

82
2Ej.



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Medicina Veterinaria
y Zootecnia

Intoxicación por Nitritos y Nitratos en
Bovinos. Estudio Recapitulativo.

T E S I S

Que para obtener el Título de
Médico Veterinario Zootecnista

P R E S E N T A :

Pedro Fernando González Ocampo

Siendo Asesorado por los M. V. Z.

Alejandro Parra Carretero

René Rosiles Martínez

México, D. F.

1987



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN. -----	1
INTRODUCCION. -----	3
FACTORES QUE AUMENTAN EL METABOLISMO DEL NITRATO EN LAS PLANTAS. -----	5
PLANTAS FORRAJERAS Y PRODUCTOS QUIMICOS NOTIFICA DOS EN LA LITERATURA COMO CAUSANTE DE LA INTOXI CACION. -----	11
DOSIS TOXICAS INFORMADAS POR LOS AUTORES.-----	13
LOS EFECTOS EN EL ORGANISMO EN GENERAL. -----	18
LAS ALTERACIONES PATOLOGICAS CAUSADAS DURANTE LA INTOXICACION. -----	37
LOS METODOS PROPEDEUTICOS PARA EL DIAGNOSTICO DE LA INTOXICACION. -----	39
TRATAMIENTO. -----	52
PREVENCION DE LA INTOXICACION.-----	54
DISCUSION. -----	57
BIBLIOGRAFIA.-----	99

INTOXICACION POR NITRITOS Y NITRATOS
EN BOVINOS. ESTUDIO RECAPITULATIVO

R E S U M E N

GONZALEZ OCAMPO PEDRO FERNANDO. Intoxicación por nitritos y nitratos. Estudio recapitulativo (bajo la dirección de: Alejandro Parra Carretero y René Rosiles Martínez).

La presencia de nitratos y nitritos en el alimento o agua utilizados para la alimentación del ganado es causa común de intoxicaciones, las cuales provocan pérdidas en los hatos ganaderos. La acumulación de los nitratos en el forraje para el ganado esta determinada estrechamente por la actividad fotosintética del vegetal. Al disminuir la energía de la luz se favorece la acumulación de nitrato en las plantas.

El nitrato presente en los campos en forma de fertilizante es arrastrado durante las lluvias hacia los depósitos donde abreva el ganado provocando intoxicaciones. Este se puede acumular en cualquier tipo de planta se ha notificado al quelite, pasto sudán y al sorgo como vegetales en donde es más común la acumulación de este ión. Las intoxicaciones pueden ser provocadas por un fertilizante aplicado con descuido.

Las dosis tóxicas capaces de provocar intoxicaciones en los animales varían de acuerdo a las condiciones de alimentación de los mismos, período en que son ingeridos los alimentos y tipo de manejo a que son sometidos los animales. Estas dosis van desde el 0.5% de nitrato hasta el 5% del total de la ración. El diagnóstico de la intoxicación se basa en los signos clínicos y en las pruebas de laboratorio. Durante estas pruebas se utilizan reactivos como la difenilamina, en las que un resultado positivo se obtiene si al mezclar la muestra proble

ma con el reactivo se observa un color azul. Para resultados -
en los que se requiere mayor exactitud podemos utilizar la - -
prueba de diazotización. Para el tratamiento se ha sugerido la
utilización inmediata del azul de metileno por vfa intraveno--
sa, junto con terapia adicional administrando oralmente anti--
bióticos, aceite mineral e hidróxido de magnesio, así como he-
matopoyéticos y estimulantes cardiacos.

I N T R O D U C C I O N

La intoxicación por nitratos y nitritos es un problema, -
ya que en los últimos años el creciente uso de la fertiliza- -
ción nitrogenada, y otras prácticas agrícolas, tendientes a --
elevar el rendimiento de los cultivos, han provocado un incre-
mento en el contenido proteico de estos forrajes. (22) También
un aumento en la proporción relativa de fracciones de nitroge-
no no proteico, incluyendo los nitratos, los cuales provocan -
reacciones indeseables en los animales. (41) Por lo que las in-
toxicaciones en el ganado, producto del consumo de nitratos --
han generado pérdidas en la ganadería, provocadas por la muer-
te de animales o abortos. Hay evidencias acumuladas durante --
las investigaciones en este campo, en contra de la hipótesis, -
que nos dice que los abortos son producto directo de los nitra-
tos, mientras que otros trabajos consideran cierta, dicha hipó-
tesis. (58)

Todas estas observaciones han sido realizadas en zonas --
geográficas distantes entre sí, así como en ganado, con dife-
rencias en su estado nutricional y tipo de manejo a que ha si-
do sometido, por lo que estos factores intervienen en las dife-
rentes opiniones de los autores. (58) Los primeros investigado-
res en demostrar la intoxicación por nitratos fueron Haldaney_
y col. en el año de 1847, al inyectar nitrito de sodio a rato-
nes. Estos trabajos concluyeron el papel de los nitratos en la
formación de metahemoglobina. (M H B) (3)

Newson al investigar en 1937, una intoxicación en el gana-
do que era alimentado con heno de avena, encontro niveles ele-

vados de Mhb en estos animales. (20)

Bradley y colaboradores investigando en 1940, en el estado norteamericano de Wyoming; Analizaron muestras de forraje - con los que se habfa alimentado animales que presentaron problemas. Los resultados de estos análisis indicaron la presencia de nitrato de potásio, en un porcentaje de 2.2% ha 7.3% -- del total de la muestra, por lo que estos investigadores consideran al nitrato como causante de dichos problemas. (21)

FACTORES QUE AUMENTAN EL METABOLISMO DEL NITRATO EN LAS PLANTAS.

Las bacterias nitrificantes del suelo convierten el nitrógeno de cualquier origen a nitrato. La amoníaco y la urea al ser aplicadas como fertilizantes, pueden llegar a las raíces de los vegetales sin ningún cambio; Sin embargo, una gran parte es convertida a nitrato por estas bacterias. (43) Después, son absorbidas por las raíces ayudadas por una buena oxigenación de la tierra y por la presencia de abundante materia orgánica, formando así un sustrato aerado y desmoronado. (8)

Se ha visto que dicha absorción, tiene una fase inicial de difusión pasiva del suelo al espacio libre de la raíz, que abarca las paredes celulares, y meatos del parénquima, el proceso es reversible y no selectivo. El otro proceso es activo por requerir de energía, selectivo y en contra de gradientes de concentración existentes.

De cualquiera de las dos formas, los iones pueden llegar desde la solución edáfica hasta la endodermis; El suministro de iones al metabolismo celular debe efectuarse por trabajo osmótico, o trabajo de concentración, siendo necesaria la energía en forma de ATP, probablemente mediante fosforilación oxidativa.

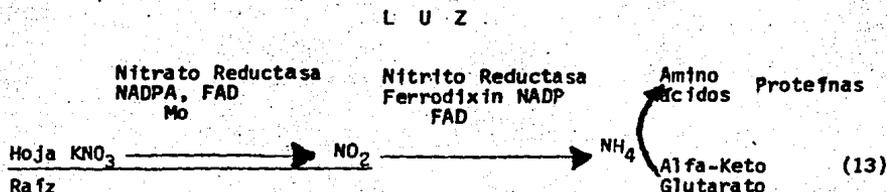
Una vez que los iones llegan a la raíz son transportados a los lugares más lejanos, como tallo y hojas, por medio de dos procesos: 1) El transporte de célula a célula es, el llamado "sinplasto" llegando los iones, a las células que limitan el xilema, y que excretan los iones a los vasos. El mecanismo

exacto se desconoce. II) Migración de los iones, en los espacios llenos de agua dentro de las paredes celulares, o sea en el espacio de difusión libre hasta el xilema, este proceso pasivo es importante, probablemente sólo en aquellas plantas, cuyas células endodérmicas son permeables con relativa facilidad.

Debido a la corriente transpiratoria o deglutación en el xilema, los iones llegan luego, a los órganos vegetales epigeos, donde entran al citoplasma y algunos son incluidos directamente al metabolismo como es el caso de iones fosfato (PO_4). Mientras que otros como los iones nitrato (NO_3) y sulfato (SO_3) deben de ser primeramente reducidos para su utilización. (8)

El ión nitrato (NO_3) es pues la forma más importante en que las raíces de la planta absorben el nitrógeno del suelo (22), para posteriormente incorporarlo a compuestos nitrogenados orgánicos, o almacenar el exceso en forma de glutamina o aspargina. (43)

La incorporación del ión nitrato depende estrechamente de la actividad fotosintética del vegetal (13), como lo sugiere el siguiente esquema:



La enzima se encuentra distribuida por toda la planta pero es más abundante en los tejidos de la hoja.

Esta enzima es dependiente de la energía de la luz, por lo tanto cualquier cambio adverso en el medio ambiente resultará en una reducción de la fotosíntesis y una inhibición de la actividad de la reductasa.

La fotosíntesis es un proceso que se llevará a cabo, a su máximo, cuando cantidades adecuadas de todos los nutrientes necesarios estén presentes. La acumulación es posible durante la inhibición de la enzima reductasa, porque algunas plantas (Sorgo principalmente) tienen habilidad innata de absorber los nutrientes cuando la tierra está húmeda.

La acumulación de nitratos es mayor en las raíces, siéndole sucesivamente tallo, hojas y al final las flores y semillas. (13)

Entre los factores ambientales que aumentan la cantidad de nitratos en los forrajes, están principalmente los cambios en las condiciones atmosféricas, como son:

- Veranos con precipitación pluvial alta (51), ya que la humedad del medio ambiente favorece a las bacterias reductoras de nitrato en nitrito, y por consiguiente el aumento de este ión en los forrajes. (2)

- Plantas que han crecido durante una sequía. (24)

- Forrajes que han sufrido heladas. (2)

- Vegetales que han sufrido daños por plagas de insectos. (43)

- Cualquier condición desfavorable a la intensidad de la luz y al crecimiento del follaje como días nublados y noche. (2, 26, 29, 42)

Como anteriormente se mencionó los días con una baja intensidad de luz solar provocan una inhibición en la enzima nitrato reductasa, la cuál tiene como función en el metabolismo de las plantas la reducción de nitrato en amonía. Esta misma será posteriormente utilizada en la formación de aminoácidos para el crecimiento de las plantas. (26)

Esta enzima además de estar regulada por la luz, también lo está por la herencia genética de la especie vegetal de que se trate, la cantidad de sustrato (nitrato) y la presencia del molibdeno, por ser éste un constituyente esencial de la enzima nitrato reductasa.

- Otros factores a considerar en la acumulación de nitratos en los vegetales son la presencia de nutrientes esenciales, tales como el potásio, fósforo y/o carbohidratos, ya que la deficiencia de fósforo y carbohidratos o el exceso de potásio, favorece esta acumulación. (43)

Se debe tomar en cuenta que el forraje de cualquier campo puede diferir en toxicidad de un tiempo a otro. Por ejemplo un campo peligroso por ser fuente de intoxicación, puede disminuir sus niveles elevados de nitrato para transformarse en seguro; Mientras un campo que es seguro se puede volver peligroso al aumentar sus niveles de este ión. (2) O puede suceder que forraje causante de intoxicaciones haya sido henificado; y utilizado, para pastura, sin que se presentara ningún problema, y también heno que al ser utilizado semanas antes no cause ningún problema, pero al volver a aprovecharse provoque intoxicaciones. (13)

Es importante mencionar que las concentraciones de nitrato

tos más elevadas las encontramos en plantas jóvenes.

La formación de nitratos y nitritos en los forrajes utilizados para el consumo animal puede ser en algunas ocasiones - inducida artificialmente como en los siguientes casos:

- Por un mal manejo al fertilizar con productos tales como abono a base de nitratos, amoníaco y compuestos nitrogenados. (21)
- La aplicación de herbicidas o defoliantes tales como el 2,4-D o ácido 2,4-dicloro fenoxiacético, algunas veces causa notable aumento en el porcentaje de nitratos en las plantas (51), - aunado a esto se sabe que dicho herbicida vuelve más palatable al alimento para el ganado. (2) Este aumento sucede de tres a cinco días después de la aplicación del herbicida. (29)
- Potreros en los que se utiliza pastoreo rotativo, el dejarlos descansar aumentan sus niveles de nitratos. (42)
- El manejo de los forrajes, es importante como factor en el metabolismo del nitrato dentro del rumen (2), ya que en alimentos, henificados o descompuestos, el grado de liberación de los nitratos en el rumen, es mucho más alto que en los alimentos recién cortados o digeridos durante el pastoreo. (23)
- El aditivo monensín sódico, administrado oralmente a niveles recomendados puede precipitar toxicidad con nitritos en el ganado que consume raciones ricas en nitrato. Esto se debe a que el monensín sódico favorece cambios rápidos en la flora ruminal, en favor de bacterias reductoras de nitrato en nitrito. - Por lo tanto durante la utilización del monensín sódico es recomendable tener a la mano, el tratamiento contra esta intoxicación. (45)
- El riego con aguas negras, como sucede en los campos forraje

ros, que se encuentran en la periferia del D.F. aumentan la --
concentración de nitrato en estos vegetales (hasta 0.13% de --
N03 en materia seca). (22)

PLANTAS FORRAJERAS Y PRODUCTOS QUIMICOS NOTIFICADOS EN LA LITERATURA COMO CAUSANTES DE ESTA INTOXICACION.

Los forrajes y plantas informados son los siguientes:

- 1.- Pasto Johnson (Andropogon halepensis). (10, 29)
- 2.- Liverseed grass (Urochloa panicoides). (26)
- 3.- Ryegrass (Lolium perene). (42)
- 4.- Zacate Elefante (Penisetum purpureum). (41, 48)
- 5.- Quelite (Amarantus retroflexus). (1, 7, 29, 35)
- 6.- Cardo lechal (Silybum marianum). (51)
- 7.- Nabo silvestre (Brasica spp) (2, 29)
- 8.- Pasto Sudán (Sorghum vulgare var. sudanesis) 10, 19, 33, - 51) Cuando se fertiliza, se ha notificado como causante de intoxicación por nitritos y nitratos. (7)
- 9.- Avena (Avena sativa). (24, 51)
- 10.- Cebada (Hordeum vulgare), (24, 51)
- 11.- Trigo (Triticum aestivum). (24, 51)
- 12.- Lino (Linum usitatissimum). (37)
- 13.- Remolacha azucarera (Beta vulgaris). (51)
- 14.- Mafz (Zea mays). (24)
- 15.- Sorgo (Sorghum vulgare). (24)
- 16.- Pata de ganso (Chenopodium album). (35)
- 17.- Soya (Glycine max). (37)

La acumulación de nitratos y nitritos en los forrajes antes mencionados, puede presentarse en cualquiera de sus formas, como pastura verde, heno o ensilados: Sin embargo este problema no afecta a los granos de estos vegetales. (7)

Las intoxicaciones más comunes por nitratos y nitritos, son aquellas en las que los animales se han envenenado por sales inorgánicas, donde la fuente mas usual es el fertilizante aplicado con descuido o dejado al alcance de los animales. (10) También por productos en cuya elaboración se han agregado nitritos o nitratos como en el caso de aceites lubricantes, los cuales pueden llegar a ser ingeridos accidentalmente por el ganado. (35)

Entre otros productos, se encuentra el nitrato potásico usado terapéuticamente como diurético, el cual al ser utilizado en dosis excesivas provoca la formación de MHB, la cual provoca una asfixia, lesiones graves en el parénquima renal y gastroenteritis localizada. (51)

El agua almacenada en presas, lagos y pozos, puede contener niveles peligrosos de nitrato o nitrito (24), cuando estos son arrastrados de los campos donde están presentes, por las corrientes o escurrideros durante las lluvias. (10)

Se sabe de intoxicaciones provocadas por desechos industriales de productos elaborados a partir de compuestos nitrogenados, que han sido arrojados a ríos y lagos utilizados como abrevaderos*.

* Comunicación personal, Dr. Alejandro Parra C.

DOSIS TOXICAS NOTIFICADAS POR LOS AUTORES

Para evaluar correctamente el potencial de una dosis toxica por nitritos y nitratos se deben considerar los siguientes puntos:

- a) La variabilidad en las reacciones que ocurren en el sistema digestivo de los rumiantes, bajo diferentes condiciones de alimentación (2); Tal como lo demostró Holtenius en 1957 al aumentar el concentrado de la ración; Encontrándose que el ganado soportaba niveles elevados de nitrato. (32)
- b) Cualquier fuente de intoxicación debe ser considerada ya -- que presentan un efecto de adición. (29)
- c) Considerar el período, en que han sido ingeridos los alimentos sospechosos de esta intoxicación, ya que si una gran -- cantidad de alimento con niveles elevados de nitrato es ingerido y absorbido en un período corto, la intoxicación se presenta más fácilmente que si dicho alimento es ingerido -- en un lapso más largo. (2, 29)

Crawford y col. al experimentar con 39 vacas, para comprobar la variabilidad de los niveles de MHB en diferentes lapsos de administración de los nitratos, encontraron que cuando el nitrato es diluido en agua y rociado sobre heno de avena, para totalizar un máximo de 2 a 2.5% de nitrato en este alimento, -- la MHB llegaba a sus porcentajes más elevados a las tres horas; Mientras que al alimentar otro lote de vacas también con heno de avena en los mismos porcentajes de nitrato pero dos veces -- al día, los niveles de nitrato alcanzaban su máximo a las cinco horas. (14).

d) Los niveles de nitrato disueltos en el agua, capaces de provocar una intoxicación, al compararlos con los niveles de nitrato en los forrajes reflejan mayor habilidad y rapidez de absorción. (29)

e) Dosis de nitratos normalmente toleradas por los rumiantes, pueden ser tóxicas particularmente con ganado estresado, hambriento, no adaptado a las concentraciones altas de nitrato y alimentado con raciones de baja calidad nutritiva. (26)

Las dosis tóxicas informadas por los autores, van desde 0.5% en el total de la ración como una causa potencial para el problema hasta el 5% del total de la ración. (10, 26, 42) (Ver Cuadro No. 1)

Las aguas que causan la intoxicación contienen nitratos a razón de mil a tres mil o más ppm. Sin embargo puesto que la presencia de nitratos indica contaminación orgánica, el agua que contiene cualquier cantidad de nitratos es indeseable, aún dentro de los límites de sanidad química. (51) Egyed y col. -- mencionan que el límite máximo de nitratos es de 1.32 g/litro de agua ya que estos investigadores encontraron una intoxicación aguda en la que había animales muertos después de la ingestión de agua conteniendo 3g/litro. (18)

DOSIS TOXICAS DE NITRATOS (NO₃) EN EL BOVINO INFORMADAS
POR DIFERENTES AUTORES

Dosis tóxicas en mg/kg de peso	Compuesto estudiado	Dosis equivalente a NO ₃	Referencia
80 - 100	NO ₃	80 - 100	Blood y Henderson (1969)
330 ^{a, b}	NO ₃	300	Davison (1964)
441	NO ₃	441	Hillman y Col. (1973)
660	KNO ₃		Blood y Henderson (1964)
500 - 1000 ^a	KNO ₃		Simon y Col. (1959)
650 - 750	NaNO ₃		Garner (1970)
992 ^{a, c}	KNO ₃		Simon (1959)
1000 ^{a, c}	NO ₃	1000	Crawford (1966)
El % de la ración en materia seca (MS)			
0.4	NO ₃		Newman (1977)
2.0	NO ₃		Hillman y Col. (1973)
2.0 - 3.0	NO ₃	2.0 - 3.0	Davison (1964)

^a Dosis total 50%

^b Suministrado por vfa intravenosa

^c Suministrado mezclado en el alimento

Experimentalmente se ha inducido la intoxicación, pero los resultados difieren entre los autores ya que algunos investigadores mencionan que las vacas sanas toleran hasta el 0.8% de nitratos del total de la ración en materia seca, sin pastoreo o el 1% del nitrato del total de la ración en pastoreo. -- (23) Otros trabajos mencionan que con el 4.2% del nitrato del total de la ración en materia seca no hay efecto, e incluso este porcentaje está lejos del que se asocia con infertilidad, abortos y baja en la producción. (2) Sólo cuando el nitrito es administrado directamente a la sangre los resultados obtenidos durante la formación de MHB son relativamente uniformes. (57)

En un experimento realizado por Malestein y col., se administró a vacas gestantes de 9 a 12 mg de NO_2 (Nitritos) por kilogramo de peso vfa oral, provocando una conversión del 30% al 48% de la hemoglobina de la sangre materna, en MHB, mientras el máximo de MHB se presentó una hora y media después de la dosis inicial de nitrito intravenoso, persistiendo durante 4 horas. Con la administración oral de nitrito los máximos valores de MHB fueron encontrados tres horas después de la administración del nitrito. (38)

En otra exposición a los nitratos realizada por Gaytán y col. en la Cuenca Lechera de Tizayuca, Hgo., se administró nitrato a vacas de 3 a 6 meses de gestación por vfa oral forzada, durante cinco ocasiones con intervalo de tres días, empezando con 100 mg/kg, en el segundo grupo hasta 600 mg/kg, donde la formación de MHB apareció sólo después de la cuarta administración en uno de los lotes expuestos y su valor en relación con los otros fue estadísticamente diferente $P > 0.001$. Los resulta-

dos negativos en el presente experimento indican que las dosis de nitratos consideradas por otros autores como tóxicas en este caso no indujeron enfermedad alguna.

Se supone que la adaptación gradual de los animales a los nitratos y consecuentemente a los efectos nocivos producidos por los nitratos en otros experimentos como en el anterior no se observaron en este caso. (22)

Malestein y Col. utilizaron nitrito, mientras Gaytán y -- col. administraron nitratos. Siendo oportuno establecer que el nitrito es de 10 á 15 veces más tóxico que el nitrato (2, 10)

EFFECTOS EN EL ORGANISMO EN GENERAL.

El nitrato químicamente proviene del ácido nítrico HNO_3 - y se comporta muy a menudo como una unidad química; Se le encuentra en sales como NaNO_3 , $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ entre otras, - todas llamadas nitratos. (12) Estas sales como anteriormente - se mencionó son absorbidas por las plantas e intervienen después de ser reducidas en amoníaco para la formación de amino - ácidos durante el crecimiento de las plantas.

Dentro del rumen, los nitratos son convertidos en amoníaco, mismo que sirve de nutriente a los rumiantes. (22) La reducción se lleva a cabo mediante la acción de los microorganismos ruminales e incluso bacterias como la E. coli, las cuales al ser introducidas al rumen de becerros mostraron un aumento en los niveles de MHB. (39)

El producto intermediario en este fenómeno es el nitrito (27), como esta expresado en el siguiente esquema:



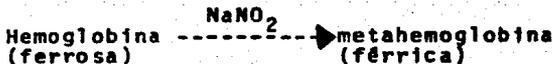
El Ph óptimo para que se produzca dicho fenómeno es de - 6.5 (27) Kaspar y col. mencionan que el óxido nítrico también es un producto de esta reacción, pero no es significativo ya que es en muy pequeña cantidad. (3) Concentraciones altas de nitrato dentro de un silo, provocan una fermentación e intoxicaciones en los humanos cuando se abre el silo. (37)

Es necesario considerar que el nitrato NO_3 es relativamente no tóxico; El peligro que entraña es cuando se reduce a ni-

trito, el cuál sí es tóxico. (2) El fenómeno depende de la -- adaptación de la microflora ruminal al nitrito y de la concentración de energía disponible para realizar el proceso. (22) - La reducción ruminal de nitrato es un paso para la formación - de amoníaco, como lo sugiere el esquema anterior, y es similar - a lo que se describe en plantas verdes pero la diferencia, es_ que el carbohidrato ruminal sirve como sustrato para la formación microbiana de proteína y no se requiere de luz para la -- reacción. Desafortunadamente si el rango de reducción de nitrato en amoníaco e incorporación a las proteínas no coincide con - la reducción de nitrato, la concentración de nitritos dentro - del rumen excederá a ciertos niveles, presentándose signos de toxicidad (13), ya que el nitrito es fácilmente absorbido por_ la pared del rumen. (38)

La absorción de nitrito por el rumen afecta la cantidad - de O_2 que llega a los tejidos en las siguientes formas:

a) La hemoglobina es transformada a metahemoglobina, la cuál - es incapaz de transportar el oxígeno, porque el nitrito una vez en la circulación interactúa con el hierro de la hemoglobina, oxidándole de su forma ferrosa a férrica y dando como resultado la MHb; La cuál es una forma modificada de oxihemoglobina en la que encontramos un hem oxidado que contiene hierro férrico combinado con globina normal. En ésta, el oxígeno_ está tan firmemente fijado que no puede ser extraído y por lo_ tanto no interviene en la respiración. (17)



(54)

Se ha pensado que el fenómeno antes explicado sucede en los rumiantes, porque el nitrito es un ión intermediario en la transformación de nitrato en amonía dentro del rumen. Sin embargo, Smith y col. mencionan que la sensibilidad de los rumiantes a la MHb es en parte debida a la inherente capacidad de la sangre de los rumiantes a oxidar su hemoglobina en presencia de nitritos, al compararla con los monogástricos. (52) - (Ver figura No. 1)

Es necesario considerar el hecho de que en el ganado encontramos pequeñas cantidades de MHb considerándose como normales. (51) Este fenómeno es apoyado por el hecho de que el ganado consume forrajes en los que el nitrato se ha acumulado y no necesariamente deben sufrir una intoxicación. Los rumiantes pueden tolerar una cierta concentración de amonía en los alimentos. (22) Se menciona que en circunstancias normales la MHb se encuentra en un 5% del total de la hemoglobina con pequeñas diferencias entre la sangre arterial y venosa. (38)

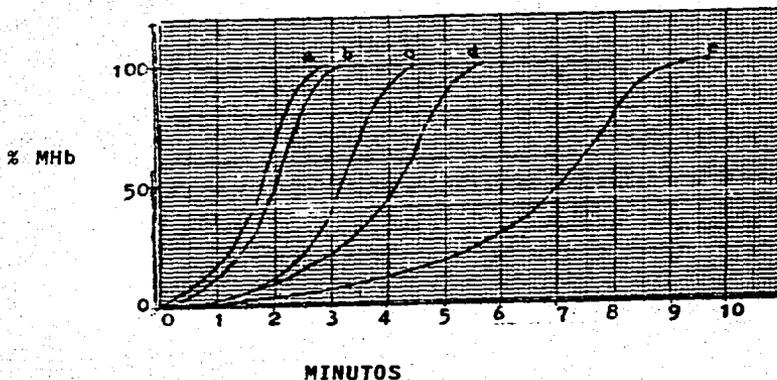
Otro autor menciona el 2% de MHb como normal (54).

Si el porcentaje de hemoglobina que ha sido convertida en MHb es del 25%, hay poca o no hay evidencia de toxicidad. Pero la muerte sobrevendrá cuando la hemoglobina haya sido reducida al 30 ó 40%, o encontremos un porcentaje del 60 al 70% de MHb. Los animales que han muerto por intoxicación con nitratos puede que tengan 20% o menos de hemoglobina normal. (2, 29) Los máximos niveles de MHb los encontramos 4 horas después de haber ingerido los nitratos. (30)

Si el animal solo ha ingerido suficientes nitratos para -

(Fig. No. 1)

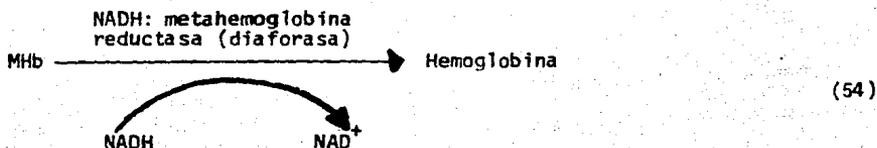
TIEMPO DE FORMACION DE METAHEMOGLOBINA



- a. borrego y chivo
- b. vaca
- c. humano
- d. caballo
- e. cerdo

Grado de formación de Mhb a partir de hemoglobina purificada - parcialmente de varias especies animales. El tiempo cero es cuando se agregó .073 mg de nitrito de sodio a 2.5 ml de hemoglobina.

formar el 40 ó 50% de Mhb, puede ocurrir una recuperación espontánea debido a las células rojas dependientes de la enzima reductasa NADPH. La cual reduce lentamente la Mhb en hemoglobina (7), como se muestra en el siguiente esquema.



Hay varios factores envueltos en el mantenimiento del estado ferroso de la hemoglobina, y de estos factores el más importante es la enzima NADH, o metahemoglobina reductasa (diaforasa). Algunos animales son más sensibles a la Mhb por sus características genéticas, ya que contienen menores cantidades de NADH en sus eritrocitos; Esto explica la mayor resistencia de los borregos a la Mhb que la de los bovinos. (54) Aunque la habilidad que tienen estos animales a reducir la Mhb en hemoglobina, es contrarrestada también por una mayor habilidad de oxidación de hemoglobina en Mhb, lo cual es un factor desfavorable e inherente a los eritrocitos de los rumiantes. (52)

Harris y col. informaron que durante una intoxicación en Australia los animales se recuperaron entre una y doce horas después de presentar los primeros signos, pero la recuperación completa la observaron a los catorce días, durante los cuales el ganado presentó signos de depresión, inapetencia, retracción del globo ocular, y aborto en algunos animales. (25)

- b) El nitrito tiene un efecto vasodilatador que provoca disminución en la presión sanguínea especialmente en los pequeños vasos. (7) Aunque este ión tiene un efecto de relajación en la musculatura lisa de estos vasos, este hecho no es importante en la aparición de signos clínicos ni de la muerte, pues al administrar norepinefrina como terapia, no se observa respuesta favorable aún cuando se aumente la presión sanguínea ya que no se prolonga la vida del animal. --
- (13)

ANOXIA (38)

Es la insuficiencia de oxígeno en los tejidos del organismo (17), siendo la causa inicial que provoca los signos clínicos que culminan en muerte por falla circulatoria, ocurriendo esto de una a 4 horas después de la intoxicación aguda. (2)

HIPOXIA (38)

Es la baja en la tensión o presión de oxígeno. (17) Males tein y col. administraron nitrito a vacas gestantes a una dosis de 9 a 12 mg de nitrito por kg por vía intravenosa, encontrando que la presión de O_2 en las muestras de los diferentes vasos era más baja, que sin la aplicación de nitrito; esto es causado por las altas concentraciones de Mhb. En la presión de O_2 arterial se encontró un decremento, conforme se alcanzaban los más altos porcentajes de Mhb. Esto indica que la cantidad de oxígeno que es transportada es menor en comparación con la sangre normal; Puede suceder que cuando los porcentajes de Mhb se encuentren altos este fenómeno aún continúe y la presión de O_2 de la sangre en los tejidos maternos continuará decreciendo por la menor cantidad de hemoglobina remanente, pero también por la menor presión de oxígeno. (38)

DISNEA (4, 48)

Durante este signo clínico los animales se observan boqueando y en actitud de aprensión. (2) La frecuencia respiratoria se incrementa después del tratamiento intravenoso con nitritos, alcanzando su máxima hora y media después de la administración del tóxico. (38) El ejercicio físico puede acentuar los signos clínicos en general y muchas veces resulta en una -

marcada disnea y/o colapso. (27) Los animales que sobreviven a episodios de severa disnea resultan con enfisema intersticial, y requieren de una a tres semanas para su total recuperación. (2)

LA FRECUENCIA CARDIACA Y EL PULSO AUMENTAN. (2, 51)

Durante la intoxicación aguda con nitratos y nitritos. La frecuencia cardíaca se incrementa una hora después de la ingestión del tóxico. (38) Se presenta un decremento en la presión sistólica así como en la presión diastólica. El pulso es extremadamente rápido (150/min o más). (51)

LA PRESION SANGUINEA DISMINUYE. (3)

Se administraron 20, 25 y 30 mg/.5kg de nitratos por vía intravenosa, a seis becerros para medir la presión sanguínea, observando una inmediata pero moderada caída de la presión sanguínea en la aorta. Esta caída en la presión promediaba 31 mm, de la columna de mercurio, donde el punto más bajo se registró 3 a 5 min después de la administración del nitrato. Esta presión se mantenía ligeramente arriba del punto donde la presión sanguínea se registró más baja, pero no alcanzaba a la presión normal del animal. En todos los casos sólo se registraron caídas drásticas de la presión sanguínea hasta algunos minutos antes de la muerte. (3)

La caída de la presión sanguínea, registrada en estas becerros, no es suficiente evidencia para concluir que la vasodilatación provocada por los iones de nitrato es capaz de producir los signos clínicos y la muerte. Probablemente la vasodilatación influye en la disminución de la presión sanguínea, pero

es compensada al aumentar la frecuencia cardíaca, para estabilizar esta presión a niveles que permitan la circulación. (3)

Poco después de ingerir los nitratos las mucosas están -- cianóticas (43), y la piel no pigmentada se puede observar -- café (4), debido a la hemoglobina circulante en los vasos superficiales. (46)

Durante una intoxicación accidental con fertilizante a base de nitrato amónico en un hato de becerros, Egyed y col. observaron en el examen clínico de estos animales un color café en la conjuntiva. (18)

LA SANGRE DE COLOR CAFE OBSCURO.

Es uno de los signos patognomónicos en esta intoxicación (42), Gaytán y col. mencionan en el experimento ya descrito en el capítulo referente a dosificación, un viraje de la sangre de rojo brillante a rojo oscuro a las dos horas después de la administración de los nitratos. (22)

Entre otras alteraciones a la sangre Malestein notifica un incremento del pH de la sangre arterial así como en la sangre venosa. (38) Esto difiere con el experimento de Gaytán y col. en el que hubo una ligera caída en los valores del pH en todos los tratamientos. (22)

DESHIDRATACION CLINICA EN LOS ANIMALES.

Durante intoxicaciones debidas al consumo accidental de fertilizantes se encuentra liquido en el rumen, este fenómeno se explica al tomar en cuenta que los fertilizantes funcionan como soluto dentro del rumen. Por lo tanto al aumentar la concentración de este soluto, se ejerce un efecto osmótico de in-

tercambio de líquidos de menor concentración a mayor concentración, que en este caso es con el líquido intersticial de la pared mucosa del rumen a mayor concentración, que sería el fertilizante presente dentro de la cavidad. (27)

DIARREA. (51)

Es consecuencia de la irritación de la mucosa gastrointestinal provocada al ingerir los nitratos causando esto dolor abdominal. (51) McIlwain y col. consideran que una consecuencia de la irritación de la mucosa, es la menor conversión de caroteno en vitamina A dentro del intestino delgado. (39) La rejugitación del contenido ruminal es poco frecuente. (2)

LIGERO TREMOR MUSCULAR. (22)

DEBILIDAD. (48)

POSTRACION. (21)

CONVULSIONES. (51)

POLIURIA INCOLORA. (51)

Ya que los nitratos tienen un efecto diurético. (37)

LAGRIMEO. (55)

MUERTE QUE NO SON EXPLICABLES. (2)

ABORTOS. (51)

Es obvia la suposición de la insuficiente transferencia de oxígeno al feto durante la intoxicación en animales gestantes, desencadenándose la muerte uterina. (38) Jainudey y col.,

administraron nitratos a vaquillas gestantes por un periodo prolongado a una dosis de 660 mg de NO_3/Kg de peso por día, alimentándolas con heno de alfalfa ad libitum y dos kg de concentrado. Ellos observaron que las vacas con pocos meses de gestación alcanzaban niveles elevados de MHB, más rápido que vaquillas con mayor tiempo de gestación. (30)

El feto es muy sensible a la hipoxia y puede ser dañado por la disminución de hemoglobina en un 25% o más. El aborto es un signo común de exceso de nitrato pudiendo ser esto la única evidencia, a pesar de que las vacas no parezcan afectadas. Sin embargo, en el experimento de Winter y col. explicado más adelante en este capítulo, se menciona que las vaquillas pueden mantener una gestación normal a pesar de la ingestión de nitratos o nitritos con capacidad de reducir el 50% de la hemoglobina en MHB. (58) Debido a esto grandes dosis de nitrato o nitrito ingeridas durante periodos prolongados son necesarias para producir el aborto. (50)

Malestein y col. administraron nitrito a una dosis de 9 a 12 mg de NO_2/Kg de peso por vía intravenosa encontrando un incremento del porcentaje de MHB en la sangre fetal. En este experimento se encontraron diferencias en los porcentajes de MHB entre la sangre materna y fetal, explicándose esto debido al contenido de NO_2 en el plasma, el cual es mayor en la madre que en el feto.

Durante la formación de MHB la concentración del nitrito descenderá, esto es debido probablemente al hecho de que muy poco NO_2 en la sangre materna es difundido por vía de la placenta a la sangre fetal, ya que la placenta funciona como una

barrera. La difusión de NO_2 a la sangre fetal es obviamente de masiado pequeña para ejercer un considerable aumento en la Mhb. (38)

El hecho de que el porcentaje de Mhb en la sangre fetal sea -- menor que en la sangre materna aún aplicando una dosis igual -- directamente a la vena umbilical se puede explicar como sigue:

- a) La reducción de Mhb en la sangre fetal posiblemente se lleve a cabo más rápido que en la sangre materna, lo cual reflejará un menor contenido de Mhb en la sangre fetal que en la sangre materna. (38) Debemos considerar el hecho, que -- varios informes nos dicen, que la hemoglobina fetal es más susceptible a los nitratos que la hemoglobina materna, pero esta suceptibilidad es contrarrestada por la mayor habilidad de los glóbulos rojos fetales de recudir la Mhb formada. --
(a) Smith y col. promediaron la actividad de la enzima DPNH (Difosforidfn Nucleotido Diaforasa dependiente) mediante el método de Scoot. Así encontraron: que es mayor en los eritrocitos del feto de los bovinos (169+/-25 unidades) que en -- las vacas adultas. (22+/-4.6 unidades) Esta enzima es la en cargada de reducir la Mhb otra vez en hemoglobina por lo -- tanto esta actividad tan espectacularmente diferente en las vacas que en el feto es una adaptación para contrarrestar la circunstancia, de la mayor susceptibilidad de la hemoglobina fetal a los nitratos. (53)
- b) El contenido del tracto gastrointestinal en las vacas determina que la cantidad relativa de sangre por kg de peso vivo en estos animales sea menor que en el feto, por lo tanto al

tener niveles similares de MHb en la sangre materna y en la sangre fetal la dosis por kg de sangre debe de ser mayor en las vacas que en el becerro o feto.

Durante la transferencia de oxígeno de la placenta a la sangre fetal interviene la circulación por sí misma, ya que el útero preñado no autorregula el paso de sangre y consecuentemente una baja en la presión arterial provocará un decreciente flujo sanguíneo en el útero y al final un descenso en la presión de O₂ de la sangre fetal venosa.

La baja en la saturación de O₂ en la sangre fetal después de la administración de N₀₂ puede ser mayor en animales con contracciones uterinas.

Cuando la transferencia de O₂ a la sangre fetal decrece demasiado, conlleva a una muerte intrauterina siendo esto la causa del aborto. (38)

Este hecho está apoyado por otros autores que consideran muy poco probable que el aborto ocurra directamente por la acción de los nitratos per se. (22)

De acuerdo con Crawford y col. no se han producido evidencias experimentales suficientes para demostrar que el N₀₃ llegue a provocar el aborto, ya que en algunos casos no es el único signo y en otros estudios los animales mueren intoxicados antes de abortar. (22)

Nicholls y col. investigando una intoxicación con zacate-Ryegrass conteniendo elevados niveles de nitrato, observaron que de un hato de 28 vacas gestantes sobrevivientes a la into-

xicación abortaron 7 y en otro hato de 33 vacas gestantes sobrevivientes a la misma intoxicación, abortaron 5 vacas atribuyendo estos abortos a los nitratos contenidos en el forraje. (42)

INTOXICACION CRONICA POR NITRATOS Y NITRITOS.

Esta intoxicación tiene un amplio rango de signos, desde vacas con apariencia normal las cuales abortan, hasta vacas -- que presentan baja en la producción lechera, pelo hirsuto (10), poliuria, laminitis y alteraciones digestivas. (24) Durante -- las formas crónicas la formación de MHB no sobrepasa en general al 10% del total de hemoglobina en la sangre, por lo que -- la sintomatología hipóxica suele pasar inadvertida por su escasa gravedad. (24) Winter y col. indujeron la intoxicación con nitratos a vaquillas Holstein y Guernsey gestantes con edades -- entre 16 y 18 meses, alimentadas con raciones de buena calidad nutritiva suplementadas con vitamina A. Los niveles de MHB se -- mantuvieron alrededor del 55% con relación a la hemoglobina -- durante un período prolongado. Estos investigadores sólo mencionan como evidencia clínica el edema vulvar en todas las vaquillas, el color café en las membranas no pigmentadas y que -- de 19 vaquillas utilizadas para el experimento sólo murieron -- dos. (58)

Muchos de estos signos parecen ser resultado de una típica deficiencia de vitamina A. (29) El hecho de la depresión de la vitamina A, esta solamente basado en la evidencia clínica -- de que agregando vitamina A se ayuda al animal intoxicado a recuperarse más rápidamente de la depresión, emaciación y baja -- productividad. (2)

Un fenómeno donde se refleja el efecto reductor de los -- nitratos en la síntesis de vitamina A (22), durante la interfe-- rencia en la conversión de Beta/caroteno a vitamina A, resul-- tando en menores cantidades de ésta vitamina almacenadas en el hígado para uso del organismo. (24) El lugar de interferencia_ es en la pared intestinal, y probablemente la hidroxilamina o los nitratos son los agentes oxidantes hecho que no está del - todo comprobado. (2) Durante el experimento de Winter y col. - se aplicó hidroxilamina a un grupo de 4 vaquillas y no vió - - afectada la gestión. (58)

La formación de hidroxilamina puede efectuarse en el trac_ to intestinal y en la sangre directamente, según lo comprobó - in vitro Winter y col. La hidroxilamina es una sustancia tóxi- ca y se ha comprobado que a partir de ésta se puede formar la_ MHB, pero no se ha establecido claramente que la destrucción - de vitamina A es por la oxidación provocada por la hidroxilami_ na. (57)

Michael y col. administraron 1% de nitrato de sodio del - total de la ración a novillos fistulizados, alimentados con -- paja de avena (8kg), harina de hueso, .454 kg de suplemento - proteico 2 veces al día y un millón de unidades internaciona-- les de vitamina A al día; El fin de este estudio era el de ob- servar la destrucción preintestinal (abomaso) de la vitamina A por la acción reductora de los nitratos. Se recolectaron mues- tras de líquido abomasal cada semana durante 22 días que duró_ el experimento y se hizo la estimación de vitamina A por el -- método Klotter (1964) recuperándose el 53% de vitamina A. Cuan_ do estos animales fueron alimentados con los mismos elementos_

anteriormente mencionados, pero con semilla de soya en lugar de nitrato se obtuvo un porcentaje de recuperación de vitamina A del 50.4%, llegando a la conclusión de que el nitrato de sodio no alteraba significativamente la destrucción preintestinal de vitamina A. El potencial de óxido reducción de los líquidos ruminales no se determinó. (40) Davisón y col. al agregar nitrato de sodio de 0 a 15 mg junto con Beta/caroteno de 15 a 400 mcg a líquido ruminal extraído y tamizado de 10 vaquillas alimentadas con heno de alfalfa y 2 Kg de concentrado durante 10 meses, se observó que no había diferencia entre el líquido testigo y el líquido al que se le agregó nitratos, siendo necesario considerar que en un animal vivo habrá más concentración de nitratos durante intervalos mayores que en los experimentos realizados in vitro. (15)

Estos autores mencionan que el nitrato si puede acelerar la destrucción del caroteno de un silo, lo que puede explicar la deficiencia de vitamina A, pero sólo en animales que hayan consumido este silo. (15) (Cuadro No. 2)

Case y col. al investigar en el estado norteamericano de Missouri un hato de Angus en el cual habían nacido becerros antes del tiempo normal de gestación, encontraron 1.5% de nitratos en el total de la ración, llegando a la conclusión de que este hato sufría una intoxicación crónica provocada por nitratos y nitritos. (10)

La diversidad de opiniones entre los diferentes investigadores nos demuestran que aún no se llega a una conclusión correcta acerca del papel que juega el nitrato en la oxidación del Beta/caroteno y la vitamina A.

(Cuadro No. 2)

DESTRUCCION DE CAROTENO DURANTE LA FERMENTACION IN VITRO
DEL LIQUIDO RUMINAL DE BOVINOS.

Nitrato (mg)	Control %	Animales
		Alimentados con NO_3 %
0	25.2 [±] 5.6	24.5 [±] 8.2
3.25	19.3 [±] 4.4	23.2 [±] 6.3
7.5	20.8 [±] 4.6	24.0 [±] 5.5
15.0	20.6 [±] 4.5	27.0 [±] 8.1
Promedio	21.6 [±] 2.6	24.5 [±] 3.3

El nitrato interfiere en la función de la glándula tiroi-
des según Winter y col. esta interferencia se manifiesta como
un hipotiroidismo. (58) Hecho que puede ser contrarrestado agre-
gando yodo a la dieta. (6) En este punto difieren otros auto-
res, ya que Jainuden y col., al investigar la respuesta endo-
crina a la ingestión de nitratos administraron nitrato de so-
dio a dosis entre 440 mg /kg y 660 mg /kg , a vaquillas Hols-
tein entre 1 y 2 años, alimentadas con heno de alfalfa y dos -
Kg de concentrado. Estas vaquillas tenían diferencias en sus
ciclos estrales así como diferentes días de gestación (3 ci-
clos estrales antes de servicio, 40 días de gestación y 150 --
días de gestación). Se sacrificaron estos animales a los 30 --
días de parir para realizar la necropsia. Estos investigadores
no observaron ningún cambio aparente en la función de la glán-
dula tiroides, ya que no hubo diferencias significativas en-
tre los pesos de los tiroides de las vaquillas bajo tratamien-
to y las vaquillas control, por lo tanto en el presente estu-
dio no hubo evidencia sugerente para afirmar que el nitrato en
los forrajes afecta adversamente las funciones de la glándula
tiroides en el ganado, por lo que según el autor, no hay justi-
ficación para adicionar yodo en la dieta del ganado para preve-
nir los supuestos efectos depresivos del nitrato en la glándu-
la tiroides.

En este trabajo se pesaron las pituitarias de las vaqui-
llas sacrificadas encontrando que las vaquillas alimentadas --
con nitrato en su dieta tenían más pesadas estas glándulas que
las vaquillas control ($P < 0.05$) aún, cuando el peso de la pitui-
taria fue expresado en función del peso corporal siendo mayor.

en las vaquillas control ($P < .01$), por lo que las diferencias en los pesos de la pituitaria, no se pueden atribuir a los diferentes tamaños de los animales.

El nitrato no influyó en la actividad de las gonadotropinas y de la ACTH. (31)

ALTERNACIONES PATOLOGICAS CAUSADAS DURANTE LA
INTOXICACION.

El cadáver se muestra con los ojos retraídos, evidencia de salivación profusa, descarga nasal y las zonas no pigmentadas son de color café después de las primeras horas de muerte variando a carmesí después de algún tiempo. (25)

A la necropsia las membranas mucosas están cianóticas excepto las del estómago y del intestino que muestran hiperemia e inflamación además de petequias (51) y algunas veces hemorragias en el peritoneo alrededor del intestino delgado. (25)

En los pulmones podemos encontrar edema, enfisema (9) y hemorragias, lesiones asociadas a la disnea que presenta el animal durante la intoxicación (29), pudiéndose observar la pleura inflamada (50) y con hemorragias (25), la tráquea presenta hemorragias petequiales en la mucosa. (9) La sangre tarda más de lo normal en coagularse. (25)

En el caso de vacas gestantes, que llegan a morir a causa de la intoxicación al realizar la necropsia, la piel del feto y los cotiledones tienen un color púrpura debido a la anoxia. (25)

Jones y col. al investigar una intoxicación accidental con nitratos a una dosis aproximada de 514 mg./kg de peso realizaron la necropsia a 9 animales observando el rumen impactado, hiperemia en la mucosa nasal, áreas pálidas en el miocardio y hemorragias en el epicardio, en los pulmones se observó una congestión uniforme con una coloración rojo parduzca, las vejigas estaban contraídas y vacías. (32)

Cawley y col., mencionan que en 16 animales muertos por metahemoglobinemia encontraron una rápida descomposición con formación de gas en varios tejidos. Se pensó que esto se debía a una rápida proliferación de bacterias anaeróbicas particularmente clostridias. En caso de muerte repentina por una intoxicación con nitratos, principalmente de un solo animal debe ser considerado, ya que al realizar la necropsia podemos establecer un diagnóstico en favor de una clostridiasis en lugar de la verdadera razón. (11)

MÉTODOS PROPEDEUTICOS PARA EL DIAGNOSTICO DE
LA INTOXICACION

Durante la intoxicación aguda con nitratos se encontraron niveles elevados de metahemoglobina, estos porcentajes de Mhb_ pueden ser usados para evaluar la condición de los animales mediante pruebas de laboratorio especialmente durante los inicios de la intoxicación. (2, 10, 29).

Basándose en los signos clínicos los cuales son obvios cuando el 40% ó 50% de hemoglobina se ha oxidado en Mhb. (7) - Para el diagnóstico de intoxicaciones crónicas se debe prestar atención a los animales que presentan decrementos en la producción de leche y cuadros abortivos inexplicables (24), se puede diagnosticar la intoxicación en fetos abortados excluyendo por medio de análisis patológicos otras causas comunes de abortos_ y demostrando la presencia de nitratos en el humor acuoso de los fetos. (1)

Las pruebas de laboratorio difieren entre un autor y otro, en el presente trabajo se mencionarán algunas de ellas aunque_ en general se utilice la difenilamina como reactivo para detectar el problema, sugiriéndose su utilización desde 1926 (Householder y col.). (28)

Es importante considerar las variaciones de los resultados que presentan los diferentes laboratorios debiéndose esto_ a:

- 1.- Lo variable en los métodos de laboratorio.
- 2.- La interpretación de los resultados.
- 3.- Los factores de conversión y equivalencia, entre los dife-

rentes compuestos en los que están presentes los nitratos_ y nitritos. (2) (Ver cuadro No. 3)

- 4.- El tiempo transcurrido entre la ingestión del tóxico y el tiempo necesario para enviar la muestra al laboratorio.
- 5.- El nivel nutricional de la ración.
- 6.- El tipo de flora ruminal.
- 7.- Tiempo de gestación. (50)
- 8.- La forma de preservación de las muestras sujetas a un análisis para determinación de nitratos, nitritos y metahemoglobina, ya que los nitritos al reaccionar con la hemoglobina forman la MHb como se mencionó anteriormente; Este hecho provoca el decremento del contenido de nitrito en la sangre. (34)

La oxidación continúa mientras el ión está en contacto -- con las células rojas; Un método para la determinación de nitratos en sangre, debe de considerar este fenómeno.

La exactitud para las determinaciones de nitratos y nitritos, así como MHb puede ser mejorada si es posible demostrar - y predecir el grado de oxidación de los nitratos y nitritos - cuando están en contacto con las células rojas de la sangre, o si podemos estabilizar el nitrito presente en toda la muestra. (34) Kenneth y col. informaron las diferentes capacidades de - oxidación de los nitritos en las muestras de sangre, utilizando diferentes métodos de conservación para estas muestras; Encontrando que la menor pérdida de nitritos era de muestras de suero, siguiéndole el plasma heparinizado y una gran pérdida - de este ión en plasma conteniendo E.D.T.A. (34) (Ver fig. - -- No. 2)

En el caso de los valores de plasma, suero y suero libre de protefmas, en los que se provocaron una precipitación de -- las protefmas con $HgCl_2$ inmediatamente después de colectadas -- las muestras, manteniéndolas a temperatura ambiente o refrige-- radas hubo una pequeña oxidación de los nitratos por lo que -- casi no hubo cambios en los valores de nitritos dentro de la -- muestra. (34) Winter al administrar un gramo de NO_2 en 10 ml -- de agua oralmente a 7 vaquillas entre 12 y 15 meses, demostró -- que en el suero desproteínizado con ácido sulfúrico podía ser -- encontrado nitrito (2.4 ppm) siendo más fácil observar este ni -- vel en muestras de sangre que tenían de una a 2 horas de haber -- sido extraídas. (57)

Es evidente que diferentes valores de nitrito se obten--- drán a partir de suero y plasma de acuerdo al tipo de anticoa-- gulantes utilizado en la muestra.

En las muestras con anticoagulante como el E.D.T.A. el -- ión nitrito tiene máximo contacto con las células rojas, mien-- tras que la heparina tiene un efecto protector alrededor de las -- células pudiendo inhibir el contacto con el nitrito. (34) Los -- cambios en los niveles de nitritos y MHB en las muestras para -- análisis fueron estudiados por Watts y col. en sangre de borre-- gos, al administrar 5 gramos de nitrato de sodio en una solu-- ción al 1% a borregos con un peso de 30 a 35 kg., encontrando -- un decremento progresivo del nitrato en el plasma de .8 mg/100 -- ml. después de 1 hora de tomada la muestra, hasta ningún ras-- tro de nitrato a las 6 horas. (56)

(Cuadro No. 3)

CONVERSION DE VALORES DE NITRATO

B	A			
	NO ₃ N	NO ₃	KNO ₃	NaNO ₃
Nitrato nitrogenado (NO ₃ N)		.226	.139	.165
Ión nitrato (NO ₃)	4.43			.79
Nitrato de potásio (KNO ₃)	7.21	1.63		1.19
Nitrato de sódio (NaNO ₃)	6.07	1.37	.842	

B	A			
	NO ₂ N	NO ₂	KNO ₂	NaNO ₂
Nitrato nitrogenado (NO ₂ N)		.304	.165	.203
Ión nitrito (NO ₂)	3.29		.541	.667
Nitrito de potásio (KNO ₂)	6.07	1.85		1.23
Nitrito de sódio (NaNO ₂)	4.93	1.50	.812	

Cantidad de A x factor = Cantidad B

Ej: Para convertir 2% de KNO₃ a nitrato nitrogenado se multiplica, 2% por el factor .139, esto es 2% KNO₃ x .139 = .278% NO₃N

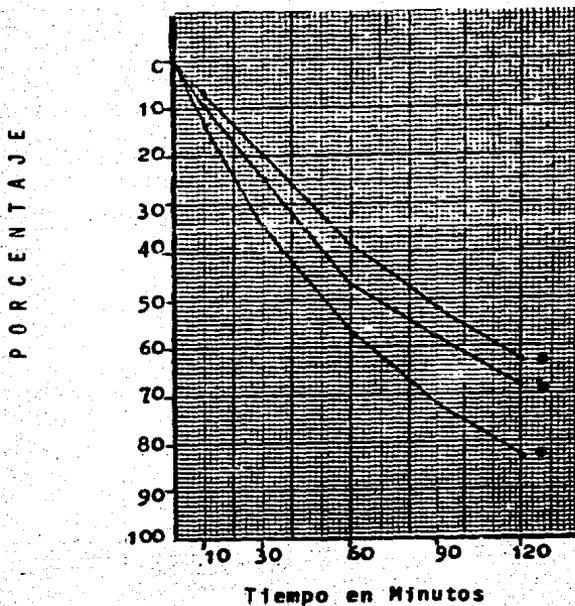
RELACION ENTRE EL PORCENTAJE % Y PARTES POR MILLON (PPM)

	%	PPM	%	PPM	%	PPM
Nitrato nitrogenado	1.00	10000	0.226	2260	0.139	1390
Nitrato	4.43	44300	1.00	10000	0.614	6140
Nitrato de potásio	7.21	72100	1.63	16300	1.00	10000

Ej: Una muestra que contiene 1.00% nitrato nitrogenado contendrá 1000 PPM.

(Figura No. 2)

PORCENTAJE DE PERDIDA DE NITRITO



- a. Suero
- b. Plasma heparinizado
- c. Plasma con E.D.T.A.

(Todos de borrego)

DETERMINACION CUALITATIVA:

El reactivo es hecho al disolver 500 mg de difenilamina en 20 cc de agua, después se agrega ácido sulfúrico hasta completar 100 cc. (28, 10) Se debe almacenar en una botella que no permita el paso de la luz solar. (24)

Esta prueba es aceptable cuando el contenido del nitrato es lo suficientemente alto. Muestra de agua, filtrados de sangre, plasma, líquido ruminal, plantas machacadas, orina pueden ser tratados con difenilamina. Si el nitrato esta presente, un color azul se apreciará al poner en contacto el reactivo con el material por analizar. (24)

La intensidad del color azul así como la rapidez con la que este color se manifieste, es una indicación de la cantidad de nitrato presente; El color verdoso es sospechoso de ser positivo, otros colores que no sean azul y verde pueden ser tomados como negativos. (10)

DESVENTAJAS EN LA UTILIZACION DE DIFENILAMINA:

- 1.- La difenilamina no es específica para nitratos o nitritos, ya que iones tales como el bromato, iodato, clorato, selenito, molibdatos, hierro, antimonio y peróxidos pueden dar resultados falsos positivos. (28)
- 2.- Suero extremadamente hemolizado presenta dificultades no encontradas en suero claro o en las muestras de orina. El color azul de la reacción positiva puede tardar en aparecer o probablemente ser enmascarado por el extremo grado de hemólisis. (28)

- 3.- Una inadecuada conservación y almacenamiento de la sangre puede darnos falsos positivos debido a la actividad enzimática de los eritrocitos. (16)

PRUEBA DE DIAZOTIZACION

Esta prueba es específica y muy sensible. La reacción positiva es de un color rosa claro o rosa brillante, si este color aparece segundos después de aplicar el reactivo es recomendable realizar la prueba cuantitativa. (10)

El fundamento de la prueba de diazotización es la unión de los iones de nitrito con compuestos aromáticos aminados en soluciones ácidas formando sales de diazonium. Estas sales se unen a los derivados del naftil, formando una tintura la cual puede ser valorada mediante un espectrofotómetro para obtener las cantidades de nitrito presentes en la muestra. (34)

La prueba se realiza aforando 2 cc del extracto de material problema a 2 cc de una solución A (disolver 500 mg de ácido sulfanílico en 150 cc de ácido acético glacial al 20%) entonces agregar 2 cc de solución B (disolver con ligero calor 200 mg de hidrocloreuro de alfa-naftilamina en 150 cc de ácido acético glacial al 20% envasados en botellas que no permitan el paso de luz; Mezclarlo gentilmente). La presencia de tonos rosados es positiva a nitritos. (10).

Las determinaciones cuantitativas son muy complicadas ya que se utilizan filtros y estos ofrecen dificultades para su análisis porque durante estas determinaciones se comparan las densidades ópticas de las diferentes muestras problema median-

te un espectrofotómetro. (10)

Otros métodos para las determinaciones cuantitativas son tritrimétrico, reducción microbiológica de nitrato y electrodos específicos para iones. (43)

MEDICION DE NITRITOS EN SANGRE SEGUN

SCHNEIDER Y COL.

REACTIVOS:

- 1.- Sulfanilamida (20g) disuelto en 700 ml de agua destilada revolverlo con ácido fosfórico concentrado (85% en 50 ml) y aforar hasta 1000 ml. Esta solución es estable un mes en refrigeración.
- 2.- Peróxido de hidrógeno (H₂O₂) a una solución de .025% es estable durante un mes protegido de la luz.
- 3.- N-(-1-Naphtyl) Hidrocloruro de etilen-diamina (N E D A) en solución, al 0.5% siendo estable durante un mes protegido de la luz y refrigerado.

REACTIVOS Y APARATOS PARA UNA DETERMINACION TOTAL DE NITRATO:

Cloruro de Amonio Buffer.- Cloruro de Amonio (50g) en 500 ml de agua destilada a un ph de 9.6 NHOH y aforado a un litro de agua destilada. N E D A. a una solución del 0.5%.

Solución de sal. 100 g de cloruro de sodio disuelto en 500 ml de agua destilada, agregando 50 ml de cloruro de amonio Buffer y aforado a un litro de agua destilada.

COLUMNA DE REDUCCION:

Las partículas metálicas de cadmio son obtenidas por una reacción entre zinc y sulfato de cadmio. El cadmio es prensado y pasado a través de tela de alambre (tamiz). Dos cm de vidrio con lana (glasswool) son puestos en la base de cada columna - llenándola con agua; El cadmio es acomodado encima del vidrio con lana a una profundidad de 10 cm. Las columnas de vidrio - son de 25 mm/600mm y tienen una capacidad de 30 ml después de ser preparadas.

Las columnas son activadas al pasar 25ml de 0.1N-HCL, 2 - porciones de 24ml de agua destilada desmineralizada y 25 ml - de 1:10 de cloruro de amonio Buffer. Un rango de 4.6 ml/min -- (+/- .1ml/min) es usado para probar las muestras y preparar curvas estándar.

Cuando el rango disminuye durante los análisis en serie, - se reestablece agregando 25 ml como lavado con ácido 0.1 NHCL). Las columnas se llenan con soluciones de sal cuando no se utilizan.

REACTIVOS PARA LA PREPARACION DE MUESTRAS DE PLASMA:

Cloruro de mercurio (Hg Cl₂) a una solución al 5%

Carbonato de sodio (Na₂ Co₃) a una solución 0.5 molar

Preparación de muestras.

10ml. de sangre utilizando el EDTA como anticoagulante, - centrifugar por 10 min a 3500 g, después de 15 min, colectar - se para prevenir la oxidación in vitro de los iones de nitrato

El plasma se separa en tubos por medio de pipetas Pasteur.

PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DEL NITRITO:

- 1.- Agregar 4.5 ml. de agua destilada desmineralizada a 0.5 ml de plasma.
- 2.- Agregar 0.5 ml de 0.025% de peróxido de hidrógeno (H_2O_2).
- 3.- Agregar 5 ml de reactivo de sulfonamida ácido fosfórico, dejarlo reposar 3 min después de mezclarlo.
- 4.- Agregar 0.5 ml de .5% N E D A.
- 6.- Esperar 20 min para que aparezca el color y medir la absorbancia a 540 nm en un espectrofotómetro utilizando una tarjeta blanca para preparar una absorbancia de cero.
- 6.- Se lee la absorbancia sobre una curva estándar preparada previamente, y leer la concentración en mcg de NO_2/ml , -- multiplicar el valor obtenido por 10 para corregir la dilución del plasma.
- 7.- Para construir una curva estándar para nitrito se prepara una solución de $NaNO_2/ml$ conteniendo 10 mg de NO_2/ml agregar 25 ml de ésta solución a 1 ml de plasma. Después mezclarlo y diluir el plasma a un volumen de 250 ml en un frasco volumétrico. Esta solución es usada como estándar con una concentración de iones de nitrato de 1mcg/ml y es usado para construir la curva.

PROCEDIMIENTO PARA MEDICION DE NITRATO:

- 1.- Agregar 4 ml de una solución de $HgCl_2$ al 5% a un ml de -- plasma centrifugado en un tubo, revolverlo y dejarlo reposar durante 3 min; Se formará un precipitado proteico.
- 2.- Agregar 5 ml de 0.5 Molar de $NaCO_3$ revolver y reposar un minuto. El mercurio, se precipita con $Hg Co_3$ (rojo), se -- centrifuga a 2500 g por 5 minutos.
- 3.- Filtrar a través de papel Whatman del 42.
- 4.- A 5 ml de la porción filtrada agregar 15 ml de agua destilada desmineralizada y luego 5 ml de NH_4Cl Buffer.
- 5.- Pasarla por la columna de reducción hecha de cadmio a razón de 4.6 ml sobre min y coleccionar lo que salga en frascos volumétricos de 50 ml. Enjuagar la columna con 15 ml de solución de sal y coleccionar lo que salga en frasco volumétrico de 50 ml. Lavar después con 30 ml de Hg_2O_2 , antes de volver a pasar muestras por la columna. Las muestras reducidas se van refrigerando según se obtienen, para agregar los reactivos a todas las muestras simultáneamente.
- 6.- A los frascos volumétricos de 50 ml agregar reactivo de -- sulfonilamida HCL y mezclarlos, reposar durante 3 min.
- 7.- Agregar 2 ml de N E D A y esperar el color durante 20 minutos.
- 8.- Absorbancia gráfica sobre una curva estándar, preparada -- previamente y leer la concentración en $mcg NO_3/ml$.
- 9.- Este método convierte al nitrato en nitrito. El verdadero valor del nitrato se obtiene del paso anterior multiplicando la concentración por 1.348, para una conversión equimolar.

lar a nitrato.

10. Para construir una curva estándar para nitrato se prepara una solución de NaNO_3 conteniendo 5mg de NO_3/ml los estándares de trabajo se preparan al adicionar 10, 20, 30, 40, 50, 100, 160, 200 y 250mcg de NO_3 respectivamente a cada ml de plasma. Cada una de estas soluciones estándar se analiza, comenzando con la adición de HgCl_2 y siguiendo los pasos del inciso 2.

La absorbancia de 540 nm son graficadas con concentraciones de NO_3 para construir, en una curva estándar. (47)

Durante la alimentación a largo plazo con nitratos o durante las intoxicaciones crónicas con estos iones las concentraciones de hemoglobina y eritrocitos, aumentan en proporción con los niveles de la metahemoglobina presente en la sangre. (5) La hipoxia provocada por la MHb estimula la eritropoyesis, mediante una respuesta humoral en la que interviene la eritropoyetina. Aparentemente esta hormona actúa sobre las células germinales, estimulando la diferenciación celular hacia eritroblastos. (30)

El volumen sanguíneo aumenta según Reisman, debido a un incremento temporal de la producción de eritrocitos. El aumento del paquete celular es debido al incremento de los eritrocitos.

El fósforo y proteínas del plasma no varían durante la intoxicación, tampoco el número de leucocitos ni la proporción de estos. (30)

"Se ha sugerido para el diagnóstico de la intoxicación medir la actividad de la enzima eritrocito catalasa, ya que la

enzima se oxida cuando el ión fierro presente en la hemoglobina cambia de su forma ferrosa a su forma férrica, ante la acción oxidativa del nitrato, convirtiendo la hemoglobina en metahemoglobina." (59)

El diagnóstico diferencial se realiza, con padecimientos en donde los signos clínicos son parecidos a los observados -- durante las intoxicaciones por nitratos, tales como intoxicaciones por cianuros, enfermedades respiratorias. Por ejemplo:-- neumonías agudas, enfisemas, neumonías micóticas y neumonía -- atípica bovina. El choque anafiláctico tiene algunos signos -- parecidos a los descritos en este tipo de intoxicación. (43)

TRATAMIENTO

Se recomienda la administración intravenosa de 2 a 4 g de azul de metileno en una solución de 100 ml de dextrosa al 5%, siendo específico para la reducción de Mhb en hemoglobina (2) - o se sugiere una dosis de 4.4mg/Kg de peso de azul de metileno en solución del 2 al 4%. (29) El azul de metileno es reducido a azul de leucometileno, gracias a la acción de la enzima reductasa (dependiente de N A D P H). (7) Schmutz y col. mencionan que el azul de metileno se puede administrar directo en el rumen. (46)

El tratamiento se aplica con base al tamaño del animal y de acuerdo a la severidad de la cianosis. (7) El promedio de la duración activa del azul de metileno dentro del organismo animal, es de dos horas, por lo que incluso dosis elevadas se pueden repetir a intervalos de 6 ú 8 horas sin peligro de intoxicación; Dosis pequeñas pueden ser administradas con intervalos de minutos entre las aplicaciones. (7)

Como terapia adicional se aplica agua fría por vía oral - forzada al presentarse los primeros signos o la administración de antibióticos como la penicilina ya que inhiben la reducción de nitrato en nitrito al provocar una disminución en los microorganismos ruminales. (7) Si la fuente de intoxicación es un fertilizante se recomienda la administración de aceite mineral a una dosis de 1 litro por cada 400Kg de peso, vía oral; Ya -- que funciona como protector de la mucosa gastrointestinal y -- laxante. (29)

Algunos autores recomiendan hidróxido de magnesio a una -

dosis de 0.454 kg/de peso vfa oral. (55)

Como tratamiento paliativo, se recomienda la administración de ácido ascórbico a una dosis de 2.5 gramos por vfa intramuscular. El sulfato de sódio a una dosis de 0.5Kg /400Kg. - de peso vfa oral, ya que este producto disminuye el tiempo de permanencia del nitrato en el tracto gastrointestinal. (29)

Algunos autores recomiendan la aplicación de antihistámicos. (55)

Vasey, menciona un 85% de casos favorables, con la aplicación de la siguiente terapia:

- a) 40ml de tiosulfato de sodio al 30% por vfa intravenosa.
- b) 500ml de calcinato por vfa intravenosa.
- c) 3 litros de aceite mineral y 1/2 litro de agua vfa oral forzada. (55)

Cawley menciona etamiphylline camsylate (Millofyllina), como un buen tratamiento aún para animales en estadfos terminales de la intoxicación. (11)

En las intoxicaciones crónicas, el azul de metileno tan -- efectivo en formas agudas no es utilizado, ya que la formación de Mhb es cuantitativamente poco importante. Debido a la suposición referida a la interferencia en el metabolismo de la vitamina A por parte de los iones de nitrato, algunos autores recomiendan la administración parenteral de la misma, como vitamina ya preformada (24), junto con la aplicación de aminoácidos. (55)

PREVENCION DE LA INTOXICACION

La medida profiláctica más importante es alejar a los animales de las fuentes sospechosas de niveles elevados de nitrato. (24) La alimentación con raciones de buena calidad adicionadas con carbohidratos y vitamina A, aumentan la tolerancia del ganado a los nitratos. (55)

Se considera que la adición de sulfonamidas u otros antibióticos, así como minerales balanceados a los alimentos sospechosos de contener elevados porcentajes de nitrato, reducen la probabilidad de la intoxicación, ya que dichos aditivos llegan a suprimir o variar la microflora ruminal y por lo tanto disminuyen la reducción de nitrato y nitrito dentro del rumen evitando la intoxicación. (2)

Emerick y col. demostraron al agregar 0.5 ppm de clortetraciclina a un rumen artificial, la reducción en la acumulación de nitrito durante la incubación del líquido ruminal (6 horas de incubación) y si se agregaban una ppm del antibiótico prevenían completamente la acumulación. Esto se debe a la inhibición del crecimiento bacteriano, provocado por la clortetraciclina.

Al trasplantar estos experimentos en animales vivos, agregaron 10 mg del clortetraciclina por libra de alimento, que era heno de alfalfa rociado con nitrato de sodio al 2%; Al comparar los resultados de los análisis realizados a los animales sin antibiótico y con antibiótico se encontraron con un 31.5% menos de metahemoglobina en los animales tratados, que en los animales sin tratar. Este experimento duró dos semanas,

Los mismos investigadores administraron clortetraciclina a borregos, pero durante seis semanas: Observando los mismos resultados que en los bovinos durante las dos primeras semanas de experimentación. A la tercera semana hubo un marcado aumento en la proporción de MHB de los borregos tratados, llegando a la conclusión de que puede ocurrir un eventual ajuste de los microorganismos ruminales a los antibióticos. (20)

Se ha sugerido al tungsteno como preventivo prometedor en contra de la intoxicación, porque inhibe la actividad reductora de los microorganismos ruminales. (36)

Si sospechamos que alimentos henificados contienen niveles elevados de nitrato, podemos revolverlos con alimentos no sospechosos a un proporción del 75% de alimento sospechoso con 25% de alimento no sospechoso, o agregarles concentrados y disminuir su toxicidad. (44)

Los campos en los que se presentaron intoxicaciones deben de ser analizados como medida profiláctica. (2) Es recomendable localizar hierbas sospechosas de contener porcentajes elevados de nitrato; En caso de encontrar dichos vegetales es importante realizar programas de erradicación de hierbas perjudiciales.

La aplicación de herbicidas durante dos años consecutivos junto con la fertilización favorecen el crecimiento de forrajes que compiten con las hierbas. (49)

Reevaluar los programas de fertilización y riego reduciendo así la concentración de nitratos en tierras sospechosas. --

Un programa de fertilización coherente con las condiciones de temperatura y humedad de los cultivos, es esencial para minimizar la acumulación de nitratos. En las áreas donde la precipitación pluvial es de 76 cm por año los niveles de nitrógeno no deben excederse a los 102Kg por ha (2.471 acres = 1 hectarea) en cada cosecha.

Los niveles de fósforo y potasio deben de ser establecidos con base a pruebas de necesidad en los nutrientes del suelo.

Cuando la precipitación pluvial o irrigación es mayor de 76 cm al año, se pueden aplicar hasta 200Kg de compuestos nitrogenados por ha.

Algunos productores han intentado cambiar los fertilizantes a base de nitratos por otros con diferentes fórmulas, pero esto no reporta ningún beneficio ya que los microorganismos de la tierra convierten los compuestos nitrogenados en nitratos para su posterior absorción a la raíz. (13)

Los alimentos ensilados no se deben utilizar, sino hasta pasados 7 a 10 días después de finalizado el proceso de ensilaje. (55) Porque durante dicho proceso los niveles de nitrato aumentan por la pérdida tisular de agua en el vegetal. (13)

Es recomendable no ensilar o henificar forraje durante escasez de humedad en los cultivos o enviar muestras al laboratorio, para determinación de porcentajes de nitratos; Si los niveles son elevados es mejor esperar hasta las lluvias. En caso que lo anterior no sea prácticamente posible el almacenaje debe de tratarse de realizar durante la tarde, porque en ese momento los niveles de nitrato son menores a causa de la actividad de la enzima reductasa durante el transcurso del día. (13)

DISCUSION

En la revisión bibliográfica, se encontró que los niveles de nitrato aumentan durante condiciones desfavorables para el crecimiento de las plantas, cambios en el metabolismo de los vegetales ya sea por causas naturales o inducidas y cambios en el metabolismo de los microorganismos del rumen. En estos factores es donde concuerdan todos los autores.

En cuanto al origen de la intoxicación, se encontraron gran cantidad de plantas forrajeras como probables causantes del problema, aunque se debe considerar que estos vegetales están sujetos a los factores antes mencionados. Por lo que no es de extrañar que hayan sido notificados por los autores como causantes de alguna intoxicación.

Para las dosis tóxicas, así como en los niveles de MHB que son capaces de provocar la muerte o daños en las vacas gestantes, encontramos gran diversidad en los resultados presentados por los autores. Howard menciona que en vacas gestantes el feto puede ser afectado con la disminución de hemoglobina en un 25%, mientras que Winter y col. afirman que se puede mantener una gestación normal a pesar de la reducción de la hemoglobina en MHB en un 50%. Esto es por las variables en los experimentos realizados para comprobar los niveles, ya sea de nitrato o de MHB.

En cuanto a los efectos en el organismo los autores difieren en algunos aspectos tales como:

- El porcentaje de conversión de hemoglobina en MHB durante una intoxicación aguda y una crónica.

- El efecto de los nitratos sobre el metabolismo de la Vit A, ya que algunos autores mencionan que en animales intoxicados se observa una recuperación más rápida administrando Vit. A. Pero el efecto de oxidación del nitrito sobre los precursores de la Vit. A no ha sido aclarado mediante evidencias por lo que se hacen necesarias investigaciones al respecto.
- Durante la intoxicación se menciona una interferencia con la función de la glándula tiroides manifestándose como hipotiroidismo, pero algunos autores afirman que no hay evidencia experimental para sostener la hipótesis.

Para el diagnóstico de la intoxicación hay variables entre los métodos que utilizan los diferentes laboratorios, así como en la conversión y equivalencia que encontramos entre los distintos compuestos en los que se encuentran presentes los nitratos y nitritos.

Para el tratamiento encontramos varias dosis recomendadas para el uso del azul de metileno ya que Amstutz menciona de 2 a 4 g de azul de metileno y Howard 4.4 mg/kg de peso.

Mientras algunos autores como Vasey han obtenido resultados favorables sin utilizar el azul de metileno.

En estos casos influyen diferentes manejos a que son sometidos los animales por lo que las dosis y tipos de farmacos también varían.

- 1.- Abbit, B.: A case of nitrate-induced abortion in cattle. Swest. Vet., 35 (1): 12 (1982).
- 2.- Amstutz, H.E.: Bovine Medicine and Surgery, 2nd. ed. American Veterinary Publications Inc., Santa Barbara Cal., - 1980.
- 3.- Asbury, A. C. and Rhode, E.A.: Nitrite intoxication in - cattle: the effect of lethal doses of nitrite on blood -- pressure. Am. J. Vet. Res., 25: 1010-1013 (1964).
- 4.- Bath, D.L. and Dickinson, F.N.: Ganado Lechero Principios, Prácticas Problemas y Beneficios, 2da. ed. Interamericana, México, 1984.
- 5.- Benjamin, M.N.: Manual de Patología Clínica en Veterina-- ria, Editorial Limusa, México, 1984.
- 6.- Bloomfield, R.A., Welsh, C.W. and Muhrer, M.E.: Overco--- ming nitrate inducen thyroid inhibition with iodide. J. - Anim. Sci., 23: 1207 (1964).
- 7.- Burrows, G.E.: Nitrate Intoxicación. J. Am. Vet. Med. - - Ass., 177 (1): 82-83 (1980).
- 8.- Campos, S.: Análisis de una intoxicación por nitratos en Ganado Holstein en el Valle de Toluca. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Auto noma de México, D.F. 1982.
- 9.- Carrigan, M.J. and Gardner, F.A.: Nitrate poisonign in - cattle fed sudax (Sorghum sp. hybrid) hay. Aust. Vet. J., 59 (5): 155-157 (1982).

- 10.- Case, A.A.: Some aspects of nitrate intoxication in livestock J. Am. Vet. Med. Ass., 130 (8): 323-329 (1957).
- 11.- Cawley, G.D., Collings, D.F. and Dyson, D.A.: Nitrate poisoning. Vet. Rec., 101 (15): 305-306 (1977).
- 12.- Choppin, R.G. y Bernard J.: Química, Publicaciones Culturales, S.A., México, 1975.
- 13.- Clay, B.R., Edwards, W.C. and Peterson, D.R.: Toxic nitrate accumulation in the sorghums. Bovine Practitioner, 11: 28-32 (1976).
- 14.- Crawford, R.F., Kennedy, W.K. and Davison K.L.: Factors influencing the toxicity of forage that contain nitrate when fed to cattle. Cornell Vet., 56: 347 (1966).
- 15.- Davison, K.L. and Seo, J.: Influence of nitrate upon carotene destruction during in vitro fermentation with rumen liquor. J. Dairy Sci., 46: 862-863 (1963).
- 16.- Dixon, P.M. and Brown, R.: Nitrate and nitrite poisoning-(correspondance). Vet. Rec., 101 (19): 392 (1977).
- 17.- Dorland: Diccionario de Ciencias Médicas, 6ta. ed. El Ateneo, Buenos Aires, 1979.
- 18.- Egyed, M.N., Shlosberg A. and Neria A.: Ammonium nitrate poisoning in a herd of cattle. Refuah Vet., 37 (3): 101 - 103 (1980).
- 19.- Egyed, M.N., Shlosberg, A., Van Dam, B. and Neria A.: Two unusual cases of nitrate poisoning in cattle. Refuah Vet., 37 (3): 101-103 (1980).

- 20.- Emerick, R.J., and Embry, L.B.: Effect of chlortetracycline on methemoglobinemia resulting from ingestion of sodium nitrate by ruminants. J. Anim. Sci., 20: 844-848 (1961)
- 21.- Flores, J.A.: Bromatología Animal, 2da. ed. Editorial Limusa, México, (1980).
- 22.- Gaytan, R.T., Zermeño, J.M. y Rosiles M.R.: Papel de los nitratos en la presentación del aborto en ganado bovino. - Vet. Mex., 13 (2): 65-69 (1982).
- 23.- Geurink, J.H., Malestein, A., Kemp, A. and Van't klooster, A.T.: Nitrate poisoning in cattle. 3. The relationship between nitrate intake with hay on fresh roughage and the speed of intake on the formation of methemoglobin. Neth. J. Agric. Sci., 27 (4): 268-276 (1979).
- 24.- Grimaldi, R.J.: Intoxicación crónica con nitratos y nitritos. Gaceta Veterinaria, 41: 455-456 (1979).
- 25.- Harris, D.J. and Rhodes, H.A.: Nitrate and nitrite poisoning in cattle in Victoria. Aust. Vet. J., 45: 590-591 - (1969).
- 26.- Hill, B.D. and Blaney, B.J.: *Urochloa panicoides* (liverseed grass) as a cause of nitrate poisoning. Aust. Vet. J., 56 (5): 256 (1980).
- 27.- Horner, R.F.: Suspected ammonium nitrate fertiliser poisoning in cattle. Vet. Rec., 110 (20): 472-474 (1982).
- 28.- Howsholder, G.T., Dollahite, J.W. and Hulse, R.: Diphenylamine for the diagnosis of nitrate intoxication. J. Am. Vet. Med. Ass., 148 (6): 662-665 (1966).

- 29.- Howard, J.L.: Current Veterinary Therapy: Food Animal - -
Practice. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1981.
- 30.- Jainudeen, M.R., Hansel, W. and Davison, K.L.: Nitrate --
Toxicity in dairy heifers. 2. Erythropoietic responses to
nitrate ingestion during pregnancy. J. Dairy. Sci., 47: - -
1382-1387 (1964).
- 31.- Jainudeen, M.R., Hansel, W. and Davison,
K.L.: Nitrate toxicity in dairy heifers. 3. Endocrine
responses to nitrate ingestion during pregnancy. J. Dairy
Sci., 48: 217-221 (1965).
- 32.- Jones, T.O. and Jones, D.R.: Nitrate/nitrite poisoning of
cattle from forage crops. Vet. Rec., 101 (13): 266-267
(1977).
- 33.- Kaspar, H. F. and Tiedje, J.M.: Dissimilatory reduction --
of nitrate in bovine rumen: nitrous oxide production and -
effect of acetylene. Appl. Environ. Microbiol., 41 (3): --
705-709 (1981).
- 34.- Kenneth, W., Marich, B.S. and Asbury, A.C.: A practical
method for the accurate determination of blood nitrite. --
Am. J. Vet. Res., 26: 1473-1476 (1965).
- 35.- Kingsbury, J.M.: Poisonous plants of the United States and
Canada, Prentice Hall Inc., Englewood Cliffs, N.J., 1964.
- 36.- Korzeniewski, A., Geurink, J.H. and Kemp, A.: Nitrate
poisoning in cattle. 5. The effect of tungsten on nitrate
formation by rumen microbes. Neth. J. Agric. Sci., 28 (1):
16-19 (1980).

- 37.- Lloyd, H.C. and Frederick O.W.: Plants poisonous to Livestock. 3rd. ed. Kansas State University Manhattan. Manhattan Kansas, 1968.
- 38.- Malestein, A., Geurink, J.H., Shuyt, G., Schotman, A.J.H., Kemp, A. and Van't Klooster, A.T.: Nitrate poisoning in cattle. 4. The effect of nitrite dosing during parturition on the oxygen capacity of maternal blood and the oxygen supply to the unborn calf. Vet. Q., 2 (3): 149-159 (1980).
- 39.- McIlwain, P.K. and Shipper I.A.: Toxicity of nitrate nitrogen to cattle. J. Amer. Vet. Med. Ass., 142: 502-505 (1963).
- 40.- Mitchell, G.E., Little, C.O. and Hayes, B.W.: Pre-intestinal destruction of vitamin A by ruminants fed nitrate. J. Anim. Sci., 26: 827-829 (1967).
- 41.- Morres, M.P., Cancel, B. and Gonzalez, M.A.: Toxicity of nitrates and nitrites to dairy cattle, J. Dairy Sci., 41: 694-695 (1958).
- 42.- Nicholls, T.J. and Miles, E.J.: Nitrate/nitrite poisoning of cattle on ryegrass pasture. Aust. Vet. J., 56 (2): 95-96 (1980).
- 43.- O'Hara P.J. and Fraser, A.J.: Nitrate poisoning in cattle grazing crops. N. Z. Vet. J., 23 (4): 45-43 (1975).
- 44.- Purcell, D.A., Raven, A.M. and Thompson, R.H.: High nitrogen grass cubes as a source of nitrite poisoning in cattle. Res. Vet. Sci., 12 (6): 598-600 (1971).

- 45.- Rodgers, P.A.M. and Hope Cawdery, M.J.: MOnensin Ketosis - and nitrate toxicity in cows. Vet. Rec., 106 (14): 311-312 (1980).
- 46.- Schmutz, E.M., Freeman, Bw. and Reed, R.E.: Livestock -- poisoning plants of Arizona. 2nd. ed. The University of - Arizona Press, Tucson, Arizona 1974.
- 47.- Schneider N.R. and Yeary, R.A.: Measurement of nitrite and nitrate in blood. Am. J. Vet. Res., 34 (1): 133-136 (1973).
- 48.- Seiler, R.J., Omar, A.R.S. and Salim N.: Nitrate poisoning in cattle fed Napier grass (*Penisetum purpureum*). Kajiar - Veterinar, 11: 10-13 (1979).
- 49.- Simon, J., Sund, J.M., Douglas, F.O. and Wright M.J.: Prevention of non infeccions abortion in cattle by weed control and fertilization practices on lowland pastures. - J. Am. Vet. Med. Assoc., 135: 315-317 (1959).
- 50.- Simon, J., Sund, J.M., Douglas, F.D., Wright, M.J. and -- Kowalczyk, T.: The effect of nitrite when placed in the - rumen of pregnant dairy cows. J. Am. Vet. Med. Assoc. 135: 311-314 (1959).
- 51.- Smith, H.S. and Jones, T.C.: Patologfa Veterinaria 2da. - ed. U. T. E. H. A., México, 1980.
- 52.- Smith, J.E. and Beutler, E.: Methemoglobin formation and - reduction in man and various animal species. Am. J. Phy-i- siol., 210: 347-350 (1966).

- 53.- Smith, J.E. and Beutler, E.. Reduced diphosphopyridine nucleotide-dependent diaphorase in foetal, newborn and --- adult cattle. Nature Lond., 211: 756-757 (1966)
- 54.- Suan, P.F.: The toxicology of nitrate/nitrite and N-Nitroso compounds. J. Sci. Food Agric., 26 (11): 1761-1770 - - (1975).
- 55.- Vasey, R.K.: Our panel reports on nitrate poisoning. Mod. Vet. Pract., 44: 52-54 (1963).
- 56.- Watt, H., Webster, M., Chappel, A. and Leaver, D.D.: Laboratory of nitrite poisoning in cattle in Victoria. Aust. Vet. J., 45: 590-591 (1969).
- 57.- Winter, A.J.: Studies on nitrate metabolism in cattle. Am. J. Vet. Res., 23: 500-505 (1962).
- 58.- Winter, A.J. and Kokansen, J.F.: Effect of long-term feeding of nitrate, nitrite or hydroxylamine on pregnant dairy heifers. Am. J. Vet. Res., 25: 353-361 (1964).
- 59.- Wood, P.A.: The molecular pathology of chronic nitrate intoxication in domestic animals: a hypothesis. Vet. Hum. Tox., 22 (1): 26-27 (1980).