

# ¿El adiós al estradiol?

## Crónica de una muerte anunciada

Alejo Menchaca <sup>(1)</sup>

### ¿El adiós al estradiol?

La prohibición del uso de estradiol en ganadería por parte de la Unión Europea (UE) -cuyo alcance impide utilizarlo para el control ovárico- trasciende los motivos técnicos vinculados a la reproducción bovina. Para comprenderlo es conveniente considerar los intereses comerciales y políticos detrás de esta medida que afecta a varios países. Los fármacos en base a estradiol (17 $\beta$ -estradiol y sus ésteres) son utilizados de rutina en programas de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) en bovinos en la mayoría de los países fuera de Europa, en particular en Latinoamérica. En los países de la UE su uso está prohibido, así como no se permite la importación de alimentos derivados de animales que han recibido estradiol <sup>(14, 15, 16)</sup> ejerciendo así presión para que los países proveedores de estos alimentos prohíban su utilización. Como consecuencia Uruguay acaba de suspender en enero de 2021 la importación, elaboración para uso interno, comercialización, tenencia y uso del estradiol, Paraguay está en camino de tomar medidas similares, Chile ha adaptado su regulación en los últimos años, y otros países de la región mantienen el tema en estudio. Prohibir el uso de estradiol genera una pérdida económica importante en estos países generada por un menor uso de la IATF, lo que se refleja en una menor tasa de preñez general, menor cantidad de terneros producidos y animales faenados, pérdidas en la mejora genética de los rodeos, y finalmente pérdidas en la productividad y eficiencia general de la ganadería. La UE basa su posición principalmente en un aspecto muy concreto: la inocuidad de los alimentos. Sin embargo, este argumento de las autoridades europeas carece de sostén ya que no existe evidencia científica que muestre que el uso de estradiol en los protocolos de IATF genere algún riesgo para los consumidores. Quizás por este motivo, si bien la prohibición del estradiol desde la UE fue anunciada hace varios años, en los países de esta región nunca creímos que el anuncio se concretara y finalmente llegara este momento.

“Crónica de una muerte anunciada” es una de las obras más conocidas de Gabriel García Márquez. Relata el asesinato de Santiago Nasar a manos de los gemelos Vicario. Ya en el inicio de la obra se anuncia

que Santiago Nasar va a morir: se asume que ha sido el causante de la deshonra de Ángela, hermana de los gemelos, que contrajo matrimonio el día anterior y ha sido devuelta por su marido al descubrir que no era virgen. Para vengar la deshonra de Ángela, sus hermanos anuncian que darán muerte a Santiago Nasar. “Nunca hubo una muerte tan anunciada” escribe el cronista de la historia, los gemelos Vicario no se cansan de anunciar por todo el pueblo su intención de matar al inculpado, pero nadie creyó que fuesen capaces de hacerlo, y aunque hubo muchos presentes en el crimen, nadie fue capaz de hacer nada para evitarlo. Lo más paradójico de la historia, es que el muerto terminaría siendo inocente...

Esta es la crónica del adiós al estradiol para IATF. Una muerte anunciada, que nadie creyó que ocurriría, y aunque fueron muchos los testigos no pudimos hacer nada para evitarla. Al igual que la muerte de Santiago Nasar, es una historia en la que el protagonista es inocente.

### Una muerte anunciada

Como en la crónica de García Márquez escrita veintisiete años luego de iniciada la historia, el uso de estradiol para IATF tal como lo utilizamos actualmente comenzó hace veintisiete años <sup>(3)</sup>. A la vista de los hechos que han ido ocurriendo, hoy podemos decir que esta historia también comenzó con una muerte anunciada. Cuando en el año 1994 aquel estudio mostraba por primera vez que el estradiol asociado con progesterona era capaz de controlar la dinámica folicular, lo que luego dio lugar al desarrollo de la IATF tal como la usamos en nuestros países, algunos ya anunciaban que su uso en ganadería tenía los días contados. De todas maneras el hallazgo valió la pena. Durante estas décadas esta tecnología representó la mayor revolución que ha ocurrido en el manejo reproductivo de la ganadería, con un impacto enorme en muchos países. Cuando antes de la IATF en los años 90 sólo se realizaba inseminación a celo detectado, no más del 2 o 3% de las hembras destinadas a la reproducción cada año recibían inseminación (tanto en la región como en EEUU). En la actualidad con la IATF, tanto en Brasil, Argentina, Paraguay y Uruguay aproximadamente el 20% de las vacas reciben esta tecnología <sup>(1, 22, 23)</sup>. Sólo en estos

(1) Fundación IRAUy, Instituto de Reproducción Animal Uruguay, Montevideo, Uruguay.  
Memorias de las 10<sup>as</sup> Jornadas Taurus de Reproducción Bovina, TAURUS, Año 23, Marzo 2021.

cuatro países en este último año se inseminaron unos 25 millones de vacas, siendo un mercado de unos 500 millones de dólares distribuidos entre compañías de semen, laboratorios farmacéuticos y servicios veterinarios. El beneficio en el resto de la cadena de carne y leche es mucho mayor, tanto para el productor como para la industria. Por cada dólar que invierte el productor en IATF genera un retorno de 4 a 5 dólares para el país <sup>(2)</sup>, lo que trasladado a la escala del Mercosur representa un ingreso bruto anual superior a 2.000 millones de dólares para esta región. Ese es el impacto de la IATF.

El estradiol cumple una función fundamental en esta tecnología, principalmente en vacas en anestro y con baja condición corporal ya que tiene un efecto muy preciso sobre el control del ovario, temática que no será abordada aquí pues lo hemos hecho en otras oportunidades <sup>(24, 25)</sup>. Entonces, ¿por qué prohibirlo? La mayor dificultad cuando se discute sobre el uso de estradiol en ganadería surge porque se consideran de la misma manera dos indicaciones de uso completamente diferentes: a) el estradiol para el control ovárico, y b) el estradiol como promotor de crecimiento. El estradiol para el control ovárico se utiliza a muy bajas dosis (0,5 a 2 mg de cipionato o benzoato de estradiol), por vía intramuscular y en una administración única en los protocolos de superovulación, o en una o dos dosis en los protocolos de IATF y transferencia de embriones. Estas dosis son extremadamente bajas en relación con el uso indicado como promotor de crecimiento en ganadería de carne, donde se lo utiliza en dosis 10 a 100 veces más altas, administrado mediante implantes subcutáneos de liberación prolongada durante 60 a 120 días, y en general cada animal recibe varios implantes de manera sucesiva <sup>(31)</sup>. Este uso como promotor de crecimiento ha conducido a que se cuestione la inocuidad de los alimentos derivados de estos animales. Si bien esto no tiene ninguna vinculación con la utilización del estradiol en reproducción, las consecuencias regulatorias han sido las mismas alcanzando también al uso para el control ovárico. La primera contradicción entonces es el error que se consideran de la misma manera y que se apliquen las mismas medidas regulatorias a dos usos, dosificaciones y formulaciones absolutamente diferentes.

El estradiol y sus derivados son utilizados como promotores de crecimiento desde hace varias décadas, mucho antes que se lo propusiera para los protocolos de control ovárico. Ya en los años 50 del siglo pasado los derivados del estradiol comenzaron a utilizarse en EEUU en forma de implantes con el fin de mejorar la tasa de crecimiento en bovinos <sup>(13)</sup>. En las décadas de 1880-1990 más del 90% de los animales manejados en feedlots de EEUU recibían implantes promotores de crecimiento en base a estradiol y otros fármacos <sup>(30)</sup>. El uso de estos implantes mejora la tasa de crecimiento en las etapas de cría, recría y finalización, pero también ha conducido al cuestionamiento sobre la inocuidad de la carne para los consumidores. En la década de 1880 luego de varios años de

debate entre autoridades de gobierno de diferentes países, diversas comisiones y grupos de trabajo especializados, organismos internacionales, medios de comunicación y público en general, la UE prohibió el uso de aquellas sustancias utilizadas como promotores de crecimiento, entre ellas el estradiol. Poco después prohibió también la importación de alimentos derivados de animales que habían recibido estos fármacos. La medida de la UE comenzó a regir en 1989. Si bien al principio la prohibición europea no alcanzaba a los hormonales para el control del ciclo estral, algunos años después este alcance fue ampliado y el estradiol también es prohibido para este fin.

Esta medida tuvo consecuencias globales, no solo para los productores europeos sino también para aquellos países fuera del bloque que proveen a la UE de derivados de carne y leche. En Uruguay el uso de promotores de crecimiento fue prohibido por decreto nacional en el año 1988, sí autorizándose el uso de hormonales para el control de la reproducción <sup>(11)</sup>. Argentina tiene una legislación similar que está vigente desde 2004 <sup>(29)</sup>. Nueva Zelanda, que comparte ciertas similitudes con Uruguay por poseer una importante economía agroindustrial exportadora, permite el uso de promotores de crecimiento <sup>(27)</sup> aunque en el año 2008 se vio forzada por la UE a prohibir el uso de estradiol para el control del ciclo estral. Los promotores de crecimiento también están disponibles en otros países como Australia, Canadá, Sudáfrica, Japón <sup>(18)</sup>, mientras que las sales de estradiol para el control ovárico aun están disponibles pero han sufrido ciertas restricciones. En EEUU los implantes promotores de crecimiento se han utilizado por más de 60 años y existen más de 30 fármacos aprobados <sup>(31)</sup>, mientras que las sales de estradiol en formulaciones inyectables para el control ovárico no están disponibles. En suma, si bien la utilización de estradiol para promover el crecimiento se mantiene vigente en varios países, su uso para el control ovárico muestra una tendencia a estar cada vez más restringido. En los países de Sudamérica el estradiol se estaba utilizando para protocolos de IATF, transferencia de embriones y superovulación. Todo hace pensar que al igual que ha ocurrido en varios países (UE, EEUU, NZ, Uruguay), el adiós al estradiol en reproducción llegue también a otros países de la región.

## Los que no creímos

En la crónica de García Márquez, nadie en el pueblo creyó que finalmente los gemelos Vicario terminarían concretando su amenaza. Lo mismo ha ocurrido en los países de nuestra región con el estradiol. Si bien el anuncio de la UE sobre la prohibición del estradiol en reproducción ha venido siendo anunciado año tras año desde que entró en vigencia en 2008, muchos creían que dicha medida nunca se aplicaría en nuestra región. Algunos esperaban que con el transcurso del tiempo y mediante la negociación de las autoridades competentes se fuera dilatando su implementación y finalmente nunca llegaría.

También estaba presente la esperanza -o fantasía- que las cosas cambiaran en la UE, o que la necesidad en Europa de abastecerse de alimentos beneficiaría la posición de los proveedores de estos commodities. Es verdad que siempre existe la posibilidad que se acuerden medidas parciales en un sistema donde se controle mejor el uso, por ejemplo que se garantice que no se utilice en aquellos animales que se destinan a la UE y se mantenga su uso en los otros animales. Pero esto en la práctica es difícil de implementar, y si no genera confianza para las autoridades europeas tarde o temprano culmina con restricciones más severas. Una estrategia que facilitaría esta solución es asociarlo a un sistema de trazabilidad confiable como el que se puso en marcha en Uruguay en 2006 y que abarca a la totalidad de la población bovina. En conjunto con un sistema de trazabilidad de medicamentos veterinarios que permita la farmacovigilancia del estradiol, podría representar una posible solución. En Uruguay la suspensión de los registros es transitoria hasta setiembre de 2021, y si se logra un sistema que dé las garantías necesarias para las autoridades europeas, quizás se podría volver al uso de estradiol para las vacas de cría que no se destinan a Europa. De todas maneras, con un sistema de este tipo sería difícil que el productor esté dispuesto a utilizar estradiol en un protocolo de IATF, sabiendo que la comercialización futura de esos animales se podría ver perjudicada pues la industria deberá destinarlos a otros mercados de menor valor. No parece fácil encontrar la mejor salida considerando la situación particular del estradiol pero sin perder de vista la globalidad del negocio que está en juego.

Así como muchos en los países exportadores a la UE no creyeron que la medida llegaría, menos preocupación aun ha existido en aquellos países donde la exportación de carne no representa ingresos muy importantes. Sin embargo muchos de estos países han descubierto su potencial y están mejorando su ganadería en forma acelerada, y en un contexto mundial de franco crecimiento en la demanda, se empiezan a proyectar como futuros proveedores. Aun en aquellos países con un fuerte mercado interno y que ven más lejana la exportación a mercados más exigentes, vale la pena considerar que las compañías farmacéuticas que producen los productos para la reproducción se encuentran principalmente en Argentina y Brasil, y una eventual caída de los registros de estos fármacos en estos países seguramente conduciría a discontinuar la producción de estradiol para los otros países.

En suma, cuando hasta hace unos meses en general se veía con escasa preocupación que las decisiones tomadas en Europa hace más de 10 años finalmente llegaran a afectar el mercado de la IATF en Sudamérica, la realidad muestra que esto está ocurriendo.

### **Los que estuvimos presente y no pudimos evitarlo**

Cuando finalmente las autoridades de la UE deciden cumplir con el anuncio, quienes sufren el impacto y son testigos, son todos aquellos que de

alguna u otra manera participan de la cadena de la carne. En los países en los que ya se ha impuesto, las autoridades de gobierno, los productores ganaderos y privados vinculados a la exportación de carne, el ámbito veterinario y el sector académico, todos han intentado contribuir de alguna manera. El ejemplo de EEUU es una buena referencia que muestra que de poco han servido estrategias basadas en la diplomacia, la fundamentación técnica, la guerra comercial o la disputa en organismos internacionales. Las autoridades nacionales en cada país que han tenido el rol y la responsabilidad de interactuar con las autoridades europeas, en general con escaso poder de negociación. Por ejemplo esta diferencia entre la UE y EEUU -no sobre el uso de estradiol en la reproducción, sino previo a esto y centrado en el uso de promotores de crecimiento- condujo a un conflicto comercial de importancia. Conocido como The Beef War, frente a la dificultad de negociación con el bloque europeo, EEUU eligió la estrategia de actuar en conjunto con Canadá y elevaron la discrepancia al Organismo de Solución de Diferencias perteneciente a la Organización Mundial del Comercio (OMC). Este organismo en 1997 entendió que la UE no tenía argumentos válidos para exigir esta medida<sup>(33,34)</sup>. Esto da lugar a la interpretación de que representa una barrera comercial, más propia de una política proteccionista de Europa que de un interés genuino por la salud de los consumidores. A pesar del fallo en la OMC, la UE mantuvo su posición de no importar carne de animales tratados con estos fármacos y estuvo dispuesta a pagar a EEUU y Canadá durante varios años tarifas punitivas por 116 millones de dólares anuales. La historia continuó y luego de varias disputas a las que se sumó Australia y Nueva Zelanda, en 2009 surge un acuerdo en el que la UE se compromete a comprar con arancel cero, 20.000 toneladas (hoy 48.200) anuales de carne producida -entre otras condiciones- sin el uso de promotores de crecimiento. Este sistema ofrecido como respuesta de la UE a EEUU y Canadá fue modificado por el Reglamento Nº 481/2012 que aun está vigente y se denomina Cuota 481, y al que han entrado otros países como Uruguay que ha sido el principal proveedor y Argentina. De ponerse en práctica el acuerdo Mercosur-UE las proyecciones para proveer a este mercado son aún más promisorias. Sólo a modo de referencia, cuando el precio promedio de exportación en Uruguay de la carne destinada a China es cercano a los 4.000 o 5.000 usd/ton pagando aranceles importantes, el precio en la Cuota 481 a la UE es aproximadamente 9.000 o 10.000 usd/ton con arancel cero. Esto explica la necesidad de estos países de cumplir con las medidas exigidas por la UE, principalmente Uruguay que exporta más del 80% de la carne que produce.

Otros testigos son los productores ganaderos y la industria de la carne, que ven con preocupación como se pierde buena parte del avance generado en estos últimos 20 años. El impacto negativo de retirar el estradiol de los protocolos de IATF y transfe-

rencia de embriones merece una evaluación más profunda, pero de no encontrar una alternativa seguramente afectará la adopción de estas tecnologías debido al riesgo de obtener una menor tasa de preñez, al incremento en el costo del protocolo por el uso de otros fármacos, y a la mayor dificultad para aplicar los protocolos en caso que requieran más encierros del rodeo y mayor dificultad operativa. Esto resultaría en que la tecnología se torne menos atractiva para el productor y para el veterinario, con un impacto negativo en la producción de terneros por año y oferta de animales para la industria, así como una menor calidad genética de los animales.

Los veterinarios especialistas en reproducción animal que aplican esta tecnología también ven afectado su negocio. La información que surge del análisis del mercado de la IATF muestra que en Uruguay hay unos 300 veterinarios que aplican esta tecnología, en Paraguay algo menos de 300, en Argentina unos 3.000, y en Brasil más de 6.000 veterinarios que la aplican. Para estos profesionales esta actividad genera un ingreso muy importante en su actividad. Además del impacto económico, las restricciones al estradiol generan en el profesional un compromiso aun mayor porque deberá responder de manera apropiada para evitar prácticas no autorizadas con el uso de estos productos. El uso ilegal siempre ha sido un problema frente a las políticas prohibitivas, también denunciado en Europa con los hormonales <sup>(6)</sup>, y el veterinario deberá mantener su responsabilidad como ciudadano y profesional para cumplir con lo establecido. En este caso además sabiendo que no existe fundamento científico que respalde esta medida.

El ámbito académico en general también ha intentado contribuir, ya que conoce en profundidad que no existe ningún argumento válido en contra del uso para el control ovárico. Como ha ocurrido en aquellos países que han transitado este proceso, los grupos de trabajo técnico y científico realizan su aporte con informes y suman argumentos valiosos. Como ejemplo podemos revisar los informes exhaustivos realizados en Inglaterra en las décadas de 1990 y 2000 <sup>(21)</sup>. También en los países de nuestra región el ámbito académico ha estado presente contribuyendo al apoyo de las autoridades nacionales. En general muchas veces estos esfuerzos son realizados cuando ya es inevitable la toma de estas medidas, y entonces nos damos cuenta que deberíamos haber actuado de manera proactiva generando información que respalde los intereses de nuestros países. Esto incluye información sobre la inocuidad del uso de estradiol y también sobre la búsqueda de alternativas eficaces que permitan dejar de usarlo.

## Una medida injusta

Todos coinciden en el pueblo que el muerto por los gemelos Vicario no había sido el autor de la deshonra de la hermana. Y el estradiol utilizado en protocolos de IATF y transferencia de embriones no genera ningún riesgo para el consumidor como se le

adjudica. Si una sentencia de carácter internacional como la de la OMC así lo entiende, si los grupos de trabajo técnico y las comisiones independientes coinciden en esto, y si cualquiera que busque información en fuentes confiables encuentra que no hay argumentos suficientes, parece que la razón de esta medida no la encontraremos en los estudios científicos.

No existen argumentos sólidos que prueben que el estradiol utilizado en las dosis indicadas para los protocolos de IATF y transferencia de embriones afecte la inocuidad de los alimentos. Más aún, no existe un método disponible en la práctica que permita identificar si una vaca recibió una dosis de estradiol para una IATF. Esto se debe a que las sales de estradiol luego de inyectadas se hidrolizan a 17 $\beta$ -estradiol en pocas horas, y esta sustancia es el principal estrógeno que produce naturalmente la vaca alcanzando altos niveles durante el celo o durante la gestación. Es la misma molécula que tiene la vaca, y por lo tanto con los métodos clásicos como radioinmunoanálisis, ELISA o quimioluminiscencia, no es posible identificar entre el estradiol exógeno o endógeno, aun cuando solo hayan pasado unas horas desde el tratamiento. En los últimos años ha habido avances combinando otros métodos más precisos, como por ejemplo la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas de relaciones isotópicas, que buscan identificar si un animal ha recibido estradiol sintético a partir de la determinación de la relación entre los isótopos de carbono. Aunque promisorios, estos métodos son complejos y de alto costo, aún no están completamente validados, no se encuentran en los programas oficiales de control de residuos para estradiol, y tampoco son eficaces para la determinación de estradiol ya que la dosis administrada y la concentración en los tejidos es extremadamente baja, y entonces la sensibilidad del método hace muy difícil la determinación. Se debe considerar además que una vaca que recibe una IATF o una transferencia de embriones normalmente no se destina al frigorífico hasta después de la gestación y de la cría del ternero, e incluso en aquellas que no se preñan se debe esperar varios meses para la faena luego del diagnóstico de gestación y el engorde. Y aun cuando estos animales vayan a faena al final de su vida productiva, en general son animales de edad avanzada o de abasto que no cumplirían las condiciones para el mercado europeo. El problema es que la UE prohíbe el uso de estradiol en cualquier etapa de la vida del animal, y no se considera ningún tiempo de espera, ni límite máximo de residuos, ni valores de ingesta diaria admisible para este producto, que son los parámetros que normalmente se utilizan para el registro de productos y análisis de riesgo. Esto hace aún más difícil encontrar una solución justa que considere la conveniencia para ambas partes.

Este artículo no pretende discutir en profundidad la evidencia científica que respalda la inocuidad del uso de estradiol para el control ovárico. Para profundizar en estos aspectos se puede consultar

bibliografía específica <sup>(21)</sup>. Solo a modo de referencia, las dosis utilizadas inducen niveles de estradiol circulante similares a los de una vaca en celo 24 horas luego del tratamiento y regresan a niveles basales algunas horas más tarde, no habiendo diferencias a las 48 o 72 horas entre una vaca que recibió o no recibió estradiol <sup>(4, 32)</sup>. Por este motivo el benzoato y cipionato de estradiol no requieren tiempo de espera en ganado de carne ni de leche, como lo indican la mayoría de los registros aprobados por las agencias reguladoras de cada país fuera de Europa. Aun cuando se lo utiliza como promotor de crecimiento en dosis mucho más altas y por tiempos muchos más prolongados que para el control ovárico, en EEUU la FDA no requiere tiempo de espera para los implantes con estradiol, lo que indica que esta agencia regulatoria de prestigio mundial no encuentra ningún argumento que sugiera un riesgo para los consumidores.

Mientras que en diversas instancias de la Comisión del Codex Alimentarius -otro organismo de referencia mundial- se reitera que no existe evidencia suficiente para prohibir el uso de estas sustancias, la UE argumenta que la prohibición se sustenta en que el público se opone al uso de "hormonas" para el engorde de animales <sup>(6, 7)</sup>. Esto trasciende entonces la discusión basada en evidencia científica y responde más a una preferencia del público. La medida tomada por la UE inicialmente en los años 80 surge en el Parlamento Europeo, a sugerencia de la Comisión Europea, siendo asesorada en ese entonces por el antiguo Comité Científico de Medidas Veterinarias Relativas a la Salud Pública (SCVPH). Este comité científico considera en el análisis estudios realizados en condiciones muy distintas al uso de estradiol para el control del ovario, y son de valor muy limitado si se pretende llegar a una conclusión para este uso. El SCVPH no considera estudios en bovinos a bajas dosis como los utilizados para el control ovárico, y aun así su conclusión sobre el uso como promotores de crecimiento es contradictoria con la conclusión de todos los otros comités independientes que han actuado en diferentes países. En Gran Bretaña, el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación solicitó al Veterinary Products Committee, un comité científico independiente en ese país, que estudiara la evidencia de la opinión del SCVPH europeo. Al mismo tiempo, el Safety Working Group del Committee for Veterinary Medicinal Products responsable frente a la Comisión Europea de evaluar la inocuidad de los productos veterinarios en la Agencia Europea de Medicamentos (EMA), también estudió la opinión del SCVPH. El comité británico hizo su reporte en 1999 manifestando que no estaba de acuerdo con algunas de las opiniones del SCVPH e informó serias dudas en la interpretación que se había realizado sobre algunos de los resultados científicos. También en el año 1999, el comité de la EMA emitió su reporte EMEA/CVMP/885/99 mostrando serias diferencias con la opinión del SCVPH, y en particu-

lar sobre aquellas vinculadas al estradiol. Sus conclusiones también coinciden con las del comité de especialistas de la FAO/OMS reportado en 2000 <sup>(20)</sup>. Algunos años después, la UE lejos de reducir la medida la incrementa prohibiendo el uso de estradiol para la sincronización del celo, y nuevamente Gran Bretaña y algunos otros países miembros manifestaron la falta de evidencia científica en la nueva opinión del SCVPH <sup>(12)</sup>. No obstante, la medida quedó vigente en 2008 <sup>(15)</sup>. En Norteamérica, el Centre for Veterinary Medicine de la FDA en EEUU y la Veterinary Drugs Directorate de Canadá, máximas autoridades regulatorias en esos países, mantienen decenas de productos aprobados.

En suma, el único comité que encuentra en los estudios científicos evidencia para prohibir el uso de estradiol es el SCVPH europeo, cuya opinión coincide con la intención de la Comisión de la UE. Sin embargo esta interpretación es opuesta a los informes de otros comités o grupos de trabajo europeos en Gran Bretaña o en la EMA, así como en EEUU, Canadá, Codex Alimentarius, FAO/OMS, OMC, entre otros. Más aún, la discusión se ha centrado en el uso como promotor de crecimiento y se han asumido medidas similares para el control ovárico, cuando no existe información que sugiera que dicho uso pueda generar algún efecto sobre la inocuidad.

## Moraleja

La crónica sobre el estradiol permite comprender mejor los motivos que llevan a los países proveedores de commodities a tomar diversas medidas sobre sus sistemas de producción. En primer lugar es necesario comprender las tendencias de los consumidores y considerarlas en nuestras agendas. Debemos ser proactivos en la generación de evidencia científica que dé el respaldo suficiente para establecer un sistema apropiado para los consumidores y justo para los proveedores de alimentos. Es necesario desarrollar capacidades para generar alternativas a nuestras prácticas en la ganadería para adaptarlas a las necesidades del mercado, aun cuando estas respondan a intereses comerciales, culturales o simplemente a preferencias de los consumidores. De poco sirve que nuestros animales vivan de acuerdo a su condición natural en el campo, alimentándose a pasto y a cielo abierto, sin sufrimiento, preservando el medio ambiente y generando alimentos sanos e inocuos, si no somos capaces de medirlo, hacerlo conocer y defenderlo. Si la acusación sobre el estradiol es falsa y su uso en reproducción no conspira contra la consigna que persigue el consumidor moderno, deberíamos ser capaces de prepararnos mejor para una comunicación basada en evidencia científica. Y simultáneamente desarrollar estrategias alternativas que permitan resultados similares. Para esto es necesario que comprendamos la necesidad de invertir recursos en esto y hacerlo entre todos, investigadores e instituciones de ciencia y tecnología, autoridades y organismos de gobierno, veterinarios, productores ganaderos e industria.

# Algunos avances en protocolos sin estradiol

F. Cuadro, C. García-Pintos, R. Núñez-Olivera, C. Brochado, F. Fabini, V. Pais, A. Menchaca.

Considerando la necesidad de generar alternativas al uso de estradiol para los programas de IATF, hemos conducido una serie de experimentos en vacas de carne. Cuando se escribió este documento aún no se habían finalizado los diagnósticos de gestación y se presentan algunos datos a modo de resultados preliminares. Se utilizaron 6.041 hembras *Bos taurus* manejadas en 26 lotes de IATF en las que se compararon diferentes fármacos sobre 16 combinaciones de protocolos evaluados en vaquillonas, vacas con destete precoz y vacas con cría al pie.

Se evaluaron diferentes alternativas tanto al benzoato de estradiol (BE) administrado al iniciar el protocolo para inducir el recambio folicular, como al cipionato de estradiol (CPE) administrado al finalizar el protocolo para inducir la ovulación en la IATF. En todos los trabajos se buscaron diseños de protocolos que eviten el uso de estradiol, que logren tasas de preñez similares a las de los protocolos más utilizados actualmente, y que no requieran que las vacas vengan más de tres veces a las instalaciones.

Como alternativa al benzoato de estradiol al iniciar el protocolo se evaluó el uso de GnRH, de progesterona inyectable en diferentes dosis, así como la no aplicación de ninguna hormona al momento de colocar el dispositivo con progesterona. Como alternativa al cipionato de estradiol al finalizar el protocolo se evaluó el uso o no de GnRH, la prolongación del proestro, diferentes momentos de IATF, y la detección de celo como estrategia para mejorar la tasa de preñez sin el uso de estradiol. Asimismo, se evaluaron diferentes alternativas sobre la duración del tratamiento con el dispositivo con progesterona, con tratamientos de 5 a 8 días de duración.

## Vaquillonas

En los últimos años el protocolo J-Synch se ha transformado en uno de los protocolos de IATF más utilizado en vaquillonas. Este protocolo utiliza una dosis de BE al colocar el dispositivo y por lo tanto frente a la prohibición del estradiol no se podrá aplicar<sup>(9, 10)</sup>. Con el objetivo de evaluar diferentes alternativas para evitar el uso de estradiol, se diseñó un experimento sobre 1.947 vaquillonas Angus en seis réplicas, 1.463 de 14 meses con  $5,1 \pm 0,5$  de condición corporal (CC, escala 1 a 8) y 59% con cuerpo lúteo (CL) determinado por ecografía, y 484 de 2 años con  $4,9 \pm 0,3$  de CC y 56% con cuerpo lúteo al iniciar los protocolos. En cada réplica las vaquillonas fueron asignadas a cuatro grupos experimentales para recibir: a) un protocolo J-Synch (n=490) con una dosis im de BE (2 mg, Gonadiol, Zoetis, Argentina) al momento de colocar un dispositivo intravaginal con 0,5 g de progesterona (DIB 0.5,

Zoetis) que se mantuvo durante 6 días: b) un protocolo Co-Synch 5d (n=481) con una dosis im de GnRH (100  $\mu$ g gonadorelina, Gonasyn GDR, Zoetis) al colocar el dispositivo intravaginal que se mantuvo durante 5 días<sup>(9)</sup>; c) un protocolo P4-Synch (n=487) que recibió una dosis im de progesterona inyectable en solución oleosa (100 mg, Syntex, Argentina) al momento de colocar el dispositivo que se mantuvo por 6 días; d) un protocolo sin la administración de ningún fármaco para sincronizar la emergencia de la onda folicular al momento de colocar el dispositivo intravaginal que se mantuvo durante 6 días (grupo control, n=489). Los dispositivos se retiraron en un mismo día a todas las hembras, a última hora de la tarde, y se administró una dosis im de eCG (200 UI, Novormon, Zoetis) y PGF $_{2\alpha}$  (500  $\mu$ g cloprostenol, Ciclase DL, Zoetis), así como se aplicó pintura en la base de la cola para determinar en el día de la IATF que vaquillonas habían manifestado celo. La IATF se realizó tres días más tarde entre las 62 y 72 h luego de retirar el dispositivo, manteniendo los animales todos juntos en un mismo lote. El día de la IATF a primera hora de la mañana se evaluó el estado de la pintura y aquellas vaquillonas que habían manifestado celo recibieron la IATF en ese momento (62 h del retiro del dispositivo), mientras que las que aún no habían manifestado celo se administró una dosis de GnRH y la IATF se realizó en la tarde (72 h del retiro del dispositivo). La tasa de preñez fue similar entre el protocolo J-Synch y el protocolo Co-Synch 5d (57%, 281/490 vs. 55%, 263/481, respectivamente, P=NS), y fue menor (P< 0,05) en las vaquillonas que recibieron el protocolo P4-Synch y en las que no recibieron ningún fármaco al colocar el dispositivo (44%, 216/487; y 44%, 214/489, respectivamente). Estas diferencias se mantuvieron similares entre las vaquillonas de 14 meses y en las de 2 años, sin interacción estadística.

## Vacas con destete precoz

Con el objetivo de evaluar diferentes alternativas libres de estradiol en vacas con destete precoz se realizaron dos experimentos. El protocolo de rutina que utilizamos desde hace varios años en vacas con destete precoz es el protocolo J-Synch, y los estudios para llegar a este protocolo ya han sido presentados en varias oportunidades<sup>(25, 26)</sup>.

En un experimento evaluamos diferentes fármacos para el inicio del tratamiento, comparando así BE, GnRH, P4 o no administrando ningún fármaco para sincronizar la emergencia de la onda folicular. Se realizaron seis réplicas de las que al momento de escribir este documento se contaba con los resulta-

dos de cuatro de ellas y un total de 805 vacas analizadas, quedando pendiente el análisis de otras dos réplicas. Se utilizaron vacas Angus con 60 a 80 días posparto, 12,5% con CL,  $3,7 \pm 0,5$  de CC y se aplicó destete precoz en los días previos al inicio de los protocolos. Al Día 0 todas las vacas recibieron un dispositivo intravaginal con progesterona (DIB 0.5, Zoetis) y se asignaron a cuatro grupos experimentales. Las vacas del protocolo J-Synch ( $n=201$ ) recibieron una dosis im de BE (2 mg, Gonadiol, Zoetis), las del protocolo Co-Synch de 6 días ( $n=201$ ) recibieron GnRH (100  $\mu\text{g}$  gonadorelina, Gonasyn, Zoetis), las del protocolo P4-Synch ( $n=204$ ) una dosis de 100 mg de progesterona (Syntex), y las del grupo Control ( $n=199$ ) no recibieron ningún fármaco al momento de colocar el dispositivo intravaginal. Al Día 6 a última hora de la tarde se retiraron los dispositivos a todas las vacas y se administró una dosis im de eCG (400 UI, Novormon, Zoetis) y PGF $_{2\alpha}$  (500  $\mu\text{g}$  de cloprostenol sódico, Ciclase, Zoetis), así como se aplicó pintura para determinar el celo. Al Día 9 a primera hora de la mañana se evaluó el estado de la pintura y aquellas vacas que habían manifestado celo recibieron la IATF en ese momento (62 h del retiro del dispositivo), mientras que las que aún no habían manifestado celo se administró una dosis de GnRH y la IATF se realizó en la tarde (72 h del retiro del dispositivo). La mayor tasa de preñez se obtuvo con el protocolo J-Synch, (69%, 138/201;  $P < 0,05$ ), no hubo diferencias entre los protocolos Co-Synch de 6 días y P4-Synch (59%, 119/201 y 53%, 109/204, respectivamente;  $P=NS$ ), y la tasa de preñez más baja se obtuvo con el protocolo que no recibió ningún fármaco para sincronizar la emergencia de la onda folicular (48%, 95/199,  $P < 0,05$ ). Si bien estos resultados están respaldados por un buen número de animales, aun los consideramos preliminares hasta que no se complete el análisis de las dos réplicas restantes.

Considerando que ninguna alternativa en el experimento previo alcanzó resultados similares al J-Synch que utiliza estradiol, en el siguiente experimento se evaluaron otras alternativas a este protocolo. Se utilizó un total de 1.364 vacas con 60 a 80 días posparto, 8% con CL,  $3,1 \pm 0,4$  de CC, y que recibieron destete precoz en la semana previa al inicio de los protocolos. Los animales fueron asignados a tres grupos experimentales: uno de ellos recibió el protocolo J-Synch igual que en el experimento anterior, con 2 mg de BE al colocar el dispositivo intravaginal que permaneció durante 6 días ( $n=282$ ); otro grupo recibió el protocolo Co-Synch 5d con una dosis de GnRH (100  $\mu\text{g}$  gonadorelina, Gonasyn GDR, Zoetis) al colocar un dispositivo que permaneció durante 5 días ( $n=283$ ); y un tercer grupo recibió un protocolo P4-Synch con una dosis im de P4 inyectable (Syntex) al momento de colocar el dispositivo intravaginal que permaneció por 6 días. En cinco réplicas la dosis de P4 inyectable fue 100 mg y en dos réplicas fue 50 mg, y los resultados se analizaron separados para aquellas réplicas con 100

o con 50 mg. En el momento de retirar los dispositivos todas las vacas recibieron 400 UI de eCG y una dosis de PGF $_{2\alpha}$ , y aquellas del protocolo Co-Synch 5d recibieron una dosis adicional de PGF $_{2\alpha}$  8 horas antes del retiro. En todas las vacas se aplicó pintura en la base de la cola al retiro del dispositivo para determinar al momento de la IATF si habían manifestado celo. Para cada réplica las vacas se mantuvieron siempre en un mismo lote y el retiro del dispositivo y la IATF se realizó en el mismo momento para todas las vacas. En el día de la IATF a primera hora de la mañana se evaluó el estado de la pintura y aquellas vacas que habían manifestado celo recibieron la IATF en ese momento (62 h del retiro del dispositivo), mientras que las que aún no habían manifestado celo se administró GnRH y la IATF se realizó en la tarde (72 h del retiro del dispositivo). En aquellas réplicas que se utilizó 100 mg de P4, la tasa de preñez fue similar entre los protocolos J-Synch y Co-Synch 5d (70%, 197/282 vs. 71%, 202/283, respectivamente;  $P=NS$ ), y fue menor en el protocolo con P4 (58%, 162/279;  $P < 0,05$ ). En las réplicas que se utilizó 50 mg de P4, la tasa de preñez también fue similar entre los protocolos J-Synch y Co-Synch 5d (68%, 119/174 vs. 68%, 116/170, respectivamente;  $P=NS$ ), y fue menor en el protocolo con P4 (39%, 69/176;  $P < 0,05$ ).

### Vacas con ternero al pie

Sin lugar a dudas que con la prohibición del estradiol la categoría más afectada es la vaca con cría. El alto porcentaje de vacas en anestro y la pobre condición corporal de esta categoría hace que el tratamiento más indicado (el protocolo convencional) lleve dos dosis de estradiol: una de BE al colocar el dispositivo intravaginal con progesterona, y una de CPE al retirar el dispositivo<sup>(24)</sup>.

El primer experimento tuvo como objetivo evaluar el uso de progesterona inyectable como alternativa al BE al inicio del protocolo, así como evaluar la sustitución del CPE al finalizar el protocolo por un proestro prolongado con GnRH. Cabe mencionar que la progesterona inhibe la pulsatilidad de LH y una alta dosis de progesterona por un par de días le quita el soporte de LH al folículo dominante lo que puede favorecer su recambio y la emergencia de una nueva onda. Se utilizaron 1.011 vacas Angus en tres réplicas que se encontraban con ternero amamantando, con 60 a 90 días posparto, 18% con CL determinado por ultrasonografía, y  $4,6 \pm 0,6$  de CC. Todas las vacas recibieron un dispositivo con progesterona (DIB 0.5, Zoetis) al Día 0 y se asignaron a cuatro grupos experimentales en un arreglo factorial 2x2 para recibir en ese momento una dosis im de BE (2 mg, Gonadiol, Zoetis) o de progesterona inyectable (100 mg, Syntex) por vía im. Al finalizar el protocolo, las vacas de cada grupo se dividieron en dos para hacer el retiro del dispositivo al Día 8 junto con una dosis im de CPE (1 mg, Cipiosyn, Zoetis), o hacer el retiro al Día 7 sin recibir CPE y así prolongar el proestro definido como el

intervalo desde el retiro del dispositivo hasta la IATF. Todas las vacas permanecieron en un mismo lote y la IATF se realizó al Día 10. Al momento del retiro del dispositivo en todos los grupos se administró una dosis im de eCG (400 UI, Novormon, Zoetis) y PGF $\alpha$  (500  $\mu$ g cloprostenol, Ciclase DL, Zoetis), y se aplicó pintura en la base de la cola para determinar el día de la IATF si habían manifestado celo. Las vacas que recibieron CPE (retiro Día 8) fueron inseminadas a partir de las 48 h del retiro del dispositivo (celo AM, no celo PM), mientras que las vacas sin CPE (retiro Día 7) fueron inseminadas a partir de las 62 y 72 h del retiro (celo AM, no celo PM). Las vacas que estaban en celo en la mañana del Día 10 fueron inseminadas en la mañana, mientras que las vacas que mantenían la pintura (sin celo) se les administró GnRH (100  $\mu$ g de gonadorelina, Gonasyn GDR, Zoetis) y la IATF se realizó en la tarde. Así se conformaron cuatro grupos experimentales: protocolo convencional BE+CPE (IATF con proestro convencional 48h); protocolo BE+GnRH (IATF con proestro largo 62-72h); protocolo P4+CPE (IATF con proestro convencional 48 h); protocolo P4+GnRH (IATF con proestro largo 62-72h) este último libre de estradiol. Los mejores resultados se obtuvieron en aquellas vacas que recibieron el protocolo convencional con BE+ECP (63%, 159/254;  $P < 0,05$ ) comparado a los otros tres grupos (47 a 53%), con una diferencia de 10 a 16 puntos a favor del protocolo convencional. Cuando se evaluó el efecto principal, aquellas vacas que recibieron BE tuvieron una mayor tasa de preñez (58%, 293/506) que las que recibieron P4 inyectable (49%, 247/505;  $P < 0,05$ ), sin efecto significativo ( $P=0.29$ ) entre las que recibieron ECP (55%, 276/501) o no recibieron ECP (52%, 264/510) al retiro del dispositivo.

En el siguiente experimento se comparó el protocolo convencional con BE+CPE con dos protocolos a base de GnRH libres de estradiol. Se realizaron cuatro réplicas sobre 914 vacas Angus múltiparas con cría al pie, 60 a 70 días posparto, 16% con CL y  $3,0 \pm 0,4$  de CC. Las vacas se asignaron a tres grupos experimentales para recibir un dispositivo intravaginal con progesterona (DIB 0.5, Zoetis) junto con una dosis im de BE (2 mg, Gonadiol, Zoetis) manteniendo el dispositivo por 7 días (protocolo convencional,  $n=308$ ), o con una dosis im de GnRH (100  $\mu$ g gonadorelina, Gonasyn GDR, Zoetis) como alternativa al BE manteniendo el dispositivo por 5 días (Co-Synch 5d,  $n=300$ ) o modificado a 6 días (Co-Synch 6d,  $n=306$ ). Al retiro del dispositivo a las vacas que recibieron el protocolo convencional se les administró una dosis im de CPE (1 mg, Cipiosyn, Zoetis), así como una dosis im de eCG (400 UI, Novormon, Zoetis) y PGF $\alpha$  (500  $\mu$ g cloprostenol, Ciclase, Zoetis). Las vacas de los protocolos Co-Synch no recibieron CPE y se les administró 400 UI de eCG (Novormon, Zoetis), junto con una dosis de PGF $\alpha$  (Ciclase, Zoetis) al retirar el dispositivo (Co-Synch 6d) o recibieron dos dosis

de PGF $\alpha$  separadas por 12 h con la primera dosis al retirar el dispositivo (Co-Synch 5d). En todas las vacas se aplicó pintura para determinar el día de la IATF si habían manifestado celo. En el día de la IATF a primera hora de la mañana se evaluó el estado de la pintura y aquellas vacas que habían manifestado celo recibieron la IATF en ese momento (48 h del retiro del dispositivo para el protocolo convencional, y 62 h para los protocolos Co-Synch), mientras que las que aún no habían manifestado celo se administró GnRH y la IATF se realizó en la tarde (58 h para el protocolo convencional y 72 h para los protocolos Co-Synch). La tasa de preñez fue similar para el protocolo convencional y Co-Synch 5d (65%, 200/308 vs. 67%, 201/300; respectivamente;  $P=NS$ ), mientras que fue menor para el Co-Synch 6d (57%, 175/306;  $P < 0,05$ ).

## Conclusión

Dado que la ganadería en los países de Sudamérica en general se realiza en condiciones pastoriles donde las vacas presentan pobre condición corporal y un alto porcentaje de ellas está en anestro, las posibles alternativas de protocolos sin estradiol deben ser evaluadas en estas condiciones. En estos estudios comparamos algunas alternativas a los protocolos con estradiol en vaquillonas, vacas en anestro con destete precoz, y vacas con cría al pie. Los resultados preliminares confirman que el uso de estradiol permite tasas de preñez elevadas y a bajo costo (por ejemplo, la dosis de CPE es 10-20 veces más económica que la de GnRH). Sin embargo, algunas estrategias que combinan varios cambios como utilizar GnRH al inicio del protocolo, acortando a la vez el tratamiento a 5 días, prolongando el proestro a 3 días, y atrasando la IATF de 48-56 horas a 60 o 72 horas, muestran resultados alentadores. El protocolo Co-Synch de 5 días si bien aparece como promisorio, aún requiere más ajustes y una mayor validación en diferentes condiciones para ofrecerlo como alternativa aceptable frente a los protocolos con estradiol. Aun se requieren esfuerzos compartidos y colaboración entre los diferentes actores involucrados para avanzar hacia mejores estrategias.

Estos estudios recibieron la financiación y el apoyo de productores ganaderos, laboratorios farmacéuticos (Syntex y Zoetis), veterinarios de campo, e investigadores de Fundación IRAUy.

## Bibliografía

1. Baruselli, PS. Mercado da IATF cresce 30% em 2020 e supera 21 milhões de procedimentos. Boletim Eletrônico do Departamento de Reprodução Animal/FMVZ/USP, 5<sup>a</sup> ed., 2021.
2. Baruselli, PS. IATF gera ganhos que superam R\$ 3,0 bilhões nas cadeias de carne e de leite. Boletim Eletrônico do Departamento de Reprodução Animal/FMVZ/USP, 2. ed., 2019.
3. Bo GA, Adams GP, Pierson RA, Caccia M, Tribulo H, Mapletoft RJ. Follicular wave dynamics after estradiol17p treatment of heifers with or without a progestogen

- implant. *Theriogenology* 1994; 41:1555-1569.
4. Bosolasco D, Nuñez-Olivera R, de Brun V, Meikle A, Menchaca A. Estradiol cypionate administered at the end of a progesterone-based protocol for FTAI induces ovulation and improves postovulatory luteal function and uterine environment in anestrous beef cows. *Theriogenology* 2021; 162: 74-83.
  5. Bridges GA, Helsler LA, Grum DE, Mussard ML, Gasser CL, Day ML. Decreasing the interval between GnRH and PGF $\alpha$  from 7 to 5 days and lengthening proestrus increases timed-AI pregnancy rates in beef cows. *Theriogenology* 2008; 69: 843-851.
  6. Codex Alimentarius. Report of the Second Session of the Codex Committee on Residues of Veterinary Drugs in Foods, Alinorm 89/31, Codex Alimentarius Commission, 1989. Disponible en: [http://www.codexalimentarius.net/download/report/207/a189\\_31e.pdf](http://www.codexalimentarius.net/download/report/207/a189_31e.pdf) Acceso enero 2021.
  7. Codex Alimentarius. Report of the Twelfth Session of the Codex Committee on Residues of Veterinary Drugs in Foods, Alinorm 01/31, Codex Alimentarius Commission, 2001. Disponible en [http://www.codexalimentarius.net/download/report/217/A101\\_31e.pdf](http://www.codexalimentarius.net/download/report/217/A101_31e.pdf) Acceso enero 2021.
  8. Courtheyn D, Le Bizet B, Brambilla G, De Brabander H, Cobbaert E, Van de Wiele M, Vercammen J, De Wasch K. Recent developments in the use and abuse of growth promoters. *Analytica Chimica Acta*, 2002; 473:71-82.
  9. De la Mata JJ y Bó GA. Sincronización de celos y ovulación utilizando protocolos con benzoato de estradiol y GnRH en períodos reducidos de inserción de un dispositivo con progesterona en vaquillonas para carne. *Taurus* 2012, 14 N° 55:17-23.
  10. De La Mata JJ, Nuñez-Olivera R, Cuadro F, Bosolasco D, de Brun V, Meikle A, Bó GA, Menchaca A. Effects of extending the length of pro-oestrus in an oestradiol and progesterone-based oestrus Synchronization program on ovarian function, uterine environment and pregnancy establishment in beef heifers. *Reprod. Fertil. Dev.* 2018;30: 1541-1552.
  11. Decreto N° 915/988. Importaciones. Prohibición de Medicamentos Veterinarios Hormonales. Registro Nacional de Leyes y Decretos, Uruguay, Tomo 2; 1988, p. 1256.
  12. DEFRA. Department for Environment, Food and Rural Affairs. EU hormones ban: new independent UK scientific assessment by the Veterinary Products Committee, 2006. Disponible en <https://www.wired-gov.net/wg/wg-news1.nsf/54e6de9e0c383719802572b9005141ed/4f38401c2b4311f6802572ab004bd450?OpenDocument> Acceso enero 2021.
  13. Dinusson WE, Andrews FN, Beeson WM. The Effects of Stilbestrol, Testosterone, Thyroid Alteration and Spaying on the Growth and Fattening of Beef Heifers, *Journal of Animal Science* 1950; 9:321-330.
  14. Directiva 2003/74/CE del Parlamento Europeo y del Consejo. *Diario Oficial* n° L 262 de 14/10/2003 pp. 17-21.
  15. Directiva 2008/97/CE del Parlamento Europeo y del Consejo. *Diario Oficial* n° L 318 de 28/11/2008 pp. 09-11.
  16. Directiva 81/602/CEE del Consejo. *Diario Oficial* n° L 222 de 07/08/1981 pp. 32-33.
  17. Directiva 96/23/CE del Consejo. *Diario Oficial* n° L 125 de 23/05/1996 pp. 10-32.
  18. FDA, U.S. Food & Drug Administration. Steroid Hormone Implants Used for Growth in Food-Producing Animals. Disponible en <https://www.fda.gov/animal-veterinary/product-safety-information/steroid-hormone-implants-used-growth-food-producing-animals> Acceso enero 2021.
  19. Food Standards Australia New Zealand. <https://www.foodstandards.gov.au/consumer/general-issues/hormonal-growth/Pages/default.aspx> Acceso enero 2021.
  20. JECFA, Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Fiftysecond meeting, Rome, 1999 [published as WHO, 2000].
  21. Levy L. The Use of hormonally active substances in veterinary and zootechnical uses: the continuing scientific and regulatory challenges. In: *Analyses for hormonal substances in food-producing animals*. Kay JF, editor. UK: RSC Food Analysis Monographs; 2010. pp. 1-44.
  22. Mapletoft RJ, Bó GA, Baruselli PS, Menchaca A, Sartori R. Evolution of knowledge on ovarian physiology and its contribution to the widespread application of reproductive biotechnologies in South American cattle. *Animal Reproduction*, 2018;15:1003-1014.
  23. Marcantonio S y Etcheverry M. Evolución del mercado de la inseminación artificial en bovinos para carne de la Argentina. *Taurus* 2020; 22 N° 85:23-30.
  24. Menchaca A, Nuñez R, de Castro T, Pintos CG, Cuadro F. Implementación de programas de IATF en rodeos de cría. Disponible en <http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/7579/1/st-208-2013.-p.229-246.pdf> Acceso enero 2021.
  25. Menchaca A, Nuñez-Olivera R, García-Pintos C, Cuadro F, Bosolasco D, Fabini F, Dutra S, de la Mata J, Bó G. Efecto de la prolongación del proestro en la fertilidad de los programas de IATF. XII Simposio Internacional de Reproducción Animal. Córdoba, Argentina, 2017.
  26. Menchaca A, Nuñez-Olivera R, García-Pintos C, Fabini F, de la Mata J, Huguenine E, Bó G. ¿Es posible mejorar la fertilidad con protocolos de proestro prolongado? XIII Simp Intern Reproducción Animal. Córdoba, Argentina, 2019.
  27. MPI (Ministry for Primary Industries), New Zealand Government. Animal Products Notice: Regulated Control Scheme for Hormonal Growth Promotants. 2017. Disponible en <https://www.mpi.govt.nz/dmsdocument/4484-Animal-Products-Notice-Regulated-Control-Scheme-Hormonal-Growth-Promotants-2017> Acceso enero 2021.
  28. Reglamento de Ejecución (UE) n° 481/2012 de la Comisión. *Diario Oficial* n° L 148/9 de 08/06/2012.
  29. Resolución 447/2004. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación, Argentina. *Boletín Oficial* 2004; N° 30382, p. 4.
  30. Scheffler JM, Buskirk DD, Rust SR, Cowley JD, Doumit ME. Effect of repeated administration of combination trenbolone acetate and estradiol implants on growth, carcass traits, and beef quality of long-fed Holstein steers. *Journal of Animal Science*, 2003;81:2395-2400.
  31. Smith ZK, Johnson BJ. Mechanisms of steroidal implants to improve beef cattle growth: a review. *Journal of Applied Animal Research* 2020; 48:133-141.
  32. Souza AH, Cunha AP, Caraviello DZ, Wiltbank MC. Profiles of circulating estradiol-17beta after different estrogen treatments in lactating dairy cows. *Anim Reprod* 2005;2:224-232.
  33. WT/DS26/R/USA. EC Measures Concerning Meat and Meat Products (Hormones), Complaint by the United States. The WTO Panel report numbers, 1997; 97-3368.
  34. WT/DS48/R/CAN. EC Measures Concerning Meat and Meat Products (Hormones), Complaint by Canada. The WTO Panel report numbers, 1997; 97-3371.