

INTOXICACION POR NITRATO EN BOVINOS LECHEROS EN UNA PRADERA DE BALLICA ITALIANA (*Lolium multiflorum* var. *Tama*)

Roberto Parada N. (MV).

NITRATE TOXICOSIS IN DAIRY CATTLE GRAZING ON ANNUAL RYEGRASS

*Nitrate poisoning was diagnosed in two groups of dairy cattle grazing on a pasture of annual ryegrass (*Lolium multiflorum* var. *Tama*) during early spring. Group I (22 pregnant heifers) was introduced in the pasture while still hungry after transport; these animals suffered an acute disease and 4 heifers died. Group II (14 adult, pregnant cows), from the same barn, suffered a disease which was evidenced by exercise. Abortions occurred in both groups 48-96 hours after being introduced in the pasture; NO_3^- levels in this varied from 1,64 to 3,35% DMB. Diphenylamine spot test was strongly positive in urine and abomasal contents; the test was also strongly positive in aqueous humor and abomasal contents, but not as well in transudates, collected from aborted fetuses. Clinical implications of the problem are discussed.*

Los bovinos son más susceptibles que otros animales domésticos a la intoxicación por nitrato (o nitrato-nitrito), afección estrechamente vinculada al consumo de plantas forrajeras y silvestres que acumulan nitrato en forma circunstancial. En el rumen, el nitrato (NO_3^-) es reducido a amoníaco vía nitrito (NO_2^-); el nitrito puede acumularse y absorberse rápidamente, alcanzando altos valores circulantes, cuando el ingreso de nitrato al rumen sobrepasa la capacidad de los microorganismos ruminales para reducirlo a tasa similar (Winter y Hokanson, 1964).

Elevados niveles sanguíneos de nitrito provocan hipotensión arterial y transforman importantes cantidades de hemoglobina en metahemoglobina, lo que deprime significativamente el transporte de oxígeno a los tejidos (Vertregt, 1977). Aunque las características clínicas de la intoxicación por nitrato parecen depender de la combinación de distintos factores, se considera a la hipoxia tisular como el componente de mayor significación en tal sentido (Buck y Cols., 1982); cuando la afección ocurre en hembras gestantes, es posible que la deficiente transferencia de oxígeno al feto cause la muerte de

éste, presentándose aborto como consecuencia (Malestein y Cols., 1980).

En nuestro país la enfermedad se ha descrito asociada al consumo de avena forrajera (Peppel y Cols., 1981). En el presente trabajo se describe la ocurrencia de intoxicación por nitrato en dos grupos de bovinos lecheros que pastoreaban en una misma pradera de ballica italiana (*Lolium multiflorum* var. *Tama*), presentando la enfermedad diferentes características en ellos.

ANTECEDENTES CLINICOS Y PATOLOGICOS

A inicios de la primavera de 1986, en un predio lechero de la Región Metropolitana se recibieron 22 vaquillas Holandés Europeo, gestantes de 4-7 meses, transportadas desde la X Región; estos animales (grupo I), obviamente hambrientos, fueron introducidos de inmediato (17:30 horas) a una pradera de ballica italiana en rápido desarrollo, establecida el otoño precedente en un sector húmedo del predio. Desde 72 horas antes pastoreaban en la misma pradera 14 vacas adultas Holstein Friesian × Holandés Europeo, de la dotación del predio (grupo II), gestantes de 7-8 meses, que habían completado su período de lactancia; estos animales no consumían concentrado alguno. No se apreciaron manifestaciones de enfermedad durante una inspección realizada a las 19:30 horas del mismo día; no obstante, a

Departamento de Patología Animal.
Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias.
Universidad de Chile. Casilla 2, Correo 15.
Santiago. Chile.

primera hora del día siguiente se encontraron muertos dos animales del grupo I, apreciándose severamente enfermas a ocho vaquillas (de las cuales dos murieron durante el transcurso de la mañana, con síntomas de asfixia y convulsiones finales) y moderadamente afectados a los restantes miembros del grupo.

La enfermedad observada se caracterizó por depresión, disnea inspiratoria, hiperpnea, taquicardia y pulso débil, temblores musculares, hipersecreción salival, micción frecuente, ausencia de rumia, leve a moderada meteorización y evidencias de dolor abdominal; ataxia, nistagmo y postración se observaron en los casos más severos. Las mucosas se apreciaron de color oscuro y con un viso café; la sangre venosa presentó características similares, siendo el tono café particularmente evidente en los animales afectados con mayor severidad. Salvo en los animales que cursaran temblores intensos, la temperatura corporal se mantuvo dentro de los límites normales para la especie. Los miembros del grupo II no presentaron manifestaciones evidentes de enfermedad durante el reposo, aunque llamó la atención la tonalidad gris-café de sus mucosas; al ser arreados, estos animales mostraron disnea inspiratoria de progresiva severidad, hipersecreción salival y temblores crecientes, observándose su sangre de tonalidad menos oscura que en el grupo I.

Se realizó un prediagnóstico de intoxicación por nitrato y ambos grupos fueron trasladados a un corral. Todo el ganado recibió azul de metileno en solución 2% por vía endovenosa, en dosis de 10 mg/kg de peso corporal (Burrows, 1984) que se repitió a primera hora del día siguiente. Siendo ya notoria la mejoría de la enfermedad en todo el ganado, en tal momento se detectó el inicio de abortos en el grupo II, que afectaron a ocho animales y se prolongaron durante cinco días; los abortos se iniciaron 24 horas después en el grupo I y afectaron a todos sus miembros, prolongándose durante ocho días.

En la necropsia de las cuatro vaquillas que sucumbieron a la afección se apreciaron evidencias de profusa salivación y descarga nasal. Los pulmones se observaron uniformemente congestivos, encontrándose abundante líquido espumoso en tráquea y bronquios; petequias y equimosis se apreciaron en la mucosa traqueal, al igual que en epicardio y endocardio, observándose lesiones hemorrágicas de diversa magnitud en pleuras y peritoneo. La mucosa ruminal presentó zonas de hiperemia de tamaño variable; el contenido del órgano estaba mayoritariamente constituido por ballica. También se observó hiperemia en la mucosa del abomasum y del intestino delgado, especialmente del duodeno. La sangre, oscura y escasamente coagulable, se apreció de color rojo-café en los cadáveres de los

dos animales que murieron durante el transcurso de la mañana; el mismo color se detectó en la musculatura de uno de ellos.

Se realizó la necropsia de siete fetos, procedentes de ambos grupos, cuyas edades fluctuaron desde 4 meses hasta casi a término. La piel fetal se observó de intenso color púrpura, hallándose extensos edemas subcutáneos. Cantidades variables (100-750 ml, aproximadamente) de líquido serosanguinolento, a veces fibrinoso, fueron encontradas en pericardio, tórax y abdomen. Se observaron hemorragias subepicárdicas (especialmente en las aurículas) y subendocárdicas, que casi siempre se extendieron al miocardio subyacente. Zonas blanquecinas en forma de fino moteado, atribuidas a focos de degeneración, se apreciaron en el miocardio, corteza renal y parénquima hepático. El bazo, el hígado y los riñones presentaron consistencia friable, encontrándose fuertemente teñidos de hemoglobina. La placenta se apreció edematosa y de color purpúreo, presentando grados variables de necrosis cotiledonaria.

ANALISIS TOXICOLOGICOS

Al momento de la necropsia de las vaquillas se obtuvieron muestras de contenido abomasal, ruminal y de orina, en las que se investigó la presencia de nitrato y nitrito mediante la reacción de difenilamina, de tipo cualitativo (Housholder y Cols., 1966); como se aprecia en el cuadro 1, los resultados fueron consistentemente positivos en orina y contenido abomasal, aunque no en contenido ruminal. La misma reacción se realizó en muestras de transudados, contenido abomasal y humor acuoso de los fetos, dando resultados claramente positivos en las dos últimas. Los resultados fueron concordantes con los descritos en cuadros de intoxicación aguda por nitrato (Jones y Jones, 1977; Edwards y McCoy, 1980; Carrigan y Gardner, 1982).

La reacción de difenilamina se realizó también en muestras de agua procedentes de los bebederos utilizados por el ganado afectado, arrojando resultados negativos. Por otra parte, utilizando un electrodo específico para NO_3^- (Paul y Carlson, 1968), se investigó la concentración de nitrato en muestras de pasto obtenidas de cinco sitios muestrales de la pradera problema; los niveles encontrados fluctuaron entre 1,64 y 3,35% MS (en equivalencia de NO_3^-), superando el valor de 1,5% MS que se considera peligroso para los bovinos (Harris y Rhodes, 1969).

DISCUSION

Aunque la intoxicación por nitrato puede confundirse con afecciones diversas, las características

CUADRO I
 RESULTADOS DE LA REACCION DE DIFENILAMINA EN MUESTRAS
 PROVENIENTES DE VAQUILLAS Y FETOS¹

Vaquilla N°	Orina	Cont. Abomasum	Cont. Rumen
1	+++	+++	-
2	+++	+++	+
3	++	++	-
4	+++	+++	-

Feto N°	Humor Acuoso	Cont. Abomasum	Transudado
1	+++	+++	++
2	+++	++	+
3	+++	+++	+++
4	+++	++	+
5	NSR*	++	++
6	+++	++	-
7	+++	+++	+

¹Reacción negativa (-), sospechosa (+), débilmente positiva (++) y fuertemente positiva (+++).

*NSR: no se realizó la reacción.

clínicas y patológicas del problema orientaron tempranamente el diagnóstico hacia dicha enfermedad. Al respecto, vale la pena enfatizar el hallazgo de sangre de tonalidad rojo-café en animales enfermos y muertos, así como la presencia de idéntica coloración en la musculatura de una vaquilla que sucumbiera a la afección, por cuanto constituyen indicadores de que una elevada cantidad de hemoglobina ha sido transformada en metahemoglobina (Jones y Jones, 1977); por otra parte, la respuesta positiva del ganado enfermo a la terapia con azul de metileno y la detección de nitrato y nitrito en muestras provenientes de cadáveres contribuyeron a confirmar la identidad del problema (Buck y Cols., 1982).

Por cuanto la reacción de difenilamina es sensible a niveles de nitrato y nitrito mucho menores que los necesarios para producir intoxicación en los rumiantes (O'Hara y Fraser, 1975), el resultado negativo de la reacción en el agua de bebida permitió descartar a ésta como origen del problema; por otra parte, no existieron indicios de que los animales hubiesen tenido acceso a salitre u otros fertilizantes nitrogenados, cuyo consumo accidental puede también desencadenar intoxicación por nitrato. Sin embargo, los niveles de nitrato hallados en la ballica son altos y representan una fuente cierta de intoxicación, máxime al considerar que los animales no recibían otro alimento. Esta situación resulta interesante pues, aunque la intoxicación por nitrato se describe asociada con mayor frecuencia al consumo de cereales que de otras plantas forrajeras, diversas ballicas —incluida *Lolium multiflorum* var. *Tama*— han causado la afección en Australia y

Nueva Zelanda (Harris y Rhodes, 1969; O'Hara y Fraser, 1975; Nicholls y Miles, 1980).

Si se considera que la pradera se había establecido en un terreno húmedo, que éste se había fertilizado con nitrógeno para tales efectos, y que la ballica se encontraba en desarrollo primaveral, condiciones que favorecen la acumulación de nitrato por los vegetales (Wright y Davison, 1964), no es sorprendente que los valores encontrados en el forraje sobrepasaran los márgenes para un pastoreo seguro del ganado; es posible que aun el menor valor encontrado (1,64%) produzca la intoxicación si es consumido en tiempo breve por animales no acostumbrados a una ingesta elevada de nitrato (Winter y Hokanson, 1964). Resulta fácil comprender, entonces, que los animales del grupo I —introducidos hambrientos a la pradera— hayan sufrido una intoxicación severa en forma rápida; no así los miembros del grupo II que, por provenir del establo del mismo predio, ingresaron a la pradera en condiciones distintas a las del grupo I y pastorearon pausadamente en ella. No obstante, la coloración gris-café que se observara en las mucosas de los miembros del grupo II durante el reposo hace suponer que no menos del 20% de la hemoglobina había sido transformada en metahemoglobina (Geurink y Cols., 1982) y, no siendo ésta normalmente superior a 2% (Jaffé, 1974), es válido pensar que los animales de este grupo hicieran una forma del problema inaparente durante el reposo.

Merece comentario aparte la ocurrencia de aborto en ambos grupos, por cuanto se trata de un signo que ha sido motivo de prolongada controversia; sin embargo, su presentación 48-96 horas después de

ingresar los animales a la pradera, el tipo de lesiones observadas en los fetos y la detección de nitrato y nitrito en muestras de humor acuoso y contenido abomasal de éstos señalan el origen tóxico del aborto con razonable certeza. Si bien, evidencias analizadas por Emerick (1974) tienden a señalar que la muerte fetal ocurre cuando la metahemoglobina materna se aproxima a los niveles necesarios para desencadenar una intoxicación grave, ello contrasta con la presentación de abortos en hembras que han manifestado sólo formas moderadas o leves del problema, e incluso que han cursado la intoxicación en forma inaparente (Edwards y MacCoy, 1980; Carrigan y Gardner, 1982).

Investigaciones de Miyazaki y Kawashima (1974) señalan que la severidad de la afección no se encuentra bien correlacionada con el nivel de metahemoglobina circulante y, siendo ya claro que la hipoxia tisular no constituye el único determinante para la presentación, curso y eventual desenlace fatal del problema, es también posible que la hipoxia tisular no resulte el único factor involucrado en la muerte fetal (O'Hara y Fraser, 1975). En todo caso, como lo ejemplifica la situación ocurrida en el grupo II, el aborto de hembras intoxicadas con nitrato en forma inaparente constituye una posibilidad que deberá considerarse al investigar la causa de aborto no infeccioso en bovinos.

RESUMEN

Se describe la ocurrencia de intoxicación por nitrato en dos grupos de bovinos lecheros que pastoreaban en una pradera de ballica italiana (*Lolium multiflorum* var. *Tama*) a inicios de primavera. El grupo I (22 vaquillas preñadas), introducido hambriento a la pradera tras un largo viaje, sufrió una forma aguda del problema y murieron cuatro animales; el grupo II (14 vacas gestantes, secas parto), procedentes del mismo predio, hizo una forma de la afección que fuera revelada por el ejercicio. En ambos grupos ocurrieron abortos 48-96 horas después de iniciar el pastoreo en la pradera problema, encontrándose en ésta valores de NO_3^- fluctuantes entre 1,64 y 3,35% MS. La reacción de difenilamina resultó claramente positiva en orina y contenido abomasal de vaquillas muertas, aunque no en contenido ruminal; resultados claramente positivos se apreciaron en humor acuoso y contenido abomasal, y menos claros en transudados, obtenidos de fetos. Se discuten las implicaciones clínicas del caso.

REFERENCIAS

- BUCK, W.B., G.A. OSWEILER, G.A. VAN GELDER. Clinical and Diagnostic Veterinary Toxicology. 2ª ed. Kendall/Hunt Publishing Company, Dubuke, 1982.
- BURROWS, G.E. Methylene blue: effects and disposition in sheep. *Vet. Pharm. Ther.* 7: 225-231, 1984.
- CARRIGAN, M.J., I.A. GARDNER. Nitrate poisoning in cattle fed sudax (*Sorghum* sp. hybrid) hay. *Aust. vet. J.* 59: 155-157, 1982.
- EDWARDS, W.C., C.P. MCCOY. Nitrate poisoning in Oklahoma cattle. *Vet. Med. Small An. Clin.* 75: 457-458, 1980.
- EMERICK, R.J. Consequences of high nitrate levels in feed and water supplies. *Fed. Proc.* 33: 1183-1187, 1974.
- GEURINK, J.H., A. MALESTEIN, A. KEMP, A. KORZENIOWSKI, A. VAN 'T KLOOSTER. Nitrate poisoning in cattle. 7. *Prevention. Neth. J. Agric. Sci.* 30: 105-113, 1982.
- HARRIS, D.J., H.A. RHODES. Nitrate and nitrite poisoning in cattle in Victoria. *Aust. vet. J.* 45: 590-591, 1969.
- HOUSHOLDER, G.T., J.W. DOLLAHITE, R. HULSE. Diphenylamine for the diagnosis of nitrate intoxication. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 148: 662-665, 1956.
- JAFFE, E.R. The formation and reduction of methemoglobin in human erythrocytes. In: Yoshikawa, H. y Rapoport, S.M. (eds.) *Cellular and Molecular Biology of Erythrocytes*. Baltimore University Park Press, 1974. pp. 345-376.
- JONES, T.O., D.R. JONES. Nitrate/nitrite poisoning of cattle from forage crops. *Vet. Rec.* 101: 266-267, 1977.
- MALESTEIN, A.J., G. GEURINK, A.J. SCHUYT, A. SCHOTMAN, A. KEMP, A. VAN 'T KLOOSTER. 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: 149-159, 1980.
- MIYAZAKI, A., R. KAWASHIMA. Effects of methemoglobin formation in blood on liver function of sheep. *Jpn. J. Zoot. Sci.* 45: 233-238, 1974.
- NICHOLLS, T.J., E.J. MILES. Nitrate/nitrite poisoning of cattle on ryegrass pasture. *Aust. vet. J.* 56: 95-96, 1980.
- O'HARA, P.J., A.J. FRASER. Nitrite poisoning in cattle grazing crops. *N.Z. vet. J.* 23: 45-53, 1975.
- PAUL, J.L., R.M. CARLSON. Nitrate determination in plant extracts by the nitrate electrode. *J. Agric. Food. Chem.* 16: 766-768, 1968.
- PEPPEL, G., F. ZATTERA, H. VILLEGAS. Intoxicación por nitritos en ganado lechero bajo régimen de pastoreo en avena forrajera. *Sociedad Chilena de Producción Animal 6ª Reunión Técnica Anual*. 1981 (Resumen 35).
- VERTREGT, N. The formation of methemoglobin by the action of nitrite of bovine blood. *Neth. J. Agric. Sci.* 25: 243-254, 1977.
- WINTER, A.J., J.F. HOKANSON. Effects of long-term feeding of nitrate, nitrite, or hydroxylamine on pregnant dairy heifers. *Am. J. Vet. Res.* 25: 353-361, 1964.
- WRIGHT, M.J., K.L. DAVISON. Nitrate accumulation in crops and nitrate poisoning in animals. *Adv. Agron.* 16: 197-247, 1964.

Recibido diciembre 1986, aprobado abril 1987.