

# Outbreaks of lethal cyanogenic glycosides poisonings of cattle after ingestion of *Sorghum* ssp. grown under drought conditions in August 2022 in Piedmont (North-Western Italy)



STEFANO GIANTIN<sup>1</sup>, ALBERICO FRANZIN<sup>1\*</sup>, GIOVANNI TOPI<sup>2</sup>,  
GIORGIO FEDRIZZI<sup>3</sup>, CARLO NEBBIA<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta - Cuneo, Italy

<sup>2</sup> Veterinario libero professionista - Marene (CN), Italy

<sup>3</sup> Laboratorio Nazionale di Riferimento per le Tossine Vegetali negli alimenti, Istituto Zooprofilattico Sperimentale di Lombardia ed Emilia-Romagna - Bologna, Italy

<sup>4</sup> Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università degli studi di Torino - Italy

## SUMMARY

The following case report aims to present an outbreak of cattle poisoning recorded in Piedmont (Northwestern Italy) during the summer 2022. In the first half of August several accidents occurred in five different farms located in the provinces of Cuneo, Asti and Biella. The first and most severe outbreak was reported in a grazing field located in Sommariva del Bosco (Cuneo) and involved a herd of Piedmontese heifers which ingested a hybrid cultivar of *Sorghum bicolor* x *S. sudanense* resulting in the death of 50 animals. Sixteen additional deaths were recorded in the following days in the remaining four farms. In all the latter cases, poisoned cows had been fed with the widespread weed *S. halepense*. Interestingly, farmers complained that no such events have ever been recorded in all previous years, feeding cattle with or grazing on sorghum being a common practice. Shortly after exposure, the affected bovines showed recumbency, sialorrhoea, tachypnea, air hunger and muscle tremors followed by acute depression and death, pointing thereby to cyanide poisoning. Most of animals received an oral or intravenous treatment with the antidote sodium thiosulfate, albeit this compound is not typically referred to as the sole remedy against cyanide toxicosis. All treated animals showed a complete recovery. Carcasses of dead animals were subjected to necropsy and sorghum samples were collected in each farm/field to determine the content of the cyanogenic glycoside dhurrin by LC-MS/MS. As a result, dhurrin concentrations up to 10,000 mg/kg were detected in four plant samples collected from the respective involved farms. The anamnesis, the rapid onset, the clinical picture, the remarkable efficacy of the antidote and the results from necropsies strongly indicated cyanide intoxication. This diagnosis was further supported by the high dhurrin concentrations measured in most sorghum samples, which are consistent with the extreme drought conditions that affected the area including the mentioned farms. In that area, the Regional Agency for Environmental Protection (ARPA) reported several days with summer tropical diurnal and nocturnal temperatures as never experienced before. Therefore, caution is needed when feeding cattle with green chops or while grazing, with a special care in case of potential drought stress suffered by *Sorghum* plants.

## KEY WORDS

Cyanide; Cattle poisoning; Dhurrin; Sorghum; Drought.

## INTRODUZIONE

Il sorgo (genere *Sorghum*) viene coltivato per la nutrizione animale sia come foraggio fresco che per la produzione di fieno e insilati. Seppur con caratteristiche bromatologiche meno pregiate ed una minor digeribilità rispetto ad altre foraggere [1], il sorgo, grazie alla tolleranza alla siccità e la resistenza agli agenti infestanti, rappresenta una delle principali alternative al mais quale fonte di alimentazione per i ruminanti nelle zone aride [2]. In varie regioni del nord Italia viene da tempo usata come foraggio fresco anche la specie selvatica *S. halepense* (L.) Pers, a carattere infestante e comunemente definita sorghetta. Il sorgo, come meccanismo di difesa, produce il glucoside

cianogenetico (*S*)-(-*D*-Glucopyranosyloxy)(4-hydroxyphenyl) acetoneitrile, durrina [3]. Quando i tessuti della pianta vengono lacerati, come in caso di masticazione da parte di erbivori, il cianuro (-CN) viene liberato dalla durrina. Inoltre, i microrganismi presenti nel ruminale dei bovini sono in grado di accelerare ulteriormente l'idrolisi e la seguente liberazione di -CN [4]. Tale molecola, legandosi al Fe<sup>+++</sup> della citocromossidasi mitocondriale, blocca la respirazione cellulare: l'ossigeno (O<sub>2</sub>) non viene più utilizzato dai tessuti e viene bloccata la produzione di energia immagazzinata sotto forma di ATP [5].

Il sorgo produce naturalmente durrina durante le prime fasi di sviluppo; infatti, si consiglia di non somministrare piante giovani agli animali per via dell'elevata concentrazione del glucoside [6, 7]. I nuovi germogli, le foglie giovani e i ricacci risultano essere le parti più pericolose poiché accumulano maggiori quantità del metabolita [8]. Le piante adulte sono

Corresponding Author:  
Alberico Franzin (alberico.franzin@izsto.it)

generalmente considerate sicure come alimento animale [9] ma, in alcune condizioni ambientali stressanti, possono produrre grandi quantità di durrina. Siccità estreme e prolungate seguite da intense piogge o copiosa irrigazione, forti gelate seguite da periodi più caldi, così come trattamenti con alcuni erbicidi o l'utilizzo di fertilizzanti azotati possono stimolarne un eccessivo accumulo. In genere il processo di fienagione e l'insilamento permettono la dispersione del -CN dai tessuti vegetali, anche se in alcuni casi la concentrazione può rimanere alta, ad esempio se il sorgo si essicca rapidamente ed è conservato in balle di fieno di grandi dimensioni [10].

## IL CASO

Di seguito sono descritti cinque casi di intossicazione avvenuti in Piemonte nel mese di agosto 2022, nell'arco di meno di tre settimane, durante un periodo di forte siccità accompagnato da temperature diurne e notturne superiori alle medie stagionali.

**A.** Il 6 agosto a Sommariva del Bosco (CN) 160 manze di razza prevalentemente piemontese venivano liberate su un campo seminato a *S. bicolor* x *S. sudanense* varietà Suzy [11]. I capi, affamati dal digiuno notturno, hanno assunto il foraggio con grande voracità. Trattavasi di un ricaccio verde di altezza 30-45 cm, a seguito del primo sfalcio avvenuto il 14 luglio. 80 capi hanno presentato sintomi da intossicazione. 20-30 minuti dopo l'ingestione, 50 manze, quasi tutte gravide, sono decedute. I restanti capi sono stati immediatamente allontanati dal pascolo.

**B.** L'11 agosto a Moretta (CN) è stata somministrata erba di sfalcio fresca, contenente prevalentemente *S. halepense*, a un gruppo di 20 vacche di razza mista da latte, di età superiore a 3 anni. Tutti gli individui sono risultati intossicati e 5 di essi sono venuti a morte.

**C.** L'11 agosto a Bra (CN) un gruppo di 60 vacche di razza piemontese, di età superiore a 3 anni, è stato alimentato con foraggio costituito perlopiù da sorghetta. 36 animali sono stati colpiti da avvelenamento, 6 sono deceduti.

**D.** Il 12 agosto ad Asti sono deceduti 4 bovini di razza piemontese mentre pascolavano su un campo in cui era presente sorgo selvatico. Causa segnalazione tardiva, non si sono potute registrare la consistenza della mandria e la morbilità dell'avvelenamento.

**E.** Il 25 agosto a Cossato (BI) una mandria di 45 bovini prevalentemente di razza piemontese ha pascolato in un campo ove cresceva sorghetta. Tutti i capi hanno presentato sintomi di intossicazione, 1 è morto.

## SINTOMATOLOGIA

Tutti gli animali intossicati hanno presentato in modo più o meno uniforme i sintomi riportati in Tabella 1.

## MATERIALI E METODI

Sono stati effettuati esami necroscopici sugli animali deceduti in ogni azienda colpita a eccezione del caso D. Per ogni episodio si è provveduto al campionamento di almeno 500 g di sorgo fresco prelevato in differenti posizioni del campo e tempestivamente congelato. I campioni sono stati inviati al Laboratorio Nazionale di Riferimento per le Tossine Vegetali negli alimenti dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale di Lombardia ed Emilia Romagna, ove è stata applicata la metodica analitica per la determinazione della durrina con tecnica LC-MS/MS [12]. Da questa viene poi calcolata la quantità di HCN come equivalenti, applicando un fattore di conversione (1 g durrina = 86,7 mg HCN) [13].

## INTERVENTI TERAPEUTICI

**A.** Essendo il caso avvenuto durante il fine settimana, è stato difficoltoso reperire farmaci appropriati. Trenta animali hanno ricevuto in un unico bolo, 4 L per animale, per via endovenosa (e.v.) lenta, differenti soluzioni reidratanti (Ringer lattato,

**Tabella 1** - Elenco dei principali sintomi riscontrati negli animali intossicati e delle osservazioni riscontrate durante gli esami necroscopici.

Sintomatologia	Esito esami necroscopici
Decubito laterale, prevalentemente destro (Fig. 1)	Forte odore dolciastro proveniente dalle cavità
Dispnea	Sangue di color rosso scarlatto (Fig. 2)
Scialorrea	Presenza di schiuma nel lume tracheale
Stupore, eccitazione, fascicolazioni	Edema tracheale
Fame d'aria	Enfisema polmonare diffuso
Da lieve a moderato timpanismo	Abomasite a sfondo emorragico (Fig. 2)
Ipertermia	Necrosi gelatinosa sottocutanea
Nistagmo	Soffusioni e striature a livello dei prestomaci
Midriasi	Idropericardio
Rantolii	Soffusioni e petecchie a livello miocardico (Fig. 2)
	Splenomegalia con gemizio
	Epatomegalia con congestione
	Congestione renale
	Enterite a sfondo emorragico



**Figura 1** - Fotografie degli animali intossicati - in decubito laterale destro. Caso A (sopra) e caso B (sotto).

soluzione fisiologica, glucosata) associate a 60 mL di multivitaminico. Considerate le temperature atmosferiche superiori a 38°C, si è provveduto a rinfrescare gli animali con acqua degli abbeveratoi mobili presenti in campo. Il trattamento è andato a buon fine per 26 capi.

**B.** Cinque animali sono stati trattati con successo per via e.v., ciascuno con 4 L di soluzione fisiologica contenenti 5 g di tiosolfato di sodio ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ). Altri 15 g di  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  sono stati disciolti in 10 L d'acqua fredda e fatti assumere per via orale per mezzo di apposite siringhe [14].

**C.** Considerata l'ora tarda della notte si è tardato a recuperare il  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ . Ognuno dei 30 animali è stato trattato con 4 L di soluzione reidratante in cui si erano disciolti 30 g di blu di

metilene, iniettata per via e.v.. Una volta giunto in azienda il  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ , ne sono stati somministrati a ciascun animale 5 g disciolti in sacche di 4 litri di soluzione reidratante per via e.v.. Ventotto capi sono sopravvissuti, 2 sono deceduti la settimana successiva.

**D.** Non è stato effettuato alcun intervento sugli animali colpiti.

**E.** Quaranta animali sono stati trattati con successo. Si è effettuato lo stesso trattamento già eseguito nel caso B.

## RISULTATI

### Esame necroscopico

Gli esami necroscopici hanno evidenziato più o meno uniformemente le lesioni presenti in Tabella 1.

### Analisi durrina

Gli esiti degli esami per la determinazione di durrina sono riportati in Tabella 2.

## CONCLUSIONI

L'anamnesi, la sintomatologia e la rapida ed elevata mortalità dei bovini intossicati hanno fin da subito suggerito l'avvelenamento da glucosidi cianogenetici. È noto come la terapia consigliata [15] consista innanzitutto nella somministrazione di un agente (nitrito di sodio, in subordine blu di metilene ad alte dosi) in grado di determinare la formazione di metaemoglobina (emoglobina ossidata, incapace di trasportare  $\text{O}_2$  ai tessuti); tale emoproteina (come la citocromo-ossidasi) è in grado di "catturare" il -CN ripristinando la respirazione cellulare. A questo trattamento deve essere associata la somministrazione di  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ , che reagisce con il -CN formando tiosolfato (-SCN), privo di tossicità acuta. I rischi legati all'impiego di agenti metemoglobinizzanti (la metaemoglobina è incapace di trasportare  $\text{O}_2$  ai tessuti) e le difficoltà di approvvigionamento legate all'eccezionalità degli episodi e al periodo stagionale hanno di fatto determinato l'impiego quasi esclusivo di tiosolfato sodico. Tale farmaco si è confermato un ottimo antidoto per i bovini nei confronti delle tossicosi da glucosidi cianogenetici, con efficacia del 100% nei due casi in cui è stato tempestivamente somministrato.

Le analisi chimiche hanno rilevato elevata presenza di durrina in 4 casi su 5, risultante in una concentrazione di HCN ben

**Tabella 2** - Valori di durrina riscontrati nei campioni di sorgo prelevati in ciascuna azienda. I valori di HCN sono stati calcolati come equivalenti a partire dalla concentrazione misurata di durrina.

CASO	DATA	LUOGO	MATRICE	DURRINA	HCN
A	06-ago	Sommariva del Bosco	<i>S. bicolor</i> x <i>S. sudanense</i>	10717	929
B	11-ago	Bra	<i>S. halepense</i>	7961	690
C	11-ago	Moretta	<i>S. halepense</i>	5627	487
D	16-ago	Asti	<i>S. halepense</i>	4834	419
E	25-ago	Cossato	<i>S. halepense</i> - piante giovani	335	29
			<i>S. halepense</i> - mix foglie	488	42
			<i>S. halepense</i> - infiorescenza	105	9



**Figura 2** - Sangue di colore rosso scarlatto (sinistra), emorragie nell'abomaso (centro) e subepicardiche (destra).

oltre la soglia considerata letale di 200 ppm [16]. La Direttiva 2002/32/CE pone a 50 ppm il limite di HCN in materie prime e mangimi [17]. Nel caso E, unico con concentrazioni relativamente basse, è verosimile che il campionamento effettuato sul pascolo di notevole estensione, circa 4 ha, non sia stato sufficientemente rappresentativo.

È interessante notare come la varietà ibrida di sorgo Suzy implicata nel caso A sia commercializzata appositamente per consumo zootecnico. Le indicazioni per l'uso al pascolo consigliano di usare la pianta al di sopra di 80 cm, senza riferimenti specifici a possibili rischi di intossicazione [18]. Per quanto riguarda la sorghetta, l'esame della letteratura ci porta a concludere che si tratti dei primi casi di avvelenamento riportati in Europa. ARPA Piemonte ha collocato l'estate 2022 tra le più anomale degli ultimi 30 anni [19]. Il bilancio idrico risultava in deficit già dall'inverno precedente, con riserve nivali quasi inesistenti. Le precipitazioni, irregolari sia per quantità che distribuzione territoriale, sono diminuite del 50-60% rispetto agli anni precedenti, specialmente nelle zone colpite dove, inoltre, si è avuto un aumento del numero di notti tropicali ( $T > 20^{\circ}\text{C}$ ) e giorni tropicali ( $T > 30^{\circ}\text{C}$ ). Tali condizioni possono dunque aver stimolato un'eccessiva produzione di durrina nel sorgo, causando un notevole accumulo. Il caso A, ove la cultivar di sorgo era destinata all'alimentazione animale, dimostra quanto sia importante tenere in considerazione le variabili meteorologiche per la gestione del sorgo coltivato da foraggio al fine di prevenire il rischio di avvelenamento. In un'ottica di prevenzione del rischio, gli altri casi riportati suggeriscono cautela anche nella gestione del *S. halepense*, considerata la facile disponibilità di questa specie durante i mesi estivi e il suo utilizzo come foraggio verde storicamente diffuso tra gli allevatori.

## RINGRAZIAMENTI

Si ringrazia per la pronta collaborazione in campo i Medici Veterinari Dr. Francesco Barberis dell'ASL di Saluzzo, e il Dott. Francesco Acciardi dell'ASL di Bra. Si ringrazia per la disponibilità data per i campionamenti l'allevatore Giacomino Olivero.

## References

- Griffiths NW, Mickan FJ, Kaiser AG (2003) Crops and by-products for silage - Capitolo 5 in: Kaiser AG, Piltz JW, Burns HM, and Griffiths NW "Successful Silage". *Dairy Australia and New South Wales Department of Primary Industries - 2<sup>nd</sup> edition*, 108-141.
- Shapter FM, Crowther A, Fox G, Godwin ID, Watson-Fox L, Hannah IJC, Norton SL (2018) The domestication, spread and uses of sorghum as a crop - Capitolo 2 in: Rooney W (Ed.) "Achieving sustainable cultivation of sorghum - Volume 2: Sorghum utilization around the world". 1<sup>st</sup> edition. *Burleigh Dodds Science Publishing, London*, 31-64.
- Nährstedt A (1985) Cyanogenic compounds as protecting agents for organisms. *Pl. Syst. Evol.* 150, 35-47.
- Bhat BV (2019) Breeding Forage Sorghum - Chapter 11 in: Aruna C, Visarada KBRS, Bhat BV, Tonapi VA (Eds.) "Breeding Sorghum for Diverse End Uses". *Woodhead Publishing*, 175-191.
- Maffei M (2013) Metaboliti secondari e difese delle piante - Capitolo 9 in: Elementi di Fisiologia Vegetale - Edizione ridotta di: Taiz L, Zeiger E (2010) "Plant Physiology". 5<sup>th</sup> edition. Piccin Nuova Libreria S.p.A., Padova, 221-241.
- Gleadow RM, Ottman MJ, Kimball BA, Wall GW, Pinter PJ, LaMorte RL, Leavitt SW (2016) Drought-induced changes in nitrogen partitioning between cyanide and nitrate in leaves and stems of sorghum grown at elevated CO<sub>2</sub> are age dependent. *Field Crops Research* 185, 97-102.
- Mandrone M, Chiochio I, Barbanti L, Tomasi P, Tacchini M, Poli F (2021) Metabolomic Study of Sorghum (*Sorghum bicolor*) to Interpret Plant Behavior under Variable Field Conditions in View of Smart Agriculture Applications. *J. Agric. Food Chem.* 69, 1132-1145.
- Panter KE (2018) Cyanogenic Glycoside-Containing Plants - Chapter 64 in: Gupta RC "Veterinary Toxicology: basic and clinical principles". 3<sup>rd</sup> edition. *Elsevier - Academic Press*, 935-940.
- Stichler C, Reagor JC (2001) Nitrate and Prussic Acid Poisoning. *Texas Agricultural Extension Service, The Texas A&M University System*, L-5231 06-01.
- Nicholson SS (2007) Cyanogenic plants - Capitolo 67 in: Gupta RC (Eds.) "Veterinary toxicology: basic and clinical principles". 1<sup>st</sup> edition. *Elsevier - Academic Press*.
- Varietà ibrida Suzy, *Sorghum bicolor* (L.) Moench x *S. sudanense* - registrata in Ungheria, mantenuta da *Alfaseed Kft.*, Budapest. <https://www.niab.com/oecd2/variety/details/100558/suzy/0/0/vs/ALL/ALL/0>
- Zhong Y, Xu T, Chen Q, Li K, Zhang Z, Song H, Wang M, Wu X, Lu B (2020) Development and validation of eight cyanogenic glucosides via ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry in agri-food. *Food Chemistry* 331, 127305.
- EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM), Schrenk D, Bignami M, Bodin L, Chipman JK, del Mazo J, Grasl-Kraupp B, Hogstrand C, Hoogenboom L (Ron), Leblanc J-C, Nebbia CS, Nielsen E,

- Ntzani E, Petersen A, Sand S, Vleminckx C, Wallace H, Benford D, Brimer L, Mancini FR, Metzler M, Viviani B, Altieri A, Arcella D, Steinkellner H, Schwerdtle T (2019) Evaluation of the health risks related to the presence of cyanogenic glycosides in foods other than raw apricot kernels. *EFSA Journal* 17(4), e05662.
14. Stöber M (2004) Malattie degli organi respiratori, del diaframma e del torace - Capitolo 5 in: Sali G "Medicina Interna e Chirurgia del Bovino" - Edizione italiana di: Dirkse G, Grunder H-D, Stober M (Ed.) "Innere Medizin und Chirurgie des Rindes" (2002) 4th edition. *Le Point Vétérinaire Italie srl*, 271-356.
  15. Gensa U (2019) Review on Cyanide Poisoning in Ruminants. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare* Vol.9, No.6.
  16. Carlson MP, Anderson B (2013) Cyanide Poisoning. *NebGuide - University of Nebraska-Lincoln Extension, Institute of Agriculture and Natural Resources*, G2184.
  17. European Parliament, Council of the E.U. (2002) DIRECTIVE 2002/32/EC OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 7 May 2002 on undesirable substances in animal feed. *Official Journal of the European Communities*, L 140/10.
  18. SUZY - Sorgo foraggero multi sfalcio da fasciato - trinciato. *Zanandrea Sementi SRL*, Bolzano Vicentino (VI). <https://zanandreasementi.it/prodotti/suzy-sorgo-foraggero-multi-sfalcio-da-fasciato-trinciato/>
  19. ARPA Piemonte (2022) Rapporto Siccità in Piemonte 2022 - A cura del Dipartimento Rischi Naturali e Ambientali, Torino. <https://www.arpa.piemonte.it/publicazioni-2/relazioni-tecniche/analisi-eventi/eventi-2022/rapporto-siccita-in-piemonte-2022>