

UNIVERSIDAD RICARDO PALMA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA



“Medición de Amoniaco en Jaulas de ratones (*Mus musculus*) Optimice Mediante las tiras reactivas Hydrion de Micro Essential Lab”

DIANA CRISTINA CEDAMANOS PACHERRES

Tesis para optar el Título Profesional de Médica Veterinaria

Asesor: MV Franco Ceino Gordillo

Lima, Perú

2019

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a mis padres, abuelos, hermana y a toda mi familia por su apoyo durante toda mi carrera.

A mi esposo Alex quien me apoyó y alentó para continuar.

A mi asesor de tesis, Franco Ceino por la ayuda constante en todo el desarrollo de la tesis.

A mis maestros, a quienes les debo todo lo aprendido y me apoyaron incondicionalmente.

A aquellas personas que estuvieron conmigo a lo largo de este proceso.

Y sobre todo a Dios que me dio las fuerzas de seguir y no rendirme

ÍNDICE

	Página
ÍNDICE.....	iii
LISTA DE TABLAS	v
LISTA DE FIGURAS	viii
RESUMEN.....	vi
ABSTRACT	viii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2
3. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	3
4. OBJETIVO.....	4
4.1. Objetivo General	4
4.2. Objetivos Específicos.....	4
5. MARCO TEORICO	5
6. ANTECEDENTES	16
7. HIPÓTESIS.....	18
7.1. Hipótesis alterna:	18
7.2. Hipótesis nula:	18
8. MATERIALES Y MÉTODOS	19
8.1. Lugar de Ejecución	19
8.2. Tipo y Diseño de Investigación	19
8.3. Variables	20
8.4. Operacionalización de las Variables.....	20
8.5. Muestro	20
8.6. Equipos y Materiales.....	21
8.7. Procedimiento	22

	Página
9. ASPECTO ÉTICO.....	25
10. ANÁLISIS DE DATOS.....	25
11. RESULTADOS	26
12. DISCUSIÓN	29
CONCLUSIONES	32
RECOMENDACIONES	33
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34
ANEXOS.....	37

LISTA DE TABLAS

	Página
Tabla 1 <i>Características de los ratones de las jaulas que fueron evaluadas</i>	26
Tabla 2 <i>Características marco ambientales de la habitación</i>	27
Tabla 3 <i>Rangos y promedio de amoniaco por cepa de ratón en el día 0 post cambio de cama según método utilizado</i>	27
Tabla 4 <i>Rangos y promedio de amoniaco por cepa de ratón en el día 7 post cambio de cama según método utilizado</i>	28
Tabla 5 <i>Medición en Jaula limpia primera semana.</i>	38
Tabla 6 <i>Medición en Jaula Sucia de la primera semana.</i>	39
Tabla 7 <i>Medición en Jaula limpia segunda semana.</i>	40
Tabla 8 <i>Medición en Jaula sucia de la segunda semana.</i>	41
Tabla 9 <i>Medición en Jaula limpia tercera semana.</i>	42
Tabla 10 <i>Medición en Jaula sucia tercera segunda semana.</i>	43
Tabla 11 <i>Medición en Jaula limpia cuarta semana.</i>	44
Tabla 12 <i>Medición en Jaula sucia cuarta semana.</i>	45
Tabla 13 <i>Evaluación de la normalidad de los datos empleando el Test de Shapiro Wilk</i>	46
Tabla 14 <i>U de Mann Whitney: Evaluación del nivel de amoniaco en las cajas por sexo empleando el kit</i>	47
Tabla 15 <i>U de Mann Whitney: Evaluación del nivel de amoniaco en las cajas por sexo empleando el papel.</i>	47
Tabla 16 <i>U de Mann Whitney: Evaluación del nivel de amoniaco según la línea raton Balb/c.</i>	48
Tabla 17 <i>U de Mann Whitney: Evaluación del nivel de amoniaco según la línea ratón C75bl/c.</i>	48
Tabla 18 <i>U de Mann Whitney: Evaluación del nivel de amoniaco el día 7 de uso del material de cama versus el día cero empleando Paper.</i>	49
Tabla 19 <i>U de Mann Whitney: Evaluación del nivel de amoniaco el día 7 de uso del material de cama versus el día cero empleando Kit.</i>	49
Tabla 20 <i>Evaluación del nivel de amoniaco medido con el Kit y con el Paper.</i>	50

LISTA DE FIGURAS

	Página
<i>Figura 1.</i> Rack Optimice	21
<i>Figura 2.</i> Lectura del amoniaco de la botella.....	22
<i>Figura 3.</i> Botella con amoniaco	22
<i>Figura 4.</i> Jaula Optimice conectada al Kit GasAlert Extreme Ammonia	22
<i>Figura 5.</i> Lectura del amoniaco en jaula con el Kit GasAlert Extreme Ammonia	23
<i>Figura 6.</i> Ubicando 3 tiras Hydrion Ammonia al inicio, medio y final de la jaula.....	24
<i>Figura 7.</i> Realizando una lectura de las tiras expuestas al amoniaco en la jaula de ratones.....	24
<i>Figura 8.</i> Precio de Hydrion Ammonia Test Paper de Micro Essential Lab.....	51
<i>Figura 9.</i> Precio del Kit GasAlert Extreme Ammonia (NH ₃), GAXT-A-DL	51

RESUMEN

Con la finalidad de hallar un método sencillo y accesible para medir el amoniaco en las jaulas de los ratones (*Mus musculus*) en los bioterios del Perú se realizó la comparación de dos métodos diferentes para la medición del amoniaco. El primer método es el indicado para medición de amoniaco con maquina GasAlert Extreme Ammonia (NH₃) Single Gas Detector de BW Technologies la cual dice la cantidad de amoniaco presentes en las jaulas de manera digital a través de cifras y el segundo método son las tiras reactivas Hydrion Ammonia Test Paper de Micro Essential Lab, que se usan para medir el amoniaco en granjas de aves, y nos da el resultado de forma colorimétrica y en los siguientes rangos 0-5-10-20-50-100 ppm.

El estudio se realizó en el Bioterio del Centro de Investigación de Enfermedades Tropicales de la Marina de los EE. UU (NAMRU-6) ubicada en el Centro Médico Naval en Bellavista, Callao y se trabajó con jaulas Optimice. Se realizó la medición en 30 jaulas de las cuales 15 jaulas tenían ratones de la cepa Balb/c y 15 jaulas tenían ratones de la cepa C57bl/6. Se tomaron 3 mediciones por jaulas con cada uno de los métodos por el periodo de 1 mes, 1 vez a la semana, en jaulas limpias y jaulas sucias, que tuvieran albergado ratones por un periodo de 7 días. Se analizaron los resultados obtenidos mediante la prueba de Shapiro Wilk la cual determinó que los datos siguen una distribución no normal ($p = 0,0001$), por lo que las medianas fueron analizadas con la prueba no paramétrica U-Mann-Whitney. Los niveles de amoniaco en jaulas no muestran diferencia estadística al emplear el papel ($p = 0.2$), ni al emplear el kit ($p = 0,11$). Finalmente, las mediciones realizadas en ambos métodos no mostraron diferencias estadísticas significativas ($p = 0,56$), por lo que se concluyó que ambos métodos de medición de los niveles de amoniaco presentan valores similares, teniendo por tanto la misma utilidad.

Palabras claves: *mus musculus*, amoniaco, medición, jaulas.

ABSTRACT

In order to find a simple and accessible method to measure ammonia in cages of mice (*Mus musculus*) in the animal facilities of Peru, a comparison was made between two different methods for the measurement of ammonia. The first method is the indicated for measuring ammonia, GasAlert Extreme Ammonia (NH₃) Single Gas Detector from BW Technologies, which tells the amount of ammonia present in the cages digitally through numbers and the second method is the strips Hydrion Ammonia Test Paper reagents from Micro Essential Lab, which are used to measure ammonia in poultry farms, and give us the result colorimetrically and in the following ranges 0-5-10-20-50-100 ppm.

The study was conducted at the Animal Facility of the US Navy's Tropical Diseases Research Center (NAMRU-6) located at the Naval Medical Center in Bellavista, Callao and worked with Optimice cages. The measurement was made in 30 cages of which 15 cages had mice of the strain Balb/c and 15 cages had mice of the strain C57bl/6. 3 measurements were taken per cages with each of the methods for the period of 1 month, once a week, in clean cages and dirty cages, where were housed mice for a period of 7 days. The results obtained were analyzed using the Shapiro Wilk test, which determined that the data follow a non-normal distribution ($p = 0.0001$), so the medians were analyzed with the non-parametric U-Mann-Whitney test. Ammonia levels in cages show no statistical difference when using the paper ($p = 0.2$), or when using the kit ($p = 0.11$). Finally, the measurements made both methods did not show significant statistical differences ($p = 0.56$), so both methods of measuring ammonia levels have similar values, having the same utility.

Keywords: *Mus musculus*, ammonia, measurement, cages.

1. INTRODUCCIÓN

En el área de investigación el modelo animal más usado es el ratón (*Mus musculus*) (Hernández, S. 2006 p. 254) y a través del tiempo se han mejorado mucho los métodos de crianza de ellos basándose en su bienestar y teniendo en consideración que animales menos estresados representan mejores resultados en los experimentos.

En la actualidad existe una guía que se llama “Guía para el cuidado y uso de Animales de Laboratorio” la cual tiene como propósito ayudar a las instituciones a cuidar y emplear animales de una manera que se considera apropiada científica, técnica y humanitariamente. (Comité para la Actualización de la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio 2017 p. XV)

Uno de los factores que se deben tener en cuenta en la crianza de los ratones es la cantidad de amoníaco presente en sus jaulas ya que estas pueden ocasionar problemas en el tracto respiratorio (Brice, Caro, Gaertner, Hillanbrand y Mexas, 2014 p. 478).

Por ello se debe cambiar el material del lecho dos a tres veces por semana, para evitar concentraciones altas de amoníaco que son perjudiciales para los animales, esta frecuencia también depende del tamaño, cantidad de ratones albergados y de la ventilación del ambiente. La percepción de amoníaco en el ambiente es un indicador de saturación del lecho, por lo que se recomienda tener programas de cambio de lecho según la población que se maneje (Instituto Nacional de Salud 2008 p. 37).

Se conoce que el hombre es capaz de percibir 100 ppm de amoníaco del ambiente del ratón y éste puede percibir desde 25 ppm de amoníaco. (Instituto Nacional de Salud 2008 p. 31).

Esta investigación tuvo como objetivo comprobar el uso de las tiras reactivas Hydrion Ammonia para la medición de amoníaco, ya que es por lejos uno de los métodos más económicos que existe, la comparación se realizó con la maquina GasAlert Extreme Ammonia (NH₃) Single Gas Detector de BW Technologies, la cual nos da el número exacto de ppm de amoníaco de las jaulas de los ratones siendo el método recomendado a usar.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La acreditación de AAALAC (Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care 2018) International demuestra que su institución tiene verdadero interés por establecer, alcanzar y mantener altos estándares para el cuidado y uso de animales en las actividades científicas. Cientos de instituciones de todo el mundo han obtenido la acreditación de AAALAC International, lo que la convierte en un símbolo de calidad reconocido internacionalmente, dando una mayor validez científica a las investigaciones que se realizan en el bioterio (Aaalac international 2019)

En el Perú contamos con pocos bioterios, de los cuales solo el bioterio del Centro de Investigación de Enfermedades Tropicales de la Marina de los EE. UU (NAMRU-6) cuenta con la acreditación del AAALAC que es una organización privada, no gubernamental, que promueve el trato humanitario de los animales en las actividades científicas mediante programas voluntarios de evaluación y acreditación.

Entre los puntos importantes para poder tener una colonia saludable es mantener el amoniaco controlado que no afecte a los ratones ni al personal que los manipula. Su medición es sencilla pero los equipos para realizar la medición son costosos. Es por ello que se busca probar que las tiras reactivas Hydrion de Micro Essential Lab pueden medir el amoniaco en las jaulas al igual que los equipos diseñados para ello ya que su precio es mucho más económico.

3. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Dado el creciente interés en la investigación y trabajo con animales de experimentación los requisitos para poder trabajar con ellos son cada vez más exigentes. Y la necesidad de obtener acreditaciones es cada vez más importante. Es por ello que este estudio buscó obtener un método que lea el amoníaco en las jaulas de los ratones que sea accesible de manera rápida y económica para los diferentes laboratorios que hay en el país ya sea un centro de investigación o un centro de estudios. Ya que, para realizar el control del amoníaco, los laboratorios utilizan diferentes tipos de equipos que son costosos y que requieren ser calibrados cada cierto tiempo, lo cual representa un gran costo adicional. Es por eso que esta investigación busco comprobar si las tiras reactivas Hydrion Ammonia Test Paper un método económico y accesible que no requiere calibración y es fácil de usar, es aplicable en las jaulas de los ratones para medir el nivel de amoníaco con la misma exactitud que lo haría equipos más complejos.

Debido a que los ratones son usados como animales de experimentación y se requiere que el estado de salud de estos especímenes sea óptimo, ya que los daños que pudiera presentar en los animales podrían interferir en los resultados de los experimentos. (Hernández, S. 2006 p. 253). Y también es necesario tener un control del amoníaco en las jaulas de los ratones ya que es un gas nocivo para la salud tanto de los animales como de las personas que los cuidan. (Neghab et al. 2018, p. 433)

Finalmente, este estudio llevara a realizar más investigaciones en los bioterios ya que conociendo el estado de nuestros micro ambientes como lo son las jaulas de los ratones podremos saber si el ambiente era el apropiado para los ratones, si necesitamos hacer cambios de material de cama más prolongados, si estamos expuestos o no a grandes cargas de amoníaco y muchos otros temas más relacionados con la mejora de nuestros bioterios.

4. OBJETIVO

4.1. Objetivo General

- Determinar los niveles de amoníaco mediante el uso de las tiras reactivas Hydrion Ammonia Test Paper en las jaulas de ratones optimice.

4.2. Objetivos Específicos

- Comprobar si los niveles detectados por las tiras reactivas Hydrion Ammonia Test Paper son similares a los resultados del método diseñado para ello, el GasAlert Extreme Ammonia (NH₃) Single Gas Detector de BW Technologies.
- Determinar si se podría utilizar convenientemente las tiras reactivas Hydrion Ammonia Test Paper como un método de medición del amoníaco en jaulas de ratones optimice.

5. MARCO TEÓRICO

Introducción al ratón de Laboratorio

La subespecie más prominente de ratones representados en ratones de laboratorio es el *M. musculus domesticus*. Todas las cepas endogámicas clásicas portan ADN mitocondrial derivado exclusivamente de *M. m. domesticus*. El análisis de los cromosomas Y de varias cepas endogámicas, incluyendo C57BL/6, Balb/c, y 129 reveló alelos cromosómicos Y, prácticamente indistinguibles, lo que sugiere un linaje paternal común de *M. m. domesticus*. Las cepas endogámicas contemporáneas se derivaron de la cría de colores de pelaje únicos y patrones de color. En 1902, William Ernest Castle, de la Universidad de Harvard, comenzó a utilizar estos ratones para estudiar la herencia genética de los mamíferos. Poco después se desempeñó como director fundador del Laboratorio Jackson. (American Association for Laboratory Animal Science, 2010 p. 1)

Los muchos enfoques para comprender la biología de los mamíferos proporcionados por el ratón han llevado a un aumento logarítmico en el número de cepas que exhiben mutaciones o cambios en la expresión génica inducidos por enfoques transgénicos. Determinar los fenotipos relacionados con estos cambios de manera rápida y eficiente es uno de los grandes desafíos de la actualidad. La capacidad de monitorear las respuestas fisiológicas utilizando enfoques previamente disponibles solo para estudios en humanos ha sido posible gracias a la miniaturización de los equipos y el uso de tecnologías de imágenes. (Fox et al 2006 p. 9)

El ratón de laboratorio es un modelo ideal para el estudio de la fisiología y la fisiopatología humana. Los humanos y los ratones pueden no parecerse mucho, pero los genes de ratones y humanos son aproximadamente 95% idénticos en sus regiones de codificación y funcionan prácticamente de la misma manera en un contexto biológico. El uso de ratones en la investigación también tiene numerosas ventajas prácticas, incluido su pequeño tamaño, cortos tiempos de gestación (3 semanas), facilidad de mantenimiento y producción de cohortes experimentales de animales en forma de camadas con un promedio de 5-10 crías. Muchos estudios que son de naturaleza evolutiva o invasivos no son posibles o éticos con sujetos humanos, pero pueden realizarse bajo condiciones muy controladas con ratones. (Hedrich Hans J. 2012 p. 37)

Como modelo preclínico de la enfermedad, se pueden probar nuevas terapias en ratones tanto por seguridad como por eficacia antes de su uso en pacientes humanos. Quizás una de las características más destacadas del ratón es la capacidad de crear y mantener cepas endogámicas. Los ratones de laboratorio son posiblemente los mamíferos domésticos más innatos, tanto que los ratones individuales dentro de una cepa son clones cercanos entre sí. Esta uniformidad permite la reproducibilidad de los experimentos a lo largo del tiempo entre laboratorios y la capacidad de estudiar de manera eficiente los efectos de la mutación genética mientras se minimizan la variación fenotípica. La relativa facilidad con la que los ratones pueden ser criados endogámicamente y selectivamente ha permitido la propagación de numerosas mutaciones genéticamente modificadas y espontáneas, así como la generación de paneles y conjuntos de cepas que han sido caballos de batalla utilizados en el mapeo genético y el análisis de rasgos complejos a lo largo de los años. (Hedrich Hans J. 2012 p. 37)

Cepas de ratón

Las cepas endogámicas, las exógenas, los ratones con mutación genéticamente modificada y espontánea, las cepas congénitas, el panel endogámico recombinante y las líneas entrecruzadas avanzadas representan una generosidad de diversos tipos de cepas, distintos en su utilidad para numerosos estudios y disponibles actualmente para los investigadores. Estas cepas permiten no solo los rasgos de un solo gen tanto en el contexto normal como enfermo, sino también los rasgos poligénicos y complejos y la regulación de los grupos de genes. Aunque las herramientas para el análisis genético han avanzado de manera sorprendente en las últimas décadas, las preocupaciones fundamentales relacionadas con el desarrollo de cepas y el mantenimiento de colonias siguen siendo las mismas e incluyen la viabilidad, la fecundidad, la disponibilidad de controles apropiados, el grado de diversidad genética y las complejidades. Causas por genes modificadores y segregación de fondos. (Fox et al 2006 p. 54)

Cepas endogámicas

Las cepas endogámicas son producidas por al menos 20 generaciones de apareamiento hermana x hermano. Sin embargo, uno debe ser consciente de que incluso después de 40 generaciones de endogamia puede haber heterocigosidad residual que es esencialmente eliminada por F60 [1, 2]. La endogamia continua produce ratones

genéticamente uniformes, que son homocigotos en prácticamente todos sus loci. La consecuencia práctica más importante de la endogamia es que debería haber prácticamente todos sus loci. La consecuencia práctica más importante de la endogamia es que no debe haber segregación genética dentro de la cepa y, como tal, cada ratón es esencialmente un clon genéticamente idéntico de sus padres y hermanos, lo que permite la propagación perpetua de animales genéticamente idénticos. Como no hay variación genética dentro de una cepa completamente endogámica, las características y rasgos observables, o fenotipo, son más uniformes dentro de un género. La única variación entre individuos se deberá a causas no genéticas. (Hedrich Hans J. 2012 p. 39)

Como se señaló anteriormente, el éxito del ratón de laboratorio como organismo modelo es en parte atribuible a su capacidad para superar la depresión endogámica. La depresión por endogamia es la pérdida de viabilidad o función resultante del exceso de endogamia, como se observó en muchas poblaciones, incluidas plantas, perros y humanos, donde las consecuencias negativas de la endogamia se han observado con mayor frecuencia. Los signos de depresiones endogámicas más frecuentemente citados son las fallas reproductivas, pero también se manifiesta como una mala salud. La supresión de la endogamia es más prominente en las generaciones filiales iniciales, donde el estado homocigoto de los alelos aumenta rápidamente. Las cepas endogámicas pueden ser muy sensibles a los cambios en el medio ambiente y, aunque algunas cepas endogámicas se reproducen bastante bien, otras pueden continuar luchando con un bajo rendimiento reproductivo hasta la extinción. Sin embargo, una vez que una cepa se vuelva completamente endogámica, la endogamia adicional no tendrá efecto. Por lo tanto, el fenotipo de una cepa endogámica solo cambiará como resultado de la fijación de una nueva mutación o como resultado de cambios ambientales. Las nuevas mutaciones son relativamente raras y solo una cuarta parte de ellas normalmente se solucionarán con el apareamiento continuo de hermanos completos. Sin embargo, muchas de estas mutaciones, que pueden conducir a una deriva genética, no mostrarán un fenotipo obvio. (Hedrich Hans J. 2012 p. 39)

Una serie de cepas endogámicas se desarrollaron a partir de ratones elegantes en el primer tercio del siglo XX. Estas se consideran las cepas endogámicas clásicas y entre ellas se encuentran BALB/c la serie C57, C3H, DBA y 129 cepas parentales, todas las cuales se han convertido en los estándares para la investigación en la mayoría de las áreas de biología de ratones. Las cepas endogámicas más comúnmente utilizadas han

sido endogámicas durante 200-300 generaciones. Las cepas endogámicas individuales exhiben características específicas, transmitidas de generación en generación, que las hacen ideales para tipos específicos de investigación y como modelos para explorar la variación genética y la biología humana. Por ejemplo, los ratones FVB son conocidos por sus camadas grandes y las hembras en general tienden a tener un cuidado excepcional de sus cachorros. El huevo fertilizado contiene pronucleos grandes y prominentes que facilitan la microinyección de ADN, por lo que esta cepa endogámica se ha utilizado ampliamente para la investigación transgénica a lo largo de los años. Por ejemplo, el envejecimiento de los ratones DBA/2J desarrolla anomalías progresivas en los ojos que modelan el glaucoma hereditario humano. También se sabe que los ratones DBA/2J muestran una intolerancia extrema al alcohol y la morfina. (Hedrich Hans J. 2012 p. 39)

Una vez completamente endogámicos, la única forma en que las cepas endogámicas pueden cambiar es como resultado de la acumulación de nuevas mutaciones o contaminación genética. Se debe diseñar un programa de reproducción para minimizar la posibilidad de que nuevas mutaciones se fijen en la colonia. Cuando se necesita un gran número de animales para fines de investigación, un esquema de reproducción apropiado es mantener una pequeña colonia de cimientos, y una colonia de expansión de tamaño suficiente para proporcionar todo el animal experimental requerido. La colonia de expansión se usa solo para producir animales experimentales y no contribuye a la supervivencia a largo plazo de la cepa. Las cepas endogámicas deben revisarse periódicamente para detectar contaminación grave. Tal control de calidad genética es relativamente fácil de realizar y se puede lograr con tan solo 27 polimorfismos de un solo nucleótido. (Hedrich Hans J. 2012 p. 40)

A diferencia de las poblaciones exogámicas, las cepas consanguíneas han sido tradicionalmente los animales elegidos para la investigación genética. Se necesitarán menos animales endogámicos en un experimento para lograr un nivel dado de precisión estadística que si se hubieran utilizado animales genéticamente segregados o exogámicos. Una cepa endogámica representa un genotipo único que puede propagarse indefinidamente. La secuenciación de múltiples genomas de ratón y el aumento de la densidad de los paneles SNP está aumentando rápidamente nuestra comprensión de la relación entre las cepas y nuestra comprensión de la base genética de estas diferencias fenotípicas entre las cepas y las subcepas. (Hedrich Hans J. 2012 p. 41)

BALB/c INBRED

Una cepa endogámica de propósito general para muchas disciplinas de investigación diferentes. A menudo se usa para la producción de anticuerpos monoclonales usando hibridomas de origen de células de bazo BALB / c. Muestra un buen rendimiento reproductivo y una larga vida reproductiva Disponible en Murine Pathogen Free TM, Excluded Flora y Germ Free health perfiles (Modelo de pedido #BALB para Murine Pathogen Free TM y Excluded Flora. Modelo de pedido # GF-BALB para Germ Free.) El estándar de salud sin germen es útil para estudios relacionados con el microbioma. (Taconic Models for Life. BALB/C INBRED, 2019).

- Color: Albino
- Especie: Ratón

C57BL/6NTac

Uno de los modelos de ratones consanguíneos más utilizados, el C57BL/6 se usa en casi todas las aplicaciones de investigación, y se usa comúnmente como fondo genético para modelos de ratones transgénicos. También es el modelo preferido para estudiar la obesidad inducida por la dieta y el modelo de encefalomiелitis autoinmune experimental crónica de esclerosis múltiple. (Taconic Models for Life. Black 6 (B6NTac) INBRED, 2019).

Las aplicaciones de investigación más populares incluyen oncología, inmunología, enfermedad metabólica, adicción y toxicología. C57BL / 6NTac es el sustrato C57BL / 6 preferido para la generación de modelos genéticamente modificados, incluido el Knockout Mouse Project (KOMP) y el International Mouse Phenotyping Consortium (IMPC) The Taconic B6 tiene un rendimiento reproductivo superior en comparación con otras subcepas B6: las hembras superovuladas producen una gran cantidad de embriones y los machos tienen mayores tasas de fertilización espermática. El Taconic C57BL / 6NTac ha demostrado ser más adecuado para el desarrollo de células madre embrionarias de calidad en comparación con otras subcepas B6. Experimentos; con un conjunto de cepas relacionadas en el mismo contexto para estudios mecanicistas que incluyen Rag2, Rag2 / OT-I, Rag2 / OT-II y muchos más Los datos históricos muestran que la hidrocefalia ocurre en el ratón C57BL / 6 en el 0.05% de la población y puede no

Sea evidente hasta que el animal tenga más de dos meses de edad. (Taconic Models for Life. Black 6 (B6NTac) INBRED, 2019).

- Color: Negro
- Especie: Ratón

Gas Amoniaco

El amoníaco es un gas alcalino, incoloro y corrosivo que tiene un olor muy fuerte. El nivel de detección de olores varía de 5 a 53 ppm. El amoníaco se utiliza como gas comprimido y en soluciones acuosas. También se usa en productos de limpieza para el hogar, en fertilizantes y como refrigerante. El amoniaco es muy soluble en agua. Debido a sus propiedades exotérmicas, el amoníaco forma hidróxido de amonio y produce calor cuando entra en contacto con superficies húmedas, como las membranas mucosas. Las propiedades corrosivas y exotérmicas del amoníaco pueden provocar daños inmediatos (irritación severa y quemaduras) en los ojos, la piel y las membranas mucosas de la cavidad oral y el tracto respiratorio. Además, el amoníaco se friega eficazmente en la región nasofaríngea del tracto respiratorio debido a su alta solubilidad en agua. (Committee on Acute Exposure Guideline Levels et al. 2008 p. 59)

El olor del amoníaco puede ser detectado por humanos en concentraciones > 5 ppm; el olor es altamente penetrante a 50 ppm (10 min). Los voluntarios humanos expuestos a amoníaco mostraron una ligera irritación a 30 ppm (10 min); irritación moderada de los ojos, la nariz, la garganta y el tórax a 50 ppm (10 min a 2 h); irritación moderada a altamente intensa a 80 ppm (30 min a 2 h); irritación muy intensa a 110 ppm (30 min a 2 h); Irritación insoportable a 140 ppm (30 min a 2 h), y lagrimeo e irritación excesivos a 500 ppm. El cierre de la glotis refleja, una respuesta protectora a la inhalación de vapores irritantes, ocurrió a 570 ppm para sujetos de 21 a 30 años, 1,000 ppm para sujetos de 60 años y 1,790 ppm para sujetos de 86 a 90 años. (Committee on Acute Exposure Guideline Levels et all. 2008 p. 60)

El amoníaco es una sustancia química producida tanto por los seres humanos como la naturaleza. Consiste de una parte de nitrógeno (N) y tres partes de hidrógeno (H₃). La cantidad de amoníaco producida cada año por seres humanos es casi la misma

producida anualmente por la naturaleza. Sin embargo, cuando se encuentra amoníaco en niveles que pueden causar preocupación, éstos probablemente se deben a su producción directa o indirecta por seres humanos. El amoníaco es un gas incoloro de olor muy penetrante. Esta forma del amoníaco se conoce también como amoníaco gaseoso o amoníaco anhidro (“sin agua”). El amoníaco gaseoso puede ser comprimido y bajo presión puede transformarse en un líquido. La mayoría de la gente está familiarizada con el olor del amoníaco debido a su uso en sales aromáticas, detergentes de uso doméstico y productos para limpiar vidrios. El amoníaco se disuelve fácilmente en agua. Esta forma se conoce también como amoníaco líquido, amoníaco acuoso o solución de amoníaco. En agua, la mayor parte del amoníaco se transforma en la forma iónica del amoníaco, conocida como iones de amonio, representada por la fórmula NH_4^+ (un ion es un átomo o grupo de átomos que ha adquirido una carga eléctrica neta al ganar o perder uno o más electrones). Los iones de amonio no son gases ni tienen olor. En pozos, ríos, lagos y suelos húmedos, la forma iónica del amoníaco es la más común. El amoníaco también puede combinarse con otras sustancias para formar compuestos de amonio, como por ejemplo sales como el cloruro de amonio, sulfato de amonio, nitrato de amonio y otras sales. El amoníaco es sumamente importante para las plantas, los animales y los seres humanos. Se encuentra en el agua, el suelo y el aire, y es una fuente de nitrógeno que necesitan las plantas y los animales. La mayor parte del amoníaco en el ambiente se deriva de la descomposición natural de estiércol y de plantas y animales muertos. El 80% del amoníaco que se manufactura se usa como abono. Un tercio de esta cantidad se aplica directamente al suelo en forma de amoníaco puro. El resto se usa para producir otros abonos que contienen compuestos de amonio, generalmente sales de amonio. Estos abonos se usan para suministrar nitrógeno a las plantas. El amoníaco se usa también para fabricar fibras sintéticas, plásticos y explosivos. (Servicio de Salud Pública Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. Setiembre, 2004 p. 2)

El amoniaco en el ambiente

Debido a que el amoníaco ocurre naturalmente en el ambiente, todos estamos expuestos rutinariamente a bajos niveles de amoníaco en el aire, el suelo y el agua. El amoníaco existe naturalmente en el aire en niveles entre 1 y 5 partes en un billón de partes de aire (ppb). Se encuentra comúnmente en el agua de lluvia. Los niveles de amoníaco en ríos y bahías generalmente son menores de 6 partes por millón (ppm; 6

ppm = 6,000 ppb). El suelo contiene típicamente entre 1 y 5 ppm de amoníaco. Los niveles de amoníaco varían durante el día, y también de temporada a temporada. Generalmente los niveles más altos de amoníaco se detectan en el verano y la primavera. El amoníaco es esencial para los mamíferos y es necesario para la síntesis de material genético y proteínas. También juega un papel en el mantenimiento del equilibrio ácido-base en los tejidos de mamíferos. El amoníaco no se moviliza mucha distancia en el ambiente. El amoníaco es reciclado naturalmente y existen en la naturaleza muchas maneras para incorporar y transformar al amoníaco. En el suelo o el agua, las plantas y los microorganismos incorporan amoníaco rápidamente. Después de que se aplica abono que contiene amoníaco al suelo, la cantidad de amoníaco en el suelo disminuye a bajos niveles en unos días. El amoníaco permanece en el aire aproximadamente una semana. Se ha encontrado amoníaco en el aire, el suelo y en muestras de agua en sitios de desechos peligrosos. En el aire cerca de sitios de desechos peligrosos, el amoníaco puede encontrarse en forma de gas. También se puede encontrar amoníaco disuelto en lagunas y en otros cuerpos de agua en sitios de desechos. El amoníaco puede encontrarse adherido a partículas en el suelo en sitios de desechos. La concentración promedio de amoníaco que se ha encontrado en sitios de desechos peligrosos varía entre 1 y 1,000 ppm en muestras de suelo y hasta 16 ppm en muestras de agua. (Servicio de Salud Pública Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. Setiembre, 2004 p. 2-3)

La percepción de amoniaco en el ambiente es un indicador de saturación del lecho, por lo que se recomienda tener programas de cambio de lecho según la población que se maneje. Por ejemplo, se conoce que el hombre es capaz de percibir 100 ppm de amoniaco del ambiente del ratón y éste puede percibir desde 25 ppm de amoniaco (Instituto Nacional de Salud 2008 p. 31).

Como Afecta la Salud

El amoníaco es una sustancia corrosiva y los efectos principales de la exposición al amoníaco ocurren en el sitio de contacto directo (por ejemplo, la piel, los ojos, la boca, y los sistemas respiratorio y digestivo). Por ejemplo, si usted derrama una botella de amoníaco concentrado en el piso, usted detectará el fuerte olor a amoníaco; puede que usted tosa y los ojos le lagrimeen a causa de la irritación. Si usted se expusiera a niveles

muy altos de amoníaco, sufriría efectos más graves. (Servicio de Salud Pública Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. Setiembre, 2004 p. 4)

El amoniaco en las jaulas de los ratones

El lecho sucio debe ser retirado y reemplazado por material fresco con la frecuencia necesaria para mantener a los animales limpios y secos; y mantener los contaminantes como el amoniaco, a concentraciones por debajo de los niveles irritantes por debajo de los niveles irritantes para las membranas mucosas. La frecuencia del cambio del lecho dependen de varios factores como la especie, el número y tamaño de los animales en el confinamiento primario; el tipo y tamaño del confinamiento las temperaturas macro y micro ambientales la humedad relativa y la ventilación directa del confinamiento; la producción de orina y heces; la apariencia y la humedad del lecho, y las condiciones experimentales, como en caso de cirugía o debilitamiento, que podrían limitar el movimiento de un animal o su acceso al lecho limpio. No hay una frecuencia absoluta de cambios del lecho; esa decisión es un asunto de criterio profesional y debería establecerse en consulta entre el investigador y el personal que se encuentra en cuidado de los animales. Varía típicamente desde diario hasta semanal, en algunos casos los cambios frecuentes de cama están contra indicados; algunos ejemplos incluyen partes del periodo pre y post parto, objetivos de investigación que se verán afectados, y las especies en el que el marcado territorial con olores es crítico y el éxito de la reproducción depende de las feromonas. (Comité para la Actualización de la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio 2017 p. 78)

Medición de amoniaco en el ambiente en Avicultura

Papel de prueba Hydrion amoníaco:

El papel de prueba Hydrion amoníaco es el método más económico y simple de medir amoniaco, pudiendo ser comprado en Amazon por el precio de 14.74 dólares es decir 50 soles. Una pequeña tira de papel se humedece con agua destilada y luego es expuesto al aire en la granja avícola durante 15 segundos. Los productos químicos en el papel reaccionan con el amoníaco en el aire que hace que el papel cambie de color. El color de la tira se puede comparar con una tabla de colores que viene con las tiras de prueba para determinar la cantidad de amoníaco en la granja. (The University of Georgia, 2002 p. 1)

Aunque estudios realizados en Canadá han demostrado que los documentos de prueba son bastante precisos en comparación con los tubos de gas, no proporcionan una medida precisa de amoníaco. La tabla de colores que viene con el papel de prueba ilustra el color cambio asociado a 5, 10, 20, 50 y 100 ppm. Aunque los cambios de color asociados con 10 ppm o 20 ppm son fácilmente distinguible, es mucho más difícil determinar la diferencia de color entre 20 y 50 ppm. Como resultado, las tiras de prueba de amoníaco son las más adecuadas para determinar en general si el amoníaco ha alcanzado un nivel dañino, no para determinar el nivel preciso de amoníaco. (The University of Georgia, 2002 p. 1)

Para maximizar la precisión de las tiras, es importante usar agua destilada. Pequeñas cantidades de cloro y otros productos químicos pueden reaccionar con el papel, dando una lectura falsa. El color del papel debe anotarse después de no más de 15 segundos después de que se humedece porque a medida que el papel se seca el color tiende a desvanecerse. Puede haber variaciones en el color sobre la longitud de una tira mojada. El cambio de color más preciso tiende a ocurrir en la transición entre el mojado y áreas secas de la tira de papel (The University of Georgia, 2002 p. 1)

Hydrion ammonia Test Paper

El papel de prueba del medidor de amoníaco Hydrion está diseñado y calibrado para medir la cantidad de amoníaco en el aire en partes por millón donde haya contaminación por amoníaco actual o potencial. La tabla de colores tiene coincidencias en 0-5-10-20-50-100 ppm.

El Hydrion Ammonia Test Kit es especialmente útil cuando se crían grandes cantidades de animales, como cuartos de animales o gallineros, y los desechos de animales son una fuente común de contaminación por amoníaco. Los operadores de estas instalaciones dependen de nuestros kits de prueba para detectar bolsas de aire muerto y áreas inadecuadamente ventiladas, alertándolas sobre niveles peligrosos de amoníaco en el aire.

Cada caja contiene 10 juegos, cada uno de los cuales consta de un rollo de papel de prueba de 15 pies, empaquetado en un dispensador de bolsillo con una tabla de colores especialmente calibrados y una caja de polipropileno. Proporciona aproximadamente 750-1000 pruebas (Micro Essential Laboratory Inc, 2017 p. 1)

GasAlert Extreme Ammonia (NH₃) Single Gas Detector de BW Technologies

Características del producto

- Detector de un solo gas para medir los niveles de amoníaco (NH₃) en entornos naturales e industriales, y en otras aplicaciones de seguridad personal, capacitación, investigación y monitoreo del aire ambiental
- El sensor de celda electroquímica monitorea continuamente los niveles de amoníaco en el ambiente
- Las alarmas de audio, visuales y de vibración se activan simultáneamente cuando el gas de amoníaco alcanza valores preestablecidos bajo o alto
- La pantalla LCD muestra el estado de auto verificación, los puntos de ajuste de la alarma, la exposición máxima, el tipo de gas, el nivel de alarma (TWA, STEL, bajo o alto) y la vida útil restante de la batería
- La pinza de cocodrilo montada en la parte posterior permite llevar la unidad en un cinturón, y una funda resistente ayuda a protegerlo contra el daño

Descripción del producto

El detector de un solo gas GAXT-A-DL Gas Alert de amoníaco (NH₃) de BW Technologies es un detector portátil de un solo gas que utiliza un sensor de celda electroquímica para medir continuamente el amoníaco (NH₃) y tiene alarmas de audio, visuales y vibratorias, se puede obtener por Amazon al precio de 500 dólares o 1700 soles. Que alerta simultáneamente cuando el amoníaco alcanza cualquiera de los cuatro niveles preestablecidos. El detector tiene una pantalla LCD alfanumérica que puede ser ajustada por el usuario para mostrar el tipo de gas monitoreado, los dos puntos de ajuste de alarma, el tipo de alarma, el nivel máximo de gas registrado en el período de 24 horas anterior, el tiempo transcurrido desde que se alcanzó ese nivel máximo y la duración de la batería restante. Se maneja y ajusta con un solo botón. Este detector se usa para indicar los niveles potencialmente dañinos de gas de amoníaco que ocurren naturalmente en el ambiente; en una variedad de entornos ocupacionales, tales como refinerías de petróleo, curtiembres, instalaciones de tratamiento de aguas residuales y fábricas de papel; y en otras aplicaciones de seguridad personal, educativas y de monitoreo ambiental. (BW Technologies, 2017)

6. ANTECEDENTES

Ida Washington y Mark Payton (2016), en su investigación: “Niveles de amoníaco y características de la mancha urinaria como indicadores de cambio de jaula para jaulas de ratones con ventilación individual de alta densidad” tenían como objetivo utilizar las características de la mancha producida por la orina como forma de indicar la cantidad de amoníaco que había en la jaula.

En ese trabajo ellos compararon las manchas de orina en la jaula con las etiquetas de medición de amoníaco, Sensor de amoníaco para animales pequeños, Pacific Sentry, Redmond, WA, que tiene un sistema colorimétrico, logrando así identificar un aproximado de cuando se debería realizar el cambio de las jaulas de acuerdo al tamaño y forma de la mancha de orina presente.

Según Angela M Mexas, Angela K Brice, Adam C Caro, Troy S Hillanbrand, y Diane J Gaertner (2015) en su estudio “Histopatología nasal y niveles de amoníaco en jaula en grupos de ratonas hembras y en reproducción alojados en jaulas de aislamiento estático” tuvieron como objetivo determinar si había relación entre la cantidad de amoníaco producido en jaulas de ratones y lesiones en el tejido intranasal. Llegando a la conclusión que las diferentes jaulas donde se hizo la necropsia de los animales para revisar los tejidos, se presentaron más lesiones a mayor nivel de amoníaco comprobando así que si existe una relación directa entre la cantidad de amoníaco y el nivel de daño en los tejidos.

De acuerdo con Masoud Neghab et al. (2018), su estudio “Trastornos de ventilación asociados a la exposición por inhalación durante el trabajo al trihidruro de nitrógeno (amoníaco)” donde investigo el efecto que tiene inhalar el amoníaco debido a el trabajo, llevo a la conclusión de que la exposición a bajas dosis de amoníaco por tiempo prolongado ocasiona la pérdida de capacidad pulmonar tanto crónica irreversible como aguda reversible.

Robert B Morrow and Rhonda J Wiler, mencionan en su estudio “Medición de amoníaco en el microambiente en jaulas inter-ventiladas”, que los analizadores colorimétricos están diseñados para ser portátiles, convenientes y fáciles de usar, de

modo que un entorno que contiene un gas tóxico desconocido puede evaluarse rápidamente. Antes de 2005, este tipo de dispositivo era el único disponible Instrumento portátil para medir la concentración de amoníaco. En los 38 estudios que revisaron, 23 (61%) midieron el amoníaco de manera coherente. Y los sensores colorimétricos solo son específicos en un 15% al 20%.

Catherine E. Dewey, Barbara Cox y Joanna Leyenaar realizaron una comparación de dos métodos para medir al amoniaco en su estudio “Medición de la concentración de amoniaco en una granja de cerdos usando las pruebas Draeger™ y pHydrion™” donde la prueba de amoníaco pHydrion™ proporciona una precisa y rentable medida para detectar las concentraciones de amoníaco en los edificios para el confinamiento porcino siendo considerablemente menos caro que el Draeger™, y puede proporcionar estimaciones precisas de concentraciones de amoniaco cuando hay fondos limitados disponibles.

7. HIPÓTESIS

7.1. Hipótesis alterna:

Los resultados de las tiras reactivas Hydrion Ammonia Test Paper son similares a los resultados del GasAlert Extreme Ammonia (NH₃) Single Gas Detector de BW Technologies para medir el amoníaco en jaulas de ratones.

7.2. Hipótesis nula:

No hay relación entre los resultados de las tiras reactivas Hydrion Ammonia Test Paper y los resultados del GasAlert Extreme Ammonia (NH₃) Single Gas Detector de BW Technologies para medir el amoníaco en jaulas de ratones.

8. MATERIALES Y MÉTODOS

8.1. Lugar de Ejecución

Esta investigación se realizó en el Bioterio del Centro de Investigación de Enfermedades Tropicales de la Marina de los EE. UU (NAMRU-6) ubicada en el Centro Médico Naval en La av. Venezuela cd 36 S/N Bellavista, Callao.

8.2. Tipo y Diseño de Investigación

Diseño metodológico

El estudio fue de tipo correlacional experimental y se realizó en el bioterio del Centro de Investigación de Enfermedades Tropicales de la Marina de los EE. UU (NAMRU-6).

Este cálculo se realizó suponiendo una diferencia de 1 punto en las mediciones entre las tiras reactivas Hydrion Ammonia Test Paper vs el GasAlert Extreme Ammonia (NH₃) Single Gas Detector, con un 80% de potencia estadística y un 5% de probabilidad de cometer un error de tipo 1. Cada jaula tuvo como máximo hasta 4 ratones. Cada grupo de ratones se probó durante cuatro ciclos de cambio de jaula de 1 semana. Las pruebas se realizaron antes y después de que se cambien las jaulas para cada grupo (D0, D7, D14 y D21). Nota: todas las jaulas permanecieron cerradas durante al menos 30 minutos antes de la prueba.

Cada medición se realizó por triplicado para determinar un nivel promedio de amoníaco. Las siguientes variables fueron registradas, para cada grupo de ratones, durante cada evento de prueba: la humedad y la temperatura de la habitación, el número total de ratones por jaula y el sexo de los ratones.

8.3. Variables

- Número de ratones por jaula.
- Cantidad de amoniaco.
- Humedad relativa de la habitación.
- Temperatura de la habitación.

8.4. Operacionalización de las Variables

Variables	Definición Conceptual	Definición Operacional	Dimensiones	Indicadores
Número de ratones por jaula Independiente	Variable cuantitativa	Cuantos ratones hay en la jaula	2, 3, 4	Edad de ratones Sexo de ratones
Cantidad de amoniaco Dependiente	Variable cuantitativa	Concentración de amoniaco	Partes por millón 0ppm, 5ppm...	Bajo, medio, alto
Humedad relativa de la habitación Independiente	Variable cuantitativa	Porcentaje de humedad del cuarto	30% - 70%	Baja, normal o alta
Temperatura de la habitación Independiente	Variable cuantitativa	A cuantos grados de temperatura se encuentra el cuarto	20 – 26 grados Celsius	Baja, normal o alta

8.5. Muestro

El muestreo se realizó en 30 grupos (jaulas) (15 grupos de cada cepa de ratones).

Los criterios de inclusión fueron: Jaulas de ratones del laboratorio del Bioterio del Centro de Investigación de Enfermedades Tropicales de la Marina de los EE.UU (NAMRU-6) que contengan de 2 a más ratones, de ambos sexos, de cualquier cepa y que no se encuentren en periodo de lactancia.

Los criterios de exclusión fueron: Jaulas donde hallan ratones en periodo de lactancia, donde solo halla 1 ratón y jaulas que no sean del Bioterio del Centro de Investigación de Enfermedades Tropicales de la Marina de los EE.UU (NAMRU-6).

8.6. Equipos y Materiales

- Rack y jaulas Optimice: Rack assembly / Polysulfona / Jaulas ambar, código del product C89100PFF



Figura 1. Rack Optimice

- Cabina de cambio Labconco. (PuriCare Open Access Stations)
- Kit GasAlert Extreme Ammonia (NH₃), GAXT-A-DL
- Hydrion Ammonia Test Paper de Micro Essential Lab.
- Agua destilada
- Jeringa como gotero
- Guantes
- Gorros
- Mandil
- Cubre zapatos
- Tapa bocas

8.7. Procedimiento

Para ingresar a la habitación de los ratones se utilizó todo el equipo de protección personal (EPP) requerido para trabajar ahí. Se retiraron las jaulas del Rack optimice, y se llevaron a la cabina de cambio donde primero se tomó la medida con el GasAlert Extreme Ammonia (NH₃) sin abrir las jaulas y sin prender la cabina para así evitar aumentar el flujo del aire. El procedimiento de la lectura con el GasAlert Extreme Ammonia (NH₃) fue el siguiente:

- Primero se prendió y luego se posicionó el sensor cerca a la boquilla de la botella abierta que contiene amoniaco, que viene con el kit, para comprobar que realmente está leyendo el amoniaco luego que la alarma se activó se alejó el sensor hasta que volvió a leer 0.



Figura 3. Botella con amoniaco



Figura 2. Lectura del amoniaco de la botella

- Se retiró una jaula del optimice rack y se llevó a la cabina de cambio. Sin abrir la jaula, se colocó la tapa al filtro por donde entra el aire y se conectó la tapa que tiene la bomba del otro extremo en el filtro de salida del aire.



Figura 4. Jaula Optimice conectada al Kit GasAlert Extreme Ammonia

- Se bombeó por 30 a 45 segundos hasta que el valor era estable. En los casos en que el después de realizar el bombeo el valor fue 0 eso quiere se interpretó como que el amoniaco se encontraba por debajo de 4 ppm que es el mínimo valor que detecta.



Figura 5. Lectura del amoniaco en jaula con el Kit GasAlert Extreme Ammonia

- Se realizó este procedimiento 3 veces seguidas.

Después de realizar la medición con el GasAlert Extreme Ammonia (NH₃) en todas las jaulas, se procedió a realizar la lectura del amoniaco con las tiras reactivas Hydrion Ammonia Test Paper en jaulas que ya tenían más de media hora cerradas, de la siguiente manera:

- Se cortó 3 pedazos de la tira de papel y se pegaron en una tira larga de masking tape de manera que queden al inicio, medio y final de la jaula, se humedeció con unas gotas de agua destilada las tiras y de manera inmediata se abrió la tapa solo lo suficiente para que pueda ingresar la cinta con las tiras, para evitar que se escape el amoniaco y evitar asustar a los ratones y se esperó 15 segundos.



Figura 6. Ubicando 3 tiras Hydrion Ammonia al inicio, medio y final de la jaula

- Se retiró la cinta con los papeles aun pegados y se comprobó el color con la tabla de colores que viene junto con las tiras.



Figura 7. Realizando una lectura de las tiras expuestas al amoniaco en la jaula de ratones

Los resultados de las 2 lecturas fueron las siguientes:

- Primera semana: Se inició el estudio haciendo una primera medición después que los ratones fueron colocados en una jaula limpia y que la jaula tuviera como mínimo 30 minutos sin haber sido abierta, anotando la humedad y temperatura del cuarto, teniendo los siguientes resultados:
- Desde la segunda semana hasta la cuarta semana la medición se realizó antes que se realice el cambio de los ratones a una jaula limpia y teniendo en consideración que la jaula tenga como mínimo 30 minutos sin haber sido abierta

9. ASPECTO ÉTICO

La presente investigación se realizó bajo la aprobación del CICUAL del bioterio de NAMRU-6 con fecha 19 de febrero del 2019. Todos los procedimientos realizados se realizaron conforme al protocolo aprobado, cumpliendo los estándares internacionales establecidos en La Guía para el Uso y Cuidado de los Animales de Laboratorio, incluyendo el principio de las 3R's. Reconociendo las obligaciones morales, éticas y administrativas inherentes asociadas con el desempeño de esta tesis, y que todas las personas asociadas con este proyecto demostraron una preocupación por la salud, la comodidad y el bienestar de los animales de investigación.

10. ANÁLISIS DE DATOS

Análisis Estadístico.

La información obtenida fue ingresada en una base de datos empleando Microsoft Excel® 2019. Los análisis fueron realizados con el paquete estadístico Stata 11®. La Prueba de Shapiro Wilk fue empleada para conocer si los datos provenían de una distribución normal, mientras que la diferencia de medias fue realizada con la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney. Ambas pruebas fueron realizadas con un nivel de confianza de 95%.

11. RESULTADOS

Treinta jaulas de dimensiones de 36.3 cm de largo por 29.2 cm de ancho al frente y 9.7 cm atrás con una altura de 15.5 cm, con un total de 82 ratones, entre hembras y machos, distribuidos de 2 a 4 individuos por jaula fueron evaluadas para determinar el nivel de amoniaco presente, no se tomaron en cuenta jaulas con un solo ratón ya que se buscaba tener una muestra representativa de amoniaco en las jaulas y un solo ejemplar no ensucia la jaula de manera significativa. Se emplearon los métodos de medición GasAlert Extreme Ammonia (NH₃) Single Gas Detector y el método Hydrion Ammonia Test Paper strips para la medición de amoniaco. Y finalmente las líneas de ratones utilizadas fueron C57Bl/6Tac (n = 39) y BALB/cTac (n = 43).

Tabla 1

Características de los ratones de las jaulas que fueron evaluadas

Línea de Ratón	Hembras (n)	Machos (n)
BALB-C	31	12
C57Bl/6	26	13
Total	57	25

En la tabla N°1 se observa el número de ratones que fueron utilizados en el estudio, clasificados por sexo, cepa y el total por sexo.

Se realizaron un total de cuatro mediciones independientes, cada una con duración aproximada de 1 hora 30 minutos; estas fueron realizadas por las mañanas antes de que el material de cama con 7 días de uso sea retirado y por las tardes después de unas 4 horas que se había realizado el cambio del material de cama y se encontraba limpio. La recolección de datos se realizó durante el mes de marzo, los niveles de temperatura y humedad fueron registrados tanto al comenzar como al terminar las mediciones, manteniéndose el ambiente con una temperatura de 23.5°C y una humedad relativa de 58%, no se presentó diferencia considerable entre los días que se realizaron las mediciones.

Tabla 2

Características marco ambientales de la habitación

	Macroambientales	Estándares Internacionales
Temperatura Promedio	23.7 °C	20 -26 °C
Humedad Promedio	58.56 %	30 – 70 %

En la tabla N°2 se indica la temperatura promedio del cuarto, que fue 23.7 °C y la humedad promedio 58.56%, durante las mediciones del amoníaco y también el promedio estándar permitido. Las temperaturas y humedad del cuarto siempre se mantuvieron dentro de los estándares internacionales.

Según la Prueba de Shapiro Wilk los datos siguen una distribución no normal ($p = 0,0001$), por lo que las medianas fueron analizadas con la prueba no paramétrica U-Mann-Whitney, como se puede ver en la tabla 13 en anexos.

Los niveles de amoníaco en jaulas no muestran diferencia estadística significativa por sexo, ni al emplear el papel ($p = 0.2$), ni al emplear el kit ($p = 0,11$) como podemos observar en la tabla 14 y 15 en anexos. Sin embargo, ambos métodos de detección de amoníaco mostraron diferencia estadística significativa por línea de ratón (p value Papel = 0.006; p value Kit 0.001, como podemos observar en la tabla 16 y 17 en anexos).

Tabla 3

Rangos y promedio de amoníaco por cepa de ratón en el día 0 post cambio de cama según método utilizado

		Hydriion Ammonia Test Paper strips	GasAlert Extreme Ammonia (NH3) Single Gas Detector
BALB-C	Hembras	0	0
	Machos	0	0
C57BL/6	Hembras	0	0
	Machos	0	0

En la tabla 3 podemos observar que en el primer día de la medición no había amoníaco presente en las jaulas.

Tabla 4

Rangos y promedio de amoniaco por cepa de ratón en el día 7 post cambio de cama según método utilizado

		Hydrion Ammonia Test Paper strips	GasAlert Extreme Ammonia (NH3) Single Gas Detector
BALB-C	Hembras	0-10	6.1
	Machos	0-5	3
C57BL/6	Hembras	0-10	9.04
	Machos	0-5	3.6

En la tabla 4 se puede evidenciar que en hembras de la cepa BALB-C se obtuvo un nivel de 6.1 frente a un 0-10 con Hydrion Ammonia Test Paper strips. De igual manera con el método GasAlert Extreme Ammonia se obtuvo un resultado de 9.04 frente a un 0-10 en hembras de la cepa C57BL/6.

Los resultados mostraron que la presencia de amoniaco es significativamente mayor en el material de cama con siete días de uso, lo cual fue detectado con el Kit ($p = 3.85$) y con el papel ($p = 1,09$) como podemos observar en la tabla 18 y 19 en anexos. Ya que como se demuestra en la tabla 3 las mediciones realizadas con ambos métodos siempre dieron como resultado 0 para la cantidad de amoniaco encontrado en todas las jaulas independientemente del número de ratones, del sexo de ellos o de la cepa a la que pertenecían. También se observa que a mayor cantidad de ratones por jaula mayor es la cantidad de amoniaco presente.

Finalmente, las mediciones realizadas con método GasAlert Extreme Ammonia (NH3) Single Gas Detector y con el método Hydrion Ammonia Test Paper strips no mostraron diferencias estadísticas significativas ($p = 0,56$), como podemos observar en la tabla 20 en anexos, por lo que no se rechaza la hipótesis nula, es decir, ambos métodos de medición de los niveles de amoniaco presentan valores similares, teniendo la misma utilidad.

12. DISCUSIÓN

En el área de investigación el modelo animal más usado es el ratón (*Mus musculus*) (Hernández, S. 2006 p. 254) y a través del tiempo se han mejorado mucho los métodos de crianza de ellos basándose en su bienestar y teniendo en consideración que animales menos estresados representan mejores resultados en los experimentos. Uno de los factores que se deben tener en cuenta en la crianza de los ratones es la cantidad de amoníaco presente en sus jaulas ya que estas pueden ocasionar problemas en el tracto respiratorio (Brice, Caro, Gaertner, Hillanbrand y Mexas, 2014 p. 478).

El amoníaco es un gas alcalino, incoloro y corrosivo que tiene un olor muy fuerte. El nivel de detección de olores varía de 5 a 53 ppm. El amoníaco se utiliza como gas comprimido y en soluciones acuosas. También se usa en productos de limpieza para el hogar, en fertilizantes y como refrigerante. El amoníaco es muy soluble en agua. Debido a sus propiedades exotérmicas, el amoníaco forma hidróxido de amonio y produce calor cuando entra en contacto con superficies húmedas, como las membranas mucosas. Las propiedades corrosivas y exotérmicas del amoníaco pueden provocar daños inmediatos (irritación severa y quemaduras) en los ojos, la piel y las membranas mucosas de la cavidad oral y el tracto respiratorio. Además, el amoníaco se friega eficazmente en la región nasofaríngea del tracto respiratorio debido a su alta solubilidad en agua. (Committee on Acute Exposure Guideline Levels et al. 2008 p. 59)

El amoníaco es una sustancia corrosiva y los efectos principales de la exposición al amoníaco ocurren en el sitio de contacto directo (por ejemplo, la piel, los ojos, la boca, y los sistemas respiratorio y digestivo). Por ejemplo, si usted derrama una botella de amoníaco concentrado en el piso, usted detectará el fuerte olor a amoníaco; puede que usted tosa y los ojos le lagrimeen a causa de la irritación. Si usted se expusiera a niveles muy altos de amoníaco, sufriría efectos más graves. (Servicio de Salud Pública Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. Setiembre, 2004 p. 4)

La presente tesis tuvo como objetivo general determinar los niveles de amoníaco mediante el uso de las tiras reactivas Hydrion Ammonia Test Paper en las jaulas de ratones Optimice ya que en los bioterios de lima - Perú no se realiza esta medición por lo tanto no se puede asegurar que los ratones habitan en un ambiente donde el amoníaco

es menos a 25 ppm que es el nivel máximo al que pueden estar expuestos los ratones (Instituto Nacional de Salud 2008 p. 31).

Para validar que los valores obtenidos por Hydrion Ammonia Test Paper eran correctos se le comparo con los resultados del GasAlert Extreme Ammonia (NH₃) Single Gas Detector de BW Technologies que es un equipo diseñado especialmente para la medición en las jaulas Optimice. El procedimiento tuvo como resultado que las mediciones realizadas con método GasAlert Extreme Ammonia (NH₃) Single Gas Detector y con el método Hydrion Ammonia Test Paper strips no mostraron diferencias estadísticas significativas ($p = 0,56$).

Según mis resultados obtenidos de la cantidad de amoníaco promedio al 7mo día concuerdo con Ida Washington y Mark Payton (2016) que mencionan en su estudio que conocer la cantidad de amoníaco presente en las jaulas nos permitiría prolongar el cambio de ellas, ya que sabemos que el micro ambiente no es toxico para los ratones cumpliendo así uno de los requisitos establecidos por la “Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio”, lo cual a lo largo del año representa un ahorro significativo.

Los niveles de amoníaco medidos son menores que en el estudio de Masoud Neghab et al. (2018) y mucho menor a los documentados por Angela M Mexas, Angela K Brice, Adam C Caro, Troy S Hillanbrand, y Diane J Gaertner (2015) donde mencionan haber encontrado una relación entre la cantidad de amoníaco y las lesiones encontradas en las vías respiratorias durante la necropsia de los ratones.

Robert B Morrow y Rhonda J Wiler informan en su estudio que de los 38 estudios que revisaron, 23 (61%) midieron el amoníaco de manera coherente con un método colorimétrico por gas. Y los sensores colorimétricos solo son específicos en un 15% al 20%, lo cual no concuerda con los resultados obtenidos en este estudio ya que los resultados fueron precisos y consistentes entre los dos métodos, el colorimétrico (Hydrion Ammonia Test Paper strips) y el digital (GasAlert Extreme Ammonia (NH₃) Single Gas Detector) teniendo como similitud que se usaron jaulas intra-ventiladas, lo que mantenía el flujo del aire.

El método utilizado por Ida Washington y Mark Payton (2016) donde plantean utilizar las manchas urinarias como indicadores de cambio de las jaulas, se asemeja en

el mío en que la prueba que utilizaron para medir el amoníaco eran unos marcadores de amoníaco colorimétricos, pero difiere de mi método empleado con las Hydrion Ammonia Test Paper strips ya que sería un error considerar solo un punto de la jaula como referente del nivel de amoníaco total. Es por ello que se trabajó con 3 tiras en 3 puntos diferentes de la jaula logrando así obtener un promedio más exacto de lo que sería el amoníaco en el microambiente de los ratones.

Los resultados de Catherine E. Dewey, Bárbara Cox y Joanna Leyenaar que obtuvieron en su estudio “Medición de la concentración de amoníaco en una granja de cerdos usando las pruebas Draeger™ y pHydrion™” concuerdan con los resultados obtenidos en esta investigación ya que llegan a la conclusión de que los resultados del Hydrion Ammonia Test Paper son bastante precisos y sustancialmente más económicos que otros métodos, muy similar a lo obtenido por este trabajo de investigación teniendo en cuenta que se usaron el mismo tipo de tiras reactivas para la medición de amoníaco.

Finalmente, ya habiendo comprobado que las tiras Hydrion Ammonia Test Paper dan un resultado similar a los equipos digitales ya no hay limitantes que eviten que en los bioterios de Lima se puedan empezar a realizar las medidas del amoníaco asegurando el bienestar de los animales y logrando encaminarse a la meta final de acreditaciones internacionales.

CONCLUSIONES

- Se pudo determinar los niveles de amoníaco mediante las tiras reactivas Hydrion Ammonia Test Paper en las jaulas de los ratones optimice.
- El método colorimétrico de las tiras Hydrion Ammonia Test Paper strips si puede ser utilizado como una alternativa a los métodos estándares de medición del amoníaco en jaulas de ratones.
- La lectura del amoníaco con las tiras Hydrion Ammonia Test Paper strips son similares a los leídos con el equipo GasAlert Extreme Ammonia (NH₃) Single Gas Detector
- Para obtener una medición más precisa con las tiras Hydrion Ammonia Test Paper strips es aconsejable realizar las mediciones de amoníaco en diferentes puntos de la jaula ya que si se coloca en un solo punto la lectura no será precisa.
- Las tiras Hydrion Ammonia Test Paper strips son económicas, accesibles y de fácil utilización, características ventajosas para los bioterios del Perú que encuentran dificultades logísticas para la adquisición de materiales y equipos extranjeros.

RECOMENDACIONES

- Emplear las tiras Hydrion Ammonia Test Paper strips para el control de las mediciones de amoniaco en las jaulas de los ratones de Bioterio, siempre y cuando existan dificultades logísticas que impidan la adquisición de un equipo sofisticado y especializado para este tipo de evaluaciones.
- Emplear agua destilada para humedecer las tiras del Hydrion Ammonia Test Paper strips ya que el empleo del agua de caño altera el color de las tiras debido a los metales presentes en ella.
- Realizar nuevos estudios con diversas frecuencias de cambio de cama, incluyendo periodos más extensos (de 2 semanas), ya que periodos más prolongados de cambio optimizarían el tiempo del trabajador y reducirían los gastos del material de cama.
- Se recomienda la realización de futuros estudios en jaulas que tengan mayor cantidad de animales y en ambientes que no cuenten con un sistema macroambiental controlado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aaalac international (2019) Recuperado de:

https://www.aaalac.org/spanish/benefits_sp.cfm

American Association for Laboratory Animal Science (2010) Laboratory Mouse Handbook.

Angela M Mexas, Angela K Brice, Adam C Caro, Troy S Hillanbrand, and Diane J Gaertner (2015) *Nasal Histopathology and Intracage Ammonia Levels in Female Groups and Breeding Mice Housed in Static Isolation Cages*. Journal of the American Association for Laboratory Animal Science, vol. 54 p.478-486.

Asociación Internacional para la Evaluación y Acreditación del Cuidado de Animales de Laboratorio, (actualizado en el 2018), Recuperado de:
<https://www.aaalac.org/spanish/index.sp.cfm>

Brice Angela K, Caro Adam C, Gaertner Diane J, Hillanbrand Troy S, and Mexas Angela M, (2014) *Nasal Histopathology and Intracage Ammonia Levels in Female Groups and Breeding Mice Housed in Static Isolation Cages*

BW Technologies (2019) Recuperado de:

<https://www.amazon.com/-/es/Tecnolog%C3%ADas-GasAlert-Amoniaco-detector-medic%C3%B3n/dp/B00ANVC2OS#feature-bullets-btf>

Catherine E. Dewey, Barbara Cox, Joanna Leyenaar, (Mayo 2000) *Measuring ammonia concentrations in the barn using the Draeger™ and pHydrion™ tests*. Journal of Swine Health and Production

Comité para la Actualización de la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (2017) *Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio*: Octava Edición Institute for Laboratory Animal Research Division on Earth and Life Studies

Committee on Acute Exposure Guideline Levels, Committee on Toxicology and Board on Environmental Studies and Toxicology (2008), *National Research Council of the National Academies*

- Hedrich Hans J. (2012) *The Laboratory Mouse*. Second Edition. Alemania: Hannover
- Hernández, S. (2006) *El modelo animal en las investigaciones biomédicas*. Recuperado de: <http://www.um.edu.uy/docs/revistabiomedicina/2-3/modelo.pdf>
- Ida M Washington and Mark E Payton (2016) *Ammonia levels and urine-spot characteristics as cage-change indicators for high-density individually ventilated mouse cages*. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*. Vol 55, p.260 - 267
- Instituto Nacional de Salud (2008), *Guía de manejo y Cuidado de animales de Laboratorio: Ratón*. Lima Recuperado de:
http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/GUIA_ANIMALES_RATON.pdf
- James G. Fox, Stephen W. Barthold, Muriel T. Davisson, Christian E. Newcomer, Fred W. Quimby and Abigail L. Smith (Diciembre 2006) *The Mouse in Biomedical Research 2nd edition*.
- Joshua T Glueck, Richard B Huneke, Hernando Perez, and Igor Burstyn (2012) *Exposure of Laboratory Animal Care Workers to Airborne Mouse and Rat Allergens*. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*. Vol 51, Pages 554–560
- Masoud NEGHAB, Ahmad MIRZAEI, Fatemeh Kargar SHOUROKI, Mehdi JAHANGIRI, Maryam ZARE and Saeed Yousefinejad, (June 2018) *Ventilatory disorders associated with occupational inhalation exposure to nitrogen trihydride (ammonia)* *Industrial Health*, Vol. 56, p.427–435
- Matthew D Rosenbaum, Susan VandeWoude, y Thomas E Johnson (2009) *Efectos de la frecuencia de cambio de jaula y volumen del material de cama sobre ratones y su microambiente* *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, vol. 48 p.763-773
- Micro Essential Laboratory Inc, (actualizado en 2017). Recuperado de:
<https://www.microessentiallab.com/ProductInfo/F30-SPLTY-AMMONI-SRD.aspx>

Robert B Morrow and Rhonda J Wiler (Marzo 2019) *Ammonia Measurement in the IVC Microenvironment Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* Vol 58, Pages 184–189

Servicio de Salud Pública Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (Setiembre, 2004). *Resumen de Salud pública Amoniaco*. Recuperado de: https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs126.pdf

Taconic Models for Life. Balb/C INBRED (2019). Recuperado de: <https://www.taconic.com/mouse-model/balbc>

Taconic Models for Life. Black 6 (B6NTac) INBRED (2019). Recuperado de: <https://www.taconic.com/mouse-model/black-6-b6ntac>

The University of Georgia (2002) *Cooperative Extension Service Poultry Housing Tips, Measuring Ammonia Levels in Poultry Houses*. Recuperado de: <https://pacificsentry.com/wp-content/uploads/2017/04/vol14n8.pdf>

ANEXOS

Tabla 5

Medición en Jaula limpia primera semana.

21-feb-19	Initial	Final	
	Temp	73.9 °F	74.2 °F
	Hum	63%	63%
	Hora	04:35 p.m.	05:45 p.m.

N	CAGE	# MICE	STRAIN	SEX	Hydrion Ammonia Test Paper de Micro Essential Lab	Kit GasAlert Extreme Ammonia (NH3),			
					Promedio	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3	Promedio
1	138	3	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
2	147	4	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
3	149	2	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
4	153	2	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
5	175	3	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
6	179	3	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
7	185	3	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
8	186	3	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
9	187	2	BALB/cTac	M	0	0	0	0	0
10	193	3	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
11	200	3	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
12	201	2	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
13	204	2	BALB/cTac	M	0	0	0	0	0
14	205	3	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
15	206	3	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
16	208	2	BALB/cTac	M	0	0	0	0	0
17	211	3	C57Bl/6Tac	M	0	0	0	0	0
18	215	4	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
19	216	4	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
20	217	4	BALB/cTac	M	0	0	0	0	0
21	218	3	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
22	221	2	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
23	222	2	BALB/cTac	M	0	0	0	0	0
24	223	3	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
25	224	3	C57Bl/6Tac	M	0	0	0	0	0
26	225	3	C57Bl/6Tac	M	0	0	0	0	0
27	228	2	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
28	229	2	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
29	230	2	C57Bl/6Tac	M	0	0	0	0	0
30	231	2	C57Bl/6Tac	M	0	0	0	0	0

Tabla 6

Medición en Jaula Sucia de la primera semana.

Jaula sucia

28-feb-19

	Initial	Final
Temp	76.8 °F	77.3 °F
Hum	61%	61%
Hora	09:06 a.m.	10:45 a.m.

N	CAGE	# MICE	STRAIN	SEX	Hydrion Ammonia Test Paper de Micro Essential Lab	Kit GasAlert Extreme Ammonia (NH3),			
					Promedio	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3	Promedio
1	138	3	C57Bl/6Tac	F	5	3	4	4	4
2	147	4	BALB/cTac	F	10 a 20	12	12	13	13
3	149	2	BALB/cTac	F	5 a 10	3	4	4	4
4	153	2	C57Bl/6Tac	F	5 a 10	5	4	5	5
5	175	3	C57Bl/6Tac	F	5 a 10	10	10	10	10
6	179	3	C57Bl/6Tac	F	5 a 10	8	7	8	8
7	185	3	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
8	186	3	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
9	187	2	BALB/cTac	M	0	0	0	0	0
10	193	3	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
11	200	3	C57Bl/6Tac	F	10	7	6	7	7
12	201	2	C57Bl/6Tac	F	5 a 10	0	3	3	3
13	204	2	BALB/cTac	M	0	0	0	0	0
14	205	3	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
15	206	3	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
16	208	2	BALB/cTac	M	0	0	0	0	0
17	211	3	C57Bl/6Tac	M	0	0	0	0	0
18	215	4	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
19	216	4	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
20	217	4	BALB/cTac	M	0	0	0	0	0
21	218	3	C57Bl/6Tac	F	5 a 10	13	14	14	14
22	221	2	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
23	222	2	BALB/cTac	M	5	0	3	3	3
24	223	3	C57Bl/6Tac	F	5 a 10	12	13	13	13
25	224	3	C57Bl/6Tac	M	0 a 5	0	3	3	3
26	225	3	C57Bl/6Tac	M	0	0	0	0	0
27	228	2	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
28	229	2	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
29	230	2	C57Bl/6Tac	M	0 a 5	0	3	3	3
30	231	2	C57Bl/6Tac	M	0 a 5	4	5	5	5

Tabla 7

Medición en Jaula limpia segunda semana.

Jaula Limpia

28-feb-19

	Initial	Final
Temp	75.4 °F	76.3 °F
Hum	64%	63%
Hora	04:10 p.m.	05:40 p.m.

N	CAGE	# MICE	STRAIN	SEX	Hydrion Ammonia Test Paper de Micro Essential Lab	Kit GasAlert Extreme Ammonia (NH3),			
					Promedio	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3	Promedio
1	138	3	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
2	147	4	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
3	149	2	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
4	153	2	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
5	175	3	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
6	179	3	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
7	185	3	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
8	186	3	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
9	187	2	BALB/cTac	M	0	0	0	0	0
10	193	3	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
11	200	3	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
12	201	2	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
13	204	2	BALB/cTac	M	0	0	0	0	0
14	205	3	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
15	206	3	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
16	208	2	BALB/cTac	M	0	0	0	0	0
17	211	3	C57Bl/6Tac	M	0	0	0	0	0
18	215	4	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
19	216	4	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
20	217	4	BALB/cTac	M	0	0	0	0	0
21	218	3	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
22	221	2	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
23	222	2	BALB/cTac	M	0	0	0	0	0
24	223	3	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
25	224	3	C57Bl/6Tac	M	0	0	0	0	0
26	225	3	C57Bl/6Tac	M	0	0	0	0	0
27	228	2	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
28	229	2	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
29	230	2	C57Bl/6Tac	M	0	0	0	0	0
30	231	2	C57Bl/6Tac	M	0	0	0	0	0

Tabla 8

Medición en Jaula sucia de la segunda semana.

Jaula sucia

07-mar-19

	Initial	Final
Temp	72 °F	71 °F
Hum	54%	57%
Hora	09:30 a.m.	11:00 a.m.

N	CAGE	# MICE	STRAIN	SEX	Hydrion Ammonia Test Paper de Micro Essential Lab	Kit GasAlert Extreme Ammonia (NH3),			
					Promedio	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3	Promedio
1	138	3	C57Bl/6Tac	F	10	12	12	12	12
2	147	4	BALB/cTac	F	10 a 20	4	3	4	4
3	149	2	BALB/cTac	F	0 a 5	0	0	0	0
4	153	2	C57Bl/6Tac	F	10	2	3	3	3
5	175	3	C57Bl/6Tac	F	10 a 20	15	16	16	16
6	179	3	C57Bl/6Tac	F	5 a 10	4	5	5	5
7	185	3	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
8	186	3	BALB/cTac	F	5 a 10	3	4	4	4
9	187	2	BALB/cTac	M	0	0	0	0	0
10	193	3	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
11	200	3	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
12	201	2	C57Bl/6Tac	F	0 a 5	0	0	0	0
13	204	2	BALB/cTac	M	0	0	0	0	0
14	205	3	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
15	206	3	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
16	208	2	BALB/cTac	M	0	0	0	0	0
17	211	3	C57Bl/6Tac	M	0	0	0	0	0
18	215	4	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
19	216	4	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
20	217	4	BALB/cTac	M	0	0	0	0	0
21	218	3	C57Bl/6Tac	F	10	5	6	6	6
22	221	2	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
23	222	2	BALB/cTac	M	0	0	0	0	0
24	223	3	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
25	224	3	C57Bl/6Tac	M	0 a 5	0	3	3	3
26	225	3	C57Bl/6Tac	M	0	0	0	0	0
27	228	2	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
28	229	2	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
29	230	2	C57Bl/6Tac	M	0 a 5	0	0	0	0
30	231	2	C57Bl/6Tac	M	0	0	0	0	0

Tabla 9

Medición en Jaula limpia tercera semana.

Jaula Limpia

07-mar-19

	Initial	Final
Temp	74.7 °F	75.3 °F
Hum	66%	65%
Hora	03:15 p.m.	04:40 p.m.

N	CAGE	# MICE	STRAIN	SEX	Hydrion Ammonia Test Paper de Micro Essential Lab	Kit GasAlert Extreme Ammonia (NH3),			
					Promedio	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3	Promedio
1	138	3	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
2	147	4	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
3	149	2	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
4	153	2	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
5	175	3	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
6	179	3	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
7	185	3	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
8	186	3	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
9	187	2	BALB/cTac	M	0	0	0	0	0
10	193	3	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
11	200	3	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
12	201	2	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
13	204	2	BALB/cTac	M	0	0	0	0	0
14	205	3	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
15	206	3	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
16	208	2	BALB/cTac	M	0	0	0	0	0
17	211	3	C57Bl/6Tac	M	0	0	0	0	0
18	215	4	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
19	216	4	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
20	217	4	BALB/cTac	M	0	0	0	0	0
21	218	3	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
22	221	2	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
23	222	2	BALB/cTac	M	0	0	0	0	0
24	223	3	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
25	224	3	C57Bl/6Tac	M	0	0	0	0	0
26	225	3	C57Bl/6Tac	M	0	0	0	0	0
27	228	2	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
28	229	2	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
29	230	2	C57Bl/6Tac	M	0	0	0	0	0
30	231	2	C57Bl/6Tac	M	0	0	0	0	0

Tabla 10

Medición en Jaula sucia tercera segunda semana.

Jaula sucia

14-mar-19

	Initial	Final
Temp	75 °F	70.3 °F
Hum	46%	59%
Hora	09:30 a.m.	10:40 a.m.

N	CAGE	# MICE	STRAIN	SEX	Hydrion Ammonia Test Paper de Micro Essential Lab	Kit GasAlert Extreme Ammonia (NH3),			
					Promedio	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3	Promedio
1	138	3	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
2	147	4	BALB/cTac	F	10 a 20	13	14	14	14
3	149	2	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
4	153	2	C57Bl/6Tac	F	5	0	0	0	0
5	175	3	C57Bl/6Tac	F	10	18	16	17	17
6	179	3	C57Bl/6Tac	F	0	0	3	3	3
7	185	3	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
8	186	3	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
9	187	2	BALB/cTac	M	0	0	0	0	0
10	193	3	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
11	200	3	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
12	201	2	C57Bl/6Tac	F	5 a 10	10	9	10	10
13	204	2	BALB/cTac	M	0	0	0	0	0
14	205	3	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
15	206	3	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
16	208	2	BALB/cTac	M	0	0	0	0	0
17	211	3	C57Bl/6Tac	M	0	0	0	0	0
18	215	4	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
19	216	4	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
20	217	4	BALB/cTac	M	0	0	0	0	0
21	218	3	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
22	221	2	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
23	222	2	BALB/cTac	M	0	0	0	0	0
24	223	3	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
25	224	3	C57Bl/6Tac	M	5 a 10	4	5	4	4
26	225	3	C57Bl/6Tac	M	0	0	0	0	0
27	228	2	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
28	229	2	C57Bl/6Tac	F	0 a 5	0	0	0	0
29	230	2	C57Bl/6Tac	M	0	0	0	0	0
30	231	2	C57Bl/6Tac	M	0	0	0	0	0

Tabla 11

Medición en Jaula limpia cuarta semana.

Jaula Limpia

	Initial	Final
Temp	76.7 °F	76.9 °F
Hum	59%	61%
Hora	04:35 p.m.	05:50 p.m.

N	CAGE	# MICE	STRAIN	SEX	Hydrion Ammonia Test Paper de Micro Essential Lab	Kit GasAlert Extreme Ammonia (NH3),			
					Promedio	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3	Promedio
1	138	3	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
2	147	4	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
3	149	2	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
4	153	2	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
5	175	3	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
6	179	3	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
7	185	3	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
8	186	3	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
9	187	2	BALB/cTac	M	0	0	0	0	0
10	193	3	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
11	200	3	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
12	201	2	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
13	204	2	BALB/cTac	M	0	0	0	0	0
14	205	3	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
15	206	3	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
16	208	2	BALB/cTac	M	0	0	0	0	0
17	211	3	C57Bl/6Tac	M	0	0	0	0	0
18	215	4	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
19	216	4	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
20	217	4	BALB/cTac	M	0	0	0	0	0
21	218	3	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
22	221	2	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
23	222	2	BALB/cTac	M	0	0	0	0	0
24	223	3	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
25	224	3	C57Bl/6Tac	M	0	0	0	0	0
26	225	3	C57Bl/6Tac	M	0	0	0	0	0
27	228	2	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
28	229	2	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
29	230	2	C57Bl/6Tac	M	0	0	0	0	0
30	231	2	C57Bl/6Tac	M	0	0	0	0	0

Tabla 12

Medición en Jaula sucia cuarta semana.

Jaula sucia

21-mar-19

	Initial	Final
Temp	75.4 °F	73.6 °F
Hum	45%	50%
Hora	09:45 a.m.	11:20 a.m.

N	CAGE	# MICE	STRAIN	SEX	Hydrion Ammonia Test Paper de Micro Essential Lab	Kit GasAlert Extreme Ammonia (NH3),			
					Promedio	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3	Promedio
1	138	3	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
2	147	4	BALB/cTac	F	5 a 10	11	10	11	11
3	149	2	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
4	153	2	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
5	175	3	C57Bl/6Tac	F	5 a 10	16	17	17	17
6	179	3	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
7	185	3	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
8	186	3	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
9	187	2	BALB/cTac	M	0	0	0	0	0
10	193	3	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
11	200	3	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
12	201	2	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
13	204	2	BALB/cTac	M	0	0	0	0	0
14	205	3	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
15	206	3	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
16	208	2	BALB/cTac	M	0	0	0	0	0
17	211	3	C57Bl/6Tac	M	0	0	0	0	0
18	215	4	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
19	216	4	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
20	217	4	BALB/cTac	M	0	0	0	0	0
21	218	3	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
22	221	2	BALB/cTac	F	0	0	0	0	0
23	222	2	BALB/cTac	M	0	0	0	0	0
24	223	3	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
25	224	3	C57Bl/6Tac	M	0 a 5	0	0	0	0
26	225	3	C57Bl/6Tac	M	0	0	0	0	0
27	228	2	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
28	229	2	C57Bl/6Tac	F	0	0	0	0	0
29	230	2	C57Bl/6Tac	M	0	0	0	0	0
30	231	2	C57Bl/6Tac	M	0	0	0	0	0

Tabla 13

Evaluación de la normalidad de los datos empleando el Test de Shapiro Wilk

Shapiro-Wilk W test for normal data

Variable	Obs	W	V	z	Prob>z
Nivel Amoniaco	240	0.563	3.524	3.312	0.0001

stats	var1
skewness	2.334124
kurtosis	5.176568

Tabla 14

U de Mann Whitney: Evaluación del nivel de amoniaco en las cajas por sexo empleando el kit

```
-> var12 = kit

Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test

      var6_01 |      obs   rank sum   expected
-----+-----
          F |      20     341     310
          M |      10     124     155
-----+-----
    combined |      30     465     465

unadjusted variance      516.67
adjustment for ties      -64.83
-----
adjusted variance        451.84

Ho: var9_01(var6_01==F) = var9_01(var6_01==M)
      z = 1.458
      Prob > |z| = 0.1147
```

Tabla 15

U de Mann Whitney: Evaluación del nivel de amoniaco en las cajas por sexo empleando el papel.

```
-> var12 = paper

Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test

      var6_01 |      obs   rank sum   expected
-----+-----
          F |      20     341.5     310
          M |      10     123.5     155
-----+-----
    combined |      30     465     465

unadjusted variance      516.67
adjustment for ties      -53.10
-----
adjusted variance        463.56

Ho: var9_01(var6_01==F) = var9_01(var6_01==M)
      z = 1.463
      Prob > |z| = 0.1535
```

Tabla 16

U de Mann Whitney: Evaluación del nivel de amoniaco según la línea raton Balb/c.

```
-> var13 = BALB/cTac

Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test

      var15 |      obs   rank sum   expected
-----+-----
      Kit |      20     399     410
Paper ttal |      20     421     410
-----+-----
combined |      40     820     820

unadjusted variance    1366.67
adjustment for ties    -915.64
-----
adjusted variance      451.03

Ho: var16(var15==Kit) = var16(var15==Paper ttal)

Prob > |z| = 0.006045
```

Tabla 17

U de Mann Whitney: Evaluación del nivel de amoniaco según la línea ratón C75bl/c.

```
-> var13 = C57

Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test

      var15 |      obs   rank sum   expected
-----+-----
      Kit |      60    3590    3630
Paper ttal |      60    3670    3630
-----+-----
combined |     120    7260    7260

unadjusted variance    36300.00
adjustment for ties    -7685.04
-----
adjusted variance      28614.96

Ho: var16(var15==Kit) = var16(var15==Paper ttal)

Prob > |z| = 0.00131
```

Tabla 18

U de Mann Whitney: Evaluación del nivel de amoníaco el día 7 de uso del material de cama versus el día cero empleando Paper.

Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test

Var14	Obs	Sample Average	Sample SD	U	Skewness
Seven days	120	1.641667	2.981162	5160	1.775127
Zero days	120	0.000000	0.000000	9240	

Ho: var14(var15==Zero days Paper) = var14(var15==Seven days Paper)

z = 6.259741

Prob >|z| = 3.8561

Tabla 19

U de Mann Whitney: Evaluación del nivel de amoníaco el día 7 de uso del material de cama versus el día cero empleando Kit.

Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test

Var16	Obs	Sample Average	Sample SD	U	Skewness
Seven days	120	1.820833	4.005535	5460	2.458299
Zero days	120	0.000000	0.000000	8940	

Ho: var16(var17==Zero days Kit) = var16(var17==Seven days Kit)

z = 5.715908

Prob >|z| = 1.0912

Tabla 20

Evaluación del nivel de amoníaco medido con el Kit y con el Paper.

Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test

var2	obs	rank sum	expected
Kit Total	120	14147.5	14400
Paper ttal	120	14532.5	14280
combined	239	28680	28680

unadjusted variance 285600.00

adjustment for ties -114325.98

adjusted variance 171274.02

Ho: var1(var2==Kit Total) = var1(var2==Paper ttal)

z = -0.610

Prob > |z| = 0.5618

Happy Holidеals are here See all deals

tificio > Productos de Laboratorio y Ciencias



Pasa el mouse encima de la imagen para aplicar zoom

de Micro Essential Lab

Rollo de papel para prueba de amoniac Micro Essential Lab am-40 Hydrion, rango de 0 a 100ppm, longitud de 15 pies

★★★★☆ 11 calificaciones | 5 preguntas respondidas

Precio: US\$ 14.74

Nuevo (1) desde US\$ 14.74

Especificaciones para este producto

Número de pieza	AM-40
Número de artículos	1
Código UNSPSC	41000000
Marca	Micro Essential Lab
Número de modelo	MIC-AM-40
Peso del artículo	4.2 onzas
Tamaño	pH Range: 0 To 100ppm

Figura 8. Precio de Hydrion Ammonia Test Paper de Micro Essential Lab

Happy Holidеals are here See all deals

tas y Mejoras del Hogar > Protección y Seguridad > Alarmas para el Hogar > Detectores de Gas



Pasa el mouse encima de la imagen para aplicar zoom

de BW Technologies

BW Tecnologías GAXT-A-DL GasAlert Extreme Amoniac (NH3), solo detector de gas, 0 – 100 ppm Rango de medición, Amarillo

★★★★☆ 2 calificaciones

Precio: US\$ 500.09

Nuevo (3) desde US\$ 500.09

Especificaciones para este producto

Número de pieza	GAXT-A-DL
Número de artículos	1
Altura	3.75 pulgadas
Ancho	1.03 pulgadas
Color	Yellow
Código UNSPSC	46170000
EAN	6924253912696
Marca	BW Technologies

Figura 9. Precio del Kit GasAlert Extreme Ammonia (NH3), GAXT-A-DL