

L'ACIDE FOLIQUE : DOIT-ON INCORPORER CETTE VITAMINE DANS LA RATION DES VACHES LAITIÈRES ?

CONFÉRENCIÈRE

Christiane L. Girard

COLLABORATEURS

J. Jacques Matte

Hélène Lapierre

INTRODUCTION

L'acide folique est une vitamine du complexe B comme la thiamine, la riboflavine, la niacine, l'acide pantothénique, la biotine, la pyridoxine et la vitamine B₁₂. La choline est aussi parfois incluse dans ce groupe quoique cette dernière substance ne soit pas une vitamine au sens strict du terme. Les vitamines du complexe B sont des substances essentielles au bon fonctionnement de l'organisme et elles ne peuvent être synthétisées dans les tissus de l'animal. Elles doivent donc provenir d'une source extérieure telle que l'alimentation ou elles doivent être synthétisées par les microorganismes du rumen. Ces vitamines sont hydrosolubles, elles ne peuvent être stockées en grandes quantités dans le corps et toutes les quantités ingérées en excès sont rapidement excrétées dans l'urine. L'animal doit donc recevoir un apport constant en ces vitamines (McDowell, 1989).

Traditionnellement, les besoins en vitamines ont été définis comme la plus petite quantité de vitamines devant être fournie par l'alimentation afin d'éviter l'apparition de symptômes de carence chez l'animal. La majorité des travaux sur les besoins en vitamines du complexe B chez les ruminants ont été effectués dans les années 1940 à 1950. Ces travaux avaient permis de démontrer que chez des ruminants possédant un rumen fonctionnel et alimentés avec une ration ne contenant aucune des vitamines du complexe B, la synthèse de ces vitamines par les microorganismes du rumen était suffisante pour éviter l'apparition de symptômes de carence. On a conclu de ces travaux qu'il n'était pas nécessaire d'inclure des vitamines du complexe B dans la ration des vaches laitières puisque leurs besoins étaient comblés par les vitamines synthétisées par les microorganismes dans le rumen. Peu de travaux ont été entrepris par la suite afin de définir les besoins de la vache laitière en vitamines du complexe B en fonction de l'optimisation de la santé de l'animal, de ses performances zootechniques et de la qualité du produit. Des travaux conduits au Centre de recherche de Lennoxville indiquent qu'en effet, même s'il n'y a pas de carence, des suppléments d'acide folique peuvent améliorer les performances de lactation des vaches laitières.

SOURCES ET RÔLES DE L'ACIDE FOLIQUE

Dans la nature, on retrouve l'acide folique sous plus de 100 formes biologiquement actives appelées folates. Les drêches de brasserie, la farine de luzerne et le soya sont des aliments relativement riches en folates alors que les céréales en contiennent peu (McDowell, 1989).

L'acide folique est impliqué dans le métabolisme de certains acides aminés (méthionine, glycine, sérine et histidine), la synthèse des protéines et la synthèse des bases puriques et pyrimidiques composant les acides nucléiques (ARN, ADN) qui sont nécessaires pour la division cellulaire. Un manque d'acide folique entraîne un ralentissement de la division cellulaire et de la synthèse des protéines.

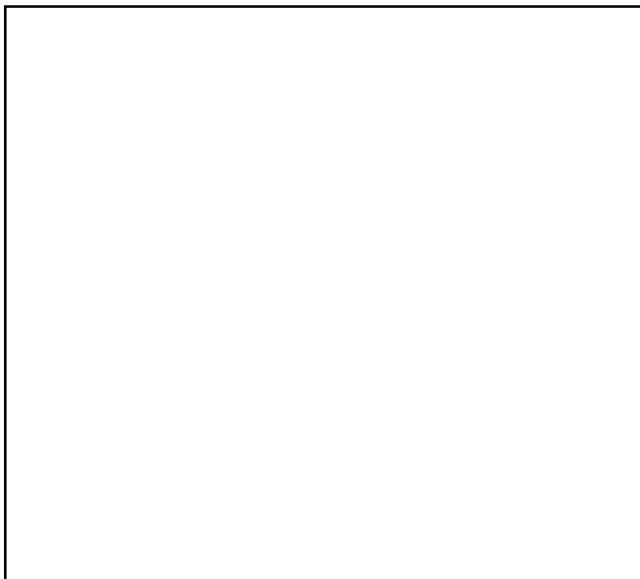
Compte tenu des rôles de l'acide folique et de son importance dans la division cellulaire et dans la synthèse de protéines, l'utilisation de l'acide folique augmente lors de la synthèse de nouveaux tissus comme durant le développement du fœtus, des membranes fœtales et de la glande mammaire et selon la synthèse de protéines dans le lait. Il est donc plausible que chez la vache laitière, la demande en acide folique soit très élevée puisqu'en conditions normales de régie, les vaches sont gestantes pendant leur lactation durant plusieurs mois par année. Pour les mêmes raisons, la demande des tissus pour l'acide folique est également élevée chez les animaux soumis à une croissance rapide.

CROISSANCE ET BESOINS EN ACIDE FOLIQUE

Les veaux de lait ont un taux de croissance supérieur à 1 kg/jour. Chez ces animaux, le développement de nouveaux tissus et la synthèse protéique sont intenses. De plus, leur rumen n'étant pas encore fonctionnel, ils doivent trouver dans leur alimentation l'acide folique dont ils ont besoin. Lors d'une expérience conduite avec 90 veaux de lait recevant 0 mg, 4 mg ou 16 mg d'acide folique deux fois par jour dans leur lait, les suppléments alimentaires d'acide folique ont ralenti l'apparition de l'anémie sans changer la coloration de la viande. Les veaux ayant reçu les suppléments d'acide folique étaient plus lourds mais ne consommaient pas plus de lait. Par conséquent, les veaux recevant des suppléments d'acide folique ont atteint plus rapidement le poids de marché (Figure 1), ce qui a entraîné une économie de 19,5 kg de lactoreplaceur par veau ayant reçu la dose la plus élevée d'acide folique (16 mg/repas/veau) (Lévesque *et al.*, 1993). Cette économie est d'autant plus intéressante que le coût de la dose la plus élevée d'acide folique ajoutée aux lactoreplaceurs n'est que de 0,70 \$ par veau pour la durée totale de l'élevage.

Pendant la période entourant le sevrage des génisses laitières, les concentrations sériques de folates sont faibles (Girard *et al.*, 1989a) indiquant que, pendant cette période, la synthèse d'acide folique par la microflore du rumen n'est pas optimale. Un supplément d'acide folique donné par injection intramusculaire à toutes les semaines, de la naissance des génisses à l'âge de 16 semaines, a augmenté de 8 % le gain de

Figure 1. Effet de suppléments d'acide folique ajoutés deux fois par jour aux lactoreplaceurs sur le temps requis pour atteindre le poids d'abattage



poids moyen quotidien après le sevrage (5 à 10 semaines après la naissance) (Figure 2). Bien qu'un tel supplément ne soit pas d'utilisation pratique en condition d'élevage, cette expérience a permis de démontrer qu'après le sevrage, les besoins en acide folique ne sont pas comblés par la microflore ruminale (Dumoulin *et al.*, 1991).

Une étude sur l'utilisation métabolique de l'acide folique a confirmé ces résultats de production. La demande des tissus pour l'acide folique augmente avec l'âge

Figure 2. Effet de suppléments d'acide folique sur la croissance des génisses laitières



pendant les quatre premiers mois de vie des veaux, qu'il s'agisse de veaux de lait ou de veaux sevrés (Girard et Matte, 1997a). Cette forte demande des tissus est due à une intense division cellulaire et une forte synthèse de protéines afin de soutenir une croissance rapide pendant cette période.

ÉVALUATION DES BESOINS EN ACIDE FOLIQUE DES VACHES LAITIÈRES

Chez les vaches laitières, lorsque les conditions de régie et principalement l'alimentation et les horaires de traite du troupeau ne varient pas, les concentrations de folates sériques sont stables (Tremblay *et al.*, 1991). Les folates sériques constituent alors un bon indice du statut en folates de l'animal (Gee *et al.*, 1989). Girard *et al.* (1989b) ont observé que chez les vaches laitières, les folates sériques totaux diminuent de 40 % à partir de deux mois après la parturition jusqu'au vêlage suivant (Figure 3). D'autres études ont aussi démontré que les concentrations de folates sériques sont plus faibles chez les vaches en gestation que chez les vaches non gestantes (Arbeiter et Winding, 1973; Tremblay *et al.*, 1991). Cette chute drastique des folates sériques reflète une forte augmentation de la demande en acide folique qui n'est pas comblée par les apports exogènes c'est à dire par l'alimentation et la synthèse par la microflore du rumen. Cette observation a été confirmée lors d'une expérience ultérieure démontrant que la demande des tissus des vaches laitières multipares pour l'acide folique est beaucoup plus élevée en fin de gestation que trois semaines après le vêlage (Girard et Matte, 1995).

Figure 3. Variations des folates sériques totaux chez les vaches laitières multipares selon le stade physiologique



SUPLÉMENTS D'ACIDE FOLIQUE ET PERFORMANCES DE LACTATION

À la suite de ces deux expériences démontrant que les besoins en acide folique de la vache laitière ne sont pas entièrement satisfaits pendant une lactation, deux expériences ont été entreprises afin de déterminer les conséquences d'un apport accru en acide folique sur les performances de production des vaches laitières.

Lors d'une première expérience, les suppléments d'acide folique ont été administrés par injection intramusculaire afin d'évaluer précisément les effets métaboliques de l'acide folique sans avoir à tenir compte des effets que cette vitamine pourrait avoir sur la microflore du rumen. Des injections intramusculaires de 0 mg ou 160 mg d'acide folique ont donc été administrées à toutes les semaines à partir de 45 jours de gestation jusqu'à 6 semaines après le vêlage. Sur une base de matière sèche, la ration de ces vaches contenait plus de 67 % de fourrages (ensilage de graminées et foin sec). Les injections d'acide folique ont augmenté le transfert des folates de la mère au veau de 24 % par le placenta et de 54 % par le colostrum sans que cela se traduise cependant par une augmentation du poids du veau à la naissance ou de sa croissance postnatale. Entre 45 jours de gestation et le tarissement, l'apport d'acide folique a augmenté le contenu en acide folique du lait et a eu tendance à augmenter le contenu en protéines du lait (Figure 4). La production laitière a aussi augmenté de 1,5 kg par jour pendant cette période. Durant les six semaines

Figure 4. Contenu en protéines du lait entre 45 jours de gestation et le tarissement chez les vaches ayant reçu ou non de l'acide folique par injection



qui ont suivi le vêlage, ni le contenu en acide folique du lait, ni la production laitière n'ont été modifiés par un apport accru en acide folique. Par contre, chez les vaches multipares ayant reçu un supplément d'acide folique, le contenu en protéines du lait a augmenté passant de 3,2 % à 3,5 % tandis que celui des vaches primipares n'a pas été modifié (Figure 5). La consommation alimentaire n'a pas été modifiée par les suppléments d'acide folique (Girard *et al.*, 1995).

Figure 5. Contenu en protéines du lait pendant les 6 semaines suivant le vêlage chez les vaches ayant reçu ou non de l'acide folique par injection



Cependant, si les injections intramusculaires de vitamines constituent un bon outil de recherche afin de déterminer l'importance métabolique de l'acide folique chez la vache laitière, elles ne sont pas d'usage facile sur les fermes. Un premier essai nous a permis d'identifier les quantités d'acide folique à ajouter à l'alimentation des bovins afin de reproduire les effets des injections sur les concentrations de folates sériques (Girard *et al.*, 1992).

Par la suite, une autre expérience a été entreprise dans laquelle des suppléments alimentaires de 0 mg, 2 mg et 4 mg d'acide folique par kilogramme de poids vif de l'animal ont été distribués tous les jours entre 4 semaines avant la date prévue du vêlage et 305 jours de lactation. Dans cette expérience, les fourrages ne représentaient que 40 % de la ration sur une base de matière sèche. Les suppléments alimentaires d'acide folique ont entraîné une augmentation des concentrations de folates dans le sérum des vaches, ce qui prouve qu'il y a eu absorption de ces suppléments. Les concentrations de folates dans le lait ont aussi été augmentées. Cette dernière observation est intéressante pour la nutrition humaine puisque l'acide folique joue un rôle bénéfique dans la prévention des

problèmes neurologiques congénitaux du fœtus (Whitehead and Rosenblatt, 1994) ainsi que des maladies cardiovasculaires (Morrison *et al.*, 1996) et du cancer (Jennings, 1995) chez l'adulte. Le pourcentage de protéine du lait n'a pas été modifié mais la quantité totale de caséine excrétée dans le lait a augmenté chez les vaches multipares. Le contenu du lait en azote non protéique pendant les 100 premiers jours de lactation a diminué chez les vaches multipares recevant des suppléments alimentaires d'acide folique. Cette dernière observation peut être un indice d'une utilisation plus efficace de l'azote chez ces vaches. La production de lait des vaches primipares n'a pas été significativement modifiée par un apport accru d'acide folique mais celle des vaches multipares a augmenté linéairement avec les quantités d'acide folique ingérées. La production de lait pour une lactation de 305 jours a été respectivement de 8300 kg, 8600 kg et 9000 kg pour les vaches multipares ayant reçu quotidiennement dans leur alimentation 0 mg, 2 mg et 4 mg d'acide folique par kilogramme de poids vif. Les vaches multipares ayant reçu la dose la plus élevée d'acide folique ont produit 2,2 kg de lait de plus par jour (Figure 6). L'effet de l'acide folique est plus marqué pendant les 200 premiers jours de lactation (Girard et Matte, 1996). L'acide folique améliorerait donc l'utilisation des nutriments comme semble l'indiquer la diminution de l'azote non protéique dans le lait et la production accrue de lait pour une consommation inchangée d'aliments chez les vaches multipares recevant les suppléments alimentaires d'acide folique.

Figure 6. Production laitière des vaches ayant reçu des suppléments alimentaires d'acide folique pendant leur lactation



* Poids vif

L'ajout de la quantité la plus élevée d'acide folique (4 mg/kg de poids vif/jour) dans l'alimentation des vaches coûte environ 0,60 \$/vache/jour. Malgré ce

coût assez élevé, l'augmentation de la production laitière de 2,2 kg/jour représente un revenu supplémentaire de 1,00 \$/jour/vache (calculé à 50,00 \$ l'hectolitre de lait), soit un profit de 0,40 \$/vache/jour puisque la consommation alimentaire des vaches n'augmente pas.

Dans ces deux expériences, les suppléments d'acide folique, qu'ils aient été administrés par voie parentérale (par injection) ou par voie orale, ont augmenté la production laitière. Dans un cas, le pourcentage et la quantité de protéines produites ont été augmentés alors que dans l'autre cas, seule la quantité de caséine produite a été augmentée mais sans que le pourcentage de protéines du lait soit modifié. Cette différence peut être attribuable à la composition des rations utilisées dans ces deux expériences.

Lors de l'expérience avec les suppléments parentéraux d'acide folique, les vaches ont reçu un régime à base de fourrages dont le premier acide aminé limitant la synthèse du lait était la méthionine. Lors de l'expérience avec les suppléments oraux d'acide folique, la teneur des régimes en concentrés était beaucoup plus élevée et les apports calculés en lysine et en méthionine étaient inférieurs aux niveaux recommandés (Schwabb *et al.* 1992a, 1992b; Rulquin *et al.*, 1993). L'acide folique étant essentiel à la synthèse de méthionine, un apport accru de cette vitamine peut stimuler la synthèse de méthionine par les tissus de la vache laitière si les substrats nécessaires sont disponibles. Lors de la deuxième expérience, une augmentation de la synthèse de méthionine par l'acide folique n'a pu se traduire par un effet marqué sur le contenu en protéines du lait puisque c'est l'apport en lysine qui était insuffisant et venait limiter la synthèse protéique.

Dans ces deux expériences, les vaches à leur première lactation n'ont pas répondu positivement à l'ajout d'acide folique alors que les suppléments d'acide folique ont augmenté la production de lait et de protéines des vaches à leur seconde lactation ou plus. Cette différence entre primipares et multipares peut s'expliquer par les effets de la vitamine B₁₂ sur le métabolisme de l'acide folique. En effet, il est bien connu que l'utilisation de l'acide folique par les tissus est ralentie et même bloquée par un manque de vitamine B₁₂. On considère généralement en nutrition des ruminants que si on fournit dans l'alimentation des quantités adéquates de cobalt, les microorganismes du rumen s'en servent pour synthétiser de la vitamine B₁₂ en quantité suffisante pour combler les besoins du ruminant. Lors de la dernière expérience, en début de lactation, malgré un apport suffisant en cobalt, les concentrations sériques de vitamine B₁₂ étaient très faibles alors que les concentrations sériques de folates chez les vaches recevant les suppléments d'acide folique ont augmenté drastiquement. Par la suite, lorsque les concentrations sériques de vitamine B₁₂ ont augmenté, les concentrations de folates ont chuté (Girard et Matte, résultats non publiés; Figure 7). Il semble qu'en début de lactation, les folates aient été

piégés dans le sérum par un manque de vitamine B₁₂ restreignant l'utilisation de l'acide folique par les tissus de la vache. Des expériences sont présentement en cours pour préciser les voies métaboliques impliquées dans la réponse des performances de lactation des vaches laitières aux suppléments d'acide folique et les interactions possibles avec le métabolisme de la méthionine et de la vitamine B₁₂.

Figure 7. Concentrations sériques des folates et de la vitamine B₁₂ pendant la lactation



Des résultats préliminaires d'une expérience conduite chez 14 vaches à leur première lactation confirment la présence d'une interaction entre l'acide folique et la vitamine B₁₂. Entre 25 et 125 jours de lactation, ces vaches ont reçu des injections intramusculaires de 0 mg ou 10 mg de vitamine B₁₂ chaque semaine. Elles recevaient un régime équilibré couvrant leurs besoins en acides aminés essentiels et des suppléments alimentaires d'acide folique. Le supplément de vitamine B₁₂ a augmenté la production laitière de 2,5 kg/jour mais cette augmentation n'est cependant pas significative. Les quantités de solides totaux, de gras et de solides non gras produites ont cependant été augmentées de façon significative (Girard et Matte, 1997b; Tableau 1). L'analyse de la réponse métabolique

Tableau 1. Effets sur la production laitière d'injections intramusculaires hebdomadaires de 0 mg ou 10 mg de vitamine B₁₂ données à des vaches primipares entre 25 à 125 jours de lactation

| | Lait (kg/jour) | Solides totaux (kg/jour) | Gras (kg/jour) | Solides non gras (kg/jour) |
|--------------------------------|----------------|--------------------------|----------------|----------------------------|
| Témoin | 28,4 | 3,40 | 0,85 | 2,55 |
| Vitamine B₁₂ | 30,9 | 3,75 | 0,98 | 2,77 |

des vaches à ces injections de vitamine B₁₂ devrait nous permettre de mieux comprendre les interactions entre ces deux vitamines.

CONCLUSION

Les besoins des vaches laitières en vitamines du complexe B, dont l'acide folique, qui sont définis comme la quantité à inclure dans la ration afin d'éviter l'apparition de symptômes de carence ont été étudiés dans les années 1940 à 1950. Depuis ce temps, la production laitière des vaches a plus que triplé. Il est fort peu probable que les microorganismes du rumen aient augmenté leur production de vitamines du complexe B pendant cette période de façon à combler une demande accrue causée par l'augmentation de la productivité des vaches. Les résultats observés jusqu'à maintenant indiquent que l'apport en acide folique et peut-être en vitamine B₁₂ n'est pas toujours suffisant pour maximiser la productivité des vaches laitières. En certaines circonstances, l'apport en cette vitamine ne couvre pas les besoins de la vache et des suppléments d'acide folique ont un effet bénéfique.

L'acide folique n'est pas pour autant un «ingrédient miracle» dans l'alimentation des vaches laitières et il ne peut remplacer une alimentation équilibrée. Durant la dernière décennie, les concepts de nutrition de la vache laitière ont été revus en profondeur. Pour préparer une ration équilibrée, il ne suffit plus d'évaluer les besoins de nos vaches en protéines brutes, en énergie, en fibres, en vitamines liposolubles et en minéraux. Afin de permettre à nos vaches d'exprimer leur plein potentiel génétique, il faut tenir compte des proportions de glucides et de protéines dégradables ou non dans le rumen et il faut couvrir leurs besoins en acides aminés essentiels. À ce stade de raffinement de nos connaissances en nutrition de la vache laitière, à un moment où nous voulons permettre à nos vaches d'exprimer leur plein potentiel génétique, l'impact du manque d'un nutriment mineur, comme l'acide folique sur l'efficacité du métabolisme protéique prend toute son importance.

Il nous faut viser à offrir à nos vaches laitières un régime alimentaire correspondant à leurs besoins. Ce régime «idéal» doit établir un équilibre entre une productivité maximale et le maintien de la santé et des performances de reproduction de l'animal. Il doit aussi diminuer les coûts d'alimentation en améliorant l'efficacité d'utilisation des nutriments ingérés afin de réduire les pertes et les rejets de déchets dans l'environnement. Pour atteindre cet équilibre, il nous faut ajuster le plus précisément possible les besoins de l'animal avec l'apport alimentaire et réduire les pertes. Pour atteindre cet objectif, il ne faut négliger aucune pièce de ce puzzle complexe qu'est la nutrition de la vache laitière. Il ne faut surtout pas nous cantonner à l'étude des besoins en nutriments majeurs en

négligeant l'impact, souvent important, des nutriments mineurs sur l'efficacité des grandes voies métaboliques comme le démontrent les résultats présentés plus tôt sur les effets de l'acide folique sur l'efficacité alimentaire des veaux de lait et des vaches laitières. Cette meilleure utilisation des aliments devrait se refléter par une diminution des coûts d'alimentation et des rejets dans l'environnement. Il importe donc de ne pas négliger ces nutriments mineurs car, même s'ils ne représentent qu'une infime proportion de la ration, leur influence sur les principales voies métaboliques peut être importante.

RÉFÉRENCES

- Arbeiter, V. K. et W. Winding. 1973.** Folatbestimmungen im Serum von Rindern mit besonderem Bezug auf die Fruchtbarkeit. *Wien. Tierärztl. Mschr.* 60 : 323-326.
- Dumoulin, P. G., C. L. Girard, J. J. Matte et G. J. St-Laurent. 1991.** Effects of a parenteral supplement of folic acid and its interaction with level of feed intake on hepatic tissues and growth performance of young dairy heifers. *J. Anim. Sci.* 69 : 1657-1666.
- Gee, J. M., A. Bhabuta et I. T. Johnson. 1989.** A technique for assessing the biological availability of folate in foods. *Food Chem.* 31 : 149-158.
- Girard, C. L. et J. J. Matte. 1995.** Serum clearance and urinary excretion of pteroylmonoglutamic acid in gestating and lactating dairy cows. *Br. J. Nutr.* 74 : 857-865.
- Girard, C. L. et J. J. Matte. 1996.** Effects of dietary supplements of folic acid on lactational performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 79(Suppl. 1) : 199.
- Girard, C. L. et J. J. Matte. 1997a.** Serum clearance and urinary excretion of folic acid in milk-fed and weaned calves. *Can. J. Anim. Sci.* 77 : 69-75.
- Girard, C. L. et J. J. Matte. 1997b.** Parenteral supplements of vitamin B12 and milk performances of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80(Suppl. 1) : 240.
- Girard, C. L., J. J. Matte et G. L. Roy. 1989a.** Serum folates in young dairy heifers. *Br. J. Nutr.* 61 : 595-600.
- Girard, C. L., Matte J. J. et G. F. Tremblay. 1989b.** Serum folates in gestating and lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 72 : 3240-3246.
- Girard, C. L., J. J. Matte et J. Lévesque. 1992.** Responses of serum folates of preruminant and ruminant calves to a dietary supplement of folic acid. *J. Anim. Sci.* 70 : 2847-2851.
- Girard, C. L., J. J. Matte et G. F. Tremblay. 1995.** Gestation and lactation of dairy cows : A role for folic acid ? *J. Dairy Sci.* 78 : 404-411.
- Jennings, E. 1995.** Folic acid as a cancer-preventing agent. *Med. Hypotheses.* 45 : 297-303.
- Lévesque, J., C. L. Girard, J. J. Matte et G. J. Brisson. 1993.** Dietary supplements of folic acid: blood and growth responses of white veal calves. *Livest. Prod. Sci.* 34 : 71-82.
- McDowell, L. R. 1989.** Vitamins in Animal Nutrition. Comparative Aspects to Human Nutrition. Academic Press Inc., San Diego, CA. 486 pp.
- Morrison, H. I., D. Schaubel, M. Desmeules et D. T. Wagle. 1996.** Serum folate and risk of fatal coronary heart disease. *JAMA.* 275 : 1893-1896.
- Rulquin, H., P. M. Pisulewski, R. Vérité et J. Guinard. 1993.** Milk production and composition as a function of post-ruminal lysine and methionine supply: a nutrient-response approach. *Livest. Prod. Sci.* 37 : 69-90.
- Schwabb, C. G., C. K. Bozak, N. L. Whitehouse et M. M. A. Mesbah. 1992a.** Amino acid limitation and flow to duodenum at four stages of lactation. 1. Sequence of lysine and methionine limitation. *J. Dairy Sci.* 75 : 3486-3502.
- Schwabb, C. G., C. K. Bozak, N. L. Whitehouse et V. M. Olson. 1992b.** Amino acid limitation and flow to the duodenum at four stages of lactation. 2. Extent of lysine limitation. *J. Dairy Sci.* 75 : 3503-3518.
- Tremblay, G. F., C. L. Girard, M. Bernier-Cardou et J. J. Matte. 1991.** Nycterohemeral variations of concentration of serum folates in dairy cows. *Can. J. Anim. Sci.* 71 : 919-923.
- Whitehead, V. M. et D. S. Rosenblatt. 1994.** Folic acid supplementation and neural tube defects. *Clin. Invest. Med.* 73 : 253-255.

