

CONGRÈS
LTF
2021

30-01

NOV. DEC.

Alimentation
équine & science

“ Additifs et ingrédients fonctionnels
pour l'alimentation équine :
quel présent pour quel avenir ? ”

30 NOVEMBRE - 1^{ER} DÉCEMBRE 2021
DIJON

EDITIONS LAB TO FIELD



30-01

NOV. DEC.

Alimentation
équine & science

CONGRÈS LAB TO FIELD 2021

ALIMENTATION ÉQUINE & SCIENCE

« Additifs et ingrédients fonctionnels
pour l'alimentation équine :
quel présent pour quel avenir ? »

30 NOVEMBRE - 1^{ER} DÉCEMBRE 2021
DIJON

EDITIONS LAB TO FIELD

Proceedings du Congrès LTF 2021
© Editions LAB TO FIELD, 2021
ISBN : 979-10-92556-01-8

LAB TO FIELD
26 boulevard Docteur Petitjean
BP 87999
21079 DIJON CEDEX

Tous droits réservés.

Le Code de la propriété intellectuelle et artistique n'autorisant, aux termes des alinéas 2 et 3 de l'article L.122-5, d'une part, que les « copies ou reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective » et, d'autre part, que les analyses et les courtes citations dans un but d'exemple et d'illustration, « toute représentation ou reproduction intégrale, ou partielle, faite sans le consentement de l'auteur ou de ses ayants droit ou ayants cause, est illicite » (alinéa 1er de l'article L. 122-4). Cette représentation ou reproduction, par quelque procédé que ce soit, constituerait donc une contrefaçon sanctionnée par les articles 425 et suivants du Code pénal.

SOMMAIRE

- 1 **Réglementation sur les additifs et ingrédients fonctionnels pour l'alimentation équine** 12
Michaela HERZOG, Regine SCHREINER
- 2 **Marchés actuel et futur des additifs et ingrédients fonctionnels pour l'alimentation équine** 27
Alice MONIER-TORRENTE
- 3 **Additifs alimentaires et perceptions sensorielles chez le cheval** 38
Thomas DELOMPRÉ
- 4 **Biodisponibilité des minéraux chez le cheval** 48
David VAN DOORN, Roseanne MINDERHOUND, Mathijs THEELEN
- 5 **Préservation de l'écosystème microbien du gros intestin par les additifs et ingrédients fonctionnels en alimentation équine** 68
Véronique JULLIAND, Pauline GRIMM
- 6 **Additifs alimentaires et ingrédients fonctionnels pour l'immunité : les connaissances chez l'homme peuvent-elles servir chez le cheval ?** 80
Pierre LAPAQUETTE, Aurélie RIEU-GUIGON
- 7 **L'axe microbiote-intestin-cerveau et la nutrition** 94
Daria GUSEVA
- 8 **Additifs et ingrédients fonctionnels pour l'alimentation équine et performance sportive** 103
Samy JULLIAND

BIODISPONIBILITÉ DES MINÉRAUX CHEZ LE CHEVAL

David van Doorn^{1,2}, Roseanne Minderhound²,
Mathijs Theelen¹

¹ Faculté de Médecine Vétérinaire, Université d'Utrecht, Pays-Bas

² Anivado Education & Training, Utrecht, Pays-Bas

Biodisponibilité : définition

En nutrition, les minéraux peuvent être classés en deux catégories : les macro-éléments et les oligo-éléments. Les macro-éléments sont nécessaires en plus grandes quantités, souvent exprimées en grammes, que les oligo-éléments de l'ordre du milligramme, voire en quantités encore plus faibles. Dans la pratique, une indication adaptée des unités utilisées, nécessitant parfois une conversion d'unités, est indispensable pour un étiquetage clair et fiable des produits destinés à l'alimentation équine.

Pour leur santé et leur performance, les chevaux ont besoin, en quantités adaptées, de macro- et d'oligo-éléments apportés par les aliments et l'eau de boisson. Les différents systèmes d'alimentation internationaux (NRC, 2007 ; DLG, 2014 ; INRA, 2012 ; CVB, 2012) ont proposé des recommandations d'apports quotidiens pour ces éléments.

Le rôle physiologique des minéraux et les recommandations proposées par les différents systèmes internationaux font l'objet de discussions permanentes. La biodisponibilité est un sujet important en nutrition animale (encart 1). C'est pourquoi cet article visera à expliquer le concept de biodisponibilité, et abordera certains sujets spécifiques aux équins, et notamment aux substances classiquement intégrées dans les rations des chevaux. De plus, quelques études récentes effectuées sur le cheval et liées à la biodisponibilité des macro- et oligo-éléments seront illustrées, pouvant intéresser vétérinaires et nutritionnistes.

Différentes définitions de « biodisponibilité » ont été publiées. Celle de l'Autorité Européenne de Sécurité des Aliments (EFSA ; Cano-Sancho et al., 2014) définissant la biodisponibilité comme la « *fraction d'un élément qui est absorbée et qui atteint la circulation systémique pour être distribuée aux organes et*

ENCART 1 : Une très complète revue de littérature

L'EFSA a publié en 2014 une revue de littérature (de 1136 pages !) traitant de la biodisponibilité des minéraux dans différentes espèces, dont les chevaux. En 2020, un ensemble de rapports scientifiques relatifs à la sécurité et à la biodisponibilité d'oligo-éléments organiques spécifiques a également été publié pour toutes les espèces animales. En parallèle, l'Association of American Feed Control Officials (AAFCO) a publié en 2019 un rapport technique d'évaluation portant sur la biodisponibilité des oligo-éléments organiques. Ces publications régulières illustrent l'importante quantité d'informations disponibles sur le thème de la « biodisponibilité », ce qui rend difficile la présentation de tous les facteurs qui peuvent l'impacter.

aux tissus, et utilisée pour des fonctions physiologiques » est retenue dans cet article. Selon cette définition, la biodisponibilité des minéraux dépend fortement de leur absorption depuis la lumière gastro-intestinale vers la circulation systémique. De ce fait, les facteurs influençant l'absorption affecteront grandement la biodisponibilité de ces éléments. Les minéraux doivent se trouver sous une forme chimique permettant leur absorption au niveau intestinal, par des mécanismes de transport passifs ou actifs. D'un point de vue nutritionnel, ils doivent donc être « disponibles » pour l'absorption ou pour le transport au travers de la paroi intestinale. Pour la plupart des minéraux non absorbés dans la circulation systémique, le manque de « disponibilité » constitue le point limitant. Par conséquent, la notion de digestibilité apparente est fréquemment utilisée pour quantifier la biodisponibilité des minéraux, même si la digestibilité vraie est plus pertinente (Kienzle and Zorn, 2006).

Les facteurs affectant la biodisponibilité peuvent être liés à l'animal, au régime alimentaire ou au composé minéral lui-même (Kienzle and Zorn, 2006). En général, des mécanismes physiologiques permettent d'adapter les niveaux d'absorption et d'excrétion pour les maintenir à des niveaux adéquats pour l'animal. Une carence peut apparaître lorsque le minéral n'est pas disponible sous une forme chimique absorbable par l'animal. Les interactions entre des minéraux et d'autres composants du régime, ou la formation de complexes entre ces éléments, peuvent aussi conduire à des carences. Les différents systèmes d'alimentation internationaux ont formulé les besoins en minéraux de façon à garantir un apport approprié et ont indiqué les apports minimums

et maximums nécessaires pour éviter carences, excès non problématique, et excès toxiques. Cependant, les apports optimaux en fonction des conditions physiologiques ou des conditions de conduite n'ont pas été définis. Une toxicité aiguë ou chronique peut survenir lorsque les apports en minéraux dépassent les mécanismes compensatoires de l'animal qui régulent le niveau physiologique des différents minéraux dans l'organisme. Ainsi, la capacité du cheval à absorber un minéral peut augmenter lorsque les apports sont faibles, et diminuer lors d'apports excessifs (Kirchgessner, 2004 ; Mertz, 1986 cité par Kienzle, 2006). Les quantités apportées et le statut nutritionnel peuvent donc affecter la biodisponibilité d'un minéral. D'autres facteurs alimentaires, comme la quantité d'aliments consommés, l'ingestion d'autres éléments minéraux ou de substances qui peuvent interagir avec leur disponibilité, sont des facteurs qui peuvent augmenter ou réduire l'absorption des minéraux.

Constituants alimentaires fournissant des minéraux aux chevaux

Dans l'alimentation des chevaux, les minéraux sont présents sous forme organique ou inorganique. L'USDA (2019) distingue ces deux formes principalement par la présence d'au moins un atome de carbone dans les formes organiques. Ces formes contiennent généralement aussi un atome d'hydrogène, pour former des hydrocarbures, tandis que la majeure partie des formes inorganiques ne contient ni atome de carbone ni atome d'hydrogène (autre que les molécules d'eau associées - H_2O). De manière simplifiée, les aliments suivants (Tableau 1) utilisés dans l'alimentation des chevaux fournissent des minéraux.

	FORME ORGANIQUE / INORGANIQUE
CÉRÉALES	Les minéraux sont présents sous forme organique.
CONCENTRÉS ET COMPLÉMENTS ALIMENTAIRES	Selon les matières premières utilisées, les minéraux peuvent être présents sous forme organique. Cependant, les concentrés contiennent généralement des prémix pouvant comporter des minéraux à la fois sous formes organiques (complexes constitués d'un sel métallique soluble et d'un acide aminé spécifique, ou d'autres composés organiques tels que le propionate) et inorganiques (généralement des sulfates, des chlorures et des oxydes).
SELS ET PIERRES À LÉCHER	Les minéraux sont principalement sous forme inorganique.
SUPPLÉMENTS (SOUS FORME LIQUIDE)	Dans les suppléments concentrés en minéraux, ceux-ci peuvent être présents sous forme de mélanges de sources à la fois organiques et inorganiques produites industriellement.
HERBE ET FOURRAGES	L'herbe et les fourrages contiennent des sources organiques de minéraux. Si les fourrages sont souillés par du sable ou de la terre, des minéraux sous forme inorganique sont retrouvés.
EAU	L'eau peut également être une source de minéraux, bien que les quantités soient généralement faibles dans l'eau courante. Les sources naturelles peuvent cependant contenir des concentrations minérales plus élevées.

Tableau 1. Sources de minéraux dans l'alimentation équine

Disponibilité des macro-éléments : focus sur le calcium, le phosphore et le magnésium

Calcium et phosphore

Les minéraux présents dans les céréales sont considérés comme des sources minérales organiques. C'est le cas du phytate (ou acide phytique), principale forme de stockage du phosphore (P) dans de nombreux tissus végétaux, en particulier dans le son et les graines. Les ruminants sont capables de digérer le phytate grâce à la phytase, une enzyme qui hydrolyse les molécules de phytate en phosphate et inositol, et qui est produite par les micro-organismes présents dans le rumen. A l'inverse, le P lié au phytate n'est en général pas disponible pour les non ruminants car ceux-ci ne possèdent pas de phytase. La supplémentation des chevaux en phytase n'améliore que peu la biodisponibilité du P (encart 2). Le phytate non absorbé transite à travers le tractus gastro-intestinal et augmente la quantité de P excrétée dans les fumiers. Au cours des dix dernières années, les études liées à la disponibilité du P chez le cheval ont connu un essor considérable, puisqu'une excrétion excessive de P est indésirable, entraînant des problèmes environnementaux tels que l'eutrophisation.

La plupart des vétérinaires savent qu'un déséquilibre du ratio phospho-calcique peut conduire à une hyperthyroïdie secondaire d'origine nutritionnelle, parfois appelée « *Big Head Disease* ». Ceci démontre l'importance de respecter les ratios entre les minéraux apportés. De nombreuses interactions entre minéraux existent, mais seules quelques-unes ont été étudiées chez le cheval. Lors des conseils apportés en nutrition équine, une supplémentation ciblée pour une carence supposée doit être faite au regard de la ration complète et des interactions connues entre minéraux et oligo-éléments.

D'autres composés présents dans les végétaux peuvent affecter la biodisponibilité des minéraux. Par exemple, certaines graminées subtropicales ou des adventices de la famille du sarrasin contiennent des niveaux élevés d'acide oxalique. Cet acide se lie au Ca pour former des cristaux d'oxalate de Ca, et la digestibilité du Ca sous cette forme naturelle est faible. Un pourcent (en MS) d'acide oxalique dans la ration peut réduire l'absorption du Ca à seulement 10% de la quantité ingérée (Coenen, 2013). Lorsque des graminées tropicales, possiblement riches en acide oxalique, sont utilisées au pâturage ou en tant que fourrage, les chevaux peuvent présenter un déficit en Ca et P

ENCART 2 : Impact de la forme de présentation d'un minéral sur sa digestibilité

Van Doorn et coll. (2008) ont étudié la disponibilité du P lié au phytate lors d'un essai sur 8 chevaux nourris à base de 4 régimes, supplémentés ou non en phytase. Le régime Contrôle contenait un faible niveau d'apport en P (18,4 g/j) tandis que les 3 autres régimes apportaient des niveaux plus élevés de P sous différentes formes : du P monocalcique [source inorganique (MCP : 43,7 g/j)], du phytate apporté par des matières premières riches en P [son de blé et de riz (MIHP : 41,8 g/j)] et un régime similaire (MIHPP : 42,5 g/d) dans lequel une phytase d'origine microbienne était ajoutée à hauteur de 300 unités/kg). Les proportions de P lié au phytate étaient respectivement de 3, 1, 55 et 56 % dans les régimes Contrôle, MCP, MIHP et MIHPP. La faible excrétion urinaire de P (0,3 g P/j) dans les régimes riches en P lié au phytate suggère une disponibilité faible du P par rapport au régime contenant du P monocalcique. En revanche, la digestibilité apparente du P, exprimée en pourcentage de l'apport en minéral, n'était pas significativement différente ($P = 0,065$) entre ces régimes suggérant que le P lié au phytate était en partie disponible. La biodisponibilité du P lié au phytate n'était que faiblement affectée par la supplémentation en phytase. De façon intéressante, la digestibilité du calcium (Ca) était supérieure dans le régime MCP par rapport au régime MIHP. Cet exemple illustre bien le fait que la forme de présentation d'un minéral peut affecter sa digestibilité mais également la disponibilité d'autres composants. Dans le cas présent, la formation d'un complexe calcique avec le phytate était possible. Le son de blé, qui contient une forte proportion de P phytique présente un ratio Ca:P fortement déséquilibré.

et une supplémentation peut être recommandée lorsque l'apport total en ces deux minéraux est trop faible. Sans cela, l'ingestion élevée d'acide oxalique peut entraîner des affections ostéoarticulaires, un syndrome de Wobbler ou des signes de « *Big Head Disease* ». Les concentrations en acide oxalique varient fortement entre espèces botaniques, et des problèmes peuvent être observés chez les chevaux qui consomment certaines graminées, comme le *Cenchrus ciliaris*, même si ce ne sont pas les plus concentrées en acide oxalique.

Magnésium

Le magnésium (Mg) est un minéral communément distribué en alimentation équine pour modifier le comportement et améliorer la musculature. L'absorption du Mg a principalement lieu dans l'intestin grêle. Les ions Mg^{2+} sont absorbés par un mécanisme de diffusion passive paracellulaire non saturable, fonction de la concentration présente dans la lumière intestinale, et par une diffusion active transcellulaire *via* des transporteurs. La quantité de Mg absorbée augmente avec la proportion ingérée, mais l'absorption atteint un plateau à partir d'un certain niveau d'ingestion.

Chez le cheval, des apports élevés en Mg peuvent diminuer la digestibilité du P. Par contre la digestibilité du Mg n'est pas affectée par des apports importants en Ca. Des apports excessifs en fibres, en acide oxalique, en phosphate et en acides gras peuvent diminuer l'absorption du Mg tandis que les phytates, le Ca et l'aluminium n'ont que peu d'effets (Stewart, 2011). Ainsi, le statut en Mg est fortement influencé par le régime alimentaire. La digestibilité du Mg diffère entre les matières premières. Par exemple, la digestibilité du Mg provenant des foins de légumineuses varie de 40 à 60 %, tandis qu'elle est inférieure avec des foins de prairie, bien qu'il existe de fortes variabilités entre foins (Martin-Rosset, 2015). Le NRC (2007) donne un aperçu des digestibilités des différentes formes inorganiques de Mg. Le Mg provenant de sources inorganiques telles que MgO , $MgSO_4$, $MgCO_3$ a une digestibilité similaire bien que de grandes variabilités soient relevées entre études (5-70 %). Les différences importantes pourraient être expliquées par le statut nutritionnel des individus.

ENCART 3 : Les voies alternatives d'apport de magnésium nécessitent d'être étayées

Il est délicat d'extrapoler les résultats obtenus chez l'humain au cheval du fait des différences physiologiques. Cependant, connaître les tendances en nutrition humaine pourrait limiter les pratiques non étayées scientifiquement pour l'apport de Mg par des voies alternatives, comme avec les suppléments administrés en spray ou par voie transdermique. Cette pratique a d'ailleurs été discutée par des chercheurs allemands au sein d'une revue de littérature dans laquelle ils concluent que la propagation transdermique du Mg n'est pas scientifiquement étayée à ce jour (Kass et al., 2017 ; Gröber et al., 2017).

Coenen (2013) rapporte que le Mg devrait plutôt être ajouté sous forme de phosphate ou de chlorure, puisque le MgO serait faiblement absorbé, et que les composés organiques du Mg tel que l'aspartate de Mg sont très digestibles. La différence de digestibilité en fonction de la formule chimique a également été relevée dans une revue récente de la littérature pour l'homme (Schuchardt and Hahn, 2017).

Disponibilité des oligo-éléments : focus sur le fer

Le fer (Fe) sera pris comme exemple pour illustrer certains aspects de la biodisponibilité qui sont associés à la valence des oligo-éléments, et à la relation entre valence et absorption. L'absorption du Fe est finement régulée en fonction des apports et des besoins tissulaires. Ce processus est modulé par une hormone, l'hepcidine. Un apport excessif en Fe peut dépasser ces mécanismes de régulation. L'exercice, une supplémentation en vitamine E, et de nombreux autres facteurs et interactions peuvent également influencer le statut en Fe (Cano-Sancho et al., 2014 ; Martin-Rosset, 2015 ; Coenen, 2013). Les chevaux adultes tolèrent très bien les régimes à haute teneur en Fe, mais ce n'est par exemple pas le cas d'autres herbivores monogastriques comme le rhinocéros noir (Dierenfeld et al., 2005 cités par Kienzle et Zorn, 2008). Encore une fois, les analogies entre le cheval et d'autres espèces doivent donc être interprétées avec une extrême prudence (Wood & Clauss, 2004 cités par Kienzle & Zorn, 2006).

En Europe occidentale, des niveaux élevés de Fe sont parfois mis en évidence lors d'analyse de fourrages. Il n'est souvent pas évident de faire la part des choses entre le Fe apporté par les végétaux et celui issu de la contamination des fourrages par les sols. Ce dernier est principalement présent sous la forme Fe^{3+} (fer ferrique), considérée comme ayant une faible biodisponibilité. Des niveaux élevés de Fe ou d'autres oligo-éléments dans le sol peuvent être liés à des différences géologiques ou par exemple à une contamination des sols due à la présence passée d'une industrie. Généralement les fourrages contiennent suffisamment de Fe et les suppléments contiennent souvent du Fe sous sa forme disponible. Dans les végétaux, le Fe est stocké sous forme de ferritine qui est considérée comme biodisponible. Suite à l'ingestion, le pH acide peut favoriser la conversion de la forme Fe^{3+} en Fe^{2+} (fer ferreux). Ceci permet d'augmenter sa biodisponibilité pour qu'il soit absorbé ensuite le long du tractus gastro-intestinal du cheval (Meyer et al., 1982). En pratique, une supplémentation en Fe est rarement recommandée (Coenen, 2013) puisque

la plupart des aliments et compléments destinés aux chevaux contiennent une forme disponible de Fe.

Dans l'eau, le Fe peut être présent sous forme de Fe^{2+} et de Fe^{3+} . Des apports trop élevés en Fe peuvent être problématiques quelle que soit la forme sous laquelle cet oligo-élément est apporté. Theelen et coll. (2019) ont rapporté que les chevaux buvant de l'eau de surface riche en Fe souffraient d'une intoxication chronique au Fe, qui a même été létale pour certains chevaux. Des apports élevés en Fe de façon prolongée ont entraîné une accumulation de Fe dans plusieurs organes et ont conduit à une hémochromatose menant à une insuffisance hépatique. Les concentrations les plus élevées en Fe provenaient de l'eau de fossés. Les signes classiques de contamination des eaux par du Fe, tels qu'une coloration orange brunâtre, ne sont pas toujours présents. En anglais, le terme « *clear water iron* » désigne une forme ferreuse dissoute et non visible (forme Fe^{2+} biodisponible). Cette forme ferreuse apparaît dans l'eau qui n'est pas exposée à l'oxygène, comme dans les puits. Il existe également des bactéries que l'on qualifie de « ferrobactéries ». Ces bactéries se développent fortement en présence de cette forme de Fe et forment des couches de boue sombres à l'intérieur des canalisations (Ityel, 2011). Lorsque l'eau est rouge, on peut soupçonner une contamination par du Fe sous forme insoluble Fe^{3+} . Cette forme est retrouvée dans l'eau ayant été exposée à l'oxygène. Lorsque le Fe d'une « *clear water iron* » est exposé à l'air libre, le Fe^{2+} soluble est oxydé et se transforme en Fe^{3+} insoluble. Cet exemple souligne l'importance de tester l'eau provenant de sources naturelles et de se renseigner sur la distribution du Fe dans le pays ou la région considérée, aussi bien dans les sols que dans les sources.

Oligo-éléments organiques versus inorganiques en alimentation équine

Définitions

Les oligo-éléments sous forme organique sont utilisés dans les compléments (liquides ou en poudres) et dans les aliments pour animaux sous différentes formes (encart 4). Les oligo-éléments organiques peuvent être choisis pour des raisons techniques ou pour la solubilité dans les compléments liquides.

Il est généralement admis que les oligo-éléments organiques sont conçus pour améliorer l'absorption intestinale et la biodisponibilité des oligo-éléments. Comme les minéraux inorganiques peuvent interagir avec d'autres composés de l'aliment (fibres, phytate, tanins, oxalate, silicates, autres minéraux), l'utilisation d'oligo-éléments organiques peut effectivement favoriser leur biodisponibilité. En effet, les oligo-éléments sous forme organique interagissent peu, voire pas du tout, avec les autres composants de la ration.

ENCART 4 : Différentes catégories d'oligo-éléments organiques

Il existe différentes catégories d'oligo-éléments organiques telles que définies par l'AAFCO (1998), sous forme chélatée ou non :

- Les complexes métalliques (avec des acides aminés spécifiques) résultent de la complexation d'un sel métallique soluble avec un acide aminé spécifique (méthionine de Zn, lysine de cuivre (Cu), etc) ;
- Les complexes métalliques d'acides aminés sont constitués d'un atome de métal complexé avec différents acides aminés uniques. Chaque molécule est alors constituée d'un ion métallique et d'un acide aminé mais le mélange contient différents acides aminés. Par exemple, un complexe de ce type à base de Zn contiendrait de la méthionine de Zn, de la lysine de Zn, de la leucine de Zn, de la cystine de Zn, etc.
- Les chélates d'acides aminés et de métaux sont formés par la réaction d'un ion métallique, provenant d'un sel métallique soluble, avec des acides aminés selon un ratio molaire d'une mole de métal pour une à trois (de préférence deux) moles d'acides aminés, afin de former des liaisons covalentes de coordination. La taille du ligand est importante.

Le rapport technique d'évaluation de l'AAFCO (2019) précise que tous les chélates sont des complexes, mais que tous les complexes ne sont pas des chélates. Le lecteur est invité à se reporter à ce rapport et à celui de l'EFSA (Cano-Sancho et al., 2014) pour la terminologie, les définitions et l'examen exhaustif de l'utilisation de ces composés en nutrition animale.

Exemple du sélénium organique versus inorganique

Concernant la biodisponibilité du sélénium (Se) chez les chevaux, van Doorn et coll. (2014) ont conclu qu'un apport plus élevé en Se affectait les concentrations plasmatiques en Se, mais les articles antérieurs n'ont montré au mieux que de faibles différences entre les sources de Se organiques et inorganiques (Richardson et al., 2006 ; Calamari et al., 2010 ; Brummer et al., 2013 ; Gordon et al., 2013a ; Gordon et al., 2013b).

Le Se est présent dans la plante sous sa forme organique et il est souvent lié à un acide aminé, sous forme de sélénocystine, sélénocystéine ou sélénométhionine. La consommation de foin enrichi en Se ou d'un bloc d'oligo-éléments contenant du Se augmente les concentrations plasmatiques en Se et en globules rouges chez les chevaux, avec néanmoins des concentrations plus élevées avec le foin enrichi en Se (Montgomery et al., 2011). Cela suppose que la concentration en Se du sol (et le processus de fertilisation en Se) est susceptible d'être un facteur important pouvant impacter les teneurs et la disponibilité du Se chez des chevaux au pâturage ou nourris avec des fourrages issus de ces sols. Tout comme pour le Fe, les cartes géochimiques du Se peuvent informer les praticiens sur les zones pauvres ou riches en Se et les risques associés pour la santé des chevaux dans les zones considérées. Sur la base des concentrations plasmatiques en Se mesurées chez des chevaux de divers pays européens, il a été suggéré que dans les pays plus proches de l'océan Atlantique, les apports alimentaires en Se étaient plus élevés que dans les pays d'Europe centrale (Muller et al., 2012). Toutefois, à l'intérieur d'un même pays, comme aux Pays-Bas ou en Belgique, des différences majeures existent et certaines régions sont fortement déficientes en Se. Dans les régions déficientes, ceci prédisposerait les poulains nouveau-nés à développer la maladie du muscle blanc, principalement causée par une carence en Se et, dans une moindre mesure, par une carence en vitamine E. Pour limiter les risques, une surveillance de la teneur en Se des sols ainsi que l'analyse des fourrages donnés aux poulinières étaient recommandées. Un chapitre d'ouvrage traite des indicateurs du statut du cheval en Se à partir d'échantillons de sang et d'autres tissus (Vervuert & Kienzle, 2013).

D'une façon générale, l'utilisation de pierres à lécher enrichies en Se n'est pas recommandée pour compenser les carences du régime alimentaire. Toutefois, cette stratégie peut être envisagée dans les exploitations gérées de manière extensive, avec un accès limité aux chevaux.

Le Se est un nutriment essentiel, mais la plage de tolérance des apports est limitée, et le cheval est sensible à la toxicité du Se, chronique ou aiguë. En outre, si le Se est administré sous une forme organique, cela risque de modifier les voies physiologiques empruntées dans l'organisme. Selon Coenen (2013) il n'y aurait pas d'avantage global associé à la forme d'apport organique. Sous cette forme, les apports pourraient conduire à une absorption forcée et perturber des processus métaboliques dans l'organisme. Cette hypothèse semble étayée par l'une des rares études disponibles, puisque la teneur en Se dans les crins de chevaux est supérieure après 2 mois de supplémentation avec du Se organique en comparaison avec du Se inorganique. Des résultats comparables avaient été observés avec du Se issu de levures par rapport à du sélénite de sodium.

Exemples du cuivre, du manganèse, du zinc et du cobalt

L'impact de la forme chimique d'autres oligo-éléments a également été évalué. Par exemple, quelle que soit la source de Zn utilisée, organique ou inorganique, la supplémentation en Zn a influencé la pousse du poil. Par ailleurs, les études n'ont pas toutes observé de différences dans l'absorption et la rétention du Cu, du manganèse (Mn) ou du Zn lorsqu'ils sont administrés sous forme d'oxyde, de sulfate ou de chélate organique (Wagner et al., 2005). Certaines présentaient des limites liées à leur design expérimental (Wagner et al., 2011 ; Neustädter et al., 2017), mais globalement ces observations sont cohérentes avec la revue de la littérature effectuée par l'EFSA (2020) sur l'utilisation de divers composés chélatés (panel EFSA, 2019, 2020ab) : les minéraux chélatés sont effectivement des sources minérales biodisponibles mais leur biodisponibilité reste comparable à celle de leur source inorganique. Des considérations spécifiques ont toutefois été émises pour les chélates de Mn (panel EFSA, 2020b). Comme le devenir métabolique des oligo-éléments chélatés peut différer, il ne peut être exclu que ceux-ci aient des effets spécifiques sur la santé des tissus ciblés (Wedekind et al., 2015), la santé intestinale (Shannon et Hill, 2019) ou l'immunité (Beghelli et al., 2011), mais encore trop peu de données sont disponibles chez le cheval.

Au cours de la dernière décennie, des biomasses enrichies en minéraux sous forme de nanoparticules ont été proposées comme des solutions biodisponibles alternatives aux autres formes de minéraux, pour une utilisation future en nutrition équine. Cependant, l'utilisation et la sécurité des nano-additifs alimentaires ont été peu étudiées chez les équidés, et des recommandations

pratiques pour des applications ne peuvent pas encore être établies (Marycz et al., 2018 ; Michalak et al., 2019 ; Reddy et al., 2020 ; Raje et al., 2018).

ENCART 5 : Les excès minéraux sont sources de dopage ou de pollution

Diverses études ont porté sur la supplémentation de Co à des chevaux afin de mesurer l'effet sur les paramètres hématologiques et physiologiques liés à la performance. Ceci a été testé après avoir observé chez l'homme et le rat que l'administration de hautes doses de Co était associée à une augmentation de la synthèse d'érythropoïétine (EPO) et de la quantité de globules rouges (Burns et al., 2018; Saxena et al., 2010). Cette pratique constitue une forme de dopage sanguin. La supplémentation en Co par voie orale et intraveineuse (CoCl₂) a été pratiquée et, outre les restrictions réglementaires, l'exposition chronique au Co peut être nocive et problématique pour le bien-être des chevaux. La revue de la littérature de Brewer et coll. (2016) décrivant l'utilisation du Co dans les courses hippiques et la réglementation associée est informative sur ce sujet.

D'un point de vue environnemental, les minéraux excrétés dans les fèces peuvent avoir un impact négatif sur la qualité de l'eau. L'apport par l'alimentation de cobalt (Co), de Cu, de Mn et de Zn en excès par rapport aux besoins, quelle que soit la source de ces oligo-éléments, augmente la lixiviation de Cu, de Zn mais aussi de P excrété à partir des fèces par rapport à une alimentation témoin.

Effets des liants sur la biodisponibilité des minéraux

L'ajout d'adsorbants minéraux aux aliments pour animaux est une stratégie nutritionnelle visant à réduire l'exposition aux mycotoxines. Les praticiens doivent être conscients des effets négatifs potentiels sur la santé de ces « liants de mycotoxines ». Il convient d'être prudent lorsque des additifs ou des compléments contenant par exemple des minéraux argileux ou du charbon actif sont administrés aux chevaux pendant des périodes prolongées, car ces liants peuvent affecter la biodisponibilité des minéraux et des oligo-éléments. Les propriétés physico-chimiques de ces adsorbants peuvent entraîner une augmentation, mais aussi une diminution, de la biodisponibilité des minéraux. Des effets sur l'absorption des vitamines et des interactions avec les médica-

ments vétérinaires ont également été récemment signalés (Elliot et al., 2020).

Biodisponibilité : considérations finales

Les macro-minéraux ou oligo-éléments essentiels doivent être apportés sous une forme biodisponible pour être absorbés, et à un niveau adéquat pour garantir la couverture des besoins du cheval. La biodisponibilité d'un macro-minéral ou d'un oligo-élément est affectée par de nombreux facteurs : l'individu, le régime alimentaire, ou le composé minéral utilisé (Kienzle et Zorn, 2006). Il est possible que le statut minéral de chaque cheval, qui est fortement influencé par les apports alimentaires, puisse affecter les mécanismes régulateurs de l'absorption, entraînant une augmentation ou une diminution de la biodisponibilité des minéraux.

Dans la pratique, des niveaux d'apports adéquats en minéraux, sous une forme biodisponible dans l'alimentation du cheval (sans que ces apports ne soient insuffisants ou excessifs) constituent, selon les auteurs, la première étape pour optimiser la santé et la performance des chevaux. En outre, une sélection adéquate des aliments complémentaires et des suppléments peut représenter les premières étapes lors de l'évaluation des rations pour chevaux. Des apports inadéquats en minéraux sont encore courants et peuvent être dus à une mauvaise application des connaissances sur les besoins, ou encore à un manque de compréhension des notions de besoins et de disponibilité. Par conséquent, il est recommandé d'adopter une approche qualitative et quantitative pour mieux appréhender les apports en minéraux issus des fourrages et des autres composants de la ration des chevaux. Les études menées au cours de la dernière décennie encouragent l'utilisation de cartes géochimiques pour identifier les régions à risque de carence ou d'excès en minéraux. D'autres analyses (du sol, des fourrages et de l'eau) peuvent fournir des informations complémentaires aux vétérinaires ou aux professionnels de la filière équine, afin d'identifier les potentiels problèmes et par conséquent prévenir les pathologies alimentaires.

Pour en savoir plus...

- AAFCO. Technical Evaluation Report. Compiled by Nexight Group for the USDA National Organic Program.

- Beghelli, D., Giacconi, R., Mocchegiani, E., Cirpiano, C., Malavolta, M., and Renieri, C. 2011. A genetic variant near the equine interleukin 6 gene associated with copper/zinc ratio. *The veterinary journal*, 190(2), 143-145.
- Brewer, K. 2016. Cobalt use and regulation in horseracing: A review. *Comparative exercise physiology: the international journal of exercise physiology, biomechanics and nutrition*, 12(1):1.
- Brown, J. C., Valberg, S. J., Hogg, M., and Finno, C. J. 2017. Effects of feeding two RRR--tocopherol formulations on serum, cerebrospinal fluid and muscle -tocopherol concentrations in horses with subclinical vitamin E deficiency. *Equine Veterinary Journal*, 49: 754-758.
- Brummer, M., Hayes, S., Dawson, K.A., Lawrence, L.M., 2013. Measures of antioxidant status of the horse in response to selenium depletion and repletion. *Journal of Animal Science* 91, 2158-2168.
- Burns, T. A., Dembek, K. A., Kamr, A., Dooley, S. B., Dunbar, L. K., Aarnes, T. K., Bednarski, L. S., O'Brien, C., Lakritz, J., Byrum, B., Wade, A., Farmer, R., Tan, S., and Toribio, R. E. 2018. Effect of intravenous administration of cobalt chloride to horses on clinical and hemodynamic variables. *Journal of veterinary internal medicine*, 32(1):441-449.
- Calamari, L., Capelli, P., Ferrari, A., and Bertin, G. 2007. Glutathione peroxidase responses in mature horses following the withdrawal of an organic selenium supplement. *Ital J Anim Sci* :6(sup 1):275-7.
- CanoSancho, G., Rovira, J., Perelló, G., Martorell, I., Tous, N., Nadal, M., & Domingo, J. L. 2014. Extensive Literature Search on the bioavailability of selected trace elements in animal nutrition: incompatibilities and interactions. *EFSA Supporting Publications*, 11(3), 565E.
- Cappai, M.G., Taras, A., Cossu, I., Cherchi, D., Dimauro, C., Accioni, F., Boatto, G., Deroma, M., Spanu, E., Gatta, D., Dall'Aglio, C. and Pinna, W. 2021. Effects of Dietary Zn/Se and -Tocopherol Supplementation on Metabolic Milieu, Haemogram and Semen Traits of Breeding Stallions. *Biological Trace Element Research*, 199:3287-3296.
- Centraal veevoederbureau (CVB). 2012. Mineralen-, sporenelementen- en vitaminenbehoefte van paarden. Edited by van den Top, A. M., Blok, M. C., Everts, H. Productschap Diervoeder, The Netherlands.
- Coenen, M. 2013. Macro and trace elements in equine nutrition. In *Equine Applied and Clinical Nutrition: Health, Welfare and Performance* (pp. 190-228). China: Elsevier Ltd.
- Delesalle, C., de Bruijn, M., Wilmink, S., Vandendriessche, H., Mol, G., Boshuizen, B., Plancke, L., and Grinwis, G. 2017. White muscle disease in foals: focus on selenium soil content. A case series. *BMC Veterinary Research*, 13:121.
- DLG. 2014. Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung von Pferden. DLG-Verlag, 192 Seiten. ISBN 978-3-7690-0805-0.

- Dunnett M., and Dunnett, C. E. 2010. Comparative effect of organic and inorganic selenium supplementation on markers of selenium status. EAAP Publication No. 128: The impact of nutrition on health and welfare of horses. Wageningen Academic Publishers, Wageningen. Page 276-280.
- Dunnett, C., and Zeyner, A. 2010. Nutritional Supplements – Necessary? In: Ellis, A. D., Harris, P., & Hale, C. (Eds.) 5th European Workshop on Equine Nutrition "The impact of nutrition on the health and welfare of horses". Cirencester: Royal Agricultural College. (Handout)
- EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP), Bampidis, V., Azimonti, G., de Lourdes Bastos, M., Christensen, H., Dusemund, B., ... & Marcon, F. 2019. Safety and efficacy of copper chelates of lysine and glutamic acid as a feed additive for all animal species. EFSA Journal, 17(6), e05728.
- EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP), Bampidis, V., Azimonti, G., Bastos, M. D. L., Christensen, H., Dusemund, B., ... & Marcon, F. 2020a. Efficacy of iron chelates of lysine and glutamic acid as feed additive for all animal species. EFSA Journal, 18(6), e06164.
- EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP), Bampidis, V., Azimonti, G., Bastos, M. D. L., Christensen, H., Dusemund, B., ... & Marcon, F. 2020b. Safety and efficacy of Manganese chelates of lysine and glutamic acid as feed additive for all animal species. EFSA Journal, 18(2), e06001.
- EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP), Bampidis, V., Azimonti, G., Bastos, M. D. L., Christensen, H., Dusemund, B., ... & Marcon, F. 2019. Safety and efficacy of zinc chelates of lysine and glutamic acid as feed additive for all animal species. EFSA Journal, 17(7), 5782.
- Elliott, C. T., Connolly, L., & Kolawole, O. 2020. Potential adverse effects on animal health and performance caused by the addition of mineral adsorbents to feeds to reduce mycotoxin exposure. Mycotoxin Research, 36(1), 115-126.
- Frape, D. 2010. Equine nutrition and feeding, 4th ed. Wiley-Blackwell, UK.
- Fowler A. L., Brümmer-Holder, M., and K. A. Dawson. 2019. Dietary Trace Mineral Level and Source Affect Fecal Bacterial Mineral Incorporation and Mineral Leaching Potential of Equine Feces. Sustainability, 11, 7107.
- Gordon, M. E., Edwards, M. S., Sweeney, C. R., Jerina, M. L. 2013a. Effects of added chelated trace minerals, organic selenium, yeast culture, direct-fed microbials, and Yucca schidigera extract in horses: II. Nutrient excretion and potential environmental impact. Journal of Animal Science 91, 3909-3916.
- Gordon, M. E., Edwards, M. S., Sweeney, C. R., Jerina, M. L. 2013b. Effects of added chelated trace minerals, organic selenium, yeast culture, direct-fed microbials, and Yucca schidigera extract in horses. Part I: Blood nutrient concentration and digestibility. Journal of Animal Science 91, 3899-3908.

- Gröber, U., Werner, T., Vormann, J., & Kisters, K. 2017. Myth or reality—transdermal magnesium? *Nutrients*, 9(8), 813.
- Hintz et al., 1991. *Equine Practice*, 13 (2): 5-6. <https://www.feedipedia.org/node/14654>
- Hörügel, U., Simon, H., Dressel, A., Birke, H., Matz, K., and Klunker, M. 2014. Atypical myopathy in horses: Review and investigation results from Saxony and Thuringia. *Praktische Tierarzt*, 95(5): 444-457. Abstract.
- Ityel, D. 2011. Ground water: Dealing with iron contamination. *Filtration+Separation*, January/February, page 26-28.
- Kass, L., Rosanoff, A., Tanner, A., Sullivan, K., McAuley, W., & Plesset, M. 2017. Effect of transdermal magnesium cream on serum and urinary magnesium levels in humans: A pilot study. *PLoS ONE*, 12(4), 1-11.
- Kienzle, E., and Zorn, N. 2006. Bioavailability of minerals in the horse. *Proceedings of the 3rd European Equine Health & Nutrition Congress*, Mar. 17-18, 2006 - Ghent University, Merelbeke, Belgium. Page 27-36.
- Kirchgeßner, M. 2004. *Tierernährung*, 11. Auflage, DLG-Verlag.
- Knych, H. K., Arthur, R. M., Mitchell, M. M., Holser, I., Poppenga, R., Smith, L. L., Helm, M. N., Sams, R. A., and Gaskill, C. L. 2015. Pharmacokinetics and selected pharmacodynamics of cobalt following a single intravenous administration to horses. *Drug testing and analysis*, 7(7):619-625.
- Langner, K., Hörügel, U., Donat, K. and Vervuert, I. 2020. Assessment of selenium status in relation to the supplementation of selenium enriched mineral licks and mineral feeds in equines in Thuringia. *Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere* 48: 398-405. Abstract.
- Martin-Rosset, W. (2015). *Equine nutrition* (INRA). Wageningen, NL: Wageningen Academic Publishers.
- McKeever, K. H., Malinowski, K., Fenger, C. K., Duer, W. C., and Maylin, G. A. 2020. Evaluation of cobalt as a performance enhancing drug (PED) in racehorses. *Comparative Exercise Physiology*, 16(4):243-252.
- Merry, T. L., and Ristow, M. 2016. Do antioxidant supplements interfere with skeletal muscle adaptation to exercise training? *J. Physiol.* 594(18), 5135-5147.
- Mertz, W. 1986. *Trace elements in human and animal nutrition*, 5th Ed., Academic Press.
- Meyer, H., Schmidt, M., Lindemann, G., et al., 1982. Praecaecale und postileale Verdaulichkeit von Mengen- (Ca, P, Mg) und Spurenelementen (Cu, Zn, Mn) beim Pferd (Prececal and postileal absorption of macro- (Ca, P, Mg) and trace elements (Cu, Zn, Mn) in horses). In: Meyer, H. (Ed.). *Contribution to Digestive Physiology of the Horse*. Verlag Paul Parey, Hanburg, Berlin, pp. 61-69.

- Muller, A., Bertram, A., & Moschos, A. (2012). Saisonale und überregionale Unterschiede der Selenversorgung bei Pferden. *Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere*, 40(03), 157–166.
- NRC, National Research Council. (2007). Chapter 16 Nutrient Requirements, Feedstuff Composition, and Other Tables. Table 16.7. in *Nutrient requirements of horses*. (6th ed.) (pp. 308-310). Washington, DC, USA: National Academic press.
- Richardson, S. M., Siciliano, P. D., Engle, T. E., Larson, C. K., Ward, T. L. 2006. Effect of selenium supplementation and source on the selenium status of horses. *Journal of Animal Science* 84, 1742-1748.
- Saxena, S., Shukla, D., Saxena, S., Khan, Y. A., Singh, M., Bansal, A., Sairam, M., and Jain, S. K. 2010. Hypoxia preconditioning by cobalt chloride enhances endurance performance and protects skeletal muscles from exercise-induced oxidative damage in rats. *Acta Physiologica*, 200(3):249-263.
- Schuchardt, J. P., and Hahn, A. 2017. Intestinal Absorption and Factors Influencing Bioavailability of Magnesium- An Update. *Current Nutrition & Food Science*, 13(4), 260–278.
- Shannon, M. C., and Hill, G. M. 2019. Trace Mineral Supplementation for the Intestinal Health of Young Monogastric Animals. *Front. Vet. Sci.* 6:73.
- Stewart, A. J. 2011. Magnesium Disorders in Horses. *Veterinary Clinics of North America - Equine Practice*, 27(1), 149–163.
- Theelen, M. J. P., Beukers, M., Grinwis, G. C. M., & Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan, M. M. 2019. Chronic iron overload causing haemochromatosis and hepatopathy in 21 horses and one donkey. *Equine Veterinary Journal*, 51(3), 304–309.
- Van Doorn, D. A., van den Top, A. M., & Everts, H. (2014). Macro and trace elements in equine nutrition: an update” In: Vervuert, I., Coenen, M. (Eds.) 7TH European Workshop on Equine Nutrition “The impact of nutrition on metabolism”. Leipzig: Universität Leipzig. (Handout)
- Van Doorn, D. A., Van Weyenberg, S., Stadeus, S., De Rycke, H., Wouterse, H., Bruggeman, G., & Janssens, G. P. J. 2008. An inventory of the nutrient contents of haylage fed on different horse farms in Belgium. *Proceedings of the 4rd European Equine Health & Nutrition Congress*, April 18-19, 2008 - Wageningen University, Wageningen, The Netherlands. Page 128-130.
- Vervuert, I., & Kienzle, E. 2013. Assessment of nutritional status from analysis of blood and other tissue samples. *Equine Applied and Clinical Nutrition: Health, Welfare and Performance*. Elsevier Ltd.
- Wagner, E. L., Potter, G. D., Eller, E. M., Gibbs, P. G., and Hood, D. M. 2005. Absorption and Retention of trace minerals in horses. *The Professional Animal Scientist* 21, 207–211.
- Wedekind, K. J., Coverdale, J. A., Hampton, T. R., Atwell, C. A., Sorbet, R. H.,

Lunnemann, J. ... & Zhao, J. 2015. Efficacy of an equine joint supplement, and the synergistic effect of its active ingredients (chelated trace minerals and natural eggshell membrane), as demonstrated in equine, swine, and an osteoarthritis rat model. *Open Access Anim Physiol*, 7, 13-27.

▪ White, S. H., Wohlgemuth, S., Li, C., and Warren, L. K. 2017. Rapid communication: Dietary selenium improves skeletal muscle mitochondrial biogenesis in young equine athletes. *American society of animal science*, 95: 4078-4084.

▪ Žáková, N., Száková, J., Tremlová, J., Najmanová, J., & Tlustoš, P. 2016. The soil-plant-feed transport of selenium and other essential micronutrients in diet of sport and recreational horses at two different locations. *J. Anim. Feed Sci.* 2016;25(4):317-325.

Lectures recommandées

▪ Beghelli, D., Giacconi, R., Mocchegiani, E., Cipriano, C., Malavolta, M., & Renieri, C. 2011. A genetic variant near the equine interleukin 6 gene associated with copper: zinc ratio. *The Veterinary Journal*, 190(2), e143-e145.

▪ Divers, T. J., Cummings, J. E., de Lahunta, A., Hintz, H. F., & Mohammed, H. O. 2006. Evaluation of the risk of motor neuron disease in horses fed a diet low in vitamin E and high in copper and iron. *American journal of veterinary research*, 67(1), 120-126.

▪ Goff, J. P. 2018. Invited review: Mineral absorption mechanisms, mineral interactions that affect acid-base and antioxidant status, and diet considerations to improve mineral status. *Journal of Dairy Science*, 101(4), 2763-2813.

▪ Harris, P. 2017. Notes on feeding Vitamin E to healthy horses. *Proceedings of the 8th European Equine Health & Nutrition Congress*, March 23-24, 2017 - Antwerp, Belgium. Page 58-67.

▪ Humer, E., & Schedle, K. 2016. Fermentation of food and feed: A technology for efficient utilization of macro and trace elements in monogastrics. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 37, 69-77.

▪ Kumar, S., Anukiruthika, T., Dutta, S., Kashyap, A. V., Moses, J. A., & Anandharamakrishnan, C. 2020. Iron deficiency anemia: A comprehensive review on iron absorption, bioavailability and emerging food fortification approaches. *Trends in Food Science & Technology*.

▪ Millican, A. A., Leatherwood, J. L., Coverdale, J. A., Arnold, C. E., Bradbery, A. N., Larson, C. K., ... & Wickersham, T. A. 2020. Evaluation of dietary trace mineral supplementation in young horses challenged with intra-articular lipopolysaccharide. *Translational Animal Science*, 4(2), txaa006.

▪ Neustädter, L. T., Kamphues, J., & Ratert, C. 2018. Influences of different dietary contents of macrominerals on the availability of trace elements in horses. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 102(2), e633-e640.

- Reilly, C. A. & Aust, S. D. 1997. Stimulation of the ferroxidase activity of ceruloplasmin during iron loading into ferritin. *Archives of biochemistry and biophysics*, 347(2), 242-248.
- Smith, J. E., & Cipriano, J. E. 1987. Inflammation-induced changes in serum iron analytes and ceruloplasmin of Shetland ponies. *Veterinary pathology*, 24(4), 354-356.
- USDA. 2019. 8 april. Technical evaluation report trace minerals livestock (2019). Consulted via https://www.ams.usda.gov/sites/default/files/media/TraceMineralsTR_final_04082019.pdf on 5-10-2020.
- Wagner, E. L., Potter, G. D., Eller, E. M., & Gibbs, P. G. 2005. Absorption and retention of trace minerals in adult horses. *The Professional Animal Scientist*, 21(3), 207-211.
- Wagner, E. L., Potter, G. D., Gibbs, P. G., Eller, E. M., Scott, B. D., Vogelsang, M. M., & Walzem, R. L. 2011. Copper and zinc balance in exercising horses fed 2 forms of mineral supplements. *Journal of animal science*, 89(3), 722-728.