Universidad Nacional de La Pampa

Facultad de Ciencias Veterinarias

ESPECIALIZACIÓN EN GESTIÓN DE LA PRODUCCIÓN BOVINA DE CARNE EN LA REGIÓN SEMIÁRIDA CENTRAL

Título:

"Enfermedades asociadas al consumo de agua con altas concentraciones de sulfatos"

Autor:

Med.Vet. Christian Daniel Ordinas

Marzo 2017

Universidad Nacional de La Pampa

Facultad de Ciencias Veterinarias

ESPECIALIZACIÓN EN GESTIÓN DE LA PRODUCCIÓN BOVINA DE CARNE EN LA REGIÓN SEMIÁRIDA CENTRAL

Título:

"Enfermedades asociadas al consumo de agua con altas concentraciones de sulfatos"

Autor:

Med.Vet. Christian Daniel Ordinas

Director:

Dr. Guillermo H. Pechin

Banderaló, Marzo 2017

Indice

	Página
Resumen …….	5
Introducción …….	6
Polioencefalomalacia por exceso de sulfatos (PEMES) ….	12
Hipocuprosis por exceso de sulfatos (HES) …….	20
Análisis de caso ……..	26
Conclusión ……..	29
Bibliografía …….	30
Anexos ……..	35

Resumen

El nivel de azufre en el agua de bebida que excede los parámetros recomendados es responsable de ciertas patologías que afectan a la producción bovina, no sólo a través de la enfermedad clínica y/o muerte de los individuos expuestos, sino por las pérdidas productivas subclínicas, y la incompetencia inmunitaria que produce en los animales afectados. El Médico Veterinario, en su función de asesor en la gestión de la producción bovina o en su tarea para arribar a un diagnóstico clínico, debe reconocer y analizar la calidad del agua que consumen los bovinos, ya que se constituye en una herramienta clave de diagnóstico en base a sus características químicas e incidencia en la producción. El objetivo de este trabajo consiste en describir, caracterizar y analizar dos enfermedades de los bovinos asociadas al consumo de aguas con alta concentración de sulfatos, en la Región Noroeste de la provincia de Buenos Aires, Noreste de La Pampa y Sudeste de Córdoba, como son la polioencefalomalacia y la hipocuprosis. Se pretende impulsar y jerarquizar al análisis de calidad de agua, como una herramienta diagnóstica de competencia profesional, reconociendo las características químicas, es decir, los parámetros de concentraciones normales de los diferentes solutos disueltos en el agua con sus unidades de medida.

Introducción

El agua es un nutriente vital para todos los organismos vivos del planeta. Para los animales domésticos existen tres fuentes posibles de agua: agua metabólica, agua contenida en el alimento o sobre ellos y agua de bebida. Esta última es la fuente cuantitativamente más importante. Sin embargo, además de agua (H_2O) químicamente pura, el agua de bebida contiene una cantidad variable de minerales disueltos. Por ello, debido a la gran variabilidad de este contenido mineral, es muy importante realizar un análisis de la calidad química del agua de bebida en forma periódica en cualquier explotación ganadera.

La sumatoria de las sales minerales disueltas en el agua se denomina Salinidad Total, Sólidos Totales Disueltos (STD) o Residuo Fijo a 105 °C. Las aguas de bebida para bovinos, de acuerdo a la concentración de STD, se pueden clasificar según ciertos rangos: 1) Menor a 1000 mg/L (Deficiente); 2) De 1000 a 2.000 mg/L (Buena a Muy Buena); 3) De 2.000 a 4.000 mg/L (Buena a Aceptable); 4) De 4.000 a 8.000 mg/L (Aceptable a Mala); 5) De 8.000 a 12.000 mg/L (Mala a No Apta) y 6) Mayor a 12.000 mg/L (No Apta) (NRC, 1974). Por encima de los valores de aguas de bebida calificadas como Malas o No Aptas, las mismas son potencialmente tóxicas para la producción ganadera, existiendo una restricción voluntaria al consumo (Roberto, 2008).

La variedad de sales que pueden estar presentes en el agua de pozo es muy amplia, pero las más comunes están formadas en base a los aniones Sulfatos, Cloruros, Carbonatos y Bicarbonatos (Sager, 2000).

Las sales de cloruro en agua están asociadas a sodio (Na), magnesio (Mg), calcio (Ca) y, en mucha menor medida, potasio (K). El cloruro de Na es una sal beneficiosa, ya que el agua, en dietas pastoriles es, generalmente, la principal fuente de Na para los animales. Si bien las sales de Na le dan al agua el sabor salado, es crucial su aporte nutricional. Las aguas de bebida se definen como "engordadoras" cuando se encuentran el nivel de

concentración de STD/L en aproximadamente 2.000 a 3.000 mg/L. En este rango de salinidad el Na cubre los requerimientos diarios, además que los sulfatos no están en exceso (Sager, 2000; Bavera, 2009).

Los cloruros de Ca y de Mg, en cantidades elevadas le dan gusto amargo al agua y pueden producir diarrea osmótica (Sager, 2000; Bavera, 2009).

Para las sales de carbonatos y bicarbonatos, no se conocen efectos negativos para la producción animal, pero su combinación con el Ca y Mg definen la dureza del agua. La dureza se define como la concentración total de iones de Ca y Mg expresados en forma de carbonatos de Ca ($CaCO_3$) en mg/L. Para el Ca no se han dado límite de toxicidad. El K se encuentra en muy pequeña cantidad, salvo que esté contaminada la napa con fertilizantes de uso agrícola (Sager, 2000; Bavera, 2009).

El Mg, un mineral esencial en la alimentación del ganado bovino, en algunos casos se encuentra en exceso y, combinado con el sulfato, otorga al agua una carga de sales osmóticamente activas y un sabor amargo característico. Se consideran límites máximos: para vacas lecheras de 250 mg/L, para terneros destetados 400 mg/L y vacunos para carne adultos 500 mg/L (Sager, 2000; Bavera, 2009).

El arsénico (As) y el flúor (F) pueden afectar la aptitud del agua para consumo animal. Son elementos altamente tóxicos para animales y el hombre e, independientemente de la composición salina del agua de bebida, altos niveles de uno u otro limitan su uso (Sager, 2000; Bavera, 2009).

El As, que forma sales muy solubles en agua, puede asociarse, en algunos países, a contaminación con pesticidas o desechos industriales, pero en nuestro país guarda relación con los diferentes tipos de suelos. Los niveles de tolerancia son de 0,05 mg/L, aunque actualmente la legislación señala 0,01 mg/L para consumo humano y 0,2 mg/L para consumo animal (Sager, 2000; Bavera, 2009).

El F es un natural contaminante de napa en algunas partes del país. Su presencia está relacionada con la existencia de cenizas volcánicas en los estratos del suelo. Los niveles peligrosos son por encima de 2 mg/L en humanos y por encima de 5 mg/L en bovinos. La intoxicación se manifiesta por manchado de dientes y desgaste prematuro y desparejo de los mismos, así como exostosis (Sager, 2000; Bavera, 2009).

Los excesos de hierro (Fe), Manganeso (Mn), plomo (Pb) son muy poco probables, sino existe alguna contaminación, relacionada a los procesos de explotación minera (Sager, 2000; Bavera, 2009).

El agua, si bien constituye un vehículo de sales y elementos importantes, puede transformarse en un factor negativo de la producción si contiene niveles excesivos de sales. Uno de los principales aniones en solución en las aguas de bebida es el sulfato, que participa en la composición de la mayor parte de las aguas de Argentina y tiene especial importancia en la región semiárida pampeana (Stritzler y Saluzzi, 1983).

Los sulfatos son lo que tienen un mayor efecto adverso sobre la calidad del agua, debido a la combinación en la que generalmente se encuentra, como sulfato de Mg o de Na. Los sulfatos, independientemente de su composición, otorgan al agua propiedades purgantes y también el característico sabor amargo que, para los animales no adaptados, puede ser una restricción seria (Sager, 2000).

El consumo de agua con altas concentraciones de sulfatos puede producir afecciones de alto impacto productivo, que pueden ser evitadas a partir del conocimiento de las mismas, y del correcto manejo de los recursos hídricos del establecimiento agropecuario y de una suplementación estratégica.

En el área Noroeste de la pcia. de Bs. As., Noreste de La Pampa y Sudeste de Córdoba la calidad del agua para consumo del ganado es de aceptable a mala calidad, en un 20 % de los establecimientos. En el partido de General Villegas el agua tiene elevadas concentraciones de sulfatos, sales totales y dureza, debida al alto tenor de Ca y Mg.

(Cseh et al., 2003). En la localidad de Bernardo Larroudé, Partido de Chapaleufú, La Pampa, el 14,2% de su superficie tiene aguas subterráneas con más de 4000 mg/L de sales totales, y un 12,8% de ellas con concentraciones superiores a 8000 mg/L (Roberto et al., 2008).

En toda la zona de la llanura chaco-pampeana (centro y norte del país) existen niveles altos de As y de sulfatos. Se adjudica el origen del arsénico en el agua subterránea a la presencia de ceniza y vidrio volcánico en los sedimentos loéssicos de la región (Astolfi et al., 1982).

En las regiones semiáridas y áridas de nuestro país, que comprenden buena parte de la provincia de La Pampa, existen grandes áreas con aguas que poseen elevadas concentraciones de As (Pechin et al., 1995).

La característica de los suelos tipo loess de la llanura chaco-pampeana (centro y norte del país) han permitido la meteorización de muchas sales en las aguas subterráneas de esta región. Es así como existe la presencia de aguas termales con características medicinales en la localidad de Bernardo Larroudé (La Pampa). La utilización terapéutica actual en humanos es para reumatología, cuadros respiratorios, dermatología y secuelas ortopédicas. Son aguas cloruradas-sulfatadas de fuerte mineralización, captadas a 220 m de profundidad con una temperatura de 30,5 ºC (Rodríguez, 2008).

El ión sulfato puede también proceder del lavado de terrenos formados en ambiente marino, de la oxidación de sulfuros que se encuentran ampliamente distribuidos en rocas ígneas y sedimentarias, de la descomposición de sustancias orgánicas, etc. Sin embargo, la disolución de yeso ($CaS0_4.2H_20$) y anhidrita (CaSO) y otros tipos de sulfatos dispersos en el terreno representan frecuentemente el aporte cuantitativamente más significativo de este ión a las aguas subterráneas. El ión sulfato (SO_4^{2-}) está sometido a procesos de reducción, especialmente en presencia de bacterias y de materia orgánica. En ambientes reductores, a pH menor que 7, la forma reducida estable es el

SH_2 (Sulfuro de hidrogeno) mientras que en soluciones alcalinas predomina el ión HS^-. La mayoría de las aguas subterráneas sulfurosas presentan contenidos apreciables de HS^- ó SH_2 que, incluso a concentración muy baja, confieren al agua el típico olor a huevos podridos. Sin embargo, la mayor parte del azufre proveniente de las aguas de bebida se encuentra como sulfatos. Estos, además de su efecto osmótico o sobre el sabor de agua, en rumiantes tienen un efecto adicional, ya que pueden ser reducidos a sulfuros debido a la acción de algunas especies bacterianas presente en la microflora ruminal (Rodríguez, 2008).

En el ciclo global del azufre, se sabe que la actividad volcánica es la principal fuente natural de SH_2 en la atmósfera. En la biosfera, las plantas terrestres son una de las principales fuentes de emisiones biogénicas de SH_2. La emisión por lo estomas de SH_2 fue observado a finales de 1960 (Rennenberg, 1984). Se demostró que las células vegetales emiten SH_2 cuando hay un exceso de sulfito $(SO_3)^-$, sulfato $(SO_4)^-$, o la L-cisteína, en la tierra, ya sea por la suplementación exógena o en el caso de las leguminosas que tienen relaciones simbióticas establecidas con bacterias fijadoras de N_2 las que en sus rizomas aumentan su contenido de D-aminoácidos. Otra causa de la emisión de SH_2 por parte de las plantas es la presencia atmosférica de sulfuro de carbonilo (COS) y de dióxido de azufre (SO_2). La síntesis de SH_2 en las plantas desde azufre inorgánico es un fenómeno dependiente de la luz, y ocurre en los cloroplastos. Se comprobó que las sustancias inhibidoras de la actividad fotosintética del transporte de electrones también inhiben la emisión de SH_2 desde los cloroplastos. En los mamíferos se identificaron dos enzimas que están involucradas en producción de SH_2: cistationina b-sintasa (CBS) y Cistetionina g-liasa (CSE), las cuales requieren L-cisteína como sustrato. También se demostró que la 3-mercaptopiruvato sulfurtransferasa (3MST), junto con cisteína aminotransferasa (CAT), funciona como ruta de producción de SH_2 en mamíferos. En términos de la cadena alimentaria, es importante recordar que las plantas son productores primarios que asimilan sulfato inorgánico $(SO_4)^-$ y lo transforman en cisteína usando la energía solar; que liberan SH_2 por los estomas y que a su vez proporcionan cisteína y proteínas a los herbívoros, transfiriéndose el azufre a los

consumidores más altos incluyendo mamíferos carnívoros. La transmisión secuencial y la circulación del azufre en la biosfera son conocidas como el ciclo global de azufre. El descubrimiento de nuevas funciones para el SH_2 en mamíferos llevó a un cambio de paradigma, ya que se ha reconocido que las plantas y las bacterias producen SH_2 entre sus metabolitos. Es una antigua molécula inorgánica prebiótica que en exceso es considerada tóxica, pero hoy se la estudia por su multiplicidad funcional benéfica de señalización, defensa, funciones anti-apoptóticas, mostrando una faceta dualista de doble filo (benéfica y dañina) (Yamasaki et al., 2016).

Polioencefalomalacia por excesos de sulfatos (PEMES)

La presencia de polioencefalomalacia (PEM) se informó por primera vez en 1956 (Jensen et al., 1956) y fue descripta como un trastorno del sistema nervioso. Los primeros estudios revelaban que la PEM era causada exclusivamente por deficiencia de tiamina. Sin embargo, ahora se sabe que la PEM se asocia con varios tipos de trastornos metabólicos o tóxicos, incluyendo alteraciones en el metabolismo de la tiamina, la deficiencia de tiamina por acción de la tiaminasa, el envenenamiento agudo por plomo, intoxicación por sodio y la presencia de altas concentraciones de azufre (S) ruminal (Drewnoski et al., 2012).

En 1976, una forma de PEM se asoció con una dieta alta en melaza (0,47% S) y no a una carencia de tiamina, ya que, tanto el encéfalo y el hígado tenían niveles de tiamina normales. Este es uno de los primeros estudios que sugieren que el S en la dieta podría inducir PEM independiente de la deficiencia de tiamina. Luego, a principios de 1980, se observó que en varios casos, ganado bovino con PEMES había sido alimentado con raciones que contenían alta concentraciones de sales de yeso ($CaSO_4$) u otro tipo de sulfato. Más tarde, se evidenció una asociación positiva entre la elevación los niveles de sulfuro en el rumen y la signología clínica de PEMES en novillos (Drewnoski et al., 2012).

Los bovinos jóvenes y las vacas en lactación son más susceptibles a padecer PEMES, asociado con una mayor ingesta de alimento, en cambio las vacas lecheras en periodo seco fueron las menos afectadas. También se ha reportado mayor incidencia de PEMES en meses de verano, en los que aumenta la ingesta de agua. (Kul et al., 2006).

El principal metabolito de sulfato es el anión sulfuro (SH^-). La conversión de SH^- a SH_2 es pH dependiente con un pKa de 7,04. Así, las formas de sulfuro presentes en el rumen son SH^- o la forma gaseosa de sulfuro (SH_2). Las formas reducidas como el Sulfuro (SH^- o SH_2) pueden ser absorbidas a través de la pared ruminal, y otra proporción de

SH_2 puede ser eructado del rumen, que luego es inhalado y se absorbe a través de los pulmones, siendo una vía de ingreso muy importante en la fisiopatogenia del PEMES (Loneragan et al., 2005).

Se ha demostrado una concentración ruminal alta de SH_2 y una mayor incidencia de PEM entre la primera y la segunda semana después de comenzar una dieta alta en S, lo que sugiere que el ganado es más susceptible a la toxicosis aguda de azufre durante las primeras 4 semanas. Esto puede relacionarse con la población microbiana o cambios metabólicos que pueden ocurrir durante el periodo de transición dietética. Para animales adaptados, el valor máximo tolerable de sulfatos es de 4.000 mg/L, pero si la sal está combinada con Na (sulfato de Na) es de 1.000 mg/L. A concentraciones moderadas, el S del agua favorece la digestión de celulosa y promueve un mayor consumo de alimentos cuando la dieta base es baja en dicho mineral (Drewnoski et al., 2012).

El agua para consumo bovino que posee niveles menores a 4.000 mg/L de STD, podría ser satisfactoria para la producción de carne, pero por encima de esos niveles, en el largo plazo se reportó una marcada reducción en el consumo de alimento y por consiguiente una disminución de la productividad (Beke et al., 1991).

Las fuentes inorgánicas de S son 100% disponibles ruminal para su reducción a sulfuro. Además, existen otras fuentes orgánicas como (metionina y cisteína) que están disponibles para la fermentación ruminal. Pero las fuentes orgánicas de S que se incorporan en la masa bacteriana (S de reciclaje) no están disponibles para la reducción de ruminal a sulfuro por las bacterias reductoras de sulfato (Russell, 2002).

En la producción de etanol, el ácido sulfúrico es utilizado para controlar el pH de fermentación y como un agente de limpieza. Los sulfatos residuales en estos subproductos (DDGS) puede provocar toxicidad cuando se incorpora a la alimentación de rumiantes en altas cantidades (Loneragan et al., 2005; Sarturi, 2013).
Los datos del NRC de Bovinos para Carne (1996) indican que el nivel máximo tolerable

de S en las dietas de ganado de engorde estabulado es de 0,40%, base MS (Gould, 1998). Vanness et al. (2009) resumieron la incidencia de PEMES en los experimentos de alimentación con subproductos DDGS y mostraron que la tasa de incidencia aumenta conforme aumenta el contenido total de S en la dieta de 0,40% a más de 0,56% con 6 a 8% de forraje. Las dietas altas en S (> 0,50%) que son bajas en fibra efectiva (< 4%) y altas en almidones rápidamente fermentables (> 30%) tienen altas probabilidades de causar PEMES (Drewnoski et al., 2012).

Por ejemplo, Vanness et al. (2009) informaron que el ganado que consume una dieta con granos de destilería que contiene 0,47% de S sin forraje, tuvieron una tasa de incidencia de PEMES del 48%, pero el ganado que consumió una dieta que contenía una concentración similar de S con 6 a 8% de forraje presentó una tasa de incidencia de PEMES < 1%. Las investigaciones realizadas en las Universidad de Nebraska e Iowa han mostrado que el riesgo de la toxicidad por azufre puede ser menor cuando los niveles de forraje en la dieta son mayores del 6 al 8% (Drewnoski et al., 2012). Si se incluye un 15% de forraje (base MS) en la dieta, la concentración total de S puede aumentarse a 0,5%, lo que es equivalente a un aumento de 10 a 15% de granos de destilería en la dieta, sin causar PEMES. Al incrementar el contenido de forraje de la dieta, el pH del rumen aumenta, y por lo tanto, no va a favorecer la formación de sulfuro de hidrógeno y aumento de su concentración en el rumen (Sarturi et al., 2013).

Debido a que la conversión de SO_4 a SH_2 es un proceso dependiente del pH, la concentración de SH_2 en el rumen disminuye cuando aumenta el pH ruminal. Cuando el pH disminuye, el sulfuro de hidrógeno que permanece en su forma gaseosa y puede ser eructado siendo su posterior inhalación unos de los mecanismos que se han propuesto como patogénesis de la toxicidad de S en rumiantes (Gould, 1998). Los cambios en el comportamiento de comer del ganado y el pH ruminal y su relación con las concentraciones de SH_2 pueden ayudar a explicar por qué aumentando FDN disminuye el riesgo de PEM en las dietas (Morine, 2014).

Por otro lado, si se desarrolla un cuadro de acidosis concomitante, a una ingesta excesiva de azufre, el pH ácido ruminal podría inhibir la proliferación y la actividad de los microorganismos incluyendo las bacterias reductoras de S. En este contexto, la concentración de SH_2 disminuye y por lo tanto los síntomas son limitados o inexistentes. Con el pasar de los días, se restablecen las bacterias sulfato reductoras y conjuntamente con una dieta alta en azufre, se produce un aumento de sulfuros desarrollándose la posibilidad de un brote de PEMES (Drewnoski et al., 2012).

Se ha demostrado que la ingestión de sulfato inorgánico a través del agua de bebida produciría cambios cuantitativos en la composición de la sangre y la función renal de ganado. En primer término, el SH_2 resulta ser un inhibidor competitivo para la hemoglobina, ya que se puede acoplar al sitio de ligamiento del oxígeno, impidiendo así el transporte normal de oxígeno, formando sulfahemoglobina. (Drewnoski et al., 2014) En segundo término, el SH_2 inhibe la enzima respiratoria citocromo-c oxidasa, afectando la producción de energía derivada de la fosforilación oxidativa acoplada a una cadena de transporte de electrones (Weeth et al., 1972).

También puede haber un aumento de la diuresis relativa, en función de una mayor cantidad de agua ingerida. Sobre la base de estos estudios, se sugirió que el ganado en crecimiento, podía tolerar al menos 1.450 mg/L de sulfatos en el agua de bebida durante al menos 30 días y que esta concentración era probablemente cercana de su umbral de discriminación del gusto (Weeth et al., 1972).

Los síntomas de la ingesta de altas concentraciones de sulfato a largo plazo pueden manifestarse a través de una disminución de la capacidad de transporte de oxígeno de la sangre (Weeth et al., 1972). La formación de sulfahemoglobina produciría hipoxia y, por lo tanto, causaría disfunción celular, daños al encéfalo y la muerte. Teniendo en cuenta que la concentración sulfahemoglobina no se elevaría sustancialmente en bovinos con signos de PEMES, la concentración de sulfohemoglobina no es la mejor opción como herramienta de diagnóstico de la toxicosis de azufre. Sin embargo, tanto el

SH_2 ruminal como las concentraciones de tiosulfato en orina pueden ser útiles para la diferenciación de PEMES de otras causas de PEM. Actualmente, la diferenciación entre PEMES y otras causas de PEM está determinada por las estimaciones de la ingesta total de azufre de agua y alimento. Sin embargo, a menudo es difícil de controlar el agua consumida o conocer la verdadera composición de la dieta. La concentración de tiosulfato en la orina puede ser útil como una herramienta de diagnóstico en los rumiantes, pero el hecho de que los animales con PEM tienden a dejar de comer y beber puede hacer que el tiosulfato en orina no sea el indicador clínico de diagnóstico de la PEMES (Drewnoski et al., 2012).

La deficiencia de tiamina se ha comprobado que induce PEM. Esto se ha informado en los bovinos, ovinos, equinos, caninos, caprinos, camélidos y felinos. La deficiencia de tiamina en rumiantes se ha asociado con varios factores, tales como un deterioro de la síntesis de tiamina microbiana y la producción de tiaminasas bacterianas o de origen vegetal. La tiaminasa bacteriana ha sido considerado el principal factor que conduce a la deficiencia de tiamina en rumiantes. Existen dos tipos de tiaminasa (Tipo I y II) son producidas por diferentes tipos de bacterias ruminales. Ambos tipos tienen un efecto destructivo sobre la tiamina en el rumen. La tiaminasa tipo I cataliza el desplazamiento nucleofílico del tiazol de tiamina por otra base conocida como co-sustrato y genera análogos de tiamina que inhiben la tiamina. La tiaminasa tipo I requiere un cofactor para llevar a cabo su actividad de destrucción de tiamina. Algunos medicamentos como promazinas y levamisol son sustratos que producidos durante la fermentación parecen actuar como cofactor de la tiaminasa tipo I. La tiaminasa tipo II divide la tiamina por catalizar el proceso de hidrólisis y por lo tanto puede reducir la cantidad de tiamina absorbida del rumen. La tiaminasa tipo I y II están también presentes en plantas tales como *Pteridium aquilinum, Equisetum ramosissimun, Malva parviflora* y *Amaranthus blitoides.* Los animales expuestos a estas plantas han desarrollado PEM (Meyer, 1989; Ramos et al., 2005).

Se ha evaluado que la administración de tiamina en las primeras etapas de PEMES

mejoraría el estado clínico de algunos animales con PEM, pero es totalmente ineficaz en otros, por lo que una hipótesis sugiere que aquellos animales que no responden al tratamiento con tiamina pueden tener un bloqueo en el metabolismo de la misma (Amat et al., 2013).

Se sabe que en los tejidos de los mamíferos la tiamina está presente como una base libre de tiamina, TMP, TPP y el trifosfato de tiamina (TTP) (Tallaksen et al., 1992). La base libre de tiamina es un precursor de los fosfatos de tiamina (TTP), que son formas biológicamente activas de esta vitamina. El papel metabólico de TMP y TTP aún es poco conocido, pero TPP es un cofactor crítico en varias de las principales vías metabólicas del metabolismo energético (Bettendorff et al., 1996). Es importante destacar que cualquier alteración en la síntesis de TPP o suministro a menudo se asocia con trastornos neurológicos tales como la PEM (Amat et al., 2013).

Determinar el efecto de SH_2 sobre la fosforilación de tiamina es importante para entender la patogénesis del desarrollo de las lesiones PEMES. Por otra parte, teniendo en cuenta el hecho de que la tiamina puede ser destruida por los sulfitos (Leichter et al., 1969) y tiaminasas (Brent, 1976), que son pH dependientes, se suma información a la hipótesis de que el efecto del exceso de S en relación a la depleción de tiamina puede ser influenciado por factores de la dieta que influyen en el pH del rumen. En relación con esto, se comparó la concentración de tiamina, TMP, y de TPP entre encéfalos de animales a los que se le indujo PEM en forma experimental, contra muestras obtenidas de casos clínicos espontáneos a campo en novillos de engorde con diagnóstico de PEMES asociados a dietas altas en S. Los resultados sugieren que la dieta que genera niveles altos SH_2, aumenta la demanda metabólica de tiamina, posiblemente para compensar los efectos tóxicos de S en el tejido cerebral. En este análisis comparativo, se puede inferir que el fracaso sistémico para sintetizar los niveles requeridos de TPP en el cerebro puede ser la patogénesis de las lesiones bioquímicas del PEMES asociado con el exceso de S en la dieta. Los resultados indican que la dieta alta S implica una demanda metabólica de TPP y que los animales incapaces de mantener los niveles

requeridos de TPP en el cerebro está en alto riesgo de desarrollar polioencefalomalacia (Amat et al., 2013).

Un estudio en Saskatchewan, Canadá, detalla que cuando los bovinos consumen agua con elevado contenido sulfato de sodio (7.200 mg/L) desarrollan una toxicosis al sodio, que puede ocurrir indirectamente, cuando los volúmenes excesivos de agua son consumidos después de la privación prolongada, o directamente por el consumo de una solución salina de sulfato o de la alimentación. La toxicosis indirecta de la sal se manifiesta con signos neurológicos resultantes de edema cerebral, mientras que la toxicosis directa se manifiesta como gastroenteritis (Hamlen et al., 1993).

Como la densidad del ácido sulfhídrico es mayor que la del aire, suele acumularse en lugares bajos. La alta concentración de SH_2 en niveles superiores a 150 mg/L, encontrado en los establos en suspensión residual, con una ventilación inadecuada, causan irritación en mucosas, trastornos respiratorios y puede inducir PEMES (Lutnicki et al., 2014).

Los signos clínicos informados en el ganado afectado incluyen una grave debilidad muscular, deshidratación, diarrea, y convulsiones. El nivel de sodio en el suero de los animales afectados es cinco veces superior. Llama la atención que el exceso de azufre en la dieta puede causar el desarrollo de los signos tóxicos incluso en los primeros días, mientras que las lesiones de PEMES, sólo se desarrollan después de dos a tres semanas. Se podría explicar en gran medida debido a que el nivel en exceso de azufre en relación con la concentración de SH_2 no se desarrollan simultáneamente, sino que intervienen bacterias reductoras que en muchas ocasiones no están en las cantidades suficientes como para producir SH_2, y de esta manera ambos procesos no se desarrollan simultáneamente con la detección de los signos tóxicos (Drewnoski et al., 2014).

La necropsia de un animal con síntomas de PEMES tiene la particularidad del característico olor de sulfuro de hidrógeno en el contenido de ruminal (si la necropsia se

realiza poco después de la muerte) y la presencia de focos necróticos degenerativos en el cerebro. Muy a menudo, se observa la hiperemia y la inflamación de membranas mucosas, un hígado de color amarillo claro y los riñones de color oscuros. Los cambios macroscópicos e histológicos en el cerebro se producen muy temprano, antes de que los síntomas clínicos aparezcan. Los cambios típicos son los siguientes: focos difusos degenerativos necróticos, focos de malacia o licuefacción y cambios con estructura esponjosa en la corteza cerebral. Además, a nivel histológico se evidencia degeneración y necrosis de las células neuronales, infiltraciones de leucocitos alrededor de los pequeños vasos sanguíneos y la hipertrofia del tejido glial (Lutnicki et al., 2014).

El diagnóstico de PEMES se confirma por la evidencia histopatológica de la necrosis cerebrocortical y subcortical con necrosis microvascular fibrinoide, predominantemente en la región del tálamo en los bovinos afectados. Los niveles de concentración de transcetolasa y tiamina (vitamina B1) en el suero de todos los animales no evidenciaron deficiencia de ambos marcadores bioquímicos. La remisión espontanea de los síntomas se observa en los animales que son trasladados a una fuente de agua con niveles aceptables de sulfatos de sodio (Hamlen et al., 1993).

A pesar que la concentración de SH_2 ruminal puede permanecer por debajo de la concentración requerida para inducir la enfermedad clínicamente evidente, puede provocar efectos adversos sobre la producción. En fases subclínicas de la enfermedad existen pérdidas económicamente importantes. Dietas con concentraciones de sulfato de agua en exceso de 1.200 mg/L requieren un período más largo en la alimentación para lograr su engorde. Se informaron, que las ganancias óptimas se consiguen con ingestas del orden de 0,22% de S en la MS en donde se optimiza el rendimiento productivo de los animales, su consumo de agua, y las características de la res. Con ingestas equivalentes al 0,29% de S en la MS de la dieta se producen perjuicios a la producción ganadera (Loneragan et al., 2001).

Hipocuprosis inducida por el consumo de aguas con excesos de sulfatos (HES)

Si bien los monogástricos absorben el 30% y hasta el 50% del Cu presente en la dieta, en los rumiantes el porcentaje de absorción es menor. Esto se debería, por un lado, al ambiente reductor del rumen, que genera la reducción de Cu^{++} a Cu^{+}, el cual es más difícil de absorber y, por otro lado, a la formación de sulfuros (SH^{-}) a partir de sulfatos (SO_4) para formar CuS, compuesto altamente insoluble que no puede ser absorbido en intestino delgado. (Suttle, 1974).

El hígado ha sido reconocido como el principal órgano de depósito de Cu en el organismo, y cumple un rol clave en su metabolismo. Una vez incorporado al hepatocito, el Cu se almacena unido a la metaloproteínas y en los lisosomas, para ser utilizado en la síntesis de ceruloplasmina. De las metaloenzimas dependientes de Cu, la más importantes son la ceruloplasmina, la superóxido dismutasa (SOD), la tirosinasa, la citocromo-c-oxidasa y la monoamino oxidasa o lisil oxidasa. La citocromo-c-oxidasa es un complejo que contiene los citocromos a y a3 de la cadena respiratoria, posee dos átomos de Cu, además de dos grupos hemo con sus respectivos átomos de Fe. Representa la enzima terminal de la cadena respiratoria y cataliza la transferencia de 4 electrones al O_2 para formar 2 moléculas de agua y ATP. La función de la enzima SOD es inactivar los iones superóxido con la producción de peróxido de hidrógeno y oxígeno. La tirosinasa participa en la oxidación del aminoácido tirosina, paso metabólico involucrado en la formación de melanina. Se han identificado varios tipos de monoamino oxidasas en el organismo. Están ubicadas en la membrana mitocondrial externa y se encargan de producir la desaminación oxidativa de diversas monoaminas, como adrenalina, noradrenalina, tiramina, triptamina y serotonina (Blanco, 1989).

La mayor fracción del Cu plasmático, aproximadamente un 80%, está unida a ceruloplasmina (Underwood et al., 1999); el resto viaja unido a albúmina y a una globulina llamada transcupreína, mientras que cantidades menores lo hacen en otras

moléculas más pequeñas, pero no está claro cuál es la forma biodisponible del Cu que es liberado desde las reservas hepáticas. En este sentido, hasta hace poco tiempo se pensaba que la ceruloplasmina era la forma de distribución del Cu hepático hacia los tejidos (Underwood et al., 1999).

Como otras deficiencias minerales, la hipocuprosis puede ser causada por un bajo aporte del elemento en la dieta, denominándose en este caso deficiencia simple o primaria, o bien puede ocurrir que el aporte de Cu sea adecuado, pero otros factores de la dieta interfieran con el aprovechamiento del Cu ingerido, en cuyo caso se habla de deficiencia condicionada o secundaria (Rosa et al., 2002).

El molibdeno (Mo) ha sido el factor de interferencia más estudiado, posiblemente por ser el responsable de los cuadros más graves de hipocuprosis y los primeros en ser registrados (O'Dell, 1997). Esta patología puede ser producida por cantidad insuficiente de Cu en la dieta o el exceso de molibdeno o sulfatos en la alimentación o agua de bebida. Ambas situaciones han sido informadas en la provincia de La Pampa (Pechin et al., 1995).

El Mo provoca su interferencia interactuando con el S ingerido, el cual se convierte a nivel ruminal en sulfuro, que al unirse al Mo forma tiomolibdatos (TMs). Según el número de átomos de S en la molécula, los TMs se denominan mono, di, tri o tetratiomolibdatos. Los dos últimos complejan al Cu y se unen a material particulado y a proteínas de alto peso molecular, perjudicando su absorción. Parte de los TMs son absorbidos en intestino y ejercen un efecto sistémico sobre el organismo. A nivel plasmático complejan al Cu y lo unen a la albúmina en una posición anómala, creando una fracción de Cu plasmático que ya no es disponible para los tejidos. Por otra parte, los TMs absorbidos aumentan las pérdidas orgánicas de Cu, principalmente por bilis y secundariamente por orina. La interferencia del Mo en la absorción de Cu depende de la relación Cu:Mo, sugiriendo que ésta debe ser mayor de 2:1 para evitar la deficiencia condicionada (Rosa et al., 2002).

Se considera que una concentración de S en la dieta superior al 0,3% (base MS) contribuye a la hipocuprosis (Mason, 1978). El Mo, el Cu y el S se combinan para formar Tiomolibdato de Cu que son sales insolubles que no se absorben a nivel intestinal (TMs-Cu) (Suttle et al., 2010).

La formación de sulfuro disminuye la absorción de la mayoría de los minerales. Cantidades extra de Cu, hierro (Fe) y zinc pueden ser necesarias para el ganado vacuno con alto consumo de sulfato (Gould, 1998).

Los niveles altos de sulfatos en agua pueden interferir con la absorción del Cu, por los mismos mecanismos que el S del forraje. Se demostró que al disminuir la concentración de sulfatos en el agua de 1.500 a 126 mg/L se mejoraron los parámetros relacionados con los metabolismos del Cu en vacas de cría (Smart et al., 1986).

Los signos clínicos relacionados con la hipocuprosis son variados, incluyendo alteraciones del pelaje, diarrea, desórdenes cardiovasculares, trastornos óseos y articulares, menor desarrollo corporal, anemia, menor resistencia a las infecciones y alteraciones en la reproducción. Por otra parte, el ganado puede estar clínicamente normal, aunque su hígado y las concentraciones plasmáticas de Cu pueden indicar un estado deficiente. La primera etapa subclínica de la hipocuprosis se denomina etapa de depleción y comienza cuando la dieta no cubre los requerimientos del organismo. Se mantiene el aporte de Cu a los tejidos gastando su depósito hepático. Por esta razón, la etapa de depleción cursa sin signos clínicos y sólo es evidente en ella una disminución de la concentración hepática de Cu. La etapa de deficiencia se inicia cuando las reservas hepáticas comienzan a agotarse y ya no pueden mantener niveles normales de Cu en sangre (> 60 μg/dl), por lo cual esta etapa se caracteriza por la aparición de la hipocupremia. Finalmente, cuando el aporte sanguíneo de Cu a los tejidos sigue disminuyendo, se produce la etapa de disfunción, en la cual las enzimas tisulares Cu dependientes se ven afectadas en su función (Rosa et al., 2002).

Se encontró una asociación positiva entre la presencia de hipocuprosis y los excesos de precipitaciones, que explican el patrón estacional de hipocuprosis y la influencia de las inundaciones en hipocuprosis. El Fe es fácilmente móvil en suelos ácidos y anegados periódicamente, lo que hace que el Fe esté disponible para la absorción de plantas. Esto explica los altos contenidos de Fe en forraje durante el otoño y la reducción del contenido de Cu, ya que el Fe compite efectivamente con el Cu por los sitios de absorción en las raíces (Ramírez et al., 1998).

En el año 2004, se informó una deficiencia marginal de Cu en 10 establecimientos del partido de General Villegas. En esa oportunidad, muestras de sangre, hígado, forraje y agua de bebida fueron recolectadas en invierno y verano. Un 33% y un 11,3% de las muestras de plasma obtenidas en invierno y verano, respectivamente, tuvieron niveles de Cu por debajo de 57 µg/dl; y un 44% y un 33,3% de las muestras de hígado tuvieron concentraciones de Cu por debajo de 20 µg/g MS. En esta región del oeste arenoso la deficiencia de Cu sería de tipo condicionada, principalmente debido a los elevados niveles de SO_4 en el agua de bebida y de Fe en el forraje, mientras que la concentración de Mo en el forraje no tendría un papel predominante en el desarrollo de la misma. Los niveles de S en el agua de bebida fueron identificados como una posible causa de la deficiencia de Cu. No se detectaron excesos de Mo en forraje en ninguno de los establecimientos. Se concluyó que la deficiencia de Cu en esta área se debería al exceso de S en el agua de bebida y a los altos niveles de Fe en las pasturas (Minatel et al., 2004).

La cupremia no es un indicador directo, pero debido a que la hipocupremia se profundiza durante el desbalance puede emplearse su valor predictivo. Para ello resulta útil subdividir los valores de cupremia en tres rangos: por encima de 60 µg/dl (normocupremia), entre 60 y 30 µg/dl (hipocupremia leve) y aquellos menores de 30 µg/dl (hipocupremia severa). La normocupremia sugiere que los animales no se hallan expuestos al desbalance (salvo en molibdenosis donde pueden coexistir

normocupremias y signos de deficiencia). La hipocupremia leve, en cambio, es indicativa de que la reserva hepática de Cu ya no es capaz de mantener el nivel plasmático normal, pero posiblemente no se vean afectadas las enzimas Cu dependientes a nivel tisular, debido a que los animales no suelen mostrar signos clínicos importantes de la enfermedad ni responden a la suplementación con Cu en los ensayos dosis-respuesta (Ferrer et al., 1989).

Los resultados obtenidos muestran que la hipocupremia en el ganado se asocia con un aumento en la frecuencia de aberraciones cromosómicas. El aumento del daño al ADN encontrado en animales con hipocupremia podría explicarse por un mayor estrés oxidativo sufrido por estos animales (Picco et al., 2004).

Una de las consecuencias productivas más graves de la hipocuprosis en la zona es la menor ganancia de peso en los terneros, lo que ha sido asociado a niveles de hipocupremia severa (Rosa et al., 2002).

La deficiencia severa de Cu indujo títulos vacunales bajos durante la primovacunación con IBR, siendo este efecto revertido al mejorar el estatus de Cu durante la revacunación. El valor del hematocrito es un buen indicador de la deficiencia severa de Cu y del riesgo de pérdida de peso. De cualquier modo, se ha asociado la presencia de hipocuprosis con una menor respuesta inmunitaria innata, menor producción de citocinas y fallas en la respuesta adaptativa humoral y celular (Testa, 2015).

El aumento de las tasas de mortalidad observadas en los terneros que consumen aguas con altos niveles de sulfatos puede ser un reflejo del papel del cobre en la respuesta inflamatoria (Smart et al., 1986).

Las cupremias que se mantienen persistentemente por debajo de 0,50 μg/ml, indican una posibilidad cierta de respuesta a la suplementación. La aplicación parenteral de Cu aparece como la práctica de elección cuando se trata de una monocarencia del mineral y

en situaciones de bovinos en pastoreo sin suplementación con granos, obteniéndose resultados ampliamente satisfactorios (Pechin et al., 1999a). Sin embargo, la suplementación son $CuSO_4$ oral también demostró ser efectiva, aún en presencia de antagonistas, y produjo resultados similares a la suplementación con Cu inyectable. Probablemente, la utilización de $CuSO_4$ en forma oral sea conveniente cuando se desea suplementar macro y microminerales en forma conjunta para cubrir más de una deficiencia mineral (Pechin et al., 1999b).

Los bolos de CuO es una alternativa que brinda similares resultados que la dosificación preventiva con Cu inyectable. Estos productos permiten mantener niveles de Cu sérico altos y estables al menos por 6 meses, en situaciones de deficiencia de Cu. Por otro lado, al no producir picos de Cu sérico tan marcados, probablemente disminuyen los riesgos de intoxicación en los bovinos (Pechin et al., 2006).

Análisis de un caso

En febrero de 2011, se asistió al Establecimiento La Eloísa, a 15 km al noroeste de Banderaló, para una consulta profesional sobre unos terneros con síntomas neurológicos. Al llegar al mismo, se encontró una tropa de 150 terneros de 170 kg, en promedio de destete propio del establecimiento. Esta tropa, según manifestaba el encargado del establecimiento, tenía sus planes sanitarios completos (IBR - DVB - PI3, Mancha - Gangrena - Enterotoxemia - Hemoglobinuria) con doble dosis y desparasitados con ivermectina al 1%. Además, estos terneros habían recibido tilmicosina (Micotil, Elanco), un día antes de nuestra visita, por indicación del médico veterinario responsable sanitario del establecimiento, que no residía en las cercanías y fue consultado telefónicamente, indicando ese tratamiento clínico.

Se identificaron 15 terneros con síntomas neurológicos, de aparición repentina que manifestaron clínicamente signos con diverso grado de severidad. Los animales afectados presentaron ataxia, pérdida de la visión, convulsiones y fasciculaciones musculares intermitentes. Las formas menos severas mostraron a los animales atontados, negándose a moverse, generalmente parados cerca de las aguadas, apoyados en los alambrados con movimientos masticatorios involuntarios y temblores.

Se practicaron dos necropsias completas que evidenciaron las siguientes lesiones anatomopatológicas. El corazón presentaba adelgazamiento de la pared muscular y una lividez muscular intensa. El cerebro presentaba áreas asimétricas reblandecidas (focos necróticos), además de una marcada retracción de la masa encefálica, a la altura del foramen occipital. Se extrajo el cerebro completo y se observó una alteración de la simetría anatómica del tejido encefálico frontal. En los lóbulos frontales y occipitales las circunvoluciones estaban alisadas y no se diferenciaban. Al corte, en el área de unión de la materia gris con la materia blanca, se observó macroscópicamente una zona de color amarillo. Se evidenciaron áreas de necrosis cortical al exponer el encéfalo bajo la iluminación de luz ultravioleta de 350 nm de longitud de onda (Markson et al., 1982).

La anamnesis investigada reveló que habían ingresado al encierre del corral unas 4 semanas antes. Los animales se alimentaban a base de maíz molido, pellet de afrechillo de trigo y núcleo mineral comercial. Los bosteos manifestaban cierto grado de acidosis ruminal, que se condicen con el tipo de dieta que consumían. Pero al indagar sobre la calidad del agua que recibían, no tenían ningún análisis de referencia, hasta la fecha de nuestra llegada.

Se tomaron muestras de agua y nos informaron que hacía aproximadamente dos semanas habían cambiado de perforación. Se solicitó un análisis de urgencia de las muestras tomadas que arrojaron los datos presentados en los Informes 1 y 2. Las primeras dos semanas consumían agua de una perforación, que cuando se analizó tenía una concentración de Sólidos Totales Disueltos de 7.260 mg/L y de Sulfatos de 1.796 mg/L, pero al sufrir un desperfecto la máquina de molino, cambian a otra perforación, que cuando se analizó tenía una concentración de Sólidos Totales Disueltos de 14.160 mg/L y 4.461 mg/L de Sulfatos.

Preventivamente, se advirtió que podrían aparecer más terneros con esos síntomas, sino se buscaba la forma de cambiar de agua de bebida. Por ello fue que inmediatamente se trasladaron a un lote de feedlot que tenía una muy buena calidad de agua (3.770 mg/L de STD y 704 mg/L de sulfatos, Informe 3). Si bien existió una mortalidad del 70% de los terneros con síntomas neurológicos, a partir del cambio de agua de bebida, los casos disminuyeron a cero en el lapso de una semana, no manifestándose más terneros con síntomas neurológicos, salvo aquellos que sobrevivieron y no revirtieron el cuadro inicial.

Paralelamente, se investigaron en función de la dieta administrada los niveles de tiamina, evaluando su disponibilidad en el afrechillo de trigo y el núcleo comercial. A su vez se administró tiamina EV, junto a corticosteroides, como tratamiento médico a los animales afectados. No se evidenció una mejoría o reversión de los síntomas neurológicos en los terneros tratados médicamente. Por intervención telefónica del

colega responsable veterinario se siguió administrado tilmicosina, a todo el rodeo, que no logró ninguna mejoría clínica a los terneros afectados.

Se abordó al diagnóstico de Polioencefalomalacia por consumo de agua de bebida con excesos de azufre (PEMES) en base a los síntomas clínicos, lesiones anatomopatológicas, resultados de análisis de agua y respuesta positiva a la iluminación con luz ultravioleta de los cortes de tejido encefálico.

Durante el transcurso de la primavera de 2016, mientras se realizaba esta tesina, ocurrió un brote de PEM, en una tropa de 200 toritos que consumían una pastura de alfalfa; se contabilizaron un total de 15 afectados; que se medicaron con tiamina endovenosa, en dosis altas. Un 70% de los casos remitieron el cuadro clínico. Pero esta vez el diagnóstico no se pudo correlacionar con un exceso de azufre en el agua de bebida, sino que aún está en pleno proceso de investigación para dilucidar si la fuente de azufre es de origen vegetal o si el origen de la deficiencia de tiamina fue la presencia de tiaminasas en la pastura que consumían.

De esta manera, se puede entender que estamos frente a una patología sobre la cual se debe seguir investigando, a sabiendas de que existe un protocolo de tratamiento médico a aplicar a los animales afectados y herramientas diagnósticas rápidas y económicas como es la iluminación por luz ultravioleta que confirma el diagnóstico.

Conclusión

El SH_2 es un importante ejemplo de un tóxico dependiente de la dosis. Es un mediador químico endógeno o Molécula de señalización gaseosa (Gasotransmitters) que, junto con el NO y CO, tiene un rol central en los mecanismos de homeostasis celular. Por otra parte, la exposición de animales a elevadas concentraciones en forma aguda de SH_2 o sus precursores COS y NaHS, produce neurotoxicidad.

Durante las últimas 3 décadas, el PEMES evolucionó para convertirse en un problema importante en la industria ganadera mundial con pérdidas económicas considerables. El desarrollo del control de esta enfermedad es necesario. Aunque se ha avanzado en la comprensión de la fisiopatología de la toxicidad de S en los rumiantes, se necesita más investigación para desentrañar la base bioquímica y molecular de PEMES.

La alta concentración de azufre en el agua de bebida de los bovinos es responsable de enfermedades de alto impacto productivo, no solo por sus manifestaciones clínicas, sino por las pérdidas ocasionadas en sus formas subclínicas, además de la incompetencia inmunitaria que produce. Reconocer esta problemática es tarea del Médico Veterinario. Para esto, en su función de asesor, en la gestión de la producción bovina o para arribar a un diagnóstico, debe conocer la calidad del agua que consumen los bovinos, sus características químicas e incidencias en la producción, solicitando realizar toma de muestras anuales, en años de precipitaciones normales, y semestrales en años de sequía.

Es por ello que este trabajo pretende reconocer la problemática e impulsar los análisis químicos de calidad de agua, como una herramienta diagnóstica y de mejora productiva para los establecimientos asesorados por Médicos Veterinarios.

Bibliografía

- Amat, S., McKinnon, J.J., Olkowski, A.A., Penner, G.B., Simko, E., Shand, P.J., Hendrick, S. 2013. Understanding the role of sulfur–thiamine interaction in the pathogenesis of sulfur-induced polioencephalomalacia in beef cattle. Research in Veterinary Science 95: 1081-1087.

- Astolfi, E., Garcia Fernández, J.C., Maccagno, A., Guerra, C., Besuschio, S.C. 1982. Hidroarsenicismo crónico regional endémico. In *Hidroarsenicismo crónico regional endémico*. Cooperativa General Belgrano. Publicación ocasional.

- Bavera, G. 2009. Aguas y Aguadas para el ganado, 3ª Ed. del autor, Río Cuarto.

- Blanco A. 1989. Química biológica. Quinta Edición. Editorial El Ateneo. Buenos Aires, Argentina.

- Beke, G.J., Hironaka, R. 1991. Toxicity to beef cattle of sulfur in saline well water: a case study. Science of the Total Environment 101: 281-290.

- Bettendorff, L., Mastrogiacomo, F., Kish, S.J., Grisar, T. 1996. Thiamine, thiamine phosphates, and their metabolizing enzymes in human brain. Journal of Neurochemistry 66: 250–258.

- Bonel, J.A., Ayub, G. 1985. Método para determinar la calidad del agua para bebida de bovinos y recomendaciones para el ganadero. Revista Argentina de Producción Animal 3: 45-48.

- Brent, B. E. 1976. Relationship of acidosis to other feedlot aliments. Journal of Animal Science 43: 930-935.

- Cseh, S.B., Yarrar, M., Mottier, L. 2003. Calidad de Agua para consumo animal en 26 partidos de la Provincia de Bs. As. XXVI Congreso Argentino de Producción Animal. http://www.produccionbovina.com.ar/agua_bebida/42-calidad_agua_partidos_bsas.pdf.

- Drewnoski, M.E., Ensley, S.M., Beitz, D.C., Schoonmaker, J.P., Loy, D.D., Imerman, P.M., Hansen, S. L. 2012. Assessment of ruminal hydrogen sulfide or urine thiosulfate as diagnostic tools for sulfur induced polioencephalomalacia in cattle. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation 24: 702-709.

- Drewnoski, M.E., Pogge, D.J., Hansen, S.L. 2014. High-sulfur in beef cattle diets: a review. Journal of Animal Science 92: 3763-3780.

Ferrer, C.G., Ramírez, C.E, Zaccardi, E.M. 1989. Efectos de la suplementación parenteral de cobre sobre la ganancia diaria de peso en bovinos de diferentes edades. Revista Argentina de Producción Animal 9: 173-178.

- Gould, D.H. 1998. Polioencephalomacia. Journal of Animal Science 76: 309–314.

- Hamlen, H., Clark, E., Janzen, E. 1993. Polioencephalomalacia in cattle consuming water with elevated sodium sulfate levels: A herd investigation. Canadian Veterinary Journal 34: 153-158.

- Jensen, R., Griner, L.A., Adams, O.R. 1956. Polioencephalomalacia of cattle and sheep. Journal of American Veterinary Medical Association 129: 311.

- Kul, O., Karahan, S., Basalan, M., Kabakci, N. 2006. Polioencephalomalacia in cattle: a consequence of prolonged feeding barley malt sprouts. Journal of Veterinary Medicine Series A 53: 123-128.

- Leichter, J., Joslyn, M.A. 1969. Kinetics of thiamin cleavage by sulphite. Biochemical Journal 113: 611-615.

- Loneragan, G.H., Wagner, J.J., Gould, D.H., Garry, FB, Thoren, M.A. 2001. Effects of water sulfate concentration on performance, water intake, and carcass characteristics of feedlot steers. Journal of Animal Science 79: 2941-2948.

- Loneragan, G.H., Gould, D., Wagner J., Garry, F., Thoren, M. 2005. The magnitude and patterns of ruminal hydrogen sulfide production, blood thiamine concentration, and mean pulmonary arterial pressure in feedlot steers consuming water of different sulfate concentrations. Bovine Practitioner 39:16–22.

- Lutnicki, K., Madej, E., Riha, T., Kurek, Ł. 2014. Polioencephalomalacia in ruminants caused by excessive amount of sulphur. A review. Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy 58: 321-326.

- Markson, L.M., Wells, G.A. 1982. Evaluation of autofluorescence as an aid to diagnosis of cerebrocortical necrosis. The Veterinary Record 111: 338-340.

- Mason, J. 1978. The relationship between copper, molybdenum and sulfur in ruminant

and non-ruminant animals. A review. Veterinary Science Communications 2: 85-94.
- Meyer, P. 1989. Thiaminase activities and thiamine content of Pteridium aquilinum, Equisetum ramosissimum, Malva parviflora, Pennisetum clandestinum and Medicago sativa. Onderstepoort Journal of Veterinary Research 56: 145-146.
- Minatel, L., Buffarini, M.A., Scarlata, E.F., Dallorso, M. E., Carfagnini, J.C. 2004. Niveles de cobre, hierro, zinc y selenio de bovinos del noroeste de la Provincia de Buenos Aires. Revista Argentina de Producción Animal 24: 225-235.
- Morine, S. J., Drewnoski, M. E., Hansen, S. L. 2014. Increasing dietary neutral detergent fiber concentration decreases ruminal hydrogen sulfide concentrations in steers fed high-sulfur diets based on ethanol coproducts. Journal of Animal Science 92: 3035-3041.
- O'Dell, B. L. 1997. The concept of trace element antagonism: the Cu-Mo-S triangle (Dick, 1952-1954). Journal of Nutrition 127 (Suppl): 1045S-1047S.
- Pechin, G.H., Cseh., S., Corbellini, C.N., Idiart, J.L., Moralejo, R., Visconti, M., Drake, M., Yarrar, M. 1995. Estudio de las deficiencias minerales en bovinos de carne en el departamento Maracó, provincia de La Pampa, Argentina. Revista Argentina de Producción Animal 15: 492-494.
- Pechin, G.H., Idiart, J.L., Cseh, S., Corbellini, C.N., Moralejo, R.H., Cesán, R.O., Sánchez, L.O. 1999a. Respuesta a la suplementación con cobre inyectable en distintos rangos de deficiencia en bovinos para carne. Revista Argentina de Producción Animal 19: 347-358.
- Pechin, G.H., Idiart, J.L., Cseh, S.B., Corbellini, C.N., Moralejo, R.H. 1999b. Evaluación de dos vías de administración de cobre (oral y parenteral) en bovinos de carne. Veterinaria Argentina Vol. XVI, N° 159: 651-657.
- Pechin, G.H., Sánchez, L.O., Cseh, S. 2006. Evaluación de dos formas de administración (bolos de liberación lenta vs. EDTA Cu inyectable) en la prevención de la deficiencia de cobre en bovinos para carne. Ciencia Veterinaria 8: 5-15.
- Picco, S.J., Abba, M.C., Mattioli, G.A., Fazzio, L.E., Rosa, D., De Luca, J.C., Dulout, F.N. 2004. Association between copper deficiency and DNA damage in cattle.

Mutagenesis 19: 453-456.
- Ramírez, C.E., Mattioli, G.A., Tittarelli, C.M., Giuliodori, M.J., Yano, H. 1998. Cattle hypocuprosis in Argentina associated with periodically flooded soils. Livestock Production Science 55: 47-52.
- Ramos, J.J., Ferrer, L.M., García, L., Fernández, A., Loste, A. 2005. Polioencephalomalacia in adult sheep grazing pastures with prostrate pigweed. The Canadian Veterinary Journal, 46: 59-61.
- Rennenberg, H. 1984. The fate of excess sulfur in higher plants. Annual Reviews Plant Physiology 35: 121-53.
- Roberto, Z., Tullio, J., Malán J. 2008. Cartografía de agua subterránea para uso ganadero en La Pampa. Publicación Técnica Nº 73, 11/2008, Ediciones INTA.
- Rodríguez, J.C.S.J. 2008. Aguas mineromedicinales argentinas. Anales de Hidrología Médica 4: 13-34.
- Rosa, D.E. Mattioli, G.A. 2002. Metabolismo y deficiencia de cobre en bovinos. Analecta Veterinaria 22: 7-16.
- Russell, J. B. 2002. Rumen microbiology and its role in ruminant nutrition. Cornell University.
- Sager, R. L. 2000. Agua de bebida de bovinos. Reedición de la Serie Técnica Nº 126. INTA EEA San Luis.
- Sarturi, J.O., Erickson, G.E., Klopfenstein, T.J., Rolfe, K.M., Buckner, C.D., Luebbe, M.K. 2013. Impact of source of sulfur on ruminal hydrogen sulfide and logic for the ruminal available sulfur for reduction concept. Journal of Animal Science 91: 3352-3359.
- Smart, M. E. 1984. A study of factors influencing plasma and liver copper and zinc concentrations in beef cattle. Ph.D. thesis. University of Saskatchewan, Saskatoon, Sask.
- Smart, M.E., Cohen, R., Christensen, D.A., Williams, C.M. 1986. The effects of sulphates removal from the drinking water on the plasma and liver copper and zinc concentration of beef cows and their calves. Canadian Journal of Animal Science 66:

669-680.
- Stritzler N.P., Saluzzi L. 1983. Efecto del nivel de sulfatos en el agua de bebida sobre novillos en crecimiento. Producción Animal (Bs. As.) 10: 163-170.
- Suttle, N.F. 1974. Effects of organic and inorganic sulphur on the availability of dietary copper to sheep. British Journal of Nutrition 32: 559-568.
- Suttle, N.F. 1991. The interactions between copper, molybdenum, and sulphur in ruminant nutrition. Annual Reviews of Nutrition 11: 121-140.
- Suttle, N.F. 2010. Mineral nutrition of livestock. Fourth Edition. CAB International.
- Testa, J.A. 2015. Caracterización de las consecuencias inmunológicas de la hipocuprosis en terneros de cría. Tesis de Doctorado. 2015, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/47701/Documento_completo.pdf?sequence=3
- Tallaksen, C.M.E., Bell, H., Bøhmer, T. 1992. The concentration of thiamin and thiamin phosphate esters in patients with alcoholic liver cirrhosis. Alcohol and Alcoholism 27: 523-530.
- Underwood, E.J, Suttle, N.F. 1999. The Mineral Nutrition of Livestock. CABI Publishing. London. UK.
- Vanness, S.J., Klopfenstein, T.J., Erickson, G.E., Karges, K.K. 2009. Sulfur in distiller grains. Nebraska Beef Report, University of Nebraska-Lincoln, MP 92: 79-80.
- Weeth, H.J., Capps, D.L. 1972. Tolerance of growing cattle for sulfate-water. Journal of Animal Science 34: 256-260.
- Yamasaki, H., Cohen, MF. 2016. Biological consilience of hydrogen sulfide and nitric oxide in plants: Gases of primordial earth linking plant, microbial and animal physiologies. Nitric Oxide 55-56: 91-100.

Anexos: material fotográfico e informes de laboratorio

Foto 1. Cabeza de ternero con signos clínicos de PEM.

Foto 2. Apertura de cráneo.

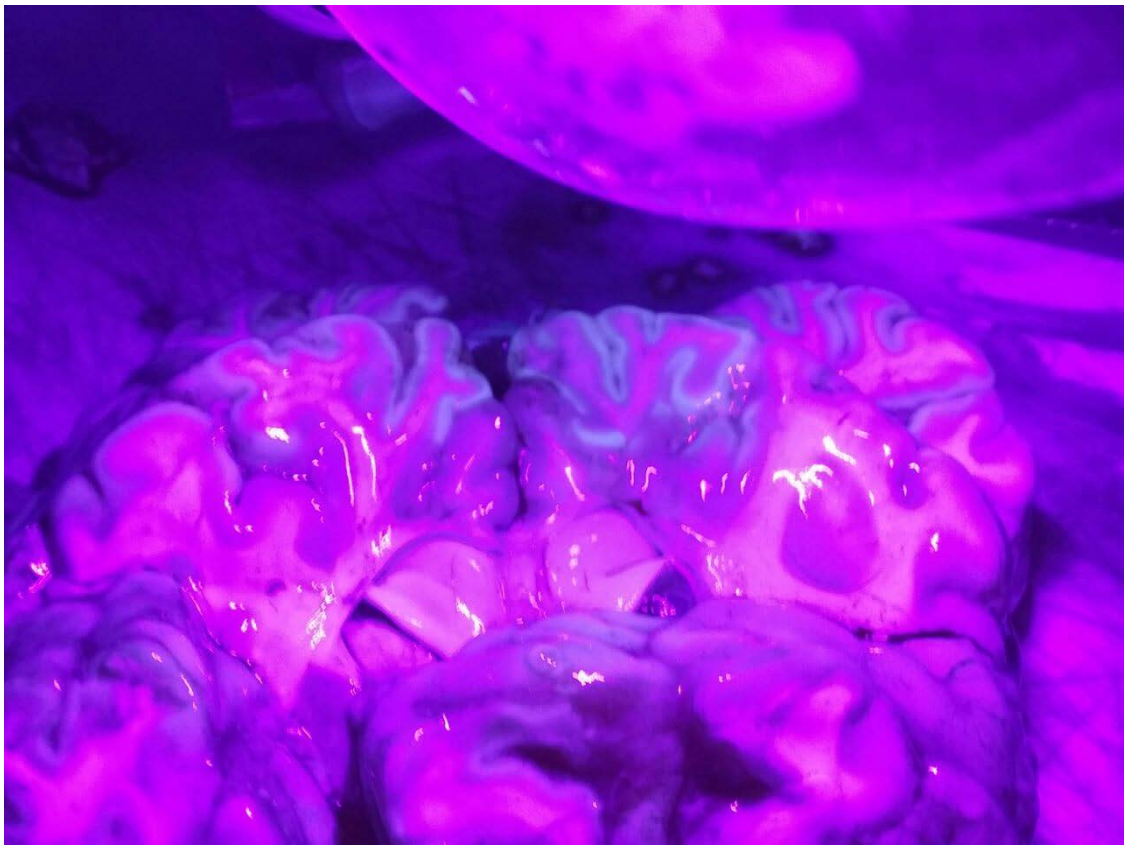
Foto 3. Encéfalo extraído del cráneo.

Foto 4. Encéfalo extraído del cráneo, otra vista.

Foto 5. Cortes transversales del encéfalo.

Foto 6. Áreas de reblandecimiento y coloración amarillenta.

Foto 7. Luminiscencia de áreas de necrosis cortical del encéfalo bajo la luz ultravioleta.



Informe 1. Resultados del análisis Físico-Químico de agua de bebida 1.

Consulta por protocolo

Centro de Acopiadores de Cereales del NO Bonaerense

M. Moreno Nº 424 - General Villegas
Telefóno 03388-420673 Fax 03388-421281

Análisis Físico - Químico de Agua

Protocolo 4

Denominación de la muestra LOTE 13
Análisis solicitado por LA ELOISA
Muestra Recolectada por LA ELOISA
Fecha de Recolección **Fecha de Recepción** 09/02/2011 **Conservada**
Método de Conservación
Dirección
Partido **Localidad** BANDERALO

Determinación	Resultados	Unidades
Olor	---	
pH	8.84	UpH
Turbiedad	---	UTN
Conductividad Eléctrica	11.23	ms/cm
Sólidos Disueltos Totales	7 260	mg/l
Alcalinidad Total	440	mg/l
Alcalinidad fenolftaleina	110	mg/l
Dureza Total (CaC03)	932	mg/l
Calcio (CaCO3)	107	mg/l
Magnesio	200	mg/l
Hidróxido	---	mg/l
Índice de Saturación	---	mg/l
Sodio	2 200	mg/l
Potasio	4	mg/l
Cloruros	2 552	mg/l
Sulfatos	1 796	mg/l
Fluoruro	3.5	mg/l
Nitrato	2.0	mg/l
Nitritos	---	mg/l
Amonio	---	mg/l
Arsénico	0.10	mg/l
Hierro Total	---	mg/l
Observaciones	VE ANEXO ADJUNTO	

General VillegasLunes, 14 de Febrero de 2011

Firma

Muestra en consulta provista por el productor.
Cualquier enmienda o raspadura invalida este certificado.

Informe 2. Resultados del análisis Físico-Químico de agua de bebida 2.

Consulta por protocolo Page 1 of 1

Centro de Acopiadores de Cereales del NO Bonaerense

M. Moreno Nº 424 - General Villegas
Telefóno 03388-420673 Fax 03388-421281

Análisis Físico - Químico de Agua

Protocolo 3

Denominación de la muestra LOTE 12
Análisis solicitado por LA ELOISA
Muestra Recolectada por LA ELOISA
Fecha de Recolección **Fecha de Recepción** 09/02/2011 **Conservada**
Método de Conservación
Dirección
Partido **Localidad** BANDERALO

Determinación	Resultados	Unidades
Olor	---	
pH	7.93	UpH
Turbiedad	---	UTN
Conductividad Eléctrica	22.32	ms/cm
Sólidos Disueltos Totales	14 160	mg/l
Alcalinidad Total	290	mg/l
Alcalinidad fenolftaleina	20	mg/l
Dureza Total (CaC03)	2 266	mg/l
Calcio (CaCO3)	612	mg/l
Magnesio	400	mg/l
Hidróxido	---	mg/l
Índice de Saturación	---	mg/l
Sodio	4 500	mg/l
Potasio	60	mg/l
Cloruros	5 003	mg/l
Sulfatos	4 461	mg/l
Fluoruro	2.5	mg/l
Nitrato	0	mg/l
Nitritos	---	mg/l
Amonio	---	mg/l
Arsénico	0.05	mg/l
Hierro Total	---	mg/l
Observaciones	VER ANEXO ADJUNTO	

General Villegas Lunes, 14 de Febrero de 2011

Firma

Muestra en consulta provista por el productor.
Cualquier enmienda o raspadura invalida este certificado.

file://C:\Documents and Settings\User\Configuración local\Archivos temp... 14/02/2011

Informe 3. Resultados del análisis Físico-Químico de agua de bebida 3.

Consulta por protocolo

Page 1 of 1

Centro de Acopiadores de Cereales del NO Bonaerense

M. Moreno Nº 424 - General Villegas
Telefóno 03388-420673 Fax 03388-421281

Análisis Físico - Químico de Agua

Protocolo 5

Denominación de la muestra FEEDLOT
Análisis solicitado por LA ELOISA
Muestra Recolectada por LA ELOISA
Fecha de Recolección **Fecha de Recepción** 09/02/2011 **Conservada**
Método de Conservación
Dirección
Partido **Localidad** BANDERALO

Determinación	Resultados	Unidades
Olor	---	
pH	8.76	UpH
Turbiedad	---	UTN
Conductividad Eléctrica	6.48	ms/cm
Sólidos Disueltos Totales	3 770	mg/l
Alcalinidad Total	800	mg/l
Alcalinidad fenolftaleina	110	mg/l
Dureza Total (CaC03)	288	mg/l
Calcio (CaCO3)	57	mg/l
Magnesio	56	mg/l
Hidróxido	---	mg/l
Índice de Saturación	---	mg/l
Sodio	1 180	mg/l
Potasio	9	mg/l
Cloruros	1 021	mg/l
Sulfatos	704	mg/l
Fluoruro	5.0	mg/l
Nitrato	3.0	mg/l
Nitritos	---	mg/l
Amonio	---	mg/l
Arsénico	0.20	mg/l
Hierro Total	---	mg/l
Observaciones	VER ANEXO ADJUNTO	

General VillegasLunes, 14 de Febrero de 2011

Firma

Muestra en consulta provista por el productor.
Cualquier enmienda o raspadura invalida este certificado.

file://C:\Documents and Settings\User\Configuración local\Archivos temp... 14/02/2011