

Determinación de clorhidrato de clenbuterol en orina de bovinos en tres rastros municipales del estado de México

José Alejandro Avilés-Martínez¹ / Valente Velázquez-Ordóñez² / Benjamín Valladares-Carranza³ / Adrián Zaragoza-Bastida⁴ / Yazmín Elizabeth Felipe-Pérez⁵ / César Ortega-Santana⁶ / Nallely Rivero-Pérez⁷ / José Esteban Aparicio-Burgos⁸ / Adriana del Carmen Gutiérrez-Castillo⁹

Resumen

El objetivo del presente trabajo fue determinar el porcentaje de bovinos para abasto positivos a clorhidrato de clenbuterol (CCL), con base en muestras de orina de bovinos sacrificados en 3 rastros del estado de México. Para esto se colectaron muestras en los rastros municipales de Toluca (59), Ixtlahuaca (52) y Atlacomulco (40), y se obtuvo un total de 151 muestras. El análisis de las muestras se realizó a través de la prueba de ELISA y para el reporte de resultados se utilizó estadística descriptiva. De las muestras analizadas 105 fueron positivas (69,53%), por rastro la positividad, fue de 48, 30 y 27 respectivamente. Al establecer diferentes rangos de concentración a CCL, en el rango de 200 a 1999 pg g⁻¹ se ubicaron 46 muestras; 6 muestras, en el rango de 2000 a 3525 pg g⁻¹; 3, en el rango de 3526 a 5050 pg g⁻¹; 1 muestra, entre 5051 y 6575 pg g⁻¹, y 95 se ubicaron entre 6575 y >8100 pg g⁻¹. El rastro con mayor porcentaje de positividad fue el de Toluca, con base en los rangos establecidos, y las concentraciones más elevadas también se observaron en el mismo rastro. El límite mínimo de detección de CCL de 2000 pg g⁻¹ permite considerar que, con base tanto en la concentración como en su cinética, las cantidades detectadas en el estudio sirven como un indicador importante de residualidad a través de este tipo de muestra.

Palabras clave: bovinos, clorhidrato de clenbuterol, ELISA, orina.

Determination of Clenbuterol Hydrochloride in Bovine Urine in Three Municipal Slaughterhouses of the State of Mexico

Abstract

The present work aimed to determine the percentage of bovines that tested positive for clenbuterol hydrochloride (CCL), based on urine samples of cattle slaughtered in 3 slaughterhouses of the State of Mexico. To the effect, samples were collected in the municipal slaughterhouses of Toluca (59), Ixtlahuaca (52), and Atlacomulco (40), resulting in a total of 151 samples. Sample analysis was carried out using the ELISA test, and descriptive statistics were used to report the results. 105 of the analyzed samples were positive (69.53%); by slaughterhouse, positivity was 48, 30, and 27, respectively. When establishing different ranges of CCL concentration, 46 samples were in the range of 200 to 1999 pg g⁻¹; 6 samples were in the range of 2000 to 3525 pg g⁻¹; 3 were in the range of 3526 to 5050 pg g⁻¹; 1 sample was between 5051 and 6575 pg g⁻¹, and 95 samples were

- 1 Médico veterinario zootecnista. Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales (PCARN-UAEM-CONACYT). Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de México.
- 2 Doctor en Ciencias. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de México.
- 3 Doctor en Ciencias. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de México.
✉ benvac2004@yahoo.com.mx.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0306-3560>
- 4 Doctor en Ciencias. Área Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8537-5025>
- 5 Doctor en Ciencias. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de México.
- 6 Doctor en Ciencias. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de México. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4995-4676>

Cómo citar este artículo: Avilés-Martínez JA, Velázquez-Ordóñez V, Valladares-Carranza B, Zaragoza-Bastida A, Felipe-Pérez YE, Ortega-Santana C, Rivero-Pérez N, Aparicio-Burgos JE, Gutiérrez-Castillo AC. Determinación de clorhidrato de clenbuterol en orina de bovinos en tres rastros municipales del estado de México. *Rev Med Vet.* 2019;(38):111-118. <https://doi.org/10.19052/mv.vol1.iss38.10>

between 6575 and >8100 pg g⁻¹. The slaughterhouse with the highest percentage of positivity was that of Toluca, based on the established ranges, and the highest concentrations were also observed there. The minimum limit for the detection of CCL (2000 pg g⁻¹) allows considering that, based on both concentration and kinetics, the quantities detected in the study serve as an important indicator of residuality in this type of sample.

Keywords: bovine, clenbuterol hydrochloride, ELISA, urine.

Determinação de cloridrato de clenbuterol em urina de bovinos em três trilhas municipais do estado do México

Resumo

O objetivo do presente trabalho foi determinar a porcentagem de bovinos para fornecimento, positivos ao cloridrato de Clenbuterol (CCL), baseados em amostras de urina de bovinos abatidos em três trilhas do estado de México. Para isso, foram coletadas amostras nas trilhas municipais de Toluca (59), Ixtlahuaca (52) e Atlacomulco (40), e obtiveram-se um total de 151 amostras. A análise das amostras realizou-se através do teste de ELISA e para o relatório de resultados foi usada estatística descritiva. Das amostras analisadas 105 foram positivas (69,53%), pelo traço a positividade foi de 48, 30 e 27 respectivamente. Ao estabelecer diferentes faixas de concentração a CCL, 46 amostras foram colocadas na faixa de 200 a 1999 pg g⁻¹; 6 amostras na faixa de 2000 a 3525 pg g⁻¹; 3 na faixa de 3526 a 5050 pg g⁻¹; 1 amostra entre 5051 e 6575 pg g⁻¹, e 95 entre 6575 e >8100 pg g⁻¹. A trilha com maior porcentagem de positividade foi a de Toluca, baseada nas faixas estabelecidas e as concentrações mais altas observaram-se na mesma trilha. O limite mínimo de detecção de CCL de 2000 pg g⁻¹ permite considerar que, baseado na concentração e na cinética, as quantidades detectadas no estudo servem como indicador importante de residualidade através deste tipo de amostra.

Palavras-chave: bovinos, cloridrato de Clenbuterol, ELISA, urina

7 Doctor en Ciencias. Área Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6154-9983>

8 Doctor en CARN. Escuela Superior de Apan. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7611-7825>

9 Doctor en Ciencias. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de México. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5698-6652>

INTRODUCCIÓN

La ganadería es una actividad estratégica en México por su importancia económica y social, que se desarrolla en 1.453.245 unidades de producción y que a su vez utiliza el 68% de la superficie nacional (1,2). El inventario nacional de bovinos en 2001 fue de 28,48 millones de cabezas con una producción en pie de 2,75 millones de t. La carne en canal de ganado bovino producida para el mismo año fue 1,44 millones de t, que representó aproximadamente el 32% del total de carne producida en el país (3). La producción mundial de carne bovina para 2002 fue de 57,88 millones de t, en donde México ocu-

paba el séptimo lugar en producción, según la FAO, con un total de 1,45 millones de t para el mismo año (4). La producción estimada en 2003 alcanzó 1.496.451 t, lo que significó un crecimiento de 20% con relación a la producción del año anterior; de esta forma mantuvo una participación del 31% en la producción total de producción cárnica (5).

En el estado de México la producción de carne de bovino es realmente baja comparada con estados como Veracruz, Tabasco y Nuevo León, entre otros, ya que para el periodo comprendido entre 2007-2009 se contaba con una producción de 1.258.834 toneladas de carne en canal (6).

La ganadería bovina ha mostrado cambios importantes en los últimos años, asociados a la tecnificación, que han permitido lograr en la actualidad niveles de eficiencia que hubieran sido imposibles en otras épocas. Por eso la producción agropecuaria se encuentra ligada a la utilización de herramientas productivas. Por tanto, el crecimiento de la investigación y el desarrollo ha permitido la difusión masiva de estas herramientas que son de fundamental ayuda para los productores (2,7).

Dentro de los aspectos importantes en la producción animal se debe considerar la seguridad alimentaria, y a la vez que los alimentos agropecuarios sean libres e ino-cuos y que garanticen la alimentación de todos los consumidores. En la actualidad, muchos productores dentro de su sistema de producción hacen uso de una gran cantidad de sustancias que son aplicadas, adicionadas o incluidas dentro de la alimentación de las diferentes especies productivas, con el interés de mejorar los parámetros productivo-reproductivos, con lo cual descuidan en gran medida el aspecto de inocuidad que implica la presentación de problemas en salud pública (4,8).

En los últimos años se han presentado intoxicaciones masivas en países europeos (Portugal, Francia, Italia y España) por el uso de clorhidrato de clenbuterol (CCL) en la alimentación del ganado de engorde, que es una sustancia β -agonista (compuesto farmacológicamente activo que actúa mejorando la retención de compuestos nitrogenados), agente químico que desvía la energía y los nutrientes de los alimentos y de las reservas de grasa del animal hacia la síntesis proteica y la incorporación muscular. De esta forma, incrementa el peso de los animales por el aumento en la masa muscular, con un bajo contenido de grasa entre las fibras musculares (9-12).

En bovinos, el CCL a dosis bajas (consideradas como promotoras del rendimiento productivo) induce al aumento de la presión sanguínea y al incremento transitorio de la frecuencia cardíaca durante 24 h aproximadamente. No se tienen documentados los efectos de una sobredosis de CCL en esta especie, pero no deben diferir de lo anterior más que en su magnitud. A dosis promotoras de la producción o superiores el pro-

blema del uso ilegal del clenbuterol se centra mayormente en los riesgos que representa para el consumidor la ingesta de productos de origen animal contaminados con esta sustancia (13,14).

En salud pública el problema potencial se debe a una cuestión de la concentración del CCL en los alimentos ingeridos y no a una toxicidad genómica acumulable. Los efectos derivados de la ingesta de productos contaminados con esta sustancia son: adormecimiento de las manos, temblores musculares, nerviosismo, dolores de cabeza y musculares (8,12,15). En sobredosis agudas, no derivadas de la ingesta de productos con residuos, sino producto de una sobredosis accidental de productos farmacéuticos de la línea humana que contienen clenbuterol, se acentúa la taquicardia, el adormecimiento, el nerviosismo, los temblores musculares, y puede haber necrosis del miocardio por disminución de la perfusión generada por el acortamiento de la diástole, etapa en la que sucede la irrigación del miocardio por las coronarias (13-15).

Sin duda alguna para los productores la inclusión de CCL en la dieta de bovinos ha generado importantes ganancias económicas; sin embargo, los problemas en salud pública y en salud animal requieren que especialistas del sector salud, médicos veterinarios y epidemiólogos trabajen en conjunto para salvaguardar la salud colectiva. La Sagarpa, tanto a escala estatal como federal, también debe mantener los operativos de vigilancia y control, para la erradicación en el uso de esta sustancia (14,15). Por eso el objetivo del presente trabajo fue determinar la presencia de CCL en muestras de orina de bovinos sacrificados en tres rastros del estado de México, para que se oriente a todos los involucrados en esta actividad a tomar las medidas de control y erradicación de esta sustancia en especies para abasto.

MATERIALES Y MÉTODOS

La determinación de los lugares de muestreo se realizó con base en la factibilidad técnica y el acceso a los rastros, además de que se les consideró como representa-

tivos para la obtención de las muestras requeridas. La obtención de las muestras se realizó al azar, ya que todos los bovinos que se sacrificaron tenían igual posibilidad de ser muestreados, por lo que no se estableció criterio alguno de inclusión o exclusión, según las diferentes fechas planteadas para la toma de muestras. Al final se obtuvieron 59 muestras de orina de bovinos procedentes del rastro municipal de Toluca, 40 de Atlacomulco y 52 del rastro de Ixtlahuaca.

Las muestras de orina se colectaron después de realizado el proceso de evisceración de los bovinos (ya que durante el proceso de colecta por lo general la vejiga urinaria va con todo el paquete de vísceras “verdes”), teniendo el cuidado necesario para realizar un corte y al mismo tiempo colectarla en frascos de plástico con cierre hermético. Estos se identificaron según el animal del que se obtuvo la muestra (raza y procedencia), y se trasladaron al laboratorio para su procesamiento.

En el laboratorio, las muestras fueron procesadas a través de la prueba de ELISA competitiva (Ridascreen® Clenbuterol Fast, R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany), utilizando 20 µl de orina. Las absorbancias se leyeron con un filtro de 450 nm en lector de placas Biotek; los valores obtenidos se expresaron en pg g⁻¹ (16), y los resultados, a través de estadística descriptiva (17).

RESULTADOS

Se determinó la presencia y la cantidad de CCL en 151 muestras de orina de bovinos colectadas en los rastros de Atlacomulco, Ixtlahuaca y Toluca, de las cuales 105 fueron positivas a esta sustancia, lo que representó el 69,53%. Con respecto al origen de muestreo, el rastro con mayor porcentaje de positividad a CCL fue el de Toluca, y con base en los rangos establecidos, las concentraciones más elevadas también se observaron en el mismo rastro con 48 bovinos positivos. Al establecer diferentes rangos de concentración de CCL, en el rango de 200 a 1999 pg g⁻¹ se ubicaron 46 muestras; 6, en el rango de 2000 a 3525; 3, en el de 3526 a 5050; 1, en el de 5051 a 6575, y 95, en el de 6575 a >8100 pg g⁻¹ (tabla 1).

En los animales muestreados, con respecto a la raza y a la concentración de CCL obtenida, en el rastro de Atlacomulco se obtuvieron 21 muestras de animales híbridos, de los cuales 16 fueron positivos a CCL; en Ixtlahuaca de 25 muestras de bovinos holstein 12 resultaron positivas; y para el caso de Toluca, de 33 bovinos de la raza cebú 28 fueron positivas, lo que representó el 76,2, el 48 y el 84,84%, respectivamente, con relación a esta característica (tabla 2).

Tabla 1. Concentraciones de CCL (pg g⁻¹) detectadas en muestras de orina de bovino obtenidas en rastros del estado de México

Rastro de origen	Rangos de concentración de CCL (pg g ⁻¹)					Total	Muestras positivas a CCL	
	200-1999	2000-3525	3526-5050	5051-6575	6576->8100		n.º	%
Atlacomulco	13	3	0	1	23	40	27	67,50
Ixtlahuaca	22	3	2	0	25	52	30	57,69
Toluca	11	0	1	0	47	59	48	81,35
Total	46	6	3	1	95	151	105	69,53

Fuente: elaboración propia

Tabla 2. Número total de muestras y muestras positivas por raza de cada uno de los rastros muestreados

Rastro	Atlacomulco		Ixtlahuaca		Toluca	
Razas	Total muestras	Muestras positivas	Total muestras	Muestras positivas	Total muestras	Muestras positivas
Híbrido	21	16 (76,19%)	7	3 (42,85%)	NP	NP
Cebú	4	3 (75%)	9	7 (77,77%)	33	28 (84,84%)
Suízo	2	1 (50%)	2	1 (50%)	8	7 (87,5%)
Angus	2	1 (50%)	3	3 (100%)	NP	NP
Holstein	8	4 (50%)	25	12 (40%)	8	7 (87,5%)
Charolais	1	1 (100%)	NP	NP	NP	NP
Limousin	2	1 (50%)	5	3 (60%)	NP	NP
Sta. Gertrudis	NP	NP	1	1 (100%)	NP	NP
Hereford	NP	NP	NP	NP	10	6 (60%)

NP = no presentó.

Fuente: elaboración propia

DISCUSIÓN

Considerando el 69,53% de positividad a CCL en orina, y pese a los operativos de vigilancia para el control y erradicación en el uso de dicha sustancia por la Sagarpa (18,19), y teniendo en cuenta la normatividad y los desplegados acerca de su prohibición para el ganado o las especies para abasto (bovinos, cerdos y aves), los productores han hecho caso omiso a su utilización (20).

El límite de detección para el caso de orina, que es a razón de 2000 pg g⁻¹, permite considerar que, con base tanto en la concentración y en la cinética del CCL (21), es posible que las cantidades determinadas como positivas en el estudio, por la elevada concentración detectada, y en relación con lo que probablemente se pudiera hallar en otras muestras, como el caso de hígado, riñón y músculo (como tejidos consumibles) (22,23), estén por arriba de la concentración detectada en orina.

Respecto a la raza de los bovinos muestreados, no hay una tendencia del uso del CCL sobre una raza en parti-

cular. Sin embargo, por la predilección de producción de razas cárnicas para mejorar la producción de canales y las características deseables en cuanto a eficiencia y conversión alimenticia, sobresalen las del tipo cebuino, presentes en los tres rastros de muestreo u origen, con animales positivos a CCL. Por su parte, para el caso del tipo holstein, que se considera una raza de doble propósito (carne y leche), en el presente estudio se obtuvo la positividad de cuatro hembras, por lo que a su vez debe considerarse un riesgo importante, ya que el CCL también tiene una tendencia importante de excretarse a partir de leche a una concentración promedio de 12,5 ng/mL (24).

Sauer et al., (25), al evaluar la cinética de CCL en becerros holstein-friesan, a los que les suministraron una dosis de 10 µg/kg de peso cada 12 h durante 21 días, encontraron residuos en suero sanguíneo a las 6 h, 1, 2, 4, 8 y 16 días después de iniciado el tratamiento. Desde el día 2 de retiro del CCL, al sacrificio de los bovinos, las concentraciones más elevadas detectadas se encontraron en hígado, riñón, bilis y orina.

Se ha demostrado que la concentración en ojo de esta sustancia por afinidad a la melanina (así como también en pelo) de mayor a menor ha sido en coroides, retina, córnea, esclerótica, humor acuoso y humor vítreo, lo que para un diagnóstico de situación es relevante. Sin embargo, el efecto acumulativo en hígado, riñón y músculo, en donde se biotransforma, bioacumula y bioelimina, debe ser analizado de forma rutinaria y establecer cero residuos de dicha sustancia, debido a que son tejidos que finalmente son consumibles. En los animales vivos próximos a sacrificio las muestras factibles de valorar son suero sanguíneo y orina, en las que el tiempo de permanencia de CCL en estas es de 4 y 15 días, respectivamente (8,12,25).

El tiempo de retiro del CCL, cuando se utiliza a una dosis convencional para mejorar la ganancia de peso y rendimiento de la canal en bovinos, es de 4 semanas. Sin embargo, en sobredosificaciones se desconoce el tiempo requerido para que el producto o subproducto animal sea inocuo para el consumidor (8,12). No obstante, con el uso terapéutico adecuado del CCL en medicina veterinaria no se tendría el riesgo de intoxicación, pero debido a la sobreutilización y sobreadministración hasta el último momento en los corrales de engorde del ganado (bovinos, cerdos y aves principalmente), los productos y subproductos consumibles no garantizan el estar libres de dicha sustancia. El tiempo de permanencia de 6, 28 y 56 días en músculo, riñón e hígado, respectivamente, es en el mejor de los casos una cuestión que debe considerarse en inocuidad alimentaria (15,23).

Para el estado de México, la afluencia de los bovinos en cuestión es otro factor importante que se debe considerar, puesto que las prácticas desleales de productores e introductores de otros estados vecinos, como Michoacán, Hidalgo y Querétaro, entre algunos otros, mantienen vulnerable a la población por el uso de sustancias como el CCL y con un alto riesgo a intoxicación (26).

Comparativamente a lo determinado por Valladares et al. (21), con relación al tiempo transcurrido entre ambos estudios y los resultados obtenidos en cada uno de

estos, el rastro municipal de Toluca tuvo un mayor porcentaje de bovinos positivos a CCL, y con la inclusión de los rastros de Ixtlahuaca y Atlacomulco la distribución a escala central y hacia el norte del estado corresponde con un uso generalizado del CCL en la producción de bovinos para abasto.

A dosis promotoras de la producción o superiores, y sobre todo sin un retiro en tiempo y forma del CCL, establecido a 30-60 días, el problema del uso ilegal del clenbuterol se centra mayormente en los riesgos que representa para el consumidor la ingesta de productos de origen animal contaminados con esta sustancia (15,27).

En estudios realizados en ratas tanto *in vivo* como *in vitro*, investigadores de la FAO-OMS consideraron que la administración de CCL aumentó la incidencia de leiomiomas meso-ováricos después de haber recibido dosis de hasta 25 mg/kg de peso al día. Concluyeron que estos se deben más a una estimulación adrenérgica y no tanto a factores de tipo genotóxico. En conejos a los que se les administraron dosis de 30 µg-50 mg/kg de peso al día se observaron signos de fetotoxicidad, como retraso de la osificación y paladar hendido (28). Resultaría interesante realizar investigaciones de este tipo en bovinos, aves o porcinos, además de que son las especies en las que más se llega a usar, y las que se consumen en mayor frecuencia y cantidad en el mercado nacional (29).

En la mayor parte de México, de manera ilegal y clandestina, se realizan la distribución, la comercialización y el uso de CCL. Sin embargo, el trabajo de educación para la salud (de análisis y repercusiones en la salud pública desde las amas de casa, los productores y los introductores), así como las actividades con las organizaciones ganaderas para el registro de unidades de producción libres de CCL, garantizará el consumo de los productos cárnicos. Así mismo, proponer otras sustancias (posiblemente zilpaterol y ractopamina) de las cuales hasta el momento no se tienen indicios de toxicidad propiciará una productividad sustentable, segura e inocua de las diferentes unidades de producción pecuaria.

CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIÓN

El 69,53 % de las muestras de orina de bovino colectadas en los rastros de Atlacomulco, Ixtlahuaca y Toluca fueron positivas a CCL. En los rangos de concentración de positividad de CCL establecidos, se ubicaron 6 en el rango de 2000 a 3525; 3, en el de 3526 a 5050; 1, en el de 5051 a 6575, y 95, en el de 6575 a >8100 pg g⁻¹.

Es necesario evaluar la trazabilidad del ganado para abasto en las diferentes unidades de producción agropecuaria. Resultaría interesante realizar investigaciones en el tracto reproductivo de las especies como bovinos, aves o porcinos que se ven “afectadas” por el consumo de CCL, y así ampliar el conocimiento que se tiene sobre los efectos secundarios que ocasiona esta sustancia.

Es necesario considerar de manera urgente la actualización y aplicabilidad de las normas en todo el país con relación al control-erradicación del uso del CCL. También hay que organizar y proponer a los productores otro tipo de productos (posiblemente ractopamina y zilpaterol, bajo supervisión del médico veterinario zootecnista) que garanticen la seguridad e inocuidad alimentaria en el país, e incentivarlos para que ingresen al programa de certificación de Proveedor Confiable (Libre de Clenbuterol) y así dar un valor agregado a sus productos.

REFERENCIAS

1. Olivares PL, Gómez CMA, Meraz AMR. Potencial de conservación de explotaciones ganaderas convencionales a sistemas de producción orgánicos en el Estado de Tabasco. *Téc Pec Méx*, 2005;43(3):361-70.
2. Valladares-Carranza B, Velázquez-Ordoñez V, Ortega-Santana C, Zamora-Espinosa JL, Peña-Betancourt SD. Sistemas de producción: bovinos para abasto. Aspectos e importancia para la calidad e inocuidad de la carne. En: Padilla Loredó, editor. *La crisis alimentaria y la salud en México*. México: Universidad Autónoma del Estado de México; 2005. p. 177-137.
3. Secretaría de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentación. Información del sector [internet]. 2010 [citado 2019 feb 6]. Disponible en: <http://ganaderia.sagarpa.gob.mx>
4. Ruiz FA, Sagarnaga VML, Salas GJM, Mariscal AV, Estrella QH, González AM, Juárez ZA. Impacto del TLCAN en la cadena de valores de bovinos para carne. Universidad Autónoma de Chapingo; 2004.
5. Gallardo NJL, Villamar AL. Situación actual y perspectiva de la producción de carne de bovino en México [internet]. 2004 [citado 2019 ene. 2]. Disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx/Dgg>
6. DGEAP-SPA. Principales productos pecuarios en el estado de México en carne en Canal. México [internet]; 2009 [citado 2018 may. 5]. Disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/Estadisticas/Documents/ESTADO%20DE%20MEXICO.pdf>
7. Villanueva MME. Importación de cárnicos a México [tesis de licenciatura]. Texcoco, México: Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas; 2004.
8. Valladares-Carranza B, Bañuelos-Valenzuela R, Peña-Betancourt SD, Velázquez-Ordoñez V, Echavarría-Cháirez FG, Muro-Reyes A, et al. Implicaciones del uso de clorhidrato de clenbuterol en la producción pecuaria. *REDVET*. 2015;16(2):1-13.
9. Barbosa J, Cruz C, Martins J, Silva JM, Neves C, Alves C, Ramos F, Da Silveira MI. Food poisoning by clenbuterol in Portugal. *Food Addit Contam*. 2005;22(6):563-6. <https://doi.org/10.1080/02652030500135102>
10. Brambilla G, Cenci T, Franconi F, Galarini R, Macry A, Rondoni F, et al. Clinical and pharmacological profile in a clenbuterol epidemic poisoning of contaminated beef meat in Italy. *Toxicol Lett*. 2000;114(1-3):47-53. [https://doi.org/10.1016/S0378-4274\(99\)00270-2](https://doi.org/10.1016/S0378-4274(99)00270-2)
11. Dimaano JQ, Burda AM, Korah JE, Wahl M. Street drugs possibly tainted with Clenbuterol. *J Emerg Nurs*. 2008;34(6):582-3. <https://doi.org/10.1016/j.jen.2008.07.006>
12. Valladares-Carranza B, Bañuelos-Valenzuela R, Peña-Betancourt SD, Velázquez-Ordoñez V, Echavarría-Cháirez FG, Muro-Reyes A, Ortega-Santana C. Riesgos a la salud por el uso de clorhidrato de clenbuterol: una revisión. *Rev Med Vet*. 2015;(30):139-149. <https://doi.org/10.19052/mv.3618>

13. Sumano LH, Ocampo CL, Gutiérrez OL. Clenbuterol y otros β -agonistas. ¿Una opción para la producción pecuaria o un riesgo para la salud pública? *Vet Méx.* 2002;33(2):137-58.
14. Valladares-Carranza B, Montes de Oca-Jiménez R, Zamora-Espinosa JL, Velázquez-Ordóñez V, Posadas-Manzano E, Peña-Betancourt SD. Influence of the use of additives and growth promoters on the herd health. En: Salem AFZM, editor. *Feed nutrients and animal health. Roles of some nutrients in animal health.* Alemania: Lambert Academic Publishing; 2013. p. 37-71.
15. Valladares CB, Velázquez OV, Zamora EJJ, Avilés MJA, Zaragoza BA, Posadas SMA. Implications of the use of clenbuterol hydrochloride in beef cattle. En: Salem AFZM, editor. *Nutritional strategies of animal feed additives.* Nueva York: Nova Science Publishers; 2013. p. 185-196.
16. Meyer HH, Rinke L, Dürsch I. Residues screening for the β -agonist clenbuterol, salbutamol and cimaterol in urine using enzyme immunoassay and high performance liquid chromatography. *J Chromatogr.* 1991;564(2):551-6. [https://doi.org/10.1016/0378-4347\(91\)80523-F](https://doi.org/10.1016/0378-4347(91)80523-F)
17. Steel RGD, Torrie JH, Dickey DA. *Principles and procedures of statistics: a biometrical approach.* 3a. ed. USA. McGraw-Hill; 1997.
18. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. NOM-EM015-Z00-2002. Especificaciones técnicas para el control de beta-agonistas en los animales. México: Diario Oficial de la Federación; 2002.
19. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. NOM-061-ZOO-1999. Especificaciones zoosanitarias de los productos alimenticios para consumo animal. México: Diario Oficial de la Federación; 2000.
20. Ley Federal de Sanidad Animal. Nueva ley publicada en el Diario Oficial de la Federación el 25 de julio de 2007 [internet]. México [citado 2018 nov. 25]. Disponible en: <http://www.diputados.gob.mx/LeyesBiblio/pdf/LFSA.pdf>
21. Valladares CB, Bañuelos VR, Peña BSD, Velázquez OV, Velázquez AY, Nava OA. Illegal use of clenbuterol in cattle production in México. *Health.* 2014;6(8):673-76. <http://dx.doi.org/10.4236/health.2014.68087>
22. Valladares CB, Velázquez OV, Posadas ME, Peña BSD, Zamora EJJ, Ortega SC, Alonso FU. Determinación de clorhidrato de clenbuterol en suero sanguíneo de bovinos para abasto del estado de Guerrero, México. En: Nava Moreno B, editora. *Seguridad alimentaria y producción ganadera en unidades campesinas.* México: Universidad Autónoma de Chapingo; 2013.
23. Valladares-Carranza B, Bañuelos-Valenzuela R, Peña-Betancourt SD, Velázquez-Ordóñez V, Echevarría-Cháirez FG, Ortega-Santana C, et al. Efecto del clorhidrato de clenbuterol en la ganancia de peso y lesiones histológicas en ratones. *Rev Med Vet.* 2017;(35):129-36. <http://dx.doi.org/10.19052/mv.4395>
24. Stoffel B, Meyer HHD. Effects of the β -adrenergic agonist clenbuterol in cows: Lipid metabolism, milk production, pharmacokinetics, and residues. *J Anim Sci.* 1993;71(7):1875-81. <https://doi.org/10.2527/1993.7171875x>
25. Sauer MJ, Pickett RJH, Limer S, Dixon SN. Distribution and elimination of clenbuterol in tissues and fluids following prolonged oral administration at a growth promoting dose. *J Vet Pharmacol Ther.* 1995;18(2):81-6. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.1995.tb00559.x>
26. García LA. Alerta epidemiológica por la intoxicación en humanos con clenbuterol y su empleo en la alimentación del ganado. *Rev Sanid Milit Mex.* 2002;56:131-4. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/sanmil/sm-2002/sm023f.pdf>
27. Kuiper HA, Noordam MY, Dooren-Flipsen MMH, Van Schilt R, Roos AH. Illegal use of beta-adrenergic agonists. *J Anim Sci.* 1998;76(1):195-202.
28. Badino P, Odore R, Re G. Are so many adrenergic receptor subtypes really present in domestic animal tissues? A pharmacological perspective. *Vet J.* 2005;170(2):163-74. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2004.05.015>
29. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Producción, peso y valor de ganado en Pie [internet]. 2009 [citado 2018 jun. 14]. Disponible en: http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=371