Université de Montréal

Statut en sélénium et en vitamine E des chevaux du Québec

Par
ERIKA DAVID-DANDURAND

Département de biomédecine vétérinaire
Faculté de médecine vétérinaire

Mémoire présenté à la Faculté de médecine vétérinaire
en vue de l'obtention du grade de *Maîtrise ès sciences* (M. Sc.)
en sciences vétérinaires, option biomédecine

Août 2022
©Erika David-Dandurand

Université de Montréal
Faculté de médecine vétérinaire

Ce mémoire intitulé

Statut en sélénium et en vitamine E des chevaux du Québec

Présenté par
ERIKA DAVID-DANDURAND

A été évalué par un jury composé des personnes suivantes

Marcio Costa

Président rapporteur

Younes Chorfi

Directeur de recherche

Dany Cinq-Mars

Codirecteur de recherche

Mathilde Leclère

Membre de jury

Résumé

Les sols de plusieurs régions en Amérique du Nord, incluant le Québec, sont déficients en sélénium (Se). À ce jour, aucune étude sur le terrain n'a été mené au Québec en ce qui concerne le statut en Se des chevaux. Les objectifs de cette étude étaient (1) de mesurer le Se sanguin chez des chevaux de différentes régions du Québec et (2) de recenser la consommation de Se des chevaux échantillonnés. Quatre échantillonnages ont été réalisés sur 59 chevaux durant une période d'un an. Le plasma a été analysé pour les éléments suivants : le Se, la vitamine E (interagit avec le Se en tant qu'antioxydant) et la glutathion peroxydase (GSH-Px). Le foin, les concentrés et l'eau consommés pas les chevaux ont aussi été analysés pour le Se. Les chevaux étaient classés en quatre groupes en raison de leur consommation de fourrages:concentré respectivement : groupe 1 - 100% : 0%; groupe 2- 75-99% : 1-24%; groupe 3- 51-74% : 25-49%; groupe 4- $< 50\%$: $\geq 50\%$. Les propriétaires ont été sondés à chaque visite en utilisant un questionnaire validé. Les résultats démontrent que le niveau de Se plasmatique varie en fonction de l'état de chair ($P = 0.031$) ($n = 224$ mesures, 1 mesure/cheval/saison), de la saison ($P = 0.015$) et du groupe alimentaire ($P< 0.001$). La vitamine E plasmatique était influencée par le sexe ($P = 0.047$) (juments : $n = 73$, hongres : $n = 18$, étalons : $n = 4$), le niveau d'exercice ($P< 0.001$), et par la saison ($P< 0.001$). L'activité de la GSH-Px variait en fonction du groupe alimentaire ($P = 0.002$). À partir des résultats sanguins et des réponses au questionnaire, il est possible de conclure que les pratiques alimentaires des propriétaires de chevaux du Québec ne sont pas appropriées afin de répondre aux besoins en Se des chevaux.

Mots clés : chevaux, GSH-Px, myopathie nutritionnelle, ration, recommandations, sélénium, vitamine E

Abstract

Soils in many regions in North America, including Quebec, are selenium (Se) deficient. To date, no field study has been conducted in Quebec regarding the Se status of horses. The objectives of this study were (1) to measure plasma Se in horses from different geographical locations in the province of Quebec and (2) to survey the Se consumption of the sampled horses. Four samplings were done on 59 horses over a 1-year period. Plasma was analyzed for Se, vitamin E and GSH-Px. Hay, concentrate and water were also analyzed for Se. Horses were classified in four groups for statistical analysis according to their forage:concentrate consumption respectively: group 1- 100% : 0%; group 2- 75-99% : 1-24%; group 3- 51-74% : 25-49%; group 4- < 50% : ≥ 50%. Owners were asked questions from a survey questionnaire at each visit. Results demonstrate that plasma Se varies according to BCS ($P = 0.031$) ($n = 224$ measures, 1 measure/horse/season), the season ($P = 0.015$) and the feeding group ($P < 0.001$). Plasma vitamin E was affected by the sex ($P = 0.047$) (mares: $n = 37$, geldings: $n = 18$, stallions: $n = 4$), the exercise level ($P < 0.001$) and the season ($P < 0.001$). GSH-Px activity was influenced by the type of feeding only ($P = 0.002$). When comparing plasma Se, vitamin E and GSH-Px results along with the answers of the survey questionnaire, it is possible to conclude that feeding practices of horse owners in Quebec are not appropriate to meet the Se requirements of horses.

Key words: diet, GSH-Px, horses, nutritional myopathy, recommendations, selenium, vitamin E

Table des matières

RÉSUMÉ **3**
ABSTRACT **4**
TABLE DES MATIÈRES **5**
LISTE DES TABLEAUX **7**
LISTE DES FIGURES **7**
LISTE DES ABRÉVIATIONS **9**
REMERCIEMENTS **10**
1. INTRODUCTION **11**
2. REVUE DE LITTÉRATURE **13**
2.1 LE SÉLÉNIUM CHEZ LES CHEVAUX 13
2.1.1 Sources *13*
2.1.1.1 Sols 13
2.1.1.2 Eau 14
2.1.1.3 Fourrages et céréales 15
2.1.2 Métabolisme, absorption et formes de sélénium *16*
2.1.3 Fonctions et rôles biologiques *18*
2.1.4 Besoins et apports *24*
2.1.4.1 Besoins 24
2.1.4.2 Apports 26
2.1.5 Carence et toxicité *27*
2.1.5.1 Carence 27
2.1.5.2 Toxicité 27
2.1.6 Méthodes d'évaluation du statut de sélénium *28*
2.1.6.1 Plasma, sérum et sang entier 29
2.1.6.2 Méthode enzymatique, glutathion peroxydase 29
2.1.6.3 Dans les tissus 30
2.1.7 Valeurs de référence *31*
2.1.8 Conclusion *34*
3. HYPOTHÈSES ET OBJECTIFS **35**
3.1 HYPOTHÈSES 35
3.2 OBJECTIFS 35
4. PRÉSENTATION DE L'ARTICLE **36**
4.1 ABSTRACT 36
4.2 INTRODUCTION 37
4.3 MATERIALS AND METHODS 38
4.3.1 Animals, sampling groups and survey *38*
4.3.2 Hay sampling *39*
4.3.3 Concentrate sampling *39*
4.3.4 Water sampling *39*
4.3.5 Blood sampling *39*
4.3.6 Biochemical analysis *40*
4.3.7 Statistical analysis *40*
4.4 RESULTS 41
4.5 DISCUSSION 43
4.6 CONCLUSION 49

5. DISCUSSION GÉNÉRALE 68
6. CONCLUSION 74
7. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES 75
8. ANNEXES 93

Liste des Tableaux

Tableaux et figures de la revue de littérature

Tableau I : Rôles et fonctions de différentes sélénoprotéines chez les mammifères…...11
Tableau II : Valeurs de référence du sélénium, de la GSH-Px et de la vitamine E chez les chevaux……..21
Tableau III : Principaux textes de références utilisés par Puls lors de l'écriture du livre « Mineral levels in Animal Health – Diagnostic Data »……23

Tableaux de l'article scientifique

Table 1: Descriptive statistics of the sampled horse population…….48

Liste des figures

Figures de la revue de littérature

Figure I : Distribution du sélénium dans les fourrages et les grains au Canada et aux États-Unis (Kubota et al., 1967)…….4
Figure II : Métabolisme initial des principales sources de sélénium dans l'alimentation…8
Figure III : Interactions entre la vitamine E et la GSH-Px afin de stabiliser les peroxyles lipidiques et de les détruire…….10

Figure de l'article scientifique

Figure 1: Effect of exercise on plasma vitamin E concentration……50
Figure 2: Effect of body condition score on plasma selenium concentration…….51
Figure 3: Effect of the sex on plasma vitamin E concentration……..52
Figure 4: Effect of the feeding group on plasma selenium concentration……...53
Figure 5: Effect of the feeding on plasma GSH-Px activity……...54
Figure 6: Effect of the season on plasma selenium concentration……..55

Figure 7: Effect of the season on plasma vitamin E concentration…….56
Figure 8: Plasma selenium concentration of horses according to their plasma vitamin E concentration…….57
Figure 9: Plasma selenium concentration of horses according to their plasma GSH-Px activity …….....57

Liste des abréviations

BCS	Body condition score / état de chair
CDVUM	Centre de diagnostic vétérinaire de l'Université de Montréal
FDA	Food and Drug Administration
GR	Glutathion réductase
GSH-Px	Glutathion peroxydase
GSH	Glutathion
H_2O_2	Peroxyde d'hydrogène
INRA	Institut national de la recherche agronomique
M	Molaire
MASS	Muscle atrophy scoring system
mg	Miligramme
MS	Matière sèche
NRC	National Research Council
ppm	Partie par million
rT3	Triiodothyronine inverse
Se	Sélénium
SePP	Sélénoprotéine P
T2	3,5-Diiodo-L-thyronine
T3	Triiodothyronine
T4	Tétraiodothyronine ou Thyroxine
µg/l	Microgramme par litre
UI/kg	Unité internationale par kilogramme

Remerciements

Je tiens à remercier mon directeur de recherche, **Dr Younès Chorfi**, Directeur du département de biomédecine vétérinaire pour son soutien, ses judicieux conseils, sa disponibilité, ainsi que pour m'avoir permis de me développer autant sur le plan scolaire que professionnel. Je remercie également mon co-directeur, **Dr Dany Cinq-Mars**, Professeur titulaire à la FSAA de l'Université Laval pour son soutien, sa disponibilité, ses judicieux conseils et de m'avoir donné la passion pour la nutrition équine par le biais de son cours d'introduction.

Je remercie aussi **Dr Ivan Girard** ainsi que l'équipe de Probiotech International Inc. qui ont grandement contribué à la réalisation de ce projet.

Je remercie **Corinne Généreux**, technicienne au laboratoire de chromatographie (ainsi que toute l'équipe) pour sa disponibilité, sa précieuse aide et sa rapidité à traiter mes échantillons. Un gros merci aussi à **Mario Guay**, technicien responsable du laboratoire de biochimie.

Finalement, j'aimerais remercier toute ma famille pour leur soutien tout au long de ma maîtrise. Je veux remercier spécialement ma grand-mère, **Gisèle David**, qui malheureusement nous a quittés tout juste avant la fin de la rédaction de ce mémoire. Merci pour toute l'aide que tu m'as apportée, autant pour la correction de la grammaire et de l'orthographe ainsi qu'avec tes sages conseils.

Certains trouveront ce remerciement cocasse, mais je tiens à remercier mon fidèle compagnon **Colt,** le Bouvier Australien, de m'avoir obligé à prendre des pauses et toujours être à mes côtés durant les étapes de la réalisation de ce projet.

1. INTRODUCTION

Le sélénium (Se) a été découvert et nommé ainsi par Berzelius en 1817 (Weekley et Harris, 2013). L'intérêt pour le Se dans l'alimentation des animaux est apparu vers les années 1930, alors que des chercheurs ont fait le lien entre le « blind-staggers », la maladie des sols alcalins, et la toxicité en Se (Franke, 1934). À cette époque, on parlait plus de restriction que de supplémentation. Ce n'est que vers la fin des années 1950, que le Se a été reconnu comme étant essentiel (Schwarz et Foltz, 1957). Par la suite, l'intérêt s'est poursuivi et des cartes des sols ont été élaborées afin d'identifier les régions déficientes et en excès de Se.

Le Se est un oligo-élément qui doit être inclus dans l'alimentation des chevaux puisqu'il joue un rôle au niveau du système reproducteur, du développement fœtal, du développement musculaire, du système immunitaire, du métabolisme des hormones thyroïdiennes et aussi en tant qu'antioxydant (NRC, 2007). Il entre dans la composition de la glutathion peroxydase (GSH-Px), qui est une enzyme protégeant les cellules des radicaux libres.

Toutefois, la ligne est mince entre la carence et la toxicité en Se. Une déficience en cet oligo-élément affecte le fonctionnement du système immunitaire, du système reproducteur, de la glande thyroïde et peut mener à la myopathie nutritionnelle. Une toxicité en Se peut se caractériser par des troubles de la vision, une alopécie de la crinière et de la queue, ainsi qu'un craquement du sabot autour de la bande coronaire (Rosenfeld et Beath, 1964).

Le Se est incorporé dans la ration quotidienne de l'animal sous forme de concentré commercial, soit en tant que Se inorganique (sélénite ou sélénate de sodium) ou organique (sélénométhionine, sélénocystéine ou sélénocystine). Chez les chevaux, les besoins alimentaires en Se sont basés sur les recommandations du NRC (2007), établies elles-mêmes sur les données du NRC (1989). La recommandation en Se du NRC (2007) est de 0,1 mg/kg de matière sèche par jour. Ce qui équivaut à 1 mg de Se par jour pour un cheval de 500 kg consommant 2% de son poids vif en fourrage.

Cette recommandation ne tient pas en compte du stade physiologique de l'animal, de son niveau d'exercice et de la source du Se dans la diète.

Afin de déterminer si les chevaux ont un niveau de Se plasmatique adéquat, le Centre de diagnostic vétérinaire de l'Université de Montréal (CDVUM) et plusieurs autres laboratoires, interprètent les résultats à l'aide des valeurs de référence établies par Puls (1994). Ces valeurs ont été basées sur des textes de référence qui datent des années 1970 et sur les connaissances de l'auteur. Ces valeurs de références ne font pas de distinction entre les différents stades physiologiques, l'état de santé de l'animal et des régions géographiques. De plus, l'auteur avertit au début de son livre de références qu'il ne faut pas se fier seulement sur les valeurs publiées dans les tableaux, mais qu'il faut avoir une vue d'ensemble. Il laisse beaucoup de place à l'interprétation et avise aussi le lecteur de faire attention avec les valeurs extrêmes des intervalles suggérés.

Le premier objectif de l'étude est de mesurer le Se plasmatique chez des chevaux de différentes régions du Québec. Les niveaux de Se, de vitamine E ainsi que l'activité de la GSH-Px plasmatique seront mesurés. Le second objectif est de recenser la consommation de Se des chevaux du Québec à l'aide d'un questionnaire. Cela permettra de déterminer si les propriétaires de chevaux supplémentent suffisamment leurs animaux.

2. REVUE DE LITTÉRATURE

2.1 Le sélénium chez les chevaux

2.1.1 Sources

Les principales sources de Se pour les animaux sont les fourrages, les pâturages et les concentrés. Les animaux vivants dans des régions où les sols sont pauvres en Se, se fient majoritairement sur les moulées ou sur les suppléments de vitamines et minéraux commerciaux ajoutés à leur ration quotidienne afin de subvenir à leurs besoins. Il existe d'autres méthodes afin de fournir du Se aux animaux, comme les injections intramusculaires ainsi que la fertilisation des sols en Se.

Le Se existe sous différentes formes : le séléniure, le Se élémentaire, les sélénites, les sélénates et plusieurs composés organiques. Les formes les plus couramment utilisées dans les aliments pour animaux sont le sélénite de sodium et le sélénate de sodium comme Se inorganique ainsi que la sélénométhionine comme Se organique. La concentration à laquelle on les retrouve dans les aliments est très variable. Elle dépend du type de sol, du pH, de l'espèce de plante et de la partie de la plante consommée, feuille, tige ou graine.

2.1.1.1 Sols

La concentration de Se dans les sols est très variable en fonction du type de sol. Cette dernière, varie en fonction du type de sol, de sa texture, des conditions de redox, du pH, de la teneur en hydroxyde de fer, de la matière organique et de la présence d'anions concurrents (CCME, 2009). Les sols contenant des roches sédimentaires d'origine marine, des minéraux comme la pyrite, la chalcopyrite, la pyrrhotite et la sphalérite ont une teneur plus élevée en Se (Reimann et de Caritat 1998). Au Canada, presque tous les sols des régions à l'est et au nord des Grands Lacs, le nord des prairies, l'ouest et le centre de l'Alberta ainsi que la Colombie-Britannique sont déficients en Se (Figure I). Leur concentration est de moins de 0,1 ppm (Levesque, 1974).

Le pH du sol affecte l'absorption du Se par les plantes. Dans les sols alcalins bien aérés, le Se a tendance à former des sélénates. Les sélénates sont facilement absorbables par les plantes et peuvent s'accumuler à des niveaux toxiques pour les animaux. Dans les sols acides, un complexe ferreux se forme avec le Se, ce qui le rend moins disponible pour les plantes (NRC, 1971).

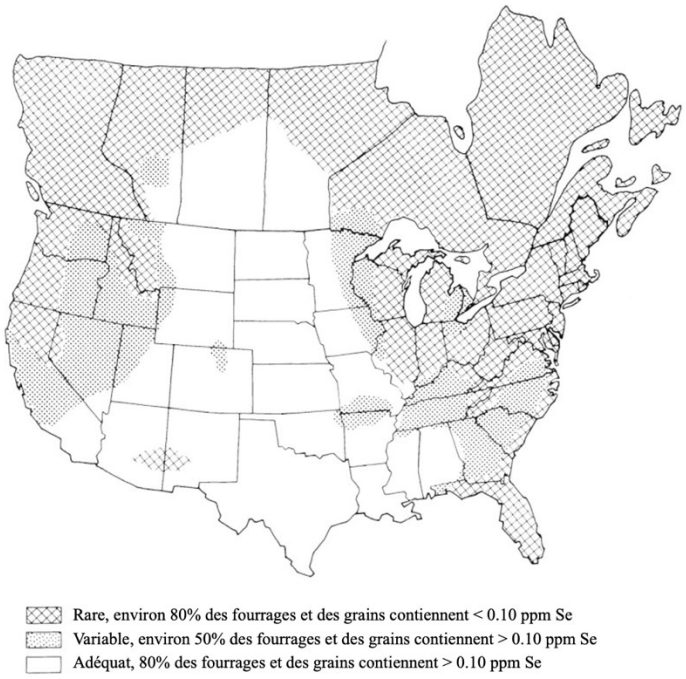

Figure I : Distribution du sélénium dans les fourrages et les grains au Canada et aux États-Unis (Kubota et coll., 1967)

2.1.1.2 Eau

Le Conseil canadien des ministres de l'environnement (CCME) recommande une limite de 50 µg/l pour ce qui est de la qualité de l'eau pour le bétail. En général, la concentration de Se dans l'eau potable est assez faible, mais peut varier selon les formations géologiques (CCME, 2009). Entre 2005 à 2009, le ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec a mesuré les niveaux de Se dans 3 698 (14 083 échantillons) installations de distribution d'eau potable.

Seulement 3% des mesures indiquaient une concentration supérieure à la limite de détection (0,1 µg/l), 0,05% des échantillons avaient une concentration supérieure à 10 µg/l et la valeur la plus élevée était de 27 µg/l. Dans la majorité des cas, on peut supposer que l'eau ne contient pas de Se lors de l'élaboration d'une ration.

2.1.1.3 Fourrages et céréales

Les plantes sont classées en trois groupes en fonction de leur capacité à emmagasiner le Se (Rosenfeld and Beath,1964). Celles du premier groupe se nomment les plantes accumulatrices. Les plantes du genre *Stanleya (*ex : Plume du Prince*,* Philodendron White Princess*), Astragalus (*ex : Astragale du Canada, Astragale graines-de-bœuf) *Condonopis (*ex : Ginseng du pauvre*), Neptunia (*ex : Neptunie potagère, Houppette jaune) et *Xylorhiza (*ex : Aster des alpes, Aster à feuilles cordées) font partie de ce groupe. Elles ont besoin de Se pour assurer leur croissance et sont capables d'en accumuler à des concentrations allant jusqu'à dix fois celles du sol. Ces plantes peuvent causer des intoxications aiguës chez les animaux (chevaux).

Les plantes du deuxième groupe se nomment les accumulatrices secondaires. La moutarde brune, le canola, le brocoli et la caméline font partie de ce groupe. Elles n'ont pas besoin de Se pour croître, mais sont tout de même capables d'en accumuler à des concentrations allant jusqu'à plusieurs centaines de ppm. En fonction de la concentration de Se dans le sol, elles peuvent causer un empoisonnement aigu ou chronique chez les animaux qui les consomment.

Les plantes du troisième groupe sont celles couramment utilisées pour nourrir les animaux. On parle notamment des fourrages (graminées et légumineuses) ainsi que les céréales. Même si ces plantes poussent dans des sols riches en Se, elles n'accumulent que rarement plus de 50 ppm de cet oligo-élément (Rosenfeld and Beath,1964). De plus, lorsque leur contenu en Se est élevé, elles sont moins appétissantes pour les animaux.

2.1.2 Métabolisme, absorption et formes de sélénium

On retrouve 2 formes de Se dans les aliments pour chevaux; la forme organique et inorganique. Le Se organique se retrouve dans les plantes et les grains sous forme de sélénocystine, de sélénocystéine et de sélénométhionine. Il est incorporé dans les concentrés sous forme de levure de Se. *Saccharomyces cerevisiae* est la souche couramment utilisée dans les aliments pour le bétail. Elle absorbe le Se inorganique et le transforme en sélénométhionine ainsi qu'en sélénocystéine. Le Se inorganique provient plutôt des sels tels que le sélénite de sodium et le sélénate de sodium. Selon le type de Se ingéré par le cheval, l'absorption diffère.

La sélénométhionine compose 90% du Se contenu dans les plantes. Elle est synthétisée par les végétaux et est incorporée dans leurs protéines à la place de la méthionine (Cubadda et coll., 2010). C'est la forme la plus commune dans les aliments pour chevaux. Une fois ingérée, la sélénométhionine est absorbée au niveau de l'intestin par les transporteurs de méthionine et incorporée dans la réserve de méthionine (methionine pool) située dans le foie. Par la suite, elle est incorporée dans les tissus de manière non spécifique durant la synthèse des protéines (Schrauzer, 2003). Le métabolisme de la sélénométhionine se déroule principalement dans le foie via le cycle de la méthionine et la voie de transsulfuration. La sélénométhionine devient alors de la sélénocystéine (Figure II). Ceci est le point d'entrée dans le cycle métabolique du Se (Esaki et coll., 1981).

La sélénométhionine et la sélénocystine sont les formes de Se organique métabolisées par les plantes non-accumulatrice (Olson et coll. 1970). La sélénocystine est réduite par la cystéine et le glutathion en sélénocystéine (Figure II) (Dickson et Tapple, 1969).

La sélénocystéine est beaucoup moins abondante dans les plantes. Elle est une intermédiaire dans la réaction inverse de la voie de transsulfuration qui produit la sélénométhionine chez les plantes (Sors, Ellis, Salt, 2005). Certaines plantes accumulatrices du Se détoxifient la sélénocystéine en la méthylant. Ceci est moins toxique pour la plante, mais toxique pour les animaux qui la consomment. La sélénocystéine est la forme de Se contenue dans les sélénoprotéines animales.

Elle est alors présente dans les diètes contenant des produits ou sous-produits d'animaux. Son absorption est moins connue que celle de la sélénométhionine. Elle est aussi absorbée au niveau des cellules de la muqueuse intestinale et incorporée dans le métabolisme du Se (Wolffram, Berger, Grenacher, Scharrer, 1989).

Le Se inorganique est grandement utilisé par l'industrie d'aliments pour animaux. Les 2 formes les plus utilisées sont le sélénite et le sélénate de sodium. Elles sont absorbées par diffusion passive. L'absorption du sélénite varie entre 50 à 90%, en fonction des constituants de la ration tandis que le sélénate est pratiquement absorbé en entier (Van Dael et coll., 2001). Par contre, une fois absorbé, le sélénate doit être converti en sélénite afin d'être métabolisé. Une grande proportion de ce type de Se est excrétée dans les fèces et l'urine (Wolffram, 1999), ce qui rend son absorption similaire à celle du sélénite.

Chez les bovins et les porcs, il a été démontré que la forme organique est plus efficace afin d'augmenter le Se dans le sérum, le plasma et dans le sang entier (Mahan et coll. 1999; Ortman et coll, 1999). Bien que peu de recherches aient été effectuées sur l'absorption du Se selon sa forme par les chevaux, il y a des évidences que le Se organique serait plus efficace pour augmenter le niveau du Se dans le plasma et les globules rouges. Il n'y a toutefois pas de différence entre les deux formes de Se concernant l'activité de la glutathion peroxydase (Montgomery et coll., 2012).

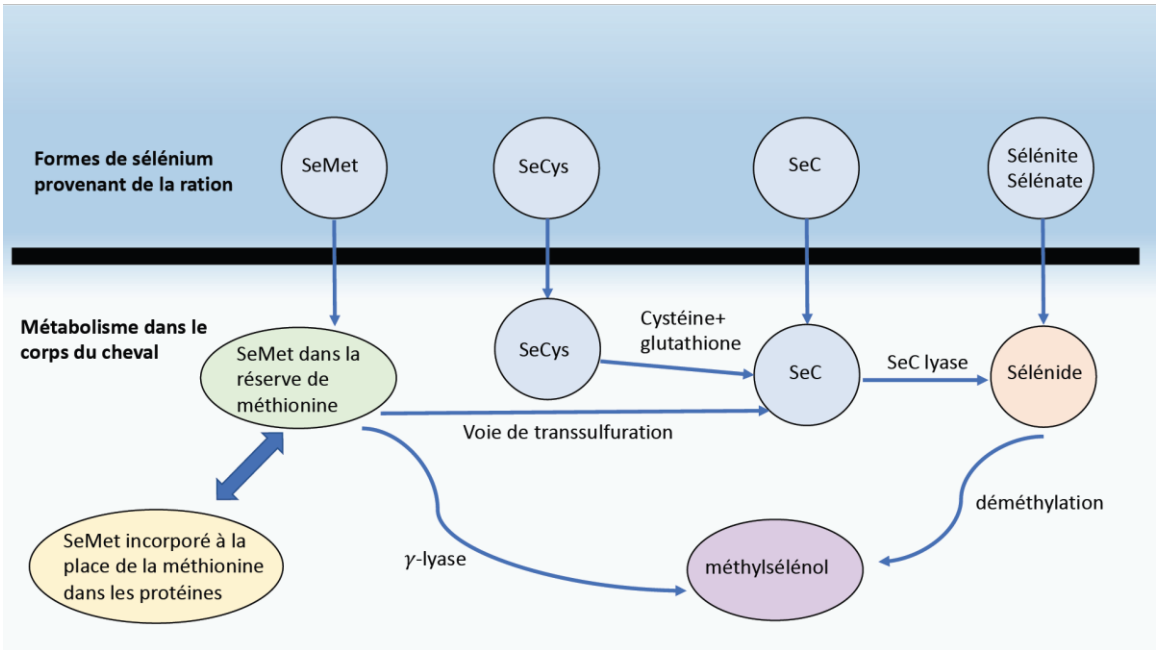

Figure II: Métabolisme initial des principales sources de sélénium dans l'alimentation (Adaptée de Burk et Hill, 2015)

Abréviations : SeMet = sélénométhionine, SeCys = sélénocystine, SeC = sélénocystéine

2.1.3 Fonctions et rôles biologiques

C'est en 1973 que la première sélénoprotéine, la glutathion peroxydase, a été découverte (Rotruck et coll., 1973). La GSH-Px joue un rôle comme antioxydant, est impliquée dans le transport du Se, dans la production d'hormones thyroïdiennes (iodothyronine désiodases) et aide à maintenir l'état de redox intracellulaire (thiorédoxine réductase). La GSH-Px a une fonction d'enzyme qui détoxifie les hydroxydes lipidiques et les hydroperoxydes qui sont toxiques pour la membrane cellulaire. Les GSH-Px catalysent la réduction du H_2O_2 ou des hydroperoxydes organiques en eau ou en alcool en utilisant le glutathion (GSH) comme réducteur (Ursini et coll., 1995). Elles ont une fonction d'antioxydant à différents endroits et dans différents compartiments cellulaires (Tableau I).

Le Se joue un rôle dans la régularisation des hormones thyroïdiennes. Les 3 enzymes iodothyronine désiodases (D1, D2 et D3) qui catalysent l'activation et l'inactivation des hormones thyroïdiennes sont des protéines contenant de la sélénocystéine (Tableau I). Une alimentation inadéquate en Se limite l'expression des désiodases durant le développement et chez l'individu adulte (Köhrle et coll., 2005). Par contre, un mauvais fonctionnement des désiodases n'est pas le premier signe observé lors d'une restriction en Se, puisque les hormones thyroïdiennes requièrent beaucoup moins d'enzymes actives pour fonctionner que les GSH-Px, par exemple.

Le Se et la vitamine E ont un rôle complémentaire en tant qu'antioxydants. La vitamine E élimine les radicaux libres dans la membrane cellulaire afin d'empêcher la formation de composés nocifs. Elle donne un atome d'hydrogène de son groupe phénolique à un radical peroxyle lipidique. Ceci forme un peroxyle lipidique plus stable ainsi qu'un radical tocophéryl stable. Le Se entre en jeu afin de détruire les composés déjà formés en les incorporant à la GSH-Px. Une déficience en Se ou en vitamine E diminue la protection des cellules contre le stress oxydatif, ce qui prédispose la membrane cellulaire à des attaques par les radicaux libres produits par divers procédés métaboliques (Wichtel et coll., 1997). Toutes les cellules peuvent être affectées par le stress oxydatif. Cependant, lorsqu'on parle de Se et de vitamine E, on s'intéresse surtout aux cellules immunitaires (Ceballos, et coll., 2009)

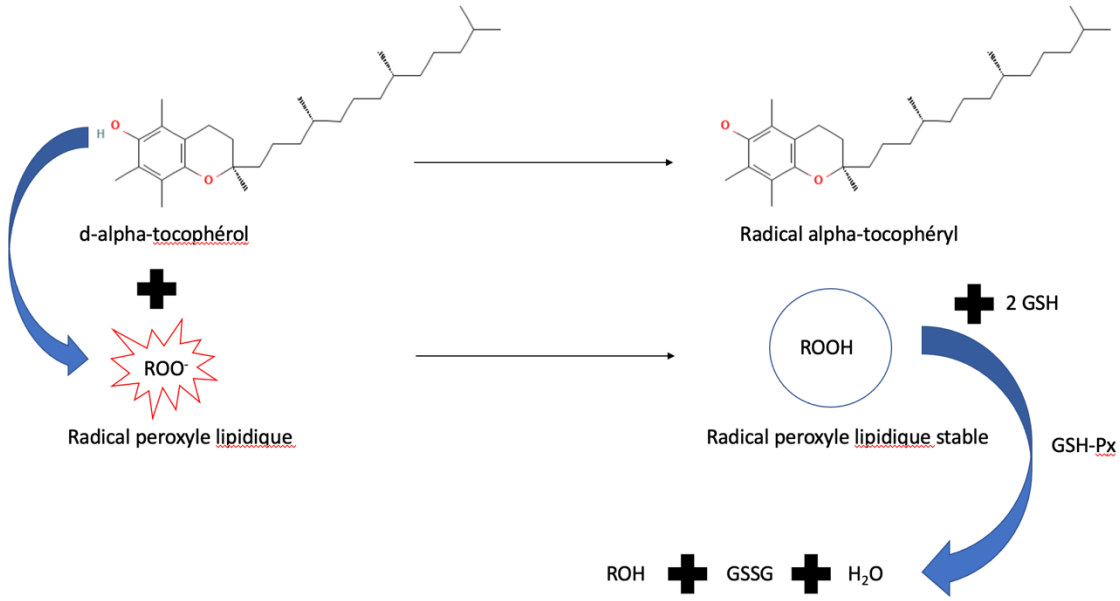

Figure III : Interactions entre la vitamine E et la GSH-Px afin de stabiliser les peroxyles lipidiques et de les détruire (Wichtel et coll., 1997)

Abréviations : GSH = glutathion; GSSG = glutathion oxydée

Tableau I : Rôles et fonctions de différentes sélénoprotéines chez les mammifères (incluant les chevaux)

(Beckett et Arthur, 2005; Margis et coll., 2008; Brigelius-Flohé et Maiorino, 2013)

Sélénoprotéine	**Rôle et/ou fonction**	**Emplacement et/ou lieu de synthèse**
GSH-Px1 (Sélénocystéine)	Antioxydant au niveau du cytosol et de la mitochondrie	Globules rouges, foie, poumons et reins
GSH-Px2 (Sélénocystéine)	Antioxydant au niveau de l'épithélium intestinal	Système gastro-intestinal
GSH-Px3 (Sélénocystéine)	Antioxydant dans l'espace extracellulaire et dans le plasma	Reins, poumons, épididyme, canal deferent, placenta, vesicule séminale, coeur et muscles
GSH-Px4 (Sélénocystéine)	Protège les membranes du stress oxydatif, protéine structurelle dans le sperme	Noyau, cytosol, mitochondries et lié aux membranes
GSH-Px6 Sélénocystéine (humain) Cystéine (rats et souris)	Épithélium olfactif	Épithélium olfactif
Iodothyronine désiodases D1	Convertie la T4 en T3 et en rT3, ainsi que la T3 en rT3 ou T2	Glande thyroïde
Iodothyronine désiodases D2	Convertie la T4 en T3 ainsi que la T3 en T2	Glande thyroïde
Iodothyronine désiodases D3	Convertie la T4 et la T3 en rT3 et en T2	Glande thyroïde
Sélénoprotéine P	Transport du Se et antioxydant	Foie

Abréviations T4 = Tétraiodothyronine ou Thyroxine; T3 = Triiodothyronine; rT3 = Triiodothyronine inverse; T2 = 3,5-Diiodo-L-thyronine

A- GSH-Px séléno-dépendantes

GSH-Px1

La GSH-Px1 est la première sélénoprotéine qui fut identifiée (Rotruck et coll., 1973). C'est un homotétramère qui agit au niveau du cytosol et de la mitochondrie. Elle réagit avec le H_2O_2 et d'autres hydroperoxydes tels que l'hydroperoxyde de tert-butyle et l'hydroperoxyde de cumène (Flohé, 1989). Elle est reconnue comme étant l'enzyme qui combat le stress oxydatif grâce à sa capacité de réduire les hydroperoxydes.

GSH-Px2

La GSH-Px2 est aussi un homotétramère très semblable à la GSH-Px1. Elle est principalement exprimée au niveau du système digestif, dans l'épithélium de l'œsophage et chez les humains, au niveau du foie. Elle agit comme une barrière pour empêcher l'absorption des hydroperoxydes dans la nourriture (Chu et coll., 1993).

GSH-Px3

La GSH-Px3 est aussi semblable à la GSH-Px1. C'est un tétramère qui contient deux des quatre arginines responsables de la liaison au GSH. La GSH-Px3 est une enzyme extracellulaire qui est relâchée dans le plasma (Brigelius-Flohé et Maiorino, 2013). On la retrouve aussi dans d'autres fluides tels que les yeux, le follicule thyroïdien, les tissus adipeux et le liquide amniotique (Brigelius-Flohé et Maiorino, 2013). Elle a une fonction de tampon redox qui différencie les stimuli inflammatoires (Flohé et Brigelius-Flohé, 2006). Elle peut prévenir l'amplification du signal au niveau des membranes qui, par le fait même, diminue la réponse inflammatoire. Tout comme les autres GSH-Px, la GSH-Px3 prévient l'activation des lipoxygénases médiée par les hydroperoxydes.

GSH-Px4

La GSH-Px4 est un monomère et ne contient pas les acides aminés nécessaires à la liaison avec le GSH comme la GSH-Px1 (Ursini et coll., 1997). Elle peut tout de même réagir avec le GSH. Dépendamment de la présence du GSH, la GSH-Px4 peut soit agir en tant que GSH peroxydase ou en tant que peroxydase à thiol. On retrouve cette GSH-Px sous trois isoformes; cGSH-Px4 dans le cytosol, mGSH-Px4 dans la mitochondrie et snGSH-Px4 dans le sperme (Brigelius-Flohé et Maiorino, 2013).

GSH-Px6

Chez les humains, la GSH-Px6 est une sélénoprotéine très semblable à la GSH-Px3. Chez les autres animaux, c'est une GSH-Px avec une cystéine (Kryukov et coll., 2003).

B- Autres sélénoprotéines

Iodothyronine désiodases

Il y a trois isoformes d'iodothyronine désiodases (D1, D2, D3). La D1 se trouve dans le foie, les reins, la glande thyroïde et dans l'hypophyse. C'est la principale source de T3 dans le plasma. Elle convertit la T4 en T3 et rT3 ainsi que la T3 en rT3 ou en T2. On retrouve la D2 au niveau de la glande thyroïde, du système nerveux central, de l'hypophyse, du squelette et des muscles cardiaques. Elle convertit la T4 en T3 ainsi que la T3 en T2. La D3 se trouve dans l'utérus, le placenta, le foie du fœtus, le cerveau du fœtus et du nouveau-né et dans la peau du nouveau-né. La D3 convertit la T4 et la T3 en rT3 et en T2 (Beckett et Arthur, 2005).

Sélénoprotéine P

La sélénoprotéine P fut décrite pour la première fois en 1973 (Rotruck et coll., 1973) et a été définie dans les années 1980 comme étant la sélénoprotéine la plus abondante dans le plasma des rats (plus de la moitié du Se plasmatique est sous forme de SeP) (Read et coll., 1990). La SePP contient un grand nombre de résidus de sélénocystéine. Ceci lui permet de transporter le Se dans tout le corps et sert de réserve de Se pour la synthèse d'autres sélénoprotéines essentielles (Read et coll., 1990).

2.1.4 Besoins et apports

2.1.4.1 Besoins

Lorsqu'on révise la littérature concernant les besoins en Se chez les chevaux, on y retrouve différentes recommandations selon l'ouvrage de référence. Le NRC (2007) évalue les besoins en Se chez le cheval à 0,1 mg/kg de ration par jour. Ce qui équivaut à 1 mg de Se par jour pour un cheval de 500 kg consommant 2% de son poids vif en fourrages. Ce sont les mêmes recommandations qui ont été maintenues du NRC (1989). Cette recommandation provient d'une étude menée par Stowe en 1967 et soutenue par les travaux de Shellow et coll. (1985). Leur conclusion était qu'il n'est pas nécessaire de supplémenter le cheval à l'entretien avec plus de 0,1 mg de Se/kg de ration par jour. Bien qu'une étude effectuée par Janicki et coll. (2001) a démontré certains bienfaits de supplémenter les juments poulinières avec 3 mg de Se par jour au lieu de 1 mg de Se par jour, le NRC (2007) a maintenu la recommandation à 0,1 mg/kg de ration par jour. L'INRA (2015), qui est un ouvrage de référence européen, estime les besoins en Se chez le cheval à 0,2 mg/kg de ration par jour. Ce qui équivaut à 2 mg de Se par jour pour un cheval de 500 kg consommant 2% de son poids vif en fourrages. L'American Association of Equine Practitioners se base sur la recommandation de la FDA qui recommande un niveau de Se de 3 mg par jour pour un cheval moyen. Il n'y a pas de description de ce qu'est un cheval moyen.

À l'heure actuelle, le NRC, l'IRNA et l'American Association of Equine Practitioners n'ont pas établi de recommandations spécifiques concernant la quantité de Se à supplémenter selon les stades physiologiques (chevaux en croissance, juments gestantes, en lactation et chevaux à l'entrainement intense). Janicki et coll. (2001) ont découvert que les poulains provenant de juments recevant 3 mg Se/jour (au lieu de 1 mg Se/jour) avaient une concentration plus élevée d'anticorps spécifiques à l'influenza. Muirhead et coll. (2010) ont démontré sur des chevaux à l'Île-du-Prince-Édouard que les jeunes chevaux et les chevaux âgés étaient déficient en Se (selon une analyse sanguine) dans respectivement 82% et 97% des chevaux échantillonnés durant l'étude. Il y a donc un besoin pour des recommandations basées sur le stade physiologique du cheval.

Selon des études réalisées chez d'autres espèces, la concentration maximale de Se tolérée a été estimée à 5 mg/kg de MS (NRC, 2005). Le NRC (1989) a estimé que la concentration maximum de Se tolérée chez les chevaux était de 2 mg/kg de MS, puisque les chevaux seraient plus susceptibles à une toxicité en Se que les bovins (Rogers et coll., 1990).

Pour ce qui est de la vitamine E, le NRC (2007) se base sur les recommandations du NRC (1989). Les recommandations en vitamine E du NRC (1989) sont basées sur les recherches de Baalsrud et Overnes (1986) et de Roneus et coll. (1986). Ces études ont démontré une amélioration de l'immunité humorale chez des chevaux adultes supplémentés avec 1 UI de vitamine E/kg de poids vif.

Différentes recommandations ont été établies selon le stade physiologique du cheval. Pour les chevaux à l'entretien et les juments poulinières, la recommandation est de 1 UI/kg de poids vif. Pour les chevaux en croissance et les juments en lactation, le NRC (2007) suggère d'incorporer 2 UI/kg de poids vif. Pour ce qui est des chevaux à l'entrainement, la recommandation dépend du niveau d'intensité (Annexe I). Pour les chevaux au travail léger, il est suggéré de donner 1,6 UI/kg de poids vif, pour les chevaux au travail modéré, 1,8 UI/kg de poids vif et pour tous les autres niveaux d'intensité, 2 UI/kg de poids vif.

La vitamine E n'est pas toxique pour les chevaux, même à des concentrations très élevées (NRC, 2007). Par contre, le NRC (2007) a défini une limite de 1000 UI/kg de MS par jour basée sur des observations chez d'autres espèces. Des problèmes de coagulation et une altération de la minéralisation osseuse ont été observés chez d'autres espèces consommant un niveau de vitamine E supérieur à 1000 UI/kg de MS par jour (NRC, 1987).

2.1.4.2 Apports

Les signes cliniques de carences sévères et de rhabdomyolyse (tying up) sont les suivants : une fréquence respiratoire plus élevée, des spasmes et raideurs musculaires, une transpiration abondante, des niveaux élevés de créatinine kinase (CK) et d'aspartate aminotransférase (AST). Dans ces cas, une injection de vitamine E/sélénium est recommandée afin de commencer le traitement (Valberg, 2019). Les injections sont faites de manière intramusculaire. Afin d'assurer une concentration adéquate dans le sang, il faut combiner l'injection de vitamine E/sélénium à une supplémentation par voie orale sous forme de Se organique ou inorganique.

Plusieurs études réalisées chez différentes espèces ont démontré que le Se de forme organique était plus efficace que le Se inorganique. Calamari et coll. (2009) ont démontré que la levure de Se (Se organique) était plus efficace que le sélénite de sodium pour augmenter la concentration de Se dans le sang des chevaux sur une période de 16 semaines. Ce n'était pas le cas pour la GSH-Px1. Chez les porcs, Mahan et coll. (1999) ont démontré que le Se organique était plus efficace que le Se inorganique pour ce qui est de la rétention, de la concentration dans les tissus et dans le sérum. Chez les bovins, le Se organique est aussi plus efficace afin d'augmenter les niveaux dans le sang entier et dans le sérum (Ortman et coll., 1999). Montgomery et coll. (2012) ont démontré certains avantages de la supplémentation en Se organique chez les chevaux. Durant leur étude, ils ont constaté que les niveaux de Se plasmatique et dans le sang entier, chez les animaux déficients, ont significativement augmenté suite à la supplémentation organique. Tout comme Calamari et coll. (2009), ils n'ont pas observé de différence dans l'activité de la GSH-Px1 entre les deux formes de Se.

2.1.5 Carence et toxicité

2.1.5.1 Carence

Les manifestations cliniques les plus courantes lors d'une déficience en Se sont des maladies neuromusculaires comme la myopathie nutritionnelle. La myopathie nutritionnelle, ou maladie du muscle blanc est souvent observée chez les poulains, de la naissance à 1 an. Elle est due à une carence en Se combinée ou non à une carence en vitamine E. Les cas sont plus fréquents dans les régions où les sols sont déficients en Se et que la jument n'a pas été suffisamment supplémentée durant la gestation. Les symptômes de la maladie sont les suivants : une faiblesse musculaire, des difficultés de locomotion, difficulté du poulain à boire et à avaler, une détresse respiratoire et une fonction cardiaque altérée (Löfstedt, 1997). Chez les chevaux adultes ayant subi un stress (transport, maladie, exercice intense), c'est la myosite des muscles masticateurs et la rhabdomyolyse d'effort qui peut survenir (Valberg, 2019.)

Chez les bovins, il est reconnu qu'une carence en Se peut diminuer la fertilité, causer des avortements et des rétentions placentaires (Kamada et coll., 2014). Bien que peu d'études aient été faites chez les chevaux, Ishii et coll. (2002) ont démontré que les juments avec un niveau adéquat de Se et vitamine E étaient plus fertiles que les juments non supplémentées.

2.1.5.2 Toxicité

Le Se a longtemps été perçu comme un oligo-élément toxique pour les ruminants et les chevaux. C'est pour cette raison que peu d'attention a été porté à la supplémentation avant les années 1950. La toxicité du Se provient des concentrations élevées de méthylsélénocystéine et de sélénométhionine retrouvées dans les plantes. Le métabolisme de ces composés mène à la formation de méthylsélénide (CH_3Se-), qui en concentration suffisante, oxyde les thiols et génère des superoxydes et d'autres dérivés réactifs de l'oxygène (Spallholz, 2019). Le Se est mieux absorbé chez les monogastriques que chez les ruminants. C'est pour cette raison que les chevaux semblent plus susceptibles à une toxicité de Se que les bovins (Rogers et coll., 1990).

La toxicité aiguë qui cause le « blind staggers » est caractérisée par des troubles de vision, de la douleur abdominale, des coliques, une augmentation du rythme cardiaque et respiratoire ainsi que de la léthargie (Rosenfeld et Beath, 1964).

La toxicité chronique mène à la maladie alcaline qui est caractérisée par une alopécie de la crinière et de la queue ainsi qu'un craquement du sabot autour de la bande coronaire (Rosenfeld et Beath, 1964). Le soufre est remplacé par le Se dans la kératine, ce qui cause un affaiblissement des sabots et du poil (Hall, 2014). Une administration orale de sulfates, qui est un antagoniste du Se, peut être faite dans les cas de toxicité chronique (Rogers et coll., 1990). Des cas de mort ont été reportés suite à des injections de vitamine E/sélénium. Par contre, les décès seraient dus à des réactions anaphylactiques à un ingrédient contenu dans la préparation (Hall, 2014).

2.1.6 Méthodes d'évaluation du statut de sélénium

Il existe deux méthodes afin de déterminer le statut de Se d'un organisme : la méthode directe et la méthode indirecte. La première mesure la quantité de Se dans le sang entier, le sérum, le plasma, différents tissus, le lait, l'urine et les fèces. La seconde, indirecte, mesure l'activité des différentes GSH-Px sélénodépendantes.

Les mesures déterminées par la méthode directe peuvent être obtenues à l'aide de différentes techniques en laboratoire. La spectrométrie d'absorption atomique à génération d'hydrures (HG-AAS) est utilisée pour déterminer le Se dans le sang entier, le plasma, le sérum et les tissus (Pechova et coll., 2005). Le Se dans le sang entier, le lait, la ration, l'urine et les fèces peut être mesuré par spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS). Cette méthode détermine la concentration exacte du Se comparativement à la HG-AAS (Stockdale et Gill, 2011). La spectrométrie à plasma à couplage inductif (ICP-OES) peut être utilisée pour mesurer le Se dans le sérum, la ration et dans le muscle. Par contre, cette méthode est moins sensible que la ICP-MS (Kralik et coll, 2013).

La spectroscopie d'absorption atomique par four graphite (GFAAS) est parfois utilisée pour déterminer le Se dans le plasma et dans le foie (Liesegang et coll., 2008).

Afin d'obtenir des informations sur les différentes espèces de Se, la méthode à utiliser est la chromatographie liquide de haute performance (HPLC). La HPLC permet de mesurer le sélénite, le sélénate, la sélénométhionine, la sélénocystine et la sélénocystéine (Slekovec et Goessler, 2005).

2.1.6.1 Plasma, sérum et sang entier

Le niveau Se dans le plasma et dans le sérum est un bon indicateur de la supplémentation actuelle en cet oligo-élément puisqu'il est sensible aux changements à court terme lors de l'administration de Se. Le Se dans le sang entier varie plus lentement que celui dans le plasma et le sérum puisque le Se doit être incorporé dans les érythrocytes durant leur formation (Van Saun, 1990).

2.1.6.2 Méthode enzymatique, glutathion peroxydase

La méthode couramment utilisée afin de déterminer la GSH-Px dans les échantillons est celle de Paglia et Valentine (1967). Elle est basée sur le principe que la GSH-Px catalyse l'oxydation du glutathion (GSH) avec l'hydroxyde de cumène. En présence de glutathion réductase (GR) et de NADPH, le glutathion oxydé (GSSG) est immédiatement converti en forme réduite avec une oxydation simultanée du NADPH en NAHP. La diminution d'absorbance à 340 nm est mesurée à 37 °C avec le spectrophotomètre UV (Paglia et Valentine, 1967).

Équation I *:*

$$2GSH + ROOH \xrightarrow{GSH-Px} ROH + GSSG + H_2O$$

$$GSSH + NADPH + H^+ \xrightarrow{GR} NADP^+ + 2GSH$$

Les GSH-Px (GSH-Px1, GSH-Px2, GSH-Px3, GSH-Px4) contiennent 4 atomes de Se et de la sélénocystéine à leur site catalytique (Brigelius-Flohé et Maiorino, 2012). Ce qui fait en sorte qu'elles sont très dépendantes du Se alimentaire. C'est pour cette raison que les résultats de mesures des GSH-Px sélénodépendantes sont de bons indicateurs du statut de Se, du statut antioxydant et la réponse du corps à la supplémentation.

L'activité de la GSH-Px dans le sang est associée à 98% avec les érythrocytes. La durée de vie des érythrocytes chez les bovins est d'environ 160 jours et contient seulement des GSH-Px sélénodépendantes (Scholz et Hutchinson, 1979). Alors, la mesure de la GSH-Px dans le sang ou dans les érythrocytes est un bon indicateur du statut de Se à long terme chez les bovins (Maas et coll., 1992). Lors d'une étude menée par Caple et coll. (1978), qui a mesuré la GSH-Px chez plus de 200 chevaux, il a été conclu que cette mesure est aussi un bon indicateur du niveau de Se chez les chevaux.

La GSH-Px3 est un bon marqueur du statut de Se. Elle utilise plusieurs substrats comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et l'hydroperoxyde et est un bon antioxydant dans le plasma (Brigelius-Flohé et Maiorino, 2013).

2.1.6.3 Dans les tissus

Plusieurs tissus peuvent servir à déterminer le statut en sélénium des animaux. Le Se est présent en plus grande concentration dans les reins, le foie, le pancréas et ensuite dans les muscles cardiaques et squelettiques (Combs, 1986). Le sélénium de source organique s'accumule plus rapidement dans les tissus que celui de forme inorganique puisqu'il s'incorpore de manière non spécifique (Combs, 1986).

2.1.7 Valeurs de référence

Selon le laboratoire et la référence qu'il utilise, les valeurs pour le sélénium et la vitamine E peuvent varier. La plupart du temps, elles sont réparties en trois classes; déficient, marginal et adéquat. En ce qui concerne la GSH-Px, très peu de valeurs de référence sont disponibles chez les chevaux.

Tableau II : Valeurs de référence du sélénium, de la GSH-Px et de la vitamine E chez les chevaux

	Seuils	**Référence**
Se (sérum)	Déficient : 0,10 – 0,67 µmol/L Marginal : 0,67 – 1,69 µmol/L Adéquat : 1,70 – 3,20 µmol/L	Puls, 1994
Se (plasma)	Adultes : 0,5 – 2,5 µmol/L Poulains : 0,6 – 1,2 µmol/L	Equine applied and clinical nutrition, 2013
Se (sérum)	Déficient : 0,10 – 0,67 µmol/L Marginal : 0,67 – 1,52 µmol/L Adéquat : 1,77 – 3,17 µmol/L	Toxicology and Analytical Services Laboratory at the Atlantic Veterinary College, Charlottetown, Prince Edward Island
Se (sang entier)	Adéquat : 1,77 – 3,04 µmol/L	Animal Health Diagnostic Center, Cornell University College of Veterinary Medecine, Ithaca, NY
Se (sérum/plasma)	Déficient : < 0,63 µmol/L Marginal : 0,63 – 1.27 µmol/L Adéquat : >1,27 µmol/L	Texas A&M Veterinary Medical Diagnostic Laboratory
Se (sérum)	Adéquat : 1,65 – 2,03 µmol/L	Veterinary Diagnostic Laboratory, Michigan State University, Lansing, MI
Se (sang entier)	Déficient : <1.00 µmol/L Marginal : 1,00 – 2,01 µmol/L Adéquat : 2,03 – 3,48 µmol/L	Oregon Veterinary Diagnostic Laboratory, Oregon State University, Corvallis, OR
Se (serum)	Adéquat : 1,26 – 3,29 µmol/L	California Animal Health & Food Safety Lab System, UC David Veterinary Medecine, Davis, CA
GSH-Px	17 U/mg Hb	Gallagher et Stowe, 1980
GSH-Px (sang entier)	30 – 150 U/g Hb	Equine applied and clinical nutrition, 2013
Vitamine E (sérum)	200 – 1000 µg/dL	Puls, 1994
Vitamine E (plasma et sérum)	Déficient : < 150 µg/dl Marginal : 150 – 200 µg/dl Adéquat : > 200 µg/dl	Muirhead et coll., 2010 Vanschandevijl et coll., 2008 Blythe et Craig, 1992

Il est possible d'observer une grande variation des valeurs de référence du Se dans le plasma, le sérum et dans le sang entier lorsqu'on compare les différents ouvrages de référence. Rares sont les distinctions entre les différents groupes d'âge. Le stade physiologique ainsi que la région où se trouve l'animal n'est pas pris en compte dans les valeurs de références existantes.

Robert Puls a publié 2 ouvrages de référence avant celui qui est utilisé aujourd'hui. En 1981, il a publié «Veterinary trace mineral deficiency and toxicity information ». En 1990, il a publié « Mineral levels in animal health – Diagnostic Data ». Actuellement, plusieurs laboratoires se basent sur les valeurs de référence provenant de la 2^{e} édition de « Mineral levels in animal health – Diagnostic Data », publiée par Robert Puls en 1994, afin d'interpréter les résultats de Se sérique et plasmatique chez les chevaux. Comme il est possible de constater dans le Tableau III, Puls s'est basé principalement sur 8 ouvrages et a aussi fait part de son expérience ainsi que de son jugement afin de compléter les valeurs manquantes de certaines tables. Les ouvrages sur lesquels il s'est basé proviennent du New Jersey, de New York, de l'Iowa, de Washington (D. C.), de Baltimore, de Londres, d'Édimbourg et de Tokyo. Les sols de ses régions sont très variables en termes de concentration de Se. Les concentrations varient de 0,1 ppm à 0,7 ppm (Kubota et coll., 1967 et Fordyce et coll., 2009).

Puisqu'il y a une grande variation entre les régions en ce qui concerne le niveau de Se dans les sols, il est important de tenir compte de l'endroit où les études (utilisés par Puls) ont été menées. Si on se fie aux valeurs de référence pour le Se chez les humains, elles sont classées en plusieurs catégories en fonction du stade physiologique et de la région géographique. La saturation de la sélénoprotéine P dans le plasma est utilisée comme critère pour élaborer les valeurs de référence pour l'apport en Se chez les adultes. Les personnes vivant dans des régions déficientes en Se, comme la Chine, ont une valeur de référence plus basse en ce qui concerne la quantité de Se à ingérer par jour afin que la SePP soit saturée (Kipp et coll., 2015). Il serait intéressant d'évaluer si cette méthode pouvait s'appliquer aussi chez les chevaux.

Tableau III : Principaux textes de références utilisés par Puls lors de l'écriture du livre « Mineral levels in Animal Health – Diagnostic Data »

Auteurs	**Année**	**Titre**	**Éditeur**	**Lieu de publication**
Otto et Siegmund	1979	The Merck Veterinary Manual, 5th Edition	Merck & Co. Inc.	New Jersey, États-Unis
Underwood E. J.	1977	Trace Elements in Human and Animal Nutrition, 4th Edition	Academic Press	New York
Clarke, E. G. C. Clarke, M. L.	1975	Veterinary Toxicology, 1st Edition	Bailliere Tindall	Londres
Buck, W. B. Osweiler, G. D. van Gelder, G. A.	1973	Clinical and Diagnostic Veterinary Toxicology	Kendall/Hunt Publishing Co.	Iowa, États-Unis
Blood, D. C. Henderson, J. A. Radostits, O. M.	1979	Veterinary Medicine, 5th Edition	Bailliere Tindall	Londres
Mills, C. F.	1970	Trace Element Metabolism in Animals	E & S Livingstone	Édimbourg et Londres
Hoekstra, W. G. Suttie, J. W. Ganther, H. E. Merts, W.	1974	Trace Element Metabolism in Animals - 2	University Park Press	Baltimore, Londres et Tokyo
National Research Council		Nutrient Requirements of Domestic Animals series	National Academy of Science	Washington, D. C.

Au début du livre « Mineral levels in animal health – Diagnostic Data, 2nd Edition », Puls avertis le lecteur de ne pas utiliser les valeurs de référence telles quelles. Selon lui, il est important de porter un jugement critique ainsi que de tenir compte des interactions entre les minéraux, de la santé générale de l'animal, de la race, de la géographie et des erreurs pouvant survenir en laboratoire. Il mentionne aussi de faire attention avec les valeurs se situant sur les limites des intervalles de référence. Trop souvent, ces avertissements sont ignorés et le diagnostic est établi sans tenir compte de l'ensemble des variables.

2.1.8 Conclusion

En conclusion, lors de l'interprétation d'une analyse sanguine de Se, il est important de garder en tête plusieurs facteurs afin de bien interpréter le résultat. Entre autres, il faut tenir compte de l'endroit où vit l'animal, de son stade physiologique, de son niveau d'exercice, de son état de santé, de la source de Se dans la ration et des interactions avec les autres vitamines et minéraux.

Les valeurs de références sur lesquelles les laboratoires se basent actuellement, datent de près de 30 ans et les textes de référence sur lesquels elles ont été établies, datent des années 1970. Depuis ce temps, plusieurs travaux de recherche sur le Se chez les chevaux ont été réalisés. Certaines de ces recherches ont été effectuées dans des conditions semblables au Québec en ce qui a trait au niveau de Se dans les sols. Parmi ces recherches, on compte notamment celle de Muirhead et coll. (2010), qui a été réalisé à l'Île-du-Prince-Édouard. Ils ont démontré que 79% (158,8 sur 201) des chevaux échantillonnés durant leur étude étaient déficients en Se selon les valeurs de référence actuelles. Depuis plusieurs années, les résultats du CDVUM ont démontré aussi que plusieurs chevaux du Québec sont déficients en Se, selon les valeurs de référence actuelles (Puls, 1994).

3. HYPOTHÈSES ET OBJECTIFS

3.1 Hypothèses

La première hypothèse était que la plupart des chevaux du Québec ont un niveau de sélénium (Se) plasmatique inadéquat. La seconde hypothèse était que leur niveau de Se plasmatique était inadéquat dû au fait qu'ils ne consomment pas suffisamment de Se dans leur ration quotidienne.

3.2 Objectifs

Cette étude avait comme premier objectif de mesurer le Se plasmatique chez des chevaux de différentes régions du Québec. Les niveaux de Se, de vitamine E ainsi que l'activité de la GSH-Px plasmatique ont été mesurés. Le second objectif était de recenser la consommation de Se des chevaux du Québec à l'aide d'un questionnaire. Cela permettrait de déterminer si les propriétaires de chevaux supplémentent suffisamment leurs animaux.

4. PRÉSENTATION DE L'ARTICLE

Selenium and vitamin E status of horses in Quebec

Authors: E. David-Dandurand[1], D. Cinq-Mars[2], Y. Chorfi[1]

[1]Faculté de médecine vétérinaire, Département de Biomédecine Vétérinaire, Université de Montréal, 3200 Sicotte, St-Hyacinthe, Québec, Canada, J2S 2M2

[2]Département des Sciences Animales, FSAA, Université Laval, 2425 Rue le l'Agriculture, Québec, G1V 0A6

Corresponding author: younes.chorfi@umontreal.ca

4.1 Abstract

Soils in many regions in North America, including Quebec, are selenium (Se) deficient. To date, no field study has been conducted in Quebec regarding the Se status of horses. The objectives of this study were (1) to measure plasma Se in horses from different geographical locations in the province of Quebec and (2) to survey the Se consumption of the sampled horses. Four samplings were done on 59 horses over a 1-year period. Plasma was analyzed for Se, vitamin E and GSH-Px. Hay, concentrate and water were also analyzed for Se. Horses were classified in four groups for statistical analysis according to their forage:concentrate consumption respectively: group 1- 100% : 0%; group 2- 75-99% : 1-24%; group 3- 51-74% : 25-49%; group 4- < 50% : ≥ 50%. Owners were asked questions from a survey questionnaire at each visit. Results demonstrate that plasma Se varies according to BCS ($P = 0.031$) ($n = 224$ measures, 1 measure/horse/season), the season ($P = 0.015$) and the feeding group ($P < 0.001$). Plasma vitamin E was affected by the sex ($P = 0.047$) (mares: $n = 37$, geldings: $n = 18$, stallions: $n = 4$), the exercise level ($P < 0.001$) and the season ($P < 0.001$). GSH-Px activity was influenced by the type of feeding only ($P = 0.002$). When comparing plasma Se, vitamin E and GSH-Px results along with the answers of the survey questionnaire, it is possible to conclude that feeding practices of horse owners in Quebec are not appropriate to meet the Se requirements of horses.

Key words: diet, GSH-Px, horses, nutritional myopathy, recommendations, selenium, vitamin E

4.2 Introduction

Selenium (Se) was discovered and named by Berzelius in 1817 (Weekley et Harris, 2013). The interest for Se in animal feeding appeared around 1930, when researchers found that blind staggers and alkaline disease were linked to Se toxicity (Franke, 1934). At that time, the recommendations related to Se restriction rather than supplementation. It was not until the late 1950s that Se was recognized as an essential element (Schwarz and Foltz, 1957), leading to the development of soil maps to identify regions with Se deficient or excess.

Selenium is a trace element that must be included in the daily diet of horses. It plays a role in the reproductive and immune systems, fetal and muscle development, thyroid hormone metabolism and has antioxidant capacity (NRC, 2007). It is an important constituent of glutathione peroxidase (GSH-Px), an enzyme that protects cells from free radicals. However, there is a thin line between Se deficiency and toxicity. Deficiency affects the functioning of the immune and reproductive systems, thyroid gland and can lead to nutritional myopathy (Kirschvink et al., 2008). Toxicity is characterized by visual disturbances, alopecia of the mane and tail and hoof cracking around the coronary band (Rosenfeld et Beath, 1964). Most of the time, Se is incorporated in horse daily ration with a commercial concentrate, either as inorganic (sodium selenite or sodium selenate) or organic (selenomethionine, selenocysteine or selenocystine).

For horses, dietary Se requirements are based on National Research Council (NRC) 2007 data, which stayed the same as in the NRC (1989). The NRC (2007) Se recommendation is of 0.1 mg/kg of dry matter per day. It does not account for the physiological stage of the animal, its level of exercise and the source of Se in the diet.

To date, no field study has been conducted in Quebec regarding the Se status of horses. The objectives of this study were (1) to measure plasma Se in horses from different geographical locations in the province of Quebec and (2) to survey Se consumption by horses in Quebec.

4.3 Materials and methods

4.3.1 Animals, sampling groups and survey

Data was collected from October 2020 to February 2022 in 7 stables in the province of Quebec, Canada. Selected horses were males (geldings: n=18, stallions: n=4) and females (n=37) of 5 months and older (Table 1). Horses from different breeds (quarter horses, warmbloods, ponies and drafts) were selected in order to represent the horse industry of the province. Chosen horses were assumed to be healthy according to their owners and did not have any known diseases. They were classified in four groups according to the forage : concentrate ratio (weight of feed consumed) respectively: group 1- 100%: 0%; group 2- 75-99%: 1-24%; group 3- 51-74%: 25-49%; group 4- $< 50\%$: $\geq 50\%$. The groups were designed to reflect how horses are fed across Quebec. Data sheets with horse information (age, sex, breed, weight, diet, exercise and health history) as well as stable information (geographical location, number of horses, meals per day, turnouts) were collected using a survey.

Before the beginning of the study, the survey was validated with horse owners (that were not part of the present study) and professionals of the equine industry. The questions were asked by the master's student at each of the 4 visits. The survey was composed of 4 categories. First, general questions were asked about the stable (number of horses, the main discipline and management practices). Second, answer to questions regarding the horse owner were collected (number of years owning horses, number of horses owned and general knowledge about horse nutrition, Se and vitamin E). Third, information about the sampled horse was collected (age, sex, breed, weight, BCS, MASS, health history and physical activity). The fourth section was about the horse nutrition. Questions regarding forage and concentrate consumption were asked to the owner.

Four samplings were performed (1 per season) on 59 horses. Animals were handled following the guidelines of the Canadian Council on Animal Care (CCAC, 2020) and the protocol was approved by the Animal Care Committee of the faculty of veterinary medicine (21-Rech-2113).

4.3.2 Hay sampling

For each visit, a hay sample was taken. Hay samples were collected using a ProVac probe fixed on an electric drill. Ten samples of hay (100 g each) were collected randomly with the probe and thoroughly mixed in a bucket. A subsample (500 g) was taken to analyze Se content. Once at the lab, samples were frozen at -80°C until analysis.

4.3.3 Concentrate sampling

A sample of the concentrate ration of each horse was taken for Se analysis. Each sample was collected from the middle of unopened feed bag. If the horse was consuming more than one type of concentrate, one sample per feed type was taken in proportion to the amount ingested. Samples were preserved at -80°C until analysis.

4.3.4 Water sampling

At every sampling period and in each stable, water was analyzed for its Se concentration. Approximately 50 mL of water were collected in polypropylene tubes (Becton-Dinckinson, Rutherford, NJ, USA) and samples were frozen at -80°C until analysis.

4.3.5 Blood sampling

Blood samples were collected 4 times during the year to determine, Se, vitamin E and GSH-Px concentrations in plasma. Approximately 20 mL of blood were collected from the jugular vein using Vacutainer 0.8 x 38 mm needles and put into Vacutainer lithium heparin sample tubes (Vacutainer, Becton-Dinckinson, Rutherford, NJ, USA). Samples were centrifuged within 1 hour at 3500 rpm (1500 g) for 5 minutes to collect plasma in a VWR 76019-132 centrifuge (VWR, Radnor, Pennsylvania, USA). Plasma was transferred in 2 mL screw cap micro tubes (Sarstedt, Nümbrecht, Germany) and frozen at -80°C until analysis.

4.3.6 Biochemical analysis

Selenium concentration in plasma, forage, concentrate and water was measured by HPLC-FLD using a modified method of Hawkes et Kutnink (1996) with a Hewlett Packard series 1100 chromatograph (Agilent technologies, Mississauga, On, Canada). Selenium concentrations are expressed in µmol/L. Vitamin E in plasma was measured by HPLC-UV using a Hewlett Packard series 1100 chromatograph (Agilent technologies, Mississauga, On, Canada). Concentrations are expressed in µg/dl.

The enzymatic activity of GSH-Px in plasma was measured by kinetic-enzymatic technique following the method described by Paglia and Valentine. Randox commercially available kits (Randox Laboratories Canada Ltd., Mississauga, On, Canada) and a Beckman-Synchron DX autoanalyzer (Beckman instruments, Fullerton, CA, USA) were used to determine GSH-Px concentrations (U/L).

4.3.7 Statistical analysis

Results were analyzed using R (version 4.0.3). Data was collected 4 times on the same individual. This could induce pseudo replication bias. Linear mixed models (LMMs) were built to avoid potential bias. LMMs were used to test the statistical effect of the 5 independent variables (exercise, age, sex, body condition score and muscle condition score) on plasma selenium and vitamin E concentrations while including the identity of the individual and the stable as random factors. Likelihood ratio tests (LRTs) were performed to obtain results.

To determine if the level of exercise, the groups and the seasons had an effect on Se, vitamin E and GSH-Px, LMMs were built once again to avoid potential bias. Likelihood ratio tests (LRTs) were performed to obtain results. When there was significant effect, post-hoc tests were done allowing different modalities to be compared in pairs. P values were corrected using the Benjamini-Hochberg method.

LMMs were done to test if there was an interaction between rations and seasons, while taking into account the feeding groups, on plasma selenium concentration. LMMs were built to avoid potential bias. Likelihood ratio tests (LRTs) were performed to obtain results.

To test if the type of Se (organic vs inorganic) had an effect on plasma vitamin E and GSH-Px LMMs were built once again. Likelihood ratio tests (LRTs) were performed to obtain results. Pearson correlations were performed to determine if there were correlations between plasma Se, vitamin E, and GSH-Px. The significant difference was accepted at a threshold of $P<0.05$. A trend was considered if the P value was between 0.05 and 0,1.

4.4 Results

Results from this study demonstrate that 57% of the plasma samples collected from horses in Quebec were either marginal or deficient in Se based on the reference values established by Puls (1994). For vitamin E, 43% of the plasma samples were below the adequate level of 200 µg/dl (Puls, 1994).

The results of the survey are presented in Table 1. It demonstrates the descriptive statistics of horses regarding sex, age, breed, body condition score (BCS) (Henneke et al., 1983) and muscle atrophy scoring system (MASS) (Herbst et al., 2022). The mean age, BCS and MASS of horses were respectively 10.5, 5 and 1.68.

Figure 1 demonstrate that there were significant differences in plasma vitamin E levels of horses according to their exercise level ($P< 0.001$). Results of the multiple comparisons showed that horses doing heavy exercise had a lower vitamin E concentration than the horses doing moderate exercise ($P = 0.009$). Horses doing moderate exercise had a higher vitamin E concentration than the horses at maintenance ($P = 0.0196$) and doing light exercise ($P = 0.0196$). No significant difference was observed when comparing the level of exercise to plasma Se ($P = 0.898$) and GSH-Px activity ($P = 0.294$).

As shown in Figure 2, there is a significant effect of BCS on plasma Se concentration (P = 0.031). As BCS increases, plasma Se concentration increases as well. Sex (P = 0.717), age (P = 0.396) and MASS (P = 0.798) had no significant effect on Se levels. In regards to vitamin E, only sex had a significant effect on plasma levels (P = 0.047; Figure 3). Males had lower vitamin E concentrations than females. Age (P = 0.348), BCS (P = 0.787) and MASS (P = 0.163) had no significant effect. GSH-Px activity had no significant effect on sex (P = 0.269), age (P = 0.369) and MASS (P = 0.791). A trend was observed between BCS (P = 0.085) and plasma GSH-Px activity.

The feeding group had a significant effect on plasma Se (P< 0.001; Figure 4) and GSH-Px (P = 0.002; Figure 5). The season had a significant effect on plasma Se (P = 0.015; Figure 6) and vitamin E (P< 0.001; Figure 7). The Se concentration of horses in group 1 was significantly lower than the one of horses in groups 2, 3 and 4 (P< 0.001). GSH-Px3 activity was significantly lower in group 1 compared to group 2 (P = 0.002). A trend was observed between groups 1 and 3 (P = 0.061) for GSH-Px3 activity. The GSH-Px3 activity of group 1 was lower than the one of group 3.

Selenium levels of horses were lower in the fall than in the winter (P = 0.018). They were also lower in the fall than in the spring (P = 0.046). Plasma vitamin E concentration was lower in the fall than in summer (P = 0.001) and winter (P = 0.008). They were significantly higher in the summer compared to spring (P< 0.001) and in the winter compared to spring (P = 0.001).

The level of dietary Se alone (P = 0.082) or in interaction with seasons (P = 0,098) and groups (P = 0.406) had no significant effect of plasma Se concentration. However, it is possible to observe trends between the ration and the season (P =0.098) and with the ration alone (P = 0.082) in interaction with plasma Se.

The type of dietary Se (organic vs inorganic) was compared to plasma concentration of Se, vitamin E and GSH-Px. No significant difference was observed.

Positive correlations were observed between plasma vitamin E and Se (Pearson R = 0.2509, P = 0.0001, Figure 8). and between plasma selenium and GSH-Px activity (Pearson R = 0.3909, P <0.0001, Figure 9).

4.5 Discussion

Many of the samples collected were marginal or deficient in selenium (57%) and inadequate in vitamin E (43%). This is in agreement with other studies that were performed on horses and cattle living in Se deficient regions in Canada (Muirhead et al., 2010; Campbell et al., 1995; Blakley and Bell, 1994) and concluding that forage alone is not sufficient to meet requirements. To further elaborate, the results of the survey show that the majority of horses (78,6%) were receiving feed enriched with Se. According to the number of horses below reference values, it appears that feeding practices of horse owners in Quebec may not be adequate.

The level of exercise of horses was collected using the survey. Horses were divided into four categories: maintenance, light exercise, moderate exercise and heavy exercise (NRC, 2007). Plasma vitamin E was significantly influenced by the exercise level of the horse (P< 0.001). This result is in line with the literature. Hoffman et al. (2001) found that the vitamin E status of horses doing heavy exercise was improved with vitamin E levels in the diet exceeding the NRC (2007) requirements. Siciliano et al. (1997) reported a decline in serum and middle gluteal muscle vitamin E concentration of horses on a 90-day exercise period fed a basal diet. A more recent study done by Fagan et al. (2020) showed that it may be beneficial to supplement vitamin E (4000 IU/d) above the NRC (2007) requirements for exercising horses. In this study, horses doing moderate exercise had higher plasma vitamin E than the horses doing heavy exercise, light exercise or at maintenance. Unfortunately, the level of vitamin E in the daily ration was not tested.

So, it was not possible to know the exact amount that the horses were fed daily and some the horses were out on pasture during the summer months, so they were also getting vitamin E from fresh grass. According to the survey, horse owners tend to feed less concentrate to their non-working or light working horses. This can explain, why the horses at maintenance or doing light exercise have lower plasma vitamin E. Among the horses at maintenance, 37.5% were in group 1 having no concentrated feed. This suggests that their daily requirement for vitamin E of 1 IU/kg of body weight (NRC, 2007) were probably not met with forage alone. In this study, horses doing heavy exercise had lower plasma vitamin E than the horses doing moderate exercise. It is possible that this is due to the fact that the heavy working horses had a higher level of oxidative stress. Williams et al. (2004) showed the increase in measures of oxidative stress (plasma lipid hydroperoxides, total glutathione, GSH-Px and malondialdehyde) with intense exercise in horses.

BCS is largely used in horses when formulating rations and assessing overall health. It is based on the fat cover on the neck, withers, back, tail head, ribs and behind the shoulder. During this study, horses were given a BCS between 1 (poor) and 9 (extremely fat) (Henneke et al., 1983). BCS had a significant effect on plasma Se concentrations (Figure 2; $P = 0.031$). As BCS increases, plasma Se concentrations increased as well. Karren et al. (2010) had similar results on their study performed on broodmares; BCS increased with increasing caloric intake and Se in the diet. When aiming to increase BCS, horses are fed a higher amount of concentrate. Since the majority of horses (78,6%) in current study were getting feed enriched with Se, it explains why there was a significant increase in plasma Se concentration with increasing BCS. A trend was also observed between BCS and GSH-Px activity, with GSH-Px activity decreasing with increasing BCS ($P = 0.085$). To the knowledge of the authors, no published studies have described a significant difference between BCS and GSH-Px activity in horses. Studies in humans have demonstrated the relationship between obesity and oxidative stress. Researchers found a positive association between obesity and markers of oxidative stress like reduced erythrocyte glutathione and glutathione peroxidase (Block et al., 2002; Dietrich et al., 2002; Trevisan et al., 2001). The same theory could probably be applied to horses, but more research is definitely needed.

Considering that horses were fed a larger amount of concentrate, it was expected that vitamin E levels would increase as well. However, no significant effect of BCS on plasma vitamin E was observed. A study on Miranda jennies (Quaresma et al., 2021) also found no significant difference for Se and vitamin E levels in jennies and foals across different BCS categories. Only a small number of studies have evaluated the effect of vitamin E and Se on BCS in horses. However, results are pointing towards a shift in BCS depending on plasma Se and vitamin E concentrations. Considering this, it is good practice to record BCS when out in the field for Se and vitamin E testing.

MASS was recorded during the study in order to assess if muscle atrophy was associated to a Se or a vitamin E status A score from 1 (no atrophy) to 4 (severe atrophy) was given to each horse at each visit (Herbst et al., 2022). No significant differences were observed. A lower MASS was expected in combination with a lower plasma Se concentration, since it is known that a long-term Se deficiency can lead to muscle loss. On the other hand, horses were sampled for only a 1-year period. Results might have been different if the study lasted for a longer period of time. The development of disorders that cause muscle atrophy depends on the period the animal has been deficient and the age at which the deficiency occurred (Valberg, 2019).

The sex of the horse had a significant effect on plasma vitamin E concentrations ($P = 0.047$). Males had a lower concentration than females. More than half of the horses sampled were mares (62%) and broodmares accounted for 38% of them. According to the survey, the owners were giving a higher amount of vitamin and mineral supplement in their daily diet, since they were pregnant. Muirhead et al. (2010) described a higher serum vitamin E concentration in broodmares when compared to pleasure horses.

Many studies showed significantly lower Se and vitamin E concentration in young horses (Muirhead et al., 2010; Blankley and Bell, 1994). As proposed by Stowe et al. (1992), horses under 2 y/o had a lower serum Se concentration than adults. Previous research also found that young horses had significantly lower plasma/serum vitamin E concentrations compared with adults (Dierenfled et al., 1997; Maenpaa et al., 1988; Craig et al., 1989).

However, this was not observed in the present study. All foals had concentrated feed added to their diet. According to the survey, the typical diet was a mix of a growth and development commercial feed with a top-dress of a vitamin and mineral supplement. The owners of the foals sampled during the study had adequate feeding practices regarding Se and vitamin E. The majority of the foals sampled were Standardbreds that had their rations balanced by an equine consultant.

There was a significant group effect on plasma selenium ($P < 0.001$) and GSH-Px ($P = 0.002$). Horses that had a diet composed only of forages (group 1) had a lower plasma Se concentration than horses of the other three groups. This result was expected since Quebec soils are considered having a Se concentration in the soil of less than 0.1 ppm (Levesque, 1974), which is not enough to support daily Se requirements for horses. Significant differences were not observed between group 2, 3 and 4. The ration of horses of those groups were containing either a vitamin and mineral supplement, a complete feed or a combination of both.

For GSH-Px activity, there was a significant difference only between group 1 and 2 ($P = 0.002$). A trend was observed between group 1 and 3 ($P = 0.061$). The fact that no trend nor significant difference was observed between the other groups might be due to the fact that GSH-Px reaches a plateau at a given concentration of Se ((Richardson et al., 2006; Calamari et al., 2009). It is possible that some horses had reached the plateau before the start of the study. According to Shellow et al. (1985), the fact that some horses had an adequate Se status prior to the study may explain why their GSH-Px activity did not vary.

There were significant changes in plasma Se concentration between seasons. Muirhead et al. (2010) found that Se concentrations were affected by the season, with winter concentrations being higher than in the spring. In the present study, plasma Se concentrations were higher in the winter than in the fall. The majority of the horses (61%) were on pasture from spring to fall. During this time, they were not getting a lot of concentrate feeds. According to the survey, many horse owners stated that it was too complicated to feed each horse individually when they were out on pasture.

This can also explain why Se concentrations were higher in the spring than in the fall. Horses were brought inside at night during colder months, so they were fed concentrate every night. Their Se levels would increase from winter to spring and then decrease over the summer.

As in previous research, it was expected that plasma vitamin E concentration would fluctuate with seasons (Lewis, 1996; Maenpaa et al., 1973; Lindholm et al., 1973). Blakley and Bell (1994) showed that horses in Alberta and Saskatchewan had higher plasma vitamin E concentrations from May to August. Higher vitamin E levels were expected over the spring and summer months. According to the results of this study, horses had higher plasma vitamin E concentration in the summer than in the fall and in the spring. They were also higher in summer and winter compared to spring. Vitamin E is readily available in fresh forage but declines rapidly once harvested and stored. This explains why vitamin E levels were higher in the summer since 61% of the horses had access to pasture. Vitamin E levels being higher in the winter is probably due to the same reason as Se. Horses were brought inside during colder months and fed more concentrate. Plasma vitamin E being lower in the spring than in the winter is probably due to the fact that horses were turned out on pasture before plants began to actively grow. It is important to remember that this study was done in Quebec and depending on the year, the weather can still be cold and not favorable for plant growth until the beginning of May.

It was expected that the level of Se in the ration would have a significant influence on plasma Se concentration. There was no significant effect of the ration on plasma Se. However, it is possible to observe trends between the ration and the season ($P = 0.098$) and with the ration alone ($P = 0.082$) in interaction with plasma Se. Many studies have shown that oral Se supplementation affects plasma and serum Se concentration (Shellow et al., 1985; Wichtel et al. 1997; Janicki et al., 2001; Richardson et al., 2006; Calamari et al., 2009). The amount of Se fed and the frequency of the supplementation are important factors to take into account. These results do not demonstrate that Se supplementation doesn't affect plasma Se concentration.

Instead, they show that the amount of Se in the diet was not sufficient to meet the daily requirements of the horse and this is why it is not reflected in the blood analysis. Furthermore, the ration and season interaction demonstrate that horse owners are not consistent when feeding Se. It was discussed earlier that it is current practice for horse owners in Quebec to stop feeding concentrates when horses are out on pasture during the summer months.

In Se deficient regions, the main form of Se supplementation to the horse is by feeding concentrate enriched with Se. Se can be supplemented to the horse in two major forms, organic or inorganic. Depending on the form, the absorption varies. Organic Se is absorbed in the intestine by active transport through methionine transporters, while inorganic Se is absorbed by simple diffusion (Vendeland et al., 1994). Although little research has been done on Se absorption depending of the source, there is evidence that organic Se is more effective at increasing plasma and red blood cells Se levels (Montgomery et al., 2012). Previous studies measuring the effect of Se supplementation in horses have shown that Se affects plasma and serum concentrations regardless of the source (Shellow et al., 1985; Wichtel et al. 1998; Janicki et al., 2001; Richardson et al., 2006; Calamari et al., 2009). The results of the study showed no significant difference when comparing the different forms of Se ($P = 0.814$).

As described by Pitel et al. (2020), a positive correlation was observed between plasma vitamin E and Se (Pearson $R = 0.2509$, $P = 0.0001$, Figure 8). A positive correlation was also observed between plasma selenium and GSH-Px activity (Pearson $R = 0.3909$, $P < 0.0001$, Figure 9). Calamari et al. (2009) also found a positive correlation between plasma GSH-Px activity and plasma Se. This reflects the relationship between Se and vitamin E as antioxidants. Se and vitamin E have a complementary role as antioxidants. Vitamin E scavenges free radicals in the cell membrane to prevent the formation of harmful compounds. It donates a hydrogen atom from its phenolic group to a lipid peroxyl radical. This forms a more stable lipid peroxyl as well as a stable tocopheryl radical. Se comes into play to destroy the compounds already formed by incorporating them into the GSH-Px. A deficiency in Se or vitamin E decreases the protection of cells, especially immune cells

(Ceballos, et al., 2009), against oxidative stress, which predisposes the cell membrane to attacks by free radicals produced by various metabolic processes (Wichtel et al., 1997). It is recommended to test for both, Se and vitamin E, if a deficiency is suspected especially in Se depleted regions.

4.6 Conclusion

Despite the efforts made by professionals in the equine industry in educating owners regarding Se and vitamin E, deficiencies are still very common among horses in Quebec. This confirms the first hypothesis stating that most of the horses sampled would have inadequate plasma Se concentration. The second hypothesis was that the horses were not consuming enough Se in their daily ration. This hypothesis was also confirmed. Horse owners should be more aware of the nutritional deficiencies their horses are at risk of in their region. They have to ask questions to feed manufacturers if any doubts about the label or talk with their veterinarian or equine nutritionist. There is plenty of good quality feeds on the market, but unless they are fed at the recommended feeding rate, deficiencies can occur. It is important to keep educating horse owners about the importance of nutrition in the prevention of deficiencies and associated diseases.

Acknowledgements

The authors would like to thank Probiotech International Inc and Mitacs for supporting the study. We would also like to thank laboratory technicians, Mrs. Corinne Généreux and Mr. Mario Guay, for their involvement in selenium, vitamin E and GSH-Px measurements.

Conflict of interest

This study was funded in part by Probiotech International Inc. None of the horses used in the present research were consuming selenium supplements from Probiotech International Inc. The study design was created only by the authors of the manuscript. We declare no other conflict of interest.

References

Arthur, J. R. (1999). Functional indicators of iodine and selenium status. *Proc. Nutr. Soc.* 58, 507-512

Avellini, L., Chiaradia, E., Rueca, F., Spaterna, A., Gaiti, A., Fruganti, G. (1996). Oxidative stress during exercise in racehorses relationships between nutrition; training and biochemical defenses against free radicals. *Pferdeheilkunde,* 12, 557-560

Blakley, B. R., Bell, R. J. (1994). The vitamin A and vitamin E status of horses raised in Alberta and Saskatchewan. *Can Vet J*, 35(5), 297-300

Block, G., Dietrich, M., Norkus, E. P., Morrow, J. D., Hudes, M., Caan, B., Packer, L. (2002). Factors associated with Oxidative Stress in Human Populations. *Am. J. Epidemiol,* 156(3), 274-285. https://doi.org/10.1093/aje/kwf029

Calamari, L., Ferrari, A. et Bertin, G. (2009). Effect of selenium source and dose on selenium status of mature horses. *J Anim Sci* , 87(1), 167–178. https://doi.org/10.2527/jas.2007-0746

Campbell, J. R., Jim, G. K., Booker, C. W., Guichon, P. T. (1995) A survey of the selenium status of beef cows in Alberta. *Can. Vet. J,* 36(11), 698-702.

Canadian Council on Animal Care. (2020). Guide to the Care and Use of Experimental Animals. Canadian Council on Animal Care, Ottawa, Ontario. https://ccac.ca/Documents/Standards/Guidelines/Experimental_Animals_Vol1.pdf

Ceballos, A., Sanchez, J., Stryhn, H., Montgomery, J. B., Barkema, H. W., Wichtel, J. J. (2009). Meta-analysis of the effect of oral selenium supplementation on milk selenium concentration in cattle. J. Dairy Sci. 92, 324–342. : 10.3168/jds.2008-1545

Craig, A. M., Blythe, L. L., Lassen, E. D., et al. (1989). Variations of serum vitamin E, cholesterol, and total serum lipid concentrations in horses during a 72-hour period. *Am J Vet Res*, 50(9), 1527–1531

Dierenfeld, E. S., Hoppe, P. P., Woodford, M.H., et al. (1997). Plasma alpha-tocopherol, beta-carotene, and lipid levels in semi-free-ranging Przewalski horses (Equus przewalskii). *J Zoo Wild Med*, 28(2), 144–147

Dietrich, M., Block, G., Hudes, M., Morrow, J. D. Norkus, E. P. Traber, M. G., Cross, C. E., Packer, L. (2001). Antioxidant Supplementation Decreases Lipid Peroxidation Biomarkers F_2-isoprostanes in Plasma of Smokers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 11(1), 7-13.

Dju, M. Y., Mason, K. E. et Filer, L. J. Jr. (1958). Vitamin E (tocopherol) in human tissues from birth to old age. *Am J Clin Nutr.* 6,50–60

Dozier, W. A. (2002). Mash conditioning and vitamin stability. *Feed International*, 23, 20-24

Finno, C. J. et Valberg, S. J. (2012). A Comparative Review of Vitamin E and Associated Equine Disorders. *J. Vet. Intern. Med*. 26(6), 1251-1266. https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2012.00994.x

Gao, X., Martin, A., Lin, H., et al. (2006) Alpha-Tocopherol intake and plasma concentration of Hispanic and non-Hispanic white elders is associated with dietary intake pattern. *J Nutr*, 136(10), 2574–9

Gramegna, G., Rosado, D., Sanchez Carranza, A. P., Bertinatto Cruz, A., Simon-Moya, M., Llorente B., Rodriguez-Concepcion, M., Freschi, L., Rossi, M. (2019). PHYTOCHROME-INTERACTION FACTOR 3 mediates light-dependent induction of tocopherol biosynthesis during tomato fruit ripening. *Plant Cell Environ*. 42, 1328-1339. DOI: 10.1111/pce.13467

Henneke, D. R., Potter, G. D., Kreider, J. L. et Yeates, B. F. (1983). Relationship between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares. *Equine vet. J.* 15, 371-372

Herbst, A. C., Johnson, M. G., Gammons, H., Reedy, S. E., Urschel, K. L., Harris, P. A., Adams, A. A. (2022). Development and Evaluation of a Muscle Atrophy Scoring System (MASS) for Horses. *J. Equine Vet. Sci.* 110. https://doi.org/10.1016/j.jevs.2021.103771

Hill, K. E. et Burk, R. F. (1997). Selenoprotein P: recent studies in rats and in humans. *Biomed. Environ. Sci*. 10, 198–208

Hoffman, R. M., Morgan, K. L., Philips, A., Dinger, J. E., Zinn, S. A., Faustman, C. (2001). Dietary vitamin E and ascorbic acid influence nutritional status of exercising polo ponies. P. 129, Proc. 17th Equine Nutr. Physiol. Soc. Symp. Lexington, KY

House, A., (2016). Selenium in the Equine Diet. American Association of Equine Practitioners. University of Florida College of Veterinary Medecine

Janicki, K. M., Lawrence, L. M., Barnes, T. et Stine, C. J. (2001). The effect of dietary selenium source and level on selenium concentration. glutathione peroxidase activity, and influenza titers in broodmares and their foals. 17th Equine Nutr. Physiol Soc.Symp., Lexington, KY. 43-44

Karren, B. J., Thorson, J. F., Cavinder, C. A., Hammer, C. J., Coverdale, J. A. (2010). Effect of selenium supplementation and plane of nutrition on mares and their foals:

Selenium concentrations and glutathione peroxidase. *JAS.* 88(3), 991-997. https://doi.org/10.2527/jas.2008-1743

Kienzle, E., Freismuth, A. et Reusch, A. (2006) Double-blind placebo-controlled vitamin E or selenium supplementation of sport horses with unspecified muscle problems. An example of the potential of placebos. *J. Nutr.* 136(7), 2045S–2047S

Kirschvink, N., de Moffarts, B. et Lekeux, P. (2008). The oxidant/antioxidant equilibrium in horses. *The Veterinary Journal*. 177(2): 178-191. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.07.033

Kirschvink, N., de Moffarts, B., Farnir, F., Pincemail, J. et Lekeux P. (2010). Investigation of blood oxidant/antioxidant markers in healthy competition horses of different breeds. *Equine Veterinary Journal*, 38(S36), 239-244. https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.2006.tb05546.x

Levander, O. A., Alfthan, G., Arvilommi, H., Gref, C. G., Huttunen, J. K., Kataha, M., Koivistoien, P. et Pikkarainen, J. (1983). Bioavailability of Se to Finnish men as assessed by platelet glutathione peroxidase activity and other blood parameters. *Am. J. Clin. Nutr*. 37(6), 887–897. 10.1093/ajcn/37.6.887

Levesque, M. (1974). Selenium distribution in Canadian soil profiles. *Can. J. Soil Sci.* 54(63)

Lewis, L. D. (1996). Feeding and Care of the Horse. 2nd ed. New York: Lippincott Williams and Wilkins

Lindholm, A. et Asheim, A. (1973). Vitamin E and certain muscular enzymes in the blood serum of horses. *Acta Agric Scand Suppl*. 19, 40–42

Maenpaa, P. H., Koskinen, T. et Koskinen, E (1988). Serum profiles of vitamins A, E and D in mares and foals during different seasons. *J Anim Sci*, 66(6), 1418–1423. 10.2527/jas1988.6661418x

Maenpaa, P. H., Lappetelainen, R. et Virkkunen, J. (1987). Serum retinol, 25-hydroxyvitamin D and alpha-tocopherol of racing trotters in Finland. *Equine Vet J,* 19(3), 237–240. 10.1111/j.2042-3306.1987.tb01391.x

Maenpaa, P. H., Pirhonen, A. et Koskinen, E. (1988). Vitamin A, E and D nutrition in mares and foals during the winter season: Effect of feeding two different vitamin-mineral concentrates. *J Anim Sci,* 66(6),1424–1429. 10.2527/jas1988.6661424x

Martin-Rosset, W. (2015). Equine nutrition: INRA nutrient requirements, recommended allowances and feed tables. 1st edition. *Wageningen Academic Pub*, Wageningen, The Netherlands

Montgomery, J. B., Wichtel, J. J., Wichtel, M. G., McNiven, M. A., McClure, J. T., Markham, F. et Horohov, D. W. (2012). Effects of selenium source on measures of selenium status and immune function in horses. *Can. Vet J*, 76(4), 281–291

Munoz, P., Briones, M., Munné-Bocsh, S. (2018). Photoinhibition and photoprotection during flower opening in lilies. *Plant Sci J.* 272, 220-229. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2018.04.023

Muirhead, T. L., Wichtel, J. J., Stryhn, H. et McClure, J. T. (2010). The selenium and vitamin E status of horses in Prince Edward Island. *Can Vet J*, 51(9), 979–985

National Research Council. (2007). Nutrient requirements of horses, 6th revised edition. *National Academy Press*, Washington, DC

Nève, J. (1995). Human selenium supplementation as assessed by changes in blood selenium concentration and glutathione peroxidase activity. *J. Trace Elem. Med. Biol*. 9, 65–73

Nève, J. (1991). Methods in determination of selenium states. *J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis*. 5, 1–17

Pagan, J. D., Kane, E. et Nash, D. (2005). Form and source of tocopherol affects vitamin E status in Thoroughbred horses. *ENUCO*. 21, 101–102

Panemangalore, M. et Lee, C. J. (1992). Evaluation of the indices of retinol and alpha-tocopherol status in free-living elderly. *J Gerontol*, 47(3), B98–104

Patching, S. G. et Gardiner, P. H. E. (1999). Recent developments in selenium metabolism and chemical speciation: a review. *J. Trace Elem. Med. Biol*. 13, 193–214

Pitel, M. O., McKenzie, E. C., Johns, J. L. et Stuart, R. L. (2020). Influence of specific management practices on blood selenium, vitamin E, and beta-carotene concentrations in horses and risk of nutritional deficiency. *Journal of veterinary internal medicine*, 34(5), 2132–2141. https://doi.org/10.1111/jvim.15862

Puls, R. (1994). Mineral levels in animal health; diagnostic data. 2nd edition. *Sherpa international,* BC, Canada

Quaresma, M., Marin, C., Bacellar, D., Novoa, M., Navas, F. J. et McLean, A. (2021). Selenium and Vitamin E Concentrations in Miranda Jennies and Foals (Equus asinus) in Northeast Portugal. *Animals,* 11(6), 1772. https://doi.org/10.3390/ani11061772

Rea, H. M. Thompson, C. D. Campbell, D. R. et Robinson, M. F. (1979). Relation between erythrocyte selenium concentrations and glutathione peroxidase (EC 1.11.1.9) activities of New Zealand residents and visitors to New Zealand. *Br. J. Nutr*. 42, 201-208

Richardson, S. M., Siciliano, P. D., Engle, T. E., Larson, C. K., et Ward, T. L. (2006). Effect of selenium supplementation and source on the selenium status of horses. *J. Anim. Sci*, 84(7), 1742–1748. 10.2527/jas.2005-413

Shellow, J. S., Jackson, S. G., Baker, J. P., Cantor, A. H. (1985). The influence of dietary Se levels on blood levels of Se and glutathione peroxidase activity in the horse. *J. Anim. Sci*, 61, 590-594. https://doi.org/10.2527/jas1985.613590x

Siciliano, P. D., Parker, A. L. et Lawrence, L. M. (1997). Effect of dietary vitamin E supplementation on the integrity of skeletal muscle in exercised horses. *J. Anim. Sci*, 75(6), 1553–1560. 10.2527/1997.7561553x

Steiss, J. E., Traber, M. G., Williams, M. A. et al. (1994). Alpha tocopherol concentrations in clinically normal adult horses. *Equine Vet J*. 26,417–419

Stowe, H. D. et Herdt, T. H. (1992). Clinical assessment of selenium status of livestock, *J. Anim. Sci*, 70(12), 3928–3933. https://doi.org/10.2527/1992.70123928x

Streeter, R. M., Divers, T. J., Mittel, L., Korn, A. E. et Wakshlag, J. J. (2012). Selenium deficiency associations with gender, breed, serum vitamin E and creatine kinase, clinical signs and diagnoses in horses of different age groups: A retrospective examination 1996–2011, *Equine Vet J*, 44(S43), 31-35. https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.2012.00643.x

Thompson, C. D. (2004). Assessment of requirements for selenium and adequacy of selenium status: a review. *Eur. J. Clin Nutr*. 58, 391-402

Thomson, C. D., Robinson, M. F., Butler, J. A. et Whanger, P. D. (1993). Long-term supplementation with selenate and selenomethionine: selenium and glutathione peroxidase in blood components of New Zealand women. *Br. J. Nutr*. 69, 577–588

Trevisan, M., Browne, R., Ram, M., Muti, P., Freudenheim, J., Carosella, A. M., Armstrong, D. (2001). Correlates of Markers of Oxidative Status in the General Population. *Am J Epidemiol*, 154, 348-356. https://doi.org/10.1093/aje/154.4.348

Valberg, S. J. (2019). Muscle Disorders in Horses. Merk Veterinary Manual. 9th ed. Merk & Co, Whitehouse Station, NJ

Vendeland, S. C., Deagen, J. T., Butler, J. A., Whanger, P. D. (1994). Uptake of selenite, selenomethionine and selenate by brush border membrane vesicles isolated from rat small intestine. *Biometals*, 7(4), 305–312. 10.1007/BF00144126

Weekley, C. M. et Harris, H. H. (2013) Which form is that? The importance of selenium speciation and metabolism in the prevention and treatment of disease. *Chem. Soc. Rev*., 42(23), 8870-8894. DOI: 10.1039/C3CS60272A

Wichtel, J. J., Grace, N. D. et Firth, E. C. (1997). Selenium in the horse: New developments. *Newsletter of New Zealand Veterinary Association*

Williams, C. A., Kronfeldt, D. S., Hess, T. M., Saker, K. E., Waldron, J. N., Crandell, K. M., Hoffman, R. M., Harris. P. A. (2004). Antioxidant supplementation and subsequent oxidative stress of horses during an 80-km endurance race. *J. Anim. Sci*., 82(2), 588-594. 10.2527/2004.822588x

Witt, E. H., Reznick, A. Z., Viguie, C. A., Starke-Reed, P., Packer, L. (1992). Exercise oxidative damage and effects of antioxidant manipulation. *J. Nutr*, 122, 766-773

Table 1: Descriptive statistics of the sampled horse population

		n	Fall	Winter	Spring	Summer
Sex	**Mare**	37	N/A			
	Gelding	18				
	Stallion	4				
Age	**0-2 y/o**	11	N/A			
	3-5 y/o	4				
	Adults	34				
	Senior (18+)	10				
Min		1				
Max		25				
Mean		10.54				
Std. Deviation		6.78				
Std. Error of mean		0.88				
Breed	**Quarter Horse**	16	N/A			
	Warmblood	14				
	Standardbred	12				
	Pony	5				
	Draft	4				
	Other	8				
BCS	**3**	1	0	1	0	0
	3.5	5	2	1	1	1
	4	21	5	4	5	7
	4.5	47	11	10	14	12
	5	94	23	24	24	23
	5.5	7	3	1	1	2
	6	27	8	9	6	4

	6.5	8	2	3	2	1
	7	11	3	3	1	4
	7.5	0	0	0	0	0
	8	3	1	1	1	0
Min			3.5	3	3.5	3.5
Max			8	8	8	7
Mean			5.14	5.18	5.01	5
Std. Deviation			0.89	0.92	0.8	0.81
Std. Error of mean			0.12	0.12	0.11	0.11
MASS	**1**	105	26	31	31	17
	2	88	21	22	17	28
	3	29	11	3	7	8
	4	2	0	1	0	1
Min			1	1	1	1
Max			3	4	3	4
Mean			1.74	1.54	1.56	1.87
Std. Deviation			0.76	0.68	0.71	0.73
Std. Error of mean			0.1	0.09	0.1	0.1

BCS: Body condition score
MASS: Muscle atrophy scoring system

Figure captions

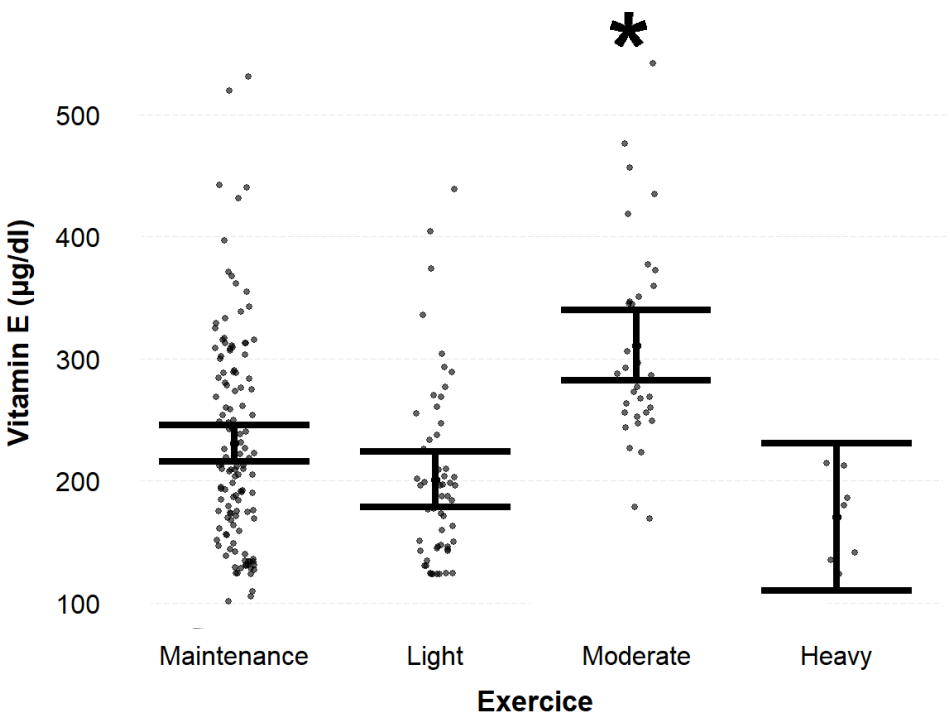

Figure 1: Effect of the level of exercise on plasma vitamin E concentrations. The level of exercise had a significant effect on plasma vitamin E concentration (P< 0.001). Horses doing moderate exercise had higher plasma vitamin E concentrations than the horses at maintenance, light exercise and heavy exercise.

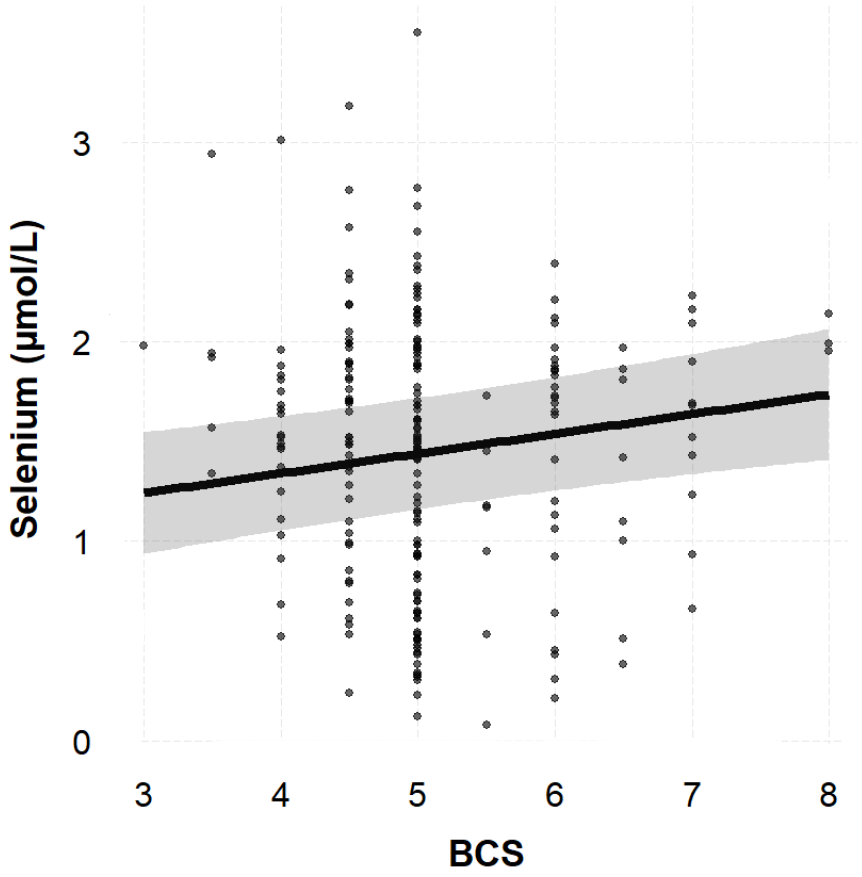

Figure 2: Effect of body condition score on plasma Se concentrations. BCS had a significant effect on the selenium level (P = 0.031). As shown by the linear regression line, plasma Se increases with increasing BCS.

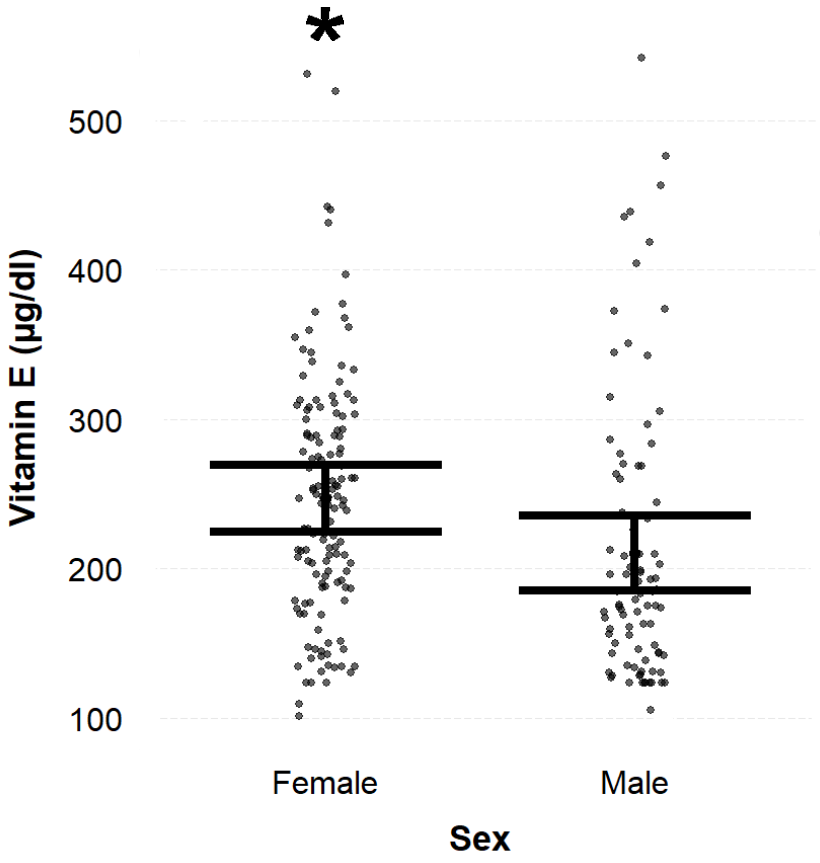

Figure 3: Effect of the sex on plasma vitamin E concentrations. Sex had a significant effect on vitamin E concentration (P = 0.047). Males had lower plasma vitamin E than females.

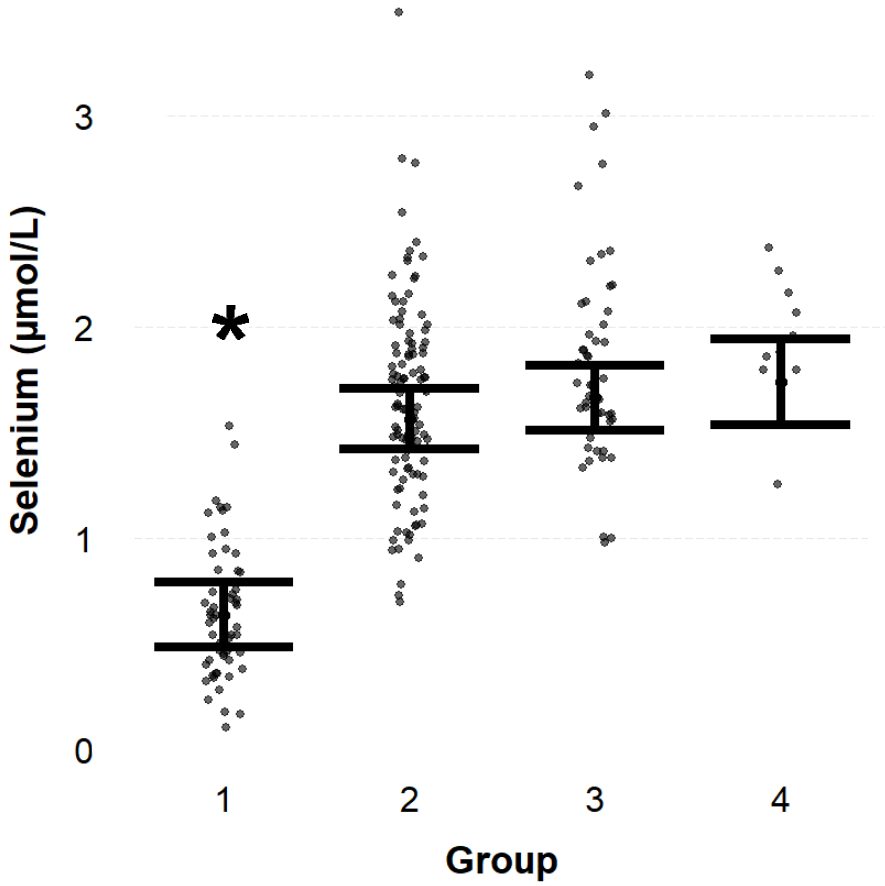

Figure 4: Effect of the feeding group on plasma Se concentration (P< 0.001). Horses in group 1 had a lower plasma Se concentration than the horses in the other 3 groups. Horses were divided into four groups according to the forage : concentrate ratio (weight of feed consumed) respectively: group 1- 100%: 0%; group 2- 75-99%: 1-24%; group 3- 51-74%: 25-49%; group 4- < 50% : ≥ 50%.

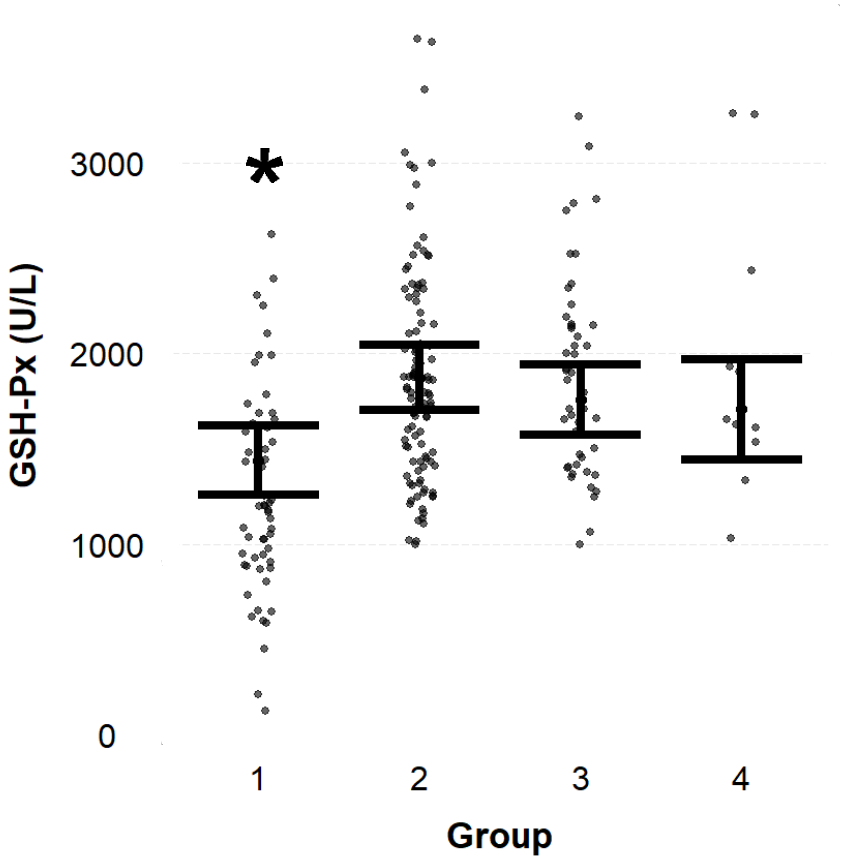

Figure 5: Effect of the feeding group on GSH-Px activity (P = 0.002). Horses in group 1 had a lower GSH-Px than the horses in group 2. Horses were divided into four groups according to the forage : concentrate ratio (weight of feed consumed) respectively: group 1- 100%: 0%; group 2- 75-99%: 1-24%; group 3- 51-74%: 25-49%; group 4- < 50% : ≥ 50%.

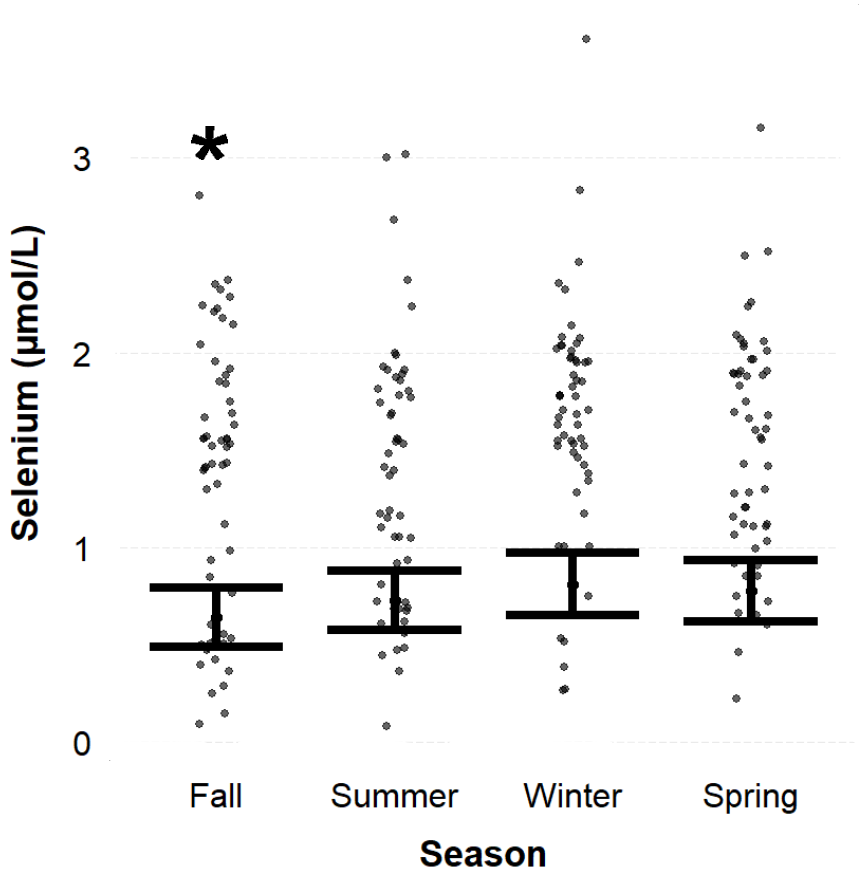

Figure 6: Effect of the season on plasma Se concentrations. There were significant differences between plasma Se and the seasons (P = 0.015). Se concentration in the fall was significantly lower than in the winter and in the spring.

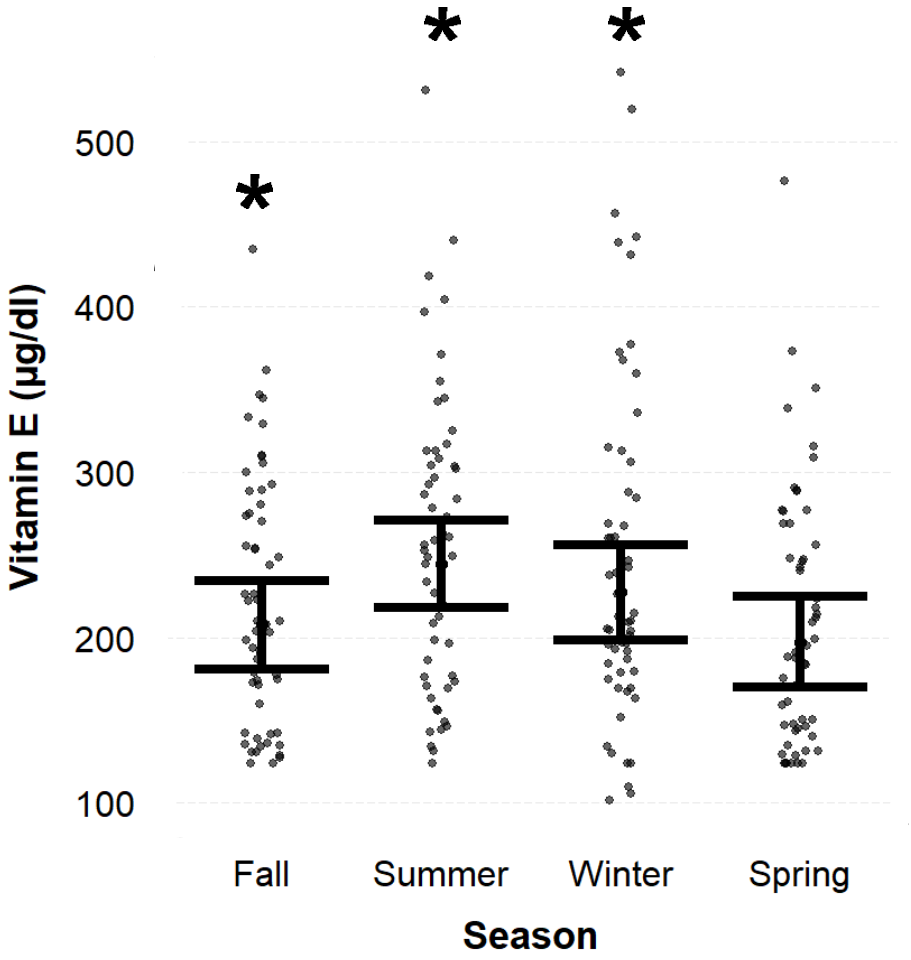

Figure 7: Effect of the season on plasma vitamin E concentrations. There were significant differences between plasma vitamin E and the seasons (P< 0.001). Plasma vitamin E was significantly higher in the summer and in the winter compared to spring. It was also significantly lower in the fall compared to summer and winter.

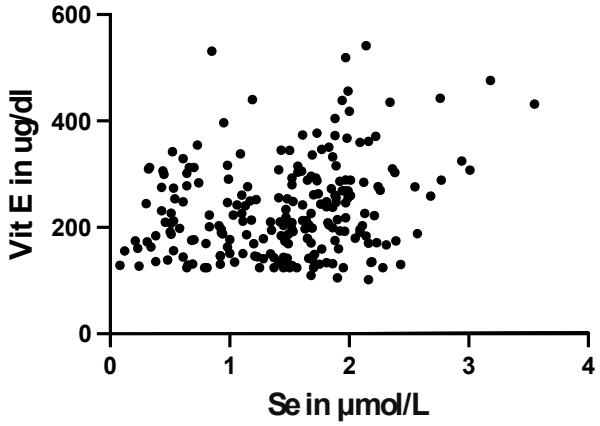

Figure 8: Plasma selenium concentration (µmol/L) of horses according to their plasma vitamin E concentration (µg/dl). There is a positive correlation (R = 0.2509; P = 0.0001)

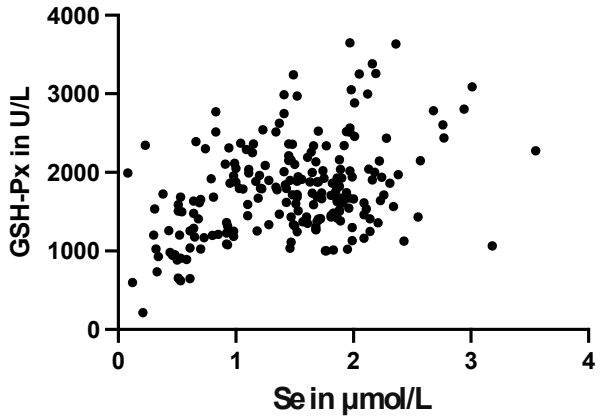

Figure 9: Plasma selenium concentration (µmol/L) of horses according to their plasma GSH-Px activity (U/L). There is a positive correlation (R = 0.3909; P <0.0001)

5. DISCUSSION GÉNÉRALE

L'état de chair avait un effet significatif sur le taux de sélénium (Se) plasmatique des chevaux. Le taux de Se augmentait avec l'augmentation de l'état de chair (P = 0,031). Des observations similaires ont été réalisées dans l'étude de Karren et coll. (2010). L'état de chair a été mesuré pour 4 rations alimentaires (expérience en blocs aléatoires complets); 1- pâturage seulement, 2- pâturage et ajout de sélénométhionine (SeMet), 3- pâturage et ajout de concentré, 4- pâturage, ajout de concentré et ajout de SeMet. L'état de chair des juments sur le traitement 1, 2 et 3 à diminué tandis que l'état de chair des juments sur le traitement 4 a augmenté. Ceci démontre que le Se, en interaction avec l'augmentation calorique, a un effet sur l'état de chair des chevaux. Les mêmes conclusions peuvent être tirées dans la présente étude sur le statut en Se des chevaux du Québec. En analysant les pratiques alimentaires des propriétaires de chevaux ainsi qu'à l'aide des données du questionnaire, il est possible d'affirmer que ces derniers augmentaient la quantité de concentré servie aux chevaux dont ils voulaient faire engraisser. Les concentrés utilisés contenaient tous du Se ajouté et le fait d'augmenter la quantité de concentré augmente par le fait même le niveau de Se dans la ration. Ceci a été confirmé par l'augmentation du niveau de Se plasmatique des chevaux.

Il est possible d'observer une tendance non significative entre l'activité de la GSH-Px plasmatique et l'état de chair (P = 0,085). Plus l'état de chair augmentait, plus l'activité de la GSH-Px diminuait. C'est une tendance très intéressante, qui n'a pas été décrite dans les études chez les chevaux. Cependant, plusieurs études effectuées chez les humains ont démontré des conclusions similaires. Ozata et coll. (2002) ont démontré que l'activité de la GSH-Px chez les individus obèses était significativement plus basse que chez les individus en santé. Goyal et coll. (2011) ont démontré que l'activité de la GSH-Px chez les patients diabétiques obèses était 3 fois plus basse que l'activité de la GSH-Px chez les patients diabétiques en santé. Des résultats similaires ont aussi été reportés par Andersen et coll. (1997) ainsi que par Waggiallah et Alzohairy (2011). La diminution de l'activité de la GSH-Px est associée à une augmentation du stress oxydatif.

Il a été spéculé que l'augmentation du stress oxydatif peut être lié à une augmentation des radicaux libres ou à une altération du système de la défense antioxydante (Goyal et coll., 2011). Il serait intéressant de pousser davantage les recherches dans ce domaine chez les chevaux, afin de confirmer ces résultats. Ce n'est pas pratique courante de tenir en compte de l'activité de la GSH-Px lors de l'évaluation du statut de Se du cheval. C'est un outil qui semble très prometteur dans la détermination du statut antioxydant et qui ne devrait pas être négligé.

Aucune différence significative n'a été déterminée entre l'indice d'atrophie musculaire (MASS) ainsi que la concentration plasmatique de Se, de vitamine E et de GSH-Px. Une atrophie musculaire plus sévère était attendue chez les chevaux déficients. Cependant, les chevaux ont seulement été évalués sur une période d'un an. Il est reconnu que les signes cliniques peuvent survenir plus tard dans la vie de l'animal selon l'âge au moment où la carence s'est produite, de sa durée, de la génétique et d'autres carences nutritionnelles concomitantes (Finno et Valberg, 2012).

Cette étude a démontré que le niveau d'activité physique effectué par les chevaux avait un effet sur leur niveau plasmatique de vitamine E. La vitamine E est l'antioxydant le plus souvent ajouté à la ration des chevaux à l'entrainement, alors plusieurs études ont été réalisées à ce sujet (Avellini et coll., 1999; Fagan et coll., 2020; Siciliano et coll., 1997; Williams et coll., 2004). Cependant, les résultats sont contradictoires, certaines études démontrent des effets bénéfiques de la supplémentation en vitamine E (Avellini et coll., 1999; McMeniman et Hintz, 1992) et d'autres ne rapportent aucune protection contre la peroxydation lipidique induite par l'exercice et contre les dommages musculaires (Kienzle et coll., 2006; Siciliano et coll., 1997). Il est important de tenir compte de plusieurs autres facteurs lors de l'évaluation de la relation entre la vitamine E et le niveau d'exercice. Par exemple, il faut tenir compte de la source, de la quantité, de la durée et de la fréquence de la supplémentation.

Les chevaux avec un niveau d'exercice modéré avaient un taux de vitamine E plasmatique significativement plus haut que les chevaux à l'entretien, les chevaux à l'exercice léger et ceux à l'exercice intense. Des recherches sur l'effet de la supplémentation de la vitamine E sur le stress oxydatif des chevaux à l'exercice intense (chevaux de courses et d'endurance) ont été réalisées (Williams et Carlucci, 2006; Williams et coll., 2004). Il a été démontré que ces chevaux subissent un niveau de stress oxydatif très élevé (Williams et coll., 2004). Les chevaux à l'exercice intense, dans la présente étude, étaient des chevaux de race standardbred faisant de la course sous harnais. Même si les paramètres du stress oxydatif n'ont pas été mesurés, il est possible de spéculer que ces chevaux avaient un niveau de stress oxydatif plus élevé, ce qui explique leur niveau de vitamine E plasmatique plus bas. Cette théorie ne s'applique pas pour les chevaux à l'exercice léger et à l'entretien. Les résultats de cette étude sont très semblables à ceux de l'étude menée à l'Île-du-Prince-Édouard par Muirhead et coll. (2010). Ils ont constaté que les chevaux de plaisance étaient pratiquement tous déficients en vitamine E. Ce résultat était expliqué par les pratiques d'alimentation et de régie pour ces chevaux. Ils recevaient des quantités minimales de concentré enrichi en vitamine E et de manière inconsistante. Le même constat a été fait lors de la présente recherche. Les propriétaires de chevaux à l'entretien et de ceux à l'exercice léger ne ressentaient pas le besoin de supplémenter leurs animaux, car ils ne font pas beaucoup d'activité physique. Selon la plupart d'entre eux, les fourrages à eux seuls, comblent les besoins alimentaires de leurs chevaux.

Les juments avaient un taux de vitamine E plasmatique significativement plus élevé que les mâles ($P = 0,047$). Les études menées à ce jour chez les chevaux démontrent que le sexe n'affecte pas la concentration de vitamine E (Streeter et al., 2012) et des paramètres biochimiques (Andriichuk et Tkachenko, 2017). La présente étude est donc la première à observer une différence entre les genres pour ce paramètre. Des recherches effectuées chez les rats ont démontré que les femelles sont moins susceptibles au stress oxydatif que les mâles avec un statut en vitamine E normal ou appauvri (Amelink et coll., 1991; Tiidus, 2000). Ceci peut être expliqué par l'effet protecteur qu'à l'estrogène face au stress oxydatif.

Il semblerait que l'estrogène ait des propriétés antioxydantes et contribuerait au maintien de la stabilité des membranes suite à l'exercice en limitant les dommages musculaires (créatine kinase moins élevée) (Amelink et coll., 1991). Par contre, des recherches supplémentaires sont requises dans ce domaine afin de confirmer les affirmations précédentes et d'évaluer si cette théorie serait applicable aux chevaux.

Des différences significatives ont été démontrées entre les différentes saisons et les taux de Se ($P = 0,015$) ainsi que de vitamine E ($P< 0,001$). En ce qui concerne le Se, Muirhead et coll. (2010) ont observé la même tendance. À notre connaissance, ces auteurs sont les seuls, avec la présente étude, à avoir observé une telle variation dans les régions où les sols sont déficients en Se. Il est possible de spéculer que cette variation est liée à la quantité de concentré servie aux chevaux, puisque c'est leur seule source de Se. La quantité de concentré servie est très rarement stable durant l'année. Certains propriétaires donnent plus de moulée en hiver avec comme raison qu'ils ne veulent pas que leurs chevaux maigrissent durant le temps froid. D'autres personnes donnent plus de moulée lors des saisons de concours puisque leurs montures font plus d'activité physique.

En ce qui concerne la vitamine E, il est bien connu que la saison à un effet sur le niveau plasmatique des chevaux ayant accès au pâturage (Lewis, 1996; Maenpaa et al., 1973; Lindholm et al*.,* 1973). La quantité de concentré servie, la source et la fréquence ont aussi un impact. Cependant, la quantité de vitamine E dans les concentrés et dans le foin n'a pas été mesurée durant l'étude due à son instabilité. De plus, la plupart des concentrés commerciaux contiennent de la vitamine E naturelle et synthétique. Il est très difficile de savoir le ratio exact des différents types de vitamine E dans ces concentrés. Il aurait été intéressant d'évaluer l'impact de la ration sur les niveaux plasmatiques de vitamine E des chevaux en fonction des saisons.

Le niveau de Se dans la ration n'avait pas d'effet significatif sur le taux de Se plasmatique des chevaux. Cependant, une tendance non significative a été observée ($P = 0.082$). Il était attendu que le niveau de Se de la ration se reflèterait dans le plasma des chevaux.

Plusieurs études ont démontré que la supplémentation en Se affecte la concentration sérique et plasmatique de Se (Shellow et coll., 1985; Wichtel et coll. 1997; Janicki et coll., 2001; Richardson et coll., 2006; Calamari et coll., 2009). La concentration plasmatique de Se est sensible aux changements alimentaires (Shellow et coll. 1985; Stowe et Herdt, 1992). Calamari et coll. (2009) ont observé des changements dans les valeurs plasmatiques chez les chevaux après 28 jours de supplémentation. Les prélèvements effectués lors de la présente étude étaient espacés d'un minimum de 3 mois. Selon les résultats du questionnaire, les chevaux consommaient leur ration pour un minimum de 30 jours au moment du prélèvement sanguin. Calamari et coll. (2009) ainsi que Shellow et coll. (1985) ont observé un plateau des concentrations de Se plasmatique entre 75 et 90 jours suivant le début de la supplémentation. Puisque 43% des chevaux de l'étude avaient un niveau de Se plasmatique adéquat, il est possible de spéculer qu'ils avaient déjà atteint ce plateau avant l'étude. Ce serait pour cette raison que des différences significatives n'ont pas été observées entre le niveau de Se de la ration et celui du plasma.

Le Se est ajouté à la ration des chevaux sous forme organique, inorganique ou une combinaison des 2. Son absorption varie selon la source (Vendeland et coll., 1994). Bien qu'il ait été démontré que le Se organique était plus efficace pour augmenter la concentration plasmatique que le Se inorganique (Richardson et coll., 2006), aucune différence significative ne fut observée dans la présente étude. Il faut cependant faire attention avec l'interprétation de ce résultat. Il faut aussi tenir compte de la quantité de Se servie sur une base quotidienne. Comme discuté précédemment, les pratiques alimentaires des propriétaires de chevaux du Québec ne sont pas toujours appropriées aux besoins du cheval et sont très variables au cours d'une année. Cela peut avoir influencé les résultats en ce qui concerne les différentes sources de Se. Pour l'instant, il n'y a pas de distinction entre les sources de Se au niveau des recommandations alimentaires chez les chevaux. Cependant, il semblerait y avoir une différence au niveau de la biodisponibilité. Chez le porc, il a été démontré qu'une supplémentation de Se sous forme organique était plus efficace au niveau de la rétention du Se, de sa concentration dans les tissus et dans le sérum (Mahan et coll., 1999).

Des études similaires ont été réalisées chez les bovins (Ortman et coll., 1999). Il serait pertinent de pousser les recherches chez les chevaux afin de confirmer que la même tendance se maintient.

Des corrélations ont été observées entre le niveau plasmatique de vitamine E et de Se ainsi qu'entre le Se et la GSH-Px. Ces résultats démontrent que le Se, la vitamine E et la GSH-Px ont des rôles complémentaires en tant qu'antioxydants chez le cheval.

Il a été démontré que de mesurer l'activité d'autres sélénoprotéines telles que la sélénoprotéine P et le ratio de T_4/T_3, pourrait également aider à déterminer le statut de Se (Hill et Burk, 1997, Arthur, 1999). Il est important de reconnaître toutes les variables ainsi que leurs interactions lors de l'évaluation du statut de Se d'un cheval. Afin de faire un bon diagnostic, il faut plus d'information qu'une seule analyse de plasma ou de sérum. Une carence en Se peut entrainer une diminution des niveaux d'une sélénoprotéine en particulier et augmenter l'incorporation du Se dans une autre sélénoprotéine (Patching et Gardiner, 1999). De plus, si on extrapole des recherches effectuées chez l'humain, il est probable que les chevaux vivant dans les régions déficientes en Se soient capables de s'adapter à des concentrations plasmatiques plus basses. Chez les humains, il n'y a pas de valeur de référence universelle pour le Se à cause des variations entre les statuts en Se des différents pays (Thomson, 2004). La concentration tissulaire peut être trompeuse lors de l'évaluation du statut de Se, car elle ne reflète pas l'activité fonctionnelle et peut varier selon la source de Se ingérée (Thomson et coll., 1993; Nève, 1995). Patching et Gardiner (1999) ont suggéré qu'il était plus précis de mesurer le statut de Se en utilisant l'activité des sélénoprotéines. Ces mesures fournissent plus d'information que le Se seul. Des travaux effectués chez les rats ont démontré que l'activité de la GSH-Px plasmatique augmentait avec la supplémentation en Se jusqu'à atteindre un plateau. La concentration de Se au plateau serait équivalente aux besoins alimentaires de l'animal (Sunde et coll., 2005). Il serait intéressant d'évaluer si la même tendance se produit chez les chevaux. Si la tendance se confirme, cela serait un bon point de départ pour l'élaboration de valeurs de référence de la GSH-Px plasmatique.

6. CONCLUSION

Considérant le volume important de chevaux avec des niveaux de Se et de vitamine E inadéquats, il est possible de conclure que les pratiques alimentaires des propriétaires de chevaux du Québec ne sont pas bien adaptées. Les résultats démontrent que le Se, la vitamine E et la GSH-Px varient en fonction de divers facteurs tels que la saison, l'alimentation, l'état de chair et le niveau d'exercice. Il ne faut pas oublier que la quantité, la fréquence et la source ont aussi un impact lorsqu'on parle de Se et de vitamine E dans l'alimentation. Il serait pertinent de mettre sur pied un outil de diagnostic du statut antioxydant du cheval tenant compte de ces facteurs. Pour l'instant, la plupart des diagnostics se basent uniquement sur une prise de sang où le Se seul et parfois le Se en combinaison avec la vitamine E sont analysés. Le dosage de l'activité de la GSH-Px n'est pas une pratique courante chez les équins. L'utilisation d'une approche globale, combinée avec l'éducation des propriétaires concernant l'importance d'un bon diagnostic antioxydant chez le cheval sont de mise. Beaucoup de propriétaires de chevaux ne voient pas l'importance de supplémenter leurs animaux en Se et en vitamine E sur une base régulière. Puisqu'ils ne voient pas les effets négatifs à court terme, il ne se sentent pas obligé d'en ajouter à la ration ou n'en ajoutent pas suffisamment. Rappelons-nous qu'une déficience en Se et/ou en vitamine E peut mener à plusieurs problèmes de santé irréversibles tels que la myopathie nutritionnelle (maladie du muscle blanc) et la maladie du neurone moteur.

Considérant que le Québec est une région où les sols sont déficients en Se et que les chevaux n'ont pas accès au pâturage durant toute l'année, il faudrait, au minimum, qu'un bilan sanguin Se/vitamine E soit effectué chaque année. De cette manière, il serait possible de prévenir ou de corriger les déficiences avant qu'elles n'aient un impact majeur sur la santé des chevaux.

7. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Amelink, G. J., Van der Waal, W. A., Wokke, J. H., Van Asbeck, B. S., Bär, P. R. (1991). Exercise induced muscle damage in the rat: The effect of vitamin E deficiency. *Pflügers Arch. Eur. J. Physiol*, 419, 304-309

Andersen H. R., Nielsen, J. B., Nielsen, F., Grandjean, P. (1997). Antioxidative enzyme activities in human erythrocytes. *Clin. Chem.* 43(4), 562-568. https://doi.org/10.1093/clinchem/43.4.562

Andriichuk, A. et Tkachenko, H. (2017) Effect of gender and exercice on haematological and biochemical parameters in Holsteiner horses. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 101(5), e404-e413. https://doi.org/10.1111/jpn.12620

Arthur, J. R. (1999). Functional indicators of iodine and selenium status. *Proc. Nutr. Soc.* 58, 507-512

Avellini, L., Chiaradia, E., Rueca, F., Spaterna, A., Gaiti, A., Fruganti, G. (1996). Oxidative stress during exercise in racehorses relationships between nutrition; training and biochemical defenses against free radicals. *Pferdeheilkunde,* 12, 557-560

Baalsrud, K. J. et Overnes, G. (1986). Influence of vitamin E and selenium supplement on antibody production in horses. *Equine Vet. J.* 18, 472-474

Beckett, G. J. et Arthur, J. R. (2005). Selenium and endocrine systems, *J. Endocrinol*, 184(3), 455-465. https://doi.org/10.1677/joe.1.05971

Blakley, B. R., Bell, R. J. (1994). The vitamin A and vitamin E status of horses raised in Alberta and Saskatchewan. *Can Vet J*, 35(5), 297-300

Block, G., Dietrich, M., Norkus, E. P., Morrow, J. D., Hudes, M., Caan, B., Packer, L. (2002). Factors associated with Oxidative Stress in Human Populations. *Am. J. Epidemiol,* 156(3), 274-285. https://doi.org/10.1093/aje/kwf029

Blythe, L. L. et Craig, A. M. (1992). Degenerative myeloencephalopathy. In: Robinson NE, ed. Current Therapy in Equine Medecine, 3rd ed. Philadelphia, PA, *WB Saunders*, 559-561

Brigelius-Flohé, R. et Maiorino, M. (2013) Glutathione peroxidases. *Biochim. Biophys. Acta*. 1830(5), 3289–3303. doi: 10.1016/j.bbagen.2012.11.020

Burk, R. F. et Hill, K. E. (2015) Regulation of Selenium Metabolism and Transport. *Annual Review of Nutrition*, 35(1), 109-134

Calamari, L., Ferrari, A. et Bertin, G. (2009). Effect of selenium source and dose on selenium status of mature horses. *J Anim Sci* , 87(1), 167–178. https://doi.org/10.2527/jas.2007-0746

Campbell, J. R., Jim, G. K., Booker, C. W., Guichon, P. T. (1995) A survey of the selenium status of beef cows in Alberta. *Can. Vet. J,* 36(11), 698-702.

Canadian Council on Animal Care. (2020). Guide to the Care and Use of Experimental Animals. Canadian Council on Animal Care, Ottawa, Ontario. https://ccac.ca/Documents/Standards/Guidelines/Experimental_Animals_Vol1.pdf

Caple, I. W., Edwards, J. A., Forsyth, W. M., Whiteley, P., Selth, R. H. et Fulton, L. J. (1978). Blood glutathione peroxidase activity in horses in relation to muscular dystrophy and selenium nutrition. *Aust. Vet. J*, 54(2), 57-60. https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1978.tb00343.x

Carmel, D. K., Crisman, M. V., Ley, W. B., Irby, M. H. et Edwards, G. H. (1990). A survey of whole blood selenium concentrations of horses in Maryland. *Cornell Vet.* 80(3), 251-8

Ceballos, A., Sanchez, J., Stryhn, H., Montgomery, J. B., Barkema, H. W., Wichtel, J. J. (2009). Meta-analysis of the effect of oral selenium supplementation on milk selenium concentration in cattle. J. Dairy Sci. 92, 324–342. : 10.3168/jds.2008-1545

Chu, F., Doroshow, J. H. et Esworthy R. S. (1993) Expression, characterization, and tissue distribution of a new cellular selenium-dependent glutathione peroxidase, GSHPx-GI, *J. Biol. Chem.* 268(4), 2571–2576

Combs, G. F. Jr. et Combs, S. B. (1986). The Role of Selenium in Nutrition. *Academic Press*, Boca Raton, Florida.145–148, 196–199

Conseil canadien des ministres de l'environnement. (2009). Canadian Soil Quality Guidelines: Selenium. Environmental and Human Health Supporting Document, Winnipeg (MB) : Conseil canadien des ministres de l'environnement, rapport no PN 1438, 103 p

Craig, A. M., Blythe, L. L., Lassen, E. D., et al. (1989). Variations of serum vitamin E, cholesterol, and total serum lipid concentrations in horses during a 72-hour period. *Am J Vet Res*, 50(9), 1527–1531

Cubadda, F., Aureli, F., Ciardullo, S., D'Amato, M., Raggi, A., et al. (2010). Changes in selenium speciation associated with increasing tissue concentrations of selenium in wheat grain. *J. Agric. Food Chem*. 58(4), 2295– 2301. https://doi.org/10.1021/jf903004a

Deagen, J. T., Butler, J. A., Beilstein, M. A. et Whanger, P. D. (1987). Effects of dietary selenite, selenocysteine and selenomethionine on selenocysteine lyase and glutathione peroxidase activities and on Se levels in rat tissues. *J. Nutr.* 117(1), 91–98. 10.1093/jn/117.1.91

Dickson, R. C. et Tappel, A. L. (1969). Reduction of selenocystine by cysteine or glutathione, *Arch. Biochem. and Biophys*, 130, 547-550. https://doi.org/10.1016/0003-9861(69)90068-X

Dierenfeld, E. S., Hoppe, P. P., Woodford, M.H., et al. (1997). Plasma alpha-tocopherol, beta-carotene, and lipid levels in semi-free-ranging Przewalski horses (Equus przewalskii). *J Zoo Wild Med*, 28(2), 144–147

Dietrich, M., Block, G., Hudes, M., Morrow, J. D. Norkus, E. P. Traber, M. G., Cross, C. E., Packer, L. (2001). Antioxidant Supplementation Decreases Lipid Peroxidation Biomarkers F_2-isoprostanes in Plasma of Smokers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 11(1), 7-13.

Dju, M. Y., Mason, K. E. et Filer, L. J. Jr. (1958). Vitamin E (tocopherol) in human tissues from birth to old age. *Am J Clin Nutr.* 6,50–60

Dozier, W. A. (2002). Mash conditioning and vitamin stability. *Feed International*, 23, 20-24

Esaki, N., Nakamura, T., Tanaka, H., Suzuki, T., Morino, Y. et Soda, K. (1981). Enzymatic synthesis of selenocysteine in rat liver. *Biochemistry* 20(15), 4492–600. 10.1021/bi00518a039

Fagan, M. M., Harris, P., Adams, A., Pazdro, R., Krotky, A., Call, J. et Duberstein, K. J. (2020). Form of Vitamin E Supplementation Affects Oxidative and Inflammatory Response in Exercising Horses, *J. Equine Vet. Sci*, 91, 0737-0806. https://doi.org/10.1016/j.jevs.2020.103103

Finno, C. J. et Valberg, S. J. (2012). A Comparative Review of Vitamin E and Associated Equine Disorders. *J. Vet. Intern. Med*, 26(6), 1251-1266. https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2012.00994.x

Flohé, L. (1989). The Selenoprotein Glutathione Peroxidase, *John Wiley & Sons Inc.*

Flohé, L. et Brigelius-Flohé, R. (2006). Selenoproteins of the glutathione system, in: D.L.Hatfield (Ed.), Selenium. Its Molecular Biology and Role in Human Health, 2nd edition, *Kluwer Academic Publishers*, Boston, Dordrecht, London, 161–172

Fordyce F. M., Brereton, N., Hughes, J., Reay, G., Thomas, L., Walker, A., Luo, W. et Lewis J. (2009). The Selenium Content of Scottish Soil and Food Products. Food Standards Agency, Scotland

Franke, K. W. (1934). A new toxicant occurring naturally in certain samples of plant foodstuffs. I. Results obtained in preliminary feeding trials. *J. Nutr*, 8(5), 597-608. https://doi.org/10.1093/jn/8.5.597

Gadient, M. (1986). Effect of pelleting on nutritional quality of feed. In: Proceedings of Maryland Nutritional Conference. College Park (MD): University of Maryland, 73–79

Gallagher, K. et Stowe, H. D. (1980). Influence of exercise on serum selenium and peroxide reduction system of racing Standardbreds. *Am. J. Vet. Res*. 41(8), 1333-1335

Gao, X., Martin, A., Lin, H., et al. (2006) Alpha-Tocopherol intake and plasma concentration of Hispanic and non-Hispanic white elders is associated with dietary intake pattern. *J. Nutr*, 136(10), 2574–9

Geor, R. J., Harris, P. A. et Coenen, M. (2013). Equine Applied and Clinical Nutrition: health, welfare and performance. *Saunders Elsevier*, London, United Kingdom

Gouvernement du Canada. (2015). Recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada: document technique – le sélénium. Gouvernement du Canada. https://www.canada.ca/fr/sante-canada/services/publications/vie-saine/recommandations-pour-qualite-eau-potable-canada-document-technique-selenium/recommandations-pour-qualite-eau-potable-canada-document-technique-selenium-page-6.html

Goyal, R., Singhai, M. Faizy, A. F. (2011). Glutathione peroxidase activity in obese and nonobese diabetic patients and role of hyperglycemia in oxidative stress. *J. Midlife Health*, 2(2), 72-76. 10.4103/0976-7800.92529

Gramegna, G., Rosado, D., Sanchez Carranza, A. P., Bertinatto Cruz, A., Simon-Moya, M., Llorente B., Rodriguez-Concepcion, M., Freschi, L., Rossi, M. (2019). PHYTOCHROME-INTERACTION FACTOR 3 mediates light-dependent induction of tocopherol biosynthesis during tomato fruit ripening. *Plant Cell Environ*. 42, 1328-1339. DOI: 10.1111/pce.13467

Hall, J. O. (2014). Overview of Selenium Toxicosis. *Merck Veterinary Manual*. Merck & Co., Inc., Rahway, NJ. https://www.merckvetmanual.com/toxicology/selenium-toxicosis/overview-of-selenium-toxicosis?query=selenium%20horses

Hamir, A. N. (1982). White muscle disease in a foal. *Aust. Vet. J.* 59(2), 57-58. https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1982.tb02719.x

Henneke, D. R., Potter, G. D., Kreider, J. L. et Yeates, B. F. (1983). Relationship between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares. *Equine vet. J.* 15, 371-372

Herbst, A. C., Johnson, M. G., Gammons, H., Reedy, S. E., Urschel, K. L., Harris, P. A., Adams, A. A. (2022). Development and Evaluation of a Muscle Atrophy Scoring System (MASS) for Horses. *J. Equine Vet. Sci.* 110. https://doi.org/10.1016/j.jevs.2021.103771

Higuchi, T., Ichijo, S., Osame, S. et Hideo, O. (1989). Studies on serum selenium and tocopherol in white muscle disease of foal. *Jpn. J. Vet. Sci*. 51(1), 52-59. doi: 10.1292/jvms1939.51.52

Hill, K. E. et Burk, R. F. (1997). Selenoprotein P: recent studies in rats and in humans. *Biomed. Environ. Sci*. 10, 198–208

Hoffman, R. M., Morgan, K. L., Philips, A., Dinger, J. E., Zinn, S. A., Faustman, C. (2001). Dietary vitamin E and ascorbic acid influence nutritional status of exercising polo ponies. P. 129, Proc. 17th Equine Nutr. Physiol. Soc. Symp. Lexington, KY

House, A., (2016). Selenium in the Equine Diet. American Association of Equine Practitioners. University of Florida College of Veterinary Medecine

Ishii, M., Ogata, H., Shimizu, H., Takeuchi, Y., Nozawa, T., Yamamoto, Y., Okamoto, T., Shimamura, T., Utsumi, A., Jitsukawa, T., Endo, M., Fukuda, T. et Yamanoi, T. (2002). Effects of vitamin E and selenium administration on pregnant, heavy draft mares on placental retention time and reproductive performance and on white muscle disease in their foals, *J. Equine Vet. Sci*, 22(5), 213-220, https://doi.org/10.1016/S0737-0806(02)70036-1

Janicki, K. M., Lawrence, L. M., Barnes, T. et Stine, C. J. (2001). The effect of dietary selenium source and level on selenium concentration. glutathione peroxidase activity, and influenza titers in broodmares and their foals. 17th Equine Nutr. Physiol Soc.Symp., Lexington, KY. 43-44

Kamada, H., Nonaka, I., Takenouchi, N. et Amari, M. (2014). Effects of selenium supplementation on plasma progesterone concentrations in pregnant heifers. *Anim. Sci. J*, 85(3), 241–246. 10.1111/asj.12139

Karren, B. J., Thorson, J. F., Cavinder, C. A., Hammer, C. J., Coverdale, J. A. (2010). Effect of selenium supplementation and plane of nutrition on mares and their foals:

Selenium concentrations and glutathione peroxidase. *JAS.* 88(3), 991-997. https://doi.org/10.2527/jas.2008-1743

Katz, L., O'Dwyer, S. et Pollock, P. (2009). Nutritional musclular dystrophy in a 4 day old Connemara foal. *Ir. Vet. J.* 62(119)

Kienzle, E., Freismuth, A. et Reusch, A. (2006) Double-blind placebo-controlled vitamin E or selenium supplementation of sport horses with unspecified muscle problems. An example of the potential of placebos. *J. Nutr.* 136(7), 2045S–2047S

Kipp, A. P., Strohm, D., Brigelius-Flohé, R., Schomburg, L. Bechthold, A., Leschik-Bonnet, E. et Heseker, H. (2015). Revised reference values for selenium intake. *J. Trace Elem. in Med. Biol*, 32, 195-199. https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2015.07.005

Kirschvink, N., de Moffarts, B. et Lekeux, P. (2008). The oxidant/antioxidant equilibrium in horses. *Vet. J*, 177(2), 178-191. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.07.033

Kirschvink, N., de Moffarts, B., Farnir, F., Pincemail, J. et Lekeux P. (2010). Investigation of blood oxidant/antioxidant markers in healthy competition horses of different breeds. *Equine Vet. J*, 38(S36), 239-244. https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.2006.tb05546.x

Köhrle, J., Jakob, F., Contempré, B. et Dumont, J. E. (2005) Selenium, the thyroid, and the endocrine system. *Endocr Rev*, 26(7), 944–984. 10.1210/er.2001-0034

Kralik, Z., Kralik, G., Biazik, E., Straková, E. et Suchý, P. (2013). Effects of organic selenium in broiler feed on the content of selenium and fatty acid profile in lipids of thigh muscle tissue. *Acta Vet. Brno.* 82(3), 277–282. 10.2754/avb201382030277

Kryukov, G. V., Castellano, S., Novoselov, S. V., Lobanov, A. V., Zehtab, O., Guigó, R. et Gladyshev, V. N, (2003). Characterization of mammalian selenoproteomes, *Science,* 300(5624), 1439–1443. 10.1126/science.1083516

Kubota, J., Allaway, W. H., Carter, D. L., Carey, E. E. et Lazar, V. A. (1967). Selenium crops in the United States in relation to selenium-responsive diseases of animals. *J Agric Food Chem*, 15(3), 448–453. https://doi.org/10.1021/jf60151a006

Levander, O. A., Alfthan, G., Arvilommi, H., Gref, C. G., Huttunen, J. K., Kataha, M., Koivistoien, P. et Pikkarainen, J. (1983). Bioavailability of Se to Finnish men as assessed by platelet glutathione peroxidase activity and other blood parameters. *Am. J. Clin. Nutr*. 37(6), 887–897. 10.1093/ajcn/37.6.887

Levesque, M. (1974). Selenium distribution in Canadian soil profiles. *Can. J. Soil Sci.* 54(63)

Lewis, L. D. (1996). Feeding and Care of the Horse. 2nd ed. New York: Lippincott Williams and Wilkins

Liesegang, A., Staub, T., Wichert, B., Wanner, M. et Kreuzer, M. (2008). Effect of vitamin E supplementation of sheep and goats fed diets supplemented with polyunsaturated fatty acids and low in Se. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl.),* 92(3), 292–302. 10.1111/j.1439-0396.2007.00770.x

Lindholm, A. et Asheim, A. (1973). Vitamin E and certain muscular enzymes in the blood serum of horses. *Acta Agric Scand Suppl*. 19, 40–42

Löfstedt, J. (1997). White Muscle Disease of Foals. Veterinary Clinics of North America: Equine Practice. 13(1), 169-185. https://doi.org/10.1016/S0749-0739(17)30262-6

Maas, J., Galey, F. D., Peauroi, J. R., Case, J. T., Littlefield, E. S., Gay, C. C., Koller, L. D., Crisman, R. O., Weber, D. W., Warner, D. W., et al. (1992). The correlation between serum selenium and blood selenium in cattle. *J. Vet. Diagn. Investig.* 4(1), 48–52. 10.1177/104063879200400111

Maenpaa, P. H., Koskinen, T. et Koskinen, E (1988). Serum profiles of vitamins A, E and D in mares and foals during different seasons. *J Anim Sci*, 66(6), 1418–1423. 10.2527/jas1988.6661418x

Maenpaa, P. H., Lappetelainen, R. et Virkkunen, J. (1987). Serum retinol, 25-hydroxyvitamin D and alpha-tocopherol of racing trotters in Finland. *Equine Vet J,* 19(3), 237–240. 10.1111/j.2042-3306.1987.tb01391.x

Maenpaa, P. H., Pirhonen, A. et Koskinen, E. (1988). Vitamin A, E and D nutrition in mares and foals during the winter season: Effect of feeding two different vitamin-mineral concentrates. *J Anim Sci,* 66(6),1424–1429. 10.2527/jas1988.6661424x

Mahan, D.C., Cline, T. R. et Richert, B. (1999). Effects of dietary levels of selenium-enriched yeast and sodium selenite as selenium sources fed to growing-finishing pigs on performance, tissue selenium, serum glutathione peroxidase activity, carcass characteristics, and loin quality. *J Anim Sci*. 77(8), 2172–2179

Margis, R., Dunand, C., Teixeira, F. K. et Margis-Pinheiro M. (2008). Glutathione peroxidase family – an evolutionary overview. *The FEBS Journal.* 275, 3959-3970. 10.1111/j.1742-4658.2008.06542.x

Martin-Rosset, W. (2015). Equine nutrition: INRA nutrient requirements, recommended allowances and feed tables. 1st edition. *Wageningen Academic Pub*, Wageningen, The Netherlands

McMeniman, N. P., Hintz, H. F. (1992). Effect of vitamin E status on lipid peroxidation in exercised horses. *Equine Vet. J*, 24, 482-484

Montgomery, J. B., Wichtel, J. J., Wichtel, M. G., McNiven, M. A., McClure, J. T., Markham, F. et Horohov, D. W. (2012). Effects of selenium source on measures of selenium status and immune function in horses. *Can. Vet J*, 76(4), 281–291

Munoz, P., Briones, M., Munné-Bocsh, S. (2018). Photoinhibition and photoprotection during flower opening in lilies. *Plant Sci J.* 272, 220-229. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2018.04.023

Muirhead, T. L., Wichtel, J. J., Stryhn, H. et McClure, J. T. (2010). The selenium and vitamin E status of horses in Prince Edward Island. *Can. Vet. J*, 51(9), 979–985

National Research Council. (2007). Nutrient requirements of Horses, 6th revised edition. *National Academy Press*, Washington, DC

National Research Council. (1989). Nutrient requirements of Horses, 5th edition. *National Academy Press*, Washington, DC

National Research Council. (1987). Vitamin Tolerance of Animals. *National Academy Press*, Washington, DC

National Research Council. (1983). Selenium in Nutrition: Revised Edition. Subcommittee on Selenium. *National Academies Press* Washington, DC.

National Research Council. (1971). Selenium in Nutrition. Agricultural Board, Committee on Animal Nutrition. *National Academies Press*. Washington, DC

Nève, J. (1995). Human selenium supplementation as assessed by changes in blood selenium concentration and glutathione peroxidase activity. *J. Trace Elem. Med. Biol*. 9, 65–73

Nève, J. (1991). Methods in determination of selenium states. *J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis*. 5, 1–17

Olson, O. E., Novacek, E. J., Whitehead, E. I. et Palmer, I. S. (1970). Investigations on selenium in wheat. *Phytochem,* 9(6), 1181-1188. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)85306-6

Ortman, K., Andersson, R. et Holst, H. (1999). The influence of supplements of selenite, selenate and selenium yeast on the selenium status of dairy heifers. *Acta Vet Scand*, 40(1), 23–34. 10.1186/BF03547038

Ortman, K. et Pehrson B. (1999). Effect of selenate as a feed supplement to dairy cows in comparison to selenite and selenium yeast. *J Anim Sci,* 77(12), 3365–3370. 10.2527/1999.77123365x

Ozata, M., Mergen, M., Oktenli, C., Aydin, A., Sanisoglu, S. Y., Yilmaz, M. I., Sayal, A., Isimer, A., Ozdemir, I. C. (2002). Increased oxidative stress and hypozincemia in male obesity. *Clin. Biochem*. 35, 627-631. https://doi.org/10.1016/S0009-9120(02)00363-6

Pagan, J. D., Kane, E. et Nash, D. (2005). Form and source of tocopherol affects vitamin E status in Thoroughbred horses. *Equine Nutrition Conference Hannover*. 21, 101–102

Paglia, D. E. et Valentine, W. N. (1967). Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J. Lab. Clin. Med*. 70(1), 158–169

Panemangalore, M. et Lee, C. J. (1992). Evaluation of the indices of retinol and alpha-tocopherol status in free-living elderly. *J Gerontol*, 47(3), B98–104

Patching, S. G. et Gardiner, P. H. E. (1999). Recent developments in selenium metabolism and chemical speciation: a review. *J. Trace Elem. Med. Biol*. 13, 193–214

Pechova, A., Pavlata, L. et Illek, J. (2005). Blood and tissue selenium determination by hydride generation atomic absorption spectrophotometry. *Acta Vet. Brno,* 74(4), 483–490. 10.2754/avb200574040483

Perkins, G., Valberg, S. J., Madigan, J. M., Carlson, G. P. et Jones, S. L. (1998). Electrolyte disturbances in foals with severe rhabdomyolysis. *J. Vet. Intern. Med*. 12(3), 173-177. 10.1111/j.1939-1676.1998.tb02114.x

Pitel, M. O., McKenzie, E. C., Johns, J. L. et Stuart, R. L. (2020). Influence of specific management practices on blood selenium, vitamin E, and beta-carotene concentrations in horses and risk of nutritional deficiency. *J. Vet. Intern. Med*, 34(5), 2132–2141. https://doi.org/10.1111/jvim.15862

Puls, R. (1994). Mineral levels in animal health; diagnostic data. 2nd edition. *Sherpa international,* BC, Canada.

Pumfrey, W. M., Deyonge, K. G., Slusark, J. A., Garber, M. J., Roeder, R. A., Sanchez, W. K. et al. (1993). Absorption of various forms of vitamin E from the digestive track and transfer across the mammary gland in lactating dairy cows. *J Anim Sci*, 71, 256

Quaresma, M., Marin, C., Bacellar, D., Novoa, M., Navas, F. J. et McLean, A. (2021). Selenium and Vitamin E Concentrations in Miranda Jennies and Foals (Equus asinus) in Northeast Portugal. *Animals,* 11(6), 1772. https://doi.org/10.3390/ani11061772

Rea, H. M. Thompson, C. D. Campbell, D. R. et Robinson, M. F. (1979). Relation between erythrocyte selenium concentrations and glutathione peroxidase (EC 1.11.1.9) activities of New Zealand residents and visitors to New Zealand. *Br. J. Nutr*. 42, 201-208

Read, R., Bellew, T., Yang, J. G., Hill, K. E., Palmer, I. S. et Burk, R. F. (1990). Selenium and amino acid composition of selenoprotein P, the major selenoprotein in rat serum. *J. Biol. Chem*., 265(29), 17899–17905. https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)38248-6

Reimann, C. et de Caritat, P. (1998). Chemical elements in the environment – Factsheets for the geochemist and environmental scientist; Berlin, Heidelberg (Allemagne), Springer, 398 p

Richardson, S. M., Siciliano, P. D., Engle, T. E., Larson, C. K., et Ward, T. L. (2006). Effect of selenium supplementation and source on the selenium status of horses. *J. Anim. Sci*, 84(7), 1742–1748. 10.2527/jas.2005-413

Rogers, P. A. M., Arora, S. P., Fleming, G.A., Crinio, R. A. P. et Mc Laughlin, J. G. (1990). Selenium toxicity in farm animals: treatment and prevention. *Irish Vet. J.* 43, 151-153

Roneus, B. O., Hakkarainen, R. V., Lindholm, C. A. et Tyopponen, J. T. (1986). Vitamin E requirements of adults Standardbred horses evaluated by tissue depletion and repletion. *Equine Vet. J.* 18, 50-58

Rosenfeld, I. et O. A. Beath. (1964). Selenium. Geobotany, Biochemistry, Toxicity and Nutrition. New York, *Academic Press*. 411 p

Rotruck, J. T., Pope, A. L., Ganther, H. E., Swanson, A. B., Hafeman, D. G. et Hoekstra, W. G. (1973). Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science*, 179(4073), 588–590. 10.1126/science.179.4073.588

Schrauzer, G. N. (2003). The nutritional significance, metabolism and toxicology of selenomethionine. *Adv. Food Nutr. Res*. 47, 73– 112. 10.1016/s1043-4526(03)47002-2

Scholz, R. W. et Hutchinson, L. J. (1979). Distribution of glutathione peroxidase activity and selenium in the blood of dairy cows. *Am. J. Vet. Res.* 40(2), 245–249

Schwarz, K. et Foltz C. M. (1957). Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. *J. Am. Chem. SOC*. 79(12), 3292-3293. https://doi.org/10.1021/ja01569a087

Shellow, J. S., Jackson, S. G., Baker, J. P., Cantor, A. H. (1985). The influence of dietary Se levels on blood levels of Se and glutathione peroxidase activity in the horse. *J. Anim. Sci*, 61, 590-594. https://doi.org/10.2527/jas1985.613590x

Siciliano, P. D., Parker, A. L. et Lawrence, L. M. (1997). Effect of dietary vitamin E supplementation on the integrity of skeletal muscle in exercised horses. *J. Anim. Sci*, 75(6), 1553–1560. 10.2527/1997.7561553x

Slekovec, M. et Goessler, W. (2005). Accumulation of selenium in natural plants and selenium supplemented vegetable and selenium speciation by HPLC-ICPMS. *Chem. Speciat. Bioavailab,* 17(2), 63–73. 10.3184/095422905782774919

Sors, T. G., Ellis, D. R. et Salt, D. E. (2005). Selenium uptake, translocation, assimilation and metabolic fate in plants. *Photosynth. Res*. 86(3), 373–89. 10.1007/s11120-005-5222-9

Spallholz, J. E. (2019). Selenomethionine and Methioninase: Selenium Free Radical Anticancer Activity. In: Hoffman R. (eds) Methionine Dependence of Cancer and Aging. Methods in Molecular Biology, *Humana Press*, New York, NY. 1866, 199-210. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8796-2_15

Steiss, J. E., Traber, M. G., Williams, M. A. et al. (1994). Alpha tocopherol concentrations in clinically normal adult horses. *Equine Vet J*. 26,417–419

Stockdale, C. R. et Gill, H. S. (2011). Effect of duration and level of supplementation of diets of lactating dairy cows with selenized yeast on selenium concentrations in milk and blood after the withdrawal of supplementation. *J. Dairy Sci.*, 94(5), 2351–2359. 10.3168/jds.2010-3781

Stowe, H. D. (1967). Serum selenium and related parameters of naturally and experimentaly fed horses, *J. Nutr*. 93, 60-64

Stowe, H. D. et Herdt, T. H. (1992). Clinical assessment of selenium status of livestock, *J. Anim. Sci*, 70(12), 3928–3933, https://doi.org/10.2527/1992.70123928x

Streeter, R. M., Divers, T. J., Mittel, L., Korn, A. E. et Wakshlag, J. J. (2012). Selenium deficiency associations with gender, breed, serum vitamin E and creatine kinase, clinical signs and diagnoses in horses of different age groups: A retrospective examination 1996–2011, *Equine Vet. J*, 44(S43), 31-35. https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.2012.00643.x

Sunde, R. A., Evenson, J. K., Thompson, K. M. et Sachdev, S. W. (2005). Dietary selenium requirements based on glutathione peroxidase-1 activity and mRNA levels and other Se-dependent parameters are not increased by pregnancy and lactation in rats. *J. Nutr.* 135(9), 2144–2150. 10.1093/jn/135.9.2144

Thompson, C. D. (2004). Assessment of requirements for selenium and adequacy of selenium status: a review. *Eur. J. Clin. Nutr*. 58, 391-402

Thomson, C. D., Robinson, M. F., Butler, J. A. et Whanger, P. D. (1993). Long-term supplementation with selenate and selenomethionine: selenium and glutathione peroxidase in blood components of New Zealand women. *Br. J. Nutr*. 69, 577–588

Tiidus, P. M. (2000)Estrogen and gender effets on muscle damage, inflammation and oxidative stress. *Can J. Appl. Physiol*, 25(4), 274-287

Trevisan, M., Browne, R., Ram, M., Muti, P., Freudenheim, J., Carosella, A. M., Armstrong, D. (2001). Correlates of Markers of Oxidative Status in the General Population. *Am J Epidemiol*, 154, 348-356. https://doi.org/10.1093/aje/154.4.348

Ursini, F., Maiorino, M., Brigelius-Flohe, R., Aumann, K. D., Roveri, A., Schomburg, D. et Flohe, L. (1995). Diversity of glutathione peroxidases, *Methods Enzymol*. 252, 38–53. 10.1016/0076-6879(95)52007-4

Ursini, F., Maiorino, M. et Roveri, A. (1997). Phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx): more than an antioxidant enzyme? *Biomed. Environ. Sci*. 10(2-3), 327–332

Valberg, S. J. (2019). Muscle Disorders in Horses. Merk Veterinary Manual. 9th ed. Merk & Co, Whitehouse Station, NJ

Van Dael, P., Davidsson, L., Munoz-Box, R., Fay, L. B. et Barclay, D. (2001). Selenium absorption and retention from a selenite- or selenate-fortified milk-based formula in men measured by a stable-isotope technique. *Br. J. Nutr*. 85(2), 157–163. 10.1079/bjn2000227

Van Saun, R. J. (1990). Rational approach to selenium supplementation essential. *Feedstuffs*. 62(3), 15–17

Vanschandevijl, K., Nollet, H., Deprez, P., et al. (2009). Variation in deficient serum vitamin E levels and impact on assessment of the vitamin E status in horses. *Vlaams Diergeneeskunidig Tijdschrift*, 78(1), 28-33

Vendeland, S. C., Deagen, J. T., Butler, J. A., Whanger, P. D. (1994). Uptake of selenite, selenomethionine and selenate by brush border membrane vesicles isolated from rat small intestine. *Biometals*, 7(4), 305–312. 10.1007/BF00144126

Waggiallah, H., Alzohairy, M. (2011). The effect of oxidative stress on human red cells glutathione peroxidase, glutathione reductase level and prevalence of anemia among diabetics. *N Am J Med Sci.* 3(7), 344-347. 10.4297/najms.2011.3344

Weekley, C. M. et Harris, H. H. (2013) Which form is that? The importance of selenium speciation and metabolism in the prevention and treatment of disease. *Chem. Soc. Rev*., 42(23), 8870-8894. DOI: 10.1039/C3CS60272A

Wichtel, J. J., Grace, N. D. et Firth, E. C. (1997). Selenium in the horse: New developments. *Newsletter of New Zealand Veterinary Association*

Williams, C. A., Carlucci, S. A. (2006). Oral vitamin E supplementation on oxidative stress, vitamin ans antioxidant status in intensely exercised horses. *Equine Vet. J. Suppl*, 36, 617-621. 10.1111/j.2042-3306.2006.tb05614.x

Williams, C. A., Kronfeldt, D. S., Hess, T. M., Saker, K. E., Waldron, J. N., Crandell, K. M., Hoffman, R. M., Harris. P. A. (2004). Antioxidant supplementation and subsequent oxidative stress of horses during an 80-km endurance race. *J. Anim. Sci*., 82(2), 588-594. 10.2527/2004.822588x

Wilson, T. M., Morrison, H. A., Palmer, N. C., Finley, G. G. et van Duemel, A. A. (1976) Myodegeneration and suspected selenium/vitamin E deficiency in horses. *J. Am. Vet. Med. Ass*. 169(2), 213-217

Witt, E. H., Reznick, A. Z., Viguie, C. A., Starke-Reed, P., Packer, L. (1992). Exercise oxidative damage and effects of antioxidant manipulation. *J. Nutr*, 122, 766-773

Wolffram, S. (1999). Absorption and metabolism of selenium: Differences between inorganic and organic sources. 15th Alltech Annu. Symp. Biotechnol. *Feed Food Ind*. 547–566, Lexington, KY. Nottingham Univ. Press, Nottingham, UK

Wolffram, S., Berger, B., Grenacher B. et Scharrer, E. (1989). Transport of selenoamino acids and their sulfur analogues across the intestinal brush border membrane of pigs. J. *Nutr.* 119(5), 706–12. 10.1093/jn/119.5.706

8. ANNEXES

Annexe 1 : Enquête sur la quantité de Sélénium (et vitamine E) contenu (s) dans l'alimentation des chevaux au Québec

Date :

Visite : **1** **2** **3** **4**

A. Écurie

1. Nom de l'écurie : _____
2. Propriétaire de l'écurie : _____
3. Numéro de cellulaire : _____
4. Adresse email : _____
5. Adresse complète : _____
   _____
6. Nombres de chevaux : _____
7. L'écurie est en service depuis combien d'années ? _____
8. Quelle est la discipline principale pratiquée à l'écurie ? _____
9. Disponibilité de l'eau pour les chevaux (été et hiver) :
   _____
   _____

10. Entreposage du foin :

_____

_____

11. Régie alimentaire :
    -Nombre de repas par jour : _____
    -Concentré inclus dans la pension ? _____
    -Faites-vous des analyses de fourrages annuellement ? _____

B. Propriétaire du cheval

1. Nom : _____
2. Adresse : _____
3. Numéro de cellulaire : _____
4. Adresse email : _____
5. Années d'expérience dans le monde équestre : _____
6. Combien avez-vous de chevaux ? _____
7. Êtes-vous propriétaire d'une écurie ? _____
8. Est-ce que vous avez déjà fait affaire avec un agronome ou autre professionnel pour des recommandations alimentaires pour vos chevaux ?

   _____
   _____
   _____

9. Qu'en savez-vous sur la situation du sélénium au Québec ?

   _____
   _____
   _____

10. Que connaissez-vous sur la vitamine E dans l'alimentation des chevaux ?

    _____
    _____
    _____

C. Cheval

1. Nom du cheval : _____
2. Groupe alimentaire : 1 2 3 4
3. Âge : _____
4. Sexe : JumentHongre Étalon
5. Race : _____
6. Poids : _____
7. Côte de chair (Annexe 1) : _____
8. Condition musculaire (Annexe 2) : _____
9. Historique de santé/maladies/profil métabolique :
   _____
   _____
   _____
   _____
10. Activité physique et intensité (voir tableau annexe 3) :
    _____
    _____
    _____
    _____
    _____
11. Si le cheval est monté, rencontrez-vous parfois certaines difficultés ?
    Oui
    Non

Si oui, rencontrez-vous les difficultés suivantes ? (Plusieurs choix possibles)
-Refus d'avancer ou de passer à l'allure supérieure

-Comportements de défense (secoue la tête vigoureusement, rue, change brutalement de direction, etc.)

-Autres difficultés / comportements anormaux : précisez :

12. Votre cheval présente-t-il des problèmes de comportement :
    Oui

Non

Si oui, lequel : (plusieurs choix possibles)
- Tic du rot
- Tic à l'ours
- Déprivation de sommeil
- Agressivité envers les humains
- Agressivité envers les chevaux
- Autre, précisez :

13. Avez-vous déjà observé des tremblements/fasciculations musculaires chez votre cheval (en particulier après l'exercice) ?

Oui
Non

14. Décririez-vous le comportement de votre cheval comme : (un seul choix)

a. Plutôt anxieux/stressé au quotidien
b. Plutôt relax/calme au quotidien
c. Entre les deux, souvent calme mais parfois stressé dans le quotidien

15. Autre remarque concernant le comportement de votre cheval ?

16. Nombre de sorties à l'extérieur par semaine (combien de temps par jour, en groupe ou seul) :

_____
_____
_____
_____
_____

D. Ration alimentaire du cheval

1. Type de fourrages (joindre analyse de fourrage si disponible) :
   _____
2. Quantité de fourrages par jour : _____
3. Type de concentré et quantité par jour (compagnie, type de sélénium, type de vitamine E):
   _____
   _____
   _____
   _____
4. Tout autre supplément(s) que le cheval ingère dans sa journée (incluant la médication) :
   _____
   _____
   _____
   _____
5. Depuis combien de temps le cheval consomme-t-il cette ration? _____
6. Quels facteurs affectent le choix de la ration pour le cheval en question? De quelle source provient-il? (professionnel, bouche à oreille, décision du propriétaire, etc.)
   _____
   _____
   _____
   _____
   _____

E. Autres informations pertinentes

_____
_____
_____
_____
_____

Annexe 1

Charte – Condition de chair

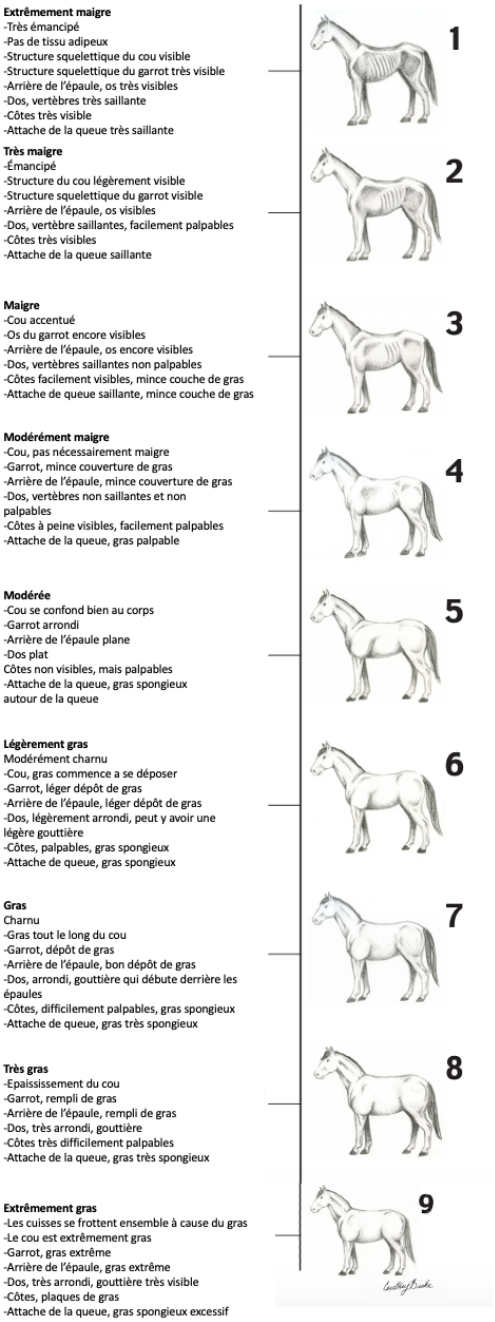

Image adaptée de : https://vetmed.tamu.edu/files/vetmed/vmth/laminitis/Equine_Body_Condition_Scoring.pdf

Annexe 2

Indice d'Atrophie Musculaire - Muscle Atrophy Scoring System (MASS)

Score	1 Pas d'atrophie	2 Atrophie légère	3 Atrophie modérée	4 Atrophie sévère
Cou	Muscles du cou convexes et fermes. Attache de l'épaule lisse, pas de creux à la jonction du cou et de l'épaule.	Muscles du cou généralement plats et fermes Léger creux à la jonction du cou et de l'épaule	Muscles du cou plats ou légèrement concaves et sont rigides (non ferme ni élastique) ou souples. Creux modéré à la jonction du cou et de l'épaule. Angle de la main posée sur l'omoplate et le cou > 90°.	Muscles du cou majoritairement concaves et rigides (non ferme ni élastique), ou très mous. Creux proéminent à la jonction du cou et de l'épaule. Angle de la main posée sur l'omoplate et le cou est 90° ou presque.
Abdomen	Muscles abdominaux fermes. Muscles de chaque côté de la ligne médiane abdominale près des pattes avant sont fermes et difficile à déplacer.	Muscles abdominaux généralement fermes, avec quelques régions plus molles. Muscles de chaque côté de la ligne médiane abdominale près des pattes avant généralement fermes, avec régions plus molles, mais difficiles à déplacer.	Muscles abdominaux mous, mais non flasques. Muscles de chaque côté de la ligne médiane abdominale près des pattes avant mous (non flasques) et facilement mobiles.	Muscles abdominaux très mous, flasques, pratiquement non palpables. Muscles de chaque côté de la ligne médiane abdominale près des pattes avant très mous, flasques et facilement mobiles / ou à peine palpables, rigides (non ferme ni élastiques) et à peine mobiles.
Dos	Muscles du dos convexes et fermes sur toute la longueur. Haut de la colonne vertébrale visible (mais pas les côtés)	Muscles du dos légèrement concaves, généralement fermes, mais avec certaines régions plus molles. Dessus et côtés de la colonne vertébrale visibles. Côté de la colonne palpable tout	Muscles du dos modérément concaves et rigides (non ferme ni élastiques) ou souples. Dessus et côtés de la colonne vertébrale visibles. Côtés des apophyses épineuses	Muscles du dos très concaves et rigides (non ferme ni élastique) ou souples. Dessus et côtés des apophyses épineuses visibles. Côtés des apophyses épineuses palpables

		le long du dos. Côtés des apophyses épineuses plus facilement palpables dans certaines parties du dos.	palpables sur la longueur du dos.	dans des régions plus éloignées du haut du dos.
Croupe	Muscles convexes sur le dessus de la croupe et convexes ou plats sur les côtés (lorsqu'on regarde de derrière). Muscles convexes ou plats sous la pointe de la hanche (vue de côté) Os du dessus de la croupe peu visible, ou pas du tout visible, mais palpable. Os des fesses non visible.	Muscles de la croupe plats sur le dessus et les côtés lorsqu'on regarde de derrière. Muscles légèrement concaves sous la pointe de la hanche (vue de côté). Os du dessus de la croupe visible, mais non saillant (vue de côté). Os de la pointe de la fesse non visible (vue de côté) mais palpable.	Muscles de la croupe légèrement concaves sur le dessus et les côtés lorsqu'on regarde de derrière. Muscles modérément concaves sous la pointe de la hanche (vue de côté). Os du dessus de la croupe saillant (vue de côté) et facilement palpable. Os de la pointe de la fesse visible, mais non saillant (vue de côté) et facilement palpable.	Muscles de la croupe sur le dessus et sur le côté (vue de derrière). Muscles très concaves près des hanches (vue de côté). Os du dessus de la coupe proéminent (vue de côté) et facilement palpable. Os de la pointe de la fesse proéminent (vue de côté) et facilement palpable.

Adapté de : Ohio State University, https://ohioline.osu.edu/sites/ohioline/files/imce/Animal_Sciences/AS-1023-BodyCondition-Table3_0.pdf

Annexe 3

Définition de l'intensité du travail chez le cheval

Intensité	Battements [a] cardiaques par minute	Description [b]	Exemples d'événements [c]
Légère	80	1 à 3 heures par semaine; 40 % pas, 50 % trot, 10 % *canter*	Promenade Début entrainement
Modérée	90	3 à 5 heures par semaine; 30 % pas, 55 % trot, 10 % *canter*, 5% saut, *cutting*, etc.	Chevaux école Promenade Polo Travail de ranch
Soutenue	110	4 à 5 heures par semaine; 2 % pas, 50 % trot, 15 % *canter*, 15 % galop, saut, etc.	Travail de ranch Polo Compétition intense Entrainement moyen de course
Intense	110-150	6 à 12 heures par semaine à des allures rapides.	Courses Endurance Concours complet élite Saut élite

Adapté de NRC (2007).

a) Nombre de battements cardiaques moyen par minute au cours de l'exercice.

b) Différents scénarios sont possibles. La description donnée ici l'est à titre d'exemple et n'est pas exclusive.

c) L'intensité correspond à ce type d'événements.

Annexe 2 – Statistical analysis tables

A) Results of linear mixed models (LMMs) demonstrating the effect of exercise on plasma selenium, vitamin E and GSH-Px.

Dependent variable	LR X^2	Df	P-value
Selenium *(R^2m = 0.01)*	0.59	3	0.898
Vitamin E *(R^2m = 0.14)*	**27.7**	**3**	**< 0.001**
GSH-Px *(R^2m = 0.63)*	3.71	3	0.294

Significant differences are in bold.

The level of exercise had a significant effect on plasma vitamin E concentration (P< 0.001).

B) Results of multiple comparisons post-hoc tests comparing the level of exercise to plasma vitamin E

Dependent variable	Comparison	Estimate	(±SE)	Df	t-ratio	P-value
Vitamin E	HEAV – LIGH	-31.1	34.3	15.21	-0.909	0.3777
	HEAV – MAIN	-61.2	31.9	21.98	-1.92	0.1018
	HEAV – MOD	**-133.2**	**35.6**	**17.84**	**-3.744**	**0.009**
	LIGH – MAIN	-30.1	18.8	3.7	-1.602	0.2282
	LIGH – MOD	**-102.1**	**24.5**	**4.76**	**-4.165**	**0.0196**
	MAIN – MOD	**-72**	**21**	**7.55**	**-3.429**	**0.0196**

Significant differences are in bold.

MAIN: maintenance, LIGH: light exercise, MOD: moderate exercise, HEAV: heavy exercise

If the P – value is below 0.05, there is a significant difference between the 2 parameters that were compared. A positive estimate means that the 1st parameter of the comparison is greater than the 2nd. A negative estimate means that the 2nd parameter of the comparison is greater that the 1st one. As an example, horses doing heavy exercise have a significantly lower plasma vitamin E concentration than the horses doing moderate exercise.

C) Results of linear mixed models (LMMs) demonstrating the effect of sex, age, BCS and MSC on plasma selenium, vitamin E and GSH-Px.

Dependent variable	Explanatory variable	Estimate (±SE)	LR X^2	Df	P-value
Selenium	Sex *(M)*	0.03 (0.08)	0.13	1	0.717
$R^2m = 0.02$	Age	0.01 (0.01)	0.72	1	0.396
	BCS	**0.10 (0.05)**	**4.67**	**1**	**0.031**
	MASS	-0.01 (0.05)	0.07	1	0.798
Vitamin E	**Sex *(M)***	**-36.51 (18.40)**	**3.94**	**1**	**0.047**
$R^2m = 0.06$	Age	1.34 (1.43)	0.88	1	0.348
	BCS	-2.02 (7.48)	0.07	1	0.787
	MASS	-10.85 (7.77)	1.95	1	0.163
GSH-Px	Sex *(M)*	-126.07 (114.02)	1.22	1	0.269
$R^2m = 0.02$	Age	8.17 (9.08)	0.81	1	0.369
	BCS	-89.93 (52.14)	2.98	1	0.085
	MASS	14.63 (55.23)	0.07	1	0.791

Significant differences are in bold.

According to Table 5 results, BCS had a significant effect on the selenium level (P = 0.031). The corresponding estimate is positive, indicating an increase in selenium with increasing BCS. Sex had a significant effect on vitamin E concentration (P = 0.047). Males had lower plasma vitamin E than females. There are no significant differences between the dependent variables and GSH-Px activity. However, there is a trend when looking at GSH-Px and BCS (P = 0.085).

D) Results of linear mixed models (LMMs) demonstrating the effect of the group and season variables on plasma selenium, vitamin E and GSH-Px.

Dependent variable	Explanatory variable	LR X^2	Df	P-value
Selenium	**Group**	**149.36**	**3**	**< 0.001**
$R^2m = 0.50$	**Season**	**10.47**	**3**	**0.015**
Vitamin E	Group	2.80	3	0.423
$R^2m = 0.05$	**Season**	**29.03**	**3**	**< 0.001**
GSH-Px	**Group**	**14.98**	**3**	**0.002**
$R^2m = 0.10$	Season	5.12	3	0.161

Significant differences are in bold.

The feeding groups had a significant effect on plasma selenium ($P < 0.001$) and GSH-Px ($P = 0.002$). The season had an effect on plasma selenium ($P = 0.015$) and vitamin E ($P < 0.001$).

E) Results of multiple comparisons post-hoc tests for group and season compared to plasma selenium, vitamin E and GSH-Px.

Dependent variable	Explanatory variable	Comparison	Estimate	(±SE)	Df	t-ratio	P-value
Selenium	Group	**1 – 2**	**-0.93**	**0.09**	**196**	**-10.82**	**< 0.001**
		1 – 3	**-1.03**	**0.10**	**204**	**-10.45**	**< 0.001**
		1 – 4	**-1.10**	**0.15**	**194**	**-7.29**	**< 0.001**
		2 – 3	-0.10	0.07	213	-1.48	0.209
		2 – 4	-0.17	0.14	193	-1.21	0.271
		3 - 4	-0.07	0.15	204	-0.51	0.613
	Season	FAL – SUM	-0.08	0.06	165	-1.49	0.220
		FAL – WIN	**-0.17**	**0.06**	**163**	**-3.02**	**0.018**
		FAL – SPR	**-0.14**	**0.06**	**163**	**-2.45**	**0.046**
		SUM – WIN	-0.09	0.06	168	-1.46	0.220
		SUM – SPR	-0.05	0.06	164	-0.92	0.434
		WIN - SPR	0.03	0.06	163	0.59	0.555
Vitamin E	Season	**FAL – SUM**	**-39.17**	**10.12**	**162**	**-3.87**	**0.001**
		FAL – WIN	**-28.43**	**10.03**	**162**	**-2.83**	**0.008**
		FAL – SPR	6.76	9.93	161	0.68	0.497
		SUM – WIN	10.74	10.55	165	1.02	0.372
		SUM – SPR	**45.93**	**10.22**	**162**	**4.49**	**< 0.001**
		WIN – SPR	**35.18**	**10.07**	**161**	**3.49**	**0.001**
GSH-Px	Group	**1 – 2**	**-431.90**	**117.20**	**164**	**-3.69**	**0.002**
		1 – 3	-318.00	135.70	181	-2.34	0.061
		1 – 4	-267.70	204.90	186	-1.31	0.340
		2 – 3	113.90	93.80	208	1.21	0.340
		2 – 4	164.20	195.10	186	0.84	0.481
		3 - 4	50.30	198.50	200	0.25	0.800

Significant differences are in bold.

FAL: fall, WIN: winter, SPR: spring, SUM: summer

If the P – value is below 0.05, there is a significant difference between the 2 parameters that were compared. A positive estimate means that the 1st parameter of the comparison is greater than the 2nd. A negative estimate means that the 2nd parameter of the comparison is greater that the 1st one. As an example, groups 2, 3 and 4 have a significantly higher selenium level than group 1 (P< 0.001).

F) Results of linear mixed models (LMMs) demonstrating the effect of the ration in interaction with the season and the group on plasma selenium

Dependent variable	Explanatory variable	LR X^2	Df	P-value
Selenium	**Group**	**96.4825**	**3.00**	**< 0.001**
R^2m = 0.49	Ration	3.0259	1.00	0.082
	Season	**11.3358**	**3.00**	**0.010**
	Ration x Group	2.9094	3.00	0.406
	Ration x Season	6.2956	3.00	0.098

Significant differences are in bold.

According to the results, the ration alone or in interaction with the season and the groups has no significant effect on plasma selenium. As previously shown (Table 6.1), the season (P = 0.010) and the group (P<0.001) have a significant effect on plasma selenium concentration.

G) Results of linear mixed models (LMMs) demonstrating the effect of the source of selenium (organic vs inorganic) on selenium, vitamin E and GSH-Px concentrations.

Dependent variable	LR X^2	Df	P-value
Selenium *(R^2m = 0.02)*	0.41	2	0.814
Vitamin E *(R^2m = 0.05)*	1.60	2	0.450
GSH-Px *(R^2m = 0.03)*	1.29	2	0.526

The source of selenium had no significant effect on plasma selenium, vitamin E and GSH-Px concentrations.

Annexe 3 – Données brutes

ECURIE	NOM	SAISON	GROUPE	SEXE	AGE	BCS	MCS	SE	VIT_E	GPX	RATION	TYPE_SE	EXERCICE
AUT	BILL	AUT	3	M	13	7	4	2,23	171,2	1641	0,09	INOR	LIGHT
AUT	BILL	HIV	4	M	13	8	4	1,99	268,8	1034	0,131	INOR	LIGHT
AUT	BILL	PRIN	3	M	13	8	3	2,14	183,6	1919	0,1025	INOR	LIGHT
AUT	BILL	ETE	2	M	13	7	4	2,09	196,1	1876	0,1406	INOR	LIGHT
AUT	RUSTIQUE	AUT	3	M	19	5	2	1,46	130,6	1362	0,1	INOR	LIGHT
AUT	RUSTIQUE	HIV	3	M	19	5	2	1,52	196,4	2134	0,041	INOR	LIGHT
AUT	RUSTIQUE	PRIN	3	M	19	5	2	1,45	143,8	1940	0,0726	INOR	LIGHT
AUT	RUSTIQUE	ETE	2	M	19	4	1	1,37	143	2973	0,1189	INOR	LIGHT
AUT	GRIMACE	AUT	1	F	7	4,5	3	0,79	124,0	2106	0,05	NA	LIGHT
AUT	GRIMACE	HIV	1	F	7	4	3	0,91	203,4	1955	0,025	NA	LIGHT
AUT	GRIMACE	PRIN	2	F	7	4	3	1,11	150,6	2773	0,0533	INOR	LIGHT
AUT	GRIMACE	ETE	2	F	7	4,5	3	1,21	146,3	1688	0,0567	INOR	LIGHT
AUT	PAOLA_AUT	AUT	3	F	19	6,5	4	1,00	177,3	1407	0,05	INOR	LIGHT
AUT	PAOLA_AUT	HIV	3	F	19	5	4	0,98	246,8	2363	0,047	INOR	LIGHT
AUT	PAOLA_AUT	PRIN	3	F	19	5	4	0,94	187,5	2037	0,0385	INOR	LIGHT
AUT	PAOLA_AUT	ETE	2	F	19	5	4	1,57	303,8	2310	0,0679	INOR	LIGHT
AUT	FURY	AUT	1	M	25	5	3	0,92	130,5	1685	0,04	NA	LIGHT
AUT	FURY	HIV	1	M	25	5	3	0,83	201,3	1734	0,024	NA	LIGHT
AUT	FURY	PRIN	1	M	25	5	3	0,81	124	1610	0,0816	NA	LIGHT
AUT	FURY	ETE	1	M	25	5	2	0,98	163	2624	0,0529	NA	LIGHT
AUT	KILLIE	AUT	3	F	14	5	4	1,68	226,4	1798	0,1	INOR	LIGHT
AUT	KILLIE	HIV	3	F	14	6	3	1,69	336	1370	0,111	INOR	LIGHT
AUT	KILLIE	PRIN	3	F	14	6	3	1,65	288,9	1251	0,0949	INOR	LIGHT
AUT	KILLIE	ETE	2	F	14	6	3	1,72	292,8	1410	0,1477	INOR	LIGHT
AUT	KING	AUT	3	M	14	5	3	2,26	269,9	1710	0,07	INOR	LIGHT
AUT	KING	HIV	3	M	14	5	2	1,94	438,8	2519	0,075	INOR	LIGHT
AUT	KING	PRIN	3	M	14	5	2	1,61	373,5	2192	0,0597	INOR	LIGHT
AUT	KING	ETE	2	M	14	5	2	1,88	404,6	2160	0,1256	INOR	LIGHT
AUT	PATTY	AUT	3	F	24	5	3	1,41	134,5	2748	0,09	INOR	LIGHT
AUT	PATTY	HIV	3	F	24	5	3	1,49	187,1	3242	0,047	INOR	LIGHT
AUT	PATTY	PRIN	3	F	24	4,5	2	1,7	147,4	2524	0,0428	INOR	LIGHT
AUT	PATTY	ETE	3	F	24	5	2	1,47	173,2	2154	0,0773	INOR	LIGHT
AUT	BRILLANT	AUT	3	M	25	5	4	1,56	124,0	1910	0,05	INOR	LIGHT
AUT	BRILLANT	HIV	3	M	25	4,5	3	1,37	124	1468	0,047	INOR	LIGHT
AUT	BRILLANT	PRIN	3	M	25	4	2	1,25	124	2088	0,0326	INOR	LIGHT
AUT	BRILLANT	ETE	2	M	25	5	3	1,5	124	2102	0,073	INOR	LIGHT
AUT	ACAJOU	AUT	4	M	7	6	4	1,91	159,7	1613	0,14	INOR	LIGHT
AUT	ACAJOU	HIV	2	M	7	6	4	1,63	197,2	1878	0,052	INOR	LIGHT
AUT	ACAJOU	PRIN	2	M	7	5	4	1,34	150,2	1811	0,0760	INOR	LIGHT
AUT	ACAJOU	ETE	2	M	7	4,5	4	1,82	208,7	1860	0,0371	INOR	LIGHT
AUT	OCEANE	AUT	3	F	18	7	4	1,69	198,5	1376	0,04	INOR	LIGHT
AUT	OCEANE	HIV	1	F	18	7	4	0,93	196	1079	0,066	NA	LIGHT
AUT	OCEANE	PRIN	1	F	18	5	4	0,92	146,2	1088	0,0367	NA	LIGHT
AUT	OCEANE	ETE	1	F	18	5	3	0,7	176,7	1026	0,0532	NA	LIGHT
AUT	SAPHIR	AUT	4	M	18	5	4	2,11	203,1	1534	0,04	INOR	LIGHT
AUT	SAPHIR	HIV	4	M	18	6	4	1,86	237,6	1627	0,075	INOR	LIGHT
AUT	SAPHIR	PRIN	4	M	18	5	4	1,86	199,1	1656	0,0806	INOR	LIGHT
AUT	SAPHIR	ETE	1	M	18	5	4	1,47	233,8	1430	0,1226	NA	LIGHT

HAM	VIVA	AUT	2	F	10	5	3	1,77	346,7	2339	0,15	ORG	MODERATE
HAM	VIVA	HIV	2	F	10	6	4	1,73	377,1	1738	0,07	ORG	MODERATE
HAM	VIVA	PRIN	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	MODERATE
HAM	VIVA	ETE	2	F	10	7	4	1,43	345	1796	0,167	ORG	MODERATE
HAM	BELISSIMO	AUT	2	M	15	5	3	2,13	226,4	2042	0,13	ORG	MODERATE
HAM	BELISSIMO	HIV	2	M	15	6	4	1,88	260	1821	0,13	ORG	MODERATE
HAM	BELISSIMO	PRIN	3	M	15	5	3	2,24	276,9	1938	0,16	ORG	MODERATE
HAM	BELISSIMO	ETE	2	M	15	5	3	1,74	263,3	2021	0,074	ORG	MODERATE
HAM	IVY	AUT	2	F	5	5	3	1,53	248,8	1945	0,10	ORG	MODERATE
HAM	IVY	HIV	2	F	5	5,5	4	1,73	287,9	1664	0,13	ORG	MODERATE
HAM	IVY	PRIN	3	F	5	5	3	1,89	255,8	2037	0,18	ORG	MODERATE
HAM	IVY	ETE	2	F	5	6	3	1,85	272,8	1761	0,13	ORG	MODERATE
HAM	TARKOV	AUT	2	M	17	4,5	3	2,34	435,1	1566	0,15	ORG	MODERATE
HAM	TARKOV	HIV	2	M	17	5	3	2,14	541,9	1249	0,12	ORG	MODERATE
HAM	TARKOV	PRIN	3	M	17	4,5	3	3,18	476	1064	0,14	ORG	MODERATE
HAM	TARKOV	ETE	3	M	17	5	3	2	418,4	1660	0,129	ORG	MODERATE
HAM	MALCOM	AUT	2	M	5	4,5	2	1,50	344,9	1318	0,09	ORG	MODERATE
HAM	MALCOM	HIV	2	M	5	4,5	3	1,99	456,3	1132	0,12	ORG	MODERATE
HAM	MALCOM	PRIN	2	M	5	4	3	1,83	350,8	1013	0,18	ORG	MODERATE
HAM	MALCOM	ETE	2	M	5	5	4	1,68	296,4	1268	0,126	ORG	MODERATE
HAM	VLADIMIR	AUT	2	M	19	5	3	1,60	305,7	1432	0,16	ORG	MODERATE
HAM	VLADIMIR	HIV	2	M	19	5	2	1,88	372,5	1522	0,1	ORG	MODERATE
HAM	VLADIMIR	PRIN	2	M	19	5	2	1,96	268,7	1545	0,12	ORG	MODERATE
HAM	VLADIMIR	ETE	3	M	19	5	2	1,92	286,5	1654	0,195	ORG	MODERATE
HAM	SANTAFEE	AUT	2	F	12	4	3	1,52	292,8	1246	0,06	ORG	MODERATE
HAM	SANTAFEE	HIV	2	F	12	5	4	2,09	359,8	1160	0,08	ORG	MODERATE
HAM	SANTAFEE	PRIN	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	MODERATE
HAM	SANTAFEE	ETE	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	MODERATE
HAM	PUCE	AUT	3	F	19	4,5	3	1,76	243,8	1000	0,14	ORG	MODERATE
HAM	PUCE	HIV	2	F	19	3	3	1,98	267,4	3050	0,14	ORG	MODERATE
HAM	PUCE	PRIN	2	F	19	4,5	3	1,89	247	1383	0,21	ORG	MODERATE
HAM	PUCE	ETE	3	F	19	4,5	3	1,99	255,5	1298	0,2	ORG	MODERATE
HAM	PAOLA_HAM	AUT	2	F	21	4,5	3	1,48	253,5	1715	0,08	ORG	MAINTENANCE
HAM	PAOLA_HAM	HIV	2	F	21	5	4	1,7	261	1878	0,09	ORG	MAINTENANCE
HAM	PAOLA_HAM	PRIN	3	F	21	4,5	3	2,57	188,3	2147	0,14	ORG	MAINTENANCE
HAM	PAOLA_HAM	ETE	3	F	21	4,5	2	1,81	248,3	1709	0,21	ORG	MAINTENANCE
HARAS	ALTESSE	AUT	3	F	1	4,5	4	2,18	134,2	2001	0,1025	ORG	MAINTENANCE
HARAS	ALTESSE	HIV	3	F	1	4,5	4	1,65	179	1998	0,2313	ORG	MAINTENANCE
HARAS	ALTESSE	PRIN	2	F	1	4,5	4	1,69	139,8	1878	0,1855	ORG	MAINTENANCE
HARAS	ALTESSE	ETE	3	F	1	4,5	3	1,86	131,5	1418	0,15	ORG	MAINTENANCE
HARAS	MOONGLOW	AUT	2	F	13	5	2	2,77	288,5	2438	0,1377	ORG	MAINTENANCE
HARAS	MOONGLOW	HIV	2	F	13	5	3	3,55	431,5	2274	0,2553	ORG	MAINTENANCE
HARAS	MOONGLOW	PRIN	2	F	13	3,5	2	1,94	268,9	1743	0,1975	ORG	MAINTENANCE
HARAS	MOONGLOW	ETE	3	F	13	3,5	2	2,94	324,8	2806	0,189	ORG	MAINTENANCE
HARAS	CHEDDARD	AUT	3	M	1	4	4	1,66	141,9	1587	0,3280	ORG	MAINTENANCE
HARAS	CHEDDARD	HIV	3	M	1	4,5	4	2,31	167,4	1863	0,1523	ORG	MAINTENANCE
HARAS	CHEDDARD	PRIN	2	M	1	4,5	4	1,7	124	1405	0,1232	ORG	MAINTENANCE
HARAS	CHEDDARD	ETE	3	M	1	4,5	3	1,71	149,1	1402	0,2999	ORG	MAINTENANCE
HARAS	EVE	AUT	2	F	9	6	4	1,97	289,3	3649	0,0471	ORG	MAINTENANCE
HARAS	EVE	HIV	2	F	9	6	4	2,12	284,6	2997	0,1281	ORG	MAINTENANCE

HARAS	EVE	PRIN	2	F	9	4,5	2	2,01	288,7	2457	0,3324	ORG	MAINTENANCE
HARAS	EVE	ETE	3	F	9	4	3	3,01	307,9	3087	0,016	ORG	MAINTENANCE
HARAS	DONNA	AUT	2	F	6	6	3	2,21	222,1	1358	0,1092	ORG	MAINTENANCE
HARAS	DONNA	HIV	2	F	6	6	4	1,83	204,8	1482	0,2029	ORG	MAINTENANCE
HARAS	DONNA	PRIN	2	F	6	6	4	2,09	190,9	1462	0,2254	ORG	MAINTENANCE
HARAS	DONNA	ETE	2	F	6	5	3	2,38	303,1	1971	0,131	ORG	MAINTENANCE
HARAS	GRACE	AUT	2	F	9	5	3	2,36	310,4	3634	0,1013	ORG	MAINTENANCE
HARAS	GRACE	HIV	2	F	9	5	3	2,01	259,9	2885	0,3644	ORG	MAINTENANCE
HARAS	GRACE	PRIN	2	F	9	4,5	3	1,97	218,3	2566	0,1807	ORG	MAINTENANCE
HARAS	GRACE	ETE	3	F	9	5	3	2,68	258,6	2786	0,238	ORG	MAINTENANCE
HARAS	UNIQUE	AUT	3	M	1	4	3	1,46	174,1	1899	0,1438	ORG	MAINTENANCE
HARAS	UNIQUE	HIV	3	M	1	4	3	1,64	212,7	2257	0,1435	ORG	MAINTENANCE
HARAS	UNIQUE	PRIN	3	M	1	4	3	1,75	130,9	1924	0,1398	ORG	MAINTENANCE
HARAS	UNIQUE	ETE	3	M	1	4	3	1,81	133,9	1452	0,258	ORG	MAINTENANCE
HARAS	UNE	AUT	2	F	10	5	3	2,16	361,7	3382	0,0503	ORG	MAINTENANCE
HARAS	UNE	HIV	2	F	10	4,5	3	2,76	442,5	2606	0,2287	ORG	MAINTENANCE
HARAS	UNE	PRIN	2	F	10	5	4	1,97	246	2017	0,1491	ORG	MAINTENANCE
HARAS	UNE	ETE	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	MAINTENANCE
HARAS	BRAVE	AUT	3	M	1	3,5	3	1,92	193,4	2341	0,2603	ORG	MAINTENANCE
HARAS	BRAVE	HIV	3	M	1	4	3	1,96	192,8	1675	0,5324	ORG	MAINTENANCE
HARAS	BRAVE	PRIN	3	M	1	4	3	1,88	175,1	1505	0,2202	ORG	MAINTENANCE
HARAS	BRAVE	ETE	3	M	1	4	3	1,68	170,9	1275	0,141	ORG	MAINTENANCE
HARAS	CLEOPATRE	AUT	2	F	14	6,5	4	1,86	332,9	1927	0,1580	ORG	MAINTENANCE
HARAS	CLEOPATRE	HIV	2	F	14	6,5	4	1,97	519,4	2511	0,0995	ORG	MAINTENANCE
HARAS	CLEOPATRE	PRIN	2	F	14	4,5	3	1,89	315,5	1671	0,2938	ORG	MAINTENANCE
HARAS	CLEOPATRE	ETE	3	F	14	5	3	2,22	371,4	2144	0,053	ORG	MAINTENANCE
GNO	ADALIA	AUT	4	F	2	4,5	4	1,28	141,3	1334	0,2761	INORG	HEAVY
GNO	ADALIA	HIV	4	F	2	4,5	4	1,9	214,8	1929	0,1708	INORG	HEAVY
GNO	ADALIA	PRIN	4	F	2	5	4	2,16	170,2	1904	0,2145	INORG	HEAVY
GNO	ADALIA	ETE	3	F	2	5	4	1,61	212,8	1350	0,1084	INORG	HEAVY
GNO	RUSTY	AUT	4	M	2	4,5	4	2,19	135,4	3259	0,3784	INORG	HEAVY
GNO	RUSTY	HIV	4	M	2	4,5	4	2,05	179,6	3251	0,1685	INORG	HEAVY
GNO	RUSTY	PRIN	4	M	2	5	4	2,28	124	2434	0,1952	INORG	HEAVY
GNO	RUSTY	ETE	1	M	2	5	3	1,14	186,1	2250	0,0444	NA	HEAVY
FOURNIER	ELI	AUT	1	M	12	5	4	0,46	209,7	945	0,02	NA	MAINTENANCE
FOURNIER	ELI	HIV	1	M	12	5	3	0,5	191,8	886	0,056	NA	MAINTENANCE
FOURNIER	ELI	PRIN	1	M	12	5	4	0,65	129,4	1178	0,05	NA	MAINTENANCE
FOURNIER	ELI	ETE	1	M	12	4,5	3	0,61	144,2	649	0,044	NA	MAINTENANCE
FOURNIER	LEGS	AUT	1	F	11	5	4	0,54	253,6	1497	0,02	NA	MAINTENANCE
FOURNIER	LEGS	HIV	1	F	11	5	4	0,53	212,4	909	0,052	NA	MAINTENANCE
FOURNIER	LEGS	PRIN	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	MAINTENANCE
FOURNIER	LEGS	ETE	1	F	11	4,5	3	0,8	169,5	1198	0,037	NA	MAINTENANCE
FOURNIER	OUTLAW	AUT	1	F	8	5	4	0,43	275,0	1259	0,023	NA	MAINTENANCE
FOURNIER	OUTLAW	HIV	1	F	8	5	3	0,44	306,4	980	0,062	NA	MAINTENANCE
FOURNIER	OUTLAW	PRIN	1	F	8	5	4	1,11	211,6	1992	0,037	NA	MAINTENANCE
FOURNIER	OUTLAW	ETE	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	MAINTENANCE
FOURNIER	DEVIL	AUT	1	M	7	6	4	0,31	172,8	1534	0,021	NA	MAINTENANCE
FOURNIER	DEVIL	HIV	1	M	7	5	3	0,34	163,4	928	0,049	NA	MAINTENANCE
FOURNIER	DEVIL	PRIN	1	M	7	5	4	0,64	124	1634	0,056	NA	MAINTENANCE
FOURNIER	DEVIL	ETE	1	M	7	4,5	3	0,53	156,2	1686	0,044	NA	MAINTENANCE

FOURNIER	BUNNY	AUT	1	F	13	5	4	0,32	309,7	1026	0,02	NA	MAINTENANCE
FOURNIER	BUNNY	HIV	1	F	13	5	3	0,33	312,8	735	0,087	NA	MAINTENANCE
FOURNIER	BUNNY	PRIN	1	F	13	5	4	0,61	248	1254	0,035	NA	MAINTENANCE
FOURNIER	BUNNY	ETE	1	F	13	5	3	0,51	226,7	1587	0,042	NA	MAINTENANCE
FOURNIER	SHAHAMI	AUT	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	MAINTENANCE
FOURNIER	SHAHAMI	HIV	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	MAINTENANCE
FOURNIER	SHAHAMI	PRIN	1	M	16	4,5	3	0,69	131,3	1616	0,051	NA	MAINTENANCE
FOURNIER	SHAHAMI	ETE	1	M	16	4	2	0,68	175,8	1408	0,041	NA	MAINTENANCE
AKAT	BELLA	AUT	2	F	11	6	4	1,41	255,5	2008	0,92	ORG	LIGHT
AKAT	BELLA	HIV	2	F	11	6,5	4	1,42	210	1840	0,18	ORG	LIGHT
AKAT	BELLA	PRIN	2	F	11	7	4	1,23	144,7	2540	0,64	ORG	LIGHT
AKAT	BELLA	ETE	2	F	11	6,5	4	1,1	260,8	1590	0,15	ORG	LIGHT
AKAT	BLING	AUT	2	F	8	4	2	1,53	192,1	1512	0,83	ORG	MAINTENANCE
AKAT	BLING	HIV	2	F	8	5	4	2,43	130,2	1124	0,05	ORG	MAINTENANCE
AKAT	BLING	PRIN	2	F	8	4,5	4	1,35	194,9	1778	0,15	ORG	MAINTENANCE
AKAT	BLING	ETE	2	F	8	4	2	1,47	219,4	1110	0,85	ORG	MAINTENANCE
AKAT	ARIEL	AUT	2	F	2	4	4	1,03	223,0	1795	0,42	ORG	MAINTENANCE
AKAT	ARIEL	HIV	2	F	2	4,5	4	1,1	226,1	1449	0,03	ORG	MAINTENANCE
AKAT	ARIEL	PRIN	2	F	2	4,5	4	0,99	290,7	2116	0,29	ORG	MAINTENANCE
AKAT	ARIEL	ETE	2	F	2	5	4	1,19	440,4	1670	0,01	ORG	MAINTENANCE
AKAT	TOM	AUT	2	M	2	3,5	3	1,34	210,1	2516	0,40	ORG	MAINTENANCE
AKAT	TOM	HIV	2	M	2	4,5	4	1,43	184,4	1617	0,05	ORG	MAINTENANCE
AKAT	TOM	PRIN	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	MAINTENANCE
AKAT	TOM	ETE	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	MAINTENANCE
AKAT	DIDI	AUT	2	F	11	5	4	1,28	178,7	1897	0,48	ORG	MODERATE
AKAT	DIDI	HIV	2	F	11	6	4	1,2	169	1963	0,05	ORG	MODERATE
AKAT	DIDI	PRIN	2	F	11	5	4	0,83	223,3	2516	0,10	ORG	MODERATE
AKAT	DIDI	ETE	2	F	11	5	4	1,22	252,4	1792	1,17	ORG	MODERATE
AKAT	HONEY	AUT	2	F	11	4,5	2	1,48	142,4	2358	0,88	ORG	LIGHT
AKAT	HONEY	HIV	2	F	11	5	4	1,45	124	2210	0,55	ORG	LIGHT
AKAT	HONEY	PRIN	2	F	11	5	4	1,15	276,8	2362	0,13	ORG	LIGHT
AKAT	HONEY	ETE	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	LIGHT
AKAT	NALA	AUT	2	F	3	5	4	0,93	190,3	1318	0,48	ORG	MAINTENANCE
AKAT	NALA	HIV	2	F	3	5	4	1	151,4	2050	0,02	ORG	MAINTENANCE
AKAT	NALA	PRIN	2	F	3	4,5	4	1,04	134,9	2371	0,27	ORG	MAINTENANCE
AKAT	NALA	ETE	2	F	3	4,5	4	0,85	531	1211	0,33	ORG	MAINTENANCE
AKAT	CHEW	AUT	2	F	14	4,5	4	1,52	280,4	1889	0,73	ORG	MAINTENANCE
AKAT	CHEW	HIV	2	F	14	5	4	1,51	209,4	1601	0,11	ORG	MAINTENANCE
AKAT	CHEW	PRIN	2	F	14	5	4	1,09	338,3	2292	0,44	ORG	MAINTENANCE
AKAT	CHEW	ETE	2	F	14	4,5	3	0,98	316,9	1185	0,18	ORG	MAINTENANCE
AKAT	ELFY	AUT	2	F	12	5,5	4	1,45	203,5	2152	0,85	ORG	MAINTENANCE
AKAT	ELFY	HIV	2	F	12	5	4	1,66	204,8	2339	0,18	ORG	MAINTENANCE
AKAT	ELFY	PRIN	2	F	12	5	4	1,41	308,4	2989	0,26	ORG	MAINTENANCE
AKAT	ELFY	ETE	2	F	12	5,5	4	1,17	249,5	1886	0,11	ORG	MAINTENANCE
SAUR	DULCE	AUT	1	F	3	6	3	0,43	231,3	1135	0,0037	NA	MAINTENANCE
SAUR	DULCE	HIV	2	F	3	6,5	3	1,81	238,6	1430	0,164	ORG	MAINTENANCE
SAUR	DULCE	PRIN	1	F	3	6	4	1,06	242,4	1787	0,005	NA	MAINTENANCE
SAUR	DULCE	ETE	1	F	3	5	3	0,73	354,7	1169	0,0082	NA	MAINTENANCE
SAUR	CAMILA	AUT	1	F	14	5	3	0,38	135,7	804	0,004	NA	MAINTENANCE

SAUR	CAMILA	HIV	2	F	14	7	4	1,68	109,7	1307	0,194	ORG	MAINTENANCE
SAUR	CAMILA	PRIN	2	F	14	8	4	1,95	124	1021	0,105	ORG	MAINTENANCE
SAUR	CAMILA	ETE	1	F	14	4,5	3	0,58	198,4	893	0,0084	NA	MAINTENANCE
SAUR	UBER	AUT	1	M	1	4,5	3	0,24	127,1	587	0,0069	NA	MAINTENANCE
SAUR	UBER	HIV	2	M	1	4	3	1,49	169,1	1336	0,41	ORG	MAINTENANCE
SAUR	UBER	PRIN	2	M	1	4,5	4	1,52	128,4	1686	0,09	ORG	MAINTENANCE
SAUR	UBER	ETE	1	M	1	4	3	0,52	342,4	1203	0,0068	NA	MAINTENANCE
SAUR	ANIKA	AUT	1	F	14	6	2	0,45	299,9	873	0,0036	NA	MAINTENANCE
SAUR	ANIKA	HIV	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	MAINTENANCE
SAUR	ANIKA	PRIN	1	F	14	6	3	1,13	240,5	1479	0,004	NA	MAINTENANCE
SAUR	ANIKA	ETE	1	F	14	6	4	0,64	301,9	950	0,0108	NA	MAINTENANCE
SAUR	DICALIMERO	AUT	1	M	2	5	4	0,48	138,6	1446	0,0042	NA	MAINTENANCE
SAUR	DICALIMERO	HIV	2	M	2	7	4	1,9	105,2	1229	0,106	ORG	MAINTENANCE
SAUR	DICALIMERO	PRIN	1	M	2	6	4	0,92	146,5	2303	0,005	NA	MAINTENANCE
SAUR	DICALIMERO	ETE	1	M	2	5	4	0,74	283,6	1992	0,0078	NA	MAINTENANCE
SAUR	BADABOUM	AUT	1	M	21	5,5	4	0,08	128,6	129	0,0196	NA	MAINTENANCE
SAUR	BADABOUM	HIV	2	M	21	3,5	1	1,57	315,1	2345	0,25	ORG	MAINTENANCE
SAUR	BADABOUM	PRIN	1	M	21	5	3	0,23	160,9	597	0,006	NA	MAINTENANCE
SAUR	BADABOUM	ETE	1	M	21	5	4	0,12	155,8	214	0,0146	NA	MAINTENANCE
SAUR	WILL	AUT	1	M	18	6	2	0,21	174,5	452	0,0205	NA	MAINTENANCE
SAUR	WILL	HIV	2	M	18	6	3	2,39	174,9	1726	0,154	ORG	MAINTENANCE
SAUR	WILL	PRIN	1	M	18	6,5	4	0,38	184,4	1200	0,015	NA	MAINTENANCE
SAUR	WILL	ETE	1	M	18	5	3	0,30	244,6	654	0,0071	NA	MAINTENANCE
SAUR	TADAM	AUT	1	F	2	5	2	0,51	187	871	0,009	NA	MAINTENANCE
SAUR	TADAM	HIV	2	F	2	5	3	1,42	134	1000	0,148	ORG	MAINTENANCE
SAUR	TADAM	PRIN	2	F	2	6	4	1,77	159,2	1287	0,102	ORG	MAINTENANCE
SAUR	TADAM	ETE	1	F	2	5	3	0,64	278	621	0,0067	NA	MAINTENANCE
SAUR	THUNDER	AUT	1	F	12	5,5	2	0,53	273,7	1052	0,0037	NA	MAINTENANCE
SAUR	THUNDER	HIV	2	F	12	5	4	1,61	242,2	1256	0,222	ORG	MAINTENANCE
SAUR	THUNDER	PRIN	1	F	12	5,5	4	1,18	213,9	1655	0,005	NA	MAINTENANCE
SAUR	THUNDER	ETE	1	F	12	5	4	0,7	312,9	1039	0,0096	NA	MAINTENANCE
SAUR	JB	AUT	2	F	25	5	2	0,61	329,4	1271	0,018	ORG	MAINTENANCE
SAUR	JB	HIV	2	F	25	5	3	1,98	367,6	1433	0,28	ORG	MAINTENANCE
SAUR	JB	PRIN	2	F	25	5	3	2,55	276	1860	0,068	ORG	MAINTENANCE
SAUR	JB	ETE	2	F	25	5,5	4	0,95	396,8	1509	0,0181	ORG	MAINTENANCE
SAUR	TUCCI	AUT	1	F	14	6,5	4	0,51	207,7	1218	0,0037	NA	MAINTENANCE
SAUR	TUCCI	HIV	2	F	14	7	4	2,16	101,6	1718	0,046	ORG	MAINTENANCE
SAUR	TUCCI	PRIN	1	F	14	7	4	1,52	208,9	2390	0,006	NA	MAINTENANCE
SAUR	TUCCI	ETE	1	F	14	7	4	0,66	312,7	1231	0,0265	NA	MAINTENANCE