



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**Efecto de la forma de administración de alimento medicado con
oxitetraciclina sobre los parámetros farmacocinéticos y
farmacodinámicos (PK/PD) en *Salmo salar***

Leonardo Salvador Valderas Cárdenas

Memoria para optar al Título Profesional de Médico Veterinario

Departamento de Ciencias Clínicas

PROFESOR GUÍA: Dra. Betty San Martín Núñez

Programa de Gestión Sanitaria en la Acuicultura – SERNAPESCA

SANTIAGO, CHILE
2020

SUMMARY

Oxytetracycline is a broad-spectrum antibiotic widely used in Chilean aquaculture, mainly against piscirickettsiosis. Even so, there are no pharmacokinetic/pharmacodynamic studies (PK/PD) that support its usefulness, as well as indicate the best way to use this antibiotic both in dose and administration regimen. The present study evaluates the form of administration of oxytetracycline medicated feed in Atlantic salmon (*Salmo salar*) on pharmacokinetic and pharmacodynamic parameters (PK/PD) in three different administration regimens using an oral dose of 100 mg/Kg live weight. According to our results, the way of administering the medicated feed with oxytetracycline has an important role when ensuring the success of an antimicrobial therapy, since using the same dose different results of the AUC₀₋₂₄/CMI ratio were obtained. The best regimen of administration of this antibiotic via feed would be during the morning, since it reached the highest value for the AUC₀₋₂₄/CMI index (17,97).

RESUMEN

La oxitetraciclina es un antibiótico de amplio espectro ampliamente utilizado en la acuicultura chilena, principalmente frente a cuadros de piscirickettsiosis. Aun así, no existen los estudios farmacocinéticos/farmacodinámicos (PK/PD) que respalden su utilidad, así como también indiquen la mejor manera de utilizar este antibiótico tanto en dosis como régimen de administración. El presente estudio evalúa la forma de administración del alimento medicado con oxitetraciclina en salmones del Atlántico (*salmo Salar*) sobre los parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos (PK/PD) en tres regímenes de administración distintos utilizando una dosis oral no forzada de 100 mg/Kg p.v. De acuerdo con nuestros resultados la forma de administrar el alimento medicado con oxitetraciclina tiene un rol importante al momento de asegurar el éxito de una terapia antimicrobiana, ya que utilizando la misma dosis se obtuvieron diferentes resultados de la relación AUC₀₋₂₄/CMI. El mejor régimen de administración de este antibiótico vía alimento sería durante la mañana, ya que este alcanzó el valor más alto para el índice AUC₀₋₂₄/CMI (17,97).

INTRODUCCIÓN

En la historia de la Acuicultura en Chile podemos distinguir tres etapas: a) 1850 – 1920: Introducción de especies exóticas, b) 1921–1973: Introducción del Salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*), c) 1974 hasta ahora: Consolidación de la industria, apertura de mercados y nuevos desafíos. En Chile el interés por la importación de ovas se inició en 1885 trayendo ovas de salmónes y truchas con fines deportivos, no es hasta 1905 que el estado chileno comenzó a manifestar interés por este tema y durante ese año llegó al país una pequeña cantidad de ovas de salmón del Atlántico (*Salmo salar*) y Trucha (*Oncorhynchus mykiss*) compradas en Hamburgo, Alemania, pero debido al avanzado estado de desarrollo que traían fueron desembarcadas en Buenos Aires, Argentina, transportadas por tren a Mendoza y luego a lomo de mula a través de la cordillera hasta la piscicultura de los Andes construida en 1904 (Miranda, 2020). En la actualidad Chile se posiciona como el segundo mayor productor de salmónidos después de Noruega (AQUA, 2018). De acuerdo con la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura (Subpesca, 2018) la especie más cultivada en el territorio nacional es el *Salmo salar* principalmente en la zona sur del país, entre las regiones de la Araucanía y Magallanes.

En los últimos años la industria salmonera ha debido enfrentar adversidades ambientales y sanitarias que han dificultado sus operaciones, como fue el brote de virus ISA del 2007 en Chiloé, región de Los Lagos, que dejó devastadores resultados tanto en la productividad como a la fuerza laboral de la región (Kibenge *et al.*, 2012). Actualmente la enfermedad infectocontagiosa que genera el mayor impacto económico en la salmonicultura chilena es la piscirickettsiosis (SRS) debido a las mortalidades, disminución de calidad del producto y el uso terapéutico de antibióticos. Según el Servicio Nacional de Pesca (Sernapesca, 2017a), sólo en el año 2016, el 92,5% de los antibióticos en la fase de mar fueron utilizados en cuadros de SRS. Las pérdidas anuales por mortalidad y tratamientos se calculan en US\$ 750 millones (AQUA, 2017).

Según datos obtenidos del Sistema para la Fiscalización de la Acuicultura (SIFA), gran parte de los tratamientos antibióticos contra SRS instaurados en centros de cultivo entre los años 2011 y 2016 excedieron las directrices establecidas por el Registro de Medicamentos Veterinarios respecto a dosis y duración de la terapia (San Martín, 2017). Esto se podría

atribuir al posible desarrollo de resistencia antimicrobiana, sin embargo, Price *et al.* (2016) indicaron que la resistencia presente en aislados nacionales no explica por sí sola el fracaso terapéutico. Otros factores que pueden estar relacionados con la reducida eficacia clínica de los tratamientos son la pureza de las premezclas, concentración y homogeneidad del fármaco en el alimento, ubicación intracelular de la bacteria en el hospedero, el momento de inicio de la terapia, así como el régimen de administración del tratamiento.

Por todo lo anterior, se hace necesario evaluar si la forma de administrar el alimento medicado afecta los parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos (PK/PD) con el fin de poder establecer esquemas terapéuticos óptimos y eficaces. De esta manera, la presente memoria tiene por objetivo la determinación de los parámetros PK/PD de oxitetraciclina administrada en diferentes formas de alimentación en *Salmo salar*.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Acuicultura y salmonicultura a nivel mundial y nacional

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2018), la acuicultura es probablemente el sector productor de alimentos de más rápido crecimiento en el mundo y representa hoy casi el 50% del total de pescado destinado a la alimentación. Se espera que para el 2021 la acuicultura supere el aporte total de la pesca de captura (FAO, 2016). Dentro de la acuicultura chilena predomina el cultivo de especies salmonídeas, principalmente el salmón del Atlántico (*Salmo salar*), así como también la trucha Arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) y el salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*). El año 2016, la salmonicultura nacional produjo un total de 727.812 toneladas de pescado, de lo cual un 73,1% correspondió al Salmón del Atlántico (Sernapesca, 2017b) y cerca de un 71% (515.467 ton) fue exportado a diferentes mercados internacionales, siendo los más importantes Estados Unidos, China, Brasil y Japón (SalmonChile, 2018).

Uso de antibióticos en la salmonicultura

Si bien la intensificación que ha sufrido la industria salmonera es lo que ha permitido las altas producciones de alimentos ricos en proteína de alta calidad, las densidades a las que se cultivan los salmones facilitan la transmisión de patógenos, dando origen a brotes infecciosos y provocando grandes pérdidas económicas (AQUA, 2016). Se estima que los costos asociados a la piscirickettsiosis, la enfermedad de mayor prevalencia en la salmonicultura nacional, alcanzan cifras cercanas a los US\$750 millones (Sernapesca, 2017c).

Como medida para reducir las mortalidades resultantes de esta y otras enfermedades bacterianas, la industria salmonera cuenta con diferentes antibióticos autorizados por el Registro de Medicamentos Veterinarios para su uso en salmónidos, principalmente en formulaciones en polvo para su inclusión en el alimento (San Martín *et al.*, 2015). Según reportes del Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (Sernapesca, 2017a), durante el año 2016 en Chile se consumieron 382,5 toneladas de principio activo con fines terapéuticos. Del total de este volumen, 82,5% correspondió a florfenicol y 16,8% a oxitetraciclina (Sernapesca, 2017a).

Oxitetraciclina

La oxitetraciclina es uno de los antibióticos más ampliamente utilizado en la acuicultura debido a su alta eficacia y bajo costo comparado con otros antibióticos (Ren *et al.*, 2017). Pertenece al grupo de las tetraciclinas (Chopra y Roberts, 2001), las cuales corresponden a un conjunto de antimicrobianos de amplio espectro desarrolladas en 1948. Son agentes básicamente bacteriostáticos, con actividad frente a una gran variedad de microorganismos, por lo que se han convertido en antibióticos de uso habitual en animales de producción (Pérez-Trallero e Iglesias, 2003).

La oxitetraciclina, como las demás tetraciclinas, ejerce su efecto al inhibir la síntesis de proteínas bacterianas. Esto lo hace al unirse a la subunidad ribosomal 30S y específicamente inhibe la unión del aminoacil-t-RNA al sitio receptor del ribosoma (Scholar, 2007). Presenta liposolubilidad moderada, una vida media corta (5 a 9h) y un Vda entre 1,3 y 1,7 L/Kg (San Martín *et al.*, 2015). A pesar de que existen formulaciones orales, en general se reporta que la oxitetraciclina tiene baja absorción por esta vía. En cerdos, por ejemplo, su biodisponibilidad es de alrededor del 4%, mientras que estudios farmacocinéticos en salmón del Atlántico indican que la absorción puede ser incluso tan baja como un 2% (Elema *et al.*, 1996). Se debe considerar además que las tetraciclinas tienden a formar complejos con iones di- y trivalentes, perjudicando aún más su absorción en caso de estar presentes en cantidades suficientes (Papich, 2016) como ocurre en el agua de mar. Sus principales vías de eliminación son la vía renal y biliar (Pérez-Trallero e Iglesias, 2003), y farmacodinámicamente corresponde al grupo de los antibióticos con actividad independiente de la concentración y prolongado efecto post-antibiótico, correspondiendo su índice de eficacia a $AUC_{24h}/CMI \geq 15-25$ (Canut *et al.*, 2015).

Antibioterapia óptima

La utilización racional y apropiada de antibióticos puede aportar a la reducción de morbimortalidades asociadas a infecciones bacterianas, mientras que su uso inadecuado puede ser responsable de una mayor tasa de fracaso terapéutico, mayor toxicidad y mortalidad, aumento de los costos y aparición de resistencias (Canut *et al.*, 2015). Se define antibioterapia óptima como la selección de antibiótico y régimen de dosificación adecuado

que consigue los mejores resultados clínicos con los mínimos efectos adversos para el paciente y el mínimo impacto en el desarrollo de resistencia (Canut *et al.*, 2015). Para esto, las estrategias de dosificación son definidas mediante modelos farmacocinéticos/farmacodinámicos (PK/PD) que integran particularidades del fármaco, la bacteria y el hospedero, asegurando con mayor confianza la erradicación bacteriana (Ulldemolins *et al.*, 2011).

Farmacocinética (PK)

Es la relación que se establece entre el fármaco y el organismo, en este caso del pez, e incluye los procesos de absorción, distribución, metabolismo y eliminación que, en su conjunto, determinan una curva concentración-tiempo o *time course*. Los parámetros farmacocinéticos más relevantes son la Concentración Máxima (C_{max}), el Volumen de Distribución (Vd), la Vida Media del antibiótico en el plasma ($t_{1/2}$) y el Área Bajo la Curva (AUC), que da cuenta de la exposición acumulativa del agente al antibiótico (Beltrán, 2004).

Farmacodinamia (PD)

Se describe como la compleja interrelación que se establece entre el perfil farmacocinético del antimicrobiano y la susceptibilidad *in vitro* de la bacteria. La curva concentración-tiempo del antibacteriano se determina en función de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), que es la menor concentración del antibiótico a la cual se logra inhibir el crecimiento bacteriano del aislado en estudio (Beltrán, 2004), lo cual permite clasificar un microorganismo como "sensible", "intermedio" o "resistente" frente a un determinado antibiótico (Rodloff *et al.*, 2008). Sin embargo, la utilización de valores de CMI como único marcador de la eficacia de un agente antibiótico puede ser engañoso, dado que el resultado clínico está condicionado por interacciones complejas entre los tres elementos de la terapia antimicrobiana: el hospedero, el microorganismo y la droga (Asín *et al.*, 2015).

Índices de Eficacia. Análisis PK/PD

Desde el punto de vista de su actividad farmacodinámica, los antibióticos se clasifican en tres categorías en función del tipo de actividad antibacteriana y de la presencia de efecto

post-antibiótico (EPA), definido como el tiempo requerido para que el patógeno recupere el crecimiento normal después de la exposición al agente antimicrobiano cuando la concentración de este cae bajo la CMI (Asín *et al.*, 2015; Canut *et al.*, 2015). Según esta clasificación, y como se observa en la **Tabla 1**, a cada familia de antibióticos le corresponde al menos un índice de eficacia expresado en función de la CMI: C_{max}/CMI , AUC/CMI o $T > CMI$ (tiempo sobre la CMI) (Beltrán, 2004), el cual permitirá determinar si una terapia será eficaz o no.

Tabla 1. Índices de eficacia según tipo de antibiótico. Fuente: Elaboración propia en base a Canut *et al.* (2015).

Categoría	Índices de Eficacia
Antibióticos con actividad dependiente de la concentración y prolongado efecto post-antibiótico.	C_{max}/CMI AUC^{24h}/CMI
Antibióticos con actividad dependiente del tiempo y efecto postantibiótico mínimo o moderado.	$T > CMI$
Antibióticos con actividad independiente de la concentración y prolongado efecto post-antibiótico.	AUC^{24h}/CMI

Así, la relación cuantitativa entre un parámetro farmacocinético y uno farmacodinámico, para antibióticos la CMI, se conoce como índice PK/PD, lo cual constituye la modelización en relación con la eficacia del antibiótico (Asín *et al.*, 2015).

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto del régimen de administración de alimento medicado con oxitetraciclina sobre los parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos (PK/PD) en *Salmo salar*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar las concentraciones plasmáticas de oxitetraciclina en función del tiempo en los distintos regímenes de administración del alimento medicado.
2. Determinar los parámetros farmacocinéticos/farmacodinámicos (PK/PD) de cada régimen de administración del alimento medicado con oxitetraciclina.
3. Comparar los parámetros farmacocinéticos/farmacodinámicos (PK/PD) obtenidos en cada régimen de administración del alimento medicado con oxitetraciclina.

MATERIALES Y MÉTODOS

Emplazamiento del estudio

La fase experimental se llevó a cabo en las instalaciones del Centro de Investigación y Transferencia Acuícola (CITA), perteneciente a la empresa Aquainnovo S.A., ubicado a 33 km de Puerto Montt, Carretera Austral sector Lenca, Chile. Los estanques mantuvieron agua de mar con una tasa de recambio de agua de 1.5 veces la capacidad del estanque por hora, una temperatura $13^{\circ} \text{C} \pm 1$; oxígeno 80-120% de saturación y pH 7-8. La densidad no superó los 30 kg/m^3 de biomasa durante el estudio. Para la realización del ensayo se contó con el certificado de bioética otorgado por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales (CICUA) de la Universidad de Chile (Anexo N°1).

Se utilizaron 360 peces (salmón del Atlántico) con un peso promedio de 900g distribuidos en estanques de 1 m^3 (cuatro estanques con 12 peces y tres con 24 peces de manera tal que al momento de muestreo no se interrumpa la alimentación), aclimatados durante siete días previo al tratamiento. Durante el proceso de aclimatación, se les administró alimento comercial pellet calibre 4 mm, sin antibióticos, establecido para la especie y el peso de los peces. Durante esta etapa el alimento fue suministrado de forma automática considerando una tasa de 1% peso cuerpo (PC)/día entregando 70% de la ración en la mañana y el 30% en la tarde.

Criterios de inclusión de los peces: Que estén clínicamente sanos y que no hayan recibido tratamiento farmacológico o químico de cualquier tipo, a lo menos 90 días antes del inicio de la prueba, que pudieran interferir posteriormente con el análisis del principio activo en las muestras de plasma. El médico veterinario de la estación emitió constancia de que no se han administrado fármacos durante los últimos 90 días en el grupo de peces.

Criterio de exclusión de los peces: Se excluyó del estudio cualquier animal que muestre signos de enfermedad, incluyendo anorexia, letargia o nado errático, también los peces que presenten hongos en su superficie corporal o aletas, lesiones de piel, deformidades, ausencia ocular, aletas roídas, entre otras, o cualquier alteración que, a juicio del médico veterinario responsable, pueda comprometer los resultados del estudio.

Dosis seleccionada: 100 mg/kg de peso vivo (p.v.) administrado a través del alimento, considerando un SFR de 1,2% (peso cuerpo). El alimento medicado fue fabricado en una

planta productora de alimento de tipo comercial. El alimento fue pesado previo a su administración, luego se recuperó el alimento no consumido en el sedimentador de cada estanque para obtener el consumo real.

Grupos experimentales: Se dispuso de tres grupos experimentales.

- *Grupo 1:* se le administró una dosis única de 100 mg/kg p.v. de oxitetraciclina a través del alimento administrado en micro-rationes. Alimentación automática continua de 9:00 a 16:00 horas.
- *Grupo 2:* se les administró una dosis de 100 mg/kg p.v. de oxitetraciclina a través del alimento administrado en dos pautas horarias (50% de la dosis en la mañana y 50% de la dosis en la tarde).
- *Grupo 3:* se les administró 100 mg/kg p.v. de oxitetraciclina a través del alimento administrado en una ración diaria durante la mañana.

Toma de muestra: Todos los estanques se alimentaron según su pauta horaria y luego se procedió a la toma de muestras según los tiempos definidos post tratamiento (0, 1, 3, 6, 8, 12, 18, 24, 36 y 48 horas). Se sacrificaron 12 ejemplares por cada tiempo de muestreo, en seguida, se tomaron muestras de sangre mediante venipuntura caudal utilizando jeringas de 5-10 mL. Para los tiempos de 0, 1, 3 y 6 horas los peces fueron extraídos a partir de los cuatro primeros estanques conformados (un tiempo por estanque) para no interrumpir la alimentación, mientras que el tiempo 8 y 12 horas se extrajeron del estanque 5, tiempo 18 y 24 horas del estanque 6 y finalmente el tiempo 36 y 48 del estanque 7.

Las muestras de sangre fueron depositadas en tubos vacutainer (6 mL) con EDTA debidamente rotuladas con el tiempo de muestreo. Luego se centrifugaron y el plasma obtenido se recolectó en tubos Eppendorf y fueron congelados a -20° C para su posterior envío al Laboratorio de Farmacología Veterinaria de la Universidad de Chile.

Normas de Bioseguridad

- Toda persona que ingrese al centro experimental debe ser autorizada por la dirección del centro y registrada en el libro de visitas, así como también en los libros de registro de cada sala al entrar y salir de ellas.
- Está prohibido el ingreso de alimentos o bebestibles a las salas de ensayo.
- El personal deberá seguir el itinerario de transito dentro del centro de investigación establecido por el Médico Veterinario de la estación.
- Existiendo la diferencia entre áreas infecciosas (overall color rojo) y áreas no infecciosas (overall color azul), el personal que haya ingresado a una sala infecciosa no podrá ingresar a otra no infecciosa al menos durante las 12 horas siguientes. En casos excepcionales, se podrá ingresar a otra sala previa ducha y cambio completo de elementos de protección personal.
- Al ingresar a sala el personal deberá hacer uso de los elementos de protección personal dispuestos en el camarín de entrada a cada sala: overall rojo o azul, cofia, mascarilla, guantes de latex, mangas plásticas, cubrepiés plásticos y botas de goma.
- En cada entrada o paso de una sala a otra será obligatorio el uso de los pediluvios dispuestos.
- El agua con desinfectante de los pediluvios será mantenida periódicamente utilizando la relación adecuada del desinfectante y registrado en la planilla respectiva al sector del tránsito del pediluvio.
- Los elementos de protección personal no descartables como botas y overall deberán ser lavados periódicamente.
- Los elementos cortopuzantes utilizados deben ser eliminados en los depósitos especiales dispuestos para este propósito.
- En caso de existir mortalidad esta deberá ser evacuada en bolsas cerradas al deposito correspondiente previo envío al ensilaje de la estación.
- Las salas ya sean de procedimiento o de estanques deben estar siempre limpias y ordenados y serán aseadas durante la mañana y la tarde y cuando sea necesario en caso de haber manejos.

Determinación de los índices PK/PD

Las muestras de plasma de cada grupo experimental fueron analizadas para la detección de oxitetraciclina por LC/MS/MS en el Laboratorio de Farmacología Veterinaria (FARMAVET) de la Universidad de Chile. El método analítico fue validado de acuerdo con las Normas ISO 17025 of. 2005.

Para cada tiempo de muestreo se calculó el promedio y desviación estándar de las concentraciones plasmáticas. Con los resultados obtenidos para cada grupo experimental, se realizaron las curvas de concentración plasmática ($\mu\text{g/ml}$) en función del tiempo. A partir de estas curvas, se determinaron los parámetros farmacocinéticos utilizando el software Phoenix WinNonlin® (Version 8.0, Pharsight Corporation, Mountain View, CA, USA).

El índice PK/PD a evaluar oxitetraciclina es $\text{AUC}_{0-24\text{h}}/\text{CMI}$ y su valor debe ser > 15 . La CMI seleccionada fue $\leq 1 \mu\text{g/ml}$, correspondiente a una dilución más alta al punto de corte epidemiológico (COWt) de $0,5 \mu\text{g/ml}$ descrito en la literatura para oxitetraciclina frente a *Piscirickettsia salmonis* (Contreras- Lynch *et al.*, 2017).

Mediante análisis de varianza (ANOVA) se determinó si existen diferencias significativas de los índices PK/PD entre las diferentes formas de administrar el alimento medicado, considerando un intervalo de confianza de 95% y un $\alpha = 0,05$.

RESULTADOS

1. Objetivo N°1: Determinar las concentraciones plasmáticas de oxitetraciclina en función del tiempo en los distintos regímenes de administración de alimento medicado.

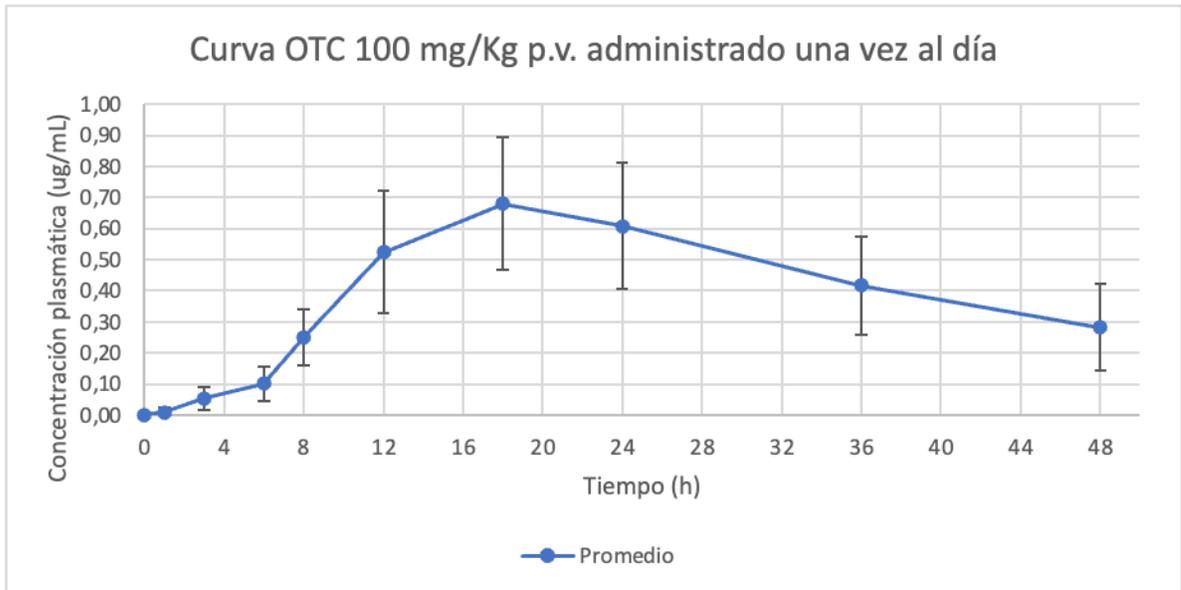
1.1. Niveles plasmáticos de oxitetraciclina tras administración de la dosis de 100 mg/Kg durante la mañana.

Los niveles plasmáticos de oxitetraciclina obtenidos tras la administración de 100 mg/Kg p.v. a través de una dosis durante la mañana se representan en la **Tabla 2**. La **Figura 1** muestra la concentración plasmática en función del tiempo tras la administración del tratamiento.

Tabla 2. Niveles plasmáticos ($\mu\text{g/ml}$) de oxitetraciclina tras administración de dosis única de 100 mg/Kg p.v. una vez al día durante la mañana.

Tiempo (hora)	Oxitetraciclina ($\mu\text{g/mL}$) administrado 1 vez al día												Promedio	DE	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1	0,00	0,01	0,00	0,00	0,01	0,00	0,03	0,01	0,03	0,03	0,00	0,00	0,01	0,01	0,01
3	0,01	0,15	0,06	0,05	0,05	0,04	0,05	0,05	0,05	0,09	0,04	0,01	0,05	0,04	0,04
6	0,08	0,15	0,06	0,14	0,04	0,07	0,09	0,09	0,10	0,23	0,14	0,03	0,10	0,06	0,06
8	0,21	0,22	0,11	0,23	0,18	0,16	0,32	0,24	0,31	0,35	0,44	0,25	0,25	0,09	0,09
12	0,47	0,28	0,28	0,72	0,81	0,56	0,41	0,37	0,46	0,41	0,66	0,86	0,52	0,20	0,20
18	0,51	0,43	0,32	0,83	0,60	0,58	0,87	0,69	1,04	0,60	0,77	0,92	0,68	0,21	0,21
24	0,64	0,24	0,32	0,59	0,98	0,84	0,50	0,58	0,56	0,72	0,65	0,69	0,61	0,20	0,20
36	0,49	0,19	0,44	0,39	0,21	0,56	0,26	0,47	0,37	0,69	0,62	0,31	0,42	0,16	0,16
48	0,04	0,14	0,14	0,33	0,50	0,32	0,14	0,33	0,35	0,45	0,38	0,26	0,28	0,14	0,14

Figura 1. Curva de concentración plasmática ($\mu\text{g/ml}$) vs. tiempo de oxitetraciclina administrado una vez al día.



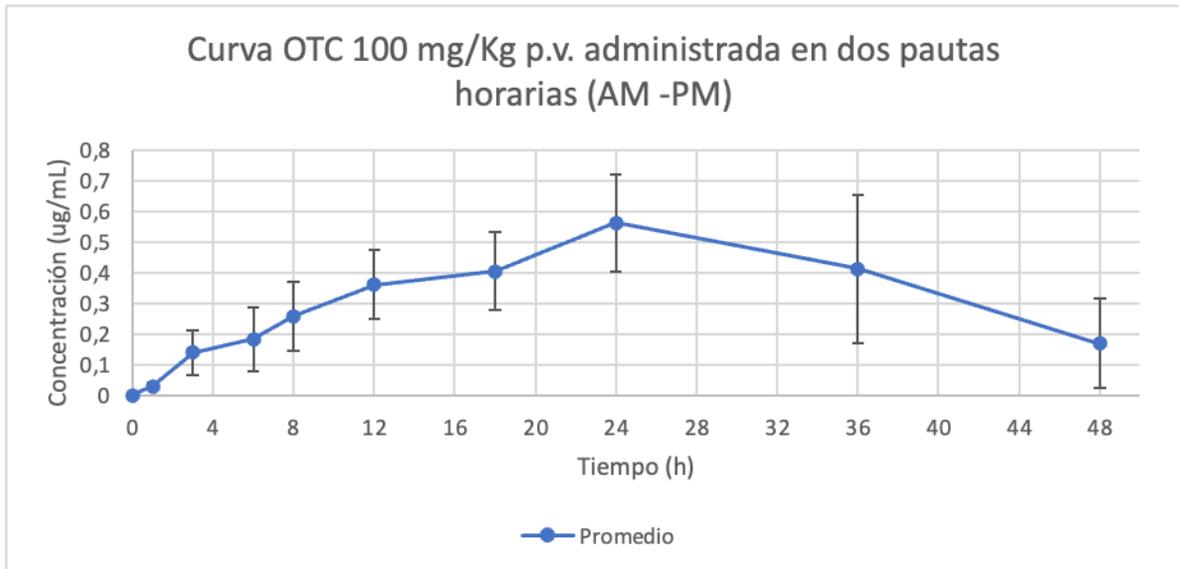
1.2 Niveles plasmáticos de oxitetraciclina después de la administración de 100 mg/Kg en dos pautas horarias, 50% de la dosis durante la mañana y 50% restante durante la tarde.

Los niveles plasmáticos de oxitetraciclina obtenidos tras la administración de 100 mg/Kg p.v. a través de dos pautas horarias, 50% de la dosis en la mañana y el 50% restante durante la tarde, se representan en la **Tabla 3**. La **Figura 2** muestra la concentración plasmática en función del tiempo tras la administración del tratamiento.

Tabla 3. Niveles plasmáticos ($\mu\text{g/mL}$) de oxitetraciclina tras administración de 100 mg/Kg p.v. en dos pautas horarias, 50% AM y 50% PM.

Tiempo (hora)	Oxitetraciclina ($\mu\text{g/mL}$) administrada en dos pautas horarias												Promedio	DE
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,000	0,000
1	0,04	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,05	0,03	0	0,030	0,011
3	0,07	0,05	0,07	0,15	0,11	0,24	0,17	0,2	0,23	0,13	0,03	0,22	0,139	0,074
6	0,09	0,13	0,07	0,16	0,18	0,28	0,18	0,21	0,32	0,15	0,04	0,39	0,183	0,104
8	0,17	0,14	0,09	0,16	0,22	0,28	0,22	0,4	0,31	0,28	0,4	0,43	0,258	0,111
12	0,24	0,29	0,36	0,18	0,22	0,46	0,33	0,48	0,34	0,44	0,52	0,46	0,360	0,112
18	0,45	0,46	0,45	0,41	0,28	0,24	0,34	0,42	0,42	0,26	0,73	0,4	0,405	0,128
24	0,78	0,55	0,58	0,56	0,59	0,27	0,31	0,45	0,77	0,7	0,59	0,6	0,563	0,158
36	0,34	0,53	0,56	0,39	0,81	0	0,73	0,28	0,31	0,06	0,37	0,57	0,413	0,243
48	0,04	0,33	0,32	0,13	0,45	0	0,14	0,33	0,09	0,05	0,16	0	0,170	0,144

Figura 2. Curva de concentración plasmática ($\mu\text{g/mL}$) vs. tiempo de oxitetraciclina administrado en dos pautas horarias.



1.3 Niveles plasmáticos de oxitetraciclina después de la administración de 100 mg/Kg mediante micro-rationes.

Los niveles plasmáticos de oxitetraciclina obtenidos tras la administración de 100 mg/Kg p.v. a través de micro-rationes se representan en la **Tabla 4**. La **Figura 3** muestra la concentración plasmática en función del tiempo tras la administración del tratamiento. La **Figura 4** compara las tres curvas de concentración ($\mu\text{g/ml}$) vs tiempo obtenidas.

Tabla 4. Niveles plasmáticos ($\mu\text{g/mL}$) de oxitetraciclina tras la administración de 100 mg/Kg p.v. a través de micro-rationes.

Tiempo (hora)	Oxitetraciclina ($\mu\text{g/mL}$) administrado en micro-rationes												Promedio	DE	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,000	0,000
1	0	0	0	0	0	0	0,01	0	0	0	0	0	0	0,001	0,003
3	0,02	0,01	0,04	0,01	0	0,05	0,1	0,06	0,05	0,07	0,14	0,18	0,061	0,055	
6	0,08	0,07	0,06	0,02	0,16	0,1	0,18	0,13	0,19	0,21	0,19	0,19	0,132	0,064	
8	0,15	0,09	0,1	0,14	0,16	0,13	0,22	0,21	0,2	0,47	0,21	0,49	0,214	0,131	
12	0,26	0,15	0,33	0,21	0,17	0,25	0,46	0,26	0,22	0,47	0,33	0,28	0,283	0,101	
18	0,59	0,64	0,46	0,64	0,75	0,52	0,53	0,58	0,44	0,39	0,68	0,33	0,546	0,125	
24	0,16	0,45	0,64	0,56	0,72	0,88	0,79	0,51	0,64	0,25	0,95	0,8	0,613	0,241	
36	0,11	0,38	0,31	0,28	0,26	0,08	0,51	0,35	0,16	0,24	0,57	0,21	0,288	0,148	
48	0,12	0,35	0,21	0,17	0,01	0,08	0,02	0,2	0	0,14	0,4	0	0,142	0,128	

Figura 3. Curva de concentración plasmática ($\mu\text{g/mL}$) vs. tiempo de oxitetraciclina administrado a través de micro-rationes.

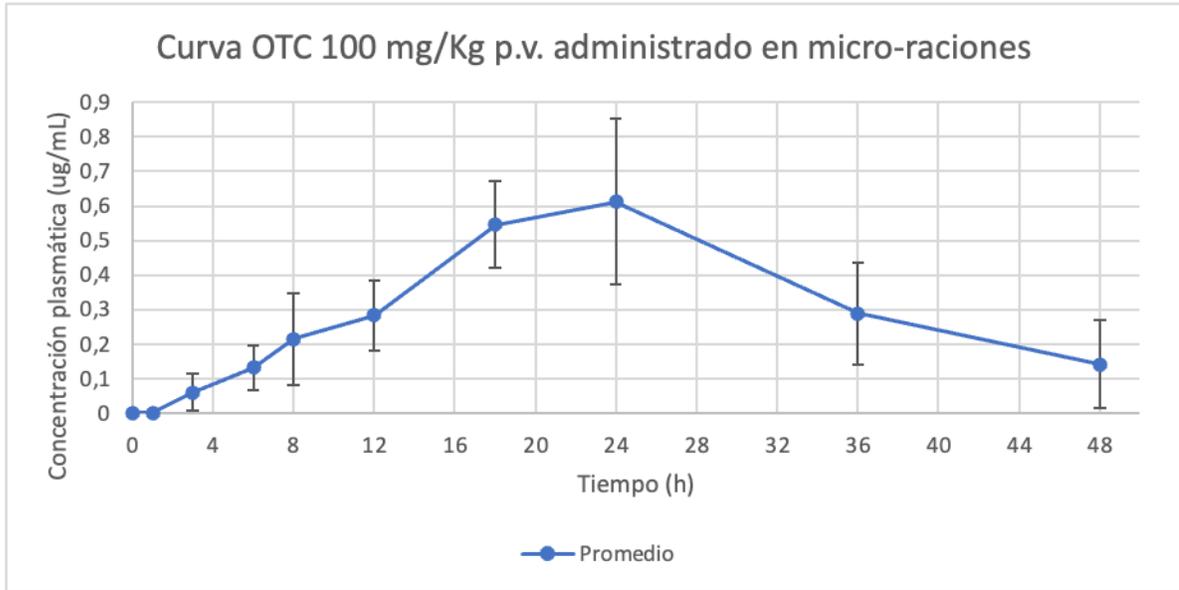
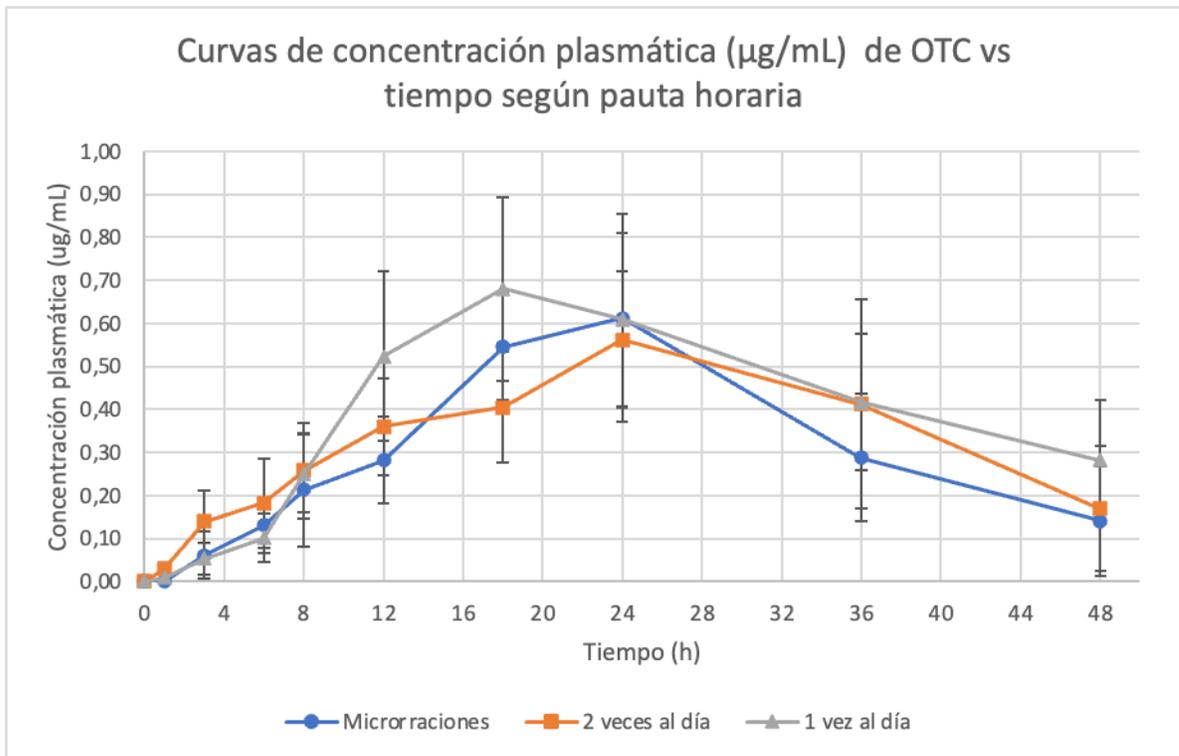


Figura 4. Comparación de las tres curvas de concentración ($\mu\text{g/mL}$) vs tiempo obtenidas.



2. Objetivo N°2: Determinar los parámetros farmacocinéticos/farmacodinámicos (PK/PD) de cada régimen de administración del alimento medicado con oxitetraciclina.

2.1. Parámetros farmacocinéticos de oxitetraciclina para los tres regímenes de administración del alimento medicado estudiados.

Los parámetros farmacocinéticos fueron calculados usando el programa Phoenix WinNonlin® (Version 8.0, Pharsight Corporation, Mountain View, CA, USA). La **Tabla 5** expone los parámetros farmacocinéticos AUC, Cmax y Tmax (Tiempo máximo, parámetro farmacocinético que representa el tiempo requerido para alcanzar la concentración máxima del fármaco en la sangre después de su administración por una vía extravascular) calculados para las tres pautas estudiadas. La **Tabla 6** resume los datos obtenidos en la **Tabla 5**.

Tabla 5. Parámetros farmacocinéticos AUC, Cmax y Tmax de oxitetraciclina para los tres regímenes de administración de alimento medicado estudiados.

PH1: una vez al día, PH2: 2 veces al día, PH3: microraciones.

Sujeto	AUC PH1	Cmax PH1	Tmax PH1	AUC PH2	Cmax PH2	Tmax PH2	AUC PH3	Cmax PH3	Tmax PH3
1	16,19	0,64	24	15,93	0,78	24	9,66	0,59	18
2	9,99	0,43	18	13,52	0,55	24	12,65	0,64	18
3	9,11	0,44	36	13,86	0,58	24	14,44	0,64	24
4	20,29	0,83	18	12,85	0,56	24	14,38	0,64	18
5	22,94	0,98	24	12,52	0,81	36	17,53	0,75	18
6	19,57	0,84	24	10,50	0,46	12	17,64	0,88	24
7	17,93	0,87	18	10,45	0,73	36	18,59	0,79	24
8	16,70	0,69	18	14,61	0,48	12	14,22	0,58	18
9	20,47	1,04	18	17,62	0,77	24	14,41	0,64	24
10	18,74	0,72	24	15,17	0,70	24	11,95	0,47	8
11	20,93	0,77	18	18,55	0,73	18	21,12	0,95	24
12	22,83	0,92	18	16,78	0,60	24	17,05	0,80	24
Media	17,97	0,76	21,50	14,36	0,65	23,50	15,30	0,70	20,17
DE	4,46	0,19	5,40	2,59	0,12	7,44	3,19	0,14	4,86

Tabla 6. Media y desviación estándar de los parámetros farmacocinéticos para los tres regímenes de administración del alimento medicado estudiados.

	AUC	Cmax ($\mu\text{g/mL}$)	Tmax (h)
PH1	17,97 \pm 4,46	0,76 \pm 0,19	21,5 \pm 5,4
PH2	14,36 \pm 2,59	0,65 \pm 0,12	23,5 \pm 7,44
PH3	15,3 \pm 3,19	0,7 \pm 0,14	20,17 \pm 4,86

2.2. Relación farmacocinética/farmacodinámica (PK/PD) de cada régimen de administración del alimento medicado con oxitetraciclina

La información farmacocinética (PK) al relacionarse con la información farmacodinámica (PD), en este caso la Concentración Inhibitoria Mínima (CMI) de oxitetraciclina frente a *P. salmonis*, constituye la modelización PK/PD.

Las tetraciclinas se clasifican como antibióticos con actividad independiente de la concentración y prolongado efecto-post antibiótico y su índice de eficacia corresponde al AUC_{0-24h}/CMI y su valor debe ser mayor a 15 (Canut *et al.*, 2015). La **Tabla 7** muestra la relación PK/PD de oxitetraciclina administrada vía alimento a una dosis de 100 mg/Kg p.v. en tres regímenes distintos de alimentación.

Tabla 7. Relación PK/PD de oxitetraciclina administrada vía alimento a una dosis de 100 mg/Kg p.v. en tres regímenes distintos de alimentación.

Régimenes de administración	CMI ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	AUC/CMI (promedio \pm DE)
1 vez al día	0,06	299.54 \pm 74.33
	0,125	143.78 \pm 35.68
	0,25	71.89 \pm 17.84
	0,5	35.94 \pm 8.92
	1	17.97 \pm 4.45
2 veces al día	0,06	239.37 \pm 43.24
	0,125	114.89 \pm 20.76
	0,25	57.45 \pm 10.38
	0,5	28.72 \pm 5.19
	1	14.36 \pm 2.59
Microrraciones	0,06	255.01 \pm 53.14
	0,125	122.41 \pm 25.51
	0,25	61.20 \pm 12.75
	0,5	30.60 \pm 6.38
	1	15.30 \pm 3.18

3. Objetivo N°3: Comparar los parámetros farmacocinéticos/farmacodinámicos (PK/PD) obtenidos en cada régimen de administración del alimento medicado con oxitetraciclina.

3.1. Análisis de varianza del índice PK/PD de los tres regímenes de administración del alimento medicado con oxitetraciclina.

Utilizando el programa de cálculo Excel se realizó el análisis de varianza de los índices PK/PD de los tres regímenes de administración, que evidenció que existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de estudio respecto al índice AUC_{0-24h}/CMI . Se consideró un valor crítico para F de 3,284, un F calculado de 3,434 y una probabilidad 4,41% (**Tabla 9**).

En la **Tabla 8** se señalan las AUC_{0-24h}/CMI en cada tiempo de muestreo para cada régimen de administración del alimento medicado con oxitetraciclina.

Tabla 8. Relación del AUC_{0-24h}/CMI (Índice PK/PD), obtenidos para los tres regímenes de administración del alimento medicado con oxitetraciclina.

	Pauta 1 AUC/CMI 1	Pauta 2 AUC/CMI 1	Pauta 3 AUC/CMI 1
	16,19	15,93	9,66
	9,99	13,52	12,65
	9,11	13,86	14,44
	20,29	12,85	14,38
	22,94	12,52	17,53
	19,57	10,50	17,64
	17,93	10,45	18,59
	16,70	14,61	14,22
	20,47	17,62	14,41
	18,74	15,17	11,95
	20,93	18,55	21,12
	22,83	16,78	17,05
Promedio	17,97	14,36	15,30

Tabla 9. Análisis de Varianza.

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	336,9503722	2	168,4751861	3,434803818	0,04414562	3,28491765
Dentro de los grupos	1618,63135	33	49,04943485			
Total	1955,581722	35				

Adicionalmente se realizó la prueba T de Student entre los tres grupos estudiados, evidenciándose diferencias sólo entre la pauta 1 y 2. La **Tabla 10** expone la prueba T entre ambos grupos.

Tabla 10. Prueba T entre Pauta 1 y 2.

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales

	<i>Pauta 1</i>	<i>Pauta 2</i>
Media	71,8916667	57,4483333
Varianza	318,220033	107,713488
Observaciones	12	12
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	18	
Estadístico t	2,42430438	
P(T<=t) una cola	0,01304508	
Valor crítico de t (una cola)	1,73406361	
P(T<=t) dos colas	0,02609016	
Valor crítico de t (dos colas)	2,10092204	

DISCUSIÓN

Las tetraciclinas son una importante familia de antibióticos para el tratamiento de infecciones causadas por bacterias Gram-positivas, Gram-negativas, especies aeróbicas, anaeróbicas, extra como intracelulares. El uso inadecuado de estos antibióticos puede causar el desarrollo de resistencias bacterianas que puede significar su retirada del arsenal terapéutico disponible. Por lo tanto, se deben considerar las características farmacocinéticas de estos antibióticos en la propia especie animal de destino, además del correspondiente ensayo de susceptibilidad microbiológica, en la elección de los tratamientos terapéuticos para maximizar la eficacia del fármaco y minimizar el desarrollo de resistencias bacterianas (Dupuy, 2016).

La oxitetraciclina, compuesto bacteriostático de amplio espectro, es ampliamente utilizado para el tratamiento de enfermedades en la salmonicultura principalmente en cuadros de piscirickettsiosis o septicemia rickettsial salmonídea (SRS).

En la literatura científica existe información de la farmacocinética de oxitetraciclina para las diferentes especies salmónidas como así también de la CMI (farmacodinamia) frente a diferentes bacterias patógenas que afectan a esta especie acuática. Por otro lado, no se encontró información de los Índices d PK/PD en esta especie, aun cuando se sabe que la relación farmacocinética/farmacodinámica (Índices PK/PD), predice la eficacia de un antibiótico administrado a una determinada dosis.

En la revisión de Rigos y Smith (2015) mencionan, entre otros, un ensayo de Turel *et al.* (2003) en trucha arcoíris, en la que se administró una dosis oral de 100 mg/Kg p.v. de manera no forzada, alcanzando una Cmax de 0,57 µg/mL en un Tmax de 36 horas. En otro ensayo de Elema *et al.* (1996) en salmón del Atlántico, se administró una dosis oral de 50 mg/Kg p.v. de manera forzada donde se alcanzó una Cmax de 0,42 µg/mL en un Tmax de 12 horas. Estos resultados son cercanos a los obtenidos en este estudio, en el cual se utilizó una dosis oral no forzada de 100 mg/Kg p.v.

Para determinar la relación PK/PD, en este trabajo se consideró una CMI de 1 µg/mL, una dilución más alta que el COwt definida para *P. salmonis* en nuestro país (Contreras- Lynch *et al.*, 2017).

De acuerdo con nuestros resultados la forma de administrar el alimento medicado con oxitetraciclina juega un rol importante para asegurarse el éxito de una terapia, ya que utilizando la misma dosis del antibiótico señalado (100 mg/Kg p.v.), se obtuvieron diferentes resultados de la relación AUC0-24h/CMI. El mejor régimen de administración de este antibiótico vía alimento sería durante la mañana, ya que este alcanzó el valor más alto (17,97).

Considerando que los tratamientos antibióticos son administrados a través del alimento y que en los centros de cultivo la forma de administración más frecuente es a través de una ración repartida en dos veces al día, AM y PM, esto podría explicar en muchos casos el fracaso o la falta de eficacia terapéutica.

Además, es necesario señalar que la biodisponibilidad de oxitetraciclina administrada por vía oral a través del alimento en agua de mar es muy baja como menciona Elema *et al.* (1996) donde observaron que esta era de un 2% en salmón del Atlántico. Se debe tener en cuenta que la oxitetraciclina forma complejos con iones di- y trivalentes, los cuales se encuentran en grandes cantidades en el agua de mar, como también en los fluidos digestivos del pez y, por lo tanto, su interacción es inevitable. Esto explicaría en gran medida las bajas concentraciones plasmáticas del antibiótico observadas. A su vez, se debe considerar que el 98% de la dosis administrada es excretada y liberada al medioambiente.

Antibióticos como el florfenicol alcanzan concentraciones plasmáticas mayores y poseen una mejor eficacia por cuanto presentan índices PK/PD de mayor intensidad siendo ampliamente utilizado. Otros antibióticos con Vda mayor al de oxitetraciclina (1,3-1,7 L/Kg) son el ácido oxolínico (1,5-5 L/Kg) y la flumequina (1,5-5 L/Kg), estos podrían alcanzar concentraciones plasmáticas mayores y presentar mejor eficacia, sin embargo, Estados Unidos, uno de los principales importadores del Salmón producido en Chile prohíbe el uso de ambos antimicrobianos en salmonicultura lo cual deja a la acuicultura nacional en un escenario complejo. Además, se ha observado aumento en el nivel resistencia tanto como para ácido oxolínico (17,7%) como para flumequina (5%) (Oceana, 2018).

Se debe tener en cuenta que los índices PK/PD obtenidos por las pautas que lograron eficacia no superaron con gran margen el valor de 15 establecido, esto podría ser debido tanto a la baja biodisponibilidad de oxitetraciclina administrada a través del alimento como a su vez al relativamente alto valor del COWt de 0,5 µg/ml descrito en la literatura para oxitetraciclina frente a *P. salmonis*.

CONCLUSIONES

1. Se evidencia que la forma de administrar el alimento medicado tiene efecto directo en el perfil farmacocinético de oxitetraciclina en salmones del Atlántico.
2. En salmones del Atlántico, la oxitetraciclina se absorbe de manera lenta en comparación a antibióticos como florfenicol tras la administración de una dosis única por vía oral de 100 mg/Kg p.v. alcanzando las C_{max} y T_{max} de 0,76±0,19 µg/mL y 21,5±5,40 horas en la Pauta 1 (una vez al día), 0,65±0,12 µg/mL y 23,5±7,44 horas en la Pauta 2 (AM-PM), 0,70±0,14 µg/mL y 20,17±4,86 horas en la Pauta 3 (microrraciones).
3. El presente estudio demuestra la utilidad de considerar los índices PK/PD para definir la mejor forma de administrar el alimento medicado con oxitetraciclina frente a *P. salmonis* del tipo silvestre en *Salmo salar* y reafirma la importancia de realizar estos estudios en las distintas especies animales respecto a los distintos agentes infecciosos que las afectan.
4. En función de los resultados obtenidos en este estudio farmacocinético y teniendo en cuenta la relación PK/PD, se sugiere que, un régimen de administración oral de 100 mg/Kg p.v. entregado a través de una vez en la mañana sería la mejor modalidad de administración ya que el índice PK/PD de esta pauta alcanza la mayor intensidad (AUC_{0-24h}/CMI: 17,97) respecto a las otras modalidades demostrando mejor eficacia.

BIBLIOGRAFÍA

- AQUA.** 2016. Salmonicultura mundial: El impacto de los costos en otras industrias. [en línea]. <<http://www.aqua.cl/reportajes/salmonicultura-mundial-el-impacto-de-los-costos-en-otras-industrias/>> [consulta: 25-03-2018].
- AQUA.** 2017. Los avances en la lucha contra SRS. [en línea]. <<http://www.aqua.cl/reportajes/los-avances-la-lucha-srs/>> [consulta: 04-03-2018].
- AQUA.** 2018. Salmonicultura mundial: 2017 un año excepcional. [en línea]. <<http://www.aqua.cl/reportajes/salmonicultura-mundial-2017-ano-excepcional/>> [consulta: 27-02-2019].
- ASÍN, E.; RODRÍGUEZ-GASCÓN, A.; ISLA, A.** 2015. Applications of the pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) analysis of antimicrobial agents. *J Infect Chemother.* 21(5):319-329.
- BELTRÁN, C.** 2004. Farmacocinética y Farmacodinamia de antimicrobianos: Utilidad práctica. *Rev. Chil. Infect.* 21(Supl. 1):39-44.
- CANUT, A.; AGUILAR, L.; COBO, J.; GIMÉNEZ, M.; RODRÍGUEZ-GASCÓN, A.** 2015. Análisis farmacocinético-farmacodinámico en microbiología: herramienta para evaluar el tratamiento antimicrobiano. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 33(1):48-57.
- CHOPRA, I.; ROBERTS, M.** 2001. Tetracycline antibiotics: Mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiol Mol Biol Rev.* (65):232-260.
- CONTRERAS-LYNCH, S.; SMITH, P.; OLMOS, P.; LOY, M.; FINNEGAN, W.; MIRANDA, C.** 2017. A novel and validated protocol for performing MIC tests to determine the susceptibility of *Piscirickettsia salmonis* isolates to florfenicol and oxytetracycline. *Front. Microbiol.* 8:1-7.
- DUPUY, A.** 2016. Farmacocinética de oxitetraciclina en dosificación oral múltiple en cerdos. Análisis PK-PD. Tesis Doctoral en Ciencias Veterinarias. Madrid, España, Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Veterinaria. 116 p.

ELEMA, H.; ARNE, K.; GJELSTRUP, H. 1996. Bioavailability of oxytetracycline from medicated feed administered to Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in seawater. *Aquaculture*. 143(1):1-14.

FAO - ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS POR LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA. 2016. El estado actual de la pesca y la acuicultura 2016. Contribución a la seguridad alimentaria y la nutrición para todos. Roma, Italia. 224 pp.

FAO - ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS POR LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA. 2018. Fisheries and Aquaculture Department. [en línea]. <<http://www.fao.org/fishery/aquaculture/en>> [consulta: 19-03-2018].

KIBENGE, F.; GODOY, M.; FAST, M.; WORKENHE, S.; KIBENGE, M. 2012. Countermeasures against viral diseases of farmed fish. *Antiviral Res.* 95(3):257-281.

MIRANDA, R. 2020. Curso de salmonicultura [en línea]. <https://www.academia.edu/19637695/Cultivo_de_Salm%C3%B3n_en_Chile> [consulta: 05-01-2020].

OCEANA. 2018. Revisión bibliográfica. Uso de antibióticos en la salmonicultura chilena: causas, efectos y riesgos asociados. 58 pp.

PAPICH, M. 2016. Oxytetracycline. **In:** Saunders Handbook of Veterinary Drugs. 4^a ed. Elsevier. Missouri, EEUU. pp. 595-598.

PÉREZ-TRALLERO, E.; IGLESIAS, L. 2003. Tetraciclinas, sulfamidas y metronidazol. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 21(9):520-529.

PRICE, D.; STRYHN, H.; SÁNCHEZ, J.; IBARRA, R.; TELLO, A.; ST-HILAIRE. 2016. Retrospective analysis of antibiotic treatments against piscirickettsiosis in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) in Chile. *Dis Aquat Org.* 118(3):227–235.

REN, X.; WANG, Z.; GAO, B; LIU, P.; LI, J. 2017. Toxic responses of swimming crab (*Portunus trituberculatus*) larvae exposed to environmentally realistic concentrations of oxytetracycline. *Chemosphere*, 173:563-571.

RIGOS, G.; SMITH, P. 2015. A critical approach on pharmacokinetics, pharmacodynamics, dose optimization and withdrawal times of oxytetracycline in aquaculture. *Rev Aquacult*, 7:77-106.

RODLOFF, A.; BAUER, T.; EWIG, S.; KUJATH, P.; MÜLLER, E. 2008. Susceptible, Intermediate, and Resistant – The Intensity of Antibiotic Action. *Dtsch Arztebl Int*. 105(39): 657–662.

SALMONCHILE. 2018. Exportaciones por Mercado [en línea]. <<http://www.salmonchile.cl/es/exportaciones.php>> [consulta: 23-03-2018].

SAN MARTÍN, B. 2017. Establecer las bases para el buen uso y reducción de los antibióticos en la salmonicultura a nivel nacional. [en línea]. <http://www.fishhealthsummit.cl/images/pdf/Fish-Health-Summit-2017_Betty-San-Martin_-Bases-para-el-buen-uso-y-reduccion-de-antibioticos-en-la-salmonicultura.pdf> [consulta 2-03-2018].

SAN MARTÍN, B.; GALLARDO, A.; LARA, M.; MEDINA, P. 2015. Manual de buenas prácticas en el uso de antimicrobianos y antiparasitarios en salmonicultura chilena. 3ª ed. Sernapesca. Santiago, Chile. 30p.

SCHOLAR, E. 2007. Oxytetracycline. **In:** Enna, S.; Bylund, D. (Eds.). Reference Module in Biomedical Sciences - xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference. Elsevier. Nueva York, EEUU. pp. 1-5.

SERNAPESCA - SERVICIO NACIONAL DE PESCA Y ACUICULTURA. 2017a. Informe sobre uso de antimicrobianos por la salmonicultura nacional. [en línea]. <http://www.sernapesca.cl/presentaciones/Comunicaciones/Informe_Sobre_Uso_de_Antimicrobianos-2016.pdf> [consulta: 26-03-2018].

SERNAPESCA - SERVICIO NACIONAL DE PESCA Y ACUICULTURA. 2017b. Anuario estadístico de pesca – 2016. [en línea]. <http://www.sernapesca.cl/index.php?option=com_remository&Itemid=246&func=startdown&id=26154> [consulta: 25-03-2018].

SERNAPESCA - SERVICIO NACIONAL DE PESCA Y ACUICULTURA. 2017c. Iniciativa de integración de datos desarrollada en Chile por el Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura. [en línea]. <http://www.sma.gob.cl/index.php/documentos/publicacion/doc_download/658-sernapesca-iniciativa-de-integracion-de-datos-desarrollada-en-chile-por-el-servicio-nacional-de-pesca-y-acuicultura> [consulta: 29-03-2018].

SUBPESCA - SUBSECRETARÍA DE PESCA Y ACUICULTURA. 2018. Salmón Atlántico. [en línea]. <<http://www.subpesca.cl/portal/616/w3-article-863.html#descripcion>> [consulta: 01-03-2018].

TUREL, I.; DAGOGLOU, G.; YILMAZ, O.; KANKAYA, E.; SEN, F. 2003. Pharmacokinetics of oxytetracycline in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) following administration of medicated feed. Turk J Vet Anim Sci. 20:391-408.

ULLDEMOLINS, M.; NUVIALS, X.; PALOMAR, M.; MASCLANS, J.; RELLO, J. 2011. Appropriateness is critical. Crit Care Clin. 27(1):35-51.

ANEXOS

Anexo 1: Certificado de Bioética



Santiago, a 20 de diciembre de 2018

Certificado n°: 18219-VET-UCH

CERTIFICADO

El Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales (CICUA) de la Universidad de Chile, certifica que en el Protocolo 22-2018, del Proyecto de Investigación titulado: "Efecto de la forma de administración de alimento medicado con oxitetraciclina sobre los parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos en *Salmo salar*", del Sr. Leonardo Salvador Valderas Cárdenas, Tesista de pregrado, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile y cuya Investigadora Responsable y Patrocinadora la Dra. Betty Verónica San Martín Núñez, Profesora Titular, Directora del Laboratorio FARMAVET, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile no se plantean acciones en sus procedimientos que contravengan las normas de Bioética de manejo y cuidado de animales, así mismo la metodología experimental planteada satisface lo estipulado en el Programa Institucional de Cuidado y Uso de Animales de la Universidad de Chile.

Los investigadores se han comprometido a la ejecución de este proyecto dentro de las especificaciones señaladas en el protocolo revisado y autorizado por el CICUA, a mantener los procedimientos experimentales planteados y a no realizar ninguna modificación sin previa aprobación por parte de este Comité.

Se otorga la presente certificación para el uso de un total de 360 peces, *Salmon del Atlántico (Salmo salar)*, provenientes de la Piscicultura Río Maulín, perteneciente a la Empresa Aquasan S.A. X Región, desde enero 2019 a enero 2019, tiempo estimado de ejecución del estudio, el cual será financiado por Programa para la Gestión Sanitaria en la Acuicultura –SERNAPESCA. Folio:/201708070120.

El CICUA de la Universidad de Chile, forma parte de la Vicerrectoría de Investigación y Desarrollo, y está constituido por 53 miembros: 5 médicos veterinarios, 39 académicos (12 de ellos médicos veterinarios), y 9 miembros no asociados a la academia o investigación, y que cuentan con experiencia en bioética relacionada a mantención y uso de animales. El certificado que emite el Comité procede de la aprobación del "Protocolo de Manejo y Cuidado de Animales" después de un estudio acucioso y de la acogida de los investigadores de las observaciones exigidas por el Comité.


Ronald Vargas Casanova
Director
CICUA – VID
Universidad de Chile




Dr. Emilio Herrera Videla
Presidente
CICUA - VID
Universidad de Chile

Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales (CICUA)
Vicerrectoría de Investigación y Desarrollo (VID) – Universidad de Chile
www.uchile/cicua.cl email: coordinador.cicua@uchile.cl

PLANIFICACIÓN

	MES	Mes 1				Mes 2				Mes 3				Mes 4				Mes 5			
	SEMANA	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
PROYECTO	Conformación TK P1					X															
	Aclimatación P1					X															
	Toma de muestras P1						X														
	Conformación TK P2, P3						X														
	Aclimatación P2, P3						X														
	Toma muestra P2, P3							X													
	Extracción OTC								X	X											
	Detección LC-MS/MS									X	X										
	Análisis de Resultados										X	X	X								
MEMORIA DE TÍTULO	Redacción escrito	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X										
	Presentación anteproyecto					X															
	Presentación avance										X										
	Corrección escrito											X	X	X	X	X					
	Entrega final escrito																X				
	Presentación																		X		