

KOYUNLARDA DENEYSEL NİTRİT ZEHİRLENMELERİNİN LABORATUVAR
VE KLİNİK BULGULARIYLA, SAĞALTIMDA METİLEN MAVİSİ'NİN
KULLANILMASI ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR

Hikmet Ünsüren¹

Bahri Emre²
Arif Kurtdede⁴

M. Besim Özlem³

Investigations on the laboratory and clinical findings of experimental nitrite poisoning and the usage of methylene blue in therapy

Summary: *This investigation was carried out to determine the correlation between clinical and haematological findings in acute nitrite poisoning and also to determine the effectiveness of methylene blue in the treatment of this intoxication.*

In the present study, 15 sheep were used, three of these animals were used as controls. Before the start of the experimental investigation, the animals were examined generally. 10 % solution of potassium nitrite (KNO₂) at 400 mg / kg was given into the rumen via a catheter.

Blood samples were taken from the sheep before the experiment and on the 2nd, 3rd and 25th hours after the beginning of the experiment. Serum nitrite, sodium and potassium levels and blood methaemoglobin and bicarbonate values were determined in the samples.

Thus, treatment with methylene blue at a concentration of 4 % (4 mg / kg) was found to be an immediate and effective antidote for nitrite intoxications as it causes an improvement in the clinical symptoms of poisoning and a rectification of laboratory tests.

Özet: *Araştırma, akut nitrit zehirlenmesi durumlarında gözlenen klinik bulguların, hematolojik bulgular ile karşılaştırılması ve tedavide metilen mavisinin etkinliğinin araştırılması amacıyla yapıldı.*

1 Prof. Dr., A.Ü. Vet. Fak. İç Hastalıklar Anabilim Dalı, Ankara.

2 Doç. Dr. A.Ü. Vet. Fak. Fizyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

3 Yrd. Doç. Dr. A.Ü. Vet. Fak. İç Hastalıklar Anabilim Dalı, Ankara.

4 Doç. Dr., A.Ü. Vet. Fak. İç Hastalıklar Anabilim Dalı, Ankara.

Araştırmada üçü kontrol olmak üzere 15 adet koyun kullanıldı. Deneysel çalışmaya başlamadan önce hayvanların genel muayeneleri yapıldı. Koyunlara 400 mg / kg dozda % 10'luk potasyum nitrit (KNO₂) sondayla rumen içi verildi.

Koyunlardan deneme öncesi ve denemenin 2, 3. ve 24. saatlerinde kan alınarak serum nitrit ile sodyum, potasyum düzeyleri, kan methe-moglobin ve bikarbonat miktarları belirlendi.

Metilen mavisinin verilmesi ile klinik zehirlenme belirtilerinde ve laboratuvar muayeneleri sonuçlarında belirgin bir düzelmenin görülmesi (tablo), % 4'lük metilen mavisinin (4 mg / kg) nitrit toksikasyonlarında acil ve etkili bir antidot olduğunu ortaya koymuştur.

Giriş

Nitrit zehirlenmesi insan ve hayvanlarda fazla miktarda nitrat ve nitrit içeren su ve gıdaların ağız yoluyla alınması, bazen de solunum yolu ile nitrogen gazlarının inhalasyonu sonucu ortaya çıkmaktadır (10, 21, 28). Nitrat ve nitrit zehirlenmesi hakkında ilk bilgiler 1793 yılında bizmut-subnitrat verilen insanlara ve 19. yüzyılda sodyum nitrat ile gübrelenmiş meralarda otlayan sığırlara ilgilidir (10). Daha sonraki yıllarda nitrat zehirlenmelerine sık olarak rastlandığı belirtilmekte ve konu üzerinde deneysel çalışmaların yapıldığı gözlenmektedir (8, 9, 18). Evcil hayvanların nitrat zehirlenmesine karşı duyarlılıkları farklıdır. En duyarlı hayvan domuz olup bunu koyun, sığır ve at izlemektedir (25, 32).

Nitritler nitratlardan 10-15 kat daha zehirlidirler (25, 32). Damar içi nitrat verildiğinde kanda methemoglobin ve nitrit iyonuna rastlanmadığı, klinik zehirlenme tablosunun görülmediği belirtilmektedir (20). Nitritler rumen içi (26, 27, 34), damar içi (5, 26, 27), periton içi (8, 17) ve deri altı (17) verildiğinde veriliş yolu, doz ve bireysel faktörlere (25, 28, 36) bağlı olarak farklı zehirlenme belirtilerinin ortaya çıktığı bildirilmektedir.

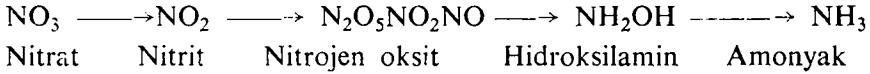
Potasyum nitrit rumen içi 156 mgr / kg (38) ve 166 mgr / kg (26) dozda verildiğinde akut zehirlenme belirtilerinin görüldüğü fakat ölümün meydana gelmediği, 400 mgr / kg dozda (34) verildiğinde ise 2,5-3 saatte hayvanların öldüğü saptanmıştır.

Tablo 1. KNO₂ verilen koyunlara ait methemoglobin (%) kan bikarbonat (Meq / l) ile serum nitrit (µg / 100 ml) ve serum sodyum-potas-yum (Meq / l) değerleri. n=12

| | Denemeden önce | Denemeden 2 saat sonra (tedavi) | Denemeden 3 saat sonra | Denemeden 24 saat sonra |
|---|--------------------------------|---|---|---|
| Methemoglobin X ± Sx Xmin — Xmax | 6.23 ± 0.84 0.52 — 9.70 | 90.99 ¹ ± 1.33 82.40 — 96.80 | 28.54 ² ± 2.32 16.50 — 41.70 | 4.35 ⁴ ± 0.41 1.90 — 6.90 |
| Kan Bikarbonat X ± Sx Xmin — Xmax | 23.85 ± 1.94 17 — 28 | 15.86 ¹ ± 1.46 10.3 — 24.5 | 18.86 ² ± 1.44 11.7 — 28.5 | 24.26 ⁴ ± 0.65 21.4 — 29.3 |
| Serum Nitrit X ± Sx Xmin — Xmax | 19.16 ± 2.3 8 — 43 | 884.16 ¹ ± 27.1 760 — 990 | 692.50 ³ ± 41.5 370 — 920 | 29.91 ⁴ ± 5.6 11 — 54 |
| Serum Sodyum X ± Sx Xmin — Xmax | 140.91 ± 3.94 115.2 — 156.6 | 143.85 ³ ± 3.69 124.8 — 167.4 | 142.63 ³ ± 3.71 121.8 — 163.5 | 144.54 ³ ± 2.34 133.6 — 156.6 |
| Serum Potasyum X ± Sx Xmin — Xmax | 3.53 ± 0.24 2.30 — 4.80 | 3.72 ³ ± 0.29 2.43 — 4.96 | 3.13 ³ ± 0.26 1.92 — 4.48 | 3.33 ³ ± 0.18 2.56 — 4.25 |

1. P < 0.001, deneme öncesi ile 2. saat arası farklılık.
2. P < 0.001, denemenin 2. saati ile tedavinin 1. saati arası farklılık.
3. P < 0.001, deneme öncesi ile 3. saat arası farklılık
4. P > 0.05, deneme öncesi ile 24. saat arası farklılık.
5. P > 0.05, deneme öncesi ile 2., 3. ve 24. saat arası farklılık.

Nitratlar ağız yolu ile alındığında sindirim kanalı mukozasında kostik etki oluştururlar (29). Kendileri çok az zehirli bir madde olan nitratlar rumende fauna yardımıyla amonyağa indirgenirken ara metabolizma ürünü olarak şekillenen nitrit iyonu vasıtasıyla zehirlenmeye neden olurlar (9, 10, 26, 28). Rumen içeriğinin pH'sı infusoria sayısı ve bazı iz elementlerin düzeyinin nitratın nitrite redüksiyonunda önemli rol oynadığı rapor edilmektedir (30, 36). Bu reaksiyon aşağıda gösterildiği gibi gelişir (9).



Mide barsak kanalından emilen nitritler hemoglobinin yapısında bulunan ferro şeklindeki demiri ferri şekline indirgeyerek hemoglobin ile birleşir ve methemoglobin şekillenir (3, 32). Böylece eritrositler oksijen bağlama niteliğini kaybederler. Oluşan methemoglobin miktarı nitritin dozu, veriliş yolu ve bireysel faktörlere göre değişiklik göstermektedir (16). Methemoglobin miktarı ile kan serum nitrit düzeyi arasında pozitif bir ilişki olduğu rapor edilmektedir (33, 34).

Kan methemoglobin düzeyindeki artış ile klinik belirtilerin ortaya çıkışı ve şiddeti doğru orantılıdır (32). Gözlenen klinik bulgular durgunluk, iştahsızlık, rumen hareketlerinde azalma, salivasyon, dış gıcirtısı, konjunktivalarda siyanoz, solunum ve nabız sayısında artış, solunum güçlüğü, midriasis, sancı, titreme, tonik ve klonik konvülsiyonlar, sendeleme, yere düşme ve sonuçta ölümdür (10, 17, 27, 32, 34, 37). Nitrit zehirlenmelerinde ölüm nedeni olarak hipoksi gösterilmektedir (39).

Oksijen yetersizliği durumunda respiratorik alkalozis olduğundan kan pH'sı yükselir, HCO_3^- düzeyi düşer, Na^+ ve K^+ atılımı artar (14, 31).

Ölen hayvanların otopsilerinde kanın çukolata renginde, etin koyu renkte olduğu, sindirim sistemi mukozasında hiperemi, karaciğer ve böbreklerde konjesyon, akciğerlerde anfizem, perikard, endokard, trakea ve seroz zarlarda peteşiel kanamalar gözlenir. Histopatolojik olarak karaciğerde sentrilobuler nekroz, böbrek tubuluslarında dejenerasyon ve bronş duvarlarında lenfosit infiltrasyonu görülür (21, 32, 34, 39).

Klinik bulgular ve kanın koyu kırmızıdan kahverengine kadar değişen renkte olması nitrit zehirlenmesini düşündürür. Kesin tanı

kan nitrit konsantrasyonu ve methemoglobin miktarının belirlenmesi, mide içeriği, gıda örnekleri ve içme sularının toksikolojik analizleriyle ortaya konur (22, 23).

Akut nitrit zehirlenmesinde tedavi hipoksinin ortadan kaldırılması amacına yöneliktir (32, 39). Metilen mavisinin methemoglobinin hemoglobine dönüşümünde etkili bir antidot olduğu rapor edilmiştir (3).

Buck ve arkadaşları (4), yüksek düzeyde methemoglobinemi (% 75) belirlenen hayvanlarda 4 mgr / kg dozda metilen mavisinin bu durumu ortadan kaldırdığına, daha hızlı bir düzelme için dozun artırılması gerektiğini belirtmişlerdir.

Burrow (6) şiddetli methemoglobinemi durumlarında metilen mavisinin 15-22 mg / kg dozda kullanılabileceğini bildirmiştir.

Tedavide tolonyum klorür (5), menadion, askorbik asit (39) ve toluidin mavisi (23) metilen mavisine alternatif olarak sunulmaktadır.

Materyal ve Metot

Bu araştırmada 1 yaşlı 15 adet koyun kullanıldı. Deneme öncesi numaralandırılan koyunlardan 3'ü kontrol olarak ayrıldı. Araştırmanın başlamasından 15 gün önce iç ve dış parazitlere karşı ilaçlama yapıldı. Hayvanlar koyun besi yemi ve kuru otla beslendi, önlerinde yeterli miktarda devamlı su bulunduruldu. Deneysel çalışmaya başlamadan önce hayvanların sistemik klinik muayeneleri yapıldı (1).

Potasyum nitrit (Merck) 400 mg / kg dozda % 10 solusyon halinde sondayla rumen içine verildi. Klinik belirtilerin başlama zamanı ve nitelikleri kaydedildi. Kontrol olarak bırakılan üç koyun hariç diğerlerine belirtilerin en şiddetli olduğu 2. saatte % 4'lük metilen mavisi 4 mg / kg doza intravenöz verildi. Bunun yanısıra hayvanlara 2 ml Kafein-Vet (Eczacıbaşı) intramuskuler uygulandı.

Hematolojik çalışmalar için kullanılan tüm araçlar tekniğine uygun olarak temizlendi (24). Kan örnekleri deneme öncesi, denemeden iki saat sonra (kan alındıktan hemen sonra tedavi başlatıldı), tedavi uygulamasından bir saat sonra ve denemenin 24. saatinde olmak üzere dört kez heparinli şişelere alındı.

Nitrit düzeylerinin tesbitinde, cıva klorür eriyiği ile proteinleri çöktürülen serum santrifüje edildi. Gerekli işlemler yapıldıktan sonra oluşan renk 10 dakika ile iki saat içerisinde 520 nm'de spektrofotometrede ölçüldü. Standart eğri, 1 ml serumda bilinen nitrit konsantrasyonuna göre hazırlanarak, serumdaki nitrit düzeyleri saptandı (7).

Kan örnekleri, laboratuvarında methemoglobin tayini yapıncaya kadar geçen sürede, eritrositlerdeki methemoglobini hemoglobine indirgeyen mekanizmaları (35, 38) durdurmak amacıyla M / 60 phosphate buffer'i ile muamele edildi. Bu amaçla 0.2 ml kan alınarak M / 60 phosphate buffer ile 10 ml'ye tamamlandı. Bu şekilde sulandırılan kan içinde bulunan methemoglobin düzeyleri 25°C'de 6 saat, 5°C'de 2 güne kadar sabit kalabiliyordu (35). Methemoglobin düzeyleri Evelyn-Malloy metoduna göre spektrofotometrede (Shimadzu digital spectrophometer UV-150, KYOTO-JAPAN) (13), kan HCO_3^- değerleri değerleri kan gazları analiz aygıtı (Radiometer BMS 3Mk2 Copenhagen DENMARK) ile, kan serumu Na^+ ve K^+ iyonu değerleri ise flamefotometre (12) ile yapıldı.

Bulunan değerlerin istatistik hesaplarında eşlemeye dayalı "t" testi uygulandı (11).

Bulgular

Klinik bulgular: Araştırmada kullanılan koyunlarda KNO_2 'in rumen içine verilmesinden yarım saat sonra durgunlaşma, iştahsızlık, solunum ve nabız sayısında artış, bir saat sonra ağız mukozası ile göz konjunktivasında siyanoz, sendeleme, sancı, tutuk yürüme, yere düşme, tonik ve klonik konvülziyonlar, diş gıcirtısı ve salyada artma gözlemlendi. Bu belirtiler denemenin ikinci saatinde şiddetlendi ve tedaviye başlandı. Tedaviden 15 dakika sonra hayvanların sakinleştiği yardımsız ayakta durabildikleri, zamanla siyanozun azalmaya başladığı ve yaklaşık altı saat sonra nabız ve solunum sayılarının normale yaklaştığı, siyanozun hafiflediği kaydedildi. Tedaviden 7-8 saat sonra hayvanların yeme ve suya karşı iştahlı oldukları saptandı.

Laboratuvar bulgular: Denemeye alınan hayvanlarda kan serumunda belirlenen ortalama nitrit ve sodyum-potasyum değerleri ile kan methemoglobin ve bikarbonat iyonu değerleri tablo'da gösterildi.

Otopsi Bulguları: Kanın çukolata renginde olduğu, rumen, abomazum ve barsak mukozalarında hiperemi karaciğer ve böbreklerde

konjesyon, seröz zarlarda, trachea mukozasında ve perikartda peteşiler, akciğerlerde ödem belirlendi. Histopatolojik olarak karaciğerde damarlar ve sinüsoidler eritrositlerle dolu idi. Akciğerlerde damarların dolgun ve alveollerin ödemli olduğu dikkati çekiyordu. Bazı sahalarda alveol duvarları kalınlaşmıştı. Bronşioller etrafında mononükleer hücre infiltrasyonu vardı.

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada nitratların rumende nitrite dönüşümünü etkileyen faktörleri (19, 26) ortadan kaldırmak ve akut zehirlenme oluşturmak amacıyla KNO_2 rumen içi verildi.

Potasyum nitritin 156 mg / kg (38) ve 166 mg / kg dozda rumen içi verildiğinde akut zehirlenme olduğu fakat ölüme neden olmadığı (26), 400 mg / kg dozda aynı yolla verildiğinde 2.5–3 saat içinde ölüme yol açtığı bildirilmektedir (34). Bu çalışmada literatür bilgilerinin ışığında 400 mg / kg dozda rumen içi KNO_2 verildi ve tedavisiz, kontrol olarak bırakılan 3 koyun 2–2.5 saat içinde öldü. Ölen hayvanlardaki otopsi bulguları, çeşitli araştırmacıların bildirimlerine (14, 21, 32, 34) uymaktadır.

Akut nitrit zehirlenmelerinde bildirilen klinik bulgular (2, 32), bu araştırmanın yapıldığı 15 koyunda KNO_2 'nin % 10 luk solüsyon halinde rumen içi verilmesinden yaklaşık yarım saat sonra başladığı, 1.5–2 saat sonra semptomların şiddetlendiği ve hayvanların ayağa kalkamaz duruma geldikleri saptandı. Semptomların ortaya çıkışında en önemli rolü oynayan methemoglobin miktarındaki artış ile kan nitrit düzeyindeki artış arasında pozitif bir ilişki olduğu belirtilmektedir. (5, 15, 40).

Rumen içi 400 mg / kg dozda KNO_2 verilen koyunlarda semptomların şiddetlendiği dönemde belirlenen ortalama methemoglobin değerinin (tablo) Sinclair ve Jones'un (34) aynı dozda ve aynı yolla KNO_2 verdikleri koyunlardan elde ettikleri methemoglobin değerinden yüksek olduğu saptandı. Bu araştırmacıların yaptığı çalışmada methemoglobinin en yüksek düzeye çıktığı anda (% 94) kan nitrit düzeyi 610 μ gr / 100 ml olduğu halde, 15 koyunda yapılan bu çalışmada methemoglobin düzeyi % 90.99'a çıktığında serum nitrit miktarı 884.16 μ gr / 100 ml olarak belirlendi. Aynı miktarda ve aynı yolla KNO_2 verilen bu iki çalışmada kan nitrit düzeylerinin farklı bulunması, hayvanların bes-

lenme şartlarına, kandaki bazı mineral madde düzeylerindeki değişikliklere ve nitritin vücutta uğradığı metabolik reaksiyonların bireylere göre farklılık göstermesine (28, 36) bağlanabilir.

Denemenin ikinci saatinde HCO_3^- değerinde belirlenen düşüş, literatür bilgilerine uymaktadır (14, 31). Na^+ ve K^+ ölçümleri sonuçları, Ishigami ve Inoue'nin (20) bu iyonlarda önemli bir değişiklik görülmeyeceği, bildirimlerine uyarken, Dollahite ve ark. nin (10) potasyum iyonunda belirledikleri düşüşe uymamaktadır. K^+ 'daki düşüşün çoğunlukla uzun süreli olaylarda rastlanacağı bildirim (31) gözönünde tutulduğunda, akut nitrit zehirlenmesinin oluşturulduğu bu denemede 2.5 saatlik bir sürede K^+ da bir düşüşün gözlenmemesi normal sayılabilir.

Akut nitrit zehirlenmesinde en etkin tedavinin metilen mavisi ile yapılacağı bildirimlerine (5, 27, 37) uygun olarak bu çalışmada klinik semptomların şiddetlendiği 2. saatte 4 mg / kg dozda % 4'lük metilen mavisi damar içi verildi. Uygulamadan sonra gözlenen iyileşme belirtileri araştırmacıların bildirimlerine (5, 23, 27) uymaktadır. Tedavinin başlangıcından bir saat sonra alınan kan örneklerinde tabloda görüldüğü gibi methemoglobin düzeyinin ortalama % 28.54'e düşmesi tedavinin etkinliğini doğruladığı kanısındayız.

Oluşturulan deneysel akut nitrit zehirlenmesinde methemoglobin düzeyinin % 90.99'a ulaştığı dönemde tedavisiz bırakılan üç koyunun şiddetli zehirlenme belirtileri göstererek ölmesine karşın, 12 koyuna % 4'lük metilen mavisi 4 mg / kg dozda verilerek tedavi edilmesi, metilen mavisinin nitrit zehirlenmesinde acil ve etkili bir antidot olduğunu ortaya koymuştur. Metilen mavisinin kasaplık hayvanlarda etkin kalitesi üzerine yaptığı olumsuz etkilerin (38) gözönünde tutulduğu durumlarda, tedavide diğer antidotların denenmesinin yararlı olacağı kanısına varıldı.

Kaynaklar

1. Altan, Y., Şendil, Ç. (1983): "İç hastalıklar kliniğine giriş". İ.Ü. Vet. Fak. Yayınları. İstanbul.
2. Asbury, A.C., and Rhode, E.A. (1964): Nitrite intoxication in cattle the effects of lethal doses of nitrite on blood pressure. Am. J. Vet. Res, 25: 1010--1013.
3. Bodanski, O. (1951): Methemoglobinemia and methemoglobin-producing compounds. Pharm. Rev., 3: 144--196.

4. **Buck, W.B., Osweiler, G.D. and Van Gelder, G.A.** (1976): "*Clinical and Veterinary Toxicology*". 2 nd ed. Publishing Company. Dubuque, Iowa.
5. **Burrows, G.E.** (1979): *Methylene blue or tolonium chloride antagonism of sodium nitrite induced methemoglobinemia*. J. Vet. Pharmacol. Therap., 2: 81—86.
6. **Burrows, G.E.** (1984): *Methylene blue effects and disposition in sheep*. J. Vet. Pharmacol. Therap., 7 (3): 225—231.
7. **Diven, E.H., Pistor, W.J., Reed, R.E., Trautman, R.S., Watts, R.E.** (1962): *The determination of serum or plasma nitrate and nitrite*. Am. J. Vet. Res., 23: 497—499.
8. **Diven, E.H., Reed, R.E., Pistor, W.J.** (1964): *The physiology of nitrite poisoning in sheep*. Ann. N.Y. Acad. Sci., 111: 638—643.
9. **Diven, E.H., Reed, R.E., Trautman, R.J., Pistor, W.J. and Watts, R.E.** (1962): *Experimentally induced nitrite poisoning in sheep*. Am. J. Vet. Res., 23: 494—496.
10. **Dollahite, J.W., Holt, E.C.** (1969): *Nitrate poisoning*. The Southwestern. Vet., 23 (1): 23—28.
11. **Düzgüneş, O.** (1963): "*Bilimsel araştırmalarda istatistik prensipleri ve metodları*". Ege Üniversitesi Matbaası, İzmir.
12. **Ersoy, E. ve Şentürk, R.** (1963): *Flamefotometrik metotla Lalahan Zootečni Araştırma Enstitüsü normal Ankara keçilerinde kan serumunun sodyum, potasyum kıymetleri üzerinde araştırmalar*. A.Ü. Vet. Fak. Derg., 10: 1—4.
13. **Evelyn, K.A. and Malloy, H.T.** (1938): *Microdetermination of oxy-hemoglobin methemoglobin and sulfhemoglobin in a single sample of blood*. J. Biol. chem., 125: 655—662.
14. **Ganong, W.** (1971): "*Medical physiology*". Lange medical publications, California.
15. **Geurink, J.H., Malestein A., Kemp, A., Klooster, A.T.** (1979): *Nitrate poisoning in cattle. 3. The relations between nitrate intake with hay or fresh roughage and the speed of intake on the formation of methemoglobin*. Neth. J. of Agric. Sci., 27 (4): 268—276.
16. **Haliburton, J.C. and Edwards, W.C.** (1978): *Nitrate poisoning in Oklahoma cattle during the winter of 1977—1978*. Veterinary and Human Toxicology. 20: 401—403.
17. **Helwig, D.M., Setchell, B.P.** (1960): *Observations on the diagnosis of nitrite poisoning in sheep*. Aust. Vet. J., 36: 14—17.
18. **Holtenius, P.** (1957): *Nitrite poisoning in sheep, with special reference to the detoxification of nitrite in the rumen: An Experimental study*. Acta, Agric. Scand., 7: 113—163.
19. **Housholder, G.T., Dollahite, J.W., Roselyn, H.M.** (1966): *Diphenylamine for the diagnosis of nitrate intoxication*. JAVMA; 148 (1): 662—665.
20. **Ishigami, K. and Inoue, K.** (1976): *Metabolism nitrate and methemoglobinemia in ruminant*. Res. Bull. Obihiro. Uni., 10: 45—55.
21. **Johannsen, U. and Kühnert, M.** (1969): *Diagnostische Probleme der nitrat-nitrit-vergiftung der rinder*. Für. Arch. Exp. Vet. Med. 375—383.
22. **Kaya, S.** (1985): *Yem ve yem hammaddelerinde nitrat ve nitritler*. A.Ü. Vet. Fak. Derg., 32 (3): 507—515.

23. Kiese, M., Lörcher, W., Weger, N. and Zicrer, A. (1972): *Comparative studies on the effects of toluidine blue and methylene blue on the reduction of ferrihemoglobin in man and dog.* European Jour. Clin. Pharmacol., 4: 115—122.
24. Konuk, T. (1975): "Pratik Fizyoloji", A.Ü. Vet. Fak. Yay. A.Ü. Basımevi. Ankara.
25. Kühnert, V.M. (1981): *Neuere erkennt nisse der nitrat/nitrit und der ammoniak-vergiftung bei wieder kauern.* Mh. Vet. Med., 36: 34—36.
26. Lewis, D. (1951): *The metabolism of nitrate and Nitrite in sheep.* Biochem. J., 48: 175—179.
27. Matsumato, H., Kariya, V., Eurukawa, R. and Suenaga, K. (1977): *Clinicophysiological studies on nitrate poisoning in ruminant.* Electrocardiogram and EEG of sheep during experimental acute poisoning and its therapy. Bull. Natl. Grassl. Res. Inst., 10: 120—126.
28. Mc Ilwain, P. and Schipper, A. (1963): *Toxicity of nitrate nitrogen to cattle.* JAVMA; 142: 502—505.
29. Miyazak, A., Kawashima, R. (1975): *Effects of methemoglobin formation in blood on liver function of sheep.* Jap. J. Zootech. Sci., 46 (7): 427—432.
30. Nason, A. (1962): *Enzymatic pathways of nitrate, nitrite and hydroxylamine metabolisms.* Bacteriol. Rev. 26 (1): 16—41.
31. Saatçi, Ü. (1982): "Sıvı-elektrolit dengesi bozuklukları ve tedavisi". H.Ü. Yayınları A. 39.
32. Schmidt, A. (1977): *Nitrat-nitrit vergiftung von haus und nutztieren.* Tierarztl. Prax., 5:141—152.
33. Schneider, N., Yeary, R. (1975): *Nitrite and nitrate pharmacokinetics in the dog, sheep and pony.* Am. J. Vet. Res., 36 (7): 941—947.
34. Sinclair, K.B. and Jones, H.J. (1967): *Nitrite toxicity in sheep.* Res. Vet. Sci., 8: 65—70.
35. Sleight, S.D. and Sinha, B.V. (1968): *Prevention of methemoglobin reduction in blood samples.* JAVMA; 152 (10): 1521—1525.
36. Tillman, A.D., Sheriha, G.M. and Sirny, E. (1965): *Nitrate reduction studies with sheep.* J. Anim. Sci., 24: 1140—1146.
37. Von Dijk, S., Lobsteyn, A.J.H., Wensing, T., Breukink, H.S. (1983): *Treatment of nitrate intoxication in a cow.* Vet. Rec., 112: 272—274.
38. Watts, M. (1969): *Laboratory diagnosis of nitrite poisoning in sheep and cattle.* Aust. Vet. J., 45: 492.
39. W.H.O. (1980): *Nitrates, nitrites et composes N-nitroso. Criteres d'hygiene de l'environnements.* Organisation Mondiale de la Santa. Geneve.
40. Winter, A.J. (1962): *Studies on nitrate metabolism in cattle.* Am. J. Vet. Res., 23: 500—505.