

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIAS VETERINARIAS



**INFLUENCIA DEL TIEMPO DE RETIRO DEL CLORHIDRATO DE ZILPATEROL
SOBRE EL COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO Y CARACTERÍSTICAS DE LA
CANAL EN BOVINOS DE ENGORDA EN FINALIZACIÓN**

TESIS
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS VETERINARIAS

PRESENTA:
MVZ. ÁNGEL ARTURO ARRIZÓN GARCÍA

MEXICALI, B. C., MÉXICO

OCTUBRE DEL 2008

Contenido

	Pág
Lista de Cuadros.....	i
Lista de Figuras.....	ii
Introducción.....	4
Revisión de Literatura.....	5
<i>Aspectos generales de los β-agonistas.....</i>	5
<i>Relación entre estructura y función de los β-agonistas.....</i>	6
<i>Efectos en diferentes especies de animales domésticos.....</i>	7
<i>B-adrenérgicos receptores.....</i>	8
<i>Eficiencia de los β-adrenérgicos agonistas en ganado de carne.....</i>	10
<i>B-adrenérgicos agonistas: Potencia y modo de acción en ganado.....</i>	11
<i>B-adrenérgicos agonistas y el crecimiento de musculo esquelético</i>	16
<i>Hipertrofia muscular y tipos de fibras.....</i>	17
<i>Células musculares satélites.....</i>	17
<i>Síntesis de proteína muscular.....</i>	18
<i>Degradación de proteína muscular.....</i>	19
<i>B-adrenérgicos agonistas y crecimiento de tejido adiposo.....</i>	20
<i>Consideraciones prácticas.....</i>	20
<i>Dosis y duración de los β-adrenérgicos agonistas.....</i>	20
<i>Eficiencia comparativa de los implantes de esteroides y los β-AA.....</i>	21

<i>Algunos β-adrenérgicos agonistas sintéticos</i>	22
<i>Clorhidrato de zilpaterol</i>	22
<i>Clorhidrato de ractopamina</i>	23
<i>Residualidad</i>	24
Literatura Citada.....	27
Experimento I.....	35
Abstract.....	36
Introduction.....	37
Materials and Methods.....	37
Results and Discussion.....	40
Implications.....	42
Literature Cited.....	43

Lista de Cuadros

Cuadro		Pág.
1.	Respuesta comparativa de los novillos a varios β -Adrenérgicos Agonistas.....	12
2.	Respuesta comparativa de las vaquillas a varios β -Adrenérgicos Agonistas.....	12
3.	Excreción de algunos β -adrenérgicos en diferentes especies.....	26

Lista de Figuras

Figura		Pág.
1.	Estructura general de los β -adrenérgicos agonistas.....	7
2.	Estructura de β -adrenérgicos agonistas evaluado en ganado de carne.....	13

RESUMEN: 64 vaquillas cruzadas (451 ± 23 Kg) fueron usadas en una prueba de 42 días de alimentación (4 corraletas por tratamiento designadas por un bloques completamente al azar), para evaluar la influencia del tiempo de retiro del clorhidrato de zilpaterol (β -agonista) sobre el comportamiento productivo y características de la canal en bovinos de engorda en finalización. Las vaquillas fueron alimentadas con una dieta basada en maíz hojueleado (2.13 Mcal/kg of NE_m). los tratamientos fueron: 1) control, no suplementado con zilpaterol; 2) suplementación con zilpaterol por 30 días, con periodo de retiro de 3 días pre-sacrificio; 3) suplementación con zilpaterol por 30 días, con periodo de retiro de 6 días pre-sacrificio y 4) suplementación con zilpaterol por 30 días, con periodo de retiro de 12 días pre-sacrificio. Clorhidrato de zilpaterol fue suplementado a una dosis de 0.15 mg/kg de peso vivo. El consumo de materia seca por tratamiento no fue afectada 9.2 ± 0.26 kg/día ($P = 0.36$). Comparado con el grupo testigo, la suplementación con clorhidrato de zilpaterol incrementó ($P < 0.01$) la ganancia diaria de peso en un 37.2%, la conversión alimenticia en un 36.1%, la energía neta aparente de la dieta en un 25.7% y disminuyó la relación observado/esperado en el consumo de materia seca en 26%. La suplementación con zilpaterol incrementó el peso de la canal caliente (3.4%, $P = 0.03$), el rendimiento de la canal (3.0% $P = 0.02$), el área del ojo de la costilla (5.9% $P = 0.05$) y redujo la grasa de recorte (30.9%, $P = 0.03$); sin afectar ($P > 0.20$) el grado de marmoleo, espesor de la grasa y proporción de hueso en la canal. A medida que el periodo de retiro pre-sacrificio se incrementa, tiende a disminuir la ganancia diaria de peso (componente lineal, $P = 0.11$), Conversión alimenticia (componente lineal, $P = 0.08$), la energía neta aparente de la dieta (componente lineal, $P = 0.11$) y el porcentaje de rendimiento de la canal (componente lineal, $P = 0.11$). Se concluye que la respuesta a la suplementación de zilpaterol en el comportamiento productivo y la composición de la canal tiene un impacto negativo si se prolonga el periodo de retiro de zilpaterol de 3 días (el requerimiento mínimo de periodo de retiro de acuerdo a la etiqueta). El periodo de retiro puede ser un factor relevante para explicar la variación de la respuesta productiva a la suplementación de zilpaterol en engordas comerciales.

PALABRAS CLAVES: β -agonistas, ganado de carne, características de la canal, zilpaterol.

ABSTRACT: Sixty-four crossbreed heifers (451 ± 23 Kg) were used in a 42-d feeding trial (four pens per treatment in a randomized complete block design), to evaluate the influence of pre-harvest drug withdrawal period on growth performance and carcass characteristics responses to zilpaterol chlorhydrate (β -agonist) supplementation. Heifers were fed a steam-flaked corn-based diet (2.13 Mcal/kg of NE_m). Treatments were: 1) control, no zilpaterol supplementation; 2) zilpaterol supplementation (for 30 d, drug withdrawn from the diet 3 d pre-slaughter; 3) zilpaterol supplementation, drug withdrawn 6 d pre-slaughter and 4) zilpaterol supplementation for 30 d, drug withdrawn 12 d pre-slaughter. Zilpaterol was supplemented at the rate of 0.15 mg/kg BW $\cdot$ d⁻¹. DM intake averaged 9.2 ± 0.26 kg/d and was not affected ($P = 0.36$) by treatments. Compared with control heifers, zilpaterol supplementation increased ($P < 0.01$) ADG (37.2%), ADG/DMI (36.1%), apparent dietary NE (25.7%) and observed/expected DMI (26%). Zilpaterol supplementation did not affect ($P > 0.20$) on marbling score, fat thickness and bone yield, but increased HCW (3.4%, $P = 0.03$), carcass dressing percentage (3.0%, $P = 0.02$), LM area (5.9% $P = 0.05$), and reduced trimmed fat (30.9%, $P = 0.03$). Prolonging the period of zilpaterol withdrawal pre-harvest tended to decrease carcass adjusted ADG (linear component, $P = 0.11$), ADG/DMI (linear component, $P = 0.08$), apparent dietary NE (linear component, $P = 0.11$) and carcass dressing percentage (linear component, $P = 0.11$). We conclude that growth-performance and carcass yield responses to zilpaterol supplementation are negatively impacted by prolonging the period of zilpaterol withdrawal beyond three days (the required minimum withdrawal period according to label). Drug withdrawal period may be a relevant factor in explaining variation in performance response to zilpaterol supplementation in commercial feedlots.

KEY WORDS: β -agonist, beef cattle, carcass characteristics, performance, zilpaterol.

Introducción

La engorda de bovinos es una de las principales actividades pecuarias del Estado de Baja California, con un poco mas de 200,000 cabezas de ganado finalizadas anualmente con un valor de producción por encima de \$ 1'600,000.00 pesos. Sin embargo, dada las condiciones de precio de los cereales en relación con el precio de comercialización de la carne hace necesario el hacer mas competitivo el sistema de producción. En ese sentido, con la finalidad de incrementar la eficiencia en la engorda y el rendimiento de cortes en la canal, el uso de aditivos en la alimentación del ganado es una herramienta cada vez más utilizada. En consecuencia, el beta-agonista clorhidrato de zilpaterol (Zilmax®) es usualmente utilizado en las engordas de la región. La Norma Oficial Mexicana NOM-EM-015-ZOO-2002 establece al menos 72 h de retiro previo al sacrificio al uso de este producto. Sin embargo, a nivel comercial, como resultado de prácticas de manejo y necesidades de comercialización, puede prolongarse la estancia del ganado en corral sin consumir Zilmax® con al posibilidad de afectar los beneficios esperados con el uso del producto. La información disponible acerca de la relación entre el tiempo de retiro y la respuesta en el comportamiento productivo y las características de la canal ganado que haya recibido Zilmax® durante la fase final de la engorda es muy escasa.

En base a lo anterior, el objetivo de este experimento fue evaluar la influencia del tiempo de retiro del agente beta-adrenérgico clorhidrato de zilpaterol sobre el comportamiento productivo y características de la canal en bovinos de engorda en finalización.

Revisión de Literatura

Aspectos generales de los β -adrenérgicos agonistas

Sustancias que al añadirse al alimento en pequeñas cantidades, aumentan el rendimiento animal y mejoran el índice de conversión, se conocen como promotores del rendimiento. Los antibióticos, probióticos, así como los β -agonistas son algunos de ellos (AMENA, 2000).

Desde la prohibición de los anabólicos en 1986, otras sustancias como los β -agonistas fueron introducidas como promotores de crecimiento. Clenbuterol es un β -agonista que al principio fue desarrollado para fines medicinales, como ejemplo, el tratamiento de las enfermedades respiratorias en caballos, bovinos y para la relajación del útero en vacas al parto (Kuiper et al., 1998). Sin embargo el clenbuterol también tiene la capacidad de aumentar el crecimiento de los músculos, que es el efecto mas claro, con una disminución del tejido adiposo, causado por la estimulación de adipocino tricilglicerol y un inhibidor de síntesis de ácidos grasos (Mersmann, 1998).

Martínez y Macswiney (2006) en una revisión del uso de este producto, indican que desde su uso en 1965 se observaron que directa o indirectamente podrían lograr el incremento en peso corporal al cambiar la concentración intracelular del AMPc. Asimismo, demostraron que la administración oral de este agonista al ganado, aves, cerdos y ovejas aumentaba la masa muscular y disminuía la cantidad de grasa corporal.

El clenbuterol es capaz de aumentar el rendimiento de las canales de los bovinos y otras especies pero, es peligroso para la salud humana. No obstante, debe destacarse que este principio activo no es potencialmente oncogénico ni mutagénico y es embriotóxico sólo a grandes dosis (Sumano y Ocampo, 2002).

Con el uso inadecuado de los β -agonistas como en dosificaciones mas altas y tiempos de tratamiento mas largos, es decir con el objetivo de mejorar el crecimiento, se producen residuos en la carne y en otros órganos del animal que pueden provocar enfermedades en las personas que lo consumen (Pulce et al., 1991). Por eso los β -agonistas en general están prohibidos como promotores del rendimiento y son autorizados solamente en Europa como medicamentos (Salleras et al., 1995).

En contraparte la ractopamina y el zilpaterol tienen poco efecto farmacológico en el ser humano que se biotransforman y depuran con rapidez en los animales, tanto que es imposible considerar que induzcan efectos cardiovasculares adversos o de otra índole, aun consumiendo productos de origen animal provenientes de bovinos y cerdos en los que no se guardó ningún periodo de retiro (Macar, 1998).

Relación entre estructura y función de los β -adrenérgicos agonistas

La ractopamina, el salmeterol y salbutamol no son sustratos, y sólo son biotransformados por glucuronidación hepática. Cuando los hidroxilo (OH) son sustituidos por un halógeno como en el caso del clenbuterol (cloro), se evita la biotransformación por las enzimas a nivel tisular y se hace lenta la biotransformación hepática. Al mismo tiempo, la presencia del cloro en el clenbuterol lo hace más liposoluble que sus análogos y, por ende, tiende a difundir más profundamente en los tejidos y la grasa animal. Sin embargo, es necesario aclarar que todos los derivados β -adrenérgicos mencionados serían más liposolubles de no ser porque la amina que todos tienen se encuentra protonada a pH fisiológico o menor, como el del estómago (Martínez y Macswiney, 2006).

En la Fig. 1 los compuestos β -adrenérgicos presentan una cadena lateral. Ésta puede ser levógira o dextrógira. Los compuestos comerciales presentan ambos estereoisómeros; por tanto, tendrán actividad variable dependiendo de su proporción chiral. Para algunos compuestos como clenbuterol, ractopamina, fenoterol, isoproterenol, zilpaterol y terbutalina la parte activa es la levorrotada aunque existen

compuestos experimentales que funcionan con la parte dextrorrotada (Sumano y Ocampo, 2002).

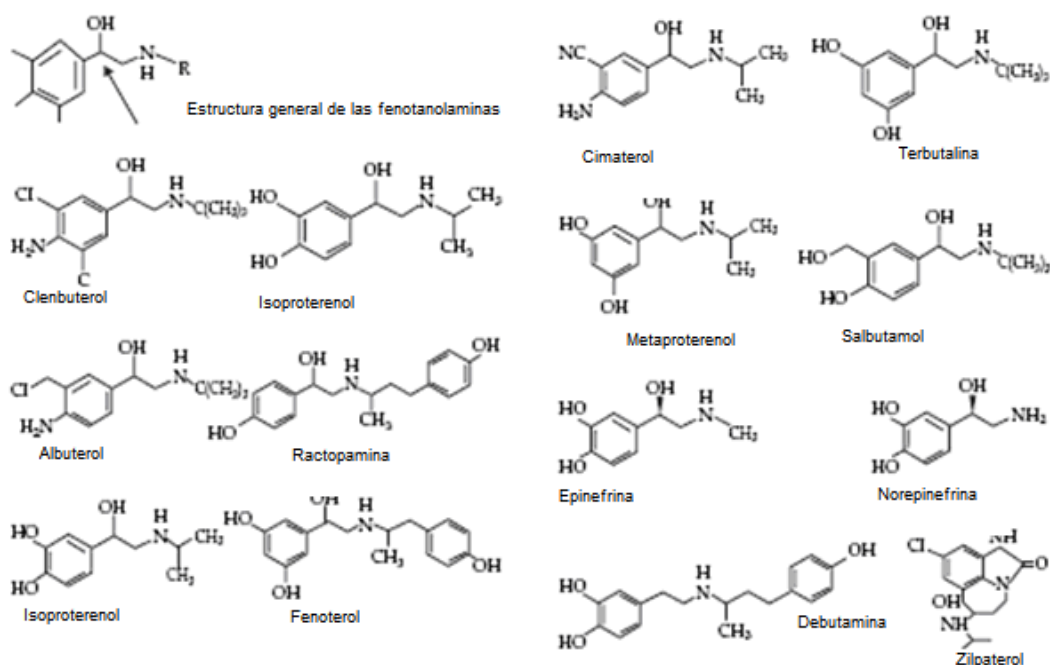


Figura 1. Estructura general de los β -adrenérgicos agonistas

Efectos en diferentes especies de animales domésticos

Mersmann (1998) reportó que algunos β -agonistas aumentan la cantidad de masa muscular y disminuye la grasa en la canal de bovinos, cerdos, aves y ovejas. Los efectos no son tan claros en aves como en rumiantes, en cerdos quedaría en un efecto intermedio. Una interpretación podría ser que en una especie seleccionada para la producción de carne el potencial de crecimiento esta agotado, mientras que

en especies de dos o tres propósitos (leche, carne, lana) son seleccionadas bajo criterios y todavía hay potencial de crecimiento.

Otra razón podría ser que algunos β -agonistas no son tan eficaces en una especie como en otra, porque los receptores son distribuidos y combinados de otra manera o el tejido es diferente. También es posible que un β -agonista en una especie funcione como β -antagonista en otra especie.

β -adrenérgicos receptores

Los receptores en la célula de los tejidos blancos son necesarios para la señalización extracelular de la vía que produce una respuesta fisiológica (Mersmann, 1998). Una respuesta biológica para señalar cualquier trayectoria extracelular es dependiente en la presencia de un receptor específico en células de un tejido determinado. β -adrenergicos agonistas (β -AA) se enlazan con β -adrenérgicos receptores (β -AR) para producir un efecto biológico. Estudios indicaron que la presencia de diferentes subtipos de receptores puede existir para diferenciar la potencia y eficacia en seleccionadas Norepinefrina (NEPI) y Epinefrina (EPI) análogos. Dos de los mejores tipos de receptores adrenérgicos fueron descubiertos y clasificados como α o β -AR. Sigüientes investigaciones revelaron 3 subtipos de β AR, β_1 -AR, β_2 -AR, β_3 -AR (Moody et al., 2000; Johnson, 2004). La mayoría de las células mamíferas contienen el tipo β -AR pero la distribución y número de cada subtipo varía entre diferentes tejidos en la misma especie. Agregado a esto la distribución del subtipo de β -AR puede variar sin haber un determinado tipo de tejido entre especies. Un mismo tejido entre las especies puede tener diferente distribución de los subtipos de β -AR lo cual en parte explica las diferencias en las respuestas biológicas en el mismo compuesto administrado a dos diferentes especies. Finalmente, algunos tejidos expresan varias proporciones de β_1 -AR y β_2 -AR lo que complica entender el modo de acción de los β -adrenérgicos agonistas. Los β -AR son miembros de una familia de receptores que funcionan por enlace a las proteínas G. Una característica

común de esos receptores es que ellos contienen siete membranas que abarcan dominios los cuales forman nudos, ambos en porciones intra y extracelulares. El enlace de los ligandos ocurre en el medio extracelular lo cual causa un cambio conformacional en el enlace membranal del receptor. El β -AR es unido a la proteína G (enlace GTP proteico) que activa la adenil ciclasa para sintetizar AMPc. El AMPc regula la actividad de la proteína quinasa A, la proteína quinasa A es responsable de la llave de fosforilación enzimática involucrado en varios efectos biológicos. La fosforilación puede causar activación o inactivación de numerosas enzimas. Adicionalmente, los factores de transcripción con los que se enlaza al ADN y regula la transcripción de ADN a ARNm son también puntos de enlace de proteína quinasa A. Un ejemplo específico es el AMPc como elemento responsable del enlace proteico (EREP), el cual puede ser fosforilado por la proteína quinasa A. El EREP fosforilado perfecciona la actividad transcripcional que puede jugar un papel en la regulación de la transcripción de numerosos tipos de β -AR de genes receptivos en la célula (Mersmann, 1998).

La administración oral de algunos agonistas β -AA sintéticos, modifica el crecimiento por aumento de la masa muscular y disminución de la acumulación de grasa. Los receptores β -AR están presentes en la mayoría de las células de los mamíferos, aunque la distribución de los subtipos (β_1 , β_2 , β_3) y la proporción de cada uno, varía entre tejidos en una especie dada. Por lo general, los β_1 predominan en el corazón estimulando su inotropismo (fuerza de contracción) y en el músculo liso intestinal induciendo relajación, mientras que a los β_2 se les localiza en los bronquios y músculo uterino, induciendo relajación en ambos casos. Evidentemente, la magnitud de la actividad fisio-farmacológica de un agonista o agonista-parcial β -AR, dependerá de su denominada actividad intrínseca en el receptor y distribución en el tejido blanco (Martínez y Macswiney, 2006).

Finalmente, los dominios intracelulares de los β -AR tienen puntos de fosforilación por la proteína quinasa A y en específico, β -AR-asociado a proteína quinasa (β -ARQ). La fosforilación causa un desenlace del β -AR con la proteína G lo

cual al final inactiva el receptor, este fenómeno es comúnmente referido como una desensibilización aguda del β -AR (Mills y Mersmann, 1995). Seguido la desensibilización aguda puede ser derivada del incremento de los β -AA. Sin embargo la exposición crónica a dosis elevadas de los β -AA comúnmente resultan en la internalización de los β -AR y la baja regulación del abundante β -AR ARNm (Johnson et al., 2004).

Eficiencia de los β -adrenérgicos agonistas en ganado de carne

Los β –adrenérgicos agonistas (β -AA) han demostrado que tienen un efecto biológico en vivo cuando son oralmente administrados en ganado de carne. Es predecible que una dosis significativa de β -AA oralmente deliberada deja el rumen intacto, progresivamente a través de las partes bajas del tracto gastrointestinal donde es absorbido. Una vez absorbido el β -AA entra a la corriente sanguínea y circula hasta el hígado donde tiene una mayor oportunidad de degradación. Los β -agonistas pueden ser llevados a un tejido específico a una dosis aceptable, donde si el receptor esta disponible y funcional, puede enlazar el β -AA y potencialmente desprender una respuesta biológica (Johnson et al., 2004).

Ricks et al. (1984) fueron los primeros en reportar que el β_2 -AA, cuando es oralmente administrado al ganado, incrementa significativamente la masa muscular y disminuye la masa de tejido adiposo. Los efectos del β -AA en la ganancia diaria de peso (GDP) parecen ser poco inconsistentes en becerros y becerras. La escala en respuesta en becerros fue de entre 9% al 30% de mejoría en GDP durante los periodos experimentales. Cuando había oportunidades de comparar estudios con β -AA idénticos, aparentemente la corta duración de los estudios arrojaron mejoría positiva en la ganancia de peso vivo comprado con el control. Esto puede implicar que una larga exposición a una dosis constante de β -AA puede resultar en insensibilización y perdida potencial de la ventaja detectable en GDP. El consumo diario de alimento (CDA) resultan ser inafectadas con administración de β -AA en

becerros y becerras. Cuando las diferencias en consumo de alimento fueron notadas, con frecuencia el consumo fue disminuido en el ganado tratado con β -AA comparado con los controles. Algunos de los autores estipulan que esto puede ser debido a problemas palatinos en estos estudios experimentales. Estos datos sugieren que el β -AA podría tener efectos mínimos en el consumo de materia seca en ganado de carne. Mientras que la ganancia de peso vivo o la tasa de crecimiento pueda o no ser incrementada con el β -AA en ganado, la eficiencia alimenticia fue generalmente aumentada de un 10 hasta un 30% en becerros y becerras. Estos aumentos en la eficiencia alimenticia son los resultados primarios de cambios dramáticos en la composición de ganancia: Mayor proteína, menor grasa.

Aunque los efectos del β -AA en la tasa de crecimiento del ganado de carne pueden no ser notorios, sus efectos en peso de la canal, y su composición son notorios. En la mayoría, si no en que en todos los casos, canales magros fueron obtenidos y la grasa del canal fue reducida en ambos, becerros y becerras. Debido a numerosos avances en porcentaje de preparación, aparentemente los tejidos en la canal (músculo esquelético y adiposo) fueron los blancos primarios para la acción del β -AA. Los tejidos que no pertenecen a la canal (Tracto gastrointestinal) fueron inafectados por el β -AA. Este no sería el caso con otros promotores del crecimiento usados en la engorda de ganado, como las somatotropinas (Early et al., 1990).

β -adrenérgicos agonistas: Potencia y modo de acción en ganado

Diferentes compuestos β -agonistas han sido probados con distintos niveles de respuesta en el ganado de carne. (Cuadro 1 y 2)

Hace 20 años, Ricks et al. (1984) reportaron que el clenbuterol, un compuesto con estructura similar a las catecolaminas endógenas, modulaba el crecimiento del ganado de carne. Los autores usan el termino “actividad repartidora” para describir

Cuadro 1. Respuesta comparativa de los novillos a varios β -Adrenérgicos Agonistas.

Compuesto	Dosis ^a	Días	GDP	F/G	CDA	Mus.	Grasa	Referencia
				Control	100 %			
Cimaterol	49	91	130	70	100	141	74	Hanrahan et al., 1986
Clenbuterol	10	98	91	101	93	111	65	Ricks et al., 1984
Clenbuterol	7	50	134	67	101	128	91	Schiavetta et al., 1990
L-644,969	7.5	84	117	80	94	113	71	Molones et al., 1990
Ractopamina	200	42	111	90	100	102	98	Carroll et al., 1990
Ractopamina	200	28-42	120	84	100	104	95	Schroeder et al 2003
Zilpaterol	50	52	113	85	98	112	82	Zilmax Tech., 1996

^amg/dCuadro 2. Respuesta comparativa de las vaquillas a varios β -Adrenérgicos Agonistas.

Compuesto	Dosis ^a	Días	GDP	F/G	CDA	Mus.	Grasa	Referencia
				Control	100 %			
Cimaterol ^b	25	98	176	57	100	117	74	Fabry y Sommer, 1990
Clenbuterol	10	50	97	86	----	118	60	Miller et al., 1988
Ractopamina	200	28-42	118	86	102	101	99	Schroeder et al., 2003
Zilpaterol	53	52	114	88	100	----	----	Zilmax Tech., 1996

^amg/d^bVacas de desecho

los cambios dramáticos en la composición del canal observada después de la administración oral del clenbuterol en la engorda de ganado de carne.

Desde entonces, numerosos estudios han evaluado otros componentes que tienen actividad repartidora y pueden modular la deposición de tejido magro en una variedad de especies, incluyendo el ganado de carne. Como, clenbuterol, estos otros componentes (cimaterol, L-644,969, ractopamina y zilpaterol) tienen estructura y propiedades farmacológicas similares que las catecolaminas endógenas, norepinefrina (NEPI) y epinefrina (EPI). Adicionalmente, estos agentes repartidores son comúnmente referidos como β -adrenérgicos agonistas (β -AA) junto con la alta afinidad relativa por los β -adrenérgicos receptores (β -AR) (Johnson et al., 2004).

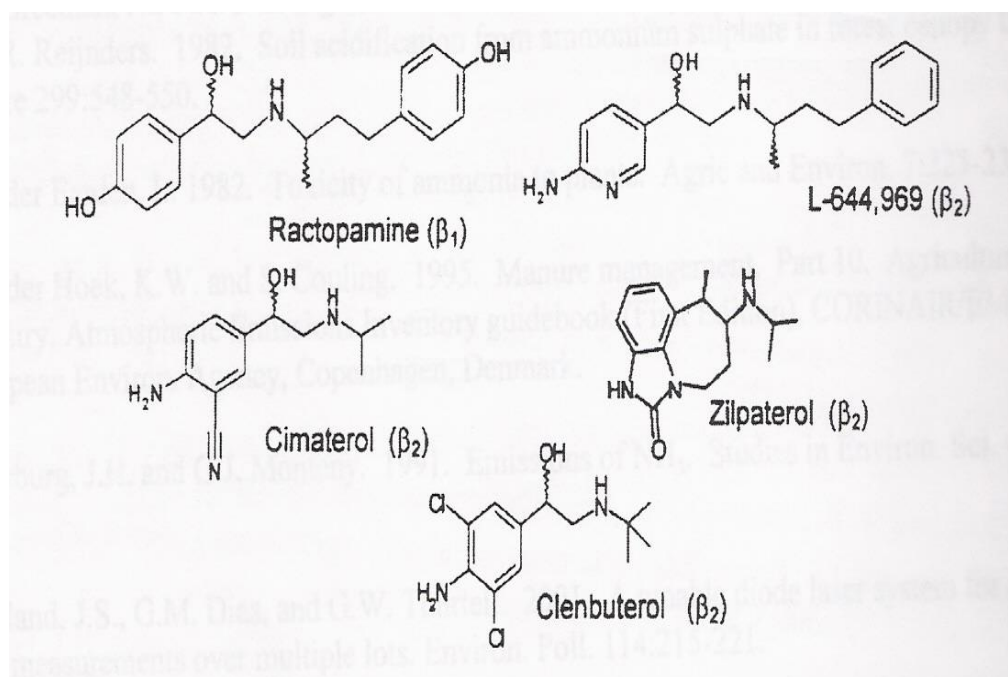


Figura 2. Estructura de β -adrenérgicos agonistas evaluados en ganado de carne.

El Receptor preferencial (subtipo β_1 y β_2) es mostrado después de cada compuesto (Johnson et al., 2004).

Dependiendo de la estructura química de los β -agonsitas y de la manera en que estos son metabolizados, pueden tener tiempos de vida media en plasma cortos (con anillo aromático hidroxilo) o largos (con anillo aromático halogenado). Hay diferencias grandes en la potencia oral entre los β -agonsitas. Solo los β -agonsitas con largos tiempos de vida media, con alta eficacia biológica oral y con lenta descomposición biológica los que tienen también una eficacia oral alta en personas y representan un riesgo alto para la salud (Smith, 1998).

Las fentanolaminas mas comerciales son mezclas de estereoisomeros, sin embargo han sido purificadas o seleccionadas por un estereoisomero específico durante su elaboración (Ricke et al., 1999). Cimanterol (CIM), clenbuterol (CLN), clorhidrato de ractopamina (RAC), salbutamol (SAL) y zilpaterol (ZIL) son todos agentes que han sido estereoisomerados, donde L-644969 fue desarrollado como un agente estereoisomero individual. Ractopamina es una fentanolamina β -AA que contiene dos carbonos quirales y existe como una mezcla de cuatro estereoisomeros (Ricke et al., 1999)

Norepinefrina y epinefrina son β -agonsitas naturales en el cuerpo, que pueden estimular los β -receptores de las células y en situaciones de estrés concentraciones mas altas son emitidas a la sangre (Mersmann, 1998). Pero entre estos β -agonsitas naturales existen muchos sintéticos. Clenbuterol, cimaterol, ractopamina, salbutamol y zilpaterol son solamente algunos de ellos (AMENA, 2000).

La norepinefrina es la más selectiva de los receptores α y la epinefrina actúa sobre ambos, con mayor selectividad por β , pero con un efecto α más dominante. Las respuestas fisiológicas se producen cuando estos agonistas β -AR se unen a los receptores y para el caso que nos ocupa, al receptor β -adrenérgico (Martínez y Macswiney, 2006).

Una respuesta fisiológica es producida si un β -agonista esta ligado a un β -receptor. Es la propiedad común de todos los β -agonistas de ligar a un receptor

(Kuiper et al., 1998). Los β -receptores existen en casi todas las células. β -agonistas, son moléculas que se unen con los β -receptores a complejos para activar la Gs proteína. Esta activa una enzima que produce adenosin-monofosfato cíclico (AMPc) que se junta con una subunidad de proteínquinasa A para liberar catalizadores que fosforilizan la proteína intracelular y de esta manera la activan. Semejantes reacciones con AMPc estimulan la transcripción de un gen especial que entrega el mecanismo para la transcripción de otros genes en la célula de mamíferos. Otras enzimas se ponen inactivas por fosforilación. La administración de compuestos β -agonista puede influir en la concentración intracelular de AMPc que repercute en el crecimiento (Mersmann, 1998). Este autor describió 3 subespecies de β -receptores: β_1 , β_2 y β_3 -receptores que en números y combinaciones son diferentes en la célula, lo que resulta en muchas funciones en cuales los β -receptores toman parte.

Las propiedades farmacológicas de los β -agonistas son complejas y probablemente diferentes entre las especies, pero también dentro de una especie, de edades, de las condiciones climáticas y/o dietas diferentes. Al lado de los β -agonistas existen también los β -antagonistas, que por el contrario, bloquean los β -receptores, cuando se combinan con éstos. Los agonistas β -AR son moléculas orgánicas que se unen a los receptores β -AR, dando lugar al complejo agonista-receptor, que a su vez activa a la proteína Gs. La subunidad A de la proteína Gs activa a la adenilatociclase, enzima que produce el monofosfato de adenosina cíclico (cAMP), una de las principales moléculas de señalización intracelular. Esta molécula produce sus efectos al unirse a la subunidad reguladora de la quinasa proteínica A, para liberar la subunidad catalítica que fosforila a un buen número de proteínas intracelulares. Estas proteínas tienen papeles funcionales vitales para una variada gama de funciones que van desde permitir la entrada de Ca^{++} a la célula, hasta mediar la síntesis de proteínas clave para el funcionamiento celular (Mersmann, 1998).

La aplicación de agonistas β -AR amplifica estos efectos, el tratamiento de los mamíferos con agonistas β -AR causa incremento en la cantidad ARNt para varias

proteínas del músculo esquelético. En este contexto, después del tratamiento con β -AR se incrementan: El ARNm para la miosina de cadena ligera; el ARNm de la α -actina y el inhibidor de la proteasa calpaína calpastatina. Los agonistas β -AR pueden incrementar el flujo sanguíneo a ciertas regiones del cuerpo. Este aumento permite el proceso de hipertrofia en el músculo esquelético al transportar mayores cantidades de sustratos y fuentes de energía para la síntesis de proteína. Otra de las principales acciones de los agonistas β -AR orales es la disminución en la cantidad de grasa de la canal. Se ha demostrado in vitro la degradación de triacilglicerol en adipositos y la inhibición de la síntesis de ácidos grasos y de triacilglicerol. En algunos casos, aunque no en todos, después de la administración crónica de un agonista, el tejido adiposo de los animales presenta una actividad lipolítica aumentada, una actividad lipogénica disminuida, o ambas. La elevación de la concentración plasmática de ácidos grasos no esterificados después de la administración de un agonista β -AR, confirma la actividad lipolítica que ocurre en los adipositos (Martínez y Macswiney, 2006).

β -adrenérgicos agonistas y el crecimiento de musculo esqueletico

Los incrementos rápidos en la masa proteica del músculo esquelético es uno de los más consistentes efectos biológicos observados cuando los β -AA son administrados al ganado de carne. La hipertrofia muscular puede ser definida como el incremento en la talla (diámetro y longitud) en la existencia de fibras musculares. Comúnmente una aproximación práctica para estimar la hipertrofia muscular es evaluar las diferencias en tallas (área) y peso de cada músculo. La mayoría de los datos presentados, en consideración con los cambios en la masa muscular, es la observación de diferencias en el área del músculo longitudinal o el peso de seleccionados músculos, como el longitudinal o el semitendinoso. Aunque la administración de los β -AA en el ganado tiene resultados rápidos, preferencialmente incrementa la masa muscular, el mecanismo de acción por el cual el β -AA causa este efecto preferencial de crecimiento en músculo esquelético es significativo. Estos

mecanismos propuestos incluyen efectos directos de los β -AA, a través de su receptor, en crecimiento muscular, potencialmente secundarios, o efectos indirectos de los factores secretados por otros tipos de células importantes para el crecimiento de músculos o la combinación de ambos efectos (directo e indirecto). El objetivo de esta sección es discutir nuestro nivel de entendimiento sobre el mecanismo de potencial directo por el cual los β -AA afectan el crecimiento de músculo esquelético en ganado (Johnson et al., 2004).

Hipertrofia muscular y tipos de fibras

Los β -AA causan hipertrofia en las fibras de cada músculo especialmente en las fibras tipo II A donde la mayoría responden a la administración de los β -AA (Smith et al., 1998).

Células musculares satélites

Las células satélites son células mononucleadas que se encuentran ubicadas entre el sarcolema y la lamina basal de la fibra muscular (Mauro, 1961). Moss y Leblond en 1970, observaron que los núcleos en las fibras musculares multinucleadas no fueron disponibles para sintetizar el ADN. En un trabajo subsecuente, Moos y Leblond (1971), encontraron que las células satélites fueron capaces de proliferar, y Hoy en día, una proporción de sus células hijas se fusionaron con las ya existentes fibras musculares multinucleadas. Esto estableció a las células satélites como una fuente de núcleos para los músculos hipertroficados. Desde este trabajo las células satélites han sido expuestas para ser críticamente importantes en el apoyo postnatal en el crecimiento muscular de numerosas especies (Campion, 1984).

Desde que el número de fibras es agrupado en el nacimiento en la mayoría de los mamíferos y en el núcleo en las fibras musculares han perdido su potencial

mitótico, las células satélites proporcionan el importante ADN necesario para apoyar el incremento de la hipertrofia muscular durante el crecimiento posnatal. Ha sido estimado que aproximadamente de un 60 a un 90% del ADN en las fibras musculares maduras tienen origen de las células satélites. De esta manera la proliferación de las células satélites y su subsecuente fusión con las fibras musculares existentes para proporcionar el ADN requerido por las fibras hipertróficas puede ser un crítico paso limitante en la tasa de crecimiento del músculo. Ni siquiera incrementando la tasa de proliferación de células satélites o el número de células satélites proliferadas puede aumentar el entendimiento y eficiencia del crecimiento muscular. Debido al incremento dramático en la hipertrofia muscular seguido a la administración de β -AA en ganado de carne, se esperaría que la proliferación de células satélites y su subsecuente fusión con las células satélites proporcionaran una fuente de ADN involucrado en este proceso. Sin embargo, el total de ADN contenido en el músculo de animales tratados con β -AA es invariable, y la concentración de ADN de cada músculo comúnmente decrece debido al incremento dramático en la masa de estos músculos y a la invariación del contenido de ADN (O Connor et al., 1991).

Estos datos sugieren que la estimulación de la proliferación de células satélites y su subsecuente fusión con las fibras musculares existentes no es un paso limitante en la tasa de hipertrofia muscular. Estudios han conducido a la evaluación de efectos directos del β AA en la proliferación y diferenciación de células musculares (Johnson et al., 1998).

Síntesis de proteína muscular

Los β -adrenérgicos agonistas han demostrado un incremento fraccional en la tasa de síntesis proteica (Bergen et al., 1989). Estudios confirmaron que la ractopamina y el zilpaterol inducen al incremento en la acrecentación de proteínas en las células musculares, debido en parte al incremento total y a la tasa de síntesis

proteica miofibrilar (Anderson et al., 1990). Ractopamina, un β_1 -AA, y zilpaterol un β_2 -AA no alteraron la tasa de degradación proteica en células musculares. Así se concluyó que el aumento en la acrecentación de la proteína muscular por ractopamina fue debido a un incremento en la tasa de síntesis proteica con efectos no detectables en la tasa de degradación proteica. Adicionalmente, la ractopamina incrementa las cadenas ligeras de miosina de ARNm abundante en el músculo longitudinal del ganado de carne aproximadamente 5 veces mas comparado con el ganado que no estaba siendo tratado (Smith et al., 1989). Este incremento en la proteína miofibrilar del ARNm puede ser un resultado de la transcripción del gen inducido por el β -AA y/o el incremento establecido de ARNm. A pesar del mecanismo, el incremento en la abundancia de ARNm en las proteínas específicas musculares fueron relacionados con el marcado incremento en la hipertrofia muscular, potencialmente entre las alteraciones en la síntesis proteica (McMillan et al., 1992).

Degradación de proteína muscular

La tasa de degradación proteica puede también impactar la síntesis de proteína neta en el músculo esquelético. Comúnmente la tasa de degradación proteica es calculada por las diferencias entre las medidas de síntesis proteica y la tasa fraccional de síntesis proteica (Beermann, 2002). Alternativamente, actividades en las proteasas musculares (Calcio-dependiente y lisosomal) y sus inhibidores han determinado un seguimiento a la administración de los β -AA. Generalmente, los resultados de varios estudios sugieren que la degradación de proteína muscular puede ser reducida o inafectada por la administración de β -AA. En ganado, el trabajo mayoritario en el área de degradación proteica se ha conducido con el β -AA, L-644,969. este β_2 -AA causó un 27% de reducción en la tasa fraccional de degradación proteica en becerros comparado con los controles no tratados (Killefer y Koohmaraie, 1994).

Comúnmente, estas reducciones en la degradación proteica son la base de la observación en el decrecimiento de la textura de la carne con animales tratados con β -AA. Específicamente, las proteasas musculares y actividades inhibitoras que son afectadas en vivo comúnmente son seguidas de respuestas paralelas en la carne postmortem (Johnson et al., 2004).

β -adrenérgicos agonistas y el crecimiento de tejido adiposo

Adicionalmente al rápido incremento en la masa del músculo esquelético seguida a la administración del β -AA, los otros efectos obvios del β -AA son reducciones significantes en la grasa de la canal (Mersmann, 1998). La mayoría de los científicos acuerdan, que esta reducción inducida por los β -AA en la acumulación de tejido adiposo, son causados directamente por la unión del β -AA a su receptor en el tejido adiposo. Específicamente, simulan hidrólisis de triglicéridos (lipólisis) y así reducen la síntesis de ácidos grasos (lipogenesis). Las enzimas responsables para ambas lipólisis y lipogenesis, son blancos de la fosforilación inducida por los β -AA por la proteína quinaza A (Johnson et al., 2004).

Consideraciones prácticas

Dosis y duración de los β -adrenérgicos agonistas: La dosis (corta) y duración de dosis sostenida (crónica) de β -AA ha demostrado afectar la respuesta máxima. Ha sido bien documentado que el incremento de β -AR-mediador en AMPc es transitorio. Continuamente, la activación de receptores por el ligando del β -AA es necesaria para mantener los niveles de AMPc y potenciar su respuesta. La exposición a una dosis constante del β -AA al receptor podría eventualmente causar una descensibilización aguda o inactivación del receptor mediador señalado. Este fenómeno ocurre debido a la fosforilación del β -AR por ambas, proteína quinaza A y β -ARQs (Hausdorff et al., 1990). La descensibilización aguda puede ser sorteado hasta algún grado por el incremento de la dosis y potencializando la señal. A largos

términos de exposición crónica a elevadas dosis de β -AA conduce a la internalización o pérdida del receptor de la superficie de la célula y la baja regulación en el β -AR de abundante ARNm β -ARQs. Estas alteraciones parecen ser irreversibles a corto plazo (Hausdorff et al., 1990).

Otro problema práctico en la duración de la alimentación del β -AA es la habilidad del músculo esquelético para sostener la hipertrofia muscular sin el incremento en el ADN para ayudar en el mantenimiento de la masa proteica extra. La administración de esteroides anabólicos para ganado de carne ha demostrado simular la proliferación de células musculares satélites (Johnson et al., 1998). El tiempo adecuado de la administración de la implantación de exposición del β -AA puede ser crucial para estimular la proliferación de células musculares satélites y su subsecuente fusión en las fibras existentes. La adición de DNA a las fibras puede convertirse en benéfico durante la rápida fase de hipertrofia muscular causada por la administración de β -AA. Esto puede permitirle a la fibra mantener una talla adicional por un periodo de tiempo mas largo (Johnson et al., 2004).

Eficacia comparativa del implante de esteroides y los β -AA.

Con la reciente aprobación de los β -adrenergicos para ganado de carne en los Estados Unidos, los productores ahora podrán administrar dos tipos distintos de promotores de crecimiento al ganado de carne durante la fase final: Implante de esteroides y β -AA. Naturalmente pueden surgir algunas preguntas sobre la eficacia comparativa de estas dos clases de promotores de crecimiento usados juntos en la producción de ganado de carne. En teoría, el implante de esteroides y β -AA puede ser atribuido a la estimulación del crecimiento muscular en ganado de carne debido a la presumible diferencia en sus mecanismos de acción. Investigaciones tempranas evaluaron el efecto de la somatotropina bovina (bST) y esteroides revelando efectos aditivos de estos dos promotores del crecimiento en la ganancia de peso y la deposición proteica en ganado de carne (Preston et al., 1995). La conclusión de cada

uno tuvo distintos mecanismos de acción en la estimulación del crecimiento fue sobresaliente desde que el E_2 demostraba incrementar los niveles de ST circulante. De hecho las investigaciones sugieren que el E_2 y los bST no fueron aditivos en los efectos de la circulación de ST. Tomando juntos estos datos se sugiere que los efectos de la promoción del crecimiento por estrógenos no fueron totalmente mediados por el incremento en la secreción de ST (Enright et al., 1990).

Los implantes esteroides simulan el crecimiento de músculo esquelético a través de grandes incrementos ante la hipertrofia muscular como de la activación de células musculares satélites para proporcionar el crítico ADN para sostener la hipertrofia muscular (Johnson et al., 1996, 1998). Como fue dicho anteriormente, los β -AA no tienen efecto en el incremento de contenido de ADN en músculo esquelético. Por eso la administración de la implantación de esteroide de 60 a 90 días previo a la alimentación con β -AA debería tener efectos aditivos en la deposición de tejido delgado en ganado de carne debido a los diferentes mecanismos de acción (Johnson et al., 1996).

Algunos β -adrenérgicos agonistas sintéticos

Clenbuterol, cimaterol, ractopamina, salbutamol y zilpaterol son algunos de ellos (Mersmann, 1998). Siendo los β -adrenérgicos agonistas zilpaterol y ractopamina los mas comúnmente utilizados en los corrales de engorda.

Clorhidrato de Zilpaterol

En el año de 1999 se autorizó en nuestro país el uso del beta-adrenérgico clorhidrato de zilpaterol (Zilmax®), como aditivo para las dietas de finalización para ganado de engorda. Zilpaterol (Zilmax) es aprobado para su uso en el ganado de carne es África del Sur y México, pero aun no ha sido aprobado en los Estados Unidos (Johnson et al., 2004). Lo anterior, basado en los resultados de mínimos efectos farmacológicos en el ser humano y de la rápida excreción en los animales

que lo consumen (Martínez y Macswiney, 2006; Shelver, 2006). La ventaja del uso de beta-adrenérgicos estriba en una mayor ganancia de masa muscular generando mejores eficiencias en la engorda y mayor redituabilidad al corte de la canal (Plascencia et al., 1999; Avendaño et al., 2006). Zilmax® mejora la ganancia diaria de peso en un 24 a 36% (Plascencia et al., 1999; Avendaño et al., 2006), la ganancia de peso en canal en un 4.8 a 7% (Plascencia et al., 1999; Avendaño et al., 2006), la conversión alimenticia en un 39% (Plascencia et al., 1999) e incrementa la masa muscular disminuyendo la grasa (Plascencia et al., 1999; Avendaño et al., 2006).

No obstante el nivel de respuesta es variable, ya que en diferencia en kilogramos de canal va de 6 a 22 kilogramos (Plascencia et al., 1999). Sin embargo para mantener su nivel de respuesta los niveles plasmáticos deben mantenerse constantes (Casey, 1998). Como sugerencia del laboratorio que lo comercializa este debe ser suministrado, para obtener una mejor respuesta, los últimos 30 días de la fase de engorda y ser retirado 72 horas previo al sacrificio. Los principales factores involucrados en el nivel de respuesta de Zilmax® son el potencial de ganancia del ganado (Moody et al., 2000), la densidad energética de la dieta (Garza, 1998) y la duración del suministro (Ramírez, 1998).

Clorhidrato de ractopamina

El clorhidrato de ractopamina fue aprobado por la F.D.A. (Food and Drug Administration) el 13 de junio del 2003 (Rainford, 2003 y Schroeder, 2004) después de una rigurosa revisión que decía que era seguro para el consumo humano, para los animales y para el medio ambiente (Mitchell, 1998).

Es un β -agonista, no un antibiótico o un esteroide. El clorhidrato de ractopamina estimula los β -receptores celulares presentes en el músculo esquelético y tejido adiposo, y como primer efecto incrementa el tamaño de las fibras musculares y también la síntesis de proteína (Hammack, 2003).

Desde marzo del 2004, ractopamina es aprobado y lanzado al mercado para su uso en ganado de carne en los Estados Unidos (Johnson et al., 2004).

Para el caso de la ractopamina, la ingesta diaria admisible (IDA), por vía IV es 230 veces mayor que el del clenbuterol, calculado este último a partir de su administración oral y considerando una biodisponibilidad del 100%. En otras palabras, se pueden administrar 57.5 mg de ractopamina por vía IV para obtener el nivel de no efecto (NNE) similar al del clenbuterol. Pero, si se considera una biodisponibilidad del 60%, entonces se requerirá aún más ractopamina para lograr un NNE similar al del clenbuterol. En lo referente a los residuos de ractopamina en hígado con un tiempo de retiro, denominado "cero" (que en realidad es 12 h), se ha informado que es igual o inferior a 0.013 ppm. Este valor es inferior a la concentración de residuos máxima (CRM), que es de 0.15 ppm. Es importante añadir que se cuenta con algunas formas de detectar estos productos en muestras biológicas, distinguiéndolos entre ellos (Martínez y Macswiney, 2006).

Residualidad

La situación de los residuos es distinta, tanto para ractopamina como para zilpaterol. En ambos casos, su eliminación es mucho más rápida, por la ya mencionada ausencia del cloro en el grupo cíclico, que facilita su biotransformación y excreción. Se ha calculado para ractopamina que en tan sólo horas se reducen las concentraciones del fármaco y metabolitos a niveles inferiores a la IDA, siendo la conjugación glucurónida la principal forma de biotransformación. Sin embargo, durante la medicación con ractopamina se encuentran en la orina concentraciones de 44-473 ng/ml y se les sigue detectando hasta las dos semanas posteriores al final de la medicación. No obstante, es un error comparar clenbuterol con zilpaterol o ractopamina dado el potencial inductor de toxicidad tan distinto entre estos fármacos (Martínez y Macswiney, 2006).

Solamente a los residuos generados por el clenbuterol se les ha asociado con algunos incidentes de intoxicación en humanos que consumieron subproductos contaminados, pero no se han documentado casos fatales. A la fecha no existe un solo informe de intoxicación por residuos de ractopamina ni de zilpaterol (Hernandez, 1992).

Se puede observar que las dosis utilizadas en estos casos fueron muy elevadas y no corresponden a los 5 ng/g de tejido que se tienen como producto de cero días de retiro en animales tratados para aumentar su eficiencia productiva cuando se administra clenbuterol a dosis bajas promotoras del crecimiento (Cuadro 3).

Sin embargo, es importante reiterar que la intoxicación del ser humano con productos de origen animal conteniendo residuos de clenbuterol es mucho más factible que con otros agonistas β -AR. De hecho, se hace énfasis aquí que no existen datos de toxicidad debida a consumo de productos de origen animal tratados con ractopamina o zilpaterol. Es entonces evidente que el uso del clenbuterol conlleva peligros si no se respetan largos periodos de retiro (más de 30 días), en particular si se utilizan dosis excesivas de este agente con el ánimo de incrementar ganancias o por mal manejo del principio activo en premezclas mal diseñadas farmacéuticamente, pero este criterio no es aplicable al zilpaterol ni a la ractopamina (Martínez y Macswiney, 2006).

Cuadro 3. Excreción de algunos β -agonistas en diferentes especies

Excreción de algunos β-agonistas en diferentes especies					
Compuesto y animal	Dosis	Vía	Tiempo, h	Excreción, h	% de absorción
Clenbuterol					
Bovino	3 mg/kg	Oral	48	Orina	76
Perro	25 mg/kg	Oral	72	Orina	74
Humano	20 μ g	Oral	96	Orina	80
Conejo	2.5 mg/kg	Oral	96	Orina	92
Rata	2.0 mg/kg	Oral	72	Heces	19
Rata	2.0 mg/kg	Oral	72	Orina	67
Ractopamina					
Rata	7.7 mg/kg	Oral	24	Orina	29
Rata	7.7 mg/kg	Oral	24	Billis	59
Cerdo	40 mg/kg	Oral	168	Orina	88
Pavo	6.7 mg/kg	Oral	48	Orina	52

Adaptado de (Martínez y Macswiney, 2006).

Literatura Citada

- AMENA 2000., Asociación Mexicana de Especialistas en Nutrición Animal, Memorias del 2000.
- Anderson, P.T., W.G. Helferich, L. C. Parkhill, R. A. Merkel, W. G. Bergm. 1990. Ractopamine increase total and myofibrillar protein synthesis in cultured rat myotubes. *J. Nutr.* 120:1677-1683.
- Avendaño, Reyes, V. Torres-Rodríguez, F. J. Meraz-Murillo, C. Pérez-Linares, F. Figueroa-Saavedra, and P. H. Robinson. 2006. Effects of two β -adrenergic agonists on finishing performance, carcass characteristics, and meat quality of feedlot steers *J. Anim. Sci.* 84: 3259-3265.
- Beermann, D. H. 2002. Beta-Adrenergic receptor agonist modulation of skeletal muscle growth. *J. Anim. Sci.* 80 (E. Suppl. 1): E18-E23.
- Bergen, W. G., S. E. Jonson, D. M. Skjaerlund, A. S. Babiker, N. Y. Ames, R. A. Merkel, and D. B. Anderson. 1989. Muscle protein metabolism in finishin pigs fed ractopamine. *J. Anim. Sci.* 67:2255-2262.
- Casey, N.H. 1998. Efectos fisiológicos y toxicológicos del clorhidrato de zilpaterol. Resúmenes de las conferencias presentadas en el lanzamiento de zilmax en México. Folleto de Hoeschst Roussell Vet. México.
- Campion, D. R. 1984. The muscle satellite cell: A review. *Int. Rev. Cytol.* 87:225-251
- Carroll, L.H., S.B. Laudert, J.C. Parrott, D.H. Mowrey, D.R. White, D.B. Anderson, and J.K. Merrill. 1990. Ractopamine HC1 dose titration in feedlots steers: Performance and carcass traits. *J. Anim. Sci.* 68 (Suppl. 1): 294.

- Dunn, J. D., B. Jhonson, J. P. Kayser, A. T. Waylan, E. K. Sissom, and J.S. Drouillard. 2003. Effects of flax supplementation and combined trenbolona acetate and estradiol implant on circulating insulin-like growth factor-I (IGF-I) and muscle IGF-I messenger RNA levels in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 81:3028-3034.
- Early, R.J., B. W. McBride, and R.O. Ball. 1990. Growth and metabolism in somatotropin treated steers: II Carcass and non-carcass tissue components and chemical composition. *J. Anim. Sci.* 68: 4144-4152.
- Enright, W.J., J.F. Quirke, P.D. Gluckman, B.H. Breier, L.G. Kennedy, I.C. Hart, J.F. Roche, A. Coert, and P. Allen. 1990. Effects of long-term administration of pituitary-derived bovine growth hormone and estradiol on growth in steers. *J. Anim. Sci.* 68:2345-2356.
- Fabry, J., and M. Sommer. 1990. Effects of cimaterol on growth and carcass composition of culled cows. *J. Anim. Sci.* 68 (Suppl. 1):294.
- Garza, J.D. 1998. Comportamiento productivo de bovinos productores de carne en finalización suplementados con Zilmax. Resúmenes de las conferencias presentadas en el lanzamiento de zilmax en México. Folleto de Hoeschst Roussell Vet. México.
- Hammack, S. 2003. New muscle builder for cattle. Retrived agosto 16, 2003.
- Hanrahan, J. P., J. F. Quirke, W. Bomann, P. Allen, J. C. McEwan, J. M. Fitzsimons, J. Kotzian, and J. F. Roche. 1986. β -Agonist and their effects on growth and carcass quality. In: D. J. A. Cole and W. Haresing (Ed.). *Recent Advance in Animal Nutrition*. P. 125-138.

- Hausdorff, W.P., M.G. Caron, and R.J. Lefkowitz. 1990. Turning off the signal: Desensitization of β -adrenergic receptor function. *FASEB J.* 4:2881.
- Hernandez, R. Martín., PE, Sanz B. Revisión: residuos de tratamientos veterinarios y salud pública. *Rev Esp Cienc Aliment* 1992;32:5.
- Johnson, B. J., P. T. Anderson, J. C. Meiske, and W. R. Dayton. 1996. Effect of a combined trenbolone acetate and estradiol implant on feedlot performance, carcass characteristics, and carcass composition of feedlot steers. *J. Anim. Sci.* 74:363-371.
- Johnson, B. J., N. Halstead, M. E. White, M. R. Hathaway, A. DiCostanzo, and W. R. Dayton. 1998. Activation state of muscle satellite cells isolated from steers implanted with a combined trenbolone acetate and estradiol implant. *J. Anim. Sci.* 76:2779-2786.
- Johnson J.B. 2004. β -adrenergic agonist, efficacy and potential mode of action in cattle. Nutritional Growth and Development Laboratory, Departamento Animal Sciences and Industry, Kansas State University.
- Killefer, J., and M. Koohmaraie. 1994. Bovine skeletal muscle calpastatin; Cloning, sequence analysis and steady-state mRNA expression. *J. Anim. Sci.* 72:606-614.
- Kuiper, H.A., M.Y. Noordam, M.M.H. Von Dooren-Flipsen, R. Schilt y A.H. Roos 1998. Illegal use of β adrenergic agonists. European Community. *J. Anim. Sci.* 76:195-207.
- Lehmkuhler, J., Ramos, M., and Crooks, A. 2005. Feeding Optaflexx® to Yearling Holstein Steers.

- Macar, C. 1998. Seguridad en el manejo de los β -agonistas en el corral de engorda. Talk on June 23rd 1998, organized by Hoechst Roussel Vet.
- Martínez, B.A., Y.I. Macswiney. Uso de los β -adrenérgicos como promotores de crecimiento en bovinos y su repercusión en salud pública. Accesado en Agosto del 2006.
- Mauro, A. 1961. Satellite cell of skeletal muscle fibers. J. Biophys. Biochem. Cytol. 9:493-495.
- McMillan, D.N., B.S. Noble, and C.A. Maltin. 1992. The effect of the β -adrenergic agonist clenbuterol on growth and protein metabolism in rat muscle cell cultures. J. Anim. Sci. 70:3014-3023.
- Mersmann H. J. and R. L. McNeel. 1995. Beta-adrenergic receptor subtype transcripts in porcine adipose tissue J. Anim. Sci. 73: 1962-1971.
- Mersmann, H.J. 1998. Overview of effects of β -adrenergic receptor agonists on animal growth including mechanisms of action. J. Anim. Sci. 76:160-172.
- Miller, M.F., D.K. Garcia, M.E. Coleman, P.A. Ekeren, D.K. Lunt, K.A. Wagner, M. Prochnor, T.H. Welsh, Jr., and S.B. Smith. 1988. Adipose tissue, longissimus muscle and anterior pituitary growth and function in clenbuterol-fed heifers. J. Anim. Sci. 66:12-20.
- Mills S.E. and W. Liang. 1995. Quantitative analysis of beta-adrenergic receptor subtypes in pig tissues J. Anim. Sci. 80: 963-970.

- Mitchell, G.A. and G. Dunnavan 1998. Illegal use of β -adrenergic agonist in the United States. *J. Anim. Sci.* 76:208-211.
- Moloney, A.P., P. Allen, D.B. Ross, G. Olson, and E.M. Convey. 1990. Growth, feed efficiency and carcass composition of finishing Friesian steers fed the β -adrenergic agonist L-644,969. *J. Anim. Sci.* 68:1269-1277.
- Moody, D. E., D. L. Hancock, and D. B. Anderson. 2000. Phenethanolamine Repartitioning Agents in Farm Animal Metabolism and Nutrition. J.P.F. D'Mello, ed. CAB International. New York, NY. P. 65-96.
- Moos, F.P. and C.P. Leblond. 1970. Nature of dividing nuclei in skeletal muscle of growing rats. *J. Cell Biol.* 44:459-462
- Moos, F.P., and C.P. Leblond. 1971. Satellite cells as the source of nuclei in muscles of growing rats. *Anat. Rec.* 170:421-435.
- O Connor, R.M., W.R. Butler, K. D. Finnerty, D.E. Hogue, and D. H. Beermann. 1991. Temporal pattern of skeletal muscle changes in lambs fed cimaterol. *Domest. Anim. Endocrinol.* 8:549-554.
- Pampusch, M.S., B. J. Johnson, M.E. White, M. R. Hathaway, J. D. Dunn, A. T. Waylan, and W. R. Dayton. 2003. Time course of changes in growth factor mRNA levels in muscle of steroid-implanted and non-implanted steers. *J. Anim. Sci.* 81:2733-2740.
- Plascencia, A., N. Torrentera, and R. A. Zinn. 1999. Influence of the agonist zilpaterol on growth performance and characteristics of feedlot steer. *Proceeding Western Section, American Society of Animal Science.* Vol. 50: 221-224.

- Poos, I. M. 2002. Metabolic Modifiers, Effects on the nutrient requirements of Food-Producing animal.. National Research Council.
- Preston, R. L., S.J. Bartle, T.R. Kasser, J.W. Day, J.J. Veenhuizen, and C.A. Baile. 1995. Comparative effectiveness of somatotropin and anabolic steroids in feedlot steers. J. Anim. Sci. 73:1038-1047.
- Pulce, C., D. Lamaison, G. Keck, C. Bostvironnois, J. Nicolas y J. Descotes. 1991. Collective human food poisonings by clenbuterol residues in veal liver. Vet. Hum. Toxicol 33 (5): 480-481.
- Rainford, C. 2003. New tool for cattle feeders gainst FDA approval. Retrieved Agosto 16, 2003.
- Ramírez, H. 1998. Rentabilidad y duración del tratamiento con Zilmax en ganado de engorda en corral. Resúmenes de las conferencias presentadas en el lanzamiento de zilmax en México. Folleto de Hoeschst Roussell Vet. México.
- Ricke, E. A., D. J. Smith, V. J. Feil, G. L. Larsen, and J. S. Caton. 1999. Effects of Ractopamine HCl stereoisomers on growth, nitrogen retention, and carcass composition in rats. J. Anim. Sci. 77:701-707.
- Ricks, C.A., R.H. Dalrymple, P.K. Baker and D.L. Ingle 1984. Use of β -agonist to alter fat and muscle deposition in steers. J. Anim. Sci. 59:1247-1255.
- Salleras, L., A. Dominguez, E. Mata, J.L. Taberber, I. Moro and P. Salva. 1995. Epidemiologic study of an outbreak of clenbuterol poisoning in Catalonia, Spain. Pub. Health Rep. 110 (3): 338-342.

- Schiavetta, A. M., M. F. Miller, D. K. Lunt, S.K. Davis, and S. B. Smith. 1990. Adipose tissue cellular and muscle growth in young steers fed the beta-adrenergic agonist clenbuterol for 50 days and after 78 days of withdrawal. J. Anim. Sci. 68:3614-3623.
- Schroeder , A. L., D.M. Polser, S.B. Laudert, and G.J. Vogel. 2003. The effect of Optaflexx on growth performance and carcass traits of steers and heifers. Optaflex™ Exchange No. 1-3.
- Schroeder A.L., D.M. Polser, S.B. Laudert y G.J. Vogel. 2004. El efecto de optaflex sobre el desempeño en la engorda y las características de la canal. Boletín técnico, ELANCO. México, D.F.
- Shelver, W.L., G. Wang., W. Rodrigues., A. Agrawal., H. Philips., E. Abolencia., M. Nuguyen., D. J. Smith. 2006. Stabilization of a ractopamine enzyme conjugate in aqueous solution, a rapid and convenient immunoassay method for the detection of ractopamine. American Chemical Society Abstracts. San Francisco, CA, P. 10-14.
- Smith, D.J. 1998. The pharmacokinetics , metabolism and tissue residues of β -adrenergic agonist in livestock J. Anim. Sci. 76:173-194.
- Smith, S. B., D. K. Garcia, S. K. Davis, and D. B. Anderson. 1989. Elevation of a specific mRNA in longissimus muscle of steers fed ractopamine. J. Anim. Sci. 67:E858-865
- Sumano, L. H., C. L. Ocampo, y O. L. Gutiérrez. 2002. Clenbuterol y otros B-agonistas, ¿una opción para la producción pecuaria o un riesgo para la salud pública? Vet. Méx., 33:137-159.

White, M.E., B.J. Johnson, M.R. Hathaway, and W.R. Dayton. 2003. Growth factor mRNA levels in muscle and liver of steroid-implanted and nonimplanted steers. *J. Anim. Sci.* 81:956-972.

Winterholler S. J., G. L. Parsons, E. K. Sissom, J. P. Hutcheson, R. S. Swingle, and B. J. Johnson. 2006. Effect of optaflexx 1 and days on feed on feedlot performance, carcass characteristics, and skeletal muscle gene expression in yearling steers.

Zilmax ® Technical Brochure. 1996. Hoechst Ag Vet Pty.

Running Header: Zilpaterol pre-harvest withdrawal in feedlot

**Effects of pre-harvest withdrawal period on response of feedlot heifers to
zilpaterol hydrochloride supplementation: growth performance and carcass
characteristics**

Robles-Estrada, J.C*, A. Arrizón*, A. Barreras*, J.F. Calderon-Cortés*, F. Figueroa-
Saavedra*, N. Torrentera*, A. Plascencia*¹, and R. A. Zinn[†]

*Universidad Autónoma de Baja California, México 21100

[†]Department of Animal Science, University of California, Davis 95616

Enviado a la revista indizada: Journal of Animal Science 30/03/2008

¹ Corresponding author: aplas_99@yahoo.com

The author thank Baraquiel Fimbres-Preciado for support during the study, from the commercial feedlot Engorda La Casita and from Rastro TIF No. 301 in Mexicali, Baja California, México.

21

22 **ABSTRACT:** Sixty-four crossbreed heifers (451 ± 23 Kg) were used in a 42-d feeding
23 trial (four pens per treatment in a randomized complete block design), to evaluate the
24 influence of pre-harvest drug withdrawal period on growth performance and carcass
25 characteristics responses to zilpaterol chlorhydrate (β -agonist) supplementation.
26 Heifers were fed a steam-flaked corn-based diet (2.13 Mcal/kg of NE_m). Treatments
27 were: 1) control, no zilpaterol supplementation; 2) zilpaterol supplementation (for 30
28 d, drug withdrawn from the diet 3 d pre-slaughter; 3) zilpaterol supplementation, drug
29 withdrawn 6 d pre-slaughter and 4) zilpaterol supplementation for 30 d, drug
30 withdrawn 12 d pre-slaughter. Zilpaterol was supplemented at the rate of 0.15 mg/kg
31 $BW \cdot d^{-1}$. DM intake averaged 9.2 ± 0.26 kg/d and was not affected ($P = 0.36$) by
32 treatments. Compared with control heifers, zilpaterol supplementation increased ($P <$
33 0.01) ADG (37.2%), ADG/DMI (36.1%), apparent dietary NE (25.7%) and
34 observed/expected DMI (26%). Zilpaterol supplementation did not affect ($P > 0.20$) on
35 marbling score, fat thickness and bone yield, but increased HCW (3.4%, $P = 0.03$),
36 carcass dressing percentage (3.0%, $P = 0.02$), LM area (5.9% $P = 0.05$), and reduced
37 trimmed fat (30.9%, $P = 0.03$). Prolonging the period of zilpaterol withdrawal pre-
38 harvest tended to decrease carcass adjusted ADG (linear component, $P = 0.11$),
39 ADG/DMI (linear component, $P = 0.08$), apparent dietary NE (linear component, $P =$
40 0.11) and carcass dressing percentage (linear component, $P = 0.11$). We conclude
41 that growth-performance and carcass yield responses to zilpaterol supplementation
42 are negatively impacted by prolonging the period of zilpaterol withdrawal beyond
43 three days (the required minimum withdrawal period according to label). Drug

withdrawal period may be a relevant factor in explaining variation in performance response to zilpaterol supplementation in commercial feedlots.

KEY WORDS: β -agonist, beef cattle, carcass characteristics, performance, zilpaterol

INTRODUCTION

Zilpaterol hydrochloride (Zilmax[®], Intervet, Inc., Millsboro, DE) is a type 2 β -agonist approved (NADA 141-258, FDA) for continuous feeding to feedlot cattle at the rate of 60 to 90 mg/head/d during the final 20 to 40 d followed by a 3-d withdrawal period before harvest. Under these conditions, zilpaterol markedly enhanced ADG, gain efficiency, HCW, dressing percentage, LM area, and boneless closely trimmed carcass yield (Plascencia et al., 1999; Avendaño-Reyes et al., 2006). However, due to its rapid elimination (>95% in 72 h), mainly via the urine (Shelver and Smith, 2006), a withdrawal period of greater than 72-h may result in reversal of growth-performance and carcass yield gains. Because it is not always feasible to harvest an entire pen-lot of cattle on the same date, it is expected that withdrawal of zilpaterol from the feed for periods in excess of three d will not be uncommon.

The purpose of this study was to evaluate the risk of extending (3 or 9 additional days) the pre-harvest withdrawal period on growth performance and carcass characteristics of feedlot heifers supplemented with zilpaterol.

MATERIALS AND METHODS

All procedures involving live animals were conducted within the guidelines of approved local official techniques of animal care (NOM-051-ZOO-1995: Humanitarian care of animals during mobilization of animals; NOM-024-ZOO-1995: Animal health

stipulations and characteristics during transportation of animals; NOM-EM-015-ZOO-2002: Technical stipulations for the control use of beta agonists in animals, and NOM-033-ZOO-1995, Humanitarian care and animal protection during slaughter process).

Sixty-four crossbreed heifers (approximately 20% Zebu breed with the remainder represented by Hereford, Angus, and Charolais breeds in various proportions) with an average initial weight of 451 ± 23 kg were used to evaluate the influence zilpaterol withdrawal period (3, 6, 12 d) on growth performance and carcass characteristics. The trial was conducted at the Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias of the Universidad Autónoma, Baja California, México. On arrival into the feedlot (98 d before starting the trial), heifers were vaccinated for bovine rhinotracheitis-parainfluenza₃ and *Mannheimia haemolytica* (Pirámide 4 + Presponse SQ®, Fort Dodge Animal Health, México), clostridials (Ultrabac-7®, Pfizer Animal Health, México), and treated for parasites (Bimectin®, Vetoquinol, México). Heifers were injected with 500,000 IU vitamin A (Synt-ADE®, Fort Dodge, Animal Health, México) and implanted with Synovex H® (Fort Dodge, Animal Health, México). Twenty-eight d before the start of the trial, heifers were weighed, reimplanted with Synovex plus®, (Fort Dodge Animal Health, México), and sorted by weight into four uniform weight blocks (four heifers per pen, four pens per block). Pens were 50 m², with 21 m² overhead shade, automatic waterers and 3.7 m fence-line feed bunks. Cattle were individually weighed at 0600 h, both at the start of the feeding trial and before shipment to a commercial abattoir (Rastro TIF 301) located 14 km from the feedlot facility. Treatments were: 1) control, no zilpaterol supplementation; 2) zilpaterol supplementation for 30 d, drug withdrawn from the diet 3 d pre-harvest (**ZIL-3**); 3)

zilpaterol supplementation for 30 d, drug withdrawn 6 d pre-harvest (**ZIL-6**) and 4)
 zilpaterol supplementation for 30 d, drug withdrawn 12 d pre-harvest (**ZIL-12**) . Control
 and ZIL-3 treatments were harvested the same day. Three and nine days later ZIL-6 and
 ZIL-12 treatments, respectively, were harvested. Zilpaterol was supplemented to
 provide $0.15 \text{ mg/kg BW} \cdot \text{d}^{-1}$, based on average initial weight. Treatments were
 randomly assigned to pens within weight blocks. Heifers were fed twice daily at 0800
 and 1400 h in approximately 30:70 proportion, $3 \text{ kg} \cdot \text{heifer}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ (as feed basis) in
 the morning feeding, and the remainder in the afternoon feeding. The total daily dose
 of zilpaterol was provided in the morning feeding. Feed bunks of each pen were
 evaluated visually between 7:40 to 7:50 each morning before feeding to determine
 the quantity of feed remaining from the previous day. Daily feed allotments to each
 pen was adjusted to allow minimal ($< 5\%$) feed accumulation in the feed bunk.
 Adjustments (increase or decrease) in daily feed delivery were allotted to the
 afternoon feeding. Feed samples were collected daily for DM analysis (forced-air oven;
 AOAC, 1984).

Hot carcass weights (**HCW**) were obtained from all heifers at time of harvest.
 After carcasses were chilled for 48 h the following measurements were obtained: 1)
 LM area, taken by direct grid reading of the muscle at 12th rib taken at the location,
 three-quarters of the length laterally from the backbone end; 2) subcutaneous fat over
 the LM at the twelfth rib taken at a location $3/4$ the lateral length from the chine bone
 end; 3) kidney, pelvic and heart fat (**KPH**) as a percentage of carcass weight and 4)
 marbling score (USDA, 1965). Energy gain (**EG**, Mcal/d) was calculated by the
 equation: $\text{EG} = \text{ADG}^{1.097} * 0.0608 \text{ BW}^{0.75}$ (NRC, 1984). Maintenance energy (**EM**) was

calculated by the equation: $EM = 0.077 BW^{0.75}$ (Garret, 1971). From the derived estimates of energy required for maintenance and gain, the NE_m and NE_g values of the diet were obtained using the quadratic formula: $(-b \pm \sqrt{b^2 - 4ac})/2c$; where $a = -0.41EM$, $b = 0.877EM + 0.41DMI + EG$, and $c = -0.877DMI$, and $NE_g = 0.877NE_m - 0.41$ (Zinn and Shen, 1998). For calculating heifer performance, initial and final full weights were reduced 4% to account for digestive tract fill. Final weight was adjusted for carcass weight by dividing individual carcass weight by the average dressing percentage for all heifers. Pens were used as experimental units. Pen performance and carcass data were analyzed as a randomized complete block design using the MIXED procedure of SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC). The effects of zilpaterol withdrawal were tested for linearity and curvilinearity by means of orthogonal polynomial. Coefficients of polynomials for unequally spaced treatments were generated using ORPOL matrix function of the IML procedure of SAS. In addition, an orthogonal contrast was used for comparisons between ZIL-3 and control treatments.

RESULTS AND DISCUSSION

Observed ADG, DMI and gain efficiency (ADG/DMI) during the 28-d pre-trial period was similar ($P > 0.20$) across pre-assigned treatment groups, averaging 1.32, 8.83, and 0.149, respectively. Treatment effects on growth performance and carcass characteristics are shown in Tables 2 and 3. Daily zilpaterol intake averaged 0.149 ± 0.001 , 0.147 ± 0.002 , and 0.147 ± 0.002 $mg \cdot kg LW^{-1} \cdot d^{-1}$, for ZIL-3, ZIL-6, AND ZIL-12, respectively, in close agreement with projected ($0.15 mg \cdot kg LW^{-1} \cdot d^{-1}$). DM intake averaged 9.2 ± 0.26 kg/d and was not affected ($P = 0.36$) by treatments. Compared

with control heifers, zilpaterol supplementation increased ($P < 0.01$) ADG (37.2%), gain efficiency (36.1%), apparent dietary NE (25.7%) and observed/expected DMI (26%).

Improved ADG and gain efficiency with no effect on DMI intake has been a consistent response with β -agonist supplementation in feedlot steers (Plascencia et al., 1999, Avendaño-Reyes et al., 2006; Abney et al., 2007), and heifers (Walker et al., 2006; Sissom et al., 2007). The large apparent increase in energy retention per unit DMI (26 % reduction in observed vs. expected DMI, $P < 0.01$, Table 2) is a reflection of the direct action of supplemental β -agonist on net protein retention, and hence, lean tissue growth (Moody et al., 2000; Murdoch et al., 2005; Johnson and Chung, 2007). Live animal conformational changes (swelling, particularly over the loins and round) is visually readily observable within a few days of zilpaterol introduction into the diet.

Consistent with previous studies (Plascencia et al., 1999; Avendaño-Reyes et al., 2006) zilpaterol supplementation increased HCW (3.4%, $P < 0.03$), carcass dressing percentage (3.0%, $P = 0.02$), LM area (5.9% $P = 0.05$) and percentage lean yield (3.1%, $P = 0.11$), and reduce trimmed fat (30.9%, $P = 0.03$). Increased carcass dressing percentage explained 60% of the increase in carcass adjusted ADG. Compared to control heifers, zilpaterol supplementation increased HCW by 11 kg ($P = 0.03$) and lean yield (boneless closely trimmed retail yield) by 13.7 kg ($P < 0.01$). The increase in carcass yield is slightly less than that reported by Casey (13.1 kg, 1998), and Plascencia et al. (13.0 kg, 1999). Zilpaterol supplementation did not affect ($P > 0.20$) marbling score, fat thickness, and bone yield.

Prolonging the period of zilpaterol withdrawal pre-harvest tended to decrease carcass adjusted ADG (linear component, $P = 0.11$), gain efficiency (linear component, $P = 0.08$), apparent dietary NE (linear component, $P = 0.11$), carcass dressing percentage (linear component, $P = 0.11$), and percentage lean yield (linear component, $P = 0.11$). The effects of pre-harvest withdrawal period on growth-performance and carcass yield responses to zilpaterol supplementation have not been directly evaluated, although Macar (1998) indicated that growth performance and HCW were similar for control and zilpaterol supplemented feedlot cattle when zilpaterol withdrawal exceeded 14 and 21 d, respectively.

Whether a beta-agonist in the feed is effective in promoting growth depends, in part, on rate of absorption from the digestive tract, and its half-life in tissues and body fluids (Murdoch et al., 2005). Other factors affecting efficacy include degree of endogenous transformation and rate of excretions (Smith, 1998). β -agonists having hydroxylated aromatic rings (like zilpaterol) are metabolized by conjugation and have relatively short plasma half-lives (Sumano et al., 2002). Shelver and Smith (2006) observed that in sheep supplemented with zilpaterol ($0.15 \text{ mg} \cdot \text{kg LW}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), zilpaterol levels climbed rapidly, plateauing in about 5 d. Following withdrawal from the diet, tissue levels of zilpaterol dropped rapidly (muscle, liver, and kidney levels decreased by 95% after 3 d of withdrawal). During the first 3 d of the withdrawal period, zilpaterol elimination followed a first order excretion pattern having an average elimination half life of 12.7 ± 4.0 hours.

IMPLICATIONS

Zilpaterol supplementation during the late finishing phase markedly enhances growth performance and carcass yield of feedlot heifers. Nevertheless, the magnitude of the responses decrease as the zilpaterol pre-harvest withdrawal period is prolonged. Drug withdrawal period may be a relevant factor in explaining variation in performance response to zilpaterol supplementation in commercial feedlots.

LITERATURE CITED

- Abney, C.S., J.T. Vasconcelos, J.P. McMeninam, S.A. Keyser, K.R. Wilson, G.J. Vogel, and M.L. Galyean. 2007. Effects of ractopamine hydrochloride on performance, rate and variation in feed intake, and acid-base balance in feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 85:3090-3098.
- AOAC, 1984. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C.
- Avendaño-Reyes, L., Torres-Rodríguez, and V. Meraz-Murillo. 2006. Effect of two β -adrenergic agonist on finishing performance, carcass characteristics and meat quality of feedlot steers. *J. Anim. Sci.* 84: 3259-3265.
- Casey, N.H. 1998. Physiological and toxicological effects of zilpaterol chlorhydrate. Page 37-48 in Zilmax® Technical Brochure. Hoechst Roussel Vet. Mexico City, Mexico. (In Spanish)
- FDA, 2006. Freedom of information summary original new animal drug application. NADA 141-258. Zilmax (zilpaterol hydrochloride) Type A medicated article for

- 202 cattle fed in confinement for slaughter. <http://www.fda.gov/cvm/FOI/141->
203 258o08102006.pdf. Accessed Feb. 4, 2008.
- 204 Garret, W. 1971. Energetic efficiency of beef and dairy steers. *J.Anim.Sci.*31:452-456.
- 205 Johnson, B.L., and K. Y. Chung. 2007. Alteration in the physiology of growth cattle with
206 growth-enhancing compounds. Pages 321-332 In *Veterinary Clinics of North*
207 *America: Food Animal Practice*. Vol. 23. L.C. Hollis and K.C. Olson, ed. W.B.
208 Saunders Co. Philadelphia, PA.
- 209 Macar, C. 1998. Zilmax in Feedlot Industry. Page 1-37 in *Zilmax® Technical*
210 *Brochure*. Hoechst Roussel Vet. Mexico City, Mexico. (In Spanish)
- 211 Moody, D.E., D.L. Hancock, and D.B. Anderson. 2000. Phenethanolamine
212 repartitioning agents. Pages 65-96 in *Farm Animal Nutrition*. J.P.F. D'Mello,
213 ed. Cabi Publishing, New York, NY.
- 214 Murdoch, G.K., E.K. Okine, and R.J. Christopherson. 2005. Metabolic modifiers in
215 animal nutrition: potential benefits and risks. Pages 135-178 in *Biology of*
216 *Nutrition in Growing Animals*. Vol. 4. R. Mosenthin, J.Zentek, and T.
217 Zebrowska, ed. Elsevier. Philadelphia, PA
- 218 NRC. 1984. Nutrient requirement of beef cattle. (6th Rev. Ed.). National Academy
219 Press, Washington, D.C.
- 220 N.R.C. 1996. Nutrient requirements of beef cattle (7th Rev. Ed). National Academy of
221 Press. Washington D.C.

- 222 Plascencia, A., N. Torrentera, and R.A. Zinn. 1999. Influence of the B-agonist,
223 zilpaterol, on growth performance and carcass characteristics. Proc. West.
224 Sect. Am. Soc. Anim. Sci. 50:342-345.
- 225 Shelver, W.L., Smith, D.J. 2006. Tissue residues and urinary excretion of zilpaterol in
226 sheep treated for 10-days with dietary zilpaterol. J. of Agric. and Food Chem.
227 54:4155-4161.
- 228 Sissom, E.K., C. D. Reinhardt, J. P. Hutcheson, W. T. Nichols, D. A. Yates, R. S.
229 Swingle, and B. J. Johnson. 2007. Response to ractopamine-HCl in heifers is
230 altered by implant strategy across days on feed. J. Anim. Sci. 85:2125-2132.
- 231 Smith, D.J. 1998. The pharmacokinetics, metabolism, and tissue residues of β -
232 adrenergic agonists in livestock. J. Anim. Sci. 76:173-194.
- 233 Sumano, L. H., C. L. Ocampo, and O.L. Gutierrez . 2002. Clenbuterol and other β -
234 agonist, are they an option for meat production or a threat for public health?.
235 Vet. Mex. 33:137-159. (In Spanish)
- 236 USDA. 1965. Official United States Standards for Grades of Carcass Beef. C&MS,
237 SRA 99.
- 238 Walker, D.K., E. C. Titgemeyer, J. S. Drouillard, E. R. Loe, B. E. Depenbusch, and A.
239 S. Webb. 2006. Effects of ractopamine and protein source on growth
240 performance and carcass characteristics of feedlot heifers. J. Anim. Sci.
241 84:2795-2800.
- 242 Zinn, R. A., and A. Plascencia. 1993. Interaction of whole cottonseed and
243 supplemental fat on digestive function in cattle. J. Anim. Sci. 71:11-17.

244 Zinn, R. A., and Y. Shen. 1998. An evaluation of ruminally degradable intake protein and
 245 metabolizable amino acid requirements of feedlot calves. J. Anim. Sci. 76:1280-
 246 1289.

247
 248
 249
 250
 251
 252
 253
 254
 255
 256

257 **Table 1.** Composition of experimental diets fed to heifers

Item	Control	Zilmax® ¹
Ingredient DM basis, %		
Sudangrass hay	9.50	9.50
Ground rice straw	6.00	6.00
Steam-flaked corn	56.00	56.00
Yellow grease	3.50	3.50
Molasses	10.00	10.00
Cottonseed meal	6.00	6.00
Corn fried mixture ²	6.00	6.00
Protein-mineral supplement ³	3.0	3.0
Zilmax® ⁴	---	++
Nutrient composition (DM basis) ⁵		
NE _m , Mcal/kg	2.13	2.13
	1.45	1.45
NE _g , Mcal/kg		
Crude protein, %	12.8	12.8
Ether extract	7.3	7.3
Calcium, %	0.90	0.90
Phosphorus, %	0.35	0.35

258 ¹ Zilmax®, Intervet, México City, México

259 ² Nutrient composition (by analysis): 1.18% N, 6.38% ADF, 19.04% EE, 62.64% NFE, and
 260 4.61% ash.

261 ³ Contained 50% CP and 20% Ca.

262 ⁴ Fed to provided 0.15 mg of chlorhydrate of zilpaterol/kg of BW⁻¹. d⁻¹

263 ⁵ Based on tabular values for individual feed ingredients (NRC, 1996) with the exception of
264 corn fried mixture, which was assigned NE_m and NE_g values of 2.70 and 1.95, respectively.

265 Based in it nutrient composition (Zinn and Plascencia, 1993).

266 **Table 2.** Treatments effects on growth performance responses in feedlot heifers

Item	Control	Days of drug withdrawal ¹				<i>P</i> ² value		
		Zil-3	Zil-6	Zil-12	SEM	Control vs. Zil-3	Lin	Qua
Days on test	33	33	36	42				
Pen replicates	4	4	4	4				
Performance								
Live weight, Kg ³								
Initial	454.9	447.5	450.2	452.3	3.6	0.28	0.37	0.82
Final	497.4	499.1	505.8	517.1	4.0	0.77	0.02	0.89
Weight gain, kg/d ⁴	1.15	1.83	1.71	1.55	0.11	< 0.01	0.11	0.82
DM intake, kg/d	8.98	9.10	9.32	9.37	0.26	0.36	0.51	0.69
ADG/DMI	0.129	0.202	0.185	0.165	0.01	< 0.01	0.08	0.77
Observed diet energy, Mcal/kg								
Maintenance	2.06	2.70	2.55	2.39	0.12	< 0.01	0.11	0.76
Gain	1.40	1.96	1.82	1.65	0.11	< 0.01	0.11	0.76
Observed/expected diet NE ⁵								
Maintenance	0.97	1.27	1.20	1.13	0.06	< 0.01	0.11	0.77
Gain	0.96	1.35	1.26	1.16	0.07	< 0.01	0.10	0.77

267
268
269
270
271
272
273
274
275
276
277
278
279
280
281
282
283
284
285
286
287
288
289
290
291
292
293
294
295

267
268
269
270
271
272
273
274
275
276
277
278
279
280
281
282
283
284
285
286
287
288
289
290
291
292
293
294
295

267
268
269
270
271
272
273
274
275
276
277
278
279
280
281
282
283
284
285
286
287
288
289
290
291
292
293
294
295

267
268
269
270
271
272
273
274
275
276
277
278
279
280
281
282
283
284
285
286
287
288
289
290
291
292
293
294
295

267
268
269
270
271
272
273
274
275
276
277
278
279
280
281
282
283
284
285
286
287
288
289
290
291
292
293
294
295

267
268
269
270
271
272
273
274
275
276
277
278
279
280
281
282
283
284
285
286
287
288
289
290
291
292
293
294
295

296 **Table 3.** Treatments effects on carcass characteristics in feedlot heifers

297

Item	Control	Days of drug withdrawal ¹				<i>P</i> ² value		
		Zil-3	Zil-6	Zil-12	SEM	Control vs. Zil-3	Lin	Qua
Hot carcass wt, kg	309.0	320.1	322.4	326.2	2.94	0.03	0.18	0.94
Chilled carcass wt	304.8	315.9	319.3	321.5	3.04	0.03	0.24	0.70
Dressing percentage	62.2	64.2	63.8	63.1	0.45	0.02	0.11	0.92
LM area, cm ²	93.5	99.35	94.5	98.2	1.83	0.05	0.94	0.08
Fat thickness, cm	0.85	0.64	0.80	0.75	0.08	0.17	0.53	0.29
KPH, %	2.41	2.63	2.63	2.81	0.13	0.26	0.29	0.71
Marbling score ³	3.56	3.28	3.38	3.28	0.27	0.49	0.96	0.79
Bone, %	4.34	4.45	4.37	4.43	0.14	0.25	0.98	0.65
Trimmed fat, %	10.22	7.06	8.38	10.16	0.87	0.03	0.03	0.79
Lean yield, % ⁴	65.27	67.30	65.90	65.18	0.80	0.11	0.11	0.51

298

299 ¹ Zilmax® fed daily in last 30 days of fattening at rate to reach 0.15 mg of chlorhydrate of zilpaterol/kg of BW⁻¹· d⁻¹; the codes of Z-3, Z-6 and
300 Z-12 means 3, 6, and 12 days of that Zilmax® supplementation was withdrawn before harvest.

301 ² *P* = Observed significance level for effect of Zilmax® supplementation (Control vs. Zilmax®) and lineal and quadratic effect of days of
302 Zilmax® supplementation was withdrawn before harvest.

303 ³ Coded: minimum slight = 3, minimum small = 4, etc.

304 ⁴ Yield of boneless closely trimmed lean yield.