

**Universidade de São Paulo  
Instituto de Matemática e Estatística**

**Centro de Estatística Aplicada**

**Relatório de Análise Estatística**

RAE-CEA-22P02

**RELATÓRIO DE ANÁLISE ESTATÍSTICA SOBRE O PROJETO:**

**“QUADRUPLE AIM: METODOLOGIA DE GESTÃO PARA INSTALAÇÕES ANIMAIS”**

**Gabriel Monteiro Gutierrez**

**Júlia Maria Pavan Soler**

**São Paulo, julho de 2022**

## **CENTRO DE ESTATÍSTICA APLICADA - CEA – USP**

**Título:** Relatório de análise estatística sobre o projeto: “Quadruple Aim: Metodologia de Gestão para Instalações Animais”

**Pesquisadora:** Luciana Cintra

**Orientadora:** Profa. Dra. Claudia Madalena Cabrera Mori

**Instituição:** Hospital Israelita Albert Einstein & Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ)

**Finalidade do projeto:** Doutorado

**Responsáveis pela análise:** Gabriel Monteiro Gutierrez

Júlia Maria Pavan Soler

**Referência deste trabalho:** GUTIERREZ, G.M.; SOLER, J.M.P. **Relatório de análise estatística sobre o projeto: “Quadruple Aim: Metodologia de Gestão para Instalações Animais”**. São Paulo, IME-USP, 2022. (RAE-CEA-22P02)

## Ficha Técnica

### Referências Bibliográficas:

AGRESTI, A. (2010) **Analysis of ordinal categorical data**. 2 ed. Hoboken: John Wiley & Sons

AGRESTI, A. (2019) **An introduction to categorical data analysis**. 3 ed. Hoboken: John Wiley & Sons

DEACON, M.J.R. (2006). Assessing nest building in mice. **Nature protocols**, 1, 3, 1117.

GASKILL, B.N; GORDON, C.J.; PAJOR, E.A., LUCAS, J.R. DAVIS, J.K., GARNER, J.P. (2012). Heat or Insulation: Behavioral Titration of Mouse Preference for Warmth or Access to a Nest. **Plos One**, 7, 3

GREENACRE, M. (2007). **Correspondence Analysis in Practice**. 2. ed. Chapman and Hall/CRC. 274p

KRAEUTER, A.K.; GUEST, P.C.; SARNYAI, Z. (2019). The Nest Building Test in Mice for Assessment of General Well-Being. **Springer science**, 87-91.

TEIXEIRA, J.T.X; MEGID, M.M; COUCOLIS, T.V; SOLER, J.M.P. (2021). **Relatório de análise estatística sobre o projeto: “Metodologia de Gestão para a Instalação de Animais”**. São Paulo, IME-USP. (RAE–CEA-21P24)

.

### Programas computacionais utilizados

Microsoft Word for Windows (versão 2019)

Microsoft Excel for Windows (versão 2019)

R for Windows versão 4.1.0

RStudio for Windows versão 1.4.1717

Python for Windows versão 3.9.5

Anaconda Spyder for Windows versão 5.1.5

### Técnicas estatísticas utilizadas:

Análise Descritiva Unidimensional (03:010)

Análise Descritiva Multidimensional (03:020)

Análise de Dados Categorizados (06:030)

Outros (06:990)

Regressão Logística (07:090)

Outros (07:990)

### **Área de Aplicação**

Outros (14:990)

## Resumo

Camundongos, criados em biotérios especiais, são muito utilizados em estudos laboratoriais. Garantir a qualidade de vida dos animais é fundamental já que a utilização de camundongos pouco saudáveis pode afetar o resultado dos experimentos. Um dos indicadores da qualidade de vida dos animais é o escore de ninho (Deacon, 2006), que é uma classificação do ninho feito pelos camundongos. Este estudo coletou dados no Biotério do Hospital Israelita Albert Einstein no período de dezembro de 2019 a março de 2022 e visa avaliar fatores que influenciem no escore do ninho. Para isto foram feitas estatísticas descritivas e utilizado um modelo de regressão multinomial logístico cumulativo com chances proporcionais e efeito misto (Agresti, 2019), devido a existência de medidas repetidas na mesma unidade experimental. Concluiu-se que diversos fatores, como a linhagem, o sexo, ter filhotes na gaiola ou já ter tido filhotes anteriormente, a posição do ninho na gaiola, a posição da gaiola nos racks assim como os enriquecimentos ambientais na gaiola, assim como seu uso, influenciam no escore.

## Sumário

<b>1. Introdução e objetivos .....</b>	<b>8</b>
<b>2. Descrição do estudo .....</b>	<b>9</b>
<b>3. Descrição das variáveis .....</b>	<b>9</b>
<b>4. Análise descritiva .....</b>	<b>11</b>
<b>5. Análise inferencial .....</b>	<b>17</b>
<b>5.1 Modelo de regressão multinomial cumulativo com chances proporcionais e efeito misto .....</b>	<b>17</b>
<b>5.2 resultados e discussão .....</b>	<b>19</b>
<b>5.3 Ajuste do modelo.....</b>	<b>23</b>
<b>6. Conclusões.....</b>	<b>24</b>
<b>APÊNDICE A .....</b>	<b>25</b>
<b>APÊNDICE B .....</b>	<b>43</b>
<b>ANEXO A.....</b>	<b>55</b>

## 1.Introdução e objetivos

Existe grande demanda por camundongos para uso em experimentos laboratoriais. Para isto é importante que padrões de qualidade sejam garantidos na criação de animais em biotérios, os quais serão usados em experimentos. A falta de qualidade no manejo de animais em biotérios pode influenciar nos resultados dos estudos e levar à recusa da publicação de artigos em revistas acadêmicas. Por estas razões, dentre outras, é importante a definição de indicadores que ajudem a mensurar a qualidade de vida dos animais nos biotérios.

Camundongos têm o hábito de construir ninho, sendo o escore do ninho uma medida de avaliação da qualidade do ninho (Deacon, 2006) que pode ser facilmente obtida de maneira visual através da gaiola. Além disso, esse escore pode ser utilizado como uma medida da qualidade de vida do animal (Kraeutner et al., 2019), o qual pode sofrer influência de vários fatores externos (Gaskill et al., 2012).

Este projeto faz parte de um estudo mais extenso que também teve dados analisados pelo CEA-IME no segundo semestre de 2021 (Teixeira et al., 2021), sendo a principal diferença que neste estudo serão analisados dados do biotério do Hospital Israelita Albert Einstein enquanto no anterior foram analisados dados do biotério do ICB-USP.

As principais diferenças entre esses biotérios são que no Einstein, os animais são mantidos em uma única sala onde há 3 racks, um para cada tipo de gaiola. A Imagem A.1 mostra a sala onde são mantidos os animais. No ICB-USP existe mais de uma sala onde os animais são mantidos e é utilizado apenas um tipo de gaiola. Além destas diferenças, o biotério do Einstein é de experimentação enquanto o do ICB-USP é de criação e, devido a isto, há uma tendência dos animais permanecerem por mais tempo no do Einstein.

O principal objetivo deste estudo é analisar fatores que influenciam no escore de ninho.



## 2. Descrição do estudo

O estudo foi realizado com dados coletados no biotério do Hospital Israelita Albert Einstein entre dezembro de 2019 e março de 2022 de maneira semanal, sendo que, devido ao período de pandemia, houve um mês sem coleta de dados, bem como outros meses com menor densidade de dados.

Além do escore de ninho, que é tomado de maneira subjetiva pelo avaliador, foram coletados dados de diversas outras variáveis como linhagem, quantidade de animais, localização do ninho, entre outras.

## 3. Descrição das variáveis

- Escore do ninho: Índice da qualidade do ninho, tem valores inteiros variando de 1 a 5, sendo 1 um ninho pior e 5 um ninho melhor. A Imagem A.2 detalha como são os diferentes escores.
- Gaiola: Identificador da gaiola.
- Tipo de gaiola: No estudo foram acompanhados camundongos em 3 tipos de gaiolas, *Alesco*, *Labproducts* e *Tecniplast*. A imagem A.3 mostra os três tipos.
- Quantidade de animais na gaiola: Foram selecionadas gaiolas com número variando entre 2 e 5 animais.
- Sexo: macho, fêmea ou casal (um macho e uma fêmea), casal foi dividido entre os casos em que nunca teve filhotes, o caso em que já teve filhotes, mas eles não estão mais na gaiola e o caso em que ainda há filhotes na gaiola. Não foram consideradas gaiolas com mais de dois animais de sexos diferentes.
- Linhagem: Tipo de camundongo na gaiola. Dentre todas as linhagens no estudo, foram selecionadas 9 e duas delas foram agrupadas em uma única por possuírem características semelhantes, totalizando 8 linhagens. As linhagens selecionadas foram Balb/c nude, BTBR obese, C57BL/6J, Casp8 (junção das linhagens Casp8/DA e Casp8R3), CKIT, CONFETTI, MTMG e NBSGW.
- Posição do ninho (frente/atrás): frente (F), meio (M) ou atrás (A)
- Posição do ninho (direita/esquerda): direita, meio ou esquerda
- Quadrante: posição da gaiola no rack, classificada em 4 quadrantes, Q1, Q2, Q3 e Q4

- Data da coleta: data em que a observação foi feita.
- Idade dos machos (em dias)
- Idade dos machos classificada pelo estado fisiológico do animal:
  - Entre 21 dias e 74 dias: Jovem
  - Entre 75 dias e 1 ano: Adulto
  - Acima de 1 ano: Idoso
- Idade das fêmeas (em dias)
- Idade das fêmeas classificada pelo estado fisiológico do animal (mesma classificação que a usada para os machos)
- Idade: Para serem feitas as análises inferenciais, as duas variáveis de idade foram agrupadas em uma única variável. Para gaiolas com machos e fêmeas, foi utilizada a idade das fêmeas e para gaiolas com animais com um único sexo, foi utilizada a média da idade dos animais. Foram desconsideradas gaiolas com animais com mais de 20 dias de diferença de idade
- Idade classificada pelo estado fisiológico do animal: Idade conjunta classificada pelo estado fisiológico do animal (mesma classificação que a usada para os machos e para as fêmeas)
- Tempo de acompanhamento: Tempo que uma gaiola permaneceu no estudo.

A variável enriquecimento ambiental (EA) se refere a materiais de diversos tipos que são colocados na gaiola. Estes materiais podem ser usados pelos animais como refúgio, para fazer ninho ou para excreção. No estudo foram utilizados 12 tipos diferentes de enriquecimento ambiental, os quais foram transformados em 25 variáveis, uma indicando se há algum EA na gaiola e, para cada EA, uma variável indicando se ele estava na gaiola na observação e outra indicando seu uso. Estas variáveis são:

- Enriquecimento ambiental: Variável indicando se há algum EA na gaiola
- Rolinho
- Uso do Rolinho
- Saquinho
- Uso do saquinho
- Iglu

- Uso do iglu
- Plataforma
- Uso da plataforma
- Roe-Roe
- Uso do roe-ro
- Máscara
- Uso da máscara
- Cubo
- Uso do cubo
- Algodão
- Uso do algodão
- Labirinto
- Uso do labirinto
- Tronco
- Uso do tronco
- Papel
- Uso do papel
- Rolinho de madeira
- Uso do rolinho de madeira

#### **4. Análise descritiva**

Originalmente, o estudo possui uma base de dados maior, mas, para finalidade do presente projeto, foram retiradas observações que tinham características que não eram de interesse para a pesquisa, como gaiolas com apenas um animal, com animais de linhagens diferentes na mesma gaiola, com mais de dois animais de sexos diferentes, com algumas linhagens que não tinham muitas observações, entre outras características. Também foram retiradas observações com dados faltantes.

Considerando as observações selecionadas, a base de dados conta com 898 gaiolas acompanhadas no período de dezembro de 2019 a março de 2022, totalizando 9782 observações tomadas ao longo de 120 semanas. A Figura B.1 indica a distribuição dos tempos de acompanhamento entre as gaiolas considerando o tipo de gaiola. É

possível observar que a maioria das gaiolas tem menos de 40 semanas de observação. As gaiolas da Tecniplast foram observadas por mais tempo. Podemos notar também uma quantidade grande de gaiolas que foram observadas apenas uma vez.

A Figura B.2 mostra o número de observações por mês do estudo. É possível notar que não existem observações no mês de abril de 2020 e poucas observações no mês subsequente, provavelmente devido ao início da pandemia nesta época, e que existem poucas observações no período do final de 2020 e início de 2021, provavelmente devido a férias de funcionários.

Em estudos em que existem medidas repetidas na mesma unidade experimental podem ser feitas análises descritivas utilizando medidas resumo para cada unidade. Neste estudo, como existe diferença muito grande no tempo de observação das gaiolas, análises deste tipo podem ficar imprecisas, então utilizaremos os dados totais nas análises descritivas.

A variável escore do ninho é a variável resposta do estudo. As Tabelas A.1 e A.2 apresentam, respectivamente, a distribuição e as estatísticas descritivas do escore do ninho. É possível notar que o Escore que mais ocorre é o 3, aparecendo em 45,9% das observações, enquanto o que menos ocorre é o 1 que aparece em apenas 2,3%. O escore médio para o total de observações é igual a 3,18 (Tabela A.2). A Figura B.3 mostra a informação contida na Tabela A.1 na forma de um gráfico de barras.

O tipo de gaiola é uma das variáveis de interesse no estudo. A Figura B.4 mostra o número de observações por tipo de gaiola. Cada tipo ficava em um rack diferente na sala e eram cuidadas por responsáveis diferentes. A Figura B.5 mostra a evolução do escore médio ao longo do tempo de estudo de acordo com o tipo de gaiola. É possível ver uma tendência dos escores diminuírem do começo do estudo até o começo de 2021, sendo que, após este período, há uma tendência de aumento nos valores. As gaiolas da Alesco parecem sofrer menos este efeito e permanecem com escores mais constantes ao longo do estudo.

Para avaliar o efeito do tipo de gaiola no escore do ninho, foi construída a tabela de contingência dos escores por tipo de gaiola (Tabela A.3). É possível notar que há maior proporção de escores 4 e 5 para as gaiolas da Alesco em relação aos outros dois tipos. A Figura B.6 mostra o diagrama assimétrico da análise de correspondência

(Greenacre, 2007) dos dados da Tabela A.3. Aparentemente, as gaiolas da Alesco têm tendência de gerar ninhos com escores mais altos enquanto as gaiolas dos outros tipos geram ninhos com escores mais baixos. Não parece haver diferença entre os escores da Labproducts e Tecniplast.

A Figura B.7 detalha a distribuição das observações de acordo com a quantidade de animais na gaiola e a Tabela A.4 corresponde à tabela de contingência entre escore do ninho e quantidade de animais na gaiola. Não há indicação clara de que a distribuição do escore do ninho dependa da quantidade de animais, porém, gaiolas com 2 animais possuem uma proporção um pouco maior de observações com escores 4 e 5 enquanto gaiolas com 3 ou 5 animais possuem uma um pouco menor. A Figura B.8 mostra o diagrama assimétrico da análise de correspondência dos dados da Tabela A.4. Por essa figura, nota-se que os 4 pontos correspondentes às quantidades de animais na gaiola aparecem próximos indicando que a variável deve ter pouco efeito sobre o escore do ninho.

Além do interesse em avaliar se havia efeito de sexo sobre o escore do ninho, também havia interesse em avaliar se a presença de filhotes na gaiola ou o fato das fêmeas terem tido outras ninhadas têm influência sobre o escore. Como só ocorrem ninhadas em gaiolas com casal, as duas informações foram transformadas em uma única variável com os seguintes níveis: casal sem ninhadas prévias (casal), casal com filhotes na gaiola (casal F), casal com ninhadas prévias, mas sem filhotes na gaiola (casal N), machos e fêmeas. A Figura B.9 mostra a distribuição das observações conforme o sexo e a Tabela A.5 corresponde a tabela de contingência entre sexo e escore. Podemos notar uma proporção maior de escores 4 e 5 para gaiolas com casal que nunca tiveram ninhadas, enquanto parece haver pouca diferença entre a distribuição dos escores para os outros níveis da variável. A Figura B.10 corresponde ao diagrama assimétrico da análise de correspondência da Tabela A.5, não é possível notar nenhuma tendência clara nele, possivelmente uma leve tendência de gaiolas com casal que nunca tiveram filhos produzirem ninhos melhores.

Para as análises, foram selecionadas dentre as linhagens presentes no estudo 9 linhagens sendo que duas foram agrupadas em uma única por terem características

semelhantes totalizando 8 linhagens. Os critérios para isso foram o número de observações por linhagem e o interesse para o estudo.

As linhagens podem possuir características muito diferentes entre si, algumas são modificadas geneticamente, podendo ser peladas, obesas, imunossuprimidas, entre outras características. A Figura B.11 mostra a distribuição das 8 linhagens, por tipo de gaiola. É possível notar que camundongos de uma linhagem normalmente foram colocados em apenas um tipo de gaiola, o que pode gerar um confundimento entre estas duas variáveis.

A Tabela A.6 corresponde à tabela de contingência entre escore de ninho e linhagem. Observa-se que a linhagem BALB/c nude possui as maiores proporções de escores 4 e 5 assim como as menores de escores 1 e 2 indicando que esta linhagem pode ter uma tendência de produzir ninhinhos com escores mais altos. As linhagens CKIT e CONFETTI possuem as maiores proporções de escores 1 e 2 indicando que podem ter tendência de gerar ninhinhos com escore mais baixos.

A Figura B.12 mostra o diagrama assimétrico da análise de correspondência dos dados da Tabela A.6. Por essa figura, observa-se que a linhagem BALB/c nude parece gerar ninhinhos com escores mais altos enquanto as linhagens CKIT e CONFETTI parecem gerar ninhinhos com escores mais baixos. As outras linhagens parecem produzir ninhinhos com escores semelhantes. Estas são evidências descritivas de que a linhagem deve ter influência sobre o escore.

Neste estudo, possuímos uma variável que representa a posição da gaiola no rack (quadrante) e duas variáveis que representam a posição do ninho na gaiola (uma indicando a posição em relação à frente ou fundo da gaiola e outra indicando a posição em relação à direita ou esquerda). A Figura B.13 apresenta a distribuição dos quadrantes entre as observações. Há interesse em avaliar se a posição da gaiola e do ninho influenciam no escore e se há interação entre estas variáveis, por exemplo, pode ser que os animais façam ninhinhos melhores no fundo da gaiola quando ela está no topo do rack e na frente quando ela está na base do rack. Algumas destas interações serão avaliadas na análise inferencial, que indicará com mais clareza o padrão destes efeitos, mas é possível fazer uma primeira análise por meio das estatísticas descritivas.

A Tabela A.7 mostra a relação entre as duas variáveis de posição e o escore. É difícil avaliar a existência de interação entre as duas variáveis a partir da tabela de contingência, mas queremos avaliar se o escore se distribui de maneira semelhante entre direita, meio e esquerda independentemente da posição em que ele estiver com relação a outra variável de posição do ninho. Quando o nível da variável posição (frente/atrás) é meio, parece haver algumas diferenças na distribuição dos escores, o que pode indicar interação entre as variáveis. Também é possível notar que há uma proporção mais alta de escores 4 e 5 para ninhos feitos na frente da gaiola, o que pode indicar um efeito principal da variável posição (frente/atrás) sobre o escore.

Para avaliar, descritivamente, se há interação entre a posição da gaiola (quadrantes) e as variáveis de posição do ninho, foram feitas as Tabelas A.8 e A.9. A Tabela A.8 é de tripla entrada, relacionando quadrante com posição (frente/atrás) e escore do ninho. Queremos ver se existe diferença na distribuição dos escores entre frente, meio e atrás dependendo do quadrante em que a gaiola está. É possível notar que no primeiro e terceiro quadrantes, há uma proporção maior de escores 4 e 5 para os ninhos feitos na frente e isto não ocorre no segundo e quarto quadrante, indicando que pode haver interação.

A Tabela A.9 é de tripla entrada entre posição da gaiola (quadrante), posição do ninho (direita/esquerda) e escore do ninho. Vamos analisa-la da mesma maneira que fizemos para as Tabelas A.7 e A.8. Aparentemente, existem diferenças na distribuição dos escores entre direita, meio e esquerda no terceiro e quarto quadrantes em relação ao primeiro e segundo. Novamente, a análise inferencial irá avaliar com mais clareza a existência de interação.

Para avaliar se há algum efeito principal de quadrante, foram feitas a tabela de contingência entre escore e quadrante (Tabela A.10) e o diagrama assimétrico da análise de correspondência dessa tabela (Figura B.14). As análises indicam que o escore tem uma distribuição semelhante no 1º e 3º quadrantes, com uma tendência de ocorrerem escores mais altos e uma distribuição semelhante no 2º e 4º quadrantes, com tendência de ocorrerem escores mais baixos. Um detalhe importante é que a variável linhagem também está aninhada na variável quadrante, sugerindo um grau de confundimento entre

os fatores quadrante e linhagem, mas é em menor escala do que ocorre com a variável tipo de gaiola.

Para avaliar se existem efeitos principais das duas variáveis de posição do ninho, as Tabelas A.11 e A.12 são, respectivamente, as tabelas de contingência entre a posição (frente/atrás) e escore e a tabela entre posição (direita/esquerda) e escore. As Figuras B.15 e B.16 são os respectivos diagramas assimétricos da análise de correspondência. Pela Tabela A.11 e Figura B.15, vemos indícios de que ninhinhos na frente da gaiola tendem a ter escore mais alto do que ninhinhos feitos atrás ou no meio, que parecem ter escores semelhantes. Em relação à direita ou esquerda, vemos na Tabela A.12 e Figura B.16 indícios de que ninhinhos feitos no meio da gaiola tendem a ser piores do que os ninhinhos feitos na direita ou esquerda, que parecem ter escores semelhantes.

O enriquecimento ambiental (EA) se refere a materiais de diversos tipos colocados nas gaiolas. A Tabela A.13 detalha o número de vezes que cada EA foi utilizado e como ele foi utilizado pelos animais. Nota-se que alguns EAs foram utilizados em poucas observações enquanto outros em mais da metade delas. Os camundongos utilizam os EAs principalmente para construção do ninho, refúgio e excreção. A maioria das variedades é utilizada majoritariamente de uma única maneira, a principal exceção é o rolinho. A tabela também apresenta a média dos escores das observações em que cada EA recebeu cada uso, esta medida deve ser avaliada com cuidado pois podiam haver vários EAs na gaiola ao mesmo tempo recebendo usos diferentes, mas, aparentemente, há uma tendência de que quando o material é utilizado para fazer ninho, os escores fiquem mais altos.

Para avaliar se o uso do enriquecimento ambiental pode influenciar no escore do ninho, foi feita a tabela de contingência entre escore e uso do rolinho (Tabela A.14) e construído o diagrama assimétrico da análise de correspondência (Figura B.17). É possível notar que houve maior proporção de escores 4 e 5 nos casos em que o rolinho foi utilizado para fazer ninho, indicando que o uso do rolinho pode influenciar no escore do ninho. Os outros enriquecimentos possuem usos menos variados então, em concordância com a pesquisadora, decidimos por não avaliar o uso para eles.

Para avaliar se há relação entre a idade dos animais na gaiola e o escore do ninho, foram feitos *box plots* da idade pelo escore (Figura B.18). Nestes gráficos não é possível



ver uma tendência clara entre a idade e o escore do ninho, sendo que, aparentemente, animais mais jovens têm uma leve tendência de produzir ninhos com escores menores. Para avaliar melhor o efeito de idade, foram feitas a tabela de contingência entre a idade classificada pelo estado fisiológico do animal (Tabela A.15) e seu diagrama assimétrico da análise de correspondência (Figura B.19). Os resultados não apresentam uma relação aparente entre as variáveis, mas indicam uma leve tendência de gaiolas com animais jovens produzirem ninhos com escore mais baixo.

## **5. Análise inferencial**

### **5.1 Modelo de regressão multinomial logístico cumulativo com chances proporcionais e efeito misto**

Duas características dos dados devem ser levadas em conta na escolha do modelo inferencial. A primeira é que o escore do ninho é uma variável qualitativa ordinal com cinco níveis e a segunda é que temos medidas repetidas nas mesmas unidades experimentais (gaiola avaliada longitudinalmente) e, normalmente, considera-se que medidas tomadas na mesma unidade experimental são correlacionadas positivamente.

Levando em consideração estas características, optou-se por utilizar um modelo de regressão multinomial logístico cumulativo com chances proporcionais e efeito misto (Agresti, 2019).

Esse modelo foi escolhido pois é um modelo para ser utilizado em variáveis qualitativas com mais de duas categorias. A suposição de chances proporcionais pode ser utilizada quando a variável é ordinal e facilita a interpretação dos resultados e o efeito aleatório permite considerar a existência de correlação entre medidas tomadas na mesma unidade.

O modelo ajustado foi o modelo de intercepto aleatório, especificamente, com efeito aleatório de gaiola. A suposição de chances proporcionais permite que os mesmos coeficientes sejam utilizados para todos os níveis da variável resposta, sendo que o único coeficiente que varia entre os níveis da variável resposta é o intercepto. Desta maneira, o modelo fica dado pela seguinte equação (Agresti, 2019).

$$\log \left( \frac{P(Y_{it} \leq k | u_i, X_{it})}{1 - P(Y_{it} \leq k | u_i, X_{it})} \right) = \alpha_k - \left( u_i + \sum_{j=1}^p x_{itj} \beta_j \right)$$

em que os valores de  $u_i$ , considerados aleatórios e gerados por uma distribuição  $Normal(0, \sigma_u^2)$ , são não observados, mas podem ser preditos durante o processo de ajuste do modelo.

Também é possível estimar o índice de correlação intraclasse, que é dado por

$$ICC = \frac{\sigma_u^2}{\sigma_u^2 + \sigma^2},$$

o qual corresponde à proporção da variância total devido ao efeito aleatório. O valor de  $\sigma^2$  não é observado sendo considerado como  $\left(\frac{\pi^2}{3}\right)$ , que é a variância de uma distribuição logística padrão (Agresti, 2010).

A interpretação dos coeficientes ( $\beta_j$ ) do modelo é feita por meio da razão de chances condicional ao valor do efeito aleatório, isto é, como se estivéssemos comparando observações em unidades amostrais diferentes com o mesmo efeito aleatório ou observações diferentes na mesma unidade amostral, e estivéssemos mantendo todas as outras variáveis fixas, mudando o valor de apenas uma delas. Vamos exemplificar para o efeito de uma única variável categórica  $X$  com duas categorias (1 ou 0), onde  $\beta$  é a estimativa do coeficiente para esta variável.

$$\frac{\frac{P(Y_{it} \leq k | u_i, X_{it} = 1)}{1 - P(Y_{it} \leq k | u_i, X_{it} = 1)}}{\frac{P(Y_{it} \leq k | u_i, X_{it} = 0)}{1 - P(Y_{it} \leq k | u_i, X_{it} = 0)}} = \frac{e^{\alpha_k - u_i - \beta}}{e^{\alpha_k - u_i}} = e^{-\beta}$$

Assim, podemos notar as seguintes relações:

$$\frac{P(Y_{it} \leq k | u_i, X_{it} = 1)}{1 - P(Y_{it} \leq k | u_i, X_{it} = 1)} > \frac{P(Y_{it} \leq k | u_i, X_{it} = 0)}{1 - P(Y_{it} \leq k | u_i, X_{it} = 0)}, \text{ se } \beta < 0$$

$$\frac{P(Y_{it} \leq k | u_i, X_{it} = 1)}{1 - P(Y_{it} \leq k | u_i, X_{it} = 1)} < \frac{P(Y_{it} \leq k | u_i, X_{it} = 0)}{1 - P(Y_{it} \leq k | u_i, X_{it} = 0)}, \text{ se } \beta > 0$$

A partir destes resultados,  $\beta$  negativo indica que, quando  $X = 1$ , há tendência de serem gerados valores menores da variável  $Y$  em relação à quando  $X = 0$ , ou seja, indica tendência de serem gerados valores mais baixos do escore do ninho. Quando  $\beta$  é positivo, a relação se inverte, quando  $X = 1$ , há tendência de serem gerados valores maiores da variável  $Y$  em relação à quando  $X = 0$ , ou seja, indica tendência de serem

gerados valores mais altos do escore de ninho. O valor do coeficiente estimado indica a intensidade do efeito.

## 5.2 Resultados e discussão

A seleção das variáveis do modelo foi feita ajustando o modelo com todas as variáveis de interesse no estudo e realizando um procedimento *backward* para retirar as variáveis não significantes a um nível de significância de 5%. As variáveis colocadas inicialmente no modelo foram: quantidade de animais na gaiola, sexo (considerando as informações de ninhada), linhagem, quadrante, as duas variáveis de posição, a interação entre posição (direita/esquerda) e quadrante, interação entre posição (frente/atrás) e quadrante, idade classificada pelo estado fisiológico do animal, uso do rolinho, saquinho, iglu, plataforma, roe-roe, cubo, algodão, papel e rolinho de madeira.

Por meio deste processo foram selecionadas as variáveis linhagem, sexo (considerando as informações de filhote e ninhada), quadrante, posição (frente/atrás), posição (direita/esquerda), a interação entre quadrante e posição (frente/atrás), plataforma, algodão, papel, rolinho de madeira (se estão ou não na gaiola na observação) e uso do rolinho.

A variável tipo de gaiola não foi utilizada no modelo, pois não há observações de todas as linhagens nos três tipos. Isto causou instabilidade no modelo, não sendo possível utilizar as variáveis linhagem e tipo de gaiola no mesmo modelo. Optamos, então, por utilizar apenas linhagem no modelo.

Para poder avaliar o uso do rolinho, já que apenas há informação para uso nas gaiolas em que foi posto o rolinho, consideramos que nas gaiolas sem rolinho, a categoria da variável é “sem rolinho”. A categoria “não informado” foi mantida no modelo para que não houvesse mais perda de informações e porque, apesar de não haver dados sobre o uso, o rolinho estava na gaiola naquela observação, podendo ter influência sobre o escore do ninho feito pelos camundongos.

Os resultados da análise são apresentados na Tabela A.16. Como discutido na seção anterior, estimativas positivas para os coeficientes indicam tendência de gerar

ninhos com escore mais alto e estimativas negativas indicam tendência de gerar ninhinhos com escore mais baixo.

A variância do efeito aleatório de gaiola ( $\sigma_u^2$  na nomenclatura utilizada na seção anterior) foi estimada como 1,2, o que gera uma estimativa de 0,27 para a correlação intraclasse. Isto não é uma correlação alta, mas foi feito o teste da razão de verossimilhanças para testar a significância do efeito aleatório, que indicou que ele é altamente significativo para o modelo.

Para a variável sexo, a categoria de referência foi casal que nunca teve ninhadas. Todas as estimativas para esta variável foram negativas, indicando que os casais que nunca tiveram ninhadas tendem a gerar ninhinhos com escores mais altos do que as outras categorias, fixadas as demais variáveis do modelo. A Tabela A.17 indica os resultados obtidos mudando a categoria de referência da variável sexo no modelo. Entre as outras categorias, temos alguns efeitos não significantes a um nível de 5%, ou seja, fêmeas, machos e casais com filhotes têm tendência de produzir ninhinhos com escores semelhantes. Já, casais que já tiveram filhotes, mas sem filhotes na gaiola têm tendência de produzir ninhinhos com escores mais baixos quando comparados às fêmeas e aos casais com filhotes.

Para linhagem, foi utilizada como categoria de referência a linhagem Balb/c nude (Tabela A.16). Novamente temos um caso em que todas as estimativas são negativas e significantes, indicando que a linhagem Balb/c nude deve gerar ninhinhos com escores mais altos em relação à todas as outras linhagens presentes no estudo. A Tabela A.18 apresenta os resultados do modelo utilizando as outras categorias como referência. A partir destes resultados, poderíamos agrupar os efeitos das linhagens estimados pelo modelo da seguinte maneira, a linhagem Balb/c nude tem tendência de gerar os ninhinhos com escores mais altos, as linhagens Casp8, MTMG e BTBR obese geram ninhinhos com escores semelhantes, menores do que os da Balb/c nude, mas maiores do que os das demais linhagens. e as linhagens C57BL/6J, CKIT, CONFETTI e NBSGW têm tendência de gerar ninhinhos com os menores escores.

Quanto à idade classificada pelo estado fisiológico do animal, foi usada como categoria de referência a idade adulta (Tabela A.16). Os resultados indicam que animais adultos têm tendência de fazer ninhinhos com escore mais alto do que animais jovens ou

idosos, e que animais jovens tem tendência a fazer ninhos com escore mais alto do que animais idosos (Tabela A.19).

Quanto aos enriquecimentos ambientais, foi usada a categoria Não como referência (Tabela A.16). Vemos que a plataforma, o algodão e o papel possuem estimativas positivas, indicando que a presença deles na gaiola aumenta a chance de serem feitos ninhos com escore alto. O rolinho de madeira possui estimativa negativa indicando que influencia negativamente o escore.

Para avaliar o efeito do uso do rolinho, foi utilizada a variável como descrita anteriormente. A categoria de referência foi “sem rolinho na gaiola”. Neste caso, todas as estimativas foram positivas e significantes, indicando que, independentemente do uso, a presença do rolinho na gaiola afeta positivamente o escore. A Tabela A.20 apresenta os resultados do modelo, para as outras categorias como referência. Podemos notar que não há diferença significativa entre o efeito de excreção e refúgio e, ambos os usos tendem a gerar ninhos com escores mais baixos do que quando o uso é para fazer ninho.

As variáveis de posição devem ser avaliadas com mais cuidado, começaremos com a variável posição (direita/esquerda) que não tem interação com posição (frente/atrás) nem com quadrante. A categoria de referência foi a direita (Tabela A.16). Novamente um caso em que todas as estimativas são negativas, indicando que ninhos feitos na direita têm tendência de possuírem escores mais altos do que nas outras duas posições e que ninhos feitos à esquerda possuem escores mais altos do que no meio (Tabela A.21).

A variável posição (frente/atrás) apresentou efeito significativo de interação com quadrante, assim os efeitos principais destas variáveis não devem ser avaliados separadamente, independentemente de serem significantes ou não.

Os efeitos de interação podem ser interpretados em dois sentidos, podemos avaliar o efeito da variável de posição para um quadrante fixado e também podemos avaliar o efeito do quadrante para uma posição fixada.

Utilizando como exemplo o modelo da Tabela A.16, em que o primeiro quadrante e atrás são usados como referência, podemos obter a razão de chances entre uma observação no segundo quadrante com ninho atrás e outra no segundo quadrante com ninho na frente. Como anteriormente, o efeito aleatório e as outras covariáveis são

mantidas fixas, estamos considerando  $\beta_{Q2}$  como a estimativa do coeficiente do segundo quadrante,  $\beta_F$  a estimativa do coeficiente de frente e  $\beta_{Q2XF}$  como a estimativa do coeficiente da interação do segundo quadrante com frente.

$$\frac{\frac{P(Y_{it} \leq k|u_i, frente, Q2)}{1 - P(Y_{it} \leq k|u_i, frente, Q2)}}{\frac{P(Y_{it} \leq k|u_i, Atrás, Q2)}{1 - P(Y_{it} \leq k|u_i, Atrás, Q2)}} = \frac{e^{\alpha_k - u_i - \beta_{Q2} - \beta_F - \beta_{Q2XF}}}{e^{\alpha_k - u_i - \beta_{Q2}}} = e^{-(\beta_F + \beta_{Q2XF})}$$

Para a razão de chances entre duas observações com ninho na frente, uma no segundo quadrante e outra no primeiro, obtemos

$$\frac{\frac{P(Y_{it} \leq k|u_i, frente, Q2)}{1 - P(Y_{it} \leq k|u_i, frente, Q2)}}{\frac{P(Y_{it} \leq k|u_i, frente, Q1)}{1 - P(Y_{it} \leq k|u_i, frente, Q1)}} = \frac{e^{\alpha_k - u_i - \beta_{Q2} - \beta_F - \beta_{Q2XF}}}{e^{\alpha_k - u_i - \beta_F}} = e^{-(\beta_F + \beta_{Q2XF})}$$

Podemos ver que quando calculamos a razão de chances, obtemos uma soma de coeficientes. No caso em que o segundo quadrante é mantido fixo, a soma é entre o coeficiente de frente e o da interação entre frente e segundo quadrante, para o caso em que frente é mantida fixa, a soma é entre o coeficiente do segundo quadrante e o da interação. Esta soma de coeficientes (vamos chamá-la de  $\beta_{int}$ ) pode ser interpretada da mesma maneira que um único coeficiente, se possuir valor negativo, indica tendência de serem gerados ninhos com escores mais baixos, se possuir valor positivo, indica tendência de serem gerados ninhos com escores mais altos. Também é possível obter o valor-p para o teste de hipótese testando se esta soma tem valor igual a zero.

A Tabela A.22 apresenta as estimativas obtidas quando quadrante é mantido fixo e a Tabela A.23 apresenta as estimativas quando posição é mantida fixa. Ambas tabelas apresentam a comparação que está sendo feita, a soma de coeficientes (obtida como apresentada anteriormente, chamada de  $\beta_{int}$ ), o valor-p do teste de hipótese testando se  $\beta_{int} = 0$  e a interpretação do coeficiente obtido.

Mantendo quadrante fixo, vemos que no primeiro, terceiro e quarto quadrantes, não há indícios de diferença no escore do ninho feito no meio e atrás. A exceção é o segundo quadrante, nele, os ninhos feitos no meio tendem, a ter escores mais baixos do que os ninhos feitos na frente ou atrás e não há evidências de diferença nos escores dos ninhos feitos na frente e atrás.

Mantendo posição fixa, é possível notar que quando o ninho é atrás, não há tendência de ocorrerem escores muito diferentes entre os quadrantes. No entanto, ninhos feitos atrás no quarto quadrante possuem escores mais altos do que os feitos no segundo e terceiro quadrante. Quando o ninho é na frente ou no meio, vemos que ninhos do segundo quadrante possuem escores mais baixos do que os dos outros três quadrantes. Além disso, os escores dos ninhos não diferem entre o primeiro, terceiro e quarto quadrantes.

Considerando estes resultados, vemos que há uma tendência de que ninhos na frente tenham escores mais altos do que ninhos atrás e no meio e não há evidências de diferenças nos escores entre ninhos feitos no meio e atrás exceto para o segundo quadrante. Aparentemente, há uma tendência dos ninhos em gaiolas no segundo quadrante possuírem escores mais baixos.

### **5.3 Ajuste do modelo**

Para avaliar os pressupostos do modelo adotado, inicialmente, consideramos a distribuição dos efeitos aleatórios por meio do gráfico QQ e histogramas (Figuras B.20 e B.21, respectivamente). No gráfico QQ existem desvios da normalidade nos valores mais extremos, mas, no geral, não parece haver problemas com a hipótese de normalidade dos efeitos aleatórios.

Para avaliar a validade da hipótese de chances proporcionais é possível ajustar o modelo com e sem chances proporcionais e testar se a diferença no ajuste é significativa pelo teste da razão de verossimilhanças, optamos por não fazer isto para manter o modelo mais simples e interpretável. Contudo, para avaliar a qualidade do ajuste foi feita a matriz de confusão entre o escore predito pelo modelo para a observação e o escore real dela. O resultado obtido é apresentado na Tabela A.24. O escore predito pelo modelo concordou com o real em 52% das observações, este valor não é alto, mas pode ser considerado um indicativo da bondade do ajuste já que a resposta tem cinco categorias e que o número de dados é grande, o que coopera para que o modelo fique menos preciso.

## 6. Conclusões

Tendo em vista as análises realizadas, foi possível concluir que diversas variáveis do banco de dados têm influência sobre o escore do ninho. Dentre os resultados mais notáveis, há a linhagem e sexo dos animais (considerando o histórico de ninhadas e se há ou não filhotes na gaiola), mas também foram encontrados efeitos significantes de posição do ninho, posição da gaiola (representada por quadrantes), sendo que há interação entre estas duas variáveis, efeito de idade dos animais e dos enriquecimentos plataforma, algodão, papel, rolinho de madeira e rolinho, sendo que este último sofre influência do uso também.

Outros resultados interessantes são que não foram encontrados efeitos significantes de quantidade de animais na gaiola assim como dos outros enriquecimentos ambientais.

Por fim, não foi possível avaliar o efeito da variável tipo de gaiola por causa do confundimento com a variável linhagem. Por conta disso, tipo de gaiola não foi usada no modelo inferencial. Recomendamos que, dentro do possível e respeitando a rotina do biotério, práticas de aleatorização das gaiolas nos racks, bem como dos observadores às gaiolas a serem avaliadas, sejam usadas para garantir maior balanceamento de fontes de variabilidade indesejáveis entre os fatores sob estudo e maior precisão nos resultados inferenciais.



# **APÊNDICE A**

## **Tabelas**

**Tabela A.1** Distribuição de frequências do Escore do ninho

1	2	3	4	5	Total
224 (2,3%)	1877 (19,2%)	4491 (45,9%)	2313 (23,6%)	877 (9%)	9782

**Tabela A.2** Estatísticas descritivas do escore do ninho

Mínimo	1º Quartil	Média	Mediana	3º Quartil	Máximo
1	3	3,18	3	4	5

**Tabela A.3** Tabela de contingência entre Escore do ninho e Tipo de gaiola.

Tipo de gaiola	Escore do ninho					Total
	1	2	3	4	5	
<b>Alesco</b>	42 (1,2%)	485 (13,4%)	1577 (43,7%)	1019 (28,2%)	485 (13,4%)	3608 (100%)
<b>Labproducts</b>	60 (2,9%)	459 (22%)	1030 (49,5%)	425 (20,4%)	108 (5,2%)	2082 (100%)
<b>Tecniplast</b>	122 (3%)	933 (22,8%)	1884 (46%)	869 (21,2%)	284 (6,9%)	4092 (100%)

**Tabela A.4** Tabela de contingência entre Escore do ninho e Quantidade de animais na gaiola.

Quantidade	Escore do ninho					Total
	1	2	3	4	5	
<b>2</b>	85 (1,9%)	803 (18,4%)	1905 (43,6%)	1118 (25,6%)	460 (10,5%)	4371 (100%)
<b>3</b>	68 (2,9%)	497 (20,9%)	1107 (46,6%)	518 (21,8%)	184 (7,8%)	2374 (100%)
<b>4</b>	32 (2,2%)	283 (19,6%)	680 (47,2%)	313 (21,7%)	134 (9,3%)	1442 (100%)
<b>5</b>	39 (2,4%)	294 (18,4%)	799 (50,1%)	364 (22,8%)	99 (6,2%)	1595 (100%)

**Tabela A.5** Tabela de contingência entre Escore do ninho e Sexo.

<b>Sexo</b>	<b>Escore do ninho</b>					<b>Total</b>
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	
<b>Casal</b>	9 (1,04%)	89 (10,28%)	364 (42,03%)	263 (30,37%)	141 (16,28%)	866 (100%)
<b>Casal F</b>	4 (0,86%)	62 (13,33%)	230 (49,46%)	124 (26,67%)	45 (9,68%)	465 (100%)
<b>Casal N</b>	5 (0,59%)	163 (19,13%)	403 (47,3%)	212 (24,88%)	69 (8,10%)	752 (100%)
<b>Fêmeas</b>	101 (2,63%)	706 (18,37%)	1773 (46,14%)	927 (24,12%)	336 (8,74%)	3843 (100%)
<b>Machos</b>	105 (2,8%)	857 (22,82%)	1721 (45,82%)	787 (20,95%)	286 (7,61%)	3756 (100%)

**Tabela A.6** Tabela de contingência entre Escore do ninho e Linhagem.

Linhagem	Escore do ninho					Total
	1	2	3	4	5	
<b>BALB/c</b>	5	55	673	433	345	1511
<b>nude</b>	(0,33%)	(3,64%)	(44,54%)	(28,66%)	(22,83%)	(100%)
<b>BTBR obese</b>	30	333	887	524	196	1970
	(1,52%)	(16,9%)	(45,03%)	(26,6%)	(9,95%)	(100%)
<b>C57BL/6J</b>	32	275	452	294	69	1122
	(2,85%)	(24,51%)	(40,29%)	(26,20%)	(6,15%)	(100%)
<b>Casp8</b>	5	168	477	304	85	1039
	(0,48%)	(16,17%)	(45,91%)	(29,26%)	(8,18%)	(100%)
<b>CKIT</b>	51	290	419	98	15	873
	(5,84%)	(33,22%)	(48,0%)	(11,23%)	(1,72%)	(100%)
<b>CONFETTI</b>	23	199	237	69	11	539
	(4,27%)	(36,92%)	(43,97%)	(12,8%)	(2,04%)	(100%)
<b>MTMG</b>	18	98	316	166	53	651
	(2,76%)	(15,05%)	(48,54%)	(25,5%)	(8,14%)	(100%)
<b>NBSGW</b>	60	459	1030	425	103	2077
	(2,89%)	(22,1%)	(49,59%)	(20,46%)	(4,96%)	(100%)

**Tabela A.7** Tabela de tripla entrada entre as duas variáveis de Posição e Escore do ninho.

Posição conjunta		Escore do ninho					Total
		1	2	3	4	5	
<b>Atrás</b>	<b>Direita</b>	31 (1,8%)	335 (19,1%)	868 (49,4%)	407 (23,2%)	117 (6,7%)	1758 (100%)
	<b>Esquerda</b>	15 (1,3%)	233 (19,9%)	613 (52,3%)	252 (21,5%)	60 (5,1%)	1173 (100%)
	<b>Meio</b>	34 (3,2%)	254 (24,1%)	508 (48,2%)	212 (20,1%)	47 (4,5%)	1055 (100%)
	<b>Direita</b>	21 (1,2%)	248 (14,4%)	724 (42%)	479 (27,8%)	253 (14,7%)	1725 (100%)
	<b>Esquerda</b>	13 (1,2%)	146 (13,8%)	452 (42,8%)	317 (30%)	127 (12%)	1055 (100%)
	<b>Meio</b>	32 (2,9%)	223 (19,9%)	480 (42,9%)	258 (23,1%)	126 (11,3%)	1119 (100%)
<b>Frente</b>	<b>Direita</b>	18 (2,4%)	147 (19,7%)	338 (45,2%)	169 (22,6%)	76 (10,2%)	748 (100%)
	<b>Esquerda</b>	13 (3%)	111 (26,0%)	194 (45,4%)	85 (19,9%)	24 (5,6%)	427 (100%)
	<b>Meio</b>	47 (6,5%)	180 (24,9%)	314 (43,5%)	134 (18,6%)	47 (6,5%)	722 (100%)

**Tabela A.8** Tabela de tripla entrada entre Quadrante, Posição (frente/atrás) e Escore do  
ninho

Quadrante	Posição	Escore do ninho					Total
		1	2	3	4	5	
1	Atrás	13	201	637	299	90	1240
		(1,0%)	(16,2%)	(51,4%)	(24,1%)	(7,3%)	(100%)
	Frente	10	175	584	440	228	1437
		(0,7%)	(12,2%)	(40,6%)	(30,6%)	(15,9%)	(100%)
	Meio	9	115	303	156	54	637
		(1,4%)	(18,1%)	(47,6%)	(24,5%)	(8,5%)	(100%)
2	Atrás	39	319	559	251	52	1220
		(3,2%)	(26,1%)	(45,8%)	(20,6%)	(4,3%)	(100%)
	Frente	39	219	358	204	59	879
		(4,4%)	(24,9%)	(40,7%)	(23,2%)	(6,7%)	(100%)
	Meio	42	154	182	61	22	461
		(9,1%)	(33,4%)	(39,5%)	(13,2%)	(4,8%)	(100%)
3	Atrás	8	103	323	151	32	617
		(1,3%)	(16,7%)	(52,4%)	(24,5%)	(5,2%)	(100%)
	Frente	4	110	387	271	172	944
		(0,4%)	(11,7%)	(41%)	(28,7%)	(18,2%)	(100%)
	Meio	5	59	201	110	46	421
		(1,2%)	(14%)	(47,7%)	(26,1%)	(10,9%)	(100%)
4	Atrás	20	199	470	170	50	909
		(2,2%)	(21,9%)	(51,7%)	(18,7%)	(5,5%)	(100%)
	Frente	13	113	327	139	47	639
		(2,0%)	(17,7%)	(51,2%)	(21,8%)	(7,4%)	(100%)
	Meio	22	110	160	61	25	378
		(5,8%)	(29,1%)	(42,3%)	(16,1%)	(6,6%)	(100%)

**Tabela A.9** Tabela de tripla entrada entre Quadrante, Posição (direita/esquerda) e  
Escore do ninho

Quadrante	Posição	Escore do ninho					Total
		1	2	3	4	5	
1	Direita	4	172	684	379	181	1420
		(0,3%)	(12,1%)	(48,2%)	(26,7%)	(12,7%)	(100%)
	Esquerda	8	133	416	292	105	954
		(0,8%)	(13,9%)	(43,6%)	(30,6%)	(11%)	(100%)
	Meio	20	186	424	224	86	940
		(2,1%)	(19,8%)	(45,1%)	(23,8%)	(9,1%)	(100%)
2	Direita	42	285	452	231	71	1081
		(3,9%)	(26,4%)	(41,8%)	(21,4%)	(6,6%)	(100%)
	Esquerda	14	160	288	148	26	636
		(2,2%)	(25,2%)	(45,3%)	(23,3%)	(4,1%)	(100%)
	Meio	64	247	359	137	36	843
		(7,6%)	(29,3%)	(42,6%)	(16,3%)	(4,3%)	(100%)
3	Direita	6	98	357	267	125	853
		(0,7%)	(11,5%)	(41,9%)	(31,3%)	(14,7%)	(100%)
	Esquerda	4	81	294	130	60	569
		(0,7%)	(14,2%)	(51,7%)	(22,8%)	(10,5%)	(100%)
	Meio	7	93	260	135	65	560
		(1,2%)	(16,6%)	(46,4%)	(24,1%)	(11,6%)	(100%)
4	Direita	18	175	437	178	69	877
		(2,1%)	(20%)	(49,8%)	(20,3%)	(7,9%)	(100%)
	Esquerda	15	116	261	84	20	496
		(3%)	(23,4%)	(52,6%)	(16,9%)	(4%)	(100%)
	Meio	22	131	259	108	33	553
		(4%)	(23,7%)	(46,8%)	(19,5%)	(6%)	(100%)

**Tabela A.10** Tabela de contingência entre Quadrante e Escore do ninho.

<b>Quadrante</b>	<b>Escore do ninho</b>					<b>Total</b>
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	
<b>1º</b>	32 (1,0%)	491 (14,8%)	1524 (46,0%)	895 (27,0%)	372 (11,2%)	3314 (100%)
<b>2º</b>	120 (4,7%)	692 (27,0%)	1099 (42,9%)	516 (20,2%)	133 (5,2%)	2560 (100%)
<b>3º</b>	17 (0,9%)	272 (13,7%)	911 (46,0%)	532 (26,8%)	250 (12,6%)	1982 (100%)
<b>4º</b>	55 (2,9%)	422 (21,9%)	957 (49,7%)	370 (19,2%)	122 (6,3%)	1926 (100%)

**Tabela A.11** Tabela de contingência entre posição (frente/atrás) e escore do ninho

<b>Posição</b>	<b>Escore do ninho</b>					<b>Total</b>
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	
<b>Atrás</b>	80 (2,0%)	822 (20,6%)	1989 (49,9%)	871 (21,9%)	224 (5,6%)	3986 (100%)
<b>Meio</b>	78 (4,1%)	438 (23,1%)	846 (44,6%)	388 (20,5%)	147 (7,7%)	1897 (100%)
<b>Frente</b>	66 (1,7%)	617 (15,8%)	1656 (42,5%)	1054 (27%)	506 (13%)	3899 (100%)



**Tabela A.12** Tabela de contingência entre posição (direita/esquerda) e escore do ninho

<b>Posição</b>	<b>Escore do ninho</b>					<b>Total</b>
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	
<b>Direita</b>	70 (1,7%)	730 (17,3%)	1930 (45,6%)	1055 (24,9%)	446 (10,5%)	4231 (100%)
<b>Meio</b>	113 (3,9%)	657 (22,7%)	1302 (45%)	604 (20,9%)	220 (7,6%)	2896 (100%)
<b>Esquerda</b>	41 (1,5%)	490 (18,5%)	1259 (47,4%)	654 (24,6%)	211 (7,9%)	2655 (100%)

**Tabela A.13** Tabela de contingência entre Enriquecimento ambiental e Uso.

Enriquecimento ambiental	Uso							Total
	Refúgio	Ninho	Excreção	Excreção/ Ninho	Refúgio/ Ninho	Excreção/ Refúgio	Não informado	
<b>Rolinho</b>	1793 (3,11)	1377 (3,76)	407 (3,13)	27 (3,70)	36 (3,89)	4 (3,5)	323 (3,36)	3967
<b>Saquinho</b>	75 (3,43)	743 (3,0)	4 (4)	0	3 (4,67)	0	30 (3,13)	855
<b>Iglu</b>	1739 (3,10)	823 (3,10)	77 (2,82)	6 (3,0)	6 (2,67)	3 (3)	202 (3,41)	2856
<b>Roe-Roe</b>	5055 (3,12)	63 (3,48)	7 (3,14)	0	27 (3,07)	0	682 (3,38)	5882
<b>Papel</b>	25 (2,88)	3162 (3,26)	0	1 (2)	0	0	177 (3,33)	3365
<b>Algodão</b>	74 (2,59)	983 (3,29)	2 (2,50)	1 (3)	0	0	36 (3,19)	1096
<b>Cubo</b>	597 (3,1)	5 (3,6)	38 (2,89)	0	0	0	69 (3,49)	709
<b>Plataforma</b>	1288 (3,03)	21 (3,1)	369 (2,94)	0	3 (2,67)	0	204 (3,32)	1885
<b>Rolinho M.</b>	723 (2,79)	11 (3,55)	30 (2,50)	1 (3)	1 (1)	0	99 (3,20)	865
<b>Máscara</b>	43 (2,93)	145 (3,48)	0	0	0	0	1 (3)	189
<b>Labirinto</b>	1 (4)	0	0	0	0	0	0	1
<b>Tronco</b>	44 (3,39)	1 (5)	0	0	0	0	10 (4,20)	55

**Tabela A.14** Tabela de contingência entre uso do rolinho e escore do ninho

<b>Uso do rolinho</b>	<b>Escore do ninho</b>					<b>Total</b>
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	
<b>Excreção</b>	10 (2,4%)	75 (18,2%)	201 (48,9%)	102 (24,8%)	23 (5,6%)	411 (100%)
<b>Refúgio</b>	43 (2,4%)	417 (23,3%)	778 (43,4%)	415 (23,1%)	140 (7,8%)	1793 (100%)
<b>Ninho</b>	4 (0,3%)	98 (6,8%)	491 (34,1%)	489 (34,0%)	358 (24,9%)	1440 (100%)

**Tabela A.15** Tabela de contingência entre Escore do ninho e Idade classificada pelo estado fisiológico.

<b>Idade Classificada</b>	<b>Escore do ninho</b>					<b>Total</b>
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	
<b>jovem</b>	85 (3,5%)	511 (21,3%)	1029 (43,0%)	553 (23,1%)	217 (9,1%)	1051
<b>Adulto</b>	134 (2,0%)	1224 (18,4%)	3073 (46,2%)	1595 (24,0%)	620 (9,3%)	4732
<b>Idoso</b>	5 (0,7%)	142 (19,2%)	389 (52,5%)	165 (22,3%)	40 (5,4%)	786

**Tabela A.16** Tabela apresentando os resultados do modelo de regressão

<b>Coeficiente</b>	<b>Estimativa</b>	<b>Erro Padrão</b>	<b>p-valor</b>
Gaiola (efeito aleatório)	$\sigma_u^2 = 1,2$		< 0,001
<b>Sexo</b>			
Casal F	-0,69	0,147	<0,001
Casal N	-1,09	0,135	<0,001
Fêmea	-0,64	0,147	<0,001
Macho	-0,83	0,148	<0,001
<b>Linhagem</b>			
BTBR obese	-1,16	0,152	<0,001
C57BL/6J	-1,80	0,183	<0,001
Casp8	-0,81	0,212	<0,001
CKIT	-2,14	0,226	<0,001
CONFETTI	-2,47	0,283	<0,001
MTMG	-1,22	0,233	<0,001
NBSGW	-2,47	0,242	<0,001
<b>Idade</b>			
Idoso	-0,54	0,103	<0,001
Jovem	-0,19	0,059	<0,001
<b>Uso do rolinho</b>			
Excreção	0,29	0,113	0,01
Não informado	0,47	0,126	<0,001
Ninho	1,32	0,066	<0,001
Refúgio	0,22	0,064	<0,001
<b>Quadrante</b>			
2º quadrante	-0,09	0,127	0,497
3º quadrante	-0,125	0,120	0,295
4º quadrante	0,16	0,133	0,222

<b>Posição (frente/atrás)</b>			
Frente	0,35	0,089	<0,001
Meio	-0,02	0,106	0,840
<b>Coeficiente</b>	<b>Estimativa</b>	<b>Erro Padrão</b>	<b>p-valor</b>
<b>Posição (direita/esquerda)</b>			
Esquerda	-0,19	0,053	<0,001
Meio	-0,34	0,051	<0,001
<b>EAs</b>			
Plataforma	0,64	0,195	0,001
Algodão	0,21	0,069	0,002
Papel	0,33	0,068	<0,001
Rolinho de madeira	-0,45	0,086	<0,001
<b>Quadrante x Posição</b>			
2º quadrante : Frente	-0,27	0,132	0,038
3º quadrante : Frente	0,31	0,142	0,028
4º quadrante : Frente	0,03	0,142	0,821
2º quadrante : Meio	-0,51	0,159	0,001
3º quadrante : Meio	0,279	0,171	0,103
4º quadrante : Meio	-0,03	0,168	0,871

**Tabela A.17** Tabela apresentando os resultados do modelo de regressão alterando as categorias de sexo como referência. As colunas indicam qual categoria foi usada como referência, os valores são as estimativas do coeficiente e, entre parênteses, o valor-p

<b>Sexo</b>	<b>Referência</b>		
	<b>Casal F</b>	<b>Casal N</b>	<b>Fêmeas</b>
<b>Casal N</b>	-0,40 (<0,001)	-	-
<b>Fêmeas</b>	0,05 (0,748)	0,45 (0,003)	-
<b>Machos</b>	-0,14 (0,410)	0,26 (0,091)	-0,19 (0,065)

**Tabela A.18** Tabela apresentando os resultados do modelo de regressão alterando as categorias de linhagem como referência. As colunas indicam qual categoria foi usada como referência, os valores são as estimativas do coeficiente e, entre parênteses, o valor-p

<b>Linhagem</b>	<b>Referência</b>					
	<b>BTBR obese</b>	<b>C57BL/6J</b>	<b>Casp8</b>	<b>CKIT</b>	<b>CONFETTI</b>	<b>MTMG</b>
<b>C57BL/6J</b>	-0,64 (<0,001)	-	-	-	-	-
<b>Casp8</b>	0,36 (0,075)	0,99 (<0,001)	-	-	-	-
<b>CKIT</b>	-0,98 (<0,001)	-0,34 (0,109)	-1,34 (<0,001)	-	-	-
<b>CONFETTI</b>	-1,31 (<0,001)	-0,67 (0,013)	-1,66 (<0,001)	-0,33 (0,268)	-	-
<b>MTMG</b>	-0,06 (0,79)	0,58 (0,009)	-0,41 (0,109)	0,93 (0,002)	1,25 (<0,001)	-
<b>NBSGW</b>	-1,31 (<0,001)	-0,67 (0,005)	-1,67 (<0,001)	-0,33 (0,224)	-0,001 (0,997)	-1,25 (<0,001)

**Tabela A.19** Tabela apresentando os resultados do modelo de regressão alterando a categoria de idade como referência. A coluna indica qual categoria foi usada como referência, o valor é a estimativa do coeficiente e, entre parênteses, o valor-p

<b>Idade</b>	<b>Referência</b>
<b>Classificada</b>	<b>Jovem</b>
<b>Idoso</b>	-0,34 (0,004)

**Tabela A.20** Tabela apresentando os resultados do modelo de regressão alterando as categorias de idade como referência. As colunas indicam qual categoria foi usada como referência, os valores são as estimativas do coeficiente e, entre parênteses, o valor-p

<b>Uso do</b>	<b>Referência</b>		
<b>rolinho</b>	<b>Excreção</b>	<b>Refúgio</b>	<b>Ninho</b>
<b>Refúgio</b>	-0,07 (0,568)	-	-
<b>Ninho</b>	1,03 (<0,001)	1,10 (<0,001)	-
<b>Não informado</b>	0,18 (0,276)	0,24 (0,065)	-0,86 (<0,001)

**Tabela A.21** Tabela apresentando os resultados do modelo de regressão alterando a categoria de posição do ninho (direita/esquerda) como referência. A coluna indica qual categoria foi usada como referência, o valor é a estimativa do coeficiente e, entre parênteses, o valor-p

<b>Posição</b>	<b>Referência</b>
	<b>Meio</b>
<b>Esquerda</b>	0,15 (0,008)

**Tabela A.22** Comparações entre posições (frente/atrás), fixada a variável quadrante.

<b>Fixo</b>	<b>Comparação</b>	<b><math>\beta_{int}</math></b>	<b>Valor-p</b>	<b>Interpretação</b>
Q1	M com A	-0,02	0,843	Para gaiolas em Q1, não há evidências de diferenças entre os ninhinhos feitos atrás e no meio da gaiola
Q1	F com A	0,35	<0,001	Para gaiolas em Q1, ninhinhos feitos na frente tem tendência de ter escores mais altos do que ninhinhos feitos atrás
Q1	F com M	0,37	<0,001	Em Q1, ninhinhos na frente tendem a ter escore maior do que ninhinhos feitos atrás.
Q2	M com A	-0,53	<0,001	No Q2, ninhinhos feitos no meio tendem a ter escore mais baixo do que os feitos atrás.
Q2	F com A	0,08	0,445	No Q2, não há evidências de diferença nos escores dos ninhinhos feitos atrás e na frente da gaiola
Q2	F com M	0,61	<0,001	No Q2, ninhinhos feitos na frente tendem a ter escore mais alto do que os feitos no meio.
Q3	M com A	0,26	0,058	Em Q3, ninhinhos feitos no meio tendem a ter escore maior do que ninhinhos feitos atrás (não significativa a um nível de 5%).
Q3	F com A	0,66	<0,001	No Q3, os ninhinhos feitos na frente tendem a ter escore mais alto do que os feitos atrás.
Q3	F com M	0,40	0,001	Em Q3, ninhinhos feitos na frente tendem a ter escore mais alto do que ninhinhos feitos no meio da gaiola.
Q4	M com A	-0,05	0,709	Para gaiolas em Q4, não existem evidências de diferença nos escores dos ninhinhos feitos atrás e no meio da gaiola.
Q4	F com A	0,38	<0,001	Para gaiolas em Q4, ninhinhos feitos na frente tem tendência de ter escores mais altos do que ninhinhos feitos atrás.
Q4	F com M	0,43	0,001	Em Q4, ninhinhos feitos na frente tendem a ter escores mais altos do que ninhinhos feitos no meio



**Tabela A.23** Comparações entre quadrantes, fixada a variável posição (frente/atrás).

<b>Fixo</b>	<b>Comparação</b>	<b><math>\beta_{int}</math></b>	<b>Valor-p</b>	<b>Interpretação</b>
A	Q2 com Q1	-0,08	0,502	Para ninhinhos feitos atrás, não há evidências de diferenças entre os escores dos ninhinhos em Q2 e Q1.
A	Q3 com Q1	-0,13	0,295	Para os ninhinhos feitos atrás, não há evidências de diferenças entre os escores dos ninhinhos em Q3 e Q1
A	Q4 com Q1	0,16	0,218	Para ninhinhos feitos atrás, não há evidências de diferenças entre os escores dos ninhinhos em Q4 e Q1.
A	Q3 com Q2	-0,04	0,774	Para os ninhinhos feitos atrás, as gaiolas em Q3 tendem a produzir ninhinhos com escores semelhantes as em Q2.
A	Q4 com Q2	0,25	0,022	Para ninhinhos feitos atrás, as gaiolas em Q4 tendem a produzir ninhinhos com escores mais altos do que as gaiolas em Q2
A	Q4 com Q3	0,29	0,045	Para ninhinhos na frente, as gaiolas em Q4 tendem a produzir ninhinhos com escore mais alto do que as gaiolas em Q3.
M	Q2 com Q1	-0,60	<0,001	Para ninhinhos no meio, os do Q2 tendem a ter escore mais baixo do que os do Q1.
M	Q3 com Q1	0,15	0,284	Para ninhinhos no meio, não há evidências de diferenças entre os escores dos ninhinhos em Q3 e em Q1.
M	Q4 com Q1	0,14	0,408	Para ninhinhos no meio, não há evidências de diferenças nos escores dos ninhinhos em Q4 e Q1.
M	Q3 com Q2	0,75	<0,001	Para ninhinhos no meio, as gaiolas em Q3 tendem a produzir ninhinhos melhores do que as em Q2.
M	Q4 com Q2	0,73	<0,001	Para ninhinhos feitos no meio, as gaiolas em Q4 tem tendência de produzir ninhinhos com escores mais altos do que as em Q2.
M	Q4 com Q3	-0,02	0,920	Para ninhinhos no meio, as gaiolas em Q4 tendem a produzir ninhinhos com escores semelhantes às gaiolas em Q3.
F	Q2 com Q1	-0,36	0,005	Para ninhinhos feitos na frente, os do Q2 tendem a ter escore mais baixo do que os do Q1.
F	Q3 com Q1	0,19	0,075	Para ninhinhos na frente, os Q3 tendem a ter escores mais altos do que os do Q1 (não significativo a um nível de 5%)

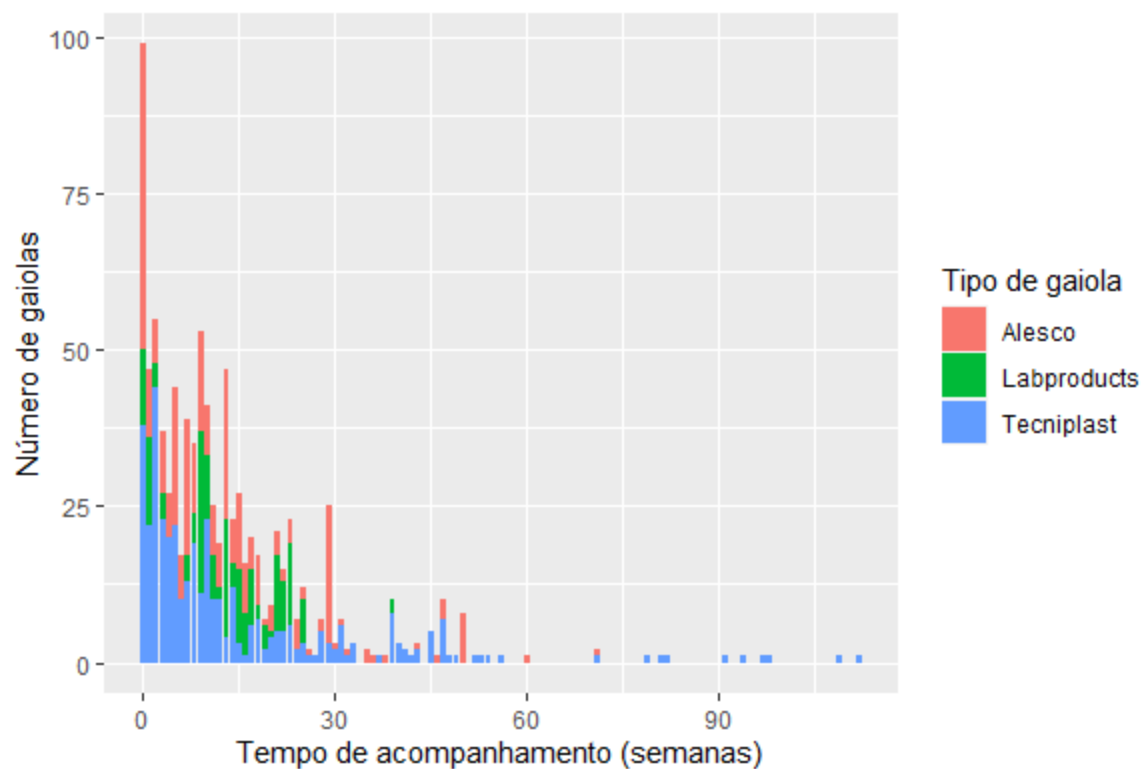
F	Q4 com Q1	0,20	0,160	Para os ninhõs na frente, as gaiolas em Q4 tendem a produzir ninhõs com escores semelhante às gaiolas em Q1
F	Q3 com Q2	0,55	<0,001	Para ninhõs na frente, as gaiolas em Q3 tendem a produzir ninhõs com escores mais altos do que as em Q2.
F	Q4 com Q2	0,55	<0,001	Para ninhõs na frente, as gaiolas em Q4 tem tendência de produzir ninhõs com escores mais altos do que as em Q2.
F	Q4 com Q3	0,01	0,957	Para ninhõs na frente, as gaiolas em Q4 tendem a produzir ninhõs com escores semelhantes às do Q3.

**Tabela A.24** Matriz de confusão entre os escores preditos pelo modelo e os escores reais

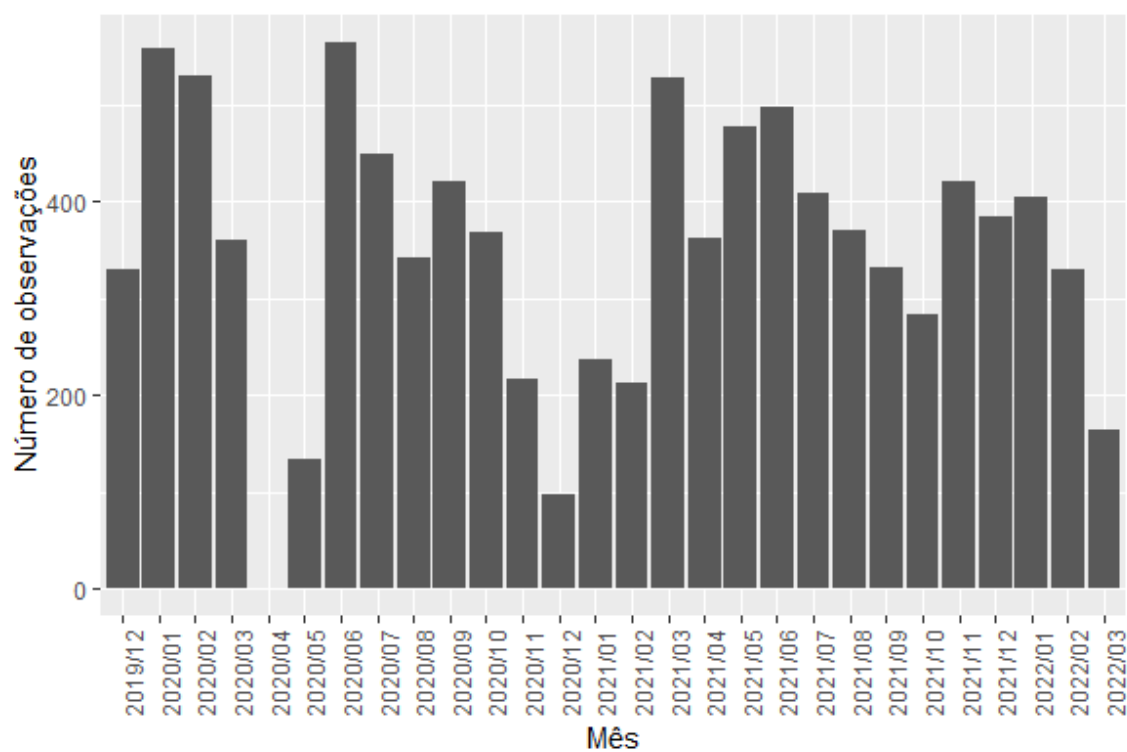
		Escore s reais				
		1	2	3	4	5
Escore s preditos	1	0	0	0	0	0
	2	143	587	341	37	2
	3	81	1240	3723	1451	254
	4	0	50	415	753	411
	5	0	0	12	72	210

# **APÊNDICE B**

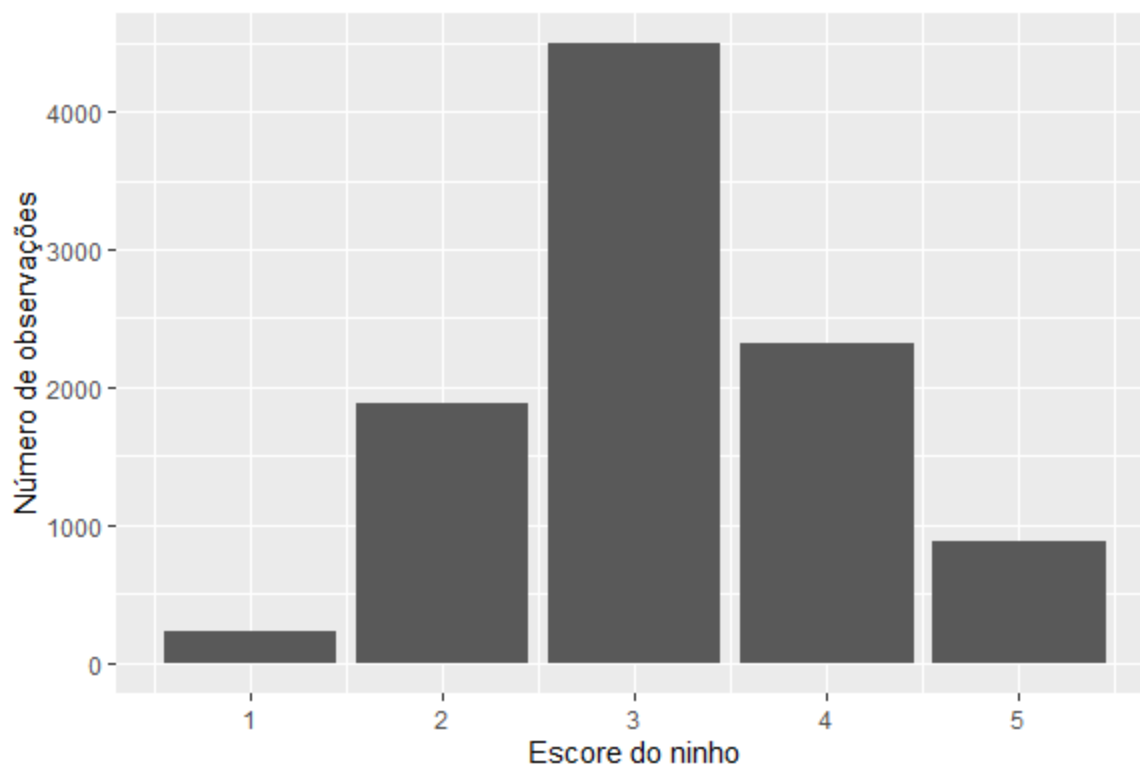
## **Figuras**



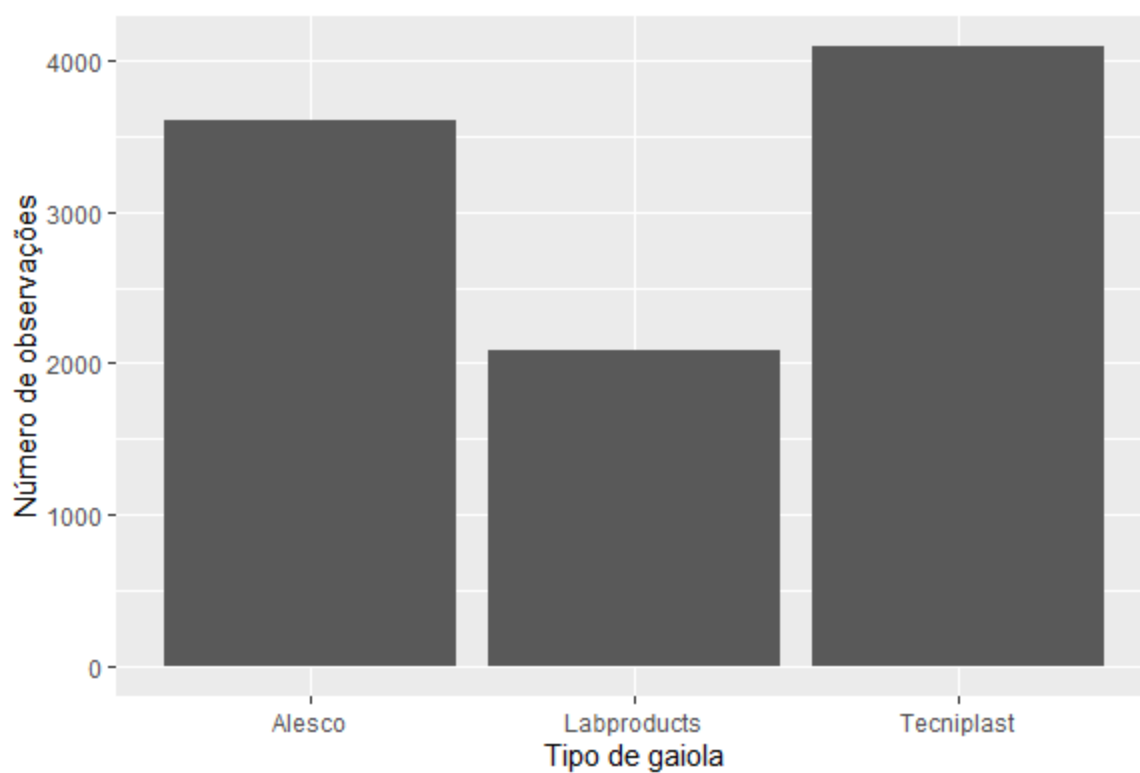
**Figura B.1** Gráfico de barras do Número de gaiolas por Tempo de acompanhamento.



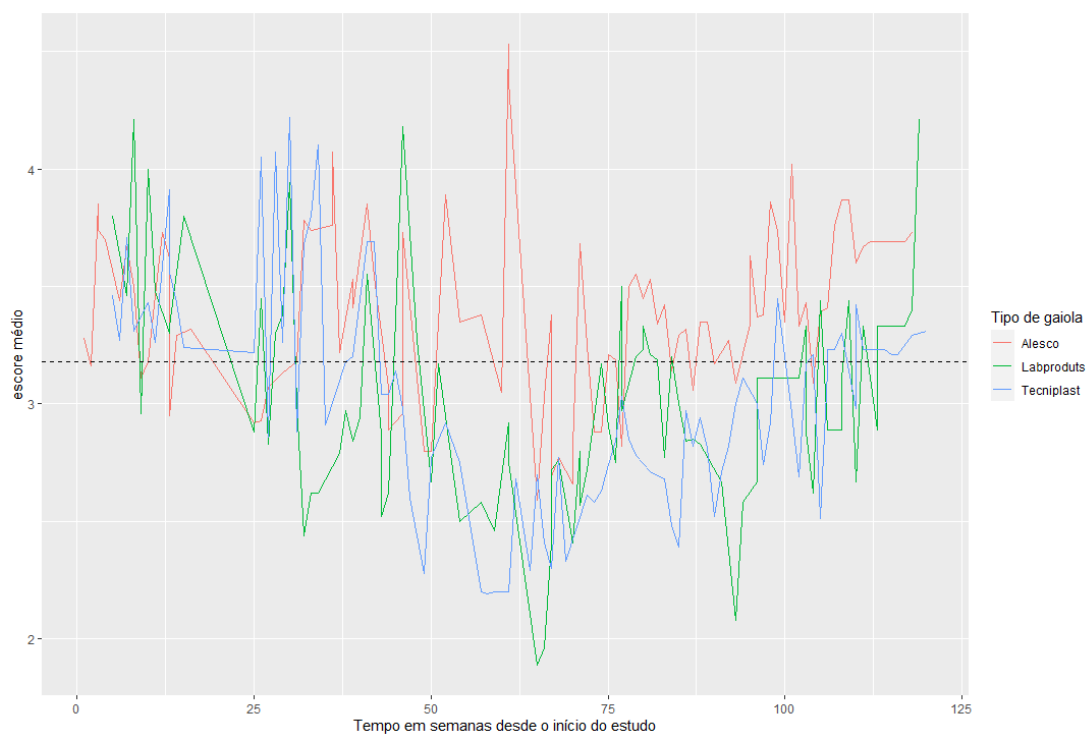
**Figura B.2** Número de observações por Mês



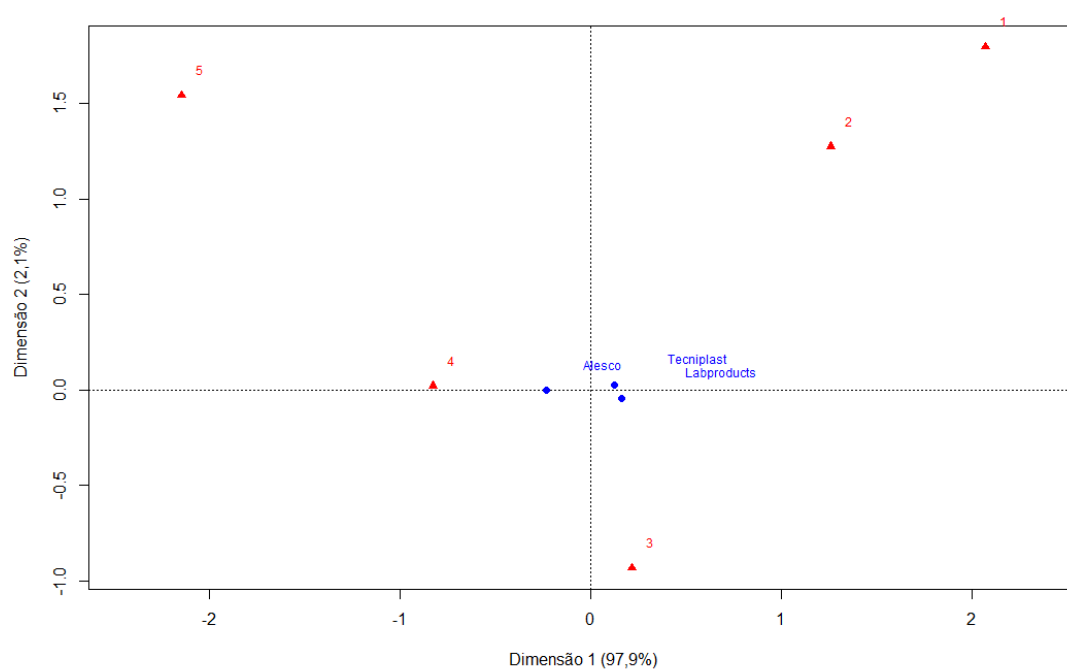
**Figura B.3** Gráfico de barras do Escore do ninho



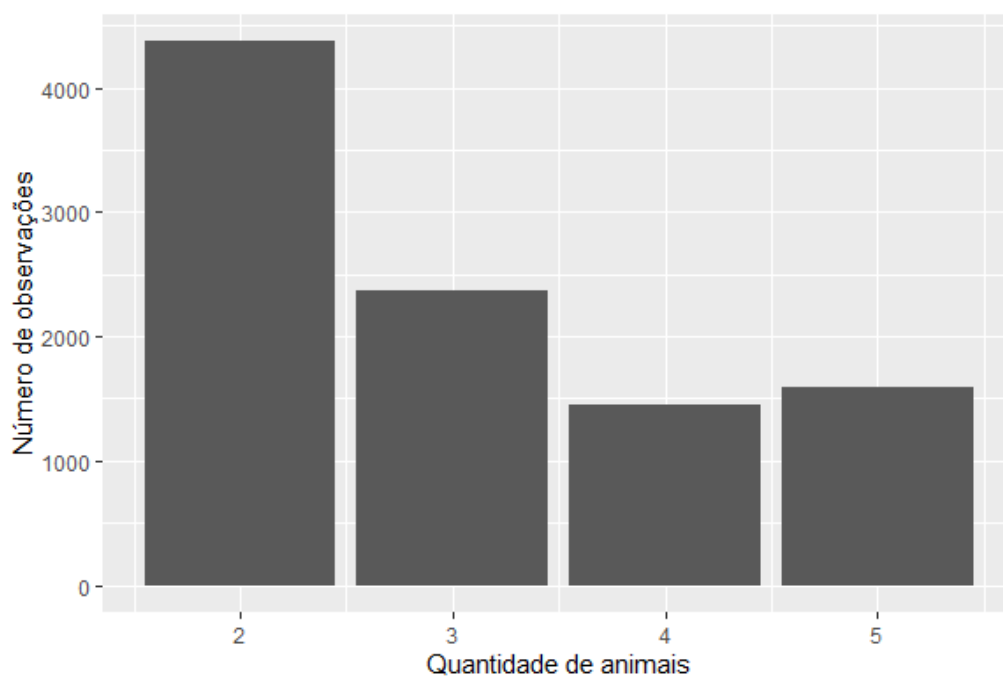
**Figura B.4** Gráfico de barras do Tipo de gaiola



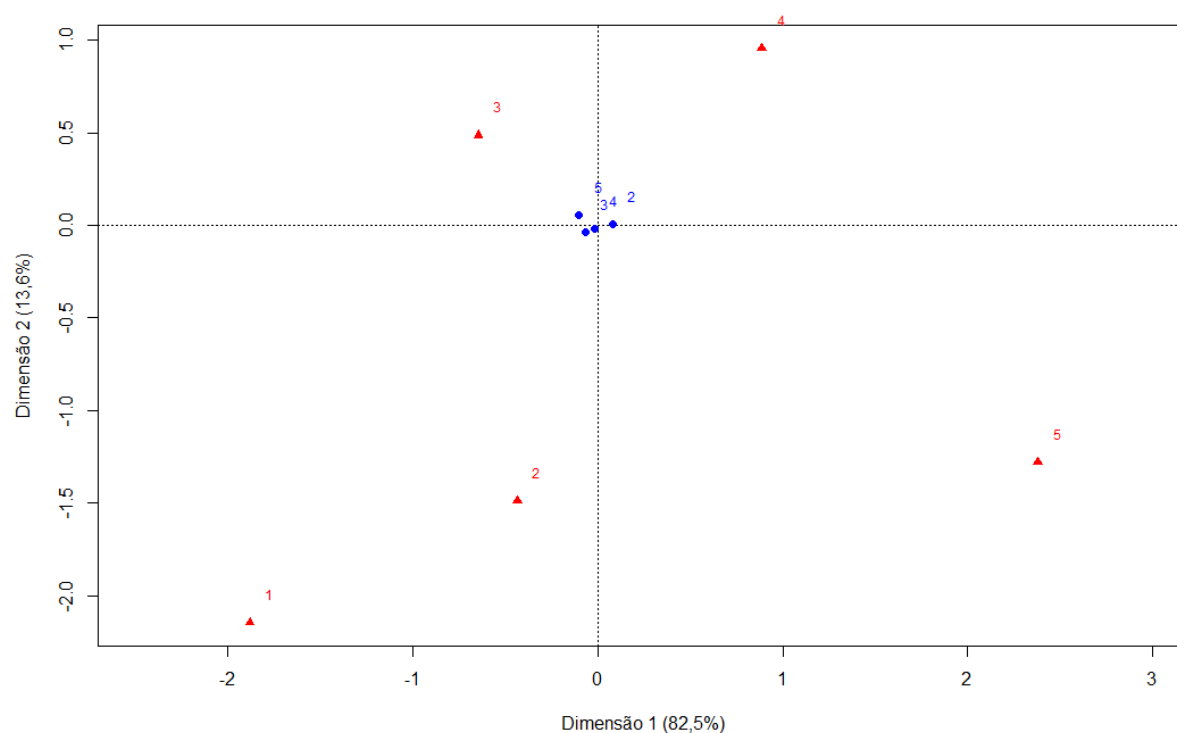
**Figura B.5** Evolução da média do Escore do ninho ao longo do tempo por Tipo de gaiola.



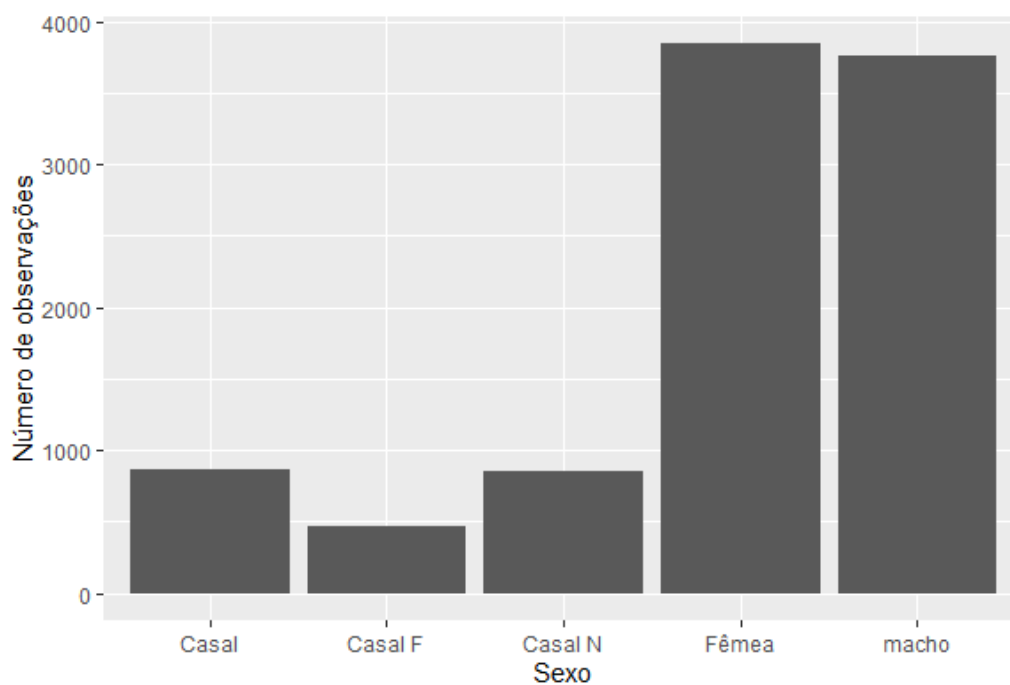
**Figura B.6** Diagrama assimétrico da análise de correspondência do Escore do ninho e Tipo de gaiola.



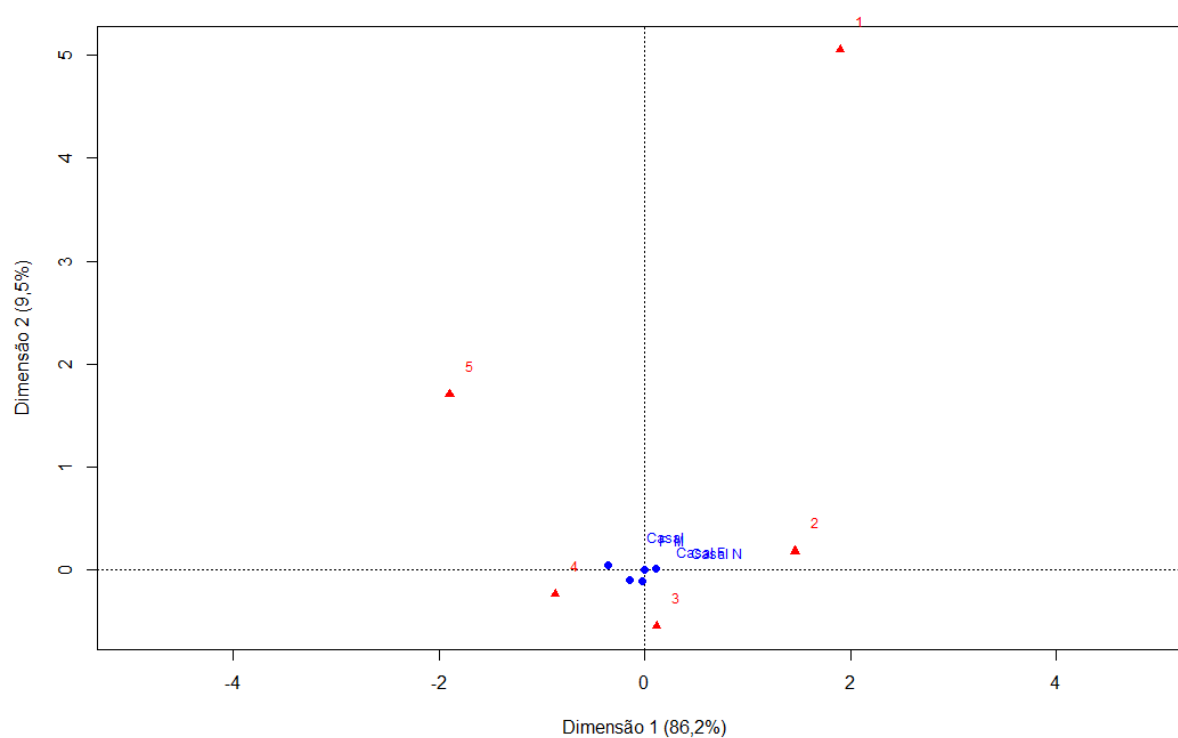
**Figura B.7** Gráfico de barras da Quantidade de animais na gaiola.



**Figura B.8** Diagrama assimétrico da análise de correspondência do Escore do ninho e Quantidade de animais na gaiola

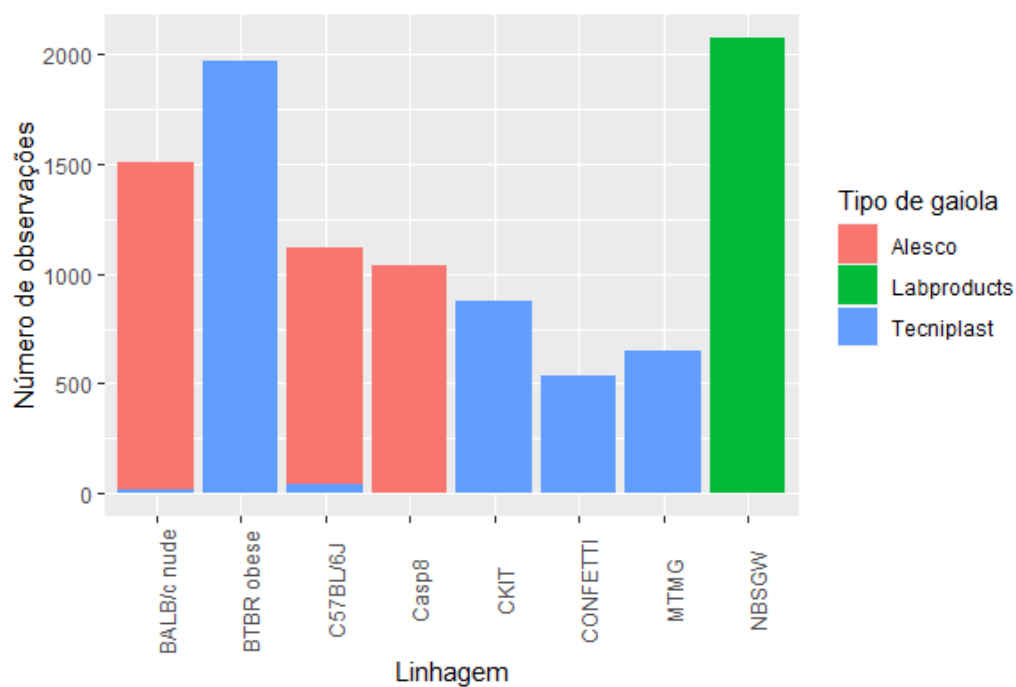


**Figura B.9** Gráfico de barras de Sexo.

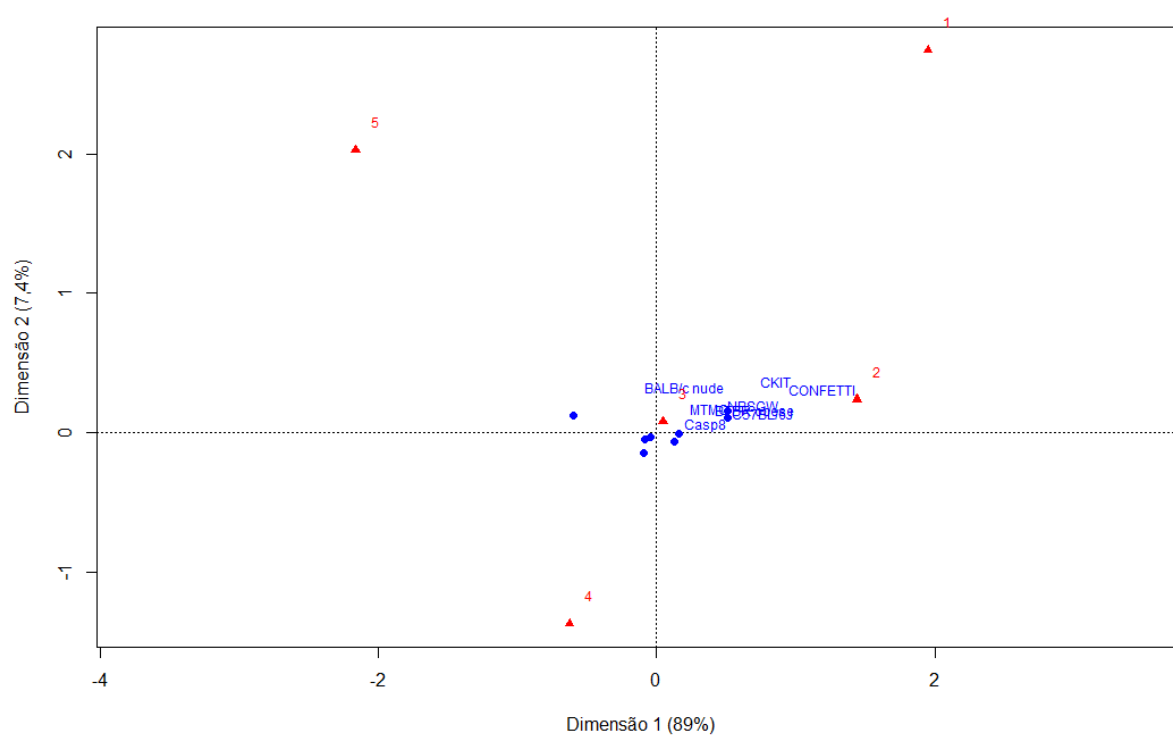


**Figura B.10** Diagrama assimétrico da análise de correspondência do Escore do ninho e Sexo

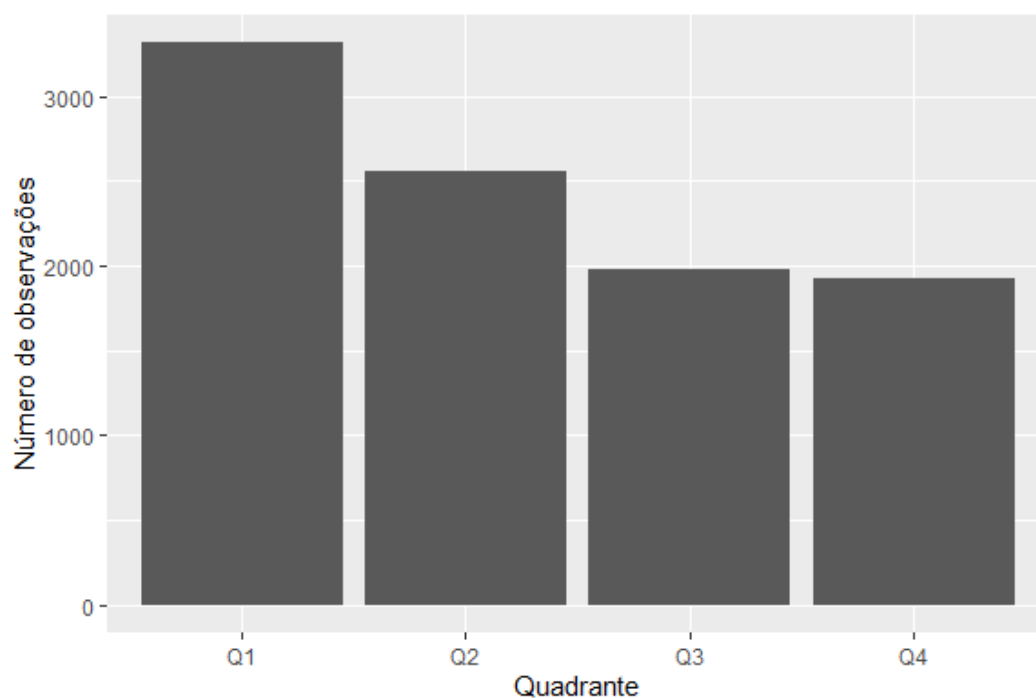




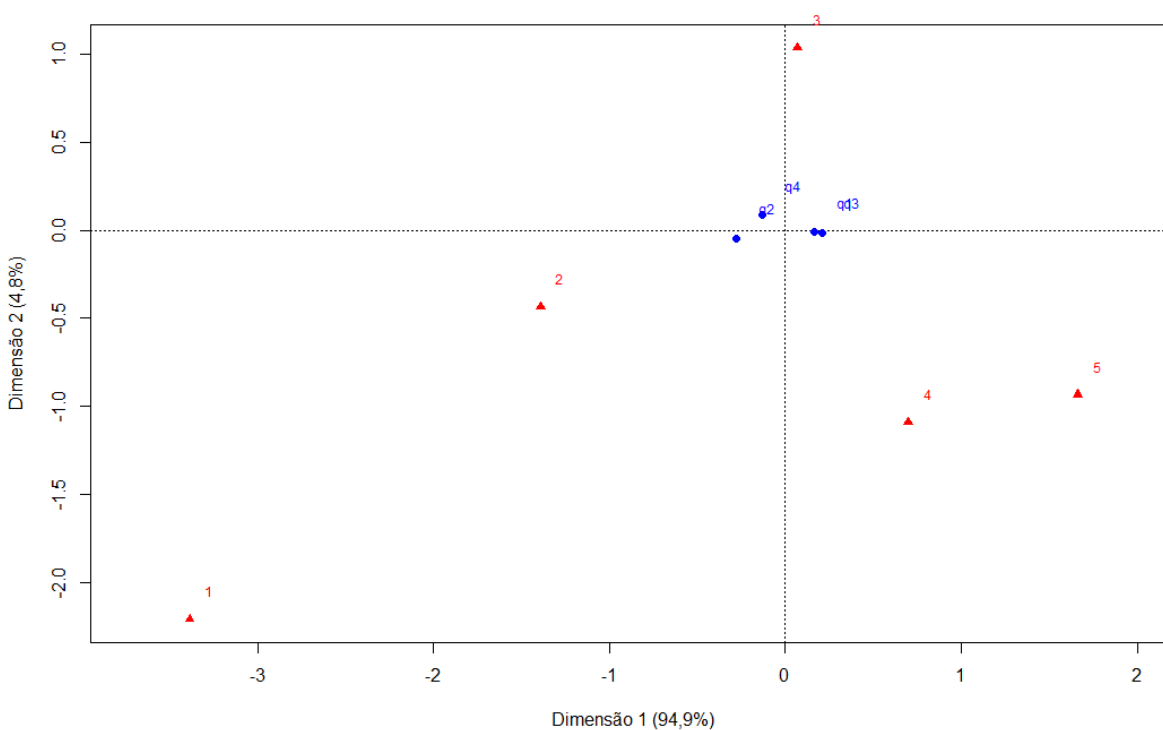
**Figura B.11** Gráfico de barras da Linhagem por Tipo de gaiola



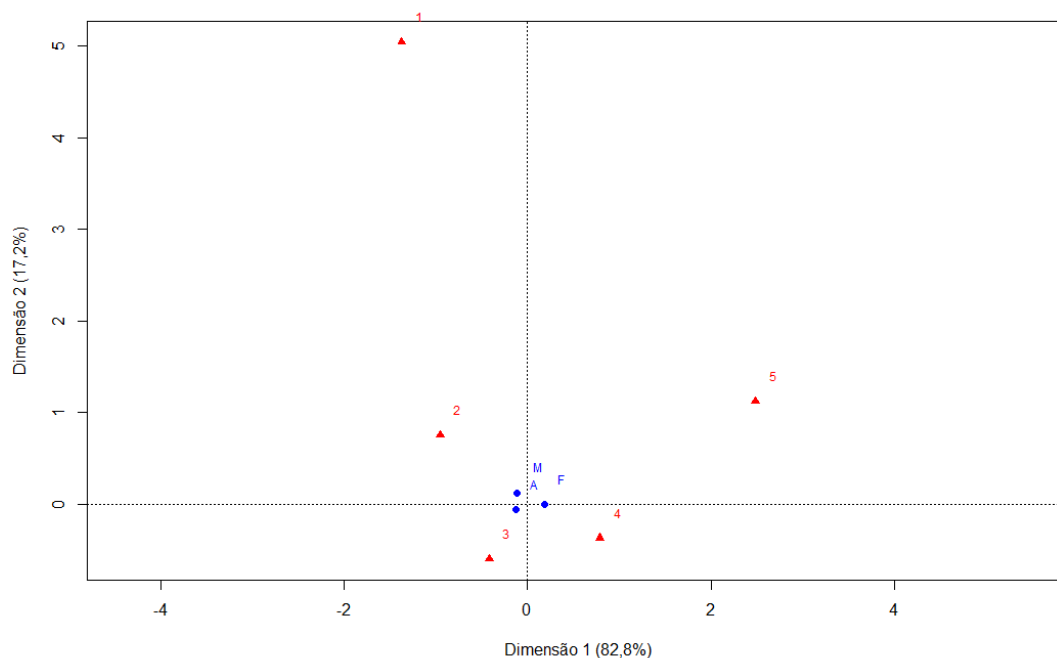
**Figura B.12** Diagrama assimétrico da análise de correspondência da Linhagem e Escore do ninho



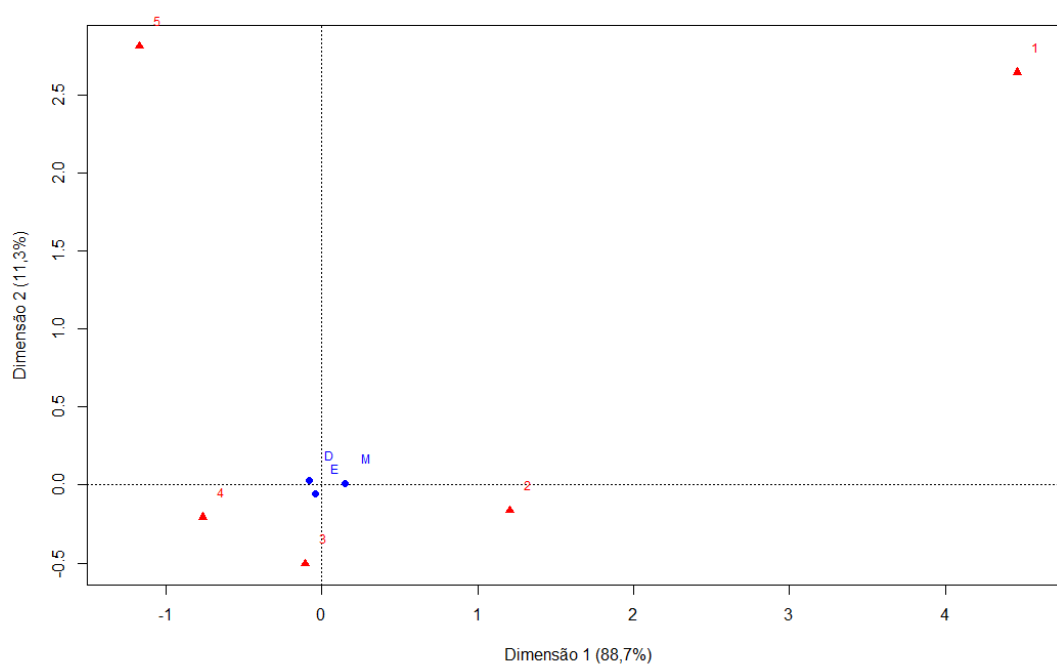
**Figura B.13** Gráfico de barras de quadrante



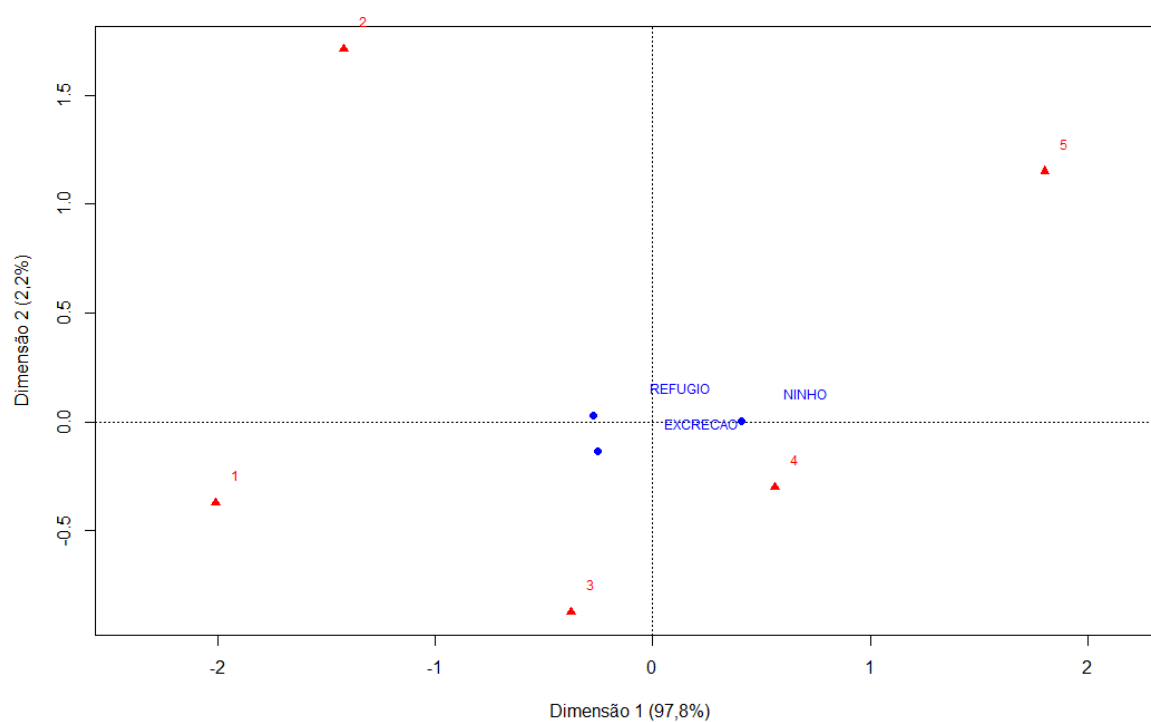
**Figura B.14** Diagrama assimétrico da análise de correspondência entre Quadrante e Escore do ninho



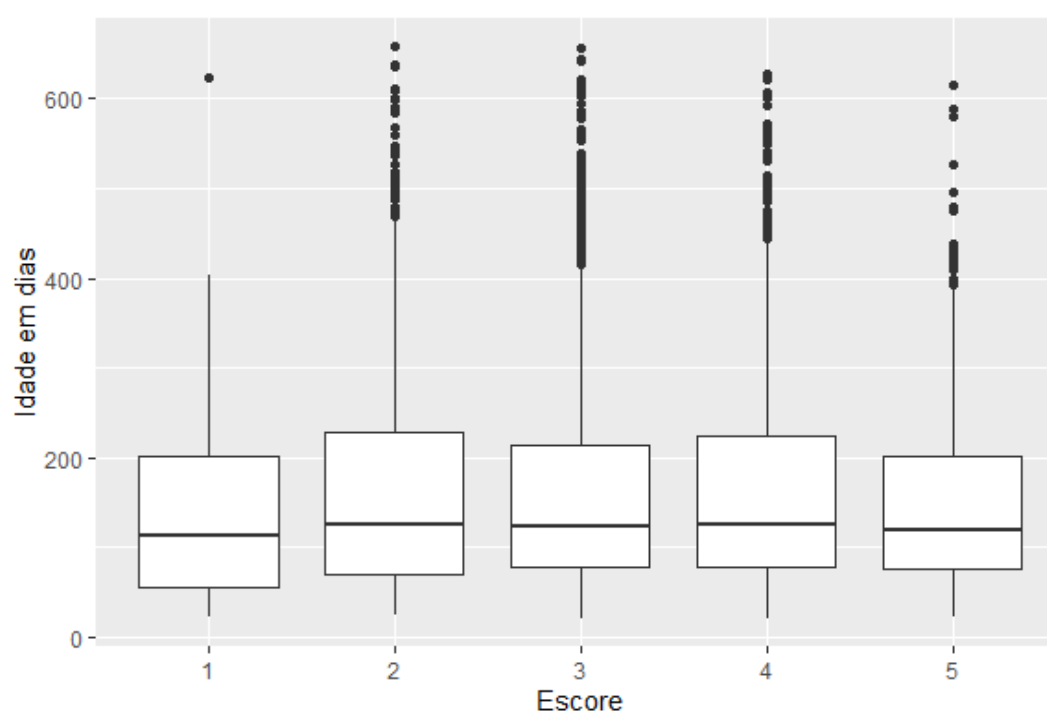
**Figura B.15** Diagrama assimétrico da análise de correspondência da tabela entre posição (frente/atrás) e escore. A = Atrás, M = Meio e F = Frente.



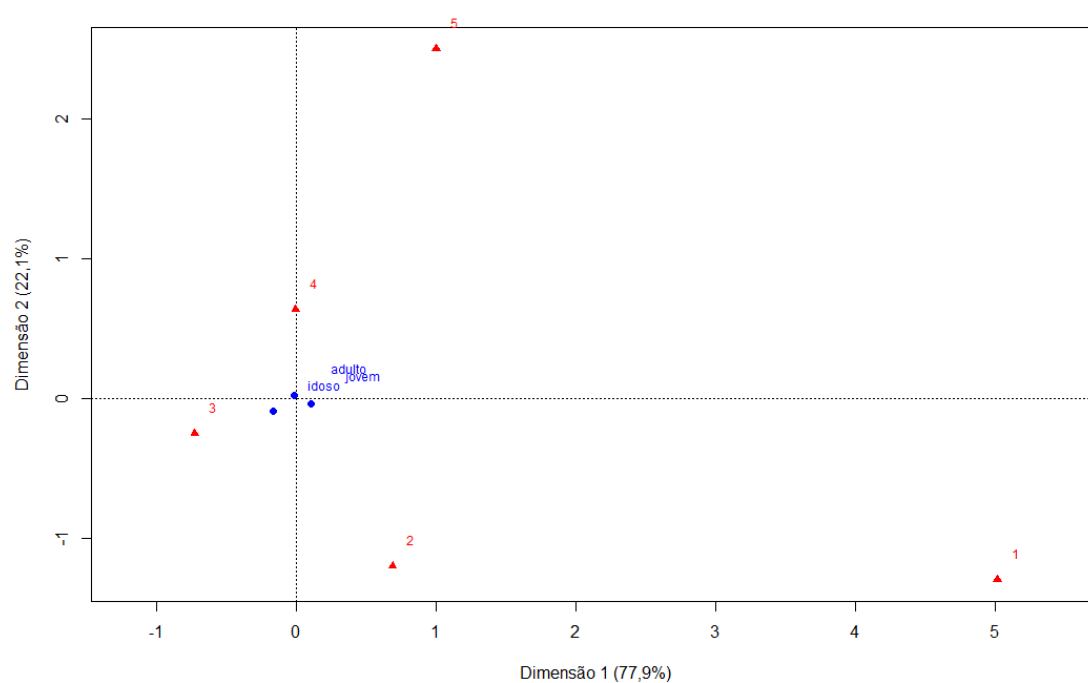
**Figura B.16** Diagrama assimétrico da análise de correspondência da tabela entre posição (direita/esquerda) e escore. D = Direita, E = Esquerda e M = Meio.



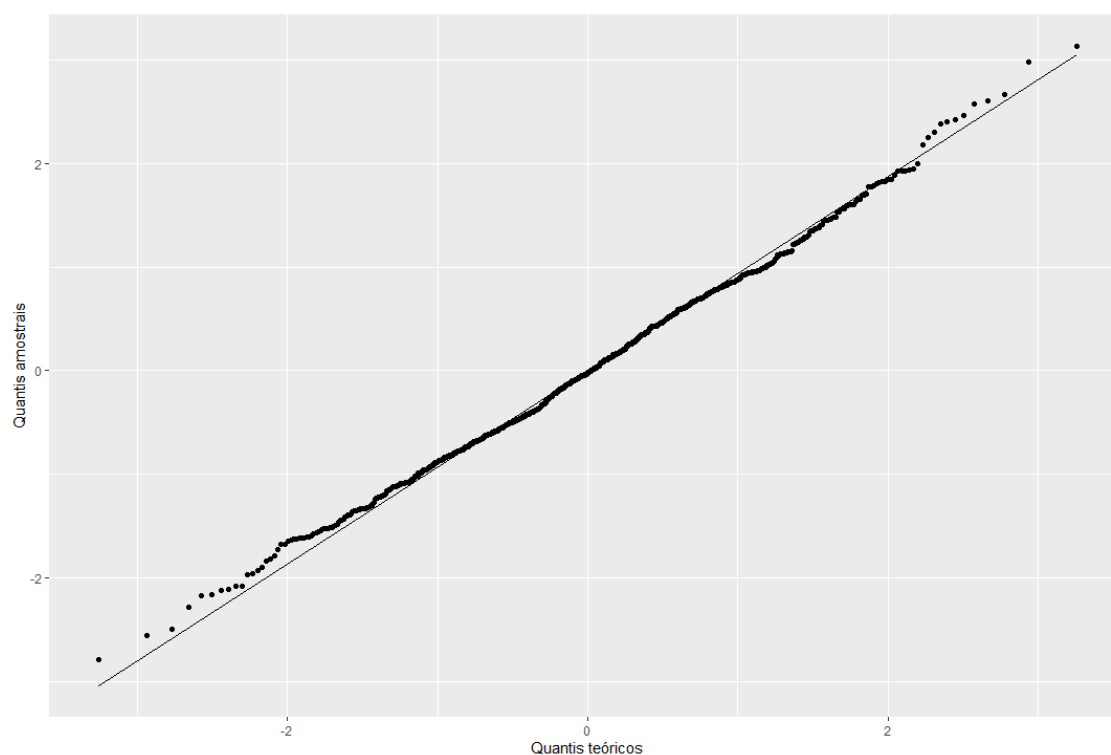
**Figura B.17** Diagrama assimétrico da análise de correspondência do Escore do ninho e Uso do rolinho



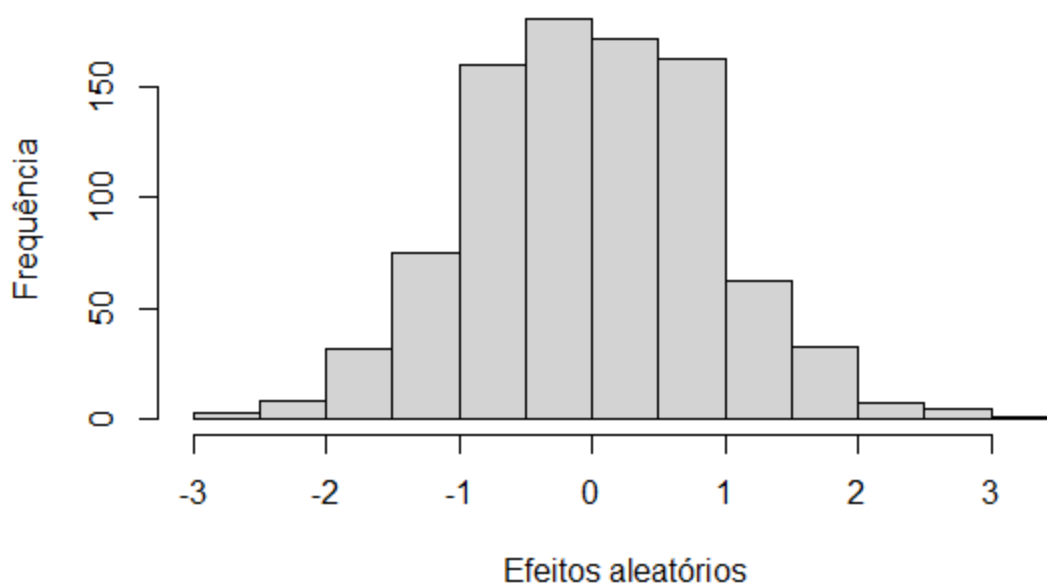
**Figura B.18** Box plot da Idade por Escore do ninho



**Figura B.19** Diagrama assimétrico da análise de correspondência da Idade classificada pelo estado fisiológico e Escore do ninho



**Figura B.20** Gráfico QQ dos valores estimados do efeito aleatório do modelo



**Figura B.21** Histograma dos valores estimados para os efeitos aleatórios do modelo

# ANEXO A



**Imagem A.1** Sala onde os camundongos eram mantidos. Da esquerda para a direita gaiolas da Alesco, Labproducts e Tecniplast respctivamente



Escore	Imagem	Adaptado de DEACON, 2006; GASKILL et al., 2013; KRAEUTER; GUEST; SARNYAI, 2018
1		O material foi pouco manipulado ou rasgado (mais de 90% intacto), está espalhado pela gaiola.
2		Material parcialmente rasgado (50-90% restante intacto), ninho plano.
3		Material rasgado (50-90% fragmentado), ninho como xicara, área de nidificação muito ampla na gaiola.
4		90% do material rasgado e recolhido dentro de um quarto da área do chão da gaiola. Ninho identificável com cúpula.
5		Ninho perfeito (tipo "donut"), com cratera, cúpula completa e fechada, paredes mais altas que a altura do corpo do camundongo.

**Imagem A.2** Figura detalhando as características dos ninhos com cada Escore.

Fonte: Luciana Cintra, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - USP



**Imagem A.3** Tipos de Gaiola utilizados no Biotério. Acima à direita Alesco, acima à esquerda Tecniplast e abaixo Labproducts