foram significativamente menores que as registradas em nível RT e SC. Além disso, o número de leucócitos segmentados apresentou uma correlação negativa com a temperatura na MTe e MTd, enquanto os linfócitos foram correlacionados positivamente com as temperaturas RT e SC. Quando as TC foram analisadas ao longo dos 12 meses do estudo, o perfil aferido via RT ou SC se manteve constante. A diminuição nas temperaturas das MTe e MTd observada ao final do estudo pode estar relacionada a uma alteração comportamental aos procedimentos de captura e manipulação dos micos. Ademais, essas últimas duas TC estavam correlacionadas a temperatura máxima e a umidade relativa mínima do ar e os machos tiveram um peso corporal significativamente mais alto que as fêmeas ao longo de todo o estudo. Portanto, a TC de micos-estrela adultos mantidos em cativeiro sob condições naturais parece refletir as características inerentes do local onde a medida foi registrada, indicando a ocorrência simultânea de diferentes processos termorregulatórios nos micos, que podem ser influenciados pelo gênero e peso corporal. No entanto, os valores térmicos demonstraram ter algumas características em comum, como: (1) ser semelhante em ambos os gêneros (ausência de dimorfismo sexual); (2) não estar correlacionado ao peso corporal; e (3) estar significativamente relacionado aos parâmetros hematológicos. Os resultados também corroboram o uso da temperatura

SC como uma alternativa menos invasiva que a via RT para avaliar a TC em primatas neotropicais de pequeno porte . Ademais, mudanças sazonais no ambiente parecem influenciar a TC dos micos, dependente do local de aferição . Nesses casos , a termorregulação pode estar sendo subestimada e influenciando mudanças sazonais no comportamento dos micos.

Palavras-chave: micos, temperatura corporal , subcutânea, membrana timpânica , retal, peso corporal, hematologia, temperatura ambiente, umidade relativa do ar

Abstract

Body temperature (T_b) is a determining factor for homeothermic animals, directly influencing their physiology and behavior. Although different measurement locations and methods have been assessed in several species, little is known about non-human primates. Therefore, the present study compared the T_b of captive adult black tufted-ear marmosets (*Callithrix penicillata*), obtained via distinct thermometric methods, and correlated these thermal values with hematological data and with air temperature and relative humidity. Data were obtained in 27 male and female individuals over a 12-month period (June/2014 to May/2015). T_b was assessed via rectal (RT; with a digital thermometer) and subcutaneous thermometry (SC; with a microchip previously implanted in the dorsal region), as well as the tympanic membrane (left – ITM and right – rTM; with a digital infrared thermometer). In August/2014, SC temperatures had a high level of concordance and were positively correlated with RT thermal values. The ITM and rTM temperatures did not differ among each other, but were significantly lower than the values measured RT and SC. Furthermore, segmented cell count was negatively correlated with ITM and rTM temperatures, whereas lymphocytes had a positive relationship with data obtained RT and SC. When the T_b values were analyzed over the course of the 12-month study period, both the RT and SC temperature profiles remained unaltered. The decrease in temperature seen at the end of the study for the ITM and rTM measurements may be related to behavioral changes towards the repeated capture and handling procedure. Also, the latter two parameters were correlated with the maximum air temperature and minimum relative humidity, and males weighed significantly more than females throughout the study. Taken together, the results indicate that the T_b of black tufted-ear marmosets, held in captivity under natural conditions, seem to reflect the inherent characteristics of each measurement location. Different thermoregulatory processes may thus be occurring simultaneous in this species, which in turn may be influenced by gender and body weight. However, the thermal values observed do seem to have some common characteristics, such as: (1) similarity in both genders (lack of sexual dimorphism); (2) no relationship with body weight; and (3) correlated with hematological parameters. The data also corroborate the use of SC thermometry as an alternative and less-invasive method than RT assessments to measure the T_b of small neotropical primates. Furthermore, ambient seasonal changes seem to, depending on the measurement location, influence the marmosets' T_b and thus

indicates that some neotropical primates are under thermal stress. In these cases, thermoregulation may be underestimated and influencing seasonal changes in the marmosets' behavior.

Keywords: marmosets, body temperature, subcutaneous, tympanic membrane, rectal, body weight, hematology, ambient temperature, relative humidity

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
1.1. Mecanismos gerais para regulação da temperatura corporal	13
1.2. Conforto térmico e desvios da temperatura corporal	16
1.3. Métodos de aferição da temperatura corporal	18
1.3.1. Aferição da temperatura corporal por termômetro retal.....	19
1.3.2. Aferição da temperatura corporal por termometria subcutânea.....	21
1.3.3. Aferição da temperatura corporal via membrana timpânica.....	22
1.4. Modelo experimental: mico-estrela (<i>Callithrix penicillata</i>)	23
2. RELEVÂNCIA DE ESTUDO	25
3. OBJETIVOS	27
3.1. Objetivo geral	27
3.2. Objetivos específicos	27
4. METODOLOGIA	28
4.1 Aspectos éticos	28
4.2. Sujeitos e condições gerais de alojamento	28
4.3. Técnicas de aferição da temperatura corporal	31
4.4. Procedimento de aferição das temperaturas e do peso corporal	33
4.5. Procedimento de coleta de sangue a análise hematológica	34
4.6. Análise dos dados	35
4.6.1. Temperatura corporal peso e hematologia.....	35
4.6.2. Temperatura corporal e aspectos corporais.....	36
5. RESULTADOS	37
5.1. Temperatura corporal, peso e hematologia	37
5.2. Temperatura corporal e aspectos ambientais	41
6. DISCUSSÃO	47
6.1. Temperatura corporal, peso e hematologia	47
6.2. Temperatura corporal e aspectos ambientais	51
7. CONCLUSÕES	55
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57
ANEXO I: Artigo submetido	70
ANEXO II: Declaração CEUA/IB/UnB	88
ANEXO III: Fluxograma metodológico	89

1. INTRODUÇÃO

1.1. Mecanismos gerais para regulação da temperatura corporal

Temperatura corporal (TC) é um aspecto importante para sobrevivência de todos os seres vivos. Cada espécie se adaptou a condições específicas de temperatura, algumas para altas, outras para baixa, e outras para sobreviver em temperaturas variadas. De acordo com a capacidade de controlar a temperatura interna, os animais podem ser divididos em duas grandes categorias: ectotérmicos, aqueles que não controlam sua temperatura e homeotérmicos, aqueles que mantêm sua TC relativamente constante, independente das variações da temperatura do ambiente (TA).

A TC é um fator determinante para os seres homeotérmicos, influenciando de forma direta tanto a sua fisiologia, quanto os processos comportamentais do indivíduo (PÖRTNER e cols., 2006). Em primatas não humanos (PNH) e humanos, especificamente, a TC é mantida dentro de uma faixa ótima, mas que pode variar de espécie para espécie e dentro dessa faixa. Por exemplo, no mico-leão dourado (*Leontopithecus rosalia*) a TC varia entre 39,0°C de dia e 37,4°C à noite (THOMPSON e cols., 1994). Já o homem tende a manter a TC praticamente constante, em torno de 37°C, para conservação das funções metabólicas, regulando a temperatura em uma faixa estreita, independente das variações na TA (GUYTON, 1996). Por meio de um controle preciso, mantido pelo sistema termorregulador, são permitidas apenas pequenas variações de temperatura, em torno de 0,2° a 0,4°C (SESSLER e cols., 1997). Este sistema termorregulador mantém o ambiente térmico interno em níveis ideais para maior parte das atividades moleculares, celulares e sistêmicas, apesar das variações na TA e/ou necessidades metabólicas (NAKAMURA, 2011; PÖRTNER e cols., 2006). BEEHNER e cols. (2006) também correlacionaram variações da TC com uma menor quantidade de ciclos reprodutivos, menores taxas de

concepção e natalidade, incluindo maior mortalidade infantil e juvenil, podendo também reduzir a longevidade do sujeito.

Em situações normais, os receptores térmicos (central e cutâneo) detectam as variações da TC, transmitindo essas informações ao Sistema Nervoso Central (SNC). No caso do impulso gerado pelo receptor exceder ou ficar abaixo da faixa limiar de temperatura, ocorrem respostas termorreguladoras autonômicas que mantêm a TC em um limiar adequado naquele determinado momento (GUYTON, 1996). O SNC gera respostas que têm por objetivo conservar, transportar e/ou dissipar calor para os tecidos, por meio dos vasos sanguíneos, e assim a regulação da TC é uma função homeostática, promovida em uma vasta rede circulatória (FORSTER e cols., 1946; SCHOLANDER e SCHEVILL, 1955). Uma ruptura nesse equilíbrio ou danos estruturais pode levar à perda da regulação térmica, podendo por sua vez gerar hipertermia, que é a elevação da TC acima dos valores adequados para sobrevivência do indivíduo, ou hipotermia, que é diminuição não intencional da temperatura ficando abaixo do limiar ideal para espécie.

TERRIEN e cols. (2011) ressaltam que PNH e o homem objetivam ficar em TA que lhes permitam manter a TC ideal, sem gasto de energia adicional para refrigerar ou aquecer seu corpo, podendo assim permanecer em um estado físico de conforto térmico chamado de Zona Termoneutra (ZTN). Por exemplo, para recém-nascidos prematuros humanos, a faixa de neutralidade térmica situa-se entre 32°C e 35°C, com 50% de umidade. Nessas condições é possível manter a TC do prematuro entre 36,0°C e 36,5°C e assim não incorrer em gasto de energia para manter a temperatura na faixa adequada para realização das funções vitais do organismo (SANGA, 2000; RAEVE, 2001).

O sistema termorregulador pode ser dividido, na verdade, em três partes: (1) um componente sensorial aferente, responsável por levar informações da superfície do corpo

para seu o interior, relacionando o meio interno com o meio externo; (2) um componente integrativo que faz a união entre a porção aferente e eferente (i.e., SNC); e (3) um componente eferente responsável pelos mecanismos de ajuste, visando conduzir o impulso do SNC ao tecido/órgão/sistema efetor do comando. Em muitos mamíferos, a área pré-óptica do hipotálamo atua como esse centro integrativo do sistema de termorregulação, coordenando as informações térmicas provenientes de quase todos os tecidos do corpo (NAKAMURA, 2011).

Desta forma, a TC de animais homeotérmicos é mantida dentro de uma faixa estreita por complexos processos fisiológicos involuntários e/ou adaptações comportamentais, ambos controlados por mecanismos neurais (NAKAMURA, 2011). Em termos fisiológicos, a TC pode ser regulada por diferentes respostas termorregulatórias involuntárias, incluindo tremores musculares, vasomotricidade cutânea, sudorese, piloereção e variações na taxa respiratória (POWERS e HOWLEY, 2000). Em termos comportamentais, diferentes estudos correlacionaram variações da TC com redução/aumento de interações sociais, da atividade motora e distância percorrida, do consumo ou da preferência por determinados alimentos, e até mesmo com preferências por determinados tipos de ambientes com maior quantidade de sol ou de sombra (HARRISON e cols., 1985; AGETSUMA, 1995; CHIARELLO, 1995; FERNANDEZ-DUQUE, 2003; HANYA, 2004; BAOPING e cols., 2009; TERRIEN e cols., 2011; NOWACK e cols., 1983).

Apesar do sistema termorregulador, a TC pode variar dentro (e fora) de sua faixa ótima de atuação em decorrência de diferentes eventos internos e/ou externos ao corpo. Parâmetros ambientais, presença de agentes patogênicos, utilização de fármacos, variações emocionais (estresse), particularidades da espécie e do indivíduo e do ciclo circadiano são

algumas possíveis condições que levam a alterações pontuais na temperatura do indivíduo (p. ex., HOFFMANN e cols., 2012).

1.2. Conforto térmico e desvios da temperatura corporal

A TC nos animais homeotérmicos pode oscilar dentro de sua faixa ótima ao longo do dia, do mês (mulheres/fêmeas) ou do ano. Nesse caso, tais oscilações configuram em desvios normais, sendo eles principalmente influenciados pelo ciclo circadiano. As oscilações da TC geradas pelo ciclo circadiano muitas vezes independem da TA e essa oscilação é considerada benéfica, uma vez que o organismo e o metabolismo do sujeito estão em perfeito estado de equilíbrio com a vida.

Diferente dessa oscilação, e já consideradas prejudiciais à vida, estas são oscilações que podem levar o indivíduo a óbito, como nos casos de hiper ou hipotermia. No caso de hipertermia, que é uma elevação excessiva da TC, pode ocorrer o aumento da transpiração, perda de líquidos e sais, tonturas, vertigens, choque (devido à diminuição do fluxo de sangue ao SNC), estresse térmico, delírios, confusão mental e convulsões (SESSLER, 1990). Quando a TC a queda nos níveis mínimos da espécie, nos quadros de hipotermia, pode ocorrer um mal estar geral, diminuição da destreza, redução da sensibilidade ao tato, comportamentos extravagantes, fechamento dos vasos sanguíneos terminais, delírios e morte por insuficiência do débito cardíaco (CORNELLI, 2001).

O sistema termorregulador, por meio da elevação da temperatura do núcleo do corpo (febre), também participa da defesa do hospedeiro contra invasão de patógenos. De fato, alterações nas funções corporais geralmente refletem na temperatura do corpo, e dessa forma pode sugerir ou sinalizar alguma enfermidade (TIMBY, 2001). A febre é

considerada vantajosa ao hospedeiro para sobreviver a infecções, como relatadas em seres humanos, coelhos e outras espécies (KLUGER e VAUGHN, 1978; MACKOWIAK e cols., 1980). Contudo, febres altas podem ter efeitos prejudiciais para o hospedeiro (BLATTEIS, 1986). Em caso de infecção, os sinais imunes que chegam ao SNC desencadeiam a produção local de mediadores pirogênicos, que são então detectados pelo centro termorregulador (SCHULTE e MOYES, 2010).

Portanto, no contexto de um exame clínico, a TC não deve ser avaliada como um dado único e exclusivo, separado de outros dados ou sinais clínicos (GREER e cols., 2007). A TC também pode ser considerada como uma indicação do bem estar animal e boas condições de saúde, uma vez que o indivíduo permanece preferencialmente em sua ZTN. WASHINGTON e cols. (1999) e GRAIG e cols. (2000) enfatizaram que a TC é de extrema importância na rotina médica, influenciando a investigação clínica e o tratamento a ser realizado.

No entanto, sabe-se relativamente pouco sobre as respostas termorregulatórias em PNH cativos e de vida livre (THOMPSON e cols., 2014). Atualmente a TC pode ser medida em diferentes lugares do corpo, mas ainda existem discordâncias sobre o local ideal para sua aferição. Diferentes métodos e locais têm sido estudados, bem como seus aspectos favoráveis e suas desvantagens/limitações (STITT e HARDY, 1971; LIU e cols., 1981; PETRY e MAIER, 1990; RUPNIAK e cols., 1992; SCHNELL e WOOD, 1993; LANE e cols., 1996).

1.3. Dispositivos de aferição da temperatura corporal

Existem, atualmente, várias formas e locais de aferição da TC. A temperatura retal (RT), oral, cranial (osso frontal), membrana timpânica (MT) e subcutânea (SC) são consideradas pouco invasivas e *a priori* não necessitam de contenção farmacológica, há também vias invasivas, exclusivas para pacientes anestesiados, incluindo: esofagiana, artéria pulmonar, traqueal e nasofaringeana (HOWELL, 1983).

Nesse contexto, a TC pode ser mensurada por diferentes métodos e dispositivos, uns mais invasivos, pois necessitam da utilização de fármacos tranquilizantes ou anestésicos, e o dispositivo termossensível invade de alguma maneira o interior do corpo do sujeito investigado, como p. ex., microchip termossensível de radiotelemetria. São métodos que tem seus valores mais próximos da TC central, porem esses necessitam de procedimentos invasivos que podem ser difíceis de realizar e ou oferecer maiores riscos de induzir lesão ao paciente (ROBINSON e cols., 1998). Existem também métodos não invasivos, que além de não necessitarem da utilização de fármacos tranqüilizantes, na maioria das espécies não invadem o interior do corpo do sujeito investigado (p. ex., termômetro auricular infravermelho). No entanto, seus valores se aproximam menos da TC central e são mais influenciados por mudanças no ambiente do que os métodos invasivos (MACEDO e ALMEIDA, 2004).

A TC central ideal seria medida diretamente no hipotálamo, pois os mecanismos de *feedback* operam por meio dos centros termorreguladores localizados nessa região do SNC, auxiliados por detectores de temperatura que determinam se essa variável está excessivamente acima ou abaixo da faixa ideal da espécie (BLATTEIS, 1998). No entanto, devido à complexidade dessa estrutura, seu tamanho reduzido, e a sua localização ser de difícil acesso, é ainda inviável se aferir de forma rotineira a TC por essa via.

Portanto, a TC é aferida em outras localidades como forma de aproximação da temperatura do hipotálamo (MACEDO e ALMEIDA, 2004).

Contudo, em termos da interpretação da TC, é preciso levar em consideração os fatores que influenciam uma determinada medida, pois valor registrado na aferição da TC em um determinado local pode diferir significativamente da TC central (ROBINSON e cols., 1998; TAYLOR, 2014). Essa última é considerada com sendo da temperatura do sangue que irriga o hipotálamo, sendo que algumas técnicas de aferição têm valores próximos ou muito distantes dessa medida (ROBINSON e cols., 1998).

Rápidas flutuações na TA podem refletir termicamente de forma mais rápida em tecidos superficiais, como por exemplo, a temperatura da pele (WURSTER e cols., 1985). Além disso, a temperatura central do corpo também oscila ao longo de 24 horas entre as fases luz e escuro, e ao longo do ciclo menstrual feminino (BARGER e cols., 2010; HOPPINKINS e FOWLER e cols., 1998). A capacidade de condução térmica do tecido também é um fator importante para determinação do valor da TC local. Portanto, a não ser que os locais de aferição possuam taxas metabólicas similares e sejam perfundidos pelos mesmos vasos sanguíneos, a TC poderá diferir significativamente de acordo com o local e método de mensuração utilizada (TAYLOR, 2014).

1.3.1. Aferição da temperatura corporal por termometria retal

Para muitas espécies de animais domésticos e de produção, a termometria RT é a técnica de primeira escolha na maioria das vezes para a aferição da TC (MANDUCA e cols., 2010). Destaca-se por ser um método de baixo custo (termômetro retal) e alta praticidade para animais domésticos. No entanto, por essa via, há pouca fidelidade em

medir alterações térmicas ocorrendo em órgãos vitais, como o SNC (MALONEY, 2001). Além disso, a natureza invasiva do mesmo pode: (1) gerar estresse no animal devido à manipulação; (2) aumentar a TC basal em virtude da contenção (SCHNELL e WOOD, 1993); (3) elevar o risco de contusões e/ou sangramentos retais em casos de amostragens repetidas; e/ou (4) precipitar fissuras e feridas no reto durante o procedimento em indivíduos indóceis e agitados (CILIA e cols., 1998). A via RT pode também apresentar uma menor precisão, quando comparado a outros métodos, em decorrência da presença de fezes no reto, de um peristaltismo aumentado, um posicionamento incorreto do termômetro e/ou de variações do fluxo de sangue local (ROBSON e cols., 1998).

Atualmente, ocorre à substituição gradual do termômetro de mercúrio por equipamentos eletrônicos digitais, mais rápidos, de fácil manuseio e mais seguros (SIMÕES e MARTINO, 2007). Porém MANDUCA e cols. (2010) em seu estudo com bovinos, relatam haver diferenças entre a TC aferida por um termômetro RT digital e um de mercúrio. Mas, mesmo com os avanços tecnológicos na área da saúde, a termometria retal ainda representa uma importante ferramenta rotineira no diagnóstico e na verificação do estado de saúde ou doença.

Em PNH, assim como acontece com a maioria dos mamíferos, a via RT é o método mais comumente utilizado para estimar a TC (SIKOSKI e cols., 2007; BRUNELL, 2012). No entanto, em macacos, este método normalmente necessita de sedação ou considerável contenção física, eventos que por si só podem gerar alterações nos valores reais da TC nestes animais (WOODS e cols., 2013).

1.3.2. Aferição da temperatura corporal por termometria subcutânea

A aferição SC, realizada por radiotelemetria via a implantação prévia de um microchip com sensor térmico, consiste em uma alternativa para a mensuração da TC em PNH e a outras espécies. A termometria SC é medida facilmente, sendo um método menos invasivo, ou invasivo apenas no momento da implantação do microchip termossensível. Ela se correlaciona bem com a temperatura obtida por via RT em PNH (CILIA e cols., 1998; SHELTON e cols., 2006; BRUNELL, 2012) e vários outros animais (GOODWIN e cols., 1998; NEWSOM e cols., 2004; CHEN e WHITE, 2006; QUIMBY e cols., 2009). Dessa forma, oferece a vantagem da velocidade, conveniência e a diminuição do estresse para o animal.

Em geral, o microchip mede aproximadamente 14 mm de comprimento e dois mm de diâmetro, semelhante aos usados para a identificação de animais de estimação (CILIA e cols., 1998). O microchip é implantado em poucos segundos no dorso, no espaço entre as omoplatas, usando um aplicador descartável. Portanto, não há necessidade da realização procedimentos cirúrgicos complexos e invasivos para a implantação do microchip, nem mesmo requer a intervenção com fármacos tranquilizantes e/ou analgésicos. CILIA e cols. (1998) avaliaram que, a aferição da TC por radiotelemetria, consiste em uma metodologia não invasiva e confiável para utilização rotineira em animais. Contudo, se tratando de um procedimento novo, o mesmo requer uma melhor padronização dos dados obtidos por essa via, principalmente em comparação com outras vias já bem estabelecidas.

1.3.3. Aferição da temperatura corporal via membrana timpânica

A aferição da temperatura da MT é feita por meio de um termômetro auricular infravermelho. Ainda considerado um procedimento recente na rotina veterinária (ROBINSON e cols., 1998; BERGEN e KENNEDY, 2000; STAVEM e cols., 2000), a termometria por raios infravermelhos em humanos teve seu início na área médica com o objetivo de se auxiliar o diagnóstico de doenças vasculares, inflamações, tumores e desordem metabólica, bem como anormalidades da TC (SOULEN e cols., 1972; ANBAR, 1998; ACHARYA e cols., 2010; LEVY e cols., 2010).

O tímpano é uma membrana com vasos finos que é influenciado pela atividade metabólica do SNC, por meio do aquecimento do tecido cerebral e de seu suprimento sanguíneo por ramos da artéria carótida (BRAMBRINK e cols., 1999). O conduto auditivo divide-se em três porções: o ouvido externo, o ouvido médio e ouvido interno. A membrana timpânica localiza-se no final do ouvido externo, separando-o do ouvido médio. Em humanos, a circulação sanguínea do ouvido interno ocorre pela artéria labiríntica, conhecida também como artéria auditiva interna. Essa artéria penetra no ouvido interno, dividindo-se em artéria coclear e artéria vestibular, que por sua vez irriga a maior parte do labirinto posterior (HUNGRIA, 1995). Em PNH e roedores, a membrana timpânica direita (MTd) é irrigada por ramos da artéria maxilar, enquanto que a da esquerda (MTe) é perfundida por afluentes das artérias carótida, temporal e maxilar (BAKER e cols., 1972; MEINERS e DABBS, 1977; ALBIIN e cols., 1985).

Estas características sugerem que a irrigação das MT resulta do fluxo de sangue cerebral e assim poderia se investigar diferenças funcionais entre os hemisférios cerebrais usando a temperatura detectada nos ouvidos direito versus esquerdo (SCHUMAN e cols., 1999). De fato, no homem, há uma assimetria térmica em termos da temperatura da MT

relacionada à sociabilidade e a aspectos emotivos (BOYCE e cols., 2002). Em PNH e seres humanos, a temperatura da MT em cada lado também é diferente em resposta a um estímulo visual aversivo, tendo o lado direito uma ativação mais significativa (PARR e HOPKINS, 2000; TOMAZ e cols., 2003). Em macacos *rhesus*, a temperatura medida no ouvido direito foi 0,6°C inferior à que foi obtida no lado esquerdo (BOYCE e cols., 1996), assim como em micos-estrela houve uma diferença de 0,3°C em termos dos valores vistos nos ouvidos direito e esquerdo em resposta a um estresse de captura (TOMAZ e cols., 2003).

Vale ressaltar que a aferição térmica por termômetro infravermelho apresenta algumas desvantagens, incluindo o custo mais elevado para aquisição do equipamento (comparado a outros métodos), a técnica empregada de forma inadequada pode afetar a medida e a sua contra-indicação em sujeitos com fraturas na região maxilofacial, na base do crânio ou otorragias (PRANSKY, 1991). Além disso, em várias espécies ainda não há um procedimento padrão para sua obtenção, o valor real pode sofrer influência da temperatura ambiente, o cerúmen pode gerar falsa medida, e a imobilização cervical em determinadas espécies dificulta a realização do procedimento. Apesar disso, a aferição da TC via MT pode ser um método mais rápido e preciso de se atingir, em determinadas situações, do que a RT. Além disso, por ser um método não invasivo, não oferece riscos de lesões traumáticas ou por repetição (TOMAZ e cols., 2003).

1.4. Modelo experimental: mico-estrela (*Callithrix penicillata*)

O mico-estrela é uma espécie de primata neotropical arborícola de pequeno porte, de hábitos diurnos, não ameaçado de extinção e que se adapta facilmente ao ambiente de cativeiro (STEVENSON e RYLANDS, 1988; DINIZ, 1997). Eles pesam, em média, 200-

400 g quando adultos, tendo uma dieta protéica tanto de origem animal, quanto vegetal, composta por sementes, grãos, folhas, frutos e ovos, conseguindo se alimentar também de goma do lenho das árvores devido à densa camada de esmalte em seus dentes e insetos retirados dos orifícios das arvores com auxílio de suas unhas finas e longas (DINIZ, 1997). Medem em torno de 20 a 30 cm, com pelagem curta, densa, de coloração cinza rajado, com tufos nas orelhas de cor preta. São de baixo custo, fácil manejo, e alta taxa reprodutiva, com o período de gestação entorno de 147 a 180 dias, podendo nascer de um a três filhotes, com longevidade entorno de 10 a 16 anos em cativeiro (NOWAK e PARADISO, 1983). Tais fatores vêm contribuindo para o estabelecimento desse símio como sujeitos experimentais em investigações biomédicas, comportamentais e neuropsicofarmacológicas (TOMAZ e BARROS, 2008).

Utilizar primatas como sujeito experimental requer, porém, uma série de cuidados de forma a assegurar resultados confiáveis e reprodutíveis em pesquisas biomédicas. Assim, é necessário observar suas necessidades específicas em termos de dieta, do tipo de alojamento, do espaço físico e das oportunidades para reprodução, incluindo formas de interações sociais, a fim de evitar anormalidades comportamentais e ou fisiológicas (PISSINATI e cols., 2014). Aspectos como higiene, consangüinidade, exames periódicos do estado de saúde, estresse provocado por procedimentos de manejo, dentre outros também precisam ser considerados na utilização desses animais em pesquisas biomédicas (ANDRADE e cols., 2010).

2. RELEVÂNCIA DO ESTUDO

Dentre os vários sinais utilizados na prática diária de um exame clínico destacam-se por sua importância a pressão arterial, a frequência cardíaca e respiratória, e a TC. Como todos esses podem ser relacionados à existência de vida, são genericamente classificados como sinais vitais. Portanto, dada sua importância para o estabelecimento do bem estar animal, é imprescindível a obtenção de valores precisos desses parâmetros fisiológicos. Desvios nesses sinais vitais possuem alta correlação com diferentes patologias, sendo, portanto importantes indicadores do estado de saúde do sujeito.

Em termos da TC, TAYLOR, (2014) argumentam que não existe um padrão-único para a TC central. Cada medida obtida deve ser avaliada em relação aos próprios objetivos que se pretende atingir e a sua aplicação clínica/experimental. Conforme já mencionado anteriormente, diferentes locais, métodos e dispositivos já foram desenvolvidos para uso em humanos e animais.

Mesmo que a via RT, considerada atualmente na clínica veterinária como ‘padrão ouro’ para aferição minimamente invasiva da TC, a sua utilização em PNH de pesquisa nem sempre deve ser considerada como a primeira escolha devido à exigência de sedação ou contenção física (LOPEZ e cols., 2002; SETSER e cols., 2009; WOODS e cols., 2013). Além disso, o estresse associado a forte contenção manual e colocação do termômetro para uma medição retal, apontam a necessidade de uma alternativa para a técnica em PNH (WOODS e cols., 2013).

Em PNH, e especial em micos, há uma necessidade premente de se estabelecer valores basais da TC: (1) empregando diferentes técnicas; (2) em diferentes condições ambientais, como por exemplo, em TA dentro e fora da ZTN da espécie; e (3) em comparação a diferentes patologias que comumente afetam PNH e/ou o homem. Além

disso, a influência de fatores importantes, como o gênero, massa corporal e ciclo circadiano, também carecem de mais estudos.

A proximidade filogenética entre PNHs e os seres humanos proporciona estudos comparados entre as espécies. Esses animais têm sido utilizados como modelos para pesquisas biomédicas de doenças com diversas etiologias, incluindo uma variedade de patógenos (DINNIZ, 1997). Porém vale ressaltar que devido ao seu tamanho e fácil manejo, primatas neotropicais também são importantes modelos para pesquisas biomédicas (PISSINATI e cols., 2014). Dentre os primatas do Novo Mundo, os calitriquídeos representam um atraente modelo experimental e em especial as espécies *Callithrix jacchus* e *C. penicillata* têm sido utilizados em pesquisas na área da neurociência, biologia reprodutiva, doenças infecciosas, comportamento e no desenvolvimento de medicamentos e vacinas (p. ex., MANSFIELD, 2003; WARD e VALLENDER, 2012).

Portanto, a TC de sujeitos empregados em estudos comportamentais e biomédicos é um parâmetro fundamental, que pode ser empregado com diversas finalidades, desde o uso do dado *per se* e como um adjuvante para se avaliar a condição clínica do indivíduo e do bem-estar animal, além de seu estado de saúde para ser um sujeito em pesquisas biomédicas.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

O presente estudo visou comparar a temperatura corporal (TC) de micos-estrela (*Callithrix penicillata*), adultos e cativos, obtida via diferentes técnicas de aferição, e correlacionar esses dados com aspectos clínicos e ambientais.

3.2. Objetivos específicos

Desta forma, no presente estudo, pretendeu-se especificamente:

- a) comparar, nos micos-estrela, a TC basal obtida via termometria retal (termômetro digital), subcutânea (radiotelemetria com implantação de microchip) e da membrana timpânica (termômetro digital de raio infravermelho);
- b) verificar possíveis diferenças na TC entre indivíduos machos e fêmeas dessa espécie;
- c) correlacionar as diferentes TC dos micos com seu peso corporal e perfil hematológico básico;
- d) estabelecer os valores da TC dos micos ao longo de um período de 12 meses consecutivos;
- e) correlacionar as diferentes TC verificadas ao longo de 12 meses consecutivos com as respectivas temperaturas (mínima e máxima) do ambiente e umidade relativa do ar (mínima).

4. METODOLOGIA

4.1. Aspectos éticos

O procedimento foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso Animal do Instituto de Biologia da Universidade de Brasília (CEUA/IB/UnB; UnBDoc 14054/2014, Anexo I), estando de acordo com o uso científico de animais de laboratório (Lei Arouca 11.794) e os preceitos éticos estipulados pelo Conselho Nacional para o Controle de Experimentação Animal (CONCEA/Brasil).

4.2. Sujeitos e condições de alojamento

O presente estudo utilizou 27 micos-estrela (*Callithrix penicillata*), todos selecionados ao caso, contudo, em boas condições de saúde clinicamente, acompanhados por meio de um médico veterinário diariamente, e também realizados procedimentos de colheita de sangue e análises dos padrões hematológicos desses animais a cada três meses ao longo dos 12 meses do estudo. Todos animais adultos (>18 meses), assim 14 machos e 13 fêmeas que não estavam prenhas. O ciclo estral das fêmeas não foi verificado. Todos os animais faziam parte do plantel permanente do Centro de Primatologia da Universidade de Brasília (CPUnB) e esse também foi o local de alojamento dos animais e de realização do estudo.

Os micos foram alojados no Pavilhão dos Calitriquídeos no CPUnB. Esse era composto por dois corredores paralelos, de 12 viveiros/cada, separados por um corredor central de segurança em comum (Figura 1). O pavilhão era coberto por telha opaca, intercalada com telha de acrílico (translúcida), situadas 50-100 cm acima da tela superior dos viveiros. A telha cobria todo o corredor central de segurança e 2/3 dos corredores de

viveiros, ficando 1/3 dos viveiros descoberto, tendo somente a tela superior. Desta forma, os animais foram alojados em condições naturais de luminosidade, temperatura e umidade.



Figura 1. Fotografias do Pavilhão dos Calitriquídeos do CPUUnB. (a) Vista frontal do Pavilhão, com a porta central de acesso; (b) Vista interna do Pavilhão, a partir do corredor central de segurança e com a disposição dos dois corredores paralelos de viveiros; e (c, d) Vistas externas laterais do Pavilhão (fotos: Marília Barros).

Cada viveiro, de 2 x 1 x 2 m (A x L x P), era formado por duas paredes laterais de concreto que separavam dois viveiros adjacentes, e uma tela metálica que formava a parte da frente, de trás e de cima (Figura 1). O piso de cada viveiro, por sua vez, era de concreto lavável. Cada viveiro foi provido com: (1) uma caixa-ninho feita de bambu natural pendurada da tela superior; (2) vários poleiros de madeira fixados em diferentes alturas; (3) um suporte metálico para um recipiente contendo alimento fresco; (4) um tubo de

alimentação em PVC pendurado da tela superior contendo ração seca; e (5) e um bebedouro.

Os animais foram alojados em pares hetero- e homossexuais, grupos familiares (par reprodutivo e descendentes) ou em grupos mistos de três indivíduos. Havia contato olfativo e sonoro entre todos os membros do pavilhão, mas o contato visual só era possível entre animais alojados em viveiros opostos do corredor central de segurança (Figura 1).

A alimentação foi fornecida uma vez ao dia, às 07h00min h, e as sobras retiradas às 17h00min h. A dieta era composta por frutas in natura e desidratadas, legumes, verduras, ovos cozidos, sementes/nozes e proteína (grilos, tenébrios, iogurte, peito de frango cozido). Água e ração para os primatas foram disponibilizados *ad Libitum*. Os sujeitos experimentais não foram privados de água ou comida em nenhum período do estudo. Alguns sujeitos do experimento participaram concomitantemente de outros estudos, no entanto foi repetido um período de carência de no mínimo sete dias entre as coletas de dados (entre as pesquisas concomitantes). As condições de alojamento e manutenção dos sujeitos seguiram os regulamentos do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA).

Como um procedimento de rotina do CPUUnB, todos os indivíduos foram implantados com um microchip de radiofrequência (134 kHz) que tinha capacidade de detecção da temperatura e um código inalterável de identificação composto por 15 dígitos (LifeChip com BioThermo 985 microchip, Destron Fearing, South St. Paul, EUA). Os animais receberam os microchips pelo menos dois meses antes do início do estudo. Os microchips foram implantados subcutaneamente, no dorso, entre as escápulas usando uma seringa descartável, estéril, fornecida pelo fabricante. Este procedimento não requereu anestesia e o microchip permanecerá no sujeito até o seu óbito, não sendo reaproveitado.

4.3. Técnicas de aferição da temperatura corporal

As TC foram registradas em quatro locais utilizando diferentes técnicas de aferição. A temperatura SC foi medida com um leitor portátil dos microchips previamente implantados nos sujeitos. A leitora (HS9002B Pocket Reader, Destron Fearing, São Caetano do Sul, Brasil) foi colocada a aproximadamente dois cm do local do implante e, uma vez posicionada, o botão no dispositivo foi pressionado para iniciar a leitura da temperatura (figura 2). Após um intervalo de aproximadamente 1 s, um aviso sonoro era emitido pelo aparelho, o qual então exibia no seu painel de LCD a identificação e temperatura do animal. Esse procedimento foi realizado duas vezes, em um intervalo de 5 s, mas apenas a temperatura mais alta foi registrada. O aparelho tinha uma faixa de leitura de temperatura de 0 a 50°C.



Figura 2. Fotografias dos dispositivos de aferição da temperatura corporal dos micos. (a) Leitor portátil dos microchips previamente implantados; (b) Termômetro auricular digital infravermelho; e (c) Termômetro digital retal. (fotos: Lucas Cardoso).

As temperaturas das MT esquerda (MTe) e direita (MTd) foram aferidas com um termômetro auricular digital infravermelho projetado para pacientes adultos/pediátricos (IFR 100, Termômetro Dual Mode, Microlife, Brasil). Estudos anteriores já demonstraram

que esse tipo de termômetro também pode ser empregado de forma confiável em pequenos primatas neotropicais (TOMAZ e cols., 2003; BOERE e cols., 2005; LONG e cols., 2011). A pele da orelha externa do mico foi puxada suavemente para cima e para trás e o termômetro inserido no ouvido direito ou esquerdo. O botão de leitura no aparelho foi imediatamente pressionado e, aproximadamente 1 s depois, um sinal sonoro soou e a temperatura foi exibida no seu painel de LCD. Quatro leituras foram realizadas em todos os sujeitos, em intervalos de 5 s: duas foram feitas no lado esquerdo e duas no lado direito. O primeiro lado a ser aferido foi estabelecido de forma randômica, sendo que as leituras subsequentes foram realizadas de forma alternada entre os dois lados. Foi registrada apenas a temperatura mais alta de cada ouvido, uma vez que a MT é mais quente que os tecidos circundantes (HEUSCH e cols., 2006). O termômetro tinha uma faixa de leitura de temperatura de 10 a 50°C, uma sensibilidade de 0,1°C e uma precisão de $\pm 0,2^\circ\text{C}$ (entre 32,0 e 42,2°C).

A temperatura RT de cada sujeito foi aferida usando uma sonda contendo uma substância termométrica (termômetro digital clínico; MT 500, Microlife, Brasil). O termômetro foi inserido no reto do animal, a uma profundidade de 2-3 cm, e mantido no local até que uma temperatura estável fosse obtida, indicado por um som do dispositivo (<1 min). Esse procedimento foi realizado duas vezes, sendo registrada novamente apenas a temperatura mais alta. O termômetro tinha uma faixa de leitura de temperatura de 32,0°C a 42,9°C e uma precisão de $\pm 0,1^\circ\text{C}$.

4.4. Procedimento de aferição das temperaturas e do peso corporal

O CPUUnB possui uma rotina mensal de pesagem dos animais, e assim a coleta dos dados da TC foi realizada junto com a de pesagem. Nesse sentido, a TC de cada sujeito foi avaliada uma vez por mês, durante um período de 12 meses consecutivos, iniciado em junho de 2014 e encerrado em maio de 2015. As aferições foram realizadas sempre entre o 4º e 8º dia do mês, das 08h30min às 11h30min h. Vale ressaltar que, durante este intervalo de tempo (8h30min às 11h30min), HOFFMANN e cols. (2012) observaram que a TC de micos adultos (machos e fêmeas) permaneceu estável.

Para cada aferição, o sujeito foi rapidamente capturado em seu viveiro de moradia com o auxílio de um puçá e luvas de couro e sua TC registrada de acordo com as técnicas descritas acima. A temperatura SC foi determinado primeiro, seguido da MT, e por fim a RT. O tempo despendido para capturar o sujeito foi determinado com um cronômetro digital e o valor registrado. Em seguida, o sujeito foi levado para uma sala adjacente aos viveiros e colocado dentro de uma caixa de transporte de alumínio (35 x 20 x 23 cm; C x L x A). A caixa foi então colocada em cima de uma balança digital (DP-15. Digipeso, Brasil) e o peso corporal do sujeito foi registrado. Ao final desse procedimento, o mico foi levado de volta ao seu viveiro de moradia.

Todas as aferições da TC foram realizadas pelo mesmo experimentador e a ordem dos sujeitos em cada dia de coleta foi estabelecida de forma randômica. Nos dias de aferição da TC e do peso, também foram registradas as TAs mínima e máxima dentro do Pavilhão de Calitriquídeos do CPUUnB naquele dia, assim como a umidade relativa (UR) máxima e mínima. Para tanto foi usado um termo-higrômetro (TH50, Incoterm, Brasil) posicionado no corredor central do Pavilhão. O aparelho tinha uma faixa de leitura de temperatura entre -10°C e 50°C e uma umidade de 10 a 99%.

4.5. Procedimento de colheita de sangue e análise hematológica

Uma amostra de sangue foi coletada em cada mico em agosto/2014, 24 h após o término do procedimento descrito acima. A coleta de sangue também foi realizada entre às 08h30min e 11h30min h. Para tanto, cada sujeito foi rapidamente capturado em seu viveiro de moradia e levado para uma sala adjacente ao corredor de viveiros, onde foi anestesiado por via inalatória com isoflurano (BioChimico, Rio de Janeiro, Brasil) utilizando um vaporizador universal. Uma amostra de 0,5 mL de sangue foi obtida via venopunção femoral, a qual foi imediatamente transferida para um frasco de 0,5 mL contendo EDTA (micro tubo). Após a sua recuperação (~1-2 min), o mico foi levado de volta ao seu viveiro de moradia e monitorado por mais 15-30 min. As amostras foram coletadas por um dos veterinários do CPUnB.

As amostras foram encaminhadas ao Laboratório Sabin de Análises Clínicas em Brasília, as quais foram processadas dentro de um período máximo de 5 h após a colheita de sangue. Cada amostra foi analisada para contagem do número de eritrócitos, leucócitos, bastonetes, neutrófilos segmentados, linfócitos, monócitos, eosinófilos, basófilos e plaquetas, bem como para a determinação da concentração de hemoglobina e do estabelecimento do hematócrito, do volume corpuscular médio (VCM), da hemoglobina corpuscular média (HCM) e da concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM). Para tanto, as amostras foram analisadas em um sistema automatizado de hematologia (XE2100, Sysmex, Paraná, Brasil).

4.6. Análises dos dados

4.6.1. Temperatura corporal, peso e hematologia

As TC registradas no mês de agosto/2014 foram comparadas para determinação de possíveis diferenças entre os gêneros e os locais de mensuração. Para tanto, os dados foram analisados usando uma Análise de Variância (ANOVA) de duas vias de desenho misto, tendo-se o 'gênero' (machos x fêmeas) como o fator independente, e a 'localização' como a medida repetida (temperaturas: MTe, MTd, SC e RT). Quando resultados significativos foram obtidos, os dados foram então analisados via o teste de Tukey. Os dados do peso corporal, dos parâmetros hematológicos e do tempo de captura registrados em agosto/2014 também foram analisados para possíveis diferenças entre gênero, utilizando o teste-t para amostras independentes.

Uma vez que não foram observadas diferenças significativas entre os gêneros em nenhuma das TC ou dos parâmetros hematológicos, esses dados dos machos e das fêmeas foram agrupados para a realização das análises subseqüentes de correlação e concordância. Porém, o peso corporal foi analisado e expresso separadamente em termos de gênero.

Desta forma, o teste correlação de Pearson foi utilizado para determinar a relação entre as quatro medidas da TC, bem como a relação entre as TCs e o peso corporal, os dados hematológicos e o tempo necessário para capturar o mico no seu viveiro. Para as temperaturas SC e RT, especificamente, também foi realizada uma análise de Bland-Altman para determinação, de forma gráfica e numérica, do grau de concordância entre essas duas técnicas (BLAND e ALTMAN, 1986). Nessa análise, os dados da temperatura RT foram usados como o valor padrão para comparação com os obtidos por via SC. Uma discordância de no máximo $\pm 1,67^{\circ}\text{C}$ com um intervalo de confiança de 95% (SHELTON

e WHITE, 2006; BRUNELL, 2012) foram estabelecidos *a priori* como critérios para determinar se a termometria SC era equivalente a RT nos micos-estrela. O nível de significância para todos os testes foi fixado em $p \leq 0,05$.

4.6.2. Temperatura corporal e aspectos ambientais

As TCs, o peso corporal e o tempo de captura registrados ao longo dos 12 meses do estudo foram comparados para determinação de possíveis diferenças entre os gêneros e os meses de coleta. Para tanto, os dados foram analisados usando uma ANOVA de duas vias de desenho misto, tendo-se o ‘gênero’ (machos x fêmeas) como o fator independente, e o ‘mês de coleta’ como a medida repetida (junho/2014 a maio/2015). Quando resultados significativos foram obtidos, os dados foram analisados via o teste de Tukey. Uma vez que não foram observadas diferenças significativas entre os gêneros para nenhuma das TC ou nos tempos de captura, esses dados dos machos e das fêmeas foram agrupados para a realização das análises subsequentes de correlação. Porém, o peso corporal foi analisado e expresso separadamente em termos de gênero.

Desta forma, uma possível diferença entre as temperaturas registradas nas MTe e MTd e as vias SC e RT, ao longo dos 12 meses do estudo, foi determinada empregando uma ANOVA de uma via, com o fator ‘mês de coleta’ como a medida repetida (junho/2014 a maio/2015). Além disso, o teste correlação de Pearson foi utilizado para determinar a relação entre as TC e as respectivas TAs máxima e mínima dentro do Pavilhão de Calitriquídeos nos dias de coleta de dados, assim como a umidade relativa mínima e os tempos para captura no viveiro. O nível de significância para todos os testes foi fixado em $p \leq 0,05$

5. RESULTADOS

5.1. Temperatura corporal, peso e hematologia

As temperaturas corporais (Figura 3) diferiram significativamente em termos do local de aferição, mas nenhum efeito significativo foi observado entre os gêneros (gênero: $F_{1,25}=1,73$ e $p=0,20$; localização: $F_{3,75}=209,40$ e $p<0,001$; interação: $F_{3,75}=0,77$ e $p=0,50$). Nos micos de ambos os gêneros, as temperaturas RT e SC foram significativamente ($p<0,05$) mais elevadas do que as verificadas nas MTe e MTd. No entanto, as duas primeiras (RT e SC) e as duas últimas medições (MTe e MTd) não diferiram significativamente uma da outra. As temperaturas RT e SC variaram entre 37,8 – 40,1°C e 38,0 – 40,2° C, respectivamente. Por sua vez, a temperatura da MTe variou entre 35,9 – 37,4°C, enquanto que as medições da MTd ficaram entre 35,6 e 37,4°C.

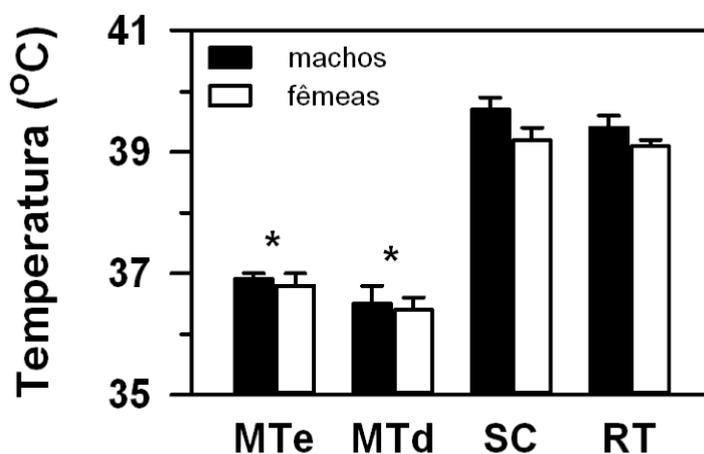


Figura 3. Temperatura corporal dos micos-estrela adultos machos e fêmeas (média ± epm; em graus Celsius), aferida nas membranas timpânicas esquerda (MTe) e direita (MTd), subcutaneamente (SC) e por via retal (RT). Símbolos pretos – machos (n=14), símbolos brancos – fêmeas (n=13); * $p<0,05$ MTe e MTd vs. SC e RT.

Com base nos dados agrupados de machos/fêmeas, as temperaturas SC apresentaram uma correlação positiva com os dados registrados por via RT ($r=0,69$ e $p<0,01$; Figura 4). Além disso, de acordo com a análise de Bland-Altman, as TC medidas de forma SC também estavam em concordância com as temperaturas RT. Os limites de concordância calculados ($0,82$ e $-1,18^{\circ}\text{C}$; com uma diferença média de $-0,18^{\circ}\text{C}$) estavam dentro do critério pré-estabelecido de $\pm 1,67^{\circ}\text{C}$ para essa medida ser considerada equivalente aos dados da termometria RT. Nenhuma outra relação linear significativa foi detectada entre as outras TC (MTe x MTd: $r=0,21$ e $p=0,29$; MTe x SC: $r=0,15$ e $p=0,47$; MTe x RT: $r=0,16$ e $p=0,42$; MTd x SC: $r=0,29$ e $p=0,14$; MTd x RT: $r=0,21$ e $p=0,30$), e as temperaturas das MTd e MTe diferiam em termos de $0,4\pm 0,2^{\circ}\text{C}$.

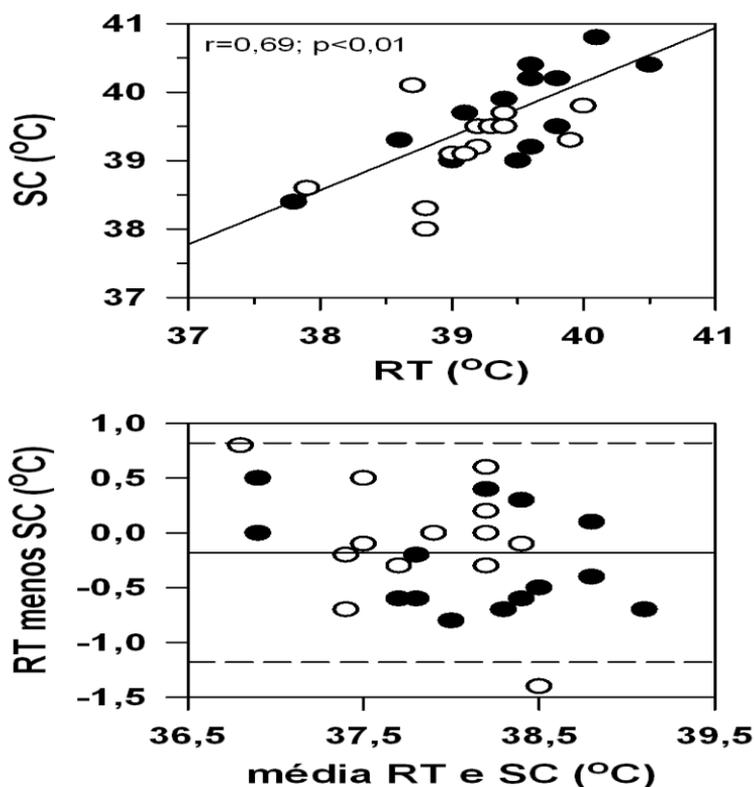


Figura 4. *Superior:* Relação entre a temperatura corporal subcutânea (SC) e retal (RT) dos micos-estrela adultos machos e fêmeas (n=27) em graus Celsius. *Inferior:* gráfico de Bland-Altman da diferença entre as temperaturas RT e SC (eixo-y) versus a média entre as duas medidas (eixo-x) em graus Celsius. A linha reta indica a diferença média, enquanto que a linha pontilhada indica os limites superior e inferior de 95% do intervalo de confiança (limites de concordância), respectivamente. Símbolos pretos – machos (n=14), símbolos brancos – fêmeas (n=13).

Esses resultados não foram influenciados pelo tempo necessário para capturar os micos em seus viveiros de moradia, uma vez que essa variável não foi significativamente correlacionada com as TC registradas (tempo de captura x MTe: $r = -0,17$ e $p = 0,40$; x MTd: $r = -0,08$ e $p = 0,70$; x SC: $r = 0,22$ e $p = 0,27$; x RT: $r = 0,17$ e $p = 0,40$). Além disso, o tempo de captura no viveiro não diferiu entre os sujeitos machos e fêmeas ($t_{25} = 0,24$ e $p = 0,82$), sendo necessário em média 17 ± 2 s para captura (média \pm epm; com uma variação de 5 - 45 s).

Apesar dos machos apresentarem um peso corporal significativamente maior do que as fêmeas ($t_{25} = 2,26$ e $p = 0,03$; Tabela 1), não foram observadas diferenças entre os gêneros para nenhum dos parâmetros hematológicos (eritrócitos: $t_{25} = -0,07$ e $p = 0,95$; hemoglobina: $t_{25} = -0,22$ e $p = 0,83$; hematócrito: $t_{25} = 0,15$ e $p = 0,88$; VCM: $t_{25} = 0,30$ e $p = 0,77$; HCM: $t_{25} = -0,39$ e $p = 0,70$; CHCM: $t_{25} = -1,21$ e $p = 0,24$; leucócitos: $t_{25} = 1,91$ e $p = 0,07$; neutrófilos segmentados: $t_{25} = 1,22$ e $p = 0,23$; linfócitos: $t_{25} = 0,76$ e $p = 0,46$; monócitos: $t_{25} = -0,68$ e $p = 0,50$; eosinófilos: $t_{25} = 0,50$ e $p = 0,62$; basófilos: $t_{25} = 1,69$ e $p = 0,10$; plaquetas: $t_{25} = -1,46$ e $p = 0,16$; Tabela 1).

Tabela 1. Peso corporal e perfil hematológico do micos-estrela adultos cativos machos (n=14) e fêmeas (n=13).

Parâmetro	Gênero	
	macho	Fêmea
Peso corporal (g)	374±12	340±8 ¹
Eritrócitos (x10 ⁶ /μl)	6,8±0,2	6,8±0,2
Hemoglobina (g/dl)	15,2±0,5	15,3±0,3
Hematócrito (%)	49,7±1,3	49,5±1,1
VCM (fl)	73,4±1,0	72,9±1,1
HCM (pg)	22,3±0,3	22,5±0,3
CHCM (g/dl)	30,4±0,2	30,9±0,2
Leucócitos (x10 ³ /μl)	16,2±2,2	11,7±1,3
Bastonetes (μl)	---	---
Segmentados (x10 ³ /μl)	11,2±2,7	7,4±1,5
Linfócito (x10 ³ /μl)	5,0±1,3	3,9±0,7
Monócitos (x10 ³ /μl)	0,3±0,0	0,3±0,0
Eosinófilos (x10 ³ /μl)	0,1±0,1	0,0±0,0
Basófilos (x10 ³ /μl)	0,2±0,1	0,1±0,0
Plaquetas (x10 ⁶ /μl)	4,6±0,4	5,3±0,4

VCM = volume corpuscular médio, HCM = hemoglobina corpuscular média, CHCM = concentração de hemoglobina corpuscular média.

¹ p<0,05 machos vs. fêmeas

Por outro lado, a contagem de células segmentadas teve uma correlação negativa com as temperaturas da MTe e MTd, enquanto que o número de linfócitos apresentou uma relação linear positiva com as temperaturas SC e RT (vide Tabela 2 para os dados

estatísticos). Não foi detectada nenhuma relação entre as TC dos micos e seu peso corporal (vide Tabela 2 para os valores estatísticos).

Tabela 2. Coeficiente de correlação (r) entre as temperaturas da membrana timpânica (MT) esquerda e direita, subcutânea (SC) e retal, assim como a sua relação com o peso corporal e os parâmetros hematológicos dos micos-estrela adultos cativos.

Parâmetro	Temperatura corporal			
	MT esquerda	MT direita	SC	RC
peso corporal (macho)	0,39 ($p=0,17$)	0,05 ($p=0,86$)	-0,05 ($p=0,86$)	0,39 ($p=0,17$)
peso corporal (fêmea)	0,35 ($p=0,24$)	0,10 ($p=0,74$)	0,11 ($p=0,73$)	-0,39 ($p=0,19$)
eritrócito	0,06 ($p=0,77$)	0,08 ($p=0,70$)	0,08 ($p=0,70$)	0,29 ($p=0,14$)
hemoglobina	0,20 ($p=0,31$)	0,01 ($p=0,98$)	0,06 ($p=0,76$)	0,19 ($p=0,34$)
hematócrito	0,22 ($p=0,28$)	0,03 ($p=0,89$)	0,24 ($p=0,24$)	0,29 ($p=0,15$)
leucócito	-0,26 ($p=0,20$)	-0,16 ($p=0,42$)	0,35 ($p=0,08$)	0,13 ($p=0,51$)
neutrófilo segmentado	-0,40 ($p=0,04$)	-0,39 ($p=0,05$)	0,11 ($p=0,60$)	-0,09 ($p=0,68$)
linfócito	0,29 ($p=0,15$)	0,12 ($p=0,56$)	0,42 ($p=0,03$)	0,43 ($p=0,02$)
monócito	0,01 ($p=0,96$)	0,22 ($p=0,26$)	0,08 ($p=0,70$)	0,21 ($p=0,29$)
eosinófilo	-0,27 ($p=0,18$)	0,15 ($p=0,46$)	-0,14 ($p=0,49$)	-0,39 ($p=0,06$)
basófilo	-0,15 ($p=0,44$)	-0,27 ($p=0,17$)	0,26 ($p=0,19$)	0,08 ($p=0,68$)
plaquetas	0,05 ($p=0,79$)	-0,12 ($p=0,55$)	-0,26 ($p=0,20$)	0,13 ($p=0,51$)

valores significativos estão indicados em negrito

5.2. Temperatura corporal e aspectos ambientais

Em ambos os gêneros, as temperaturas SC e RT permaneceram constantes durante todo o período do estudo (SC - gênero: $F_{1,25}=0,85$ e $p=0,37$; mês: $F_{11,275}=1,38$ e $p=0,21$;

interação: $F_{11,275}=0,68$ e $p=0,69$; RC – gênero: $F_{1,25}=1,10$ e $p=0,30$; mês: $F_{11,275}=1,07$ e $p=0,31$; interação: $F_{11,275}=1,09$ e $p=0,30$; Figura 5). Por outro lado, as temperaturas da MTe e MTd dos micos variaram significativamente ao longo dos 12 meses de estudo, mas não teve diferenças significativas entre os gêneros (MTe – gênero: $F_{1,25}=0,30$ e $p=0,59$; mês: $F_{11,275}=14,00$ e $p<0,001$; interação: $F_{11,275}=0,26$ e $p=0,97$; MTd – gênero: $F_{1,25}=0,56$ e $p=0,46$; mês: $F_{11,275}=5,76$ e $p<0,001$; interação: $F_{11,275}=1,17$ e $p=0,33$; Figura 5).

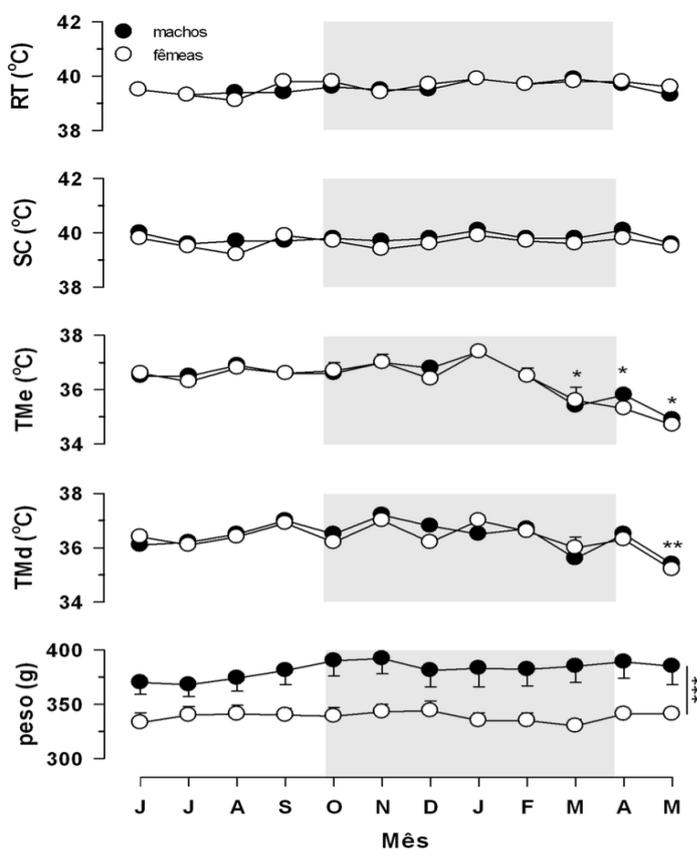


Figura 5. e nas membranas timpânicas esquerda, além do peso corporal (em gramas), ao longo dos 12 meses consecutivos do estudo (junho/2014 a maio/2015). Símbolos pretos – machos (n=14), símbolos brancos – fêmeas (n=13); área cinza indica os meses do período chuvoso/verão na região; * $p<0,05$ vs. junho/2014 – fevereiro/2015 na MT esquerda; ** $p<0,05$ vs. meses anteriores (exceto março/2015) na MT direita; *** $p<0,05$ peso corporal dos machos vs. fêmeas em todos os 12 meses do estudo.

Na MTe dos micos machos e fêmeas, as temperaturas registradas nos últimos três meses do estudo (março – maio/2015) foram significativamente ($p < 0,05$) menores que as dos meses anteriores (junho/2014 – fevereiro/2015). Um perfil similar foi observado para a MTd de ambos os gêneros, visto que a temperatura registrada em maio/2015 foi significativamente ($p < 0,05$) menor que as dos meses anteriores do estudo (exceto para março/2015).

Quando os dados foram agrupados em termos de gênero (dados não apresentados), o perfil das TCs ao longo dos 12 meses do estudo diferiram significativamente entre os diferentes locais de aferição ($F_{3,33}=308,58$ e $p < 0,001$). Porém, as temperaturas SC e RT estavam significativamente ($p < 0,05$) mais altas que as verificadas na MTe e MTd. No entanto, as duas primeiras e as duas últimas medidas não diferiram significativamente uma da outra.

Os resultados da TC não foram influenciados pelo tempo necessário para capturar os micos em seus viveiros, haja visto que essa variável não se correlacionou com qualquer uma das temperaturas registradas (vide Tabela 3 para os valores estatísticos). Além disso, o tempo de captura no viveiro não diferiu entre os gêneros ou ao longo dos 12 meses do estudo (gênero: $F_{1,25}=0,53$ e $p=0,47$; mês: $F_{11,275}=1,48$ e $p=0,17$; interação: $F_{11, 275}=0,43$ e $p=0,89$), levando em média 21 ± 1 s (média \pm epm; com variação de 17 – 25 s).

Apesar de um efeito significativo também não ter sido observado em termos do peso corporal dos micos ao longo dos 12 meses do estudo, os machos pesaram consistentemente e significativamente mais que as fêmeas (gênero: $F_{1,25}=7,26$ e $p=0,01$; mês: $F_{11,275}=1,20$ e $p=0,27$; interação: $F_{11,275}=1,97$ e $p=0,12$; Figura 5).

Tabela 3. Relação entre a temperatura da membrana timpânica esquerda (MTe) e direita (MTd), da subcutânea (SC) e da retal (RT) e o respectivo tempo despendido na captura dos sujeitos (n=27) em cada um dos 12 meses do estudo (junho/2014 a maio/2015).

Mês	Coeficiente de correlação <i>r</i> (e valor de <i>p</i>)			
	Tem	MTd	SC	RT
junho	-0,18 (<i>p</i> =0,35)	0,03 (<i>p</i> =0,90)	0,31 (<i>p</i> =0,11)	-0,07 (<i>p</i> =0,72)
julho	0,16 (<i>p</i> =0,41)	0,21 (<i>p</i> =0,29)	0,36 (<i>p</i> =0,07)	0,19 (<i>p</i> =0,33)
agosto	-0,23 (<i>p</i> =0,23)	-0,11 (<i>p</i> =0,59)	0,20 (<i>p</i> =0,32)	0,17 (<i>p</i> =0,40)
setembro	-0,05 (<i>p</i> =0,81)	0,17 (<i>p</i> =0,38)	0,31 (<i>p</i> =0,11)	0,07 (<i>p</i> =0,71)
outubro	0,01 (<i>p</i> =0,98)	0,14 (<i>p</i> =0,49)	-0,04 (<i>p</i> =0,84)	0,03 (<i>p</i> =0,88)
novembro	0,29 (<i>p</i> =0,14)	0,12 (<i>p</i> =0,53)	0,14 (<i>p</i> =0,49)	0,07 (<i>p</i> =0,74)
dezembro	-0,02 (<i>p</i> =0,93)	-0,12 (<i>p</i> =0,52)	0,13 (<i>p</i> =0,52)	-0,23 (<i>p</i> =0,23)
janeiro	-0,01 (<i>p</i> =0,95)	-0,26 (<i>p</i> =0,19)	-0,07 (<i>p</i> =0,73)	-0,27 (<i>p</i> =0,17)
fevereiro	0,21 (<i>p</i> =0,92)	-0,01 (<i>p</i> =0,97)	0,28 (<i>p</i> =0,15)	0,25 (<i>p</i> =0,19)
março	0,17 (<i>p</i> =0,38)	0,01 (<i>p</i> =0,98)	0,26 (<i>p</i> =0,19)	0,21 (<i>p</i> =0,28)
abril	0,10 (<i>p</i> =0,63)	0,18 (<i>p</i> =0,37)	-0,10 (<i>p</i> =0,63)	-0,18 (<i>p</i> =0,37)
maio	0,17 (<i>p</i> =0,38)	0,17 (<i>p</i> =0,38)	0,12 (<i>p</i> =0,54)	0,10 (<i>p</i> =0,60)

As TAs e a UR registradas no Pavilhão dos Calitriquídeos, em cada dia de coleta de dados durante o período de 12 meses do estudo, estão indicadas abaixo na Tabela 4.

Quando o perfil das TCs ao longo dos 12 meses do estudo foi correlacionado aos dados correspondentes da TA, foi verificada uma relação positiva entre as temperaturas das MTe e MTd e os valores máximos da TA (MTe – $r=0,62$ e $p=0,03$; MTd – $r=0,78$ e $p=0,01$; SC – $r=0,02$ e $p=0,95$; RT – $r=0,03$ e $p=0,93$; Figura 6). Não foram observadas correlações entre as TC dos micos e a TA mínima (MTe – $r= -0,28$ e $p=0,37$; MTd – $r= -0,08$ e $p=0,80$; SC – $r=0,39$ e $p=0,21$; RC – $r=0,47$; $p=0,11$). Além disso, as temperaturas das MTe e MTd também estavam correlacionadas negativamente com a UR (MTe – $r= -$

0,58 e $p=0,05$; MTd – $r= -0,62$ e $p = 0,03$; SC – $r= -0,01$ e $p=0,98$; RT – $r=0,08$ e $p=0,81$;

Figura 7).

Tabela 4. Temperatura do ar ($^{\circ}\text{C}$) e umidade relativa do ar (%) registradas dentro do Pavilhão de Calitriquídeos do CPUnB em cada dia de coleta de dado durante os 12 meses consecutivos do estudo (junho/2014 a maio/2015).

Mês	Temperatura do ar ($^{\circ}\text{C}$)		Umidade relativa mínima do ar (%)
	mínima	máxima	
junho	15	22	71
julho	21	23	75
agosto	18	23	55
setembro	17	27	10
outubro	24	26	10
novembro	25	26	34
dezembro	24	26	76
janeiro	20	29	54
fevereiro	26	31	73
março	20	21	91
abril	24	25	76
maio	22	25	76

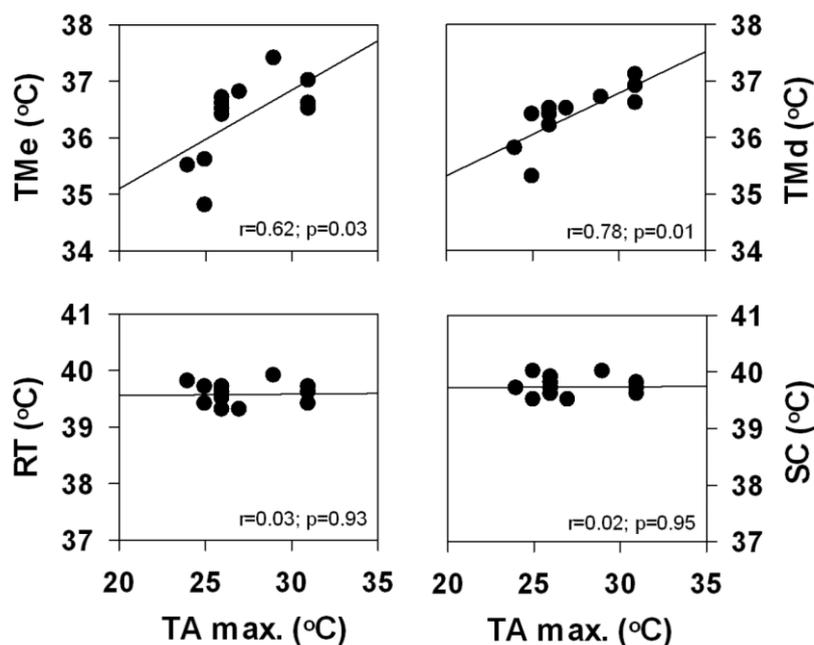


Figure 6. Relação entre as temperaturas (em graus Celsius) nas membranas timpânicas esquerda (MTe) e direita (MTd), e por via retal (RT) e subcutânea (SC) nos micos-estrela adultos com as temperaturas máxima do ar (TA máx.; em graus Celsius) registradas mensalmente nos mesmos dias de coleta dos dados da temperatura, ao longo dos 12 meses do estudo; n=27.

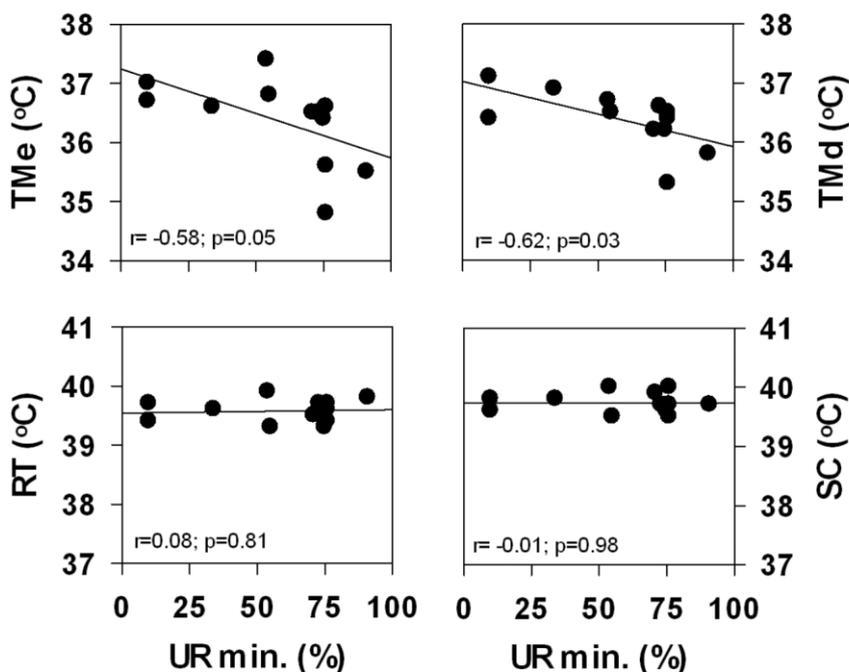


Figure 7. Relação entre as temperaturas (em graus Celsius) nas membranas timpânicas esquerda (MTe) e direita (MTd), e por via retal (RT) e subcutânea (SC) nos micos-estrela adultos com a umidade relativa do ar mínima (UR min.; em porcentagem) registradas mensalmente nos mesmos dias de coleta dos dados da temperatura ao longo dos 12 meses do estudo; n=27.

6. DISCUSSÃO

6.1. Temperatura corporal, peso e hematologia

As temperaturas corporais podem variar entre os diferentes sítios onde as aferições são normalmente realizadas (TAYLOR, 2014). No presente estudo com micos-estrela adultos mantidos em cativeiro, os valores basais da TC obtidos pelas vias RT e SC foram significativamente maiores que os registrados na MTe e MTd. Os dois primeiros apresentaram variações equivalentes de temperatura e foram semelhantes a valores já relatados para primatas neotropicais, incluindo micos (FULLER e cols., 1985; CILIA e cols., 1998; BOERE e cols., 2003; LONG e cols., 2011; PETRY e MAIER, 1990).

Acredita-se que os dados obtidos por via RT refletem, em geral, a TC central, que por sua vez é geralmente mais elevada que os valores térmicos detectados em regiões mais superficiais, como por exemplo, na pele (LIU e cols., 1981). Mas, no presente estudo, não foram observadas diferenças entre as temperaturas RT e SC. A possível discrepância entre os resultados do presente trabalho e os de estudos anteriores pode estar refletindo, na verdade, diferenças entre as temperaturas no local exato onde as medidas superficiais foram aferidas: cutânea (pele) versus subcutânea (CILIA e cols., 1998).

De fato, a termometria SC usando dispositivos de radiotelemetria parece medir com precisão as temperaturas subcutâneas de PNH (SHELTON e WHITE, 2006) e assim pode representar de forma mais confiável a TC central, quando comparada a aferições realizadas diretamente na superfície da pele (LIU e cols., 1981). Na verdade, as temperaturas RT e SC dos micos-estrela não apenas apresentaram uma correlação positiva entre si (CILIA e cols., 1998), como os valores registrados por via SC também demonstraram ter uma alta concordância com os obtidos por essa via mais tradicional – a

via RT (teste de Bland-Altman; BRUNELL, 2012; mas ver também SHELTON e WHITE, 2006).

Vale ressaltar, porém, que os valores térmicos detectados na MT também podem ser considerados como um índice da TC central. Mas, ao contrário das vias RT e SC, as temperaturas da MT parecem refletir mudanças que ocorrem em nível do fluxo sanguíneo das artérias carótidas. Essas alterações, por sua vez, estão diretamente relacionadas a variações ipsilaterais no fluxo sanguíneo cerebral e na temperatura do SNC ocorridas em decorrência da atividade neuronal (FULLER e cols., 1985; SCHUMAN e cols., 1999). Por essa relação tem-se que, quando a atividade neuronal aumenta, a temperatura da MT diminui. Desta forma, as temperaturas das MTe e MTd dos micos podem ter sido menores que as registradas por via RT e SC devido, em parte, a grande e contínua troca de calor que ocorre entre o SNC e o fluxo sanguíneo das carótidas e do tecido nervoso (SUKSTANSKII e YABLONSKIY, 2006).

É importante também relatar que, os valores térmicos registrados na MTe e MTd dos micos-estrela foram semelhantes, ainda que abaixo do que já foi relatado nessa espécie (TOMAZ e cols., 2003; BOERE e cols., 2005). O primeiro aspecto sugere inicialmente que, durante o procedimento de coleta de dados, pode ter havido uma ativação simétrica dos dois hemisférios cerebrais (TOMAZ e cols., 2003; BOERE e cols., 2005). Contudo, como os valores da temperatura da MT antes da captura não foram registrados (por questões metodológicas), é possível que diferenças individuais possam estar influenciando esse resultado (PARR e HOPKINS, 2000). Além disso, os indivíduos avaliados no presente estudo tem um extenso histórico de captura e manipulação devido à realização de procedimentos clínicos e experimentais (>20 eventos), o que pode ter levado a uma maior ativação neural. Uma maior atividade no SNC elevaria as temperaturas e o fluxo

sanguíneo para essa região, possivelmente levando aos menores valores térmicos registrados nas MT dos micos do presente estudo (BOYCE e cols., 1996; TOMAZ e cols., 2003). Este possível efeito de sensibilização comportamental ao procedimento de captura/manipulação também pode ter contribuído para o fato das temperaturas das MTe e MTd terem sido menores que as medidas por via RT e SC.

As TCs aferidas não foram correlacionadas ao tempo necessário para capturar os indivíduos em seus viveiros, sendo esse intervalo <20 s. Durante esses procedimentos, micos tentam frequentemente evadir a captura e assim acabam se locomovendo mais, que por sua vez eleva funções autônomas (SCHNELL e WOOD, 1993). Considerando que não houve uma correlação entre os dois parâmetros, possíveis alterações na TC induzidas pelo procedimento de captura não parecem ter influenciado, de forma significativa, os resultados da aferição da TC dos micos no presente estudo.

Ademais, nos quatro locais onde as TCs foram aferidas, os valores registrados nos machos foram equivalentes aos das fêmeas. Considerando que a TC central pode oscilar ao longo do ciclo menstrual/estral de fêmeas de PNH (p. ex., NYAKUDYA, 2012), e que este fator não foi controlado no presente estudo, não se pode descartar a possibilidade de realmente existir diferenças entre os gêneros. No entanto, em diferentes espécies de PNH neotropicais, há relatos de que a TC não difere significativamente entre indivíduos machos e fêmeas da espécie (HOFFMANN e cols., 2012; LONG e cols., 2011; BOERE e cols., 2005).

Por outro lado, um efeito de gênero foi observado em termos do peso corporal dos micos, com machos pesando significativamente mais do que as fêmeas. Este efeito, embora significativo, pode não ser clinicamente relevante considerando que: (1) a diferença observada foi pequena; (2) os valores registrados estão dentro da faixa de peso

corporal já relatado para essa espécie (BOERE e cols., 2005); e (3) na literatura há dados conflitantes a respeito do peso em espécies de *Callithrix*, tendo-se relatos indicando uma ausência de dimorfismo sexual para esse parâmetro (YARBROUGH e cols., 1984; ARAUJO e cols., 2000; BOERE e cols., 2005; KAPLAN e SHELMIDINE 2010) e também uma maior massa corporal nas fêmeas (PETERS e GUERRA, 1998; KUEHNEL e cols., 2012). Vale ressaltar que o peso corporal dos machos e das fêmeas não foi correlacionado com as respectivas temperaturas RT, SC, MTe ou MTd registradas em cada gênero sexual.

Por outro lado, os parâmetros hematológicos analisados não diferiram entre os gêneros (YARBROUGH e cols., 1984; BOERE e cols., 2005; KUEHNEL e cols., 2012), mas se correlacionaram significativamente com a TC dos micos. O número de células (leucócitos) segmentadas apresentou uma correlação negativa com os valores térmicos registrados na MTe e MTd, enquanto que a contagem de linfócitos foi correlacionada positivamente com as temperaturas RT e SC. Temperaturas mais elevadas podem estar relacionadas com infecções ocorridas recentemente (VOLTARELLI e FALCÃO, 1984). Portanto, o estabelecimento da temperatura em diferentes locais do corpo pode auxiliar na determinação do estado de saúde dos micos, em termos do seu bem estar clínico e/ou para uso do animal como sujeito experimental em diferentes tipos de pesquisa.

Dessa forma, quando em um ambiente termoneutro, as TC de micos-estrela adultos e mantidos em cativos parecem refletir as características inerentes do local específico onde à medida foi registrada. No entanto, os valores térmicos medidos por via RT e SC e na MT demonstraram ter algumas características importantes em comum, tais como: (1) ser semelhante em ambos os gêneros (ausência de dimorfismo sexual); (2) não estar correlacionado ao peso corporal; mas (3) estar significativamente relacionado a

parâmetros hematológicos. Os resultados descritos acima também corroboram com a idéia de que a temperatura SC pode ser uma alternativa menos invasiva que a via RT para se avaliar a TC central em primatas neotropicais de pequeno porte, como os micos-estrela.

6.2. Temperatura corporal e aspectos ambientais

Os dados do presente estudo mostraram que a TC, registrada via termometria RT e SC em micos-estrela mantidos em condições naturais de luminosidade, temperatura e umidade se mantiveram constante durante os 12 meses do estudo, estando de acordo com dados anteriores para esta e outras espécies de calitriquídeos (HETHERINGTON, 1978; PETRY e MAIER, 1990; STONEROOK e cols., 1994; THOMPSON e cols., 1994; CILIA e cols., 1998; BOERE e cols., 2005; HOFFMANN e cols., 2012; OMATSU e cols., 2012). Estes dois pontos de aferição estão altamente correlacionados e são frequentemente utilizados como um indicador do estado de saúde de PNH (CILIA e cols., 1998; BRUNELL, 2012). No entanto, como defendido por Taylor e cols. (2014), é pouco provável que as temperaturas RT e SC tenham as mesmas taxas de energia térmica (i.e., produção vs. dissipação), condução térmica tecidual, fluxo sanguíneo regional e taxa metabólica.

Conforme já foi dito, a TC é um parâmetro que pode variar entre os diferentes locais de aferição (TAYLOR e cols., 2014). Neste sentido, a temperatura da MT também é considerada como um índice da TC central em PNH (FOWLER e cols., 1999) e seres humanos (BRINNEL e CABANAC, 1989). Elas parecem refletir, de forma confiável, mudanças que ocorrem no fluxo sanguíneo das artérias carótidas (BRINNEL E CABANAC, 1989), as quais tem uma alta correlação positiva com variações ipsilaterais

no fluxo sanguíneo cerebral e na temperatura do cérebro induzidas pela ativação neuronal (CHU e cols., 2000; SCHUMAN e cols., 1999). Portanto, no caso de um aumento na ativação neuronal, há também um aumento na troca de calor entre o cérebro e o sangue, que por sua vez leva a um maior fluxo sanguíneo cerebral e nas artérias carótidas, e uma menor temperatura nas MT (SUKSTANSKII e YABLONSKIY, 2006).

No presente estudo foi observado que as temperaturas da MTe e MTd: (1) foram consistentemente menores que as aferidas por via RT e SC, (2) diminuíram significativamente ao final do período do estudo, e (3) estavam em um patamar menor que de relatos anteriores nesta espécie (BOERE e cols., 2005; TOMAZ e cols., 2003). Neste caso, pode ter ocorrido um aumento na atividade neural/fluxo sanguíneo induzido por um efeito de sensitização comportamental, levando a uma menor temperatura na MT (BOYCE e cols., 1996, TOMAZ e cols., 2003). Esse efeito, por sua vez, pode ter ocorrido devido ao procedimento mensal de aferição realizado no presente estudo (12 meses) e/ou extenso histórico de captura e manipulação dos sujeitos, conforme já mencionado anteriormente. Novos estudos se fazem necessários para se esclarecer melhor a influência de processos emocionais e cognitivos no caso de se realizar aferições repetidas da temperatura da MT (CHERBUIN e BRINKMAN, 2004; PROPPER e BRUNYÉ, 2013). Vale ressaltar novamente que as temperaturas das MTe e MTd dos micos também foram consistentemente similares entre si, sendo que diferenças individuais podem ter influenciado este resultado (PARR E HOPKINS, 2000).

Além disso, o perfil anual da temperatura das MT apresentou uma correlação positiva e negativa com o padrão correspondente da TA máxima e da UR mínima, respectivamente. Essas correlações podem ter sido influenciadas pela queda dos valores das temperaturas nas MTe e MTd, induzidas por um possível efeito de aprendizado e

observadas apenas ao final do estudo (i.e., maio/2014). Porém, o perfil ainda foi observado mesmo após a exclusão desse dado específico da análise (dados não apresentados). A temperatura RT e SC, por sua vez, não tiveram qualquer relação com os parâmetros ambientais, mas os valores da TA e UR oscilaram ao longo do ano conforme o padrão sazonal tipicamente observado na região do cerrado (KLINK E MACHADO, 2005). Foram registrados valores mais altos de TA e UR durante a estação chuvosa do verão (outubro – março) e valores mais baixos no período da seca do inverno (abril – setembro).

Tais resultados sugerem que as diferentes TC têm mecanismos termorregulatórios distintos (TAYLOR e cols., 2014) e que aspectos ambientais possivelmente influenciam de forma mais significativa a temperatura cerebral dos micos, comparado a medidas mais tradicionalmente estáveis (p. ex., temperaturas RT e SC; FULLER e BAKER, 1983). Além disso, os valores relativamente constantes de algumas das medidas da TC dos micos, mesmo em um ambiente com variações sazonais, também sugerem que importantes mecanismos fisiológicos e/ou comportamentais de termorregulação estão presentes nesta espécie, como visto em outros primatas neotropicais (p. ex., bugio: THOMPSON e cols., 2014).

As TC registradas no presente estudo não estavam correlacionadas ao tempo de captura dos sujeitos nos seus viveiros, a qual foi realizada em ≤ 25 s. Além disso, em todos os pontos de aferição no corpo dos micos, a TC dos machos foi equivalente a das fêmeas. Contudo, conforme discutido acima, uma influência do gênero na TC não pode ser completamente descartada uma vez que o ciclo estral das fêmeas não foi controlado.

Por outro lado, o gênero influenciou o peso corporal dos animais, com machos pesando em média 40 g a mais que as fêmeas ao longo de todo o estudo. Apesar de se ter

dados conflitantes em termos do peso corporal dos micos (YARBROUGH, e cols., 1984; PETERS e GUERRA, 1998; ARAÚJO e cols., 2000; BOERE e cols., 2005; KAPLAN E SHELMIDINE, 2010; KUEHNEL e cols., 2012), os valores observados no presente estudo, para ambos os gêneros, estavam dentro do faixa para esta espécie (BOERE e cols., 2005). Uma vez que o peso corporal pode influenciar a TC via relações complexas (RIEK e GEISER, 2013), novos estudos poderão esclarecer possíveis diferenças entre os processos de termorregulação vistos nos machos e nas fêmeas dessa espécie.

Dessa forma, mudanças sazonais no ambiente (TA e UR) influenciaram a TC dos micos-estrela adultos mantidos sob condições naturais, sendo esse efeito dependente do local de aferição (i.e., apenas a temperatura na MT). Ademais, a TC central diferiu entre os locais de mensuração, indicando que pode haver diferentes processos termorregulatórios ocorrendo simultaneamente nos micos, os quais também podem ser influenciados pelo gênero e peso corporal. No entanto, a estabilidade da TC observada em locais específicos do corpo indica que alguns primatas neotropicais vivem, de fato, sob condições de estresse térmico. Nesses casos, a importância dos processos fisiológicos e comportamentais de termorregulação pode não somente estar sendo subestimada (DAUSMANN, 2014), como também pode estar impactando mudanças sazonais no comportamento dos micos, a exemplo da locomoção, da reprodução e do forrageio (p. ex., VILELA e FARIA, 2004).

7. CONCLUSÕES

No presente estudo, a respeito da TC de micos-estrela (*C. penicillata*) adultos, mantidos em cativeiro sob condições naturais de luminosidade, temperatura e umidade, foi observado que:

- a) a temperatura aferida via termometria SC por radiotelemetria com implantação de microchip demonstrou ter uma correlação linear positiva e um alto nível de concordância (análise de Bland-Altman) com as medidas obtidas pela via mais comumente empregada em animais – a via RT usando um termômetro digital;
- b) a temperatura aferida nas MTe e MTd, com o uso de um termômetro auricular digital clínico de raios infravermelhos, não diferiram entre si, mas foram significativamente menores que as registradas em nível SC e RT, podendo essa diferença ser devido a adaptações comportamentais ao procedimento de captura/manipulação ocorridas ao longo do tempo;
- c) machos e fêmeas dessa espécie não demonstram um dimorfismo sexual em termos dos diferentes tipos de TC que foram aferidos e dos parâmetros hematológicos analisados, mas diferiram no peso corporal – com as fêmeas pesando menos que os machos;
- d) as TC estão correlacionadas à parâmetros hematológicos, enquanto que apenas as temperaturas das MT tem relação linear com à temperatura máxima e a umidade relativa mínima do ambiente;
- e) as TC se mantiveram constantes ao longo dos 12 meses consecutivos do estudo, sendo que possíveis alterações nas temperaturas da MTe e MTd podem ter ocorrido em

decorrência de uma alteração comportamental aos procedimentos de captura/manipulação dos micos ao longo do tempo.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acharya, U.R.; Ng, E.Y.; Tan, J.H.; Sree, S.V. (2010). Thermography Based Breast Cancer Detection Using Texture Features and Support Vector Machine. *J Med Syst.*, 2010 Oct 19.

Agetsuma, N. (1995). Foraging synchrony in a group of Yakushima macaques (*Macaca fuscata yakui*). *Folia Primatol (Basel)*, 64(4):167-79.

Albiin, N.; Hellstrom, S.; Salen, B.; Wirell, S. (1985). The vascular supply of the rat tympanic membrane. *Anat Rec.*, 212: 17-22.

Anbar, M. (1998). Clinical thermal imaging today. *IEEE Eng Med Biol Mag.*, 17(4):25-33.

Andrade, A.; Andrade, M.C.R.; Marinho, A.M.; Ferreira Filho, J. (2010). *Biologia, Manejo e Medicina de Primatas não humanos na pesquisa biomédica*. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 472 p.

Araújo, A.; Arruda, M.F.; Alencar, A.I.; Albuquerque, F.; Nascimento M.C.; Yamamoto, M.E. (2000). Body weight of wild and captive common marmosets (*Callithrix jacchus*). *Int J Primatol.*, 21:317-324.

Barger, L.K.; Hoban-Higgins, T.M; Fuller, C.A. (2010). Gender differences in the circadian rhythms of rhesus monkeys. *Physiol Behav.*, 2;101(5):595-600.

Baker, M.A.; Stocking, R.A.; Meehan, J.P. (1972). Thermal relationship between tympanic membrane and hypothalamus in conscious cat and monkey. *J Appl Physiol.*, 32: 739-742.

Bergen, R.D.; Kennedy, A.D. (2000). Relationships between vaginal and tympanic membrane temperature in beef heifers. *Canadian Journal of Animal Science*, 80: 3, 515-518.

Blatteis, C.M. (1986) Fever: is it beneficial? *Yale J Biol Med.*, 59: 107-116.

Blatteis, C.M. (1998). *Physiology and pathophysiology of temperature regulation*. New Jersey, USA, World Scientific Publishing.

Bland, J.M.; Altman, D.G. (1986). Statistical method for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet*, 327: 307-310.

Boere, V.; Silva, I.O.; Canale, G.; Pianta, T.; Tomaz, C. (2003). Correlation between tympanic and rectal temperature in marmosets (*Callithrix penicillata*) under acute stress. *Braz J Vet Res Anim Sci.*, 40: 90-95.

Boere, V.; Pinheiro, E.C.; de Oliveira e Silva, I.; Paludo, G.R.; Canale, G.; Pianta, T.; Welker, A.; Rocha-de-Moura, R.C. (2005). Comparison between sex and age class on some physiological, thermal, and hematological indices of the cerrado's marmoset (*Callithrix penicillata*). *J Med Primatol.*, 34:156-162.

Boyce, W.T.; Higley, J.D.; Jemerin, J.J.; Champoux, M.; Suomi, S.J. (1996). Tympanic temperature asymmetry and stress behavior in rhesus macaques and children. *Arch Pediat Adolescent Med.*, 150: 518-523.

Boyce, W.T.; Essex, M.J.; Alkon, A.; Smider, N.A.; Pickrell, T.; Kagan, J. (2002). Temperament, tympanum, and temperature: four provisional studies of the biobehavioral correlates of tympanic membrane temperature asymmetries. *Child Develop.*, 73: 718-733.

Brambrink, A.M.; Kopacz, L.; Astheimer, A.; Noga, H.; Heimann, A; Kempfski, O. (1999). Control of brain temperature during experimental global ischemia in rats. *J. Neurosci. Methods*, 92: 111-122.

Brinnel, H.; Cabanac, M. (1989). Tympanic temperature is a core temperature in humans. *J Therm Biol.*, 14: 47-53.

Brunell, M.K. (2012). Comparison of noncontact infrared thermometry and 3 commercial subcutaneous temperature transponding microchips with rectal thermometry in rhesus macaques (*Macaca mulatta*). *J Am Assoc Lab Anim Sci.*, 51:479–484.

Chen, P.H.; White, C.E. (2006). Comparison of rectal, microchip transponder, and infrared thermometry techniques for obtaining body temperature in the laboratory rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *J Am Assoc Lab Anim Sci.*, 45:57–63.

Cherbuin, N.; Brinkman, C. (2004). Cognition is cool: can hemispheric activation be assessed by tympanic membrane thermometry? *Brain Cognition*, 54: 228-231.

Chiarello, A.G. (1995) Density and habitat use of primates at an Atlantic forest reserve of southeastern Braz. *Rev Bras Biol.*, 55(1):105-10.

Chu, B.C.; Narita, A.; Aoki, K.; Yoshida, T.; Warabi, T.; Miyasaka, K. (2000). Flow volume in the common carotid artery detected by color duplex sonography: an approach to the normal value and predictability of cerebral blood flow. *Radiat Med.*, 18: 239-244.

Cilia, J.; Piper, D. C.; Upton, N.; Hagan, J. J. (1998). A comparison of rectal and subcutaneous body temperature measurement in the common marmoset. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*, 40, 21-26.

Corneli, H.M. (2001). Hot topics in cold medicine. Controversies in accidental hypothermia. *Clin Ped Emerg Med.*, 2: 179-191.

Dausmann, K.H.; Flexible patterns in energy savings: heterothermy in primates. *J Zool.*, 292: 101–111.

Diniz, L.S.M. (1997). *Primatas em cativeiro: Manejo e Problemas Veterinários – enfoque para espécies Neotropicais – São Paulo: Ícone, 1997.*

Fernandez-Duque, E. (2003). "Influence of moonlight, ambient temperature, and food availability on the diurnal and nocturnal activity of owl monkeys (*Aotus azarai*)" *Behav Ecol Sociobiol.*, 54: 431- 440.

Foster, A.S. (1946). Comparative morphology of the foliar sclereids in the genus *Mouriria*. *Aubl. Journal of the Arnold Arboretum*, 27 (3): 253-271.

Fowler, L.A.; Hopkins, W.D.; Albers, H.E; Morris, R.D.; Hyatt, C.W. (1999). Establishing the presence of a body temperature rhythm in chimpanzees (*Pan troglodytes*) using a tympanic membrane thermometer. *Primates*, 40: 499-508.

Fuller, C.A.; Baker, M.A. (1983). Selective regulation of brain and body temperatures in the squirrel monkey. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.*, 245: R293-R297.

Fuller, A.; Dawson, T.; Helmuth, B.; Hetem, R.S.; Mitchell, D.; Maloney, S.K. (2010). Physiological mechanisms in coping with climate change. *Physiol Biochem Zool.*, 83:713–720.

Goodwin, D. (1998). Comparison of body temperatures of goats, horses, and sheep measured with a tympanic infrared thermometer, an implantable microchip transponder, and a rectal thermometer. *Contemp Top Lab Anim Sci.*, 37(3): 51–55.

Graig, J.V.; Gillian, A.L.; Williamson, P.R.; Smyth, R.L. (2000) Temperature measured at the axilla compared with rectum in children and young people: systematic review. *BMJ*, Liverpool 320: 1174-1178.

Greer, R.J.; Cohn, L.A.; Dodam, J.R., Wagner-Mann, C.C.; Mann, F.A. (2007). Comparison of 3 methods of temperature measurement in hypothermic, euthermic, and hyperthermic dogs. *J Am Vet Med Assoc.*, 230:1841–1848.

Guyton, A.C.; Hall, J.E. (1996). *Textbook of Medical Physiology*, 9th edition. Philadelphia, W.B. Saunders Company.

Hanya, G. (2004). Seasonal variations in the activity budget of Japanese macaques in the coniferous forest of Yakushima: effects of food and temperature. *American Journal of Primatology*, 63: 165-177.

Harrison T.M.; Ian, D.; Ian, M. (1985). Diffusion of ^{40}Ar in biotite: Temperature, pressure and compositional effects. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 49(11): 2461-2468.

Hetherington, C.M. (1978). Circadian oscillations of body temperature in the marmoset, *Callithrix jacchus*. *Lab Anim.*, 12: 107-108.

Heusch, A.I.; Suresh, V.; McCarthy, P.W. (2006). The effect of factors such as handedness, sex and age on body temperature measured by an infrared 'tympanic' thermometer. *J Med Engineer Technol.*, 30: 235-241.

Hoffmann, K.; Coolen, A.; Schlumbohm, C.; Meerlo, P.; Fuchs, E. (2012). Remote long-term registrations of sleep-wake rhythms, core body temperature and activity in marmoset monkeys. *Behav Brain Res.*, 235:113-123.

Hopkins, W.D.; Fowler, L.A. (1998). Lateralised changes in tympanic membrane temperature in relation to different cognitive tasks in chimpanzees (*Pan troglodytes*). *Behav Neurosci.*, 112: 83-88.

Howell, T.H. (1983). The skin temperature gradient in the upper limbs of old women. *Ecp Gerontol*, 18(4): 255- 261.

Hungria H. *Otorrinolaringologia*. 7^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1995.

Johnson, G.S.; Elizondo, R.S. (1979). Thermoregulation in *Macaca mulatta*: a thermal balance study. *J Appl Physiol.*, 46: 268–277.

Kaplan, E.; Shelmidine, N. (2010). Factors influencing weight changes in callitrichids at the Bronx Zoo. *Zoo Biol.*, 29:551-566.

Klink, C.A.; Machado, R.B. (2005). Conservation of the Brazilian cerrado. *Conserv Biol.*, 19: 707-713.

Kluger, M.J.; Vaughn, L. K. (1978). Fever and survival in rabbits infected with *Pasteurella multocida*. *Journal of Physiology*, 282: 243-251.

Kuehnel, F.; Grohmann, J.; Buchwald, U.; Koeller, G.; Teupser, D.; Einspanier, A. (2012). Parameters of haematology, clinical chemistry and lipid metabolism in the common marmoset and alterations under stress conditions. *J Med Primatol.*, 41:241-250.

Lane, M.A.; Baer, D.J.; Rumpler, W.V.; Weindruch, R.; Ingram, D.K.; Tilmont, E.M.; Culter, R.G.; Roth, G.S.(1996). Calorie restriction lowers body temperature in *rhesus* monkeys, consistent with a postulated anti-ageing mechanism in rodents. *Proc Natl Acad Sci USA*. 93(9): 4159–4164.

Levy, A.D.; Baumann, M.H.; Kar, L.D.V. (1994). Monoaminergic regulation of neuroendocrine function and its modification by cocaine. *Front Neuroendocrinol.*, 15: 85-156.

Li, B.; Liu, L.; Chen, X.; Zhao, J.; Feng, Y.; Xu, H.; Han, G.; Zhu, J. (2009). On the provenance of the white pottery of the Erlitou site: the significance of Sr isotopic analysis. 2009 International Symposium on Ancient Ceramics, Shanghai: Shanghai Science and Technology Literature Publishers.

Liu, C.T.; Sanders, R.P.; Robbins, V.W. (1981). Diurnal changes in rectal and body surface temperatures of conscious, chair-restrained *Rhesus* macaques. *Am J Vet Res.*, 42(6):1018 –1024.

Long C.T.; Pacharinsak C.; Jampachaisri K.; McKeon G.P.; Howard A.M.; Albertelli M.A.; Felt, S.A. (2001). Comparison of rectal and tympanic core body temperature measurement in adult Guyanese squirrel monkeys (*Saimiri sciureus sciureus*). *J Med Primatol.*, 40: 135–141.

Lopez, K.R.; Gibbs, P.H.; Reed, D.S. (2002). A comparison of body temperature changes due to the administration of ketamine–acepromazine and tiletamine–zolazepam anesthetics in cynomolgus macaques. *Contemp Top Lab Anim Sci.*, 41:47–50.

Macedo, J.G.; Almeida, C.A.N. (2004). Medida da temperatura corporal. *Rev. Pediatria moderna*, 40 (2).

Mackowiak, P.A.; Browne, R.H.; Southern, P.M.Jr.; Smith, J.W. (1980). Polymicrobial Sepsis: An Analysis of 184 Cases Using Log Linear Models. *American Journal of the Medical Sciences*, 280:73-80.

Maloney, S.K.; Fuller, A.; Meyer, L.C.R.; Kamerman, P.R.; Mitchell, G.; Mitchell, D. (2011). Minimum daily core body temperature in western grey kangaroos decreases as summer advances: a seasonal pattern, or a direct response to water, heat or energy supply? *J Exp Biol.*, 214:1813–1820.

Manduca S.T.; Reis, A. B.; Kemper, B.; Barca, F.A.Jr.; Okano, W. (2010). Diferença no valor da temperatura retal aferida por termômetros clínicos de mercúrio e eletrônico digital. *Ciênc. vet. tróp.*, 13 (1/2/3), 45 – 51.

Meiners, M.L.; Dabbs, J.M. (1977). Ear temperature and brain blood flow: laterality effects. *B. Psychonomic Society*, 10: 194-196.

Mansfield, K. (2003) Marmoset model commonly used in biomedical research. *Comp Med.*, 53: 383-392.

Nakamura, K. (2011). Central circuitries for body temperature regulation and fever. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.*, 301: R1207-R1228.

Newsom, D.M.; Bolgos, G.L.; Colby, L.; Nemzek, J.A. (2004). Comparison of body surface temperature measurement and conventional methods for measuring temperature in the mouse. *Contemp Top Lab Anim Sci.*, 43:13–8.

Nowak, R.M.; and Paradiso, J.L. (1983). Walker's Mammals of the World, 4th Ed. Baltimore, John Hopkins University Press, p.11–26.

Nowak, R.M. (1999). Walker's mammals of the world. Baltimore: Johns Hopkins University Press. 1936p.

Nyakudya, T.; Fuller, A.; Meyer, L.C.; Maloney, S.K.; Mitchell, D. (2012). Body temperature and physical activity correlates of the menstrual cycle of chacma baboons (*Papio hamadryas ursinus*). Am J Primatol., 74:1143-1153.

Omatsu, T.; Moi, M.L.; Takasaki, T.; Nakamura, S.; Katakai, Y.; Tajima, S.; Ito, M.; Yoshida, T.; Saito, A.; Akari, H.; Kurane, I. (2012). Changes in hematological and serum biochemical parameters in common marmosets (*Callithrix jacchus*) after inoculation with dengue virus. J Med Primatol., 41: 289-296.

Parr, L.A.; Hopkins, W.D. (2000). Brain temperature assymetries and emotional perception in chimpanzees, *Pan troglodytes*. Physiol. Behav., 71: 363-371

Peters, V.M.; Guerra, M.O. (1998). Growth of marmoset monkeys *Callithrix jacchus* in captivity. Folia Primatol., 69:266-272.

Petry, H.; Maier, J. (1990). Radiotelemetrische Untersuchungen der Körpertemperatur von Weißbüscheläffchen (*Callithrix jacchus*). Zeitschrift für Ernährungswissenschaft, 29:197–207.

Pissinatti, A.; Silva, M.F.; Andrade, M.C.R. (2014). Primatas não humanos para uso científico. Conselho Nacional de Ética em Pesquisa Animal.

Powers, S.K.; Howley, E.T. (2000). Fisiologia do Exercício: Teoria e aplicação ao condicionamento e ao desempenho. Manole: São Paulo.

Pörtner, H.O.; Bennett, A.F.; Bozinovic, F.; Clarke, A.; Lardies, M.A.; Lucassen, M.; Pelster, B.; Schiemer, F.; Stillman, J. H. (2006). Trade-offs in thermal adaptation: the need for a molecular to ecological integration *Physiol. Biochem. Zool.*, 79: 295–313. doi:10.1086/499986.

Pransky, S.M. (1991). The impact of technique and conditions of the tympanic membrane upon infrared tympanic thermometry. *Clinical Pediatrics*, 30(4): 50-52.

Propper, R.E.; Brunyé, T.T. (2013). Lateralized difference in tympanic membrane temperature: emotion and hemispheric activity. *Front Psychol.*, 4: 1-7.

Quimby, J.M.; Olea-Popelka, F.; Lappin, M.R. (2009). Comparison of digital rectal and microchip transponder thermometry in cats. *J Am Assoc Lab Anim Sci.*, 48:402–404.

Raeve, P.D. (2001). Two mattresses for neonates compared for costs and quality of nursing care. *Connect Crit. Care Nurs. Enr.*, London, 1 (1): 5-10.

Riek, A.; Geiser, F. (2013). Allometry of thermal variables in mammals: consequences of body size and phylogeny. *Biol Rev.*, 88: 564-572.

Robinson, J.; Seal, R.F.; Spady, D.W. (1998). Comparison of oesophageal, rectal, axillary, bladder, tympanic and pulmonary artery temperatures in children. *J. Pediat.*, 133: 553-556.

Rupniak, N.M.J.; Tye, S.J.; Iversen, S.D. (1992). Comparison of the effects of selective and non-selective muscarinic agonists on cognition and thermoregulation in primates. *J Neurol Sci.*, 110:222–227.

Sanga, A. (2000). A Comparison of four methods of normal newborn temperature measurement. *MCN, Hagerstown*, 25 (2): 76-79.

Schnell CR, Wood JM (1993) Measurement of blood pressure, heart rate, body temperature, ECG and activity by telemetry in conscious unrestrained marmosets. *Proceedings of the Fifth FELASA Symposium*. Brighton, U.K: Welfare and Science. Ed., J. Bunyan, 107–111.

Scholander, P. F.; Schevill, W. E. (1955). Counter-current vascular heat exchange in the fins of whales. *J. Appl. Phys.*, 8: 279 -282.

Schulte M.P.; Moyes, D.C. (2010). *Princípios de Fisiologia Animal 2º Ed.* Artmed. Porto Alegre.

Schuman, M.U.; Suhr, D.F.; Grossehn, H.H.; Brauer, A.; Jantzen, J.P.; Samii, M. (1999). Local brain surface temperature compared to temperatures measured at standard extracranial monitoring sites during posterior fossa surgery. *J Neurosurg Anesthesiol*, 12: 90-95.

Sessler, C.N. (1990). Theophylline toxicity: clinical features of 116 consecutive cases. *Am J Med.*, 88(6):567-76.

Sessler, D.I. (1997). Mild perioperative hypothermia. *N Eng J Med.*, 336: 1730-1737.

Setser, J.J.; Taylor, J.E.; Walker, L.; Lashley, E.L.; Padgett, E.L. (2009). Comparison of rectal, transponder, and telemetry thermometry for collection of body temperatures in rats, dogs, and monkeys. *J Am Assoc Lab Anim Sci.*, 48:133.

Shelton, L.J.Jr.; White, C.E.; Felt, S.A. (2006). A comparison of noncontact, subcutaneous, and rectal temperatures in captive owl monkeys (*Aotus* sp.). *J Med Primatol*, 35:346–351.

Sikoski, P.; Banks, M.L.; Gould, R.; Young, R.W.; Wallace, J.M.; Nader, M.A. (2007). Comparison of rectal and infrared thermometry for obtaining body temperature in cynomolgus macaques (*Macaca fascicularis*). *J Med Primatol.*, 36: 381–384.

Simões, A.L.B.; Martino, M.M.Fd. (2007). Variabilidade circadiana da temperatura oral, timpânica e axilar em adultos hospitalizados. *Revista da Escola de Enfermagem*, 41(3): 485-91.

Soulen, R.L.; Lapayowker, M.S; Tyson, R.R.; Korangy, A.A. (1972). Angiography, ultrasound, and thermography in the study of peripheral vascular disease. *Radiology*, 105(1):115-9.

Stavem, K.; Saxholm, H.; Erikssen, J. (2000). Tympanic or rectal temperature measurement? A cost-minimization analysis. *Scand. J. Infec. Dis.*, 32, 299-301.

Stevenson, M.F.; Rylands, A.B. (1988). The marmosets, genus *callithrix*. in Mittermeier, R.A.; Coimbra-Filho, A.F.; Fonseca, G.A.B. *Ecology and behavior of neotropical primates*. Washington D.C. (1998). World Wildlife Fund, p. 131 – 222.

Stitt, J.T.; Hardy, J.D. (1971). Thermoregulation in the squirrel monkey (*Saimiri sciureus*). *J Appl Physiol.*, 31: 48–54.

Stonerook, M.J.; Weiss, H.S.; Rodriguez, M.A.; Rodriguez, J.V.; Hernandez, J.I.; Peck, O.C.; Wood, J.D. (1994). Temperature-metabolism relations in the cotton-top tamarin (*Saguinus oedipus*) model for ulcerative colitis. *J Med Primatol.*, 23: 16022.

Sukstanskii, A.L.; Yablonskiy, D.A. (2006). Theoretical model of temperature regulation in the brain during changes in functional activity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 103:12144-12149.

Taylor, N.A. (2014). Tipton MJ, Kenny GP Considerations for the measurement of core, skin and mean body temperatures. *J Therm Biol.*, 46:72-101. doi: 10.1016/j.jtherbio.2014.10.006.

Terrien, J.; Perret, M.; Aujard, F. (2011). Behavioral thermoregulation in mammals: a review. *Front. Biosci.*, 16: 1428–1444. doi: 10.2741/3797.

Thompson, S.D.; Power, M.L.; Rutledge, C.E.; Kleiman, D.G. (1994). Energy-metabolism and thermoregulation in the golden lion tamarin (*Leontopithecus rosalia*). *Folia Primatol.*, 63: 131-143.

Thompson, C.L.; Williams, S.H.; Glander, K.E.; Teaford, M.F.; Vinyard, C.J. (2014). Body temperature and thermal environment in a generalized arboreal anthropoid, wild mantled howling monkeys (*Alouatta palliata*). *Am. J. Phys. Anthropol.*, 154: 1-10.

Timby, B.K. (2001). Conceitos e Habilidades Fundamentais no Atendimento de Enfermagem. *Artmed*, 6, 15.

Tomaz, C.; Verburg, M. S.; Boere, V.; Pianta, T.F.; Belo, M. (2003). Evidence of hemispheric specialization in marmosets (*Callithrix penicillata*): a study using tympanic membrane thermometry. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 36: 913-918.

Tomaz, C.; Barros, M. (2008). Non-human primate models for psychiatric disorders. *Rev. Neurosci.*, 19: 79-81.

Vilela, S.L.; Faria, D.S. (2004). Seasonality of the activity pattern of *Callithrix penicillata* (Primates, Callitrichidae) in cerrado (scrub savanna vegetation). *Braz J Biol.*, 64: 363-370.

Voltarelli, J.C.; Falcão R.P. (1984). Febre: patogenia, fisiopatologia e significado clínico. *Medicina, Ribeirão Preto*, 17: 181-201.

Washington, L.J.; Holder, M.S.; Kirksey, O.W. (1999). Palm, D.E.; Fever in infants. *Clin Reviews*, 9(2): 51-53, 63-64, 66-68. Clinicians Publishing Group and Williams e Wilkins.

Ward, J.M.; Vallender, E.J. (2012). The resurgence and genetic implications of New World primates in biomedical research. *Trends Genet*, 28:586-591.

Woods, S.E.; Marini, R.P.; Patterson, M.M. (2013). Noninvasive temporal artery thermometry as an alternative to rectal thermometry in research macaques (*Macaca* spp.) *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 52: 295–30.

Wurster, E. C.; Murrish, D. E.; Sulzman, F.M. (1985). Circadian rhythms in body temperature of the pigtailed macaque (*Macaca nemestrina*) exposed to different ambient temperatures. *American Journal of Primatology*, 9 (1), 1–13.

Yarbrough, L.W.; Tollett, J.L.; Montrey, R.D.; Beattie, R.J.; Serum biochemical, hematological and body measurement data for common marmosets (*Callithrix jacchus jacchus*). Lab Anim Sci., 34:276-280.

ANEXO I: Artigo submetido**Relationship between body temperature, weight and hematological parameters of captive adult black tufted-ear marmosets (*Callithrix penicillata*).**

Lucas Cardoso Pereira^a and Marilia Barros^b

^a *Primate Center and Department of Physiological Sciences, Institute of Biology, University of Brasilia, 70910-900 Brasilia, DF, Brazil.*

^b *Department of Pharmaceutical Sciences, School of Health Sciences, University of Brasilia, 70910-900 Brasilia, DF, Brazil.*

Running Title: Marmoset temperature, weight and hematology correlates

Number of Figures & Tables: 01 (one) figure; 02 (two) tables

Funding Acknowledgments: This study was supported by the Brazilian National Research Council – CNPq (478930/2012-7). LCP received a master’s fellowship from the Brazilian Higher Education Authority – CAPES and MB a researcher fellowship from CNPq (303331/2012-7).

These funding sources had no involvement in the study design, data collection, analysis or interpretation, writing the manuscript or decision to submit it for publication.

Corresponding Author: Dr. Marilia Barros; Tel/Fax: 55-61-31072002; E-mail: mbarros@unb.br

Abstract

Background Basal thermal values of captive adult black tufted-ear marmosets (*Callithrix penicillata*) in a thermoneutral environment were measured via different methods, along with body weight and hematological parameters.

Method Body temperatures were recorded in twenty-seven marmosets with rectal (RC), subcutaneous (SC) microchip transponder and infrared (left and right) tympanic membrane (TM) thermometry. Thermal values were correlated with body mass, as well as basic hematological data assessed in a blood sample.

Results and conclusions RC and SC temperatures were significantly higher than left and right TM values, the first two and last two not differing among each other. SC temperature was positively correlated and in close agreement with RC measurements, corroborating the use of the former as an alternative method for the latter. The other body temperatures were not correlated or influenced by gender, capture time or body weight, but were correlated with hematological parameters.

Keywords: callitrichid; tympanic membrane temperature; subcutaneous temperature; rectal temperature; body mass; blood analyses

Introduction

The body temperature of homeothermic animals is maintained within a narrow range by complex, neurally-controlled, involuntary physiological processes and/or behavioral adaptations (reviewed in [19]). This thermoregulatory system maintains the internal thermal environment at optimal levels for molecular, cellular and systemic activities, despite variations in ambient temperature and/or metabolic requirements [19, 24]. It also helps regulate energy consumption through heat production/dissipation [e.g., 15] and aids the body's defense system against pathogens [e.g., 18]. In the latter case, an increase in body temperature is considered a central and highly reliable indicator of several pathological states, the extent of the deviation being associated with the severity of the clinical condition (reviewed in [19, 31]). However, body temperature varies somewhat according to the location of the measurement due to local differences in tissue metabolism, heat conduction and blood perfusion [31].

In nonhuman primates (NHP), as with most mammals, rectal (RC) thermometry is the most commonly used method to estimate core body temperature [5, 29]. This is an inexpensive and minimally invasive technique, yet it's also time- and labor-consuming to perform, may inflict local injury particularly during repeated samplings and commonly induces handling stress or requires the use of sedatives/anesthetics that alters baseline measurements [5, 7, 17, 28-29, 34]. Alternatively, body temperature measured via easily implantable subcutaneous (SC) microchip transponders is a less invasive method that correlates with rectal temperatures of NHPs [5, 7; however see 28] and other animals [e.g., 9]. It offers the advantage of speed, convenience and decreased stress for the animal when compared to the rectal thermometry. In addition, measurements of tympanic membrane (TM) temperature are being increasingly used in NHP as a

means to evaluate emotion and cognition [10], yet it may also be used as a clinical correlate and for animal welfare [3, 25]. This thermal value is significantly associated with ipsilateral changes in carotid blood flow, which in turn is correlated with brain temperature and cortical blood flow due to changes in cerebral activity [6, 27].

In view of the renewed interest in marmoset monkeys as a preclinical translational model for human pathologies [33] and the importance of body temperature to help establish an individual's health status for clinical and research purposes, we measured basal thermal values of captive adult black tufted-ear marmosets (*Callithrix penicillata*) in a thermoneutral environment via RC, SC and TM thermometry. Body temperatures were assessed for possible gender-differences and correlation with body mass and basic hematological parameters. SC temperature was also analyzed to determine correlation and agreement with the traditional RC temperature.

Materials and methods

Humane care guidelines

All experimental procedures were approved by the Animal Ethics Committee of the University of Brasilia (4054/2014) and complied with Brazilian regulations for the scientific use of laboratory animals (Lei Arouca 11.794), as well as the CONCEA/Brazil and NIH/USA guidelines for care and use of laboratory animals.

Subjects and housing conditions

Twenty-seven captive adult black tufted-ear marmosets were used (*C. penicillata*; 14 males, 13 non-reproductive females). The females' estrous cycle was not controlled for. Marmosets were group or pair-housed in home-cages (2 x 1 x 2 m each) of a same

colony room at the Primate Center of the University of Brasilia. The colony room consisted of an outdoor-indoor housing system with two parallel rows of 12 cages, each divided by a common wire-mesh enclosed central corridor. The animals were thus exposed to natural light, temperature and humidity. Fresh food was provided daily at 07:00 h, consisting of a mixture of pieces of fruits and vegetables. Boiled eggs, nuts, cooked chicken breast and/or yogurt were given several times a week, also at 07:00 h. Unconsumed items were removed at 17:00 h. Water and chow were available ad libitum. Housing and maintenance conditions complied with the regulations of the Brazilian National Institute of Environment and Renewable Natural Resources (IBAMA).

As a routine procedure, all subjects are implanted with a radio-frequency (134.2 kHz) transponding microchip with temperature-sensing capacity and a unique unalterable 15-digit identification code (LifeChip with BioThermo 985 microchip, Destron Fearing, South St. Paul, USA). The microchips were implanted subcutaneously on the dorsum between the marmosets' scapulae using a sterile single-use syringe provided by the manufacturer. This procedure did not require anesthesia. The marmosets had no significant apparent underlying clinical condition that could be associated with abnormal body temperatures.

Measurement techniques and devices

Body temperatures were recorded at four locations using different measurement techniques. The subcutaneous (SC) temperature was obtained from the previously implanted microchip by using a handheld battery-powered reader with an operating temperature range of 0 to 50°C (HS9002B Pocket Reader, Destron Fearing, São Caetano do Sul, Brazil), held approximately 2 cm away from the implant site. Once in place, the reading button on the device was pressed and approximately 1-s later it emitted a beep sound and displayed the identification code and

temperature on its LCD panel. Two SC readings were made, at a 5-s interval, yet only the highest temperature was recorded.

The right and left tympanic membrane (TM) temperatures were assessed with an infrared digital ear thermometer designed for adult/pediatric patients (IFR 100 Dual Mode Thermometer, Microlife, Brazil). Previous studies have shown that these thermometers may be used reliably with small neotropical primates [3, 17, 32]. The pinna of the marmoset's external ear was gently pulled up and back and the thermometer inserted into the right or left ear. The reading button on the device was immediately pressed and approximately 1-s later a beep sounded and the temperature was displayed on its LCD panel. The thermometer had an operating temperature range of 10 to 50°C, a sensitivity of 0.1°C and an accuracy of $\pm 0.2^\circ\text{C}$ (between 32.0 – 42.2°C). Four TM readings were made, at 5-s intervals: two in the left ear and two in the right ear. The first ear to be measured was determined randomly, with subsequent assessments always alternating between the two sides. Only the highest temperature from each ear was recorded, as the tympanic membrane is hotter than the surrounding tissue [11].

The rectal (RC) temperature was assessed with a clinical digital thermometer (MT 500, Microlife, Brazil), inserted to a depth of 2 cm into the rectum and left in place until a stable reading was obtained as indicated by a beep sound from the device (approximately 1-min). This thermometer had an operating temperature range of 32.0 to 42.9°C and accuracy of $\pm 0.1^\circ\text{C}$. Two RC readings were made, at about a 1-min interval, with only the highest temperature being recorded.

Disposable probe covers were used with both TM and RC thermometers. The same experimenter performed all the measurements and these were obtained during the region's dry winter season. Thus ambient temperature in the callitrichid colony room during the procedures ranged from 18–23°C and relative humidity from 55–88%.

Body temperature and weighing procedures

The body temperature and weight measurements were recorded between 08:30 and 11:30 h. During this time frame, Hoffmann et al. [12] reported that core body temperatures of male and female marmosets remained stable. For each measurement, the subject was quickly captured in its home-cage and its body temperature immediately assessed as described above. The SC temperature was determined first, followed by the TM and lastly the RC. The time required to capture the marmoset in its home-cage was also recorded. After that, the subject was taken to a room adjacent to the colony facility, placed in an aluminum containment cage (35 x 20 x 23 cm; LxWxH) set atop a digital scale (DP-15, Digipeso, Brazil) and its body weight recorded. Following this procedure, the animal was returned to its home-cage.

Blood sampling and hematology assays

A blood sample was obtained from each marmoset, also between 08:30 and 11:30 h, 24-h after the procedure described above. For this, the animal was captured in its home-cage and taken to the same procedure room adjacent to the colony facility where it was anesthetized with isoflurane (BioChimico, Rio de Janeiro, Brazil) by inhalation using a universal vaporizer. The 0.5 mL blood sample that was obtained via femoral venipuncture was immediately transferred to a 4 mL EDTA-containing vial (Vacuette, Brazil). After recovery (~1-2 min), the marmoset was returned to its home-cage and monitored for an additional 15-30 min. All samples were obtained in the presence of the Primate Center's veterinarian and hematological analyses were performed at a local laboratory within 5 h of sampling. Each blood sample was evaluated for erythrocyte, leukocyte, segmented neutrophil and lymphocyte cell count, as well as hemoglobin concentration and hematocrit, using the XE2100 Automated Hematology System (Sysmex, Paraná, Brazil).

Statistical analyses

Body temperatures were compared for possible between-gender and location effects using a mixed-design two-way analysis of variance (ANOVA) with 'gender' (male, female) as the independent factor and 'location' as the repeated measure variable (left/right TM, SC, RC temperatures). Whenever significant, subsequent pairwise comparisons were performed using Tukey's test. Body weight, hematological parameters and capture time were also analyzed for possible gender differences using an independent *t*-test.

In addition, Pearson's test was used to establish the linear relationship between the four body temperature measurements, as well as with the body weight, hematological data and time required to capture the marmoset in its home-cage. For the SC and RC temperatures, the Bland-Altman analysis was also used to determine, graphically and numerically, the degree of agreement between these two techniques [2]. The RC temperature data was used as the standard for comparison for the SC thermometry measurement. An agreement to within $\pm 1.67^{\circ}\text{C}$ with a 95% confidence interval [5, 28] was used as the criterion established prior to the study for determining that the SC technique was equivalent to the RC thermometry. As significant between-gender differences were not observed for any of the body temperature measurements or hematological parameters, these data from males and females were pooled together for the correlation and agreement analyses. Body weight was analyzed separately in terms of gender. Significance level for all tests was set at $p \leq 0.05$.

Results

The body temperatures differed significantly in terms of the measurements' location, yet no significant gender effect was observed (gender: $F_{1,25}=1.73$, $p=0.20$; location: $F_{3,75}=209.40$, $p<0.001$; interaction: $F_{3,75}=0.77$, $p=0.50$; Fig. 1). In both male and female marmosets, the RC and SC temperatures were significantly ($p<0.05$) higher than those recorded at the left and right TM. The first two and latter two measurements, however, did not differ significantly from each other.

RC and SC temperatures ranged from 37.8 to 40.1°C and 38.0 to 40.2°C, respectively. The left TM temperatures ranged from 35.9 to 37.4°C, while the right TM measurements were between 35.6 and 37.4°C. In addition, based on pooled data, SC temperatures were positively correlated with those recorded using the RC technique ($r=0.69$, $p<0.01$; Fig. 1). According to the Bland-Altman analysis, body temperatures measured via the SC method were also in close agreement with the RC temperatures. The calculated limits of agreement (0.82 and -1.18°C, with a mean difference of -0.18°C) were well within the pre-established criterion of $\pm 1.67^\circ\text{C}$ to be considered equivalent to the RC thermometry. No other significant linear relationship was detected among the other body temperatures (left TM x right TM: $r=0.21$, $p=0.29$; left TM x SC: $r=0.15$, $p=0.47$; left TM x RC: $r=0.16$, $p=0.42$; right TM x SC: $r=0.29$, $p=0.14$; right TM x RC: $r=0.21$, $p=0.30$), and the left and right TM temperatures differed in terms of $0.4\pm 0.2^\circ\text{C}$.

The results were not influenced by the time required to capture the marmosets in their home-cages, as this variable was not significantly correlated with any of the recorded temperatures (capture time x left TM: $r=-0.17$, $p=0.40$; x right TM: $r=-0.08$, $p=0.70$; x SC: $r=0.22$, $p=0.27$; x RC: $r=0.17$, $p=0.40$). Also, home-cage capture time did not differ between male and female marmosets ($t_{25}=0.24$, $p=0.82$), requiring on average 17 ± 2 s (mean \pm sem; mean range: 5 – 45 s).

Although males had a significantly higher body weight than females ($t_{25}=2.26$, $p=0.03$; Table 1), between-gender differences were not observed for any of the hematological parameters (erythrocytes: $t_{25}=-0.07$, $p=0.95$; hemoglobin: $t_{25}=-0.22$, $p=0.83$; hematocrit: $t_{25}=0.15$, $p=0.88$; leukocytes: $t_{25}=1.91$, $p=0.07$; segmented neutrophil: $t_{25}=1.22$, $p=0.23$; lymphocytes: $t_{25}=0.76$, $p=0.46$; Table 1). On the other hand, segmented neutrophil cell count was negatively correlated with the left and right TM temperatures, while the number of lymphocytes had a positive linear relationship with all RC and SC temperatures (see Table 2 for statistical data). A relationship between the marmosets' body temperature and weight was not seen (see Table 2 for statistical data).

Discussion

Body temperatures are reported to vary between the different possible anatomical sites where measurements are typically held [31]. In our captive adult black tufted-ear marmosets, basal thermal values obtained via RC and SC routes were significantly higher than those recorded at the left and right TM. The former two had equivalent temperature ranges and were similar to values reported for neotropical primates, including marmosets [3, 7-8, 17, 23]. RC data reflect deep-body temperatures, which in turn are usually higher than those detected at more superficial levels [e.g., 16]. The apparent discrepancy between our data and that of previous reports may reflect the exact location of the superficial measurements – cutaneous vs. subcutaneous [7]. SC thermometry using transponder devices accurately measures subcutaneous temperatures in NHP [28] and may reliably represent core body temperatures, compared to skin thermocouples [16]. In fact, similar to previous reports, not only did the marmosets' RC and SC measurements have a positive linear relationship [7], but SC temperatures were also in close agreement with those obtained via the traditional RC thermometry (Bland-Altman analysis [5]; although see [28]).

Thermal values detected at the TM are also considered an index of core body temperature. Contrary to RC and SC readings, TM temperatures seem to inherently reflect changes in carotid blood flow, which in turn has a high positive relationship with ipsilateral variations in cerebral blood flow and brain temperature due to cerebral activity [8, 27]. As brain activity increases, TM temperature decreases. Accordingly, the temperature of the marmosets' left and right TM may have been lower than those recorded using the RC and SC routes partly due to the prominent and continuous heat exchange that occurs between the brain and the cerebral/carotid blood flow [30]. It is also important to point out that the thermal values recorded at the left and right TM were similar in range, yet lower than previous reports for this species [3, 32]. While the former result initially suggests a symmetrical cerebral activation during the procedure [3, 17, 32], pre-capture baseline TM temperatures are not available and thus individual differences may confound this effect [21]. In addition, the individuals assessed in the present study have an extensive capture and

manipulation history due to clinical and experimental procedures (>20 events), which may have led to higher neural activation, brain temperatures and blood flow, and thus lower TM temperatures [4, 32]. This possible sensitization effect may also have contributed to TM temperatures being lower than the RC and SC measurements.

Thermal values were not correlated with the time required to capture the individuals in their home-cages (performed in <20 s). During such procedure, marmosets frequently attempt to evade capture by increasing locomotor activity, which in turn elevates autonomic functions [26]. Also, males and females had equivalent body temperatures at all the thermal sites that were assessed. Considering that core temperatures in NHP may oscillate over the course of the female's menstrual/estrous cycle [e.g., 20] and that this factor was not controlled for in the present study, the possibility of gender-differences may not be completely excluded. Nevertheless, similarities in terms of male/female body temperatures have been reported for different neotropical species [3, 12, 17].

A gender effect was observed for body mass, with males weighing significantly more than females. This effect, although significant, may not be clinically relevant as the difference was small, the recorded values were within the range for this species [3] and previous reports have been inconsistent (i.e., *no sexual dimorphism* [1, 3, 13, 35]; *higher body mass in females* [14, 22]). Also, male/female body mass was not correlated with their respective RC, SC or left/right TM temperatures. On the other hand, hematological parameters did not vary between genders [3, 14, 35], but were significantly related to body temperature. Segmented neutrophils count was negatively correlated with the left and right TM thermal values, while lymphocytes were positively correlated with RC and SC temperatures. Thus, body temperatures at different sites may help contribute to establishing the health status of marmosets' for clinical and/or research purposes.

In conclusion, when in a thermoneutral environment, basal body temperatures of adult captive black tufted-ear seem to reflect some of the inherent characteristics of the specific location where they are assessed. However, the thermal values measured (i.e., RC, SC and TM) share some

important features, such as: possible lack of between-gender differences and correlation with body weight, but a significant relationship with hematological parameters. Our results also corroborate the notion that SC microchip transponders may be an alternative less invasive method to assess core body temperature in small-bodied NHP, with no other correlation being observed between the other measured sites.

Acknowledgments

The authors are indebted to Drs C Dias and R de Oliveira, as well as GV da Silva and AG de Araújo for their dedicated care of the animals and assistance in the blood sampling procedure, and to the Núcleo de Apoio à Pesquisas (NAP)/Sabin Institute, Brazil for running the hematological assays.

References

1. Araújo A, Arruda MF, Alencar AI, Albuquerque F, Nascimento MC, Yamamoto ME: Body weight of wild and captive common marmosets (*Callithrix jacchus*). *Int J Primatol* 2000; 21:317-324.
2. Bland JM, Altman DG: Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986; 1:307-310.
3. Boere V, Pinheiro EC, de Oliveira e Silva I, Paludo GR, Canale G, Pianta T, Welker A, Rocha-de-Moura RC: Comparison between sex and age class on some physiological,

thermal, and hematological indices of the cerrado's marmoset (*Callithrix penicillata*). *J Med Primatol* 2005; 34:156-162.

4. Boyce WT, Hihley JD, Jeremin JJ, Champoux M, Suomi SJ: Tympanic temperature asymmetry and stress behavior in rhesus monkeys and children. *Arch Pediatr Adolesc Med* 1996; 150:518-523.

5. Brunell MK: Comparison of noncontact infrared thermometry and 3 commercial subcutaneous temperature transponding microchips with rectal thermometry in rhesus macaques (*Macaca mulatta*). *J Am Assoc Lab Anim Sci* 2012; 51:479-484.

6. Chu BC, Narita A, Aoki K, Yoshida T, Warabi T, Miyasaka K: Flow volume in the common carotid artery detected by color duplex sonography: an approach to the normal value and predictability of cerebral blood flow. *Radiat Med* 2000; 18:239-244.

7. Cilia J, Piper DC, Upton N, Hagan JJ: A comparison of rectal and subcutaneous body temperature measurement in the common marmoset. *J Pharmacol Toxicol Methods* 1998; 40:21-26.

8. Fuller CA, Sulzman FM, Moore-Ede MC: Role of heat loss and heat production in generation of the circadian temperature rhythm of the squirrel monkey. *Physiol Behav* 1985; 34:543-546.

9. Goodwin S: Comparison of body temperatures of goats, horses, and sheep measured with a tympanic infrared thermometer, an implantable microchip transponder, and a rectal thermometer. *Contemp Top Lab Anim Sci* 1998; 37:51-55.

10. Hanbury DB, Edens KD, Fontenot MB, Greer TF, McCoy JG, Watson SL: Handedness and lateralised tympanic membrane temperature in relation to approach-avoidance behaviour in Garnett's bushbaby (*Otolemur garnettii*). *Laterality* 2013; 18:120-133.

11. Heusch AI, Suresh V, McCarthy PW: The effect of factors such as handedness, sex and age on body temperature measured by an infrared 'tympanic' thermometer. *J Med Eng Technol* 2006; 30:235-241.

12. Hoffmann K, Coolen A, Schlumbohm C, Meerlo P, Fuchs E: Remote long-term registrations of sleep-wake rhythms, core body temperature and activity in marmoset monkeys. *Behav Brain Res* 2012; 235:113-123.

13. Kaplan E, Shelmidine N: Factors influencing weight changes in callitrichids at the Bronx Zoo. *Zoo Biol* 2010; 29:551-566.

14. Kuehnel F, Grohmann J, Buchwald U, Koeller G, Teupser D, Einspanier A: Parameters of haematology, clinical chemistry and lipid metabolism in the common marmoset and alterations under stress conditions. *J Med Primatol* 2012; 41:241-250.

15. Leibel RL, Rosenbaum M, Hirsch J: Changes in energy expenditure resulting from altered body weight. *N Engl J Med* 1995; 332:621-628.
16. Liu CT, Sanders RP, Robbins VW: Diurnal changes in rectal and body surface temperatures of conscious, chair-restrained rhesus macaques. *Am J Vet Res* 1981; 42:1018-1024.
17. Long CT, Pacharinsak C, Jampachaisri K, McKeon GP, Howard AM, Albertelli MA, Felt SA: Comparison of rectal and tympanic core body temperature measurement in adult Guyanese squirrel monkeys (*Saimiri sciureus sciureus*). *J Med Primatol* 2011; 40:135-141.
18. Mooij P, Koopman G, Mortier D, van Heteren M, Oostermeijer H, Fagrouch Z, de Laat R, Kobinger G, Li Y, Remarque EJ, Kondova I, Verschoor EJ, Bogers WMJM: Pandemic swine-origin H1N1 influenza virus replicates to higher levels and induces more fever and acute inflammatory cytokines in cynomolgus versus rhesus monkeys and can replicate in common marmosets. *PLoS One* 2015; 10:e0126132.
19. Nakamura K: Central circuitries for body temperature regulation and fever. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2011; 301:R1207-R1228.
20. Nyakudya T, Fuller A, Meyer LC, Maloney SK, Mitchell D: Body temperature and physical activity correlates of the menstrual cycle of chacma baboons (*Papio hamadryas ursinus*). *Am J Primatol* 2012; 74:1143-1153.

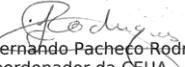
21. Parr LA, Hopkins WD: Brain temperature asymmetries and emotional perception in chimpanzees, *Pan troglodytes*. *Physiol Behav* 2000; 71:363-371.
22. Peters VM, Guerra MO: Growth of marmoset monkeys *Callithrix jacchus* in captivity. *Folia Primatol* 1998; 69:266-272.
23. Petry H, Maier J Radiotelemetrische untersuchungen der körpertemperatur von weißbüscheläffchen (*Callithrix jacchus*). *Z Ernährungswiss* 1990; 29:197-207.
24. Pörtner HO, Bennett AF, Bozinovic F, Clarke A, Lardies MA, Lucassen M, Pelster B, Schiemer F, Stillman JH: Trade-offs in thermal adaptation: the need for a molecular to ecological integration. *Physiol Biochem Zool* 2006; 79:295-313.
25. Rogers LJ: Relevance of brain and behavioural lateralization to animal welfare. *Appl Anim Behav Sci* 2010; 127: 1-11.
26. Schnell CR, Wood JM: Measurement of blood pressure and heart rate by telemetry in conscious, unrestrained marmosets. *Am J Physiol* 1993; 264:1509-1516.
27. Schuman MU, Suhr DF, Gosseln HH, Brauer A, Jantzen JP, Samii M: Local brain surface temperature compared to temperatures measured at standard extracranial monitoring sites during posterior fossa surgery. *J Neurosurg Anesthesiol* 1999; 12:90-95.

28. Shelton LJ Jr, White CE, Felt SA: A comparison of non-contact, subcutaneous, and rectal temperatures in captive owl monkeys (*Aotus* sp.). *J Med Primatol* 2006; 35:346-351.
29. Sikoski P, Banks ML, Gould R, Young RW, Wallace JM, Nader MA: Comparison of rectal and infrared thermometry for obtaining body temperature in cynomolgus macaques (*Macaca fascicularis*). *J Med Primatol* 2007; 36:381-384.
30. Sukstanskii AL, Yablonskiy DA: Theoretical model of temperature regulation in the brain during changes in functional activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103:12144-12149.
31. Taylor NAS, Tipton MJ, Kenny GP: Considerations for the measurement of core, skin and mean body temperatures. *J Therm Biol* 2014; 46:72-101.
32. Tomaz C, Verburg MS, Boere V, Pianta TF, Belo M: Evidence of hemispheric specialization in marmosets (*Callithrix penicillata*) using tympanic membrane thermometry. *Braz J Med Biol Res* 2003; 36:913-918.
33. Ward JM, Vallender EJ: The resurgence and genetic implications of New World primates in biomedical research. *Trends Genet* 2012; 28:586-591.

34. Woods SE, Marini RP, Patterson MM: Noninvasive temporal artery thermometry as an alternative to rectal thermometry in research macaques (*Macaca* spp.). *J Am Assoc Lab Anim Sci* 2013; 52:295-300.

35. Yarbrough LW, Tollett JL, Montrey RD, Beattie RJ: Serum biochemical, hematological and body measurement data for common marmosets (*Callithrix jacchus jacchus*). *Lab Anim Sci* 1984; 34:276-280.

ANEXO II: Declaração CEUA/IB/UnB


Universidade de Brasília Instituto de Ciências Biológicas Comitê de Ética no Uso Animal
Brasília, 11 de abril de 2014.
<i>DECLARAÇÃO</i>
Declaramos que o projeto intitulado " COMPARAÇÃO ENTRE TÉCNICAS DE AFERIÇÃO DA TEMPERATURA CORPÓREA EM MICOS-ESTRELA CATIVOS (CALLITHRIX PENICILLATA) E SUA RELAÇÃO COM ASPECTOS AMBIENTAIS, COMPORTAMENTAIS E CLÍNICOS ", UnBDOC n.º 14054/2014, sob responsabilidade da Professora Marília Barros foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília.
 Prof. Dr. Fernando Pacheco Rodrigues Coordenador da CEUA
*Este documento se restringe à avaliação ética do projeto supracitado e não substitui outras licenças e permissões que porventura se façam necessárias.

ANEXO III: Fluxograma metodológico

Técnicas de aferição da temperatura corporal: Procedimento experimental

