



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
LABORATÓRIO DE DIAGNÓSTICO ANIMAL



LAUDO COMPLEMENTAR
RESULTADOS DE ANÁLISE REALIZADA PELO USDA

Nº dos registros: R03, R04, R05, R06, R07, R08, R09, R1

Identificação das Amostras		Procedência	
ID:	LDA/UFRPE AMOSTRA 01- LOTE250507FHS; LDA/UFRPE AMOSTRA 02-LOTE250507FHS; LDA/UFRPE AMOSTRA 03- LOTE250508HF; LDA/UFRPE AMOSTRA 04-LOTE252508HF; LDA/UFRPE AMOSTRA 01-LOTE250507NMX	Nome:	Haras Alcateia
Tipo de Amostra	Ração Equina Marca Nutratta cujos lotes estão identificados acima	Telefone:	12 99714-1328 / 82 98733-5538
Data da Coleta:	05 e 06/06/25	E-mail:	
		Endereço:	Povoado Ouricuri - Zona Rural, Atalaia - AL, 57690-000.

Laboratório Responsável pela Análise:

Poisonous Plant Research Laboratory – United States Department of Agriculture (USDA), Agricultural Research Service, Logan, Utah, EUA.

Amostras Analisadas:

Foram submetidas ao USDA cinco amostras de ração equina provenientes da UFRPE para investigação toxicológica, identificadas como:

LDA/UFRPE AMOSTRA 01 LOTE250507FHS
LDA/UFRPE AMOSTRA 02 LOTE250507FHS
LDA/UFRPE AMOSTRA 03 LOTE250508HF
LDA/UFRPE AMOSTRA 04 LOTE252508HF
LDA/UFRPE AMOSTRA 01 LOTE250507NMX

Objetivo da Análise

Confirmar a presença de alcaloides pirrolizidínicos (APs), determinar a proporção de material vegetal contaminante (*Crotalaria* spp.) e realizar identificação molecular (DNA metabarcoding) para confirmação taxonômica da planta tóxica responsável pela contaminação.

Métodos Utilizados

Espectrometria de Massa (MS e MS/MS): Utilizada para identificação e comparação dos alcaloides pirrolizidínicos presentes nas amostras, especialmente monocrotalina e monocrotalina N-óxido.

DNA Metabarcoding / DNA Barcoding: Análise molecular baseada em sequenciamento de DNA cloroplastidial para detecção e quantificação relativa de material vegetal presente na ração.



Resultados

Deteção qualitativa: monocrotalina e monocrotalina N-óxido foram identificadas em TODAS as cinco amostras analisadas. Pequenas quantidades de outros alcaloides pirrolizidínicos ("trace amounts") também foram detectadas.

Deteção quantitativa: os valores médios de monocrotalina encontrada nas cinco amostras analisadas pelo USDA foram de: monocrotalina = 309 ppm / Monocrotalina N-óxido:= 9 ppm

DNA metabarcoding: presença inequívoca de *Crotalaria* spp na ração.

Proporção relativa de *Crotalaria* nas amostras: a quantidade relativa de material vegetal do gênero *Crotalaria* variou entre 1,5% e 14% entre as amostras analisadas.

Composição predominante da ração: a análise metabarcoding também demonstrou que, além de *Crotalaria* há como constituintes da ração, soja, sorgo e Poaceae (gramíneas não especificadas).

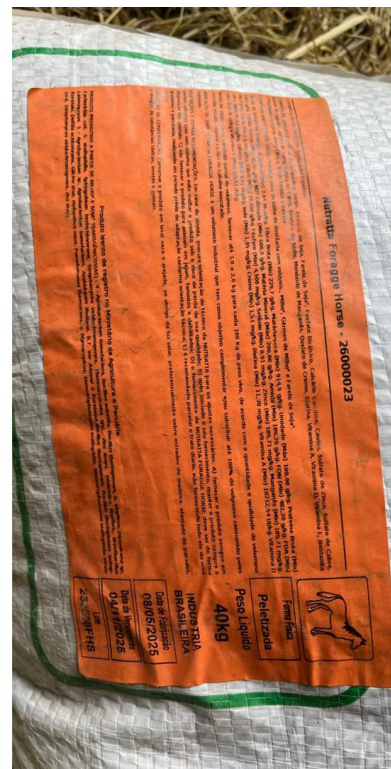
Conclusões:

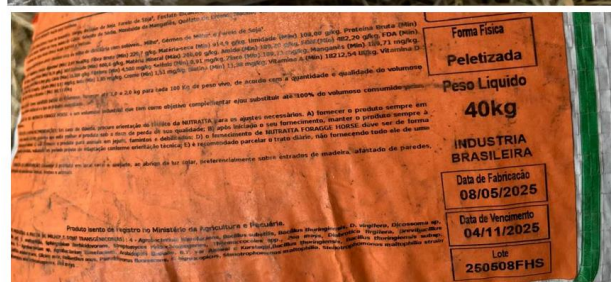
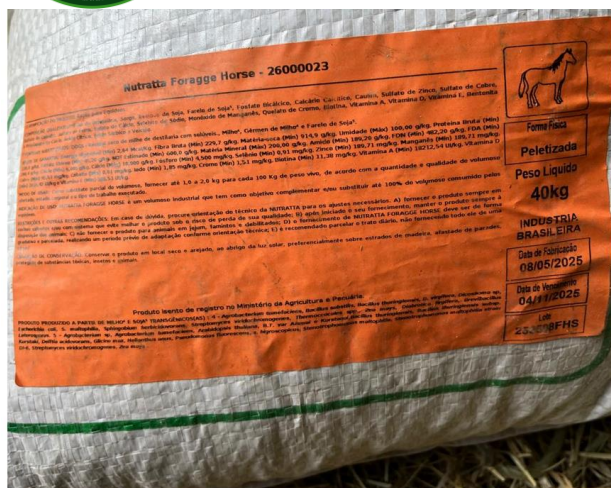
1. As análises por MS e MS/MS identificaram monocrotalina e monocrotalina N-óxido em todas as amostras, com perfis moleculares idênticos aos padrões de referência, confirmando de forma inequívoca a presença desses alcaloides pirrolizidínicos.
2. As concentrações detectadas (média de 309 ppm para monocrotalina) encontram-se em níveis capazes de causar lesões hepáticas graves, encefalopatia hepática e morte de equinos, compatíveis com os surtos observados em campo.
3. O DNA metabarcoding confirmou a presença de material genético de *Crotalaria* spp., com proporção relativa variando entre 1,5% e 14%, reforçando a origem botânica do contaminante e explicando a elevada carga de APs nas amostras.
4. A associação entre: (a) identificação química dos APs, (b) quantificação em níveis altamente tóxicos, e (c) confirmação molecular de *Crotalaria*, estabelece com elevado grau de certeza o nexo causal entre a ingestão da ração e os quadros de intoxicação.
5. A composição adicional da ração (soja, sorgo e Poaceae) indica que a contaminação é compatível com falhas na colheita ou na mistura de matérias-primas

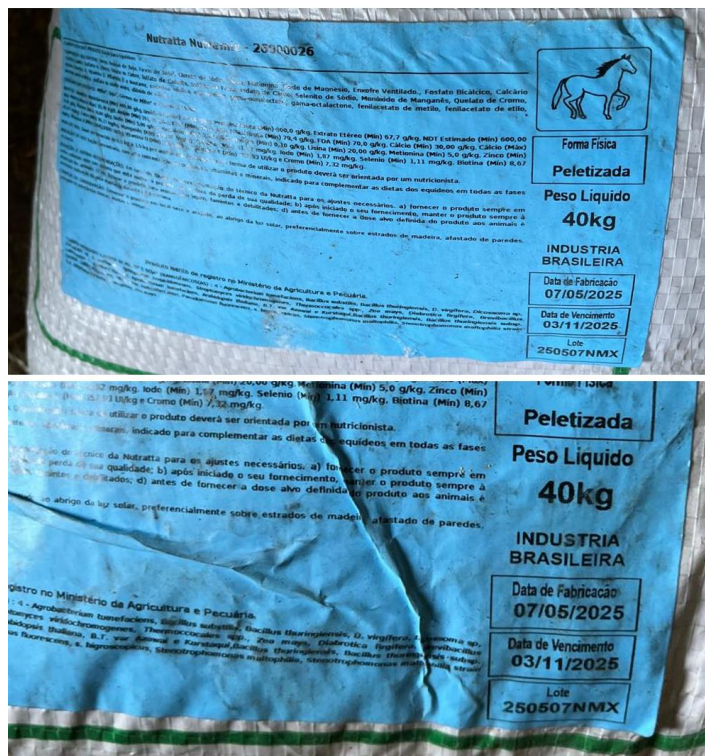
Prof. Dr. Fábio de Souza Mendonça

Médico Veterinário
CRMV-PE 3022

REGISTRO FOTOGRÁFICO DOS SACOS DE RAÇÃO E DOS LOTES DOS QUAIS SE COLETARAM MÚLTIPLAS AMOSTRAS NO HARAS ALCATEIA - ALAGOAS







Prof. Dr. Fábio de Souza Mendonça
Médico Veterinário
CRMV-PE 3022

Samples of horse feed

Cook, Daniel - REE-ARS <daniel.cook@usda.gov>
Para: FABIO MENDONCA <fabio.mendonca@ufrpe.br>

13 de agosto de 2025 às 19:17

Fabio,

Hello! Samples were analyzed by Dale today. Monocrotaline and its n-oxide were detected in all the samples. There may be trace amounts of other PAs as well. Concentrations were similar in all the samples. Preliminary estimates suggest a concentration of 100-300 ppm. Please let us know what else you would like from us. Would you like a defined concentrations for each sample? Please let us know so we can provide the necessary information for a manuscript. I should have DNA barcoding results back within three weeks. Have a nice day.

Daniel Cook

Research Leader, Research Plant Physiologist
Poisonous Plant Research Laboratory



U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE

Agriculture Research Service

[1150 E 1400 N, Logan, UT 84341](#)

p: (435) 797-4024 | c: (435) 890-8414

From: FABIO MENDONCA <fabio.mendonca@ufrpe.br>

Sent: Tuesday, August 12, 2025 5:00 PM

[Texto das mensagens anteriores oculto]

[Texto das mensagens anteriores oculto]

Samples of horse feed

Cook, Daniel - REE-ARS <daniel.cook@usda.gov>
Para: FABIO MENDONCA <fabio.mendonca@ufrpe.br>

14 de agosto de 2025 às 16:17

Fabio,

Hello! The following samples were analyzed for pyrrolizidine alkaloids:

LDA/UFRPE AMOSTRA 01 LOTE250507FHS

LDA/UFRPE AMOSTRA 02 LOTE250507FHS

LDA/UFRPE AMOSTRA 03 LOTE250508HF

LDA/UFRPE AMOSTRA 04 LOTE252508HF

LDA/UFRPE AMOSTRA 01 LOTE250507NMX

Monocrotaline and its N-oxide were detected in all 5 samples. Trace amounts of other PAs were also detected. I will provide you the methods for publication, a table reporting the concentrations, as well as a figure next week.

Likewise, do you have a portion of liver that you could freeze dry and send to us? Dale and I think that would be an additional line of evidence to add to any report.

Have a nice weekend. Please let me know if you need any additional information.

Daniel Cook

Research Leader, Research Plant Physiologist
Poisonous Plant Research Laboratory



U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE

Agriculture Research Service

1150 E 1400 N, Logan, UT 84341

p: (435) 797-4024 | c: (435) 890-8414

From: FABIO MENDONCA <fabio.mendonca@ufrpe.br>

Sent: Thursday, August 14, 2025 7:29 AM

[Texto das mensagens anteriores oculto]

[Texto das mensagens anteriores oculto]

Samples of horse feed

Cook, Daniel - REE-ARS <daniel.cook@usda.gov>
Para: FABIO MENDONCA <fabio.mendonca@ufrpe.br>

15 de agosto de 2025 às 13:05

Fabio,

Please see attached. Just an edit with actual numbers rather than edits. This will make a nice story.

I have also attached a preliminary figure that we can clean up as needed.
Mean concentration among the 5 samples for monocrotaline was 309 ppm +/-30 while the concentration of monocrotaline n-oxide was 9 ppm +/-2.

Thanks,

Daniel Cook

Research Leader, Research Plant Physiologist
Poisonous Plant Research Laboratory



U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE

Agriculture Research Service

1150 E 1400 N, Logan, UT 84341

p: (435) 797-4024 | c: (435) 890-8414

From: FABIO MENDONCA <fabio.mendonca@ufrpe.br>

Sent: Friday, August 15, 2025 5:47 AM

[Texto das mensagens anteriores oculto]

[Texto das mensagens anteriores oculto]

2 anexos



PA081425 Horse Brazil.pptx
66K



The catastrophic outbreak of monocrotaline intoxication in horses in Brazil, DGU, 14.8.2025.docx
19K

Samples of horse feed

Cook, Daniel - REE-ARS <daniel.cook@usda.gov>
Para: FABIO MENDONCA <fabio.mendonca@ufrpe.br>

26 de agosto de 2025 às 13:06

Fabio,

Hello! I received the data back from the DNA metabarcoding. Crotolaria was detected in the feed. I will provide you a relative percentage later today.

Daniel Cook

Research Leader, Research Plant Physiologist
Poisonous Plant Research Laboratory



U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE

Agriculture Research Service

1150 E 1400 N, Logan, UT 84341

p: (435) 797-4024 | c: (435) 890-8414

From: Cook, Daniel - REE-ARS <daniel.cook@usda.gov>

Sent: Friday, August 15, 2025 10:05 AM

[Texto das mensagens anteriores oculto]

[Texto das mensagens anteriores oculto]

Samples of horse feed

Cook, Daniel - REE-ARS <daniel.cook@usda.gov>
Para: FABIO MENDONCA <fabio.mendonca@ufrpe.br>

26 de agosto de 2025 às 14:08

Fabio,

Relative Crotolaria content was 1.5-14% among the samples you sent.

The major components of the feed appeared to be soybean, sorghum, and a Poaceae (not assigned to genus).

Daniel Cook

Research Leader, Research Plant Physiologist
Poisonous Plant Research Laboratory



U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE

Agriculture Research Service

1150 E 1400 N, Logan, UT 84341

p: (435) 797-4024 | c: (435) 890-8414

From: Cook, Daniel - REE-ARS <daniel.cook@usda.gov>

Sent: Tuesday, August 26, 2025 10:06 AM

[Texto das mensagens anteriores oculto]

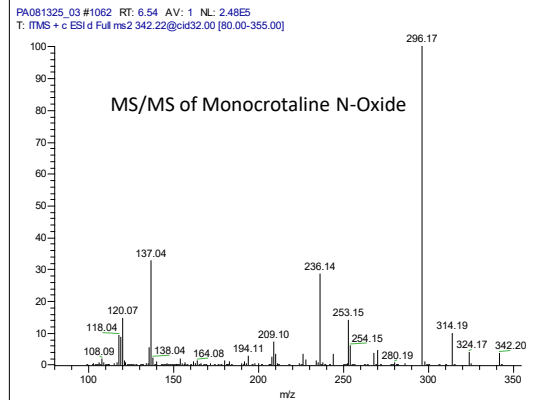
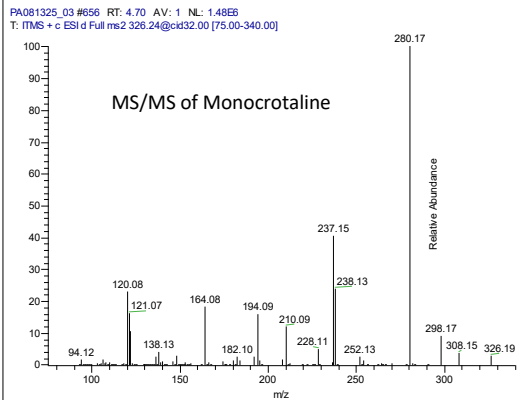
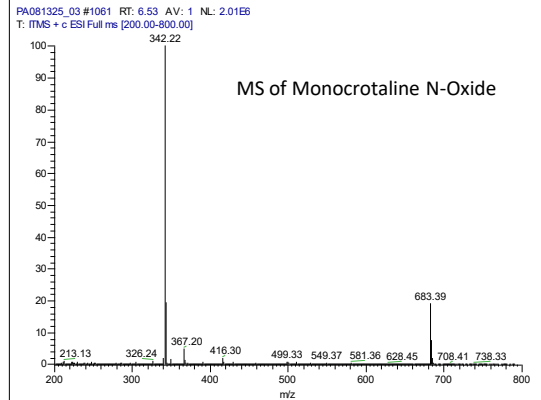
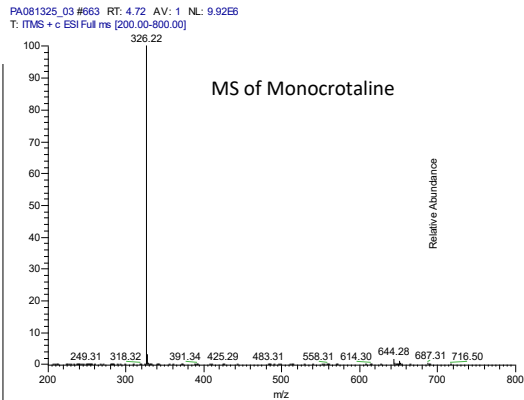
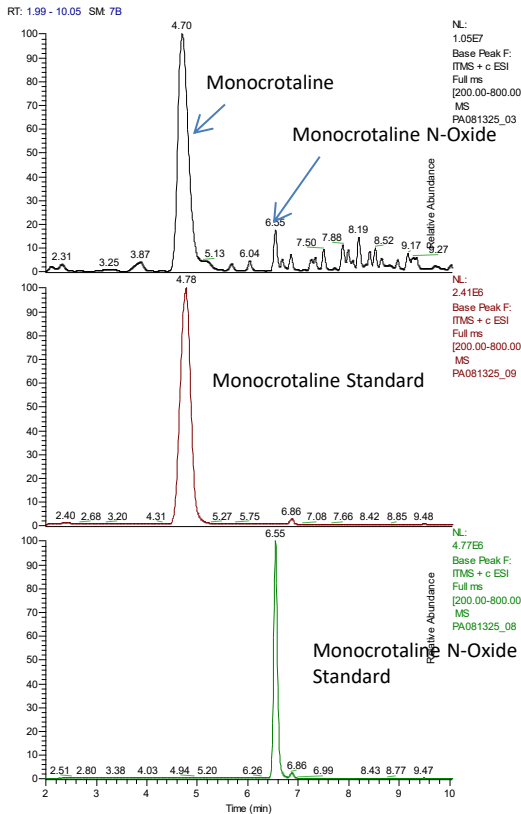
[Texto das mensagens anteriores oculto]

Feed Sample
LDA/UFRPE AMOSTRA 02 LOTE20507FHS

C:\Xcalibur\data\PA081325_03

8/13/2025 2:24:59 PM

Feed - 02



The MS and MS/MS of monocrotaline and monocrotaline N-Oxide from feed sample LDA/UFRPE AMOSTRA 02 LOTE20507FHS were identical to the standards for each respective compound. MS and MS/MS are not shown for the standards.