



ROYAUME DU MAROC
UNIVERSITE SIDI MOHAMMED BEN ABDELLAH
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
FES



Année 2017

Thèse N° 162/17

**STATUT DE LA VITAMINE D CHEZ LA POPULATION
de la région de Meknès–Tafilalt
(A propos de 200 cas)**

THESE

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 13/07/2017

PAR

**Mlle. SALMA LAASSILA
Née le 03/06/1991 à Meknès**

POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MEDECINE

MOTS-CLES :

Vitamine D– Carence –Ostéoporose–Prévention

JURY

M. EL KARTOUTI ABDESLAM PRESIDENT
Professeur agrégé de pharmacie clinique
Mme. EL BOUKHRISSI FATIMA..... RAPPORTEUR
Professeur agrégé de Biochimie
M. MOUDDEN MOHAMED KARIMJUGES
Professeur agrégé de médecine interne

PLAN

ABREVIATION	9
INTRODUCTION	12
PARTIE THEORIQUE	15
I. La vitamine D	16
1. Introduction	16
2. Origine et métabolisme	17
2.1. Sources de la vitamine D	17
2.1.1. Synthèse cutanée	17
2.1.2. Alimentation	18
2.2. Recommandations pour l'apport journalier en vitamine D	20
2.3. Métabolisme de la vitamine D	20
2.3.1. Hydroxylation hépatique	20
2.3.2. Hydroxylation rénale	21
2.3.3. Catabolisme de la vitamine D	21
2.3.4. Synthèse extra-rénale de 1,25[OH] 2D	21
2.4. Régulation de la synthèse de 1,25(OH) ₂ D	23
3. Les effets de la vitamine D	24
3.1. Métabolisme phosphocalcique et osseux	26
3.2. Rôle extra-osseux, action autocrine ou paracrine	30
3.2.1. Vitamine D et fonction musculaire	31
3.2.2. Vitamine D et cancers	31
3.2.3. Vitamine D et système immunitaire	32
3.2.4. Vitamine D et système cardio-vasculaire	35
3.2.5. Vitamine D et le système nerveux	36
4. Dosage de la vitamine D	37
4.1. Les valeurs de référence	38
4.2. Techniques de dosage de la 25(OH) D totale	39

4.2.1. Les différentes techniques	39
4.2.2. Technique de référence et standardisation des techniques de dosage	42
4.2.3. Fiabilité des mesures	43
4.2.4. Sensibilité et spécificité des dosages	43
II. HYPOVITAMINOSE D	44
1. Définition	44
2. Prévalence	45
3. Facteurs de risque	46
3.1. Type de pigmentation	46
3.2. L'âge	47
3.3. Indice de Masse Corporelle (IMC)	48
3.4. Le sexe	48
3.5. Localisation géographique	48
3.6. La pollution	49
3.7. Mode de vie	50
3.8. Pathologies chroniques	52
3.9. Traitements médicamenteux	53
4. Dépistage	53
5. Diagnostic	54
5.1. Manifestations cliniques de l'hypovitaminose D	54
5.2. Conséquences osseuses de l'hypovitaminose D	55
5.2.1. Rachitisme carentiel	55
5.2.2. Ostéomalacie	57
5.2.3. Ostéoporose et risque fracturaire	59
5.2.4. Risque de chutes	61
5.3. Diagnostic biologique	62
5.3.1. Liens entre vitamine D, PTH et calcium	62
5.3.2. Les autres marqueurs biologiques	63

5.4. Retard diagnostic	64
6. Traitement	65
6.1. Traitement pharmacologique	65
6.1.1. Généralités concernant les différentes spécialités pharmaceutiques	65
6.1.2. Vitamine D2 ou vitamine D3	67
6.1.3. Les modalités d'administration	68
6.1.4. Posologies	68
6.1.5. Traitement d'attaque	69
6.1.6. Traitement d'entretien	70
6.1.7. Risques du traitement	72
6.1.8. Suivi et évaluation de l'efficacité du traitement	72
6.1.9. Situations particulières	74
6.2. Traitement non pharmacologique	77
PARTIE PRATIQUE	78
A. Introduction	79
B. Objectifs de l'étude	80
C. Matériels et méthodes	80
1. Type, lieu de l'étude et population étudiée	80
1.1. Critères d'inclusion	81
1.2. Critère d'exclusion	81
1.3. Prélèvements sanguins	81
2. Recueil et analyse des données	82
2.1. Le questionnaire	82
2.2. Analyses biochimiques	83
2.2.1. Dosage plasmatique de la 25(OH) D2+D3	83
2.2.2. Dosage plasmatique de la parathormone (PTH intacte)	85
2.2.3. Autres paramètres biochimiques	86
2.3. Méthode d'analyse et de traitement des résultats	86

D. Résultats	88
I. Description de la population étudiée	88
1. Données sociodémographiques	88
1.1. Répartition selon le sexe	88
1.2. Répartition selon l'âge	88
1.3. Répartition selon le lieu de résidence	89
1.4. Répartition selon le phototype	90
1.5. Exposition solaire : vêtements couvrants / utilisation de crème solaire	90
1.6. Répartition selon les antécédents des patients	92
2. Données cliniques	93
2.1. Indice de masse corporelle	93
2.2. Les signes cliniques	94
3. Résultats des analyses biochimiques	96
II. Statut vitaminique D	98
1. Dans la population générale	98
2. Selon le sexe	99
3. Selon la tranche d'âge	100
4. Selon les signes cliniques	101
III. Les déterminants du statut vitaminique	103
1. Les facteurs influençant la variation du taux de la 25OHD	103
2. Corrélations du taux de la 25OHD avec les paramètres biochimiques	106
DISCUSSION	108
CONCLUSION	125
RESUMES	128
ANNEXES	135
BIBLIOGRAPHIE	140

Liste des tableaux

Tableau 1: Sources alimentaires de vitamine D

Tableau 2: Apport nutritionnel recommandé (ANR) pour l'apport journalier en vitamine D établie par l'IMO

Tableau 3: Valeurs recommandées de la vitamine D selon le GRIO

Tableau 4: Principales techniques de dosage de la vitamine D

Tableau 5: Exemples de présentations de calcium combiné ou non à la vitamine D

Tableau 6: Recommandations de la Société Marocaine de Rhumatologie pour le traitement de l'hypovitaminose D chez l'adulte

Tableau 7: Caractéristiques démographiques et cliniques de la population étudiée

Tableau 8 : Résultats des examens biologiques concernant tous les patients de l'étude et permettant de comparer les patients déficitaires et non déficitaires.

Tableau 9: Taux moyen de la 25OHD selon les paramètres étudiés

Tableau 10 : Corrélations entre le taux de la 25OHD et les paramètres étudiés

Tableau 11 : Corrélations entre le taux de la PTH et les autres paramètres étudiés

Tableau 12 : Prévalence de l'hypovitaminose D dans différentes études selon différents seuils

Liste des figures

Figure 1: Les structures chimiques des vitamines D2 et D3

Figure 2: Métabolisme de la vitamine

Figure 3: Régulation de la synthèse de 1,25(OH)₂ D

Figure 4: Action autocrine de la vitamine D

Figure 5: Absorption digestive du calcium et du phosphate

Figure 6: Réabsorption du calcium au niveau du tube distal

Figure 7: Action de la vitamine D

Figure 8 : Aspect en chapelet costal

Figure 9: Déformation des 2 membres inférieurs

Figure 10 : Les stries de Looser–Milkman

Figure 11: Relation entre 25OHD et DMO chez les adultes de 20 à 49 ans

Figure 12: Relation entre 25OHD et DMO chez les adultes de plus de 50 ans

Figure 13 : Principe de la technique de dosage de la 25(OH) D totale par Elecsys de Roche

Figure 14: Répartition de la population étudiée selon le sexe

Figure 15: Répartition de la population étudiée selon l'âge

Figure 16 : Répartition des patients selon le lieu de résidence

Figure 17 : Répartition des patients selon le phototype

Figure 18 : Répartition des femmes selon le port de voile

Figure 19 : Répartition des femmes selon l'utilisation de crème solaire

Figure 20 : Répartition des patients selon les antécédents pathologiques

Figure 21 : Répartition des femmes ménopausée/non ménopausée

Figure 22 : Répartition de la population étudiée selon la valeur de l'IMC

Figure 23 : Répartition selon les signes cliniques

Figure 24 : Prévalence de l'hypovitaminose D dans la population étudiée

Figure 25: Répartition de la population selon les différents seuils de la 25OHD

Figure 26 : Statut vitaminique D selon le sexe

Figure 27 : Prévalence de l'hypovitaminose D selon la tranche d'âge

Figure 28 : Taux moyens de la 25OHD selon la tranche d'âge

Figure 29 : Taux moyens de la 25OHD selon la corpulence

Figure 30 : L'évolution de la PTH en relation avec la vitamine D

ABREVIATION

1,25(OH) 2D	: 1,25 di-hydroxyvitamine D ou calcitriol
25OHD	: 25 hydroxy-vitamine D ou Calcidiol
25OHD2	: 25 hydroxy-ergocalciférol
25OHD3	: 25 hydroxy-cholécalciférol
Ac	: Anticorps
Ag	: Antigène
ADN	: Acide Désoxyribonucléique
AFSSAPS	: Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé
AGA	: American Gastroenterology Association
AINS	: Anti inflammatoire non stéroïdien
ALAT	: Alanine Amino Transférase
ASAT	: Aspartate aminotransférase
AMM	: Autorisation de mise sur le marché
APCI	: Atmospheric pressure chemical ionization
Ca	: Calcium sérique
CRP	: Protéine C Réactive
CLIA	: Dosage immunologique compétitif par chimiluminescence
CTx	: Téloptides C terminal du collagène de type I
CYP 450	: Cytochromes P450
DBP ou VDBP	: Vitamin D Binding Protein
DEQAS	: Vitamin D External Quality Assessment Scheme
DFG	: Débit de filtration glomérulaire
DMO	: Densité Minérale Osseuse

ESI	: Electrospray Ionization
ECLIA	: Electro Chemiluminescence Immunoassay
ELISA	: Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay
ESCEO	: The European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis
FGF-23	: Fibroblast Growth Factor 23
GNDF	: Glia I Cell line-derived Neurotrophic Factor
GGT	: Gamma glutamyl-transpeptidase
GRIO	: Groupe de Recherche et d'Information sur les Ostéoporoses
HPLC	: High-Performance Liquid Chromatography
HLA	: Human Leukocyte Antigen
HDL	: High density lipoprotein
HTA	: Hypertension artérielle
IG	: Immunoglobuline
IRC	: Insuffisance rénale chronique
IDS	: Immunodiagnostic systems
IL4	: Interleukin 4
IMC	: Indice de Masse Corporelle
IOF	: International osteoporosis foundation
JCTLM	: Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine
KDIGO	: Kidney Disease Improval Global Outcomes
LDL	: Low density lipoprotein
LC-MS	: Chromatographie Liquide couplée à la Spectrométrie de Masse
MARRS	: Membrane-Associated Rapid Response Steroid-binding
NHANES	: National Health and Nutrition Examination Survey

NIST	: National Institute of Standards and Technology
NTx	: Téloptides N terminal du collagène de type I
NGF	: Nerve Growth Factor
PTH	: Parathormone
PAL	: Phosphatases alcalines
P	: Phosphore
PMCA1b	: Plasma membrane calcium ATPase 1b
RIA	: Radioimmunoassay
RANK L	: Receptor Activator of Nuclear factor K Ligand
RXR	: Retinoid X Receptor
SPF	: Sun Protection Factor
SUVIMAX	: Supplémentation en Vitamines et Minéraux Antioxydants
TNF	: Tumor necrosis factor
TMB	: Tetra Méthyl Benzidine
TGFβ1	: Transforming growth factor β
TRPV6	: Transient Receptor Potential Channel vanilloid subtype 6
UVB ou UVA	: Ultraviolets B ou A
VDR	: Vitamin D Receptor
VDRE	: Eléments de réponse à la vitamine D
VN	: valeur normale

INTRODUCTION

La vitamine D est une vitamine liposoluble. Elle provient à 80–90% du cholestérol cutané sous l'effet du rayonnement ultraviolet (1). Seuls 10–20% de la vitamine D proviennent d'une source exogène, via l'absorption d'aliments riches en vitamine D. A cet égard, elle se comporte plus comme une hormone que comme une vitamine. Cette synthèse cutanée dépend, notamment, de la pigmentation de la peau, de l'utilisation de crèmes solaires, de la saison et de la latitude. A l'heure actuelle, suite à l'urbanisation, à la sédentarité et aux recommandations des sociétés de dermatologie et d'oncologie sur l'exposition solaire, la production cutanée de vitamine D diminue. L'apport exogène dépend du type d'alimentation mais aussi des habitudes régionales (aliments enrichis en vitamine D, compléments vitaminiques) (2).

La vitamine D est reconnue depuis plusieurs décennies comme un acteur important dans le métabolisme osseux. Le rôle principal de la vitamine D est essentiellement basé sur l'équilibre du phosphore et du calcium dans l'organisme. En effet, au niveau intestinal la vitamine D favorise l'absorption du calcium et du phosphore. Au niveau de l'os, la vitamine D entraîne une résorption osseuse et un remodelage, ce qui est responsable d'une élévation du taux de calcium dans le sang. Au niveau rénal, la vitamine D est responsable d'une réabsorption du phosphore et du calcium. La vitamine D intervient également au niveau d'autres organes tels que le muscle (en régulant la concentration de calcium), la glande mammaire (régulation de la quantité de calcium dans le lait maternel), le pancréas (pour la synthèse de l'insuline), la peau, le cerveau et le sang (fabrication de macrophages et augmentation de l'agrégation des plaquettes).

L'évaluation du statut vitaminique D constitue un bon marqueur de l'état de santé osseuse et générale (3). Il est aisément réalisé par le dosage du métabolite 25 hydroxyvitamine D (25OHD) circulant. Néanmoins le manque de standardisation des

méthodes de dosage, rend difficile l'établissement des valeurs de référence, et réduit la comparabilité entre les résultats.

L'hypovitaminose D est un problème fréquent et sous-diagnostiqué. On estime ainsi qu'au niveau mondial un milliard de personnes seraient concernées (4). Elle est retrouvée dans toutes les tranches d'âge et chez les deux sexes. Selon l'international osteoporosis foundation (IOF) (5), elle est devenue un véritable problème de santé publique important par ses implications sur la santé (3). D'une part, elle retentit sur la minéralisation osseuse à l'origine du rachitisme carentiel chez l'enfant et de l'ostéomalacie chez l'adulte. D'autre part elle constitue un risque ultérieur d'ostéoporose responsable de plusieurs états morbides.

Au Maroc l'ensoleillement est important tout au long de l'année, pourtant les études disponibles montrent une haute prévalence de l'insuffisance en vitamine D chez les deux sexes.

L'objectif de notre étude était d'évaluer la prévalence de l'hypovitaminose D, d'analyser les corrélations entre le taux sérique de la 25OHD et certains paramètres sociodémographiques, cliniques et biochimiques.

PARTIE THEORIQUE

I. La vitamine D

1. Introduction :

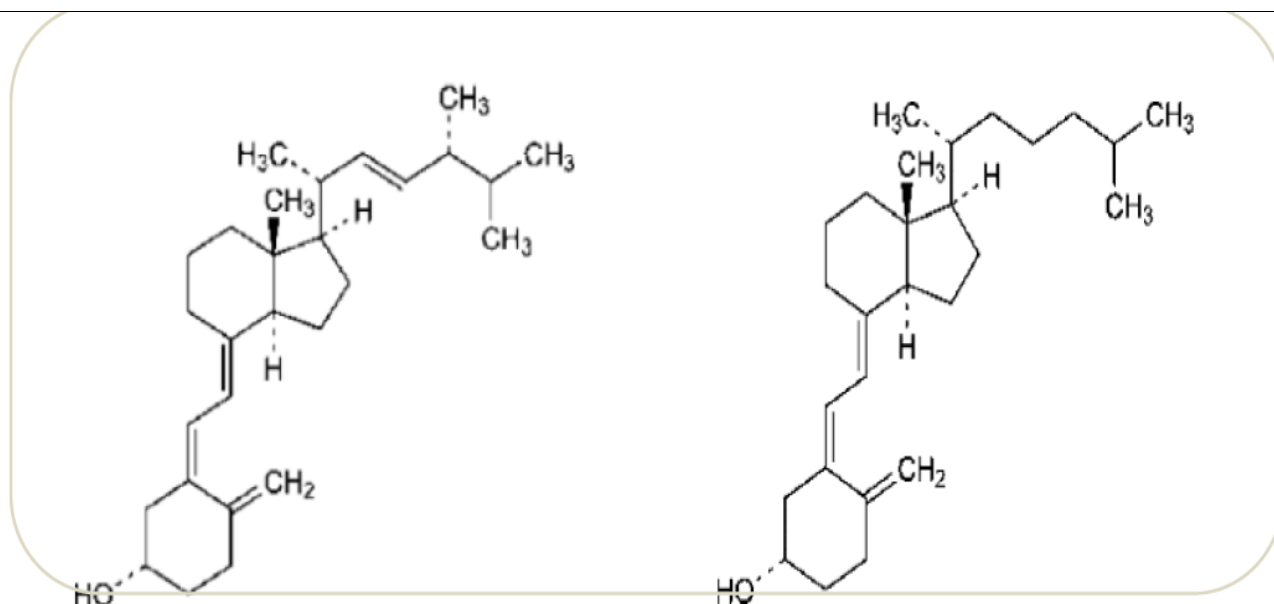
La vitamine D ou 1,25-dihydroxyvitamine D ou calcitriol est une vitamine liposoluble appartenant au groupe des sécostéroïdes par sa structure et ses fonctions (6).

Elle est la forme active de deux précurseurs différents :

- La vitamine D2 ou ergocalciférol, molécule à 28 atomes de carbone, d'origine végétale, produite sous l'effet des rayons ultraviolets à partir de l'ergostérol.
- La vitamine D3 ou cholécalciférol, molécule à 27 atomes de carbone, d'origine animale, produite à partir de l'irradiation du 7-désoxycholestérol.

Son unité de mesure est exprimée en Unité Internationale (UI) ou en microgramme (μg) dans les médicaments ou les aliments, en nanomol par litre (nmol/l) ou nanogramme par millilitre (ng/ml) dans les résultats sanguins. Les équivalences entre les différentes mesures sont : $100 \text{ UI} = 2,5 \mu\text{g}$ et $1 \text{ nmol/l} = 0,4 \text{ ng/ml}$.

La structure chimique de ces deux molécules a été établie en 1936 par Adolf Windaus. Leur structure diffère uniquement par un CH_3 et une double liaison supplémentaire pour la vitamine D2 (7) [Figure 1].

**Ergocalciférol****Cholécalciférol****Figure 1: Les structures chimiques des vitamines D2 et D3**

2. Origine et métabolisme :

2.1. Sources de la vitamine D :

Dans notre organisme la vitamine D a une double origine : endogène issue de la synthèse cutanée et exogène issue de l'alimentation.

2.1.1. Synthèse cutanée :

Dans la peau et plus précisément dans la couche profonde de l'épiderme, les rayons UVB (290–315 nm) transforment, par un système de photolyse non enzymatique, le 7-déhydrocholestérol (provitamine D3) en pré vitamine D3. Celle-ci s'isomérise spontanément en vitamine D3 (8,9).

L'intensité du rayonnement ultraviolet doit être supérieure à 18 mJ/cm² pour être efficace.

La synthèse cutanée est très variable et dépend, entre autres, de l'utilisation de crèmes solaires, de la saison, de la latitude et surtout de la pigmentation cutanée

de chacun. Les phototypes cutanés (classification de Fitzpatrick) permettent de classer les individus selon la réaction de leur peau à l'exposition solaire. Ainsi, les phototypes foncés nécessitent un temps d'exposition prolongé pouvant aller jusqu'à 3 à 5 fois celui d'un phototype clair (10). Chez un individu à peau claire (phototype II-III), une exposition de 10 à 15 minutes du corps entier en été produit entre 10 et 25 000 UI de vitamine D (11). Actuellement, on admet comme suffisante une exposition des bras et des jambes aux UVB, durant 5 à 30 minutes entre 10 h et 15 h, deux fois par semaine (12).

2.1.2. Alimentation

Il existe deux formes de vitamine D alimentaire : la vitamine D2 synthétisée par les plantes, et la vitamine D3 d'origine animale, dotée d'une efficacité trois fois plus importante que la vitamine D2. Les aliments les plus riches en vitamine D sont des produits peu courants dans l'alimentation quotidienne (Tableau 1). En moyenne, seulement 10 à 20 % de nos besoins quotidiens en vitamine D proviennent de l'alimentation (13).

En ce qui concerne les produits laitiers, le lait entier est le seul lait qui contient de la vitamine D dans sa partie lipidique (1 L = 30 UI) du fait de la nature liposoluble de celle-ci.

A titre d'exemple, pour atteindre l'équivalent de 200 UI de vitamine D, un individu devrait ingérer à la fois 1 verre de lait entier, 1 pot de yogourt, 30 à 60 g de fromage et 20 g de beurre, et par conséquent le triple pour atteindre les 600 UI journalières recommandées actuellement.

Contrairement à la Suisse et aux pays européens, les USA et le Canada ont adopté une politique d'enrichissement en vitamine D de certains aliments comme le lait de vache (400 UI/L), le jus d'orange (400 UI/L), la margarine, les céréales, les yogourts et certains fromages.

Le lait maternel, quant à lui, est pauvre en vitamine D et dépend également du statut vitaminique de la mère (28–70 UI/L, en moyenne 40 UI/L). Les nourrissons allaités au sein et qui ne sont pas exposés au soleil ne reçoivent par conséquent pas suffisamment de vitamine D pour satisfaire leurs besoins au-delà des premiers mois (14). En ce qui concerne les préparations lactées pour nourrissons, elles contiennent en moyenne 400 UI/L, ce qui implique qu'un nourrisson devrait ingérer 1 litre de lait par jour pour atteindre les 400 UI quotidiennes recommandées, ce qui est rarement le cas en pratique.

Tableau 1 : Sources alimentaires de vitamine D

Aliments	Quantité	Teneur en vitamine D (UI)
Huile de foie de morue	15ml (1 cuillère à soupe)	1400
Saumon , hareng, anchois, pilchard	100 g	600–1000
Sardine, hareng, thon en boîte	100 g	224–332
Champignons	100 g	1600
Margarine molles	15ml	65–110
Beurre	100 g	50
Yogourt	100 g	89
Jaune d'œuf	1	40
Lait entier	250 ml (1 tasse)	10

2.2. Recommandations pour l'apport journalier en vitamine D

Les apports journaliers en vitamine D recommandés sont confus. Ils varient entre 400 et 2000 UI/j selon l'âge, l'état physiologique (grossesse, allaitement, ménopause), la saison, la situation géographique (13).

Tableau 2 : Apport nutritionnel recommandé (ANR) pour l'apport journalier en vitamine D établie par l'IMO (Institute of Medicine) (15).

Groupe de population	Apport journalier recommandé
Nourrissons pendant la 1 ^{ere} année	400 UI/jour (10 µg/jour)
Enfants durant la 2 ^{eme} et la 3 ^{eme} année de vie	600 UI/jour (15 µg/jour)
Personnes de 3 à 70 ans Femmes enceintes ou allaitantes	600 UI/jour (15 µg/jour)
Personnes de 70 ans et plus	800 UI/jour (20 µg/jour)

2.3. Métabolisme de la vitamine D :

La vitamine D, d'origine endogène ou exogène, est transportée dans le sang par une protéine porteuse, la vitamine D Binding Protein (DBP). Elle doit ensuite subir deux hydroxylations pour devenir active.

2.3.1. Hydroxylation hépatique :

La première hydroxylation, réalisée dans le foie par la 25-hydroxylase, transforme la vitamine D en Calcidiol (25(OH) D). Cette hydroxylation n'est pas régulée : plus la quantité synthétisée et ingérée est grande plus la concentration sérique de 25(OH) D sera importante, c'est pour cela que la mesure des taux plasmatiques de 25(OH) D est un meilleur indicateur du statut en vitamine D. Cependant, avant cette première hydroxylation, du fait de sa nature liposoluble, une

partie de la vitamine D peut être stockée dans le tissu adipeux, d'autant plus que le sujet est obèse (16). La demi-vie de la 25[OH] D est de 15 à 30 jours (17).

2.3.2. Hydroxylation rénale :

La 25[OH] D est transportée vers le rein, où elle subit une deuxième hydroxylation sur le carbone 1 sous l'effet de la 1- α -hydroxylase, générant ainsi la 1,25-dihydroxyvitamine D [1,25[OH] 2D] ou calcitriol qui représente la forme biologiquement active de la vitamine D (Figure 2), et qui accomplit son rôle au niveau des tissus cibles grâce à sa liaison à un récepteur spécifique, le VDR [Récepteur à la Vitamine D]. La demi-vie de la 1,25[OH] 2D est courte, de l'ordre de 4 heures (17,18).

Contrairement à la première hydroxylation, cette dernière est strictement régulée par la PTH, la calcitonine, la calcémie et le calcitriol.

2.3.3. Catabolisme de la vitamine D :

Il existe une voie d'inactivation via la 24-hydroxylase, enzyme présente dans le rein. Celle-ci est capable d'induire le catabolisme de la 25[OH] D et de la 1,25[OH] 2D en un composé biologiquement inactif, l'acide calcitroïque, éliminé par la bile (19). Cette 24-hydroxylase est en réalité ubiquitaire, contrôlant ainsi le taux de vitamine D à l'échelle de l'organisme (17,20).

2.3.4. Synthèse extra-rénale de 1,25[OH] 2D :

D'autres sites mineurs de production extrarénale de la 1,25(OH)₂ D₃ ont été identifiés : le placenta, pancréas, le cerveau, la prostate, les kératinocytes, les ostéoblastes et les macrophages qui expriment aussi le CYP27B1 (21). L'activité de la 1- α -hydroxylase extra-rénale n'est pas régulée, ni par la parathormone [PTH], ni par le calcium et très peu par la 1,25[OH] 2D, contrairement à la 1 α -hydroxylase rénale.

En situation physiologique, la vitamine active ainsi formée n'est pas déversée dans la circulation sanguine, son action est purement locale et n'a donc aucune influence sur le métabolisme du calcium (21).

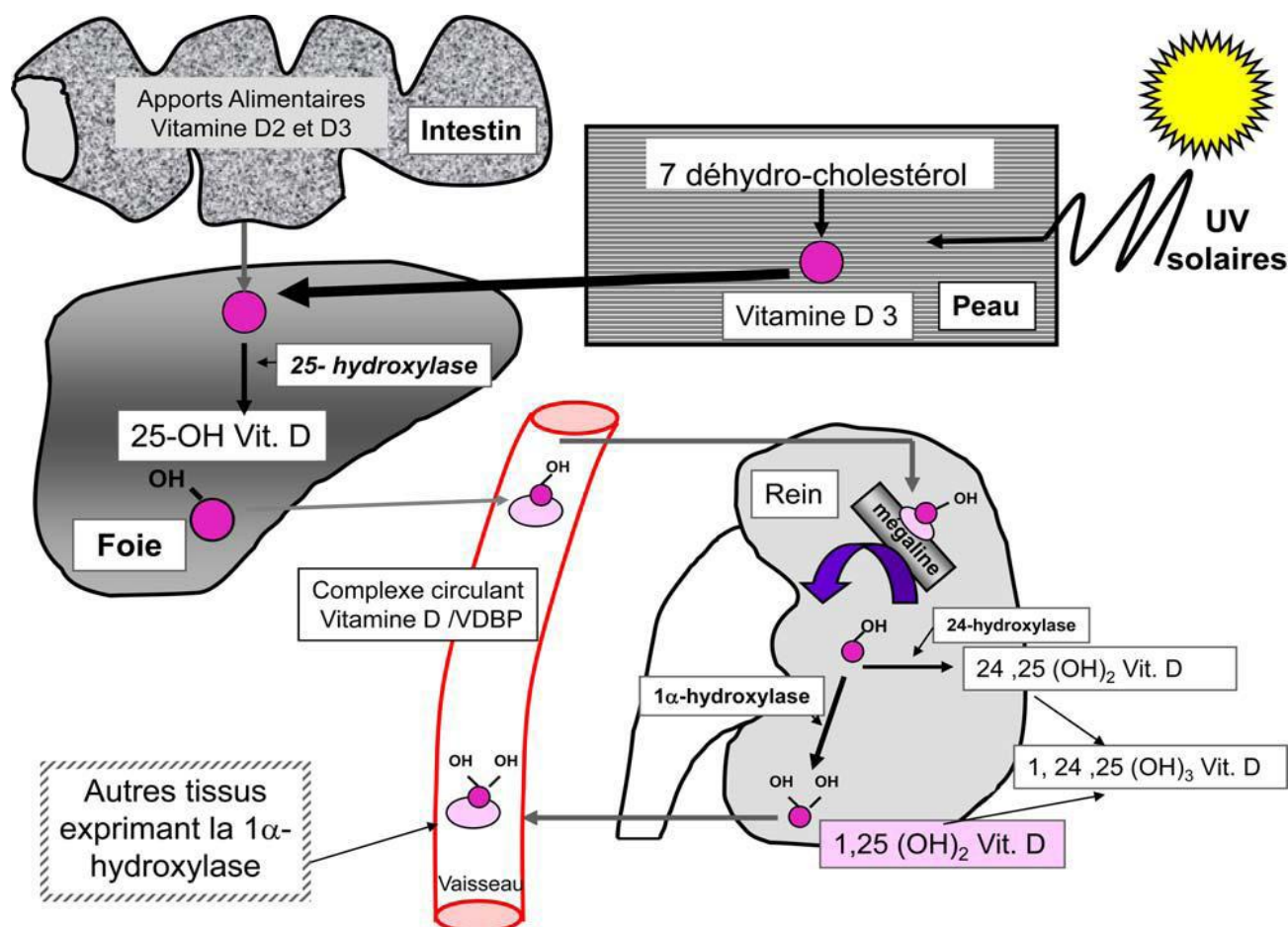


Figure 2: Métabolisme de la vitamine D

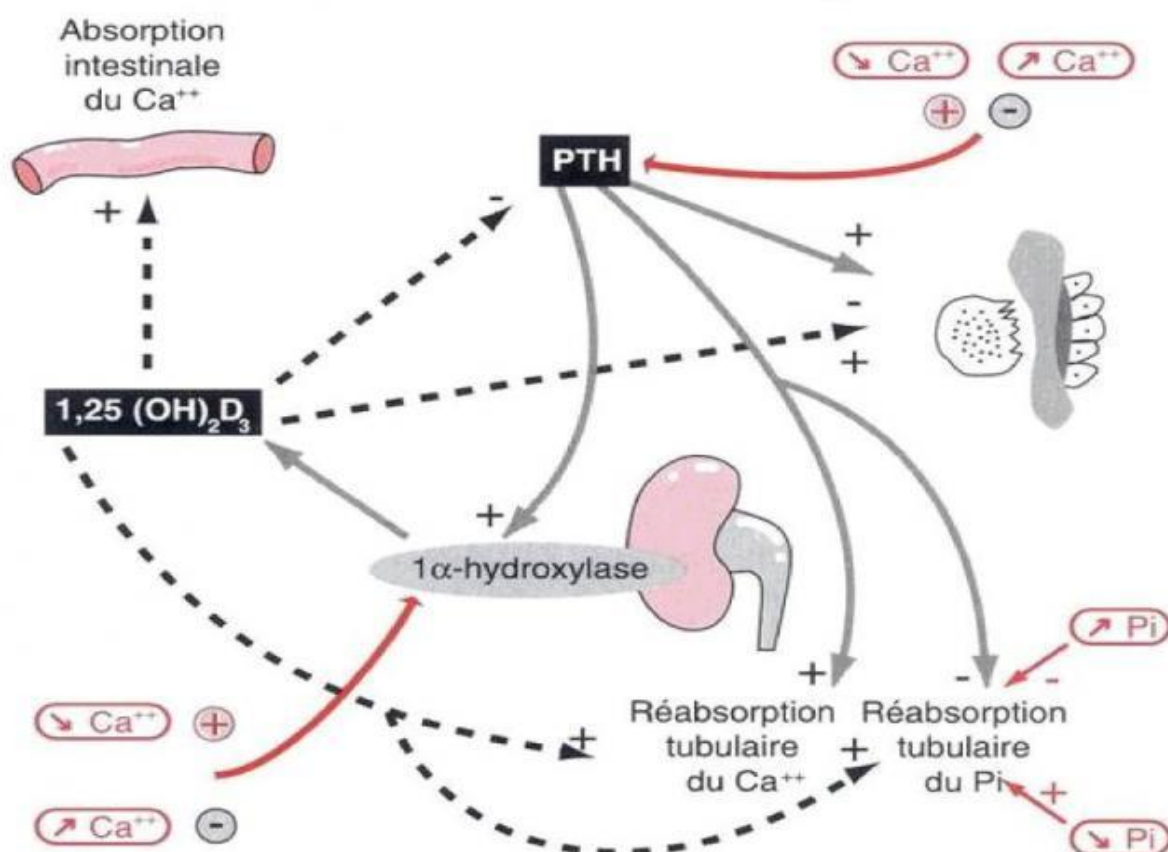
2.4. Régulation de la synthèse de 1,25(OH)₂ D :

La synthèse de 1,25(OH)₂ D est stimulée par des concentrations croissantes de parathormone (PTH) répondant elles-mêmes à des faibles concentrations sériques de calcium.

De faibles concentrations en phosphate peuvent également induire une production accrue de 1,25(OH)₂D indépendamment de la PTH, par effet local direct du phosphate sur la cellule tubulaire rénale ou par l'intermédiaire du FGF23 [Fibroblast Growth Factor 23]. Le FGF23, dont la production est régulée par le taux de phosphate circulant, est synthétisé par l'os. Une chute du taux de phosphate sérique réduit la production du FGF23 et empêche alors son effet négatif sur la production de 1,25[OH] 2D.

La 1,25[OH]2D est également un important régulateur de sa propre synthèse, par effet de rétrocontrôle négatif : elle diminue la synthèse et l'activité de la 1- α -hydroxylase, freine la synthèse de PTH par les glandes parathyroïdes et stimule l'expression de la 24-hydroxylase.

En cas d'insuffisance en vitamine D, l'absorption intestinale de calcium est diminuée, ce qui engendre une diminution de la calcémie ionisée, elle-même responsable d'une augmentation de la production de PTH. Or, la PTH augmente la production de 1,25(OH)₂D. Ainsi, en cas de déficit en 25(OH)D, la concentration sérique de 1,25(OH)₂D peut être augmentée (22).

Figure 3 : Régulation de la synthèse de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$

3. Les effets de la vitamine D :

La vitamine D par l'intermédiaire d'un récepteur cytosolique, le VDR présent dans plus d'une trentaine de tissus a des effets bien au-delà du système osseux. Ces VDR sont présents entre autres dans les cellules β du pancréas, les gonades, les kératinocytes, les lymphocytes activés B et T. La $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ exerce des effets endocrines lorsque produite par le rein, elle est acheminée vers les tissus cibles.

Dans les tissus où sont présents les VDR et la 1α hydroxylase, la $25(\text{OH})\text{D}$ est hydroxylée en $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ qui agit localement en se liant au VDR, ses effets sont qualifiés d'autocrines.

Ce complexe VDR- $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ s'associe dans le noyau cellulaire au récepteur rétinoïque (RXR). Cet ensemble se lie à l'ADN sur des sites appelés « éléments de

réponse à la vitamine D (VDRE) ». Ceux-ci sont proches de gènes dont l'expression est ainsi soit activée soit réprimée, ce qui module la synthèse de nombreuses protéines (23) (Figure 4).

Actuellement de très nombreux travaux essaient de comprendre les liens entre le taux de vitamine D, le polymorphisme des récepteurs VDR et les pathologies en particulier les cancers et les maladies auto-immunes (21,22,24).

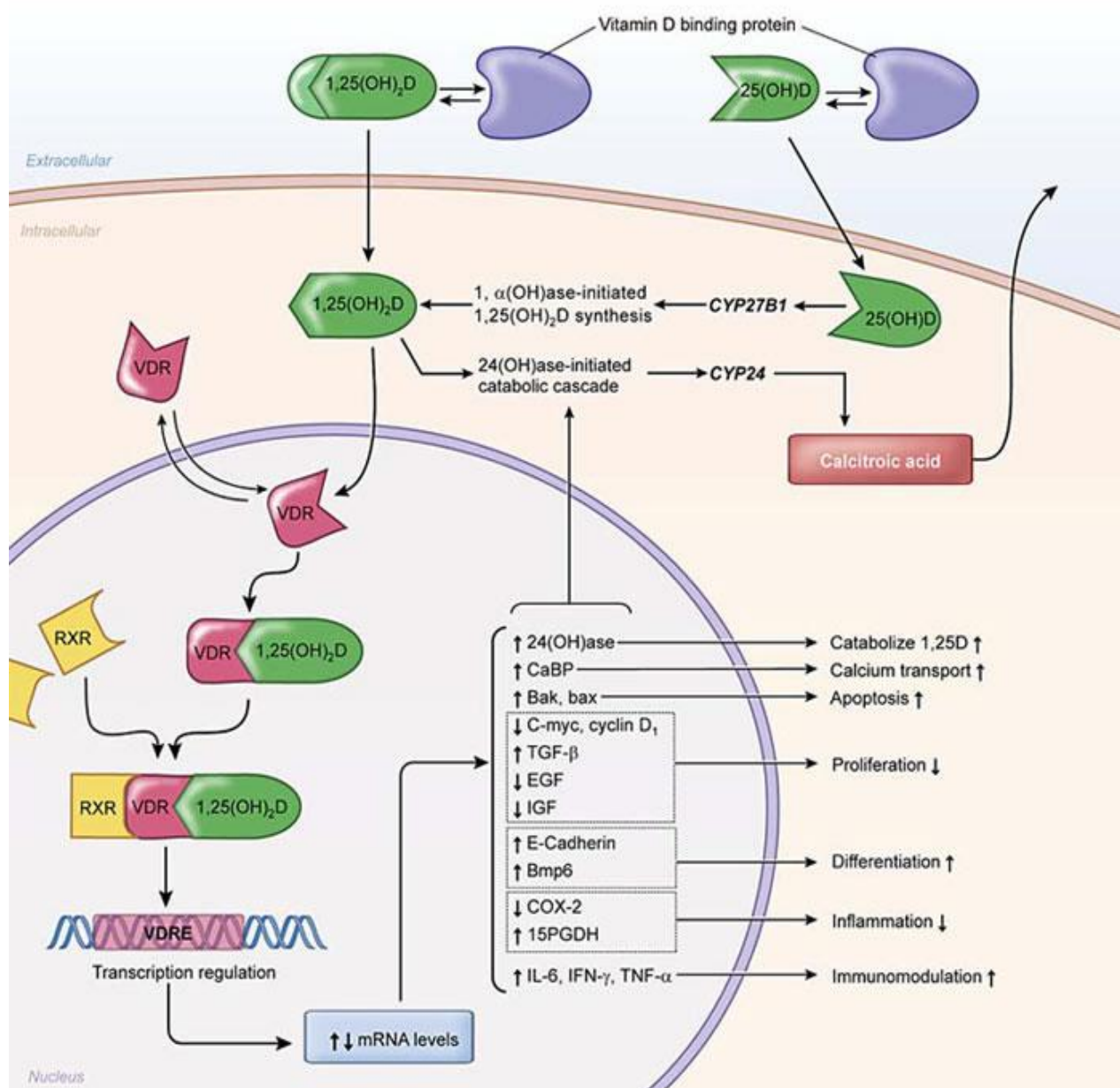


Figure 4 : Action autocrine de la vitamine D

3.1. Métabolisme phosphocalcique et osseux :

La vitamine D joue un rôle majeur dans la croissance et la minéralisation osseuses. La 1,25(OH)₂D (calcitriol), forme active de la vitamine D, intervient dans l'homéostasie phosphocalcique en agissant sur les parathyroïdes, les reins, l'intestin et l'os (Figure 7).

- **Au niveau de l'intestin :**

La 1.25 OH vitamine D3 augmente l'absorption de calcium de 20% et l'absorption du phosphore de 60%. Elle stimule cette absorption par un processus actif transcellulaire, en agissant sur différents gènes codant pour plusieurs protéines:

- La protéine TRPV6, qui crée un canal calcique au niveau de la bordure en brosse apicale de l'entérocyte permettant l'entrée du calcium dans la cellule.
- La calbindine 9K, protéine qui permet le transport du calcium dans les entérocytes.
- La pompe à calcium basolatérale PMCA1b, ainsi que d'autres molécules comme les claudines dont le rôle dans le transport para-cellulaire intestinal du calcium est encore mal connue.

Une deuxième voie de transport rapide du calcium pourrait mettre en jeu un récepteur membranaire de la vitamine D, le 1,25(OH)₂D- MARRS (Membrane-Associated Rapid Response Steroid-binding). Le calcitriol se lie directement à ce récepteur et modifie en quelques secondes, l'entrée du calcium et sa distribution intracellulaire, contribuant à activer la voie de transduction faisant appel à la protéine kinase C (action non génomique) (25,23).

En parallèle, la 1,25(OH)₂D stimule l'absorption des phosphates inorganiques au niveau du jéjunum, en stimulant la synthèse de la protéine NPT2b, un co-

transporteur sodium-phosphate qui favorise l'entrée du phosphore dans l'entérocyte (26).

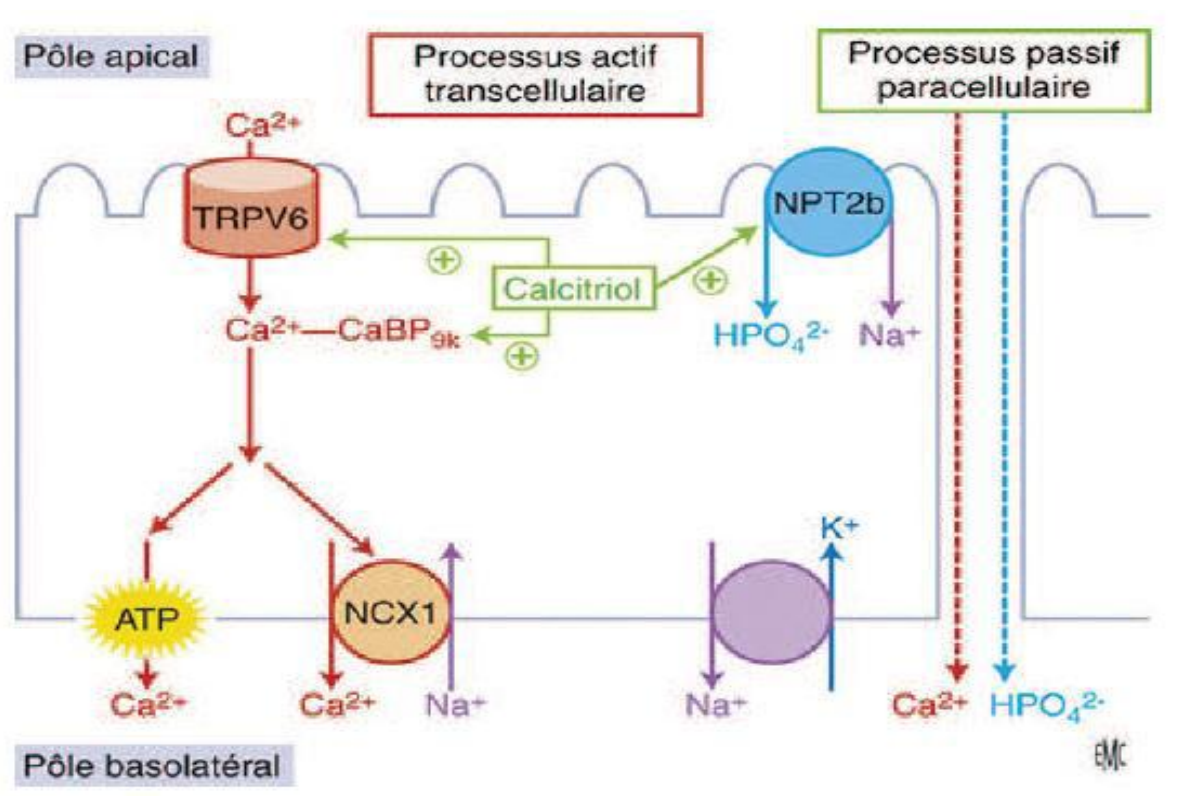


Figure 5: Absorption digestive du calcium et du phosphate (26)

- **Au niveau des reins :**

La 1,25(OH) $_2$ D augmente la réabsorption du calcium dans le tube contourné distal et le tube collecteur. Elle stimule l'expression des calbindin-D28k, (protéines de transport du calcium), mais aussi et surtout celle de TRPV5 (canal calcique permettant l'entrée du calcium dans la cellule). Cet effet est amplifié par l'action activatrice du calcitriol sur la production d'une autre protéine, klotho qui possède une activité bêta-glucuronidase hydrolysant les oligosaccharides présents sur la partie extracellulaire de TRPV5, ce qui module l'adressage membranaire apical du canal calcique, et donc la réabsorption distale de calcium.

Au niveau des cellules du tube contourné proximal, la 1,25(OH) $_2$ D module directement le co-transport sodium phosphate à travers la bordure en brosse en

augmentant l'expression des co-transporteurs responsables de la réabsorption tubulaire des phosphates, Npt2c en particulier. De plus, la 1,25(OH)₂D agit indirectement sur la réabsorption rénale des phosphates, en induisant la production de FGF23 par les cellules mésenchymateuses et contrôlant la transcription d'autres phosphatonines, avec pour résultat une réduction de la réabsorption rénale des phosphates (27).

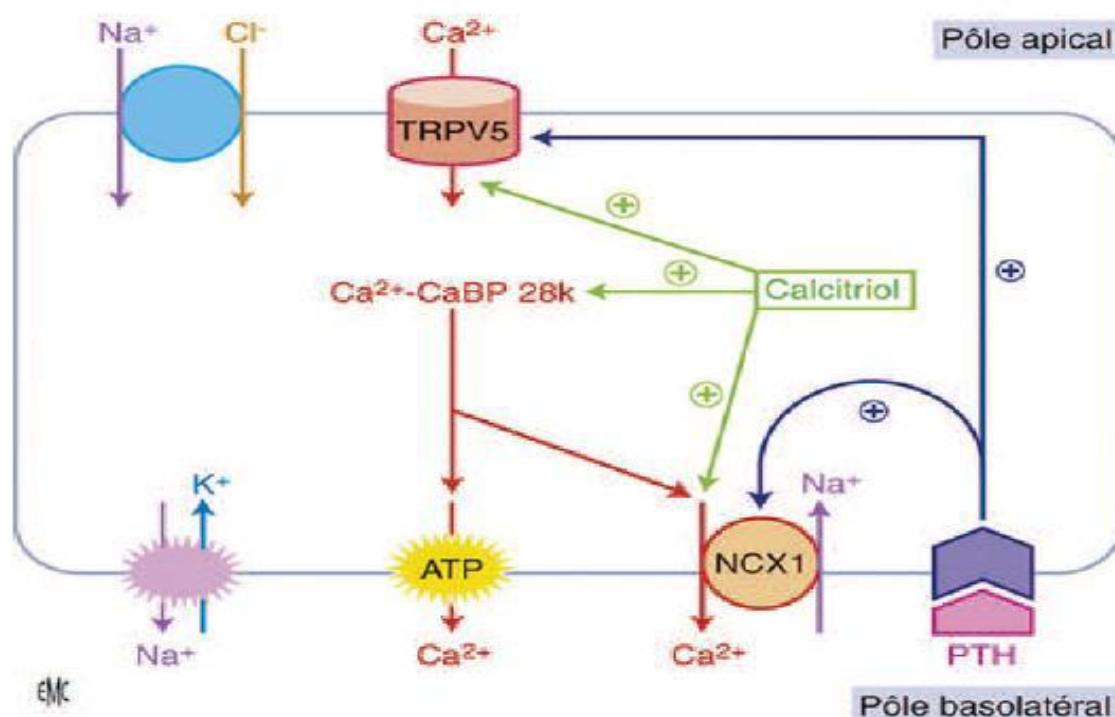


Figure 6 : Réabsorption du calcium au niveau du tube distal (26)

- **Au niveau de l'os :**

La 1.25 OH vitamine D3 n'a pas d'effet direct sur la minéralisation, mais elle agit par le maintien d'une calcémie et d'une phosphatémie efficaces. Au niveau des ostéoblastes, elle active le système RANK/RANKL « Receptor Activator for Nuclear factor K Ligand » qui augmente l'ostéoclastogénèse. Au niveau des ostéoclastes, la 1.25 OH vitamine D3 stimule la différenciation des précurseurs myélomonocytaires en lignées ostéoclastiques.

La 1,25-(OH) 2D contrôle également l'expression de nombreuses protéines de la matrice osseuse comme le collagène de type I, l'ostéopontine, l'ostéocalcine dont les gènes possèdent des VDRE (éléments de réponse au VDR) (27,28).

- **Au niveau des glandes parathyroïdes :**

La vitamine D exerce également une action inhibitrice sur la parathormone (PTH). A l'inverse, la PTH augmente la production de vitamine D active en stimulant la 1alpha-hydroxylase. Le FGF 23, hormone hyperphosphaturiante, induit une diminution de la synthèse de la 1.25 OH vitamine D3. Enfin, la 1.25 OH vitamine D3 stimule la synthèse du FGF 23 via l'ostéocyte.

Un déficit profond en vitamine D peut ainsi entraîner les défauts de minéralisation osseuse observés dans le rachitisme et l'ostéomalacie.

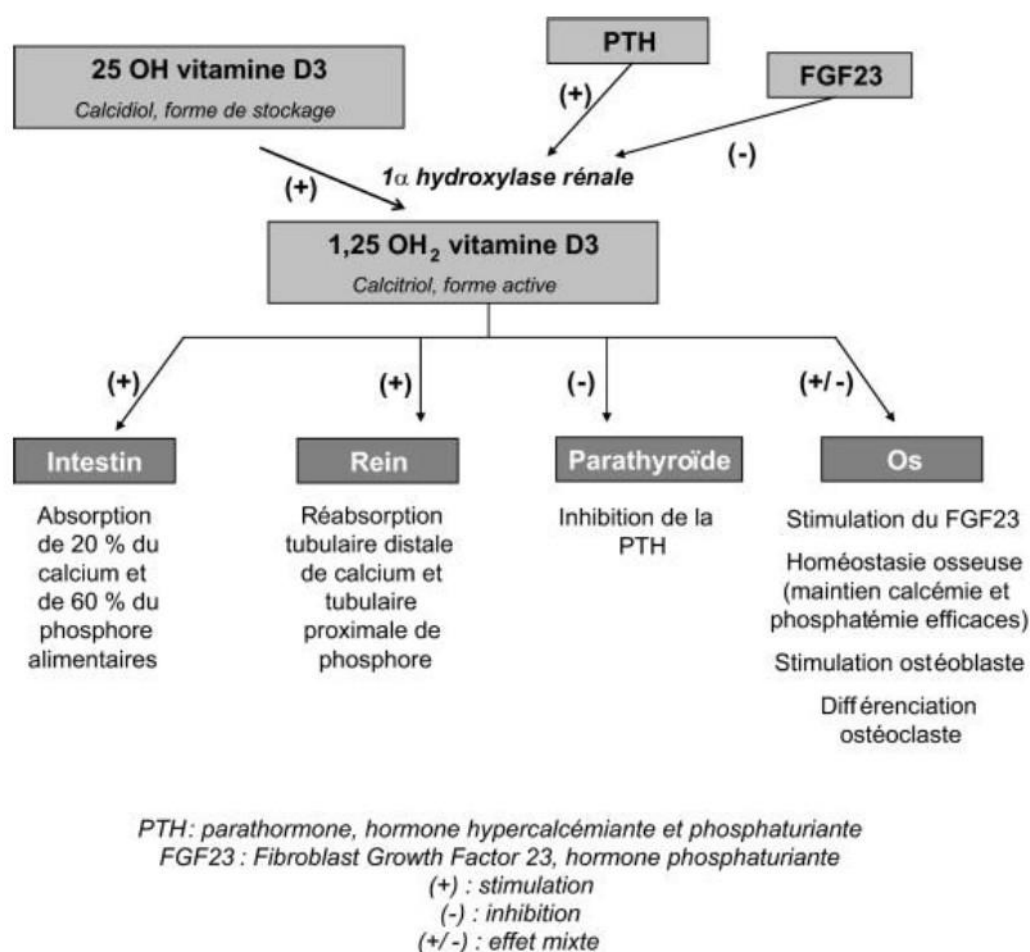


Figure 7: Action de la vitamine D

3.2. Rôle extra-osseux, action autocrine ou paracrine :

Ils sont étudiés depuis la découverte des Vitamin D Receptor (VDR) dans de nombreuses lignées cellulaires et de la présence de la 1 α -hydroxylase ailleurs que dans le rein (29).

La 1 α -hydroxylase de chaque tissu permet de fabriquer à partir de la 25(OH)D circulante, leur propre 1,25(OH)₂D qui agit ensuite de manière autocrine (figure 5).

3.2.1. Vitamine D et fonction musculaire

Il est bien connu que le rachitisme/ostéomalacie s'accompagne de douleurs et faiblesse musculaires. Plusieurs études d'observation ont retrouvé une association très significative entre des concentrations sériques basses de 25OHD et une sarcopénie, en particulier chez les sujets âgés (30). Ceci ne veut toutefois pas dire qu'il y a une relation de causalité et la 25OHD basse pourrait n'être qu'un marqueur d'un mauvais état général.

Cependant, plusieurs études d'intervention ont montré qu'une supplémentation en vitamine D améliorerait les performances musculaires des sujets âgés carencés (facilité à se lever d'une chaise sans l'aide des mains, amélioration de la vitesse de déplacement sur une courte distance) (31) et réduisait le risque relatif de chutes (ce qui explique en partie la diminution du risque de fractures périphériques) (32). Cet effet bénéfique de la vitamine D pourrait être lié d'une part à un effet direct sur la taille des fibres musculaires de type 2 (33) et d'autre part à une activation de la protéine kinase C qui favorise l'augmentation du pool calcique intracellulaire nécessaire à la contraction musculaire (34).

3.2.2. Vitamine D et cancers

Le lien entre carence en vitamine D et cancer a été évoqué dès les années 1940, après qu'on ait constaté une prévalence plus grande de cancer chez les patients faiblement exposés au soleil et ceux vivant en haute altitude.

Des études d'observation (études cas-témoin ou études prospectives de cohorte) ont montré que les sujets qui avaient les plus forts apports en vitamine D et/ou les plus fortes concentrations de 25OHD, avaient un risque relatif de cancers surtout colorectaux (35,36), mais aussi de la prostate (37), du pancréas (38), du

poumon (39), significativement plus que les sujets qui avaient des faibles apports de vitamine D et/ou des concentrations de 25OHD basses.

Alors qu'une étude chez 36 000 femmes américaines qui ont reçu soit 400 U de vitamine D et 1g de calcium par jour, soit un placebo, n'a pas montré de réduction du risque de cancer du côlon (40), une étude plus récente chez plus de 1100 femmes ménopausées ayant reçu soit un placebo, soit du calcium, soit du calcium + de la vitamine D à dose plus forte que d'habitude de 1100 UI/J, a montré une réduction de 60 % du risque de cancers dans le groupe calcium + vitamine D par rapport au groupe placebo (41). Notons toutefois que, d'une part, cette étude n'était pas initialement prévue pour étudier le risque de cancer, et que, d'autre part, le nombre de cas de cancers (20/288 soit 6,9 % dans le groupe placebo et 13/446 soit 2,9 % dans le groupe calcium + vitamine D) était faible. Ces résultats nécessitent donc d'être confirmés dans de nouvelles études qui utiliseront des doses « fortes » de vitamine D avec et sans calcium, pour des durées plus longues.

En se basant sur de nombreuses études expérimentales (culture cellulaire, modèles animaux...), il apparaît que l'explication la plus probable de cet effet anti-tumoral est lié au fait que dans certains tissus, la 1,25(OH)₂D régule un certain nombre de gènes qui contrôlent la prolifération cellulaire, et stimule d'autres gènes qui, eux, inhibent l'angiogenèse et induisent l'apoptose des cellules tumorales (42,43).

3.2.3. Vitamine D et système immunitaire

Globalement, de nombreuses études expérimentales sont en faveur d'une inhibition de l'immunité acquise et d'une stimulation de l'immunité innée par la vitamine D. Le VDR et la 1 alpha-hydroxylase sont présents dans les lymphocytes T et B, les macrophages et les cellules présentatrices d'antigène. Les études montrent que la 1,25(OH)₂D réduit la prolifération lymphocytaire et la production de certaines

cytokines (44) et peut atténuer ou même prévenir différentes maladies dans des modèles animaux, principalement murins d'encéphalomyélite (modèle de la sclérose en plaques) (45), de lupus (46), de polyarthrite rhumatoïde (47), de diabète de type 1 (48).

Le mécanisme de ces effets immunorégulateurs est en partie lié à la stimulation de la synthèse de TGF β 1 et d'IL4 (49) et nécessite la présence de calcium (50). Ces résultats sont cohérents avec ceux de nombreuses études épidémiologiques montrant une relation entre une plus grande fréquence de certaines maladies auto-immunes, diabète de type 1 (51,52), sclérose en plaques (53), polyarthrite rhumatoïde (54) et, soit de faibles apports de vitamine D, soit des concentrations basses de 25OHD.

Concernant l'immunité innée, on sait maintenant que les macrophages ou les monocytes exposés à un agent infectieux comme le bacille de la tuberculose, surexpriment le « toll-like receptor 2 », le VDR et la 1-alpha hydroxylase.

À condition que la concentration de 25OHD dans le liquide extracellulaire de ces cellules soit suffisante, elles vont former de la 1,25(OH) $_2$ D qui va induire la production de protéines, en particulier la cathélicidine, que l'on peut considérer comme des antibiotiques naturels, et qui vont détruire l'agent infectieux (55). Ce mécanisme explique (au moins en partie) la relation entre la fréquence de la tuberculose et des concentrations basses de 25OHD retrouvée dans des études épidémiologiques (56).

- **Diabète :**

L'effet de la vitamine D sur l'activité des cellules β du pancréas a été montré in vitro. La vitamine D stimule la sécrétion d'insuline. Une diminution de la vitamine D s'accompagne d'une augmentation de la glycémie et d'une diminution de la sécrétion d'insuline associée à une insulino-résistance (57).

Des études épidémiologiques ont montré un lien significatif entre la quantité de vitamine D absorbée la première année et la survenue d'un diabète à l'adolescence (en moyenne 14 ans). L'administration de vitamine D à 2000 UI/j pendant la première année de vie a permis de diminuer le risque de diabète de type 1 de 80% sur un suivi de 31 ans. Le rachitisme de la première année était fortement corrélé au risque de diabète (RR=3). Les facteurs sociaux influençaient l'observance à la supplémentation (58).

Une autre étude chez des Norvégiennes enceintes a montré une diminution du risque de diabète chez leurs enfants par l'ingestion d'huile de foie de morue, produit très concentré en vitamine D (59).

Un essai contrôlé randomisé réalisé chez 90 sujets diabétiques, a comparé le statut glycémique chez des patients recevant soit 300mg de calcium par jour, soit 1000 UI de vitamine D et 300 mg de calcium par jour, soit 1000 UI de vitamine D et 500 mg de calcium par jour. Chez les patients recevant de la vitamine D, une amélioration du statut glycémique a été observée. Dans le groupe vitamine D et calcium 500 mg et dans le groupe vitamine D et Calcium 1000 mg, l'hémoglobine glyquée a diminué respectivement de $0.4 \pm 1.2\%$ ($P < 0.001$) et de $0.4 \pm 1.9\%$ ($P < 0.001$) (60).

- **Sclérose en plaques :**

Plusieurs études épidémiologiques ont montré que les personnes qui ont vécu sous 35 degré de latitude Nord et Sud (plus exposés au soleil) dans les 10 premières années de leur vie ont un risque de développer une sclérose en plaques diminué de 50 % (59). Dans des études expérimentales réalisées sur des modèles murins d'encéphalomyélite, l'administration de la vitamine D avant l'induction de

l'encéphalomyélite prévenait son apparition et permettait également de diminuer la fréquence des poussées (61,62).

Grace à son action immunosuppressive, la 1,25(OH)₂D₃ permet la normalisation de la réponse des cellules T et donc l'inhibition de l'auto-immunité impliquée dans la sclérose en plaque. Les recherches ont montré qu'un manque de vitamine D dans le thymus au début de la vie limite le processus de destruction des lymphocytes T qui reconnaissent le soi. Ces cellules survivent alors et engendrent une réponse auto-immune contre l'enveloppe myélinisée des fibres nerveuses (63,64). D'autres études génétiques ont montré que la vitamine D interagit avec une variante de gène HLA-DRB1, l'allèle HLA-DRB1*1501, qui dispose d'un élément de réponse à la vitamine, et qui est associé à la sclérose en plaque (65,66).

3.2.4. Vitamine D et système cardio-vasculaire

Plusieurs études d'observation rapportent une association entre risque cardiovasculaire et concentrations basses de 25OHD (67;68), mais la relation de causalité n'est pas définitivement établie. Certaines de ces études ont confirmé cette association après ajustement statistique pour des facteurs confondants comme l'obésité, l'inactivité physique, la consommation d'alcool ou de tabac. Ce point est important car ces facteurs sont tous des facteurs de risque cardiovasculaires et certains (l'obésité et la sédentarité) sont particulièrement associés à des concentrations basses de 25OHD. Parmi les mécanismes qui pourraient expliquer les effets de la vitamine D sur le risque cardio-vasculaire, on peut noter :

- un effet de la vitamine D sur la pression artérielle. En effet, la 1,25(OH)₂D contrôle l'expression du gène de la rénine (69) et les souris dont le gène du VDR est invalide ont une hypertension artérielle avec rénine élevée. Des études d'intervention ont montré qu'une exposition à des rayonnements

UVB (versus des UVA) (70) ou la prise de vitamine D (versus un placebo) (71) pouvait réduire significativement la pression artérielle chez des patients hypertendus ;

- un effet possible sur le risque de diabète de type 2 via une amélioration de la sensibilité à l'insuline et de l'intolérance au glucose (72).

3.2.5. Vitamine D et le système nerveux

Les récepteurs à la vitamine D (VDR) sont présents dans l'ensemble du cerveau et la vitamine D module l'expression de facteurs neurotrophiques favorisant la neurotransmission et la plasticité synaptique. Le VDR est présent au niveau de l'hippocampe, hypothalamus, système limbique, neurones, cellules gliales, expliquant l'action de la vitamine D sur le système nerveux central. Elle participe à ce niveau à la régulation du métabolisme des neurotransmetteurs [dopamine, acétylcholine, sérotonine] et à la régulation de la synthèse de facteurs comme le NGF [Nerve Growth Factor] ou le GDNF [Glia I Cell line–derived Neurotrophic Factor] (73).

La vitamine D agit également sur le système nerveux périphérique où elle influence les vitesses de conduction nerveuse. Elle posséderait des propriétés neuro–protectrices, anti–dégénératives et vasculoprotectrices (74,75). Elle possède des actions sur la prolifération et la différenciation cellulaires, sur les réponses immunitaire et inflammatoire et les processus infectieux (75, 76,77).

Plusieurs études ont montré l'existence d'une association entre l'insuffisance en vitamine D et l'atteinte cognitive globale chez la personne âgée, (78) ainsi que d'autres maladies comme le Parkinson (79) et l'Alzheimer (80). Un déficit en vitamine D au cours de la grossesse pourrait être impliqué dans le développement de la maladie d'autisme chez les nouveau-nés (81,2).

La vitamine D possède également des propriétés anti convulsivantes intéressantes dans l'épilepsie. Des taux faibles en vitamine D ont été associés à

certain cas de mort subite inattendue par épilepsie (82). D'un point de vue expérimental, il a été démontré que la vitamine D stimule l'expression de calcium binding protéin également connue pour exercer un effet antiépileptique (83).

4. Dosage de la vitamine D :

Compte tenu de sa régulation (Cf 2.4), le dosage de la 1,25(OH)₂ D ne permet pas d'évaluer le statut vitaminique D. Seul le dosage de la 25(OH)D permet d'apprécier les stocks de l'organisme (84,85).

- **Facteurs pré analytiques :**

Il n'y a pas d'argument évident pour utiliser préférentiellement tel ou tel type d'échantillon (sérum ou plasma). En pratique c'est le sérum qui est le plus utilisé. Il existe toutefois des travaux qui ont mis en évidence des causes d'erreurs avec les dosages de 25-(OH)-vitamine D en chromatographie HPLC ou en spectrométrie de masse lorsque l'échantillon est recueilli sur des tubes à gel (86). Même si cela n'est pas rapporté avec les immunodosages, il est conseillé d'éviter les tubes à gel quelle que soit la méthode de dosage utilisée.

La 25 (OH) D est extrêmement stable dans le sérum, probablement en raison de sa liaison à la vitamin D binding protein (DBP), rendant inutiles des précautions particulières pour la conservation des échantillons. En pratique, si le dosage est effectué dans la journée, l'échantillon (décanté) peut rester à température ambiante. Si le dosage est effectué un autre jour, il est conseillé de conserver le tube décanté à -20°C.

- **Facteurs analytiques :**

Deux formes de suppléments vitaminiques D sont disponibles sur le marché, la vitamine D₂ et la vitamine D₃. Il est donc important de choisir une technique de dosage qui mesure les deux formes, car Il n'est pas toujours facile de savoir ce que

les patients ont pris. Une technique qui ne dose que la 25-(OH)-vitamine D3 sous-estimera obligatoirement la concentration de 25-(OH)-D d'un patient qui prend de la vitamine D2 (87).

Pour éviter cette sous-évaluation avec un risque de faux diagnostics de l'hypovitaminose D, il est préférable que la demande de dosage de 25-(OH)-vitamine D soit libellée sur l'ordonnance de la façon suivante : « dosage de 25-(OH)-vitamine D (D2 + D3) ».

Pour les laboratoires qui utilisent une technique qui rend des concentrations séparées pour la 25-(OH) D2 et la 25-(OH) D3 (techniques HPLC ou spectrométrie de masse), il est impératif que la somme des deux formes apparaisse comme résultat principal sur le compte rendu des résultats (88).

4.1. Les valeurs de référence :

Les valeurs de référence pour les paramètres biologiques sont généralement basées sur une population « en bonne santé ». Pour la vitamine D3, un consensus, admis par des experts, estime que les valeurs de référence doivent correspondre à des taux pour lesquels on constate des effets bénéfiques (réduction du risque de fractures, de chutes ou autres), sans provoquer d'effets délétères sur la santé (élévation de PTH par exemple). La valeur de référence préconisée est nettement supérieure aux valeurs trouvées dans une population en bonne santé qui fluctuent en fonction de la saison, de la latitude, de l'altitude et de l'ethnie notamment.

Tableau 3 : Valeurs recommandées de la vitamine D selon le GRIO (89).

Statut en 25OHD	Concentration	
	ng/ml	nmol/l
Carence	<10	< 25
Insuffisance	10 à 30	25 à 70
Taux recommandés	30 à 70	> 75
Possible intoxication	>150	>375

4.2. Techniques de dosage de la 25(OH) D totale :

4.2.1. Les différentes techniques :

Actuellement, deux types de méthodes sont utilisés, les méthodes immunologiques et les méthodes séparatives, non immunologiques, à détection directe (Tableau 4).

Les méthodes immunologiques compétitives consistent en un système de dosage dans lequel la 25(OH) D et un traceur marqué entrent en compétition pour la reconnaissance par un anticorps anti 25(OH)D. Les marqueurs peuvent être des isotopes (méthodes radioimmunologiques), des enzymes (méthodes enzymoimmunologiques) ou des molécules phosphorescentes (méthodes luminoimmunologiques).

Les méthodes séparatives, non immunologiques, à détection directe, reposent sur un processus de séparation physique des molécules à analyser, par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) ou spectrométrie de masse.

En France, les techniques radioimmunologiques tendent à disparaître au profit de techniques automatisées enzymoimmunologiques ou luminoimmunologiques.

Les techniques séparatives (HPLC et spectrométrie de masse) en raison d'une technicité lourde et difficile sont actuellement plutôt réservées à la recherche ou la toxicologie (90).

Tableau 4 : Principales techniques de dosage de la vitamine D

Techniques d'immunoanalyse manuel
Diasorin radioimmunoassay RIA
IDS enzyme immunoassay EIA, ELISA
IDS RIA
Techniques d'immunoanalyse automatisé
Diasorin Liaison CLIA
Diasorin Liaison Total CLIA
Roche Elecsys ECLIA
Méthodes à détection directe
HPLC UV

a. Les techniques d'immunoanalyse :

Ces techniques sont les plus répandues disponibles sous forme de kits commerciaux pour l'usage manuel ou sur plateformes automatisées. Elles reposent sur la spécificité de la réaction Ag–Ac (91), et utilisent des anticorps spécifiques à la 25OHD. Ce sont des méthodes en phase hétérogène, la mesure de la réaction révélatrice se fait après séparation des formes liées et libres. Le dosage immunologique est toujours précédé par une étape d'extraction visant à dissocier la 25OHD de ses protéines de liaison VDBP (92). Selon le traceur utilisé, on distingue divers types de méthodes présentées ci-dessous :

- **Dosage Radio-Immunologique RIA**

Cette technique utilise la 25OHD marquée à l'iode ^{125}I (le traceur), et un anticorps spécifique qui reconnaît de façon égale la 25OHD₂ et la 25OHD₃. La 25OHD marquée entre en compétition avec la 25OHD dans l'échantillon vis-à-vis des sites de fixation de l'anticorps. La séparation du complexe marqué se fait par précipitation via l'ajout d'un deuxième anticorps. La radioactivité du complexe marqué est inversement proportionnelle à la concentration de la 25OHD dans l'échantillon. (Diasorin RIA, IDS RIA) (93,94).

- **Dosage immunologique compétitif par chimiluminescence CLIA**

C'est aussi un dosage par compétition utilisant un anticorps co-spécifique (25OHD₂ et D₃) fixé sur des particules magnétiques (phase solide), et de la 25OHD liée à un dérivé isolumineux (le traceur). Après élimination des formes non liées par un cycle de lavage, les réactifs déclenchant la réaction de chimiluminescence sont ajoutés et le signal lumineux produit est mesuré par un photomultiplicateur. Son intensité est inversement proportionnelle à la concentration en 25OHD (Diasorin Liaison, Diasorin Liaison Total, et récemment depuis 2009 IDS iSYS) (96,95).

- **Dosage immuno-enzymatique EIA**

C'est un dosage compétitif dans lequel la 25OHD de l'échantillon, entre en compétition avec la 25OHD marquée à la biotine vis-à-vis des sites de fixation d'un anticorps spécifique (25OHD₂ et D₃) fixés sur des puits de microtitration. Après incubation, aspiration et lavage, une enzyme (peroxydase de raifort) marquée par l'avidine est ajoutée. Elle se fixe sélectivement sur la biotine complexée. La révélation se fait par addition d'un substrat chromogène TMB (3,3', 5,5' TetraMéthylBenzidine): l'intensité de la couleur développée est inversement proportionnelle à concentration de la 25OHD (IDS EIA) (95).

- **Dosage immunologique par électro-chimiluminescence ECLIA**

Dans ce type de dosage, la réaction de chimiluminescence est déclenchée par un courant électrique, c'est le principe de la technique utilisée dans le présent travail (97).

b. Les méthodes à détection physique :

Il s'agit des techniques chromatographiques : Chromatographie liquide à haute performance HPLC et Chromatographie liquide couplée à la spectrophotométrie de masse LC-MS.

Une phase de déprotéinisation, extraction puis purification, précède la séparation qui se fait en phase inverse. La HPLC emploie une détection UV à la longueur d'onde de 265 nm. La LC-MS emploie un détecteur de masse soit à ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI pour atmospheric pressure chemical ionisation) ou à ionisation par électrospray (ESI ou electrospray ionisation). Ces méthodes ont pour avantage l'usage d'un étalon interne pour corriger les pertes éventuelles d'échantillons dues aux méthodes d'extraction (95,96,2).

4.2.2. Technique de référence et standardisation des techniques de dosage :

Certaines techniques de dosage présenteraient des interférences surestimant les résultats par manque de spécificité et d'autres les sous estimeraient par manque de sensibilité. Au total, aucun dosage ne semble exempt de problèmes de spécificité ou de sensibilité. Selon le Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine (JCTLM), il n'existe pas à ce jour de méthode de référence pour doser la 25(OH) D3 et la 25(OH)D2, ce qui rend difficile la standardisation des méthodes et la comparaison des techniques entre elles.

Toutefois, le National Institute of Standards and Technology (NIST) a développé une technique de spectrométrie de masse en tandem couplée à une chromatographie en phase liquide à l'aide de laquelle il propose un matériau de

référence (SMR972) présentant des valeurs certifiées de 25(OH)D₂, 25(OH)D₃ et 3-epi-25(OH)D (isomère inactif de la vitamine D) (26). Les problèmes de standardisation des dosages devraient donc être résolus dans les années à venir (89,98).

Ce manque d'homogénéité est à l'origine de différences de mesures observées entre laboratoires et entre méthodes et l'établissement du statut vitaminique D des patients dépend du laboratoire où il est réalisé. Le développement récent d'une technique de référence et des efforts de standardisation des méthodes de dosage sont attendus pour améliorer la définition et la prise en charge de l'hypovitaminose D (99,100).

4.2.3. Fiabilité des mesures :

L'appréciation des performances analytiques des dosages (justesse, fidélité et exactitude) à partir des données publiées repose donc sur des informations obtenues en absence de méthode ou de matériau de référence. Ces travaux utilisent des moyennes tronquées, toutes techniques confondues, dans les programmes d'évaluation externe de la qualité où 85 % des laboratoires utilisent des méthodes compétitives (99,101).

Les coefficients de variation observés en 2008 lors d'un contrôle externe de la qualité des dosages réalisé par DEQAS (International vitamin D quality assessment scheme) sur 5 échantillons auprès de 437 laboratoires étaient de 11 à 25 % (101).

4.2.4. Sensibilité et spécificité des dosages

A priori, toutes les méthodes disponibles peuvent détecter la 25(OH) D₂ et la 25(OH) D₃. Cependant, la proportion de 25(OH) D₂ détectée varie en fonction des techniques utilisées, les méthodes séparatives apparaissant supérieures aux méthodes compétitives. La « faible » performance des techniques de dosage mise en évidence dans les publications résiderait notamment sur l'existence d'interférences,

leur mauvaise spécificité et leur manque de standardisation par rapport à un matériau de référence ou une technique de référence de niveau supérieur (101).

Ainsi l'Afssaps a émis des recommandations concernant la spécificité des dosages de vitamine D à destination des biologistes. Elle y mentionne les différences de spécificité et les réactions croisées mentionnées par les fabricants et recommande aux biologistes de vérifier la pertinence des résultats au regard des traitements prescrits et du dispositif de diagnostic in vitro utilisé (97).

II. HYPOVITAMINOSE D

1. Définition :

Le stock en vitamine D de l'organisme est reflété par le taux sanguin de 25(OH) D qui est considéré au niveau international comme le meilleur marqueur du statut de l'organisme en vitamine D.

Le taux sanguin optimal du (25(OH) D) se situe entre 30 et 70 ng/ml. Lorsqu'un déficit est observé, on parlera soit d'insuffisance, soit de carence, selon la gravité du déficit (Tableau 3).

L'insuffisance est définie par un taux sérique de 25(OH)D entre 10 et 30 ng/ml. Elle constitue un facteur favorisant l'ostéoporose, par l'hyperparathyroïdie secondaire qu'elle cause. L'augmentation du risque de chute chez la personne âgée résultant d'une atteinte musculaire squelettique fait également partie des conséquences bien documentées d'un tel manque.

Lorsqu'ils sont présents, les signes cliniques de l'insuffisance en vitamine D les plus communément retrouvés chez l'adulte sont les douleurs et la faiblesse musculaire des ceintures, des cuisses, du gril costal et des pieds. Ces symptômes sont parfois attribués, à tort à une fibromyalgie ou à une dépression (102).

La carence est définie par un taux sérique en 25(OH) D inférieur à 10 ng/ml. Lorsqu'elle est sévère et prolongée, elle induit un défaut de minéralisation osseuse, lui-même responsable de rachitisme chez l'enfant et d'ostéomalacie chez l'adulte (102,103).

2. Prévalence

La prévalence du déficit en vitamine D varie selon les seuils retenus pour définir la carence ou l'insuffisance. Toutefois, quel que soit le seuil retenu, l'insuffisance en vitamine D serait largement répandue à travers le monde (104,105,106).

Une revue de la littérature s'intéressant au statut vitaminique D des populations de 6 régions du monde (Asie, Europe, Moyen-Orient, Amérique du Nord, Amérique du Sud et Océanie), rapporte que l'hypovitaminose D est un phénomène très répandu. Les niveaux de 25(OH) D sériques inférieurs à 75 nmol/L sont répandus dans toutes les régions tandis que les taux sériques les plus bas (< 25 nmol/L) touchent davantage les populations de l'Asie du Sud et du Moyen-Orient (107).

Dans le NHANES National Health and Nutrition Examination Survey 2000–2004 aux États-Unis, plus de 30% des participants âgés de 12 ans et plus ont des taux de 25OH vitamine D inférieurs à 20 ng/ml (108).

En France, l'étude SUVIMAX (*Supplémentation en Vitamines et Minéraux*

Antioxydants) a mis en évidence que 14% de la population entière (1579 sujets âgés de 35 à 60 ans) ont une concentration de 25(OH) D inférieure à 12 ng/ml (soit la valeur au-dessous de laquelle il peut exister une ostéomalacie) et 78 % une concentration inférieure à 30 ng/ml (110). En 2007, une autre étude portant sur 1587 sujets sains âgés de 18 à 74 ans et issus de toute la France : 80,1% d'entre

eux ont un taux de 25(OH) D inférieur à 30 ng/ml et 42,5% un taux inférieur à 20 ng/ml (111).

De façon surprenante, une étude montre que le statut vitaminique D des sujets âgés résidant au nord de l'Europe est meilleur que celui des européens du Sud (Espagne, Italie, Grèce) (109), résultats corroborés par plusieurs études européennes. Une des explications est la consommation plus importante de poissons gras et d'huile de foie de morue (riches en vitamine D3) permettant d'atteindre des apports journaliers de l'ordre de 400 UI dans les pays nordiques contre moins de 100 UI environ dans un pays comme la France (111).

Au Maroc, malgré qu'il soit un pays ensoleillé, l'insuffisance en vitamine D touche 91% des femmes marocaines (112). Ceci s'expliquerait essentiellement par le style vestimentaire traditionnel marocain. La prévalence augmente aussi avec l'âge, ceci est dû à une diminution de la production cutanée de la vitamine D, mais aussi aux faibles apports alimentaires. En effet, approximativement la moitié des femmes âgées consomment moins de 137 UI/jour de vitamine D, et à peu près le quart moins de 65 UI/jour (113). Cette prévalence augmente également chez les sujets à peau foncée, avec un indice de masse corporel (IMC) élevé, au cours de la grossesse, en hiver, et elle est influencée également par la latitude (114,115).

3. Facteurs de risque :

3.1. Type de pigmentation :

La synthèse cutanée de vitamine D se fait à partir des rayons UVB qui transforment la pro-vitamine D3 (le 7 déhydrocholestérol) en pré-vitamine D3 (précholecalciférol) (116). La mélanine, responsable de la pigmentation cutanée et du phototype, absorbe une grande partie des rayons UVB, donc plus la peau est

foncée, plus la photosynthèse est difficile. Les personnes avec un phototype foncé ont un taux de vitamine D plus bas que ceux ayant un phototype clair (117).

Une étude chez 90 femmes noires et blanches âgées de 20 à 40 ans, a montré que les femmes noires avaient une concentration en vitamine D plus basse, avec les mêmes variations saisonnières (118).

D'autres études ont montré que les personnes avec la peau très foncée (phototype VI) nécessitaient une exposition 6 fois plus longue que les personnes de phototype II pour produire la même quantité de vitamine D (119).

3.2. L'âge :

Les personnes âgées ont une capacité plus faible à réaliser la photosynthèse cutanée de la vitamine D, leur concentration en pro-vitamine D3 au niveau cutané est plus faible que les personnes jeunes (116). Lors d'une même exposition solaire, elles produisent moins de pré-vitamine D3. Holick et al. ont exposé 6 volontaires âgés de 20 à 30 ans et 6 autres âgés de 62 à 80 ans, de phototype III à une énergie solaire de 32 MJ/cm² sur le corps entier dans une cabine spécialement aménagée émettant un rayonnement entre 260 et 360 nm. Le taux de vitamine D a été mesuré pendant 7 jours.

Chez les sujets jeunes le taux de vitamine D est passé de $2,6 \pm 2,0$ ng/ml à 30 ± 10 ng/ml au bout de 24 heures pour ensuite décroître doucement. Chez les personnes âgées, le taux est passé de $1,5 \pm 1,0$ à $7,6 \pm 2,6$ ng/ml (120). Ces difficultés à synthétiser la vitamine D lorsque la peau vieillit, ont été confirmées depuis par de nombreux auteurs.

3.3. Indice de Masse Corporelle (IMC) :

De nombreuses études montrent que les concentrations de 25(OH)D les plus basses sont significativement associées à un IMC plus élevé.

Une des explications associées à ce phénomène est que l'hyperplasie des cellules adipeuses constatée dans l'obésité engendre une séquestration de la vitamine D dans ces cellules, et diminue sa biodisponibilité. Cela peut aussi être expliqué par une moindre exposition au soleil des personnes en surcharge pondérale. Dans ces cas-là, la prise quotidienne devrait être au moins de 15µg (105).

Certains auteurs montrent également une différence significative du taux de vitamine D selon le sexe : les femmes ayant généralement une masse adipeuse plus importante, auraient des taux de vitamine D plus bas que les hommes (121).

3.4. Le sexe :

La grossesse, la multiparité et l'allaitement entraînent des surconsommations de vitamine D pour assurer la calcification du squelette du bébé sont considérés comme des facteurs de risques supplémentaires d'hypovitaminose D.

3.5. Localisation géographique :

Le taux de vitamine D est significativement corrélé avec la latitude : plus on se rapproche de l'équateur (plus la latitude est basse) et plus le taux de vitamine D est haut (122).

L'étude française SUVIMAX, réalisée chez des sujets de 35 à 65 ans, a trouvé une concentration de 25(OH) D significativement plus haute dans le sud (latitude 43° Nord), que dans le nord (51° Nord) avec respectivement une concentration moyenne de 94_{+/-}38 vs 43_{+/-} 21 nmol/l.

De nombreuses études ont mis en lumière la variabilité du taux de 25(OH)D en fonction de la saison : maximum en été et minimum en hiver (123) .

L'étude de Vieth et al. a particulièrement mis en évidence la variation saisonnière à la latitude 43°Nord chez 796 femmes âgées de 18 à 35 ans, le taux de 25(OH)D était maximum en Août et minimum en Février. Entre Novembre et Avril, la prévalence d'une vitamine D <50 nmol/l était de 20 à 28% alors que de Mai à Septembre elle était à moins de 5%. Le taux de 25(OH)D descendait doucement entre Septembre et Décembre alors qu'il remontait très rapidement entre Avril et Mai, coïncidant avec l'arrivée des beaux jours (122).

Selon la latitude et la saison, les heures dans la journée où les rayons UV sont suffisants pour la photosynthèse de la vitamine D sont très différentes.

Certains auteurs ont étudié la durée d'exposition solaire nécessaire pour produire une dose de 200 à 600 UI/j de vitamine D sans créer d'érythème solaire chez des personnes de phototype clair (Fitzpatrick II) âgées de 19 à 50 ans (124). En Australie, en Janvier (été), une exposition de 15% du corps d'une personne de phototype II, pendant 2 à 14 minutes 3 à 4 fois par semaine à midi suffit pour couvrir les besoins en vitamine D. L'érythème solaire arrive vers 8 min d'exposition. Une exposition de 10 à 15 min 3 à 4 fois par semaine en dehors de la période solaire dangereuse, de 10h à 15h, semblait suffisante pour la photosynthèse D. Ce temps était plus long, de 10 à 30 min, en période hivernale.

3.6. La pollution :

Certaines études ont montré que la pollution notamment par l'ozone, diminuait la photosynthèse de la vitamine D. La pollution absorbe les UVB qui deviennent indisponible pour la synthèse cutanée de vitamine D (116).

3.7. Mode de vie :

- **Vêtements couvrants :**

Plusieurs études ont montré l'impact des habitudes vestimentaires sur la synthèse de la vitamine D. Ainsi les vêtements couvrants préconisés par certaines religions ou selon certaines habitudes culturelles peuvent être source de carence en vitamine D. Plusieurs études épidémiologiques se sont intéressées aux femmes voilées de pays à majorité musulmane ou non avec des taux d'ensoleillement variables. Elles ont toutes constaté une prévalence de l'insuffisance en vitamine D supérieure à celle de la population générale chez ces femmes.

Parmi ces études une enquête de prévalence en région lyonnaise a inclus toutes les femmes de 18 à 49 ans portant des vêtements couvrants consultant en ambulatoire de novembre 2005 à mars 2006. 96 femmes incluses dans l'étude en considérant le seuil de 30 ng/ml, la prévalence de carence est de 99 % avec 72,6 % de femmes symptomatiques. Avec un seuil de 12 ng/ml, en dessous duquel apparaît une hyperparathyroïdie secondaire réactionnelle, responsable d'une diminution du capital osseux, la prévalence était de 82,5 % de femmes dont 71 % symptomatiques (125). Une autre étude a été réalisée début 2008 auprès de 13 médecins généralistes de Rhône Alpes (126), ils ont réalisé un dosage de vitamine D chez 196 femmes (61 voilées et 135 non voilées) : le taux de 25OHD était significativement plus bas chez les femmes porteuses de vêtements couvrants.

- **Les habitudes de protection cutanée :**

On retrouve des disparités au sein des pays européens qui ne sont pas celles auxquelles on pourrait s'attendre. Ainsi, une étude montre que 37,3% des femmes ostéoporotiques en Suède présentent une 25(OH)D inférieure à 30 ng/ml, contre 64,7% en Espagne. Ceci peut être expliqué par le type de peau (phototype clair ou mate), mais aussi par les habitudes de vie, comme par exemple s'abriter du soleil

aux heures les plus chaudes en Espagne. A l'inverse, les habitants des pays scandinaves s'exposent régulièrement au soleil, et sont volontiers utilisateurs de cabines à UV (127).

De même, les mesures de protection vis-à-vis du soleil : porter des manches longues en été, éviter de sortir pendant les heures ensoleillées et utiliser systématiquement des écrans solaires, sont autant de facteurs de risque de présenter une hypovitaminose D.

En effet, l'utilisation de crèmes solaires diminue la production de vitamine D₃ de 92,5% pour un indice Sun Protection Factor SPF 8 et de 99% pour un indice SPF 15 (105).

- **Pratique d'une activité sportive :**

Un facteur de risque reconnu d'être porteur d'une carence vitaminique D est le faible niveau d'activité physique.

L'étude NHANES III montre des chiffres très significatifs en ce sens. Les auteurs supposent que les personnes ayant l'habitude de faire du sport sont amenées à pratiquer plus souvent des activités de plein air que des personnes plus sédentaires (128).

- **Autres paramètres :**

La synthèse cutanée n'est pas l'unique cause d'hypovitaminose D. Les habitudes alimentaires peuvent aussi la favoriser ou au contraire l'éviter. Par exemple, la consommation de produits enrichis ou de compléments alimentaires de type multivitaminés, diminuent la fréquence d'hypovitaminose D. A l'inverse l'anorexie mentale entraîne l'effondrement du taux sanguin de vitamine D.

3.8. Pathologies chroniques :

Les pathologies chroniques induisant une hypovitaminose D sont les suivantes (129) :

- **Malabsorption** : Le tube digestif servant à absorber les précurseurs de la vitamine D, toute pathologie digestive affectera le taux circulant de 25 OHD: Maladie de Crohn, maladie coeliaque, maladie de Whipple, pancréatite chronique, mucoviscidose, obstruction biliaire.
- **Insuffisance rénale chronique** : entraînant un défaut de transformation de la 25(OH) D en 1,25(OH) 2D. Les insuffisances rénales modérées (clairance de la créatinine inférieure à 30 ml/min) entraînent une diminution des taux de vitamine D dans le sang. Les insuffisances rénales sévères et terminales (clairance à la créatinine inférieure à 15 ml/min) entraînent rapidement une hypocalcémie, une hyperparathyroïdie secondaire avec ostéopathies due à des taux de Calcitriol effondrés.
- **Insuffisance hépatique** entraînant un défaut d'hydroxylation de la vitamine D en position 25.
- **Hyperparathyroïdie primaire**, qui engendre un excès de transformation de 25(OH) D en 1,25(OH) 2D, d'où une concentration basse de 25(OH) D.
- **Maladies génétiques** : défaut de production de la 1,25(OH) 2D (rachitisme pseudo-carentiel de type I) ; résistance à la 1,25 (OH) 2D (rachitisme pseudo-carentiel de type II par mutation/délétion récepteur VDR); tubulopathies héréditaires avec perte urinaire de phosphates.
- **Hyperthyroïdie**, responsable d'une accélération du métabolisme de la 25(OH) D.
- **Syndrome néphrotique** entraînant une fuite de 25OHD dans les urines

- **Séquelles de brûlures étendues** diminution de la capacité de la peau à synthétiser la vitamine D3.

3.9. Traitements médicamenteux :

Certains médicaments, comme par exemple les corticoïdes ou les antirétroviraux entraînent le catabolisme de la 25 OHD et du Calcitriol. Ces médicaments augmentent la transformation de 25(OH) D et 1,25(OH) 2D en composés inactifs hydroxylés en position 24.

D'autres traitements médicamenteux entrent en compétition avec le métabolisme de la 25 OHD via le CYP 450, c'est le cas de certains anticonvulsivants (phénobarbital, carbamazépine, phénytoïne), la Rifampicine, le lithium ainsi que les immunosuppresseurs (105).

La supplémentation en vitamine D de ces personnes est donc indispensable.

La colestyramine inhibe l'absorption du cholestérol et diminue ainsi l'absorption intestinale de la vitamine D.

4. Dépistage :

L'utilité du dépistage universel de l'insuffisance en vitamine D n'a, à ce jour, pas été démontrée. On distinguera cependant deux groupes particuliers à cet égard.

D'une part, les patients qui seront supplémentés d'office, et qui ne nécessiteront donc pas d'examen de dépistage ni de monitoring. Sont repris dans ce groupe : les nourrissons, les enfants, les adolescents et les personnes de plus de 70 ans (130,131).

D'autre part, les patients qui nécessiteront un examen de dépistage ainsi qu'un monitoring. Sont repris dans ce groupe : la population dite « à haut risque de déficience », les patients présentant des chutes à répétition, les patients

ostéoporotiques, les patients symptomatiques de déficience ou d'insuffisance en vitamine D et les femmes enceintes (102).

Les adultes ne faisant partie d'aucun de ces deux groupes devront être évalués cas par cas par le praticien, en fonction de leur exposition solaire et de leurs habitudes alimentaires.

L'examen de choix, tant pour le diagnostic que pour le monitoring de la déficience, est le dosage du taux sérique de 25(OH)D. Les dosages du

25(OH)D₂, 25(OH)D₃ et 1,25(OH)₂D sont, quant à eux, exclusivement réservés à certains laboratoires de références, et à ne prescrire que dans de rares cas (lorsque le traitement est un échec par exemple). En cas de suspicion d'ostéomalacie ou de rachitisme, le dosage du calcium urinaire, de la PTH, du calcium sérique, des phosphatases alcalines ainsi que la réalisation de clichés radiologiques sont recommandés.

5. Diagnostic :

5.1. Manifestations cliniques de l'hypovitaminose D :

Les manifestations cliniques de l'hypovitaminose D dépendent de la sévérité et la durée de l'insuffisance.

La majorité des patients ayant une insuffisance légère à modérée en 25OHD entre 15 et 20 ng/mL (37,5 à 50 nmol/L) sont asymptomatiques.

Les patients qui ont une carence vitaminique D (<10 ng/mL ou <25 nmol/L) peuvent avoir un tableau clinique arthromyalgique associant :

- **Des douleurs osseuses** : d'installation insidieuse et d'horaire mécanique, les douleurs sont symétriques, situées au niveau de la ceinture pelvienne et scapulaire puis extensives au niveau thoracique, rachidien et des membres.

- **Des douleurs musculaires** : à type de pesanteur pouvant aller jusqu'à l'impotence fonctionnelle avec une sensation de faiblesse musculaire au niveau des ceintures sans aucun signe neurologique déficitaire (132).

Des études ont montré le lien entre l'hypovitaminose D et douleurs ostéo-musculaires (133), notamment l'une d'elles effectuée en Egypte dans un service de rhumatologie. Soixante patientes se plaignant de lombalgies chroniques ont eu un dosage sanguin de la vitamine D et de la PTH. Les patientes avec des lombalgies chroniques avaient un taux significativement plus bas ($p < 0,05$) de vitamine D que le groupe témoin et un taux plus élevé de PTH ($p < 0,05$) (134).

5.2. Conséquences osseuses de l'hypovitaminose D :

5.2.1. Rachitisme carentiel

Il peut être défini comme une maladie du squelette de l'enfant en croissance due à un défaut de sa minéralisation en rapport avec un déficit sévère et prolongé en vitamine D. Il est caractérisé par une hypertrophie anarchique du cartilage de croissance des régions métaphyso-épiphysaires (135).

Le déficit en vitamine D entraîne une diminution de l'absorption digestive du calcium et du phosphore. L'hypocalcémie est responsable d'une sécrétion de PTH qui augmente la réabsorption tubulaire du calcium et le remodelage osseux pour tenter de maintenir la calcémie dans des valeurs normales. Ces anomalies conduisent à un défaut de minéralisation osseuse.

Sur le plan clinique, les enfants porteurs de rachitisme présentent des déformations osseuses (thoracique ou en varus des membres inférieurs), un retard à l'éruption dentaire, une hypotonie musculaire, des broncho-pneumopathies récidivantes et des troubles de rythme cardiaque. Les déformations et la déminéralisation osseuse sont visualisées sur les radiographies, les noyaux apophysaires sont petits et flous. (Figure 9,8)

L'exploration du métabolisme phosphocalcique montre une augmentation des phosphatases alcalines (signe l'accélération du renouvellement osseux), une calcémie et phosphatémie normales ou abaissées, la PTH est normale au début puis le taux devient élevé avec l'évolution, une 25(OH) D abaissées. Ces anomalies sont associées à une hypocalciurie et une hyperphosphaturie.

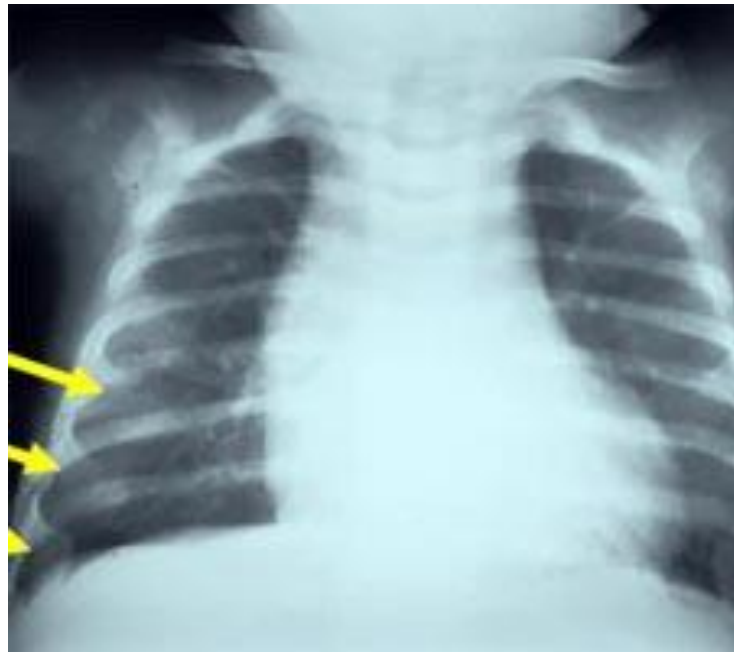


Figure 8 : Aspect en chapelet costal



Figure 9 : Déformation des 2 membres inférieurs « en parenthèse »

5.2.2. Ostéomalacie :

C'est un défaut de minéralisation osseuse avec accumulation de tissu ostéoïde (136, 137,138), à l'origine d'une fragilité osseuse avec risque de fractures (138). Le tableau clinique associe : des douleurs osseuses, asthénie, altération de l'état général et faiblesse musculaire proximale. Le diagnostic positif repose sur un faisceau d'arguments cliniques, biologiques et radiologiques.

- **Biologie :**

- Augmentation des phosphatases alcalines : signe constant
- Effondrement de la 25[OH] D < 10 ng/ml
- Hypocalcémie
- Diminution de la calciurie
- Phosphatémie normale ou basse

- Augmentation de la PTH dans les formes évoluées
- Radiologie :

Les radiographies montrent une hyper transparence osseuse particulière par l'aspect flou, « cotonneux » des contours et de la structure osseuse, donnant l'impression que les clichés sont de mauvaise qualité, et par le manque de contraste entre l'os et les tissus mous.

Les fissures ou stries de Looser-Milkman, (Figure 10) réalisent des images linéaires, transparentes, perpendiculaires à la corticale osseuse, entourées de zones opaques siégeant préférentiellement au bassin, fémur, côtes, omoplate et clavicule. Ce sont des signes tardifs de l'ostéomalacie comme les déformations osseuses et/ou les fractures multiples.

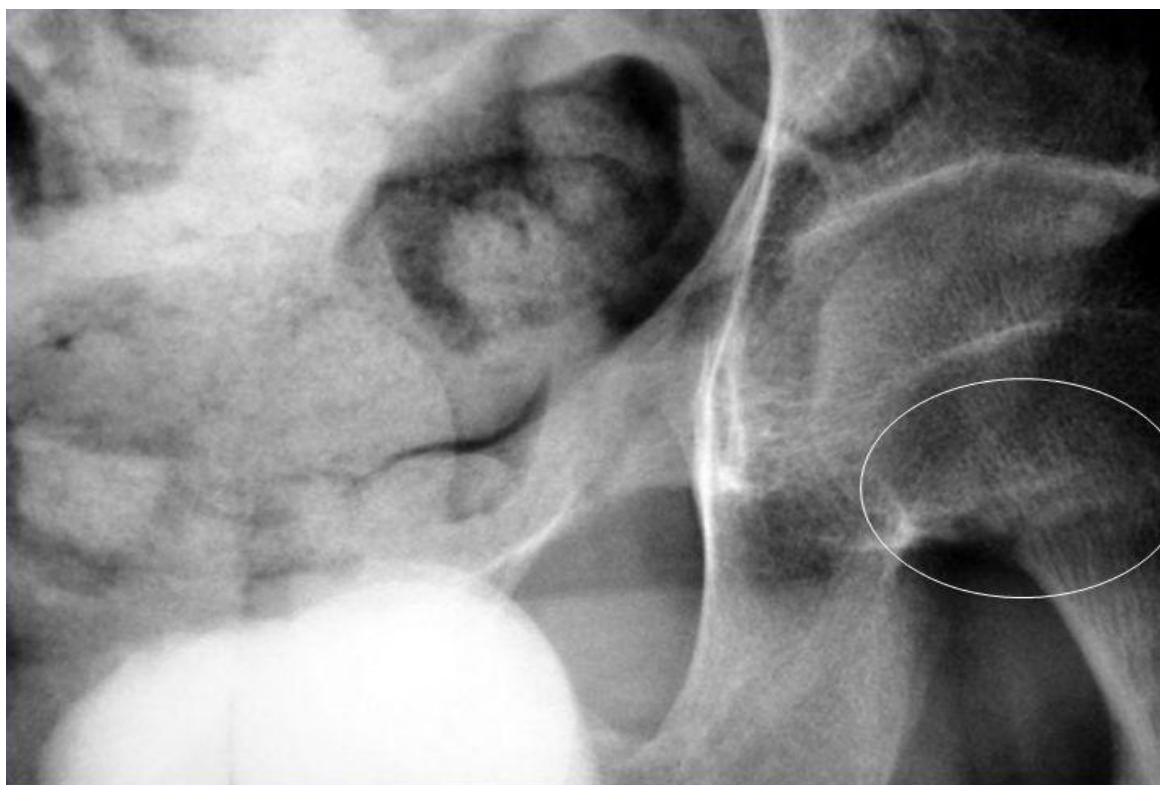


Figure 10 : Les stries de Looser-Milkman

5.2.3. Ostéoporose et risque fracturaire :

La vitamine D est également impliquée dans l'ostéoporose qui est caractérisée par une diminution de la masse osseuse et une altération de la microarchitecture du tissu osseux. Il en résulte une augmentation de la fragilité osseuse et du risque fracturaire. L'ostéoporose est diagnostiquée suite à l'examen d'ostéodensitométrie qui permet d'attribuer un score appelé T-score qui compare la densité minérale osseuse (DMO) du sujet à celle de femmes de moins de 30 ans ayant un capital osseux maximum.

Le rôle de la vitamine D dans la prévention de l'ostéoporose a été étudié dans des études sur la densité minérale osseuse et le risque fracturaire :

Quelques études suggèrent une relation positive entre les apports en vitamine D et la densité minérale osseuse. L'association positive entre 25(OH) D et DMO atteint un plateau entre 36 et 40 ng/ml ; au-delà, cette association n'existe plus, voire s'inverse (117).

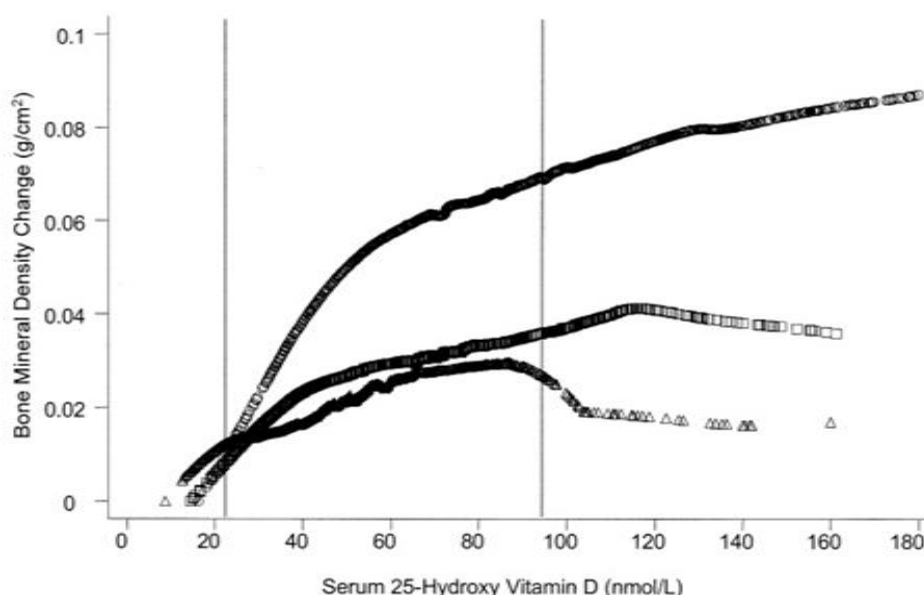


Figure 11 : Relation entre 25OHD et DMO chez les adultes de 20 à 49 ans (117).

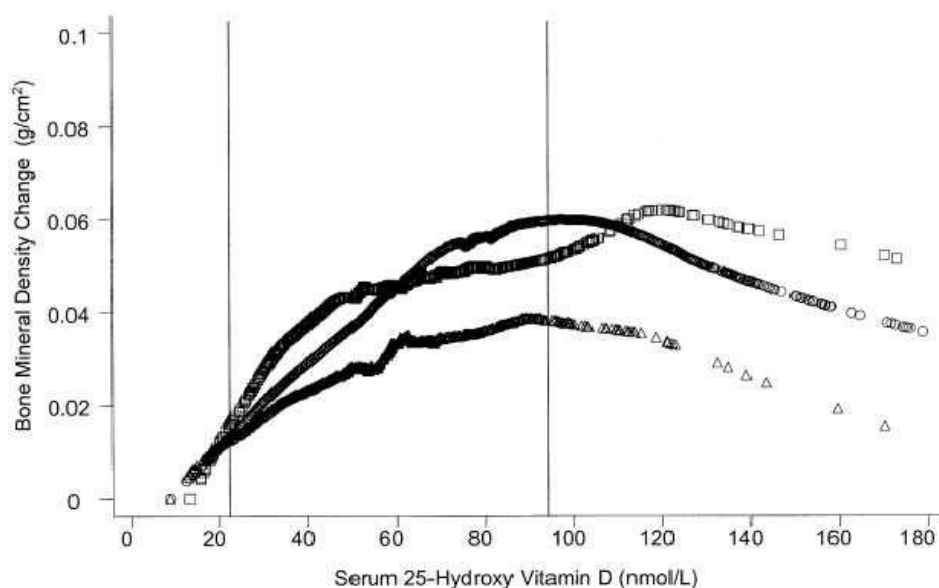


Figure 12 : Relation entre 25OHD et DMO chez les adultes de plus de 50 ans (117).

Plusieurs études d'intervention ont évalué l'effet d'une supplémentation en vitamine D associée ou non à du calcium sur la diminution du risque des fractures périphériques. Une des premières grandes études randomisées est celle de Chapuy et al publiée en 1992 : chez 3270 femmes françaises ambulatoires de 65 à 85 ans, recevant 1200 mg de calcium et 800UI de vitamine D3 par jour pendant un an et demi, le risque de tassement vertébral a été diminué de 43% et le risque de fracture non vertébrale de 32% par rapport au groupe recevant un placebo (139).

Depuis, deux méta-analyses ont confirmé cette étude. La première est celle de Bischoff-Ferrari et al parue en 2005 (140), elle fait la synthèse de 12 études contrôlées, randomisées, en double aveugle, de la supplémentation en vitamine D (associée ou non au calcium) versus un placebo ou du calcium seul chez des sujets de plus de 60 ans. Elle conclue à une diminution du risque relatif de fracture pour une dose quotidienne supérieure à 700–800UI. Aucun effet antifracturaire n'est noté dans les études ayant utilisé 400UI par jour. Bischoff-Ferrari arrive à la conclusion

qu'il faut un taux de 25OHD supérieur à 30 ng/ml pour un effet antifracturaire (141).

La seconde méta-analyse de Tang et al (142) conclut que l'effet antifracturaire est plus prononcé chez les sujets de plus de 70 ans que chez ceux de 50 à 70 ans, ainsi que chez les sujets qui ont une concentration de vitamine D basse au début de l'étude. Enfin, même si cela peut paraître évident, le risque de fracture est d'autant plus diminué que l'adhérence au traitement est bonne.

On peut conclure que la supplémentation en vitamine D à 800 UI par jour, pour atteindre un taux sérique d'au moins 30ng/ml de 25OHD, a un effet préventif sur les fractures ostéoporotiques. Cet effet est plus marqué chez les personnes les plus âgées et ayant une carence initiale en vitamine D. L'effet est également majoré en cas d'association avec le calcium. Cette supplémentation est donc à recommander chez toutes les personnes âgées de plus de 70 ans ou ayant des facteurs de risque d'ostéoporose.

5.2.4. Risque de chutes :

Après l'âge de 65 ans, une personne sur trois chute tous les ans. Environ 10% de ces chutes sont compliquées de traumatismes ou d'hospitalisation. L'amélioration de la force musculaire entraîne une diminution du risque de chute. Bischoff–Ferrari a montré dans une méta-analyse en 2004, que la supplémentation en vitamine D permettait de réduire le risque de chute de 22% chez les personnes âgées comparée au calcium seul ou placebo (143).

Même constat dans un essai randomisé en double aveugle, portant sur des femmes âgées en long séjour gériatrique, ont permis de constater une réduction de près de 50 % du risque de chute après 3 mois de traitement par une association calcium–vitamine D comparé au calcium seul (145, 146,147).

Dans une autre étude, une supplémentation en vitamine D d'au moins 800 UI par jour avec un apport régulier (au maximum espacé de 3 mois), associée à un apport suffisant de calcium, améliore la force musculaire et diminue le risque de chute chez la personne âgée (145, 146).

Cet effet bénéfique de la vitamine D sur la force musculaire pourrait être lié :

- Effet direct sur la taille des fibres musculaires
- Activation de la protéine kinase C qui favorise l'augmentation du pool calcique intracellulaire nécessaire à la contraction musculaire (144).

5.3. Diagnostic biologique :

5.3.1. Liens entre vitamine D, PTH et calcium :

La PTH augmente quand le taux de 25(OH)D descend en dessous de 75 nmol/l (30 ng/ml) et la définition de l'hypovitaminose D doit prendre en compte les effets délétères sur l'os. Le seuil de 75 nmol/l pour la 25(OH) D a été retenu pour cette raison (147).

Il est admis qu'une concentration en vitamine D < 30 nmol/l (12 ng/ml) s'accompagne d'ostéomalacie (105, 136, 27).

L'insuffisance en vitamine D induit une élévation de la sécrétion de PTH et la PTH diminue chez ces sujets lorsqu'on leur donne de la vitamine D. Une étude a mesuré le taux de vitamine D dans une population de référence, en excluant tous les sujets ayant une vitamine D basse.

La limite supérieure des valeurs de référence de la PTH peut être baissée de 25 à 35%. Si on tient compte du statut vitaminique, la limite supérieure actuelle pour la PTH de 73 ng/l pourrait être diminuée à 55 ng/l voire 48 ng/l (148). Une consommation importante de calcium permet une épargne vitaminique D mais n'est pas suffisante au long cours. Par contre, une alimentation pauvre en calcium aggrave les conséquences du déficit en vitamine D.

Dans une étude transversale, la consommation de calcium alimentaire et le lien avec la PTH et la vitamine D ont été étudiés. L'ingestion de calcium a été classée en 3 niveaux (< 800 mg/j, de 800 à 1200 mg/j et > 1200 mg/j). Chez les personnes avec un taux de vitamine D < 10 ng/ml (25 nmol/l), le taux de PTH était significativement plus élevé quand la consommation calcique était basse < 800 mg par rapport à des ingestas de calcium haut > 1200 mg/j ($p=0,04$). Un taux de 25(OH)D > 18 ng/ml (45 nmol/l) était suffisant pour maintenir un taux de PTH idéal, quelle que soit la consommation calcique. Mais une consommation élevée de calcium, > 1200 mg/j, était insuffisante pour maintenir un taux idéal de PTH en présence d'une insuffisance en vitamine D (149).

5.3.2. Les autres marqueurs biologiques :

L'hypovitaminose D devrait s'exprimer biologiquement par la triade hypocalcémie, hypocalciurie, hypophosphorémie dues à l'hyperparathyroïdie secondaire ; une élévation des phosphatases alcalines (PAL) osseuses et des cross-laps urinaires. Les télopeptides C terminal du collagène de type I (CTX) et les télopeptides N terminal du collagène de type I (NTx) constituent les cross-laps dosés dans les urines et le sang. Ces télopeptides sont de petites protéines libérées lors de la dégradation du collagène osseux. Ce sont de bons marqueurs de la résorption osseuse. Leur concentration dans le sang et les urines est un reflet direct de la perte osseuse observée chez les femmes en période de ménopause (ostéoporose) et chez les patients traités par corticoïdes au long cours.

Plusieurs études ont montré que les examens biologiques de routine, comme la calcémie, la phosphorémie et les PAL n'étaient pas de bons marqueurs prédictifs d'hypovitaminose D.

Peacey et al, dans une étude rétrospective, ont calculé la fréquence de résultats anormaux de ces examens chez des patients avec une ostéomalacie biologique, (25(OH)D <25 nmol/l et PTH >54 ng/l.) La calcémie était normale chez 66% des patients, la phosphorémie chez 81% et les PAL chez

29%. Seulement 6% des patients avaient des résultats anormaux pour ces 3 examens et 20% d'entre eux avait ces 3 marqueurs normaux (150).

Dans l'étude de Steingrimsdottir et al. la calcémie était plus basse chez les patients avec un déficit sévère en vitamine D (<10 ng/ml) que chez les patients en insuffisance (> 18 ng/ml) mais de manière non significative (149).

Dans une étude prospective, Nisbet et al. ont comparé un score clinique aux examens biologiques de routine (25(OH)D, PTH, calcémie, phosphorémie et PAL) pour prédire une ostéomalacie. Celle-ci était confirmée par une biopsie osseuse. Le score clinique a été très sensible mais peu spécifique.

La PTH associée aux PAL ont été les meilleurs marqueurs pour diagnostiquer l'ostéomalacie (151).

La clinique associée au dosage de la vitamine D et de la PTH semble être pour ces auteurs le meilleur moyen d'évoquer et de poser le diagnostic d'ostéomalacie.

5.4. Retard diagnostic :

Le manque de connaissance du tableau clinique de la part des médecins, le caractère subjectif de l'asthénie et des douleurs entraînent fréquemment un retard diagnostic.

Une étude a ainsi montré que le temps entre le début des plaintes et le diagnostic varie de 7 à 103 mois avec une moyenne à 59 mois. Avant le diagnostic, l'ensemble des patients a reçu un traitement par AINS et la majorité a bénéficié de soins de kinésithérapie (152).

Ce temps de latence est également constaté dans une autre étude. Le premier diagnostic évoqué par les médecins était une pathologie psychosomatique dans 90% des cas. Le temps moyen de diagnostic d'une hypovitaminose D est d'environ 30 mois (153).

6. Traitement :

6.1. Traitement pharmacologique

6.1.1. Généralités concernant les différentes spécialités pharmaceutiques :

Il est désormais établi qu'en cas d'exposition solaire insuffisante, une supplémentation médicamenteuse hivernale s'avère nécessaire. Ce traitement est simple et sa forme galénique peut être choisie en fonction de l'observance supposée (supplémentation quotidienne à petites doses ou pluri mensuelle à doses très élevées), peu coûteux, bien toléré et efficace.

Les spécialités contenant de la vitamine D seule sont disponibles sous forme de gouttes, ampoules buvables ou ampoules injectables. L'administration se fera donc le plus souvent par voie orale. La vitamine D seule pourra être administrée pure ou diluée dans un peu d'eau, de lait ou de jus de fruit sauf pour le Stérogyl qui devra toujours être pris dilué. La demi-vie d'élimination des spécialités contenant de la vitamine D est de 15 à 40 jours.

Il existe des spécialités contenant de la vitamine D associée soit au fluor, soit au calcium. Celles contenant du fluor sont à administrer pures ou diluées dans un peu d'eau ou de jus de fruit mais il ne faut pas les diluer dans le lait. En effet, l'apport concomitant de calcium contenu dans le lait peut diminuer l'absorption du fluorure de sodium par chélation. Ces spécialités contenant du fluor sont indiquées en prophylaxie de la carie dentaire et de l'hypovitaminose D chez l'enfant de 0 à 18 mois.

Pour les formes associant calcium et vitamine D, le calcium étant faiblement absorbé au niveau digestif, il doit être pris hors des repas pour favoriser son absorption. Ces spécialités sont prescrites dans le cadre de la correction de la carence vitamino-calcique du sujet âgé ou en association aux traitements de l'ostéoporose.

Les dérivés hydroxylés ne doivent pas être utilisés à la place de la vitamine D dans ses indications habituelles mais sont réservés à des cas précis et sous surveillance stricte. Trois dérivés hydroxylés de la vitamine D sont couramment utilisés en thérapeutique :

- Le **Dédrogyl** ou **Calcifédiol** ou 25 hydroxycalciférol (vitamine D3 hydroxylée en C25). Il permet de court-circuiter l'activation hépatique de la vitamine D. Il est indiqué en cas d'hépatopathies, de traitement anticonvulsivant, de corticothérapie prolongée.
- Le **Rocaltrol** ou **Calcitriol** ou 1,25 hydroxycalciférol (vitamine D3 dihydroxylée). C'est la forme active de la vitamine D, donnée aux patients avec insuffisance rénale, ne pouvant pas la métaboliser. Il est indiqué aussi en cas de rachitisme ou d'ostéomalacie vitaminorésistants, d'hypoparathyroïdie.
- Le **Un-alpha** ou α -**calcidol** ou 1 α -hydroxycalciférol (vitamine D3 hydroxylée en C1). Il s'agit d'une forme rendue active après passage hépatique uniquement, ne nécessitant pas d'hydroxylation rénale. Il est indiqué en cas d'insuffisance rénale, d'hypoparathyroïdie, de pseudohypoparathyroïdie.

Le Rocaltrol et le Un-alpha sont toujours à administrer à dose progressive.

La calcémie et la phosphorémie doivent être mesurées une fois par semaine pendant la phase d'équilibration du traitement, puis une fois par mois.

Tableau 5 : Exemples de présentations de calcium combiné ou non à la vitamine D.

	Spécialité contenant de la vit D2 et concentration	Spécialité contenant de la vit D3 et concentration
Association de calcium et de vitamine D	Frubiose vitamine D: 1000 ou 5000 UI/amp	–Cacit vit D3 : 880 ou 440 UI de D3/sachet ou cp –Calcidose vitD: 4 mg/sachet –Calcifix vitD3 : 400 ou 800 UI de D3/cp –Ideos : 400 UI/cp –Orocal vitamine D3 : 200 UI de D3/cp –Sandoz Ca-D : 400 UI/sachet
Médicament à base de vitamine D uniquement	Stérogyl 15H 600 000 : 600 000 UI/amp	–Uvédose : 100 000 UI/amp –Zyma D: 10 000 UI/ml ou 80 000 ou 200 000 UI/amp

La supplémentation calcique est de l'ordre de 1000 mg/j pour les sujets de moins de 70 ans, et de 1200 mg/j pour les sujets de plus 70 ans et chez les femmes à partir de 51 ans.

6.1.2. Vitamine D2 ou vitamine D3 ?

Les experts recommandent une supplémentation par la D3 plutôt que la D2 en raison de sa demie vie qui est plus longue. Ceci est expliqué par la faible affinité de la vitamine D2 à la protéine porteuse DBP (D-Binding- Protein), réduisant ainsi sa demi-vie par rapport à la vitamine D3 (154). La prise espacée de vitamine D3

permettrait d'augmenter la concentration de 25OHD de façon plus importante et plus prolongée que la D2 (155). En revanche, en cas de prise journalière, les deux formes semblent équivalentes (156).

Au Maroc, nous disposons de la vitamine D3 en gouttes (Vital-D3® flacon contenant 500 gouttes de 200 UI chacune), en ampoule buvable (D-CURE® quatre ampoules contenant 25000 UI chacune), et de la vitamine D2 sous une seule forme : Stérogyl 15H® : 600 000UI /1.5ml. Une nouvelle présentation vient d'avoir l'AMM : Ergogyl® 200 000UI /0,5ml, en raison des cas rapportés d'intoxication par le Stérogyl chez les nourrissons avec une évolution fatale chez certains d'entre eux (157).

6.1.3. Les modalités d'administration :

La fréquence d'administration idéale est celle qui combine la meilleure observance à la meilleure efficacité. La majorité des auteurs ont montré une efficacité comparable entre la prise quotidienne et ponctuelle de la vitamine D, à condition que l'administration par doses ponctuelles ne soit pas trop espacée dans le temps (hebdomadaire ou mensuelle). Il est recommandé que la prise se fasse par voie orale au milieu du repas étant donné qu'il s'agit d'une vitamine liposoluble (158). La forme injectable de vitamine D n'a d'intérêt que lorsque la voie orale n'est pas possible (syndrome de malabsorption ou de nutrition parentérale par exemple).

6.1.4. Posologies :

Pour toute supplémentation orale de 100 UI par jour de vitamine D3 durant 20 semaines, le taux sérique de 25OHD augmente approximativement de 0,7 à 1 ng/mL (1,75 à 2,5 nmol/L). Cette augmentation est d'autant plus importante que le taux sérique de 25OHD est plus faible. 1000 UI de vitamine D3 par jour pendant 3 à 4 mois permettent d'augmenter les concentrations de 25OHD de 10 ng/mL (25 nmol/L). Il faut utiliser des doses de vitamine D plus importantes chez les sujets

obèses (2 à 3 fois), les sujets âgés, et les sujets mélanodermes (158). Les fortes doses ne sont pas recommandées (300 000 à 500 000 UI). Elles seraient responsables de la dégradation de la 1,25(OH)₂ D.

Les sociétés savantes GRIO, ESCEO, IOF, US Endocrine Society, IOM, AGS et Institute of Medicine Dietary Reference Intakes s'accordent globalement sur les guidelines dans le traitement de l'hypovitaminose D. En cas d'insuffisance ou de carence vitaminique D, il faut prescrire un traitement d'attaque qui permettra de ramener le taux de 25OHD au-dessus de la valeur cible recommandée (30 ng/mL). Un traitement d'entretien sera entrepris par la suite pour maintenir le taux de la vitamine D dans les valeurs recommandées.

6.1.5. Traitement d'attaque :

Le schéma d'attaque suivant est proposé en se basant sur la valeur préthérapeutique :

- 25OH vitamine D <10 ng/ml (<25 nmol/l) : quatre prises de 100.000 UI espacées de 15 jours.
- 25OH vitamine D entre 10 et 20 ng/ml (25 à 50 nmol/l) : Trois prises de 100.000 UI espacées de 15 jours.
- 25OH vitamine D entre 20 et 30 ng/ml (50 à 75 nmol/l) : Deux prises de 100.000 UI espacées de 15 jours.

Ce schéma posologique est indicatif. On peut ainsi utiliser des posologies de 80 000 ou 200 000 UI, en répartissant les prises comme décrit au paragraphe précédent (89).

Les fortes posologies annuelles ou semestrielles (600 000 UI) ne sont pas recommandées dans l'état actuel des connaissances, un essai avec

500000 UI ayant abouti paradoxalement à un excès de chutes et de fractures dans le groupe traité par 500 000 UI une fois par an (159).

6.1.6. Traitement d'entretien :

La posologie journalière recommandée est autour d'une dose moyenne de 800 à 1200 UI/j, qui peuvent être apportées sous plusieurs formes allant d'une administration quotidienne à trimestrielle :

- 800 à 1200 UI par jour de vitamine D2 ou de vitamine D3
- 5600 à 7000 UI par semaine de vitamine D3
- 25 000 UI par mois de vitamine D3
- 100 000 UI de vitamine D3 tous les 2 à 3 mois

Selon les spécialités disponibles au Maroc, les schémas suivants sont recommandés:

- Une ampoule de 25 000 UI de D-CURE® par mois ;
- Quatre à six gouttes par jour de Vital D3® ;
- Ergogyl® 200 000UI / 0,5 ml : La moitié de l'ampoule après dilution dans un verre de lait entier (soit 100 000 UI) tous les 3 mois.

Les ampoules de Stérogyl® 600000 UI ne sont pas adaptées pour le traitement d'entretien du fait de leur forte teneur en vitamine D.

Le Tableau 6 résume les recommandations marocaines pour le traitement de l'hypovitaminose D en se basant sur les produits disponibles au Maroc.

Tableau 6: Recommandations de la Société Marocaine de Rhumatologie pour le traitement de l'hypovitaminose D chez l'adulte (158).

	Taux de 25OHD en ng/mL			
	25OHD ≤10	10<25OHD≤20	20<25OHD<30	Traitement d'entretien
D CURE® 25 000 UI	Deux ampoules par semaine pendant huit semaines	Deux ampoules par semaine pendant six semaines	Deux ampoules par semaine pendant quatre semaines	Une ampoule mensuelle
Vital D3® 200 UI	Dix à vingt gouttes par jour pendant trois mois	Cinq à dix gouttes par jour pendant trois mois	Cinq gouttes par jour pendant trois mois	Quatre à six gouttes par jour
Ergogyl® 200 000 UI	Deux prises de la totalité de l'ampoule espacées d'un mois	Trois prises de la moitié de l'ampoule après dilution dans un verre de lait entier (soit 100 000 UI)	Une ampoule en une seule prise	La moitié de l'ampoule après dilution dans un verre de lait entier (soit 100 000 UI) tous les 3 mois
	Quatre prises de la moitié de l'ampoule après dilution dans un verre de lait entier (soit 100 000UI) espacées de 15 jours	espacées de 15 jours	Deux prises de la moitié de l'ampoule après dilution dans un verre de lait entier (soit 100 000UI) espacées de 15 jours	
Sterogyl® 600 000 UI	Deux prises du tiers de l'ampoule après dilution dans un verre de lait entier (soit 200 000 UI) espacées d'un mois		Le tiers d'une ampoule après dilution dans un verre de lait entier (soit 200 000 UI) en une seule prise	-----

6.1.7. Risques du traitement :

Aux doses recommandées, la supplémentation vitaminique D est très bien tolérée. L'intoxication à la vitamine D est extrêmement rare. Elle a été observée pour des concentrations de 25OHD très élevée (≥ 150 ng/mL ou

374 nmol/L) (160). Elle conduit à une hypercalciurie avec un risque de lithiase urinaire, et à une hyperphosphatémie avec hypercalcémie qui peut se manifester notamment par une anorexie, des nausées, une polyurie, une constipation, de la fatigue, une perte de poids, des céphalées, une dépression. Lors d'intoxications sévères, l'hypercalcémie peut conduire à une insuffisance rénale irréversible et à une insuffisance cardiaque pouvant entraîner le coma et la mort.

Des cas d'hypersensibilité à la vitamine D ont été rapportés lors de l'administration de vitamine D chez des sujets ayant des maladies granulomateuses (sarcoïdose, tuberculose et lymphome), du fait de la production extra-rénale de 1,25(OH)₂D par les macrophages. Cependant, ces patients doivent avoir des concentrations de 25OHD maintenus entre 20 et 30 ng/mL pour prévenir la carence en vitamine D et l'hyperparathyroïdie secondaire.

L'administration de 10 000 UI par jour de vitamine D₃ pendant 5 mois n'a pas occasionné d'effets indésirables et cette dose est considérée comme la limite supérieure de sécurité (161, 162).

6.1.8. Suivi et évaluation de l'efficacité du traitement :

Le suivi est recommandé pour s'assurer de l'efficacité du traitement dans les situations suivantes :

- Ostéomalacie, hyperparathyroïdie
- La prise de traitements ou en cas de pathologies potentiellement inductrices d'ostéoporose

- Ostéoporose avec une valeur anormale de la vitamine objectivée lors du bilan préthérapeutique
- Chez tous les patients ayant une fonction rénale altérée
- Dans toutes les situations de malabsorption intestinale
- Chez les sujets nécessitant une forte dose supérieure à 2000 UI/j de vitamine D.

En cas d'un traitement journalier, l'efficacité du traitement est vérifiée par un dosage de [25OHD] 3 à 4 mois après l'introduction. En cas de doses espacées (en l'absence d'hypovitaminose D) : On attendra 2 ou 3 cycles sous ce traitement « d'entretien» et on dosera la 25OHD juste avant la prise suivante.

En cas d'hypovitaminose D (insuffisance ou carence) le contrôle de la vitamine D se fera 3 mois après la dernière prise du traitement d'attaque et juste avant la prise suivante (89). Ensuite, un contrôle annuel afin de vérifier la bonne compliance du patient peut s'envisager.

- **En cas d'échec du traitement :**

En cas de persistance de l'hypovitaminose D après traitement, il faut s'assurer que le contrôle et le bilan initial sont faits avec la même technique, que le dosage inclut D2 et D3, et que l'adhérence au traitement est assurée.

Devant une situation d'échec thérapeutique inexpliqué, des modifications thérapeutiques sont proposées : Augmenter les doses, réduire l'intervalle entre les prises, changer de forme (D2 par D3), ou changer la modalité de prise (préférer la modalité journalière).

En dehors de toute erreur technique, pour les patients ne répondant pas à la supplémentation malgré une bonne observance, il faut vérifier l'absence de malabsorption.

6.1.9. Situations particulières :

- **Sujets âgés, en institution, et patients atteints de maladies chroniques confinés chez eux :**

Il faut traiter systématiquement avec de la vitamine D, sans dosage préalable, toute personne âgée de plus de 65 ans, et toute personne vivant à domicile ou en institution, à la dose d'au moins 800–1000 UI/jour, ou par la prise d'une ampoule buvable mensuelle à 25 000 UI ou trimestrielle à 100 000 UI.

Il est recommandé de traiter après dosage de la vitamine D les personnes âgées particulièrement à risque de chute ou de fracture.

- **Femme enceinte :**

Chez la femme enceinte, la carence en vitamine D est très fréquente. Des études suggèrent une association entre un déficit en vitamine D et une augmentation du risque de pré-éclampsie, de diabète gestationnel et de césarienne chez la femme enceinte (163), et chez le nouveau-né de petit poids de naissance, de prématurité, d'hypocalcémie, de rachitisme et de diabète de type 1 (164, 165). Cependant, des études interventionnelles randomisées sont nécessaires pour prouver ce lien, ainsi que pour déterminer le timing adéquat (avant la conception, premier trimestre, ou dernier trimestre) et la posologie nécessaire pour prévenir ces complications materno-fœtales. Il est recommandé de consommer dès le début de la grossesse des aliments riches en vitamine D (poissons gras notamment, tels que la sardine ou le saumon).

La supplémentation en vitamine D est actuellement systématique en France avec une dose unique de 100 000 UI de vitamine D au septième mois de grossesse (164, 166).

Au Maroc, en tenant compte de la prévalence élevée de l'hypovitaminose D, et de l'absence d'augmentation du risque de toxicité, il est recommandé de supplémenter systématiquement les femmes enceintes par 25 000 UI de vitamine D3 par mois pendant les trois derniers mois de grossesse (D-CURE® 25 000 UI), ou à défaut par une dose unique de 100 000 UI de vitamine D2 au septième mois de grossesse (la moitié de l'ampoule d'Ergogyl® 200 000 UI).

- **Malabsorption digestive :**

La posologie et la durée nécessaires de vitamine D orale varient selon les patients en fonction du degré de leur malabsorption. Si les apports calciques sont également insuffisants, le citrate de calcium est préféré au carbonate de calcium en raison de sa meilleure absorption. De fortes doses orales de calcium et de vitamine D sont recommandées par l'American Gastroenterology Association (AGA) : 2 à 3 fois supérieures aux doses habituelles (1000 à 2000 UI/j de vitamine D).

Les patients qui restent déficients ou insuffisants malgré des doses élevées de vitamine D, devront être traités par les métabolites hydroxylés de la vitamine D qui sont mieux absorbés, ou par la forme parentérale (Vitamine D3 BON par exemple), ou par l'exposition aux rayons UV (cabines de bronzage ou l'exposition solaire).

- **Insuffisance rénale :**

Les modalités thérapeutiques sont clairement établies par le Kidney Disease Improval Global Outcomes (KDIGO) (167). Il est recommandé de doser la 25OHD et de corriger une insuffisance inférieure à 30 ng/ mL même chez les patients dialysés. Les dérivés 1-alpha hydroxylés sont prescrits en deuxième intention (1 alpha ou 1,25(OH)2 vitamine D).

Les patients ayant un DFG > 30 mL/min, n'ayant pas de troubles du métabolisme osseux associés à la maladie rénale chronique doivent bénéficier d'une supplémentation en vitamine D similaire aux patients avec fonction rénale correcte.

Quand l'insuffisance rénale s'aggrave ($\text{DFG} < 30 \text{ mL/min}$), la production du calcitriol ($1,25(\text{OH})_2\text{D}$) peut être réduite en raison de la filtration glomérulaire diminuée, de la perte de la 1- α -hydroxylase secondaire à l'altération du parenchyme rénal, et de la suppression de l'activité de cette enzyme secondaire à l'hyperphosphatémie. La conséquence étant une tendance à l'hypocalcémie, l'hyperparathyroïdie secondaire, et à la maladie osseuse.

- **Hyperparathyroïdie primitive :**

La supplémentation en vitamine D chez les individus ayant une hyperparathyroïdie primaire doit être réalisée avec prudence car elle peut causer une hypercalcémie et une hypercalciurie. Il n'existe pas à l'heure actuelle de recommandations pour le traitement de l'insuffisance vitaminique D avec hyperparathyroïdie concomitante basées sur les études cliniques. La moitié des patients ayant une hyperparathyroïdie primaire ont un déficit en vitamine D (168). Ce déficit risque d'aggraver l'hyperparathyroïdie primitive, et une faible consommation de calcium peut induire une augmentation de la sécrétion de PTH et aggraver la maladie osseuse. Nous suggérons de conseiller une diète adéquate en calcium et en vitamine D:

- Calcium: 800 à 1000 mg/j (les apports alimentaires seront privilégiés)
- Vitamine D: 600 à 1000 UI/j

Il est recommandé de traiter une hypovitaminose D $< 20 \text{ ng/mL}$ (50 nmol/L) avec une calcémie inférieure à 120 mg/l (3 mmol/l) (169). Dans le cas où un doute existe entre l'origine primaire ou secondaire de l'hyperparathyroïdie, une évaluation de la calciurie pourrait être utile.

6.2. Traitement non pharmacologique :

- Exposition solaire : Deux schémas sont proposés :
 - 5 à 10 minutes, tous les jours, bras et jambes exposés entre 10h et 15h au printemps, été et automne (170).
 - 10 minutes, trois fois par semaine, tête et bras exposés (112).

Signalons par ailleurs que la production cutanée de la vitamine D diminue avec l'âge, et chez les sujets à peau pigmentée, nécessitant une exposition plus prolongée. L'utilisation d'écrans solaires et l'exposition derrière une vitre la rendent inefficace.

- Alimentation riche en Calcium et en vitamine D.

PARTIE PRATIQUE

A. Introduction

Aujourd'hui, la vitamine D connaît un grand regain d'intérêt. La progression des connaissances fondamentales et cliniques sur l'influence pluritissulaire de ce stéroïde est vertigineuse, faisant de cette substance le nutriment de la décennie par excellence (171).

Le déficit en cette vitamine est un problème fréquent et sous-diagnostiqué. La population féminine en est la plus touchée à des degrés variables en fonction, de certaines habitudes culturelles, de l'âge et du seuil d'hypovitaminose D fixé (11). Les personnes âgées sont aussi à risque, leur prévalence de carence en vitamine D est de 50%, et elle passe à 80% chez les personnes très âgées ayant des antécédents de fracture de la hanche (172, 173). Une multitude d'études épidémiologiques menées dans plusieurs pays enregistrent différentes prévalences d'hypovitaminose D.

Au Maroc, le dépistage de la déficience en vitamine D est généralement fait suite à une prescription médicale du dosage de la 25OHD. Parmi les quelques études marocaines entreprises sur le statut de la vitamine D, une a concerné 100 femmes volontaires saines en population générale. Les résultats de ces recherches ont conclu à des prévalences d'hypovitaminose D à 91% pour un seuil inférieur à 30ng/ml (112) et à 66 % pour un seuil inférieur à 20ng/ml (174). Une autre étude transversale incluant 200 patients de sexe masculin d'un âge moyen de 47.7 ± 14 ans, a rapporté une hypovitaminose D (vitamine D <30 ng/ml) chez 94.5% des cas. L'insuffisance en vitamine D était plus importante chez les hommes âgés de plus de 50 ans ($p=0.003$) et ayant un bas niveau d'instruction ($p=0.01$) (175).

Dans notre étude, nous nous sommes intéressés à la prévalence de l'hypovitaminose D non pas chez des sujets volontaires à priori sains, mais chez des patients pour lesquelles un médecin avait une raison médicale de prescrire le dosage

de 25OH vitamine D dans la région de Meknès Tafilalt avec une standardisation du seuil d'hypovitaminose D et de la technique du dosage.

B. Objectifs de l'étude

L'objectif principal de notre étude est d'évaluer de manière prospective le statut de vitamine D chez la population de la région de Meknès–Tafilalt, et de déterminer la prévalence de l'insuffisance modérée, de l'insuffisance importante et de la carence en vitamine D chez ces sujets.

Les objectifs secondaires consistent à comparer nos chiffres aux valeurs de références mondiales, et à évaluer la corrélation entre le taux de la vitamine D et les différents paramètres sociodémographiques et cliniques : l'âge, le sexe, le phototype, l'exposition solaire (vêtements couvrants, utilisation d'écran total), les antécédents pathologiques, les symptômes musculo-squelettiques.

C. Matériels et méthodes

1. Type, lieu de l'étude et population étudiée :

Il s'agit d'une étude prospective menée chez des patients des deux sexes, âgés entre 12 à 86 ans ayant au préalable un dosage de vitamine D prescrit par leurs médecins traitants, consultant en ambulatoire à l'hôpital militaire Moulay Ismail de Meknès.

Le recrutement a eu lieu au niveau du centre de prélèvement à la même structure hospitalière sur une période de 02 mois (du 06 décembre 2016 au 09 février 2017) incluant 200 participants volontaires marocains qui ont formulé leur consentement éclairé pour participer à cette étude.

Les volontaires ont répondu à un questionnaire, comportant les données démographiques, les antécédents pathologiques, les thérapies utilisées et les modalités d'exposition au soleil ainsi que d'autres informations.

Les participants retenus avaient bénéficié de prélèvements de sang en vue d'analyses biologiques au laboratoire de biochimie-toxicologie de l'HMMI de Meknès. Le bilan biochimique sanguin réalisé ultérieurement incluait le dosage des paramètres suivants : PTH, calcium, phosphore, glycémie à jeun, CRP et le bilan rénal.

1.1. Critères d'inclusion :

Patients des deux sexes

Age minimum de 12 ans

Dosage de 25 OH vit D prescrit par le médecin traitant.

1.2. Critère d'exclusion :

Agés de moins de douze ans.

1.3. Prélèvements sanguins :

Ils ont été effectués à jeun par ponction veineuse, le matin entre 8h et 10h, dans des tubes héparinés. Les échantillons sanguins ainsi prélevés, ont été rapidement acheminés au laboratoire et centrifugés pendant 15 minutes à 3000 tours/min. Cette exigence de transfert et de centrifugation immédiats est requise étant donné la vulnérabilité et la fragilité de certains paramètres notamment la PTH. Les sérums décantés après centrifugation ont été analysés le même jour.

2. Recueil et analyse des données :

2.1. Le questionnaire :

Le questionnaire (Annexe 1) comportait les données suivantes :

- Les caractéristiques de la population : âge, sexe, origine, poids, la taille, avec le calcul de l'IMC (en divisant le poids en Kg par la taille en mètre carré)
- Ménopause ou utilisation de contraception pour les femmes.
- Le phototype : entre I et VI ; classés de façon croissante selon la pigmentation cutanée. Sur l'échelle de 1 à 6, l'intensité de la pigmentation cutanée est cotée faible de 1 à 3 (clair), intermédiaire à 4 (mat), forte à 5 (brun) et 6 (peau noir).
- Les antécédents, avec recherche de pathologies pouvant interférer dans le métabolisme de la vitamine D (néphropathie, hépatopathies, maladies digestives, inflammatoires...) et recherche de fractures.
- Les traitements actuels et remontant jusqu'à six mois, avec recherche de molécules pouvant interférer avec le métabolisme de la vitamine D (corticoïdes à long durée, rifampicine, antiépileptiques...), ainsi que la prise de compléments alimentaires de type polyvitamines, calcium et vitamine D ;
- L'utilisation de crème solaire et les habitudes vestimentaires.
- L'existence de symptômes éventuels de déficit en vitamine D : Douleurs osseuses, douleurs musculaires et fatigue.

2.2. Analyses biochimiques :

2.2.1. Dosage plasmatique de la 25(OH) D2+D3 :

La détermination du statut vitaminique D est basée sur le dosage de la 25 (OH) D totale, réalisé sur l'analyseur Cobas® 6000 de la société Roche Diagnostics. Le test utilisé, est un test immunologique par électro–chimiluminescence (technique ECLIA) dont le principe est la mise sous compétition avec un anticorps polyclonal anti 25OH vitamine D.

a. Principe du dosage :

C'est un dosage immunologique par compétition (fig.15) :

- 1ère incubation : dans une prise d'essai (35µl), la 25(OH) D de l'échantillon entre en compétition avec la vitamine D biotinylée présente dans le complexe contenant biotine–vitamine D/anticorps monoclonal anti–25–OH vitamine D spécifique marqué au ruthénium. La quantité restante de ce complexe dépend de la concentration en vitamine D de l'échantillon.
- 2ème incubation : des microparticules tapissées de streptavidine sont ajoutées dans la cuvette réactionnelle. Le complexe immunologique est fixé à la phase solide par une liaison streptavidine–biotine.

Le mélange réactionnel est transféré dans la cellule de mesure, les microparticules sont maintenues au niveau de l'électrode par un aimant. L'élimination de la fraction libre est faite par lavage avec le ProCell. Une différence de potentiel appliquée à l'électrode déclenche la production de luminescence qui est mesurée par un photomultiplicateur.

Les résultats sont obtenus à l'aide d'une courbe de calibration. Celle-ci est générée, pour l'analyseur utilisé, par une calibration en 2 points et une courbe de référence mémorisée dans le code–barres du réactif.

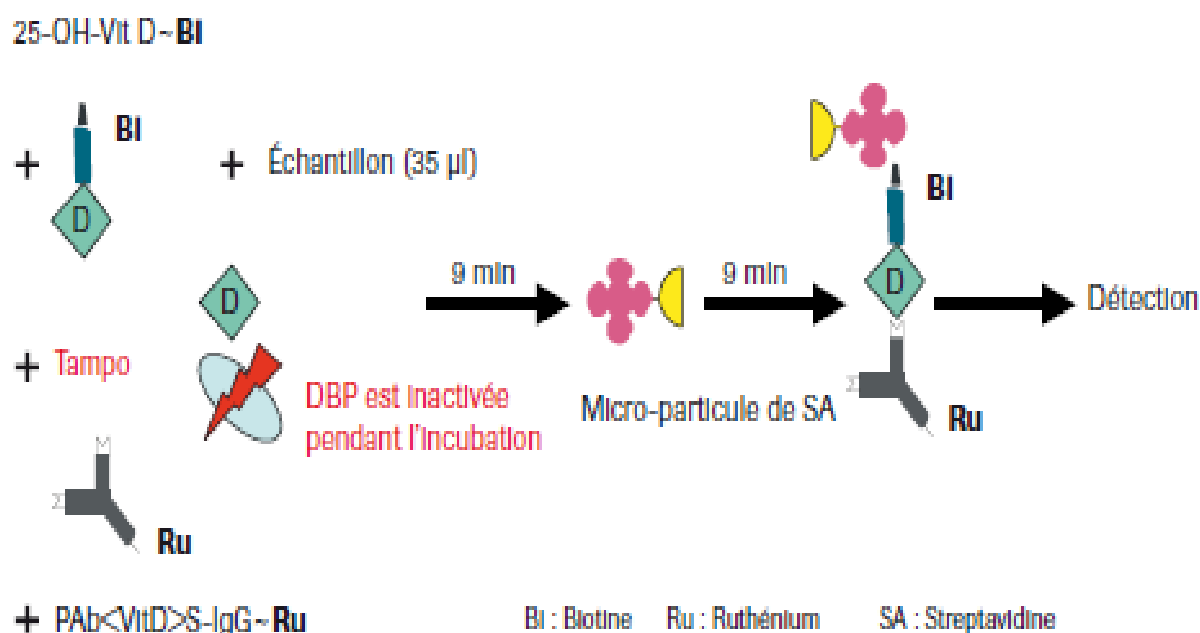


Figure 15 : Principe de la technique de dosage de la 25(OH) D totale par Elecsys de Roche

b. Limites d'utilisation et interférences :

Les échantillons présentant des signes visibles d'hémolyse peuvent interférer, les concentrations d'hémoglobine $> 0,1 \text{ g /dl}$ ($> 0,062 \text{ mmol/l}$) peuvent conduire à l'obtention de résultats augmentés.

Le test n'est pas influencé par l'ictère (bilirubine $< 205 \text{ µmol /l}$ ou $< 12 \text{ mg/dl}$), la lipémie (intralipid $< 400 \text{ mg/dl}$) et la biotine ($< 82 \text{ nmol/l}$ ou $< 20 \text{ ng/ml}$).

Chez les patients traités par de fortes doses de biotine ($> 5 \text{ mg/jour}$), il est recommandé d'effectuer le prélèvement de l'échantillon au moins 8 heures après la dernière administration.

Dans de rares cas, des titres très élevés d'anticorps anti streptavidine ou anti-ruthénium peuvent conduire à des interférences. Ces effets sont minimisés dans le test par un procédé approprié.

c. Valeurs de références :

L'unité de la concentration sérique en 25(OH) D utilisée dans cette étude est le microgramme par litre ($\mu\text{g/L}$). Les valeurs retenues pour définir le statut en vitamine D sont (en $\mu\text{g/L}$) :

- Supérieur ou égal à 29 : normalité ;
- Entre 10 et 29 : insuffisance ; nous avons distingué : entre 20 et 29 : insuffisance modérée, et entre 10 et 20: insuffisance importante ;
- Inférieur à 10 : carence.

2.2.2. Dosage plasmatique de la parathormone (PTH intacte) :**a. Principe du dosage :**

Réalisé sur le système Roche cobas par électro–chimiluminescence, ce test fait appel à la méthode « sandwich ». L'Ac monoclonal anti–PTH biotinylé réagit avec la région N–terminale (1–37) alors que l'anticorps monoclonal anti–PTH marqué au ruthénium reconnaît le fragment C–terminal (38–84). Les anticorps utilisés dans le test réagissent avec des épitopes situés dans les séquences d'acides aminés 26–32 et 37–42.

b. Limites du test :

Le dosage de la PTH est sujet à de nombreux facteurs de variabilité, pré analytiques, mais surtout biologiques car sa synthèse est pulsatile, suit un rythme circadien, dépend de l'âge, du sexe et de facteurs génétiques. En outre, la PTH circulante se compose d'un ensemble hétérogène de molécules pourvues d'une activité biologique partielle (176).

Chez les patients traités par de fortes doses de biotine ($> 5 \text{ mg/jour}$), il est recommandé d'effectuer le prélèvement de l'échantillon au moins 8 heures après la dernière administration.

Les risques d'interactions immunologiques entre les composants du réactif et les constituants de certains sérums sont rares et sont minimisés par l'utilisation d'additifs appropriés.

Dans de rares cas, des titres très élevés d'anticorps anti-ruthénium peuvent conduire à des interférences.

Pour le diagnostic, les résultats doivent toujours être confrontés aux données de l'anamnèse du patient, au tableau clinique et aux résultats d'autres examens.

Les valeurs normales sont de 15 à 65pg/ml.

2.2.3. Autres paramètres biochimiques :

- Bilan phosphocalcique : calcémie (VN : 85 à 100mg/l), Phosphorémie (VN : 27–45mg/l).
- Glycémie à jeun (Valeur normale 0,72 à 1,07 g/l) et de l'hémoglobine glyquée HbA1c (dosée par immuniturbidimétrie; valeur normale est de 4,5% à 5,9 %).
- CRP Ultrasensible (VN : 0 à 4,5 mg/l)
- Bilan rénal : créatinine : (VN : 5 à 12 mg/L) urée : (VN : 0.21 à 0.43g/l)
- Bilan hépatique : Bilirubine totale (VN : 0 à 10 mg /l), ALAT (VN : 5 à 50UI/l), ASAT (VN : 10 à 50 UI/l), la phosphatase alcaline (PAL) (VN : 40 à 129 UI/l), Gamma GT (VN : 10 à 66 UI/L).
- Bilan lipidique : Cholestérol total (VN : 1.35 à 2.07g/l), Triglycérides (VN : 0.22 à 1.6g/l), HDL (VN : 0.35 à 0.65g/l), LDL (VN : 0.6 à 1.4g/l).

2.3. Méthode d'analyse et de traitement des résultats :

Les données ont été saisies et codées, puis analysées. Une description globale de la population étudiée et des différentes données, une analyse univariée, ainsi qu'une régression logistique ont été réalisées afin d'identifier la prévalence et les facteurs associés à l'hypovitaminose D.

Pour la partie descriptive, les variables quantitatives ont été exprimées par leurs moyennes et écart-type, ainsi que par leurs valeurs minimales et maximales. Les variables qualitatives ont été exprimées par leurs effectifs et leurs fréquences. Le seuil de signification (p) retenu était de 5 %.

Les résultats sont rapportés sous forme de graphiques et de tableaux commentés. La réalisation des graphiques a été effectuée avec le logiciel Microsoft Excel 2010.

D. Résultats

I. Description de la population étudiée :

Les caractéristiques démographiques et cliniques de la population étudiée sont reprises dans le tableau 7.

1. Données sociodémographiques :

1.1. Répartition selon le sexe :

La population étudiée a une prédominance féminine marquée 157 femmes et 43 hommes, soit respectivement 78.5 % et 21.5 %, sex-ratio H/F de 0,27 (Fig.14).

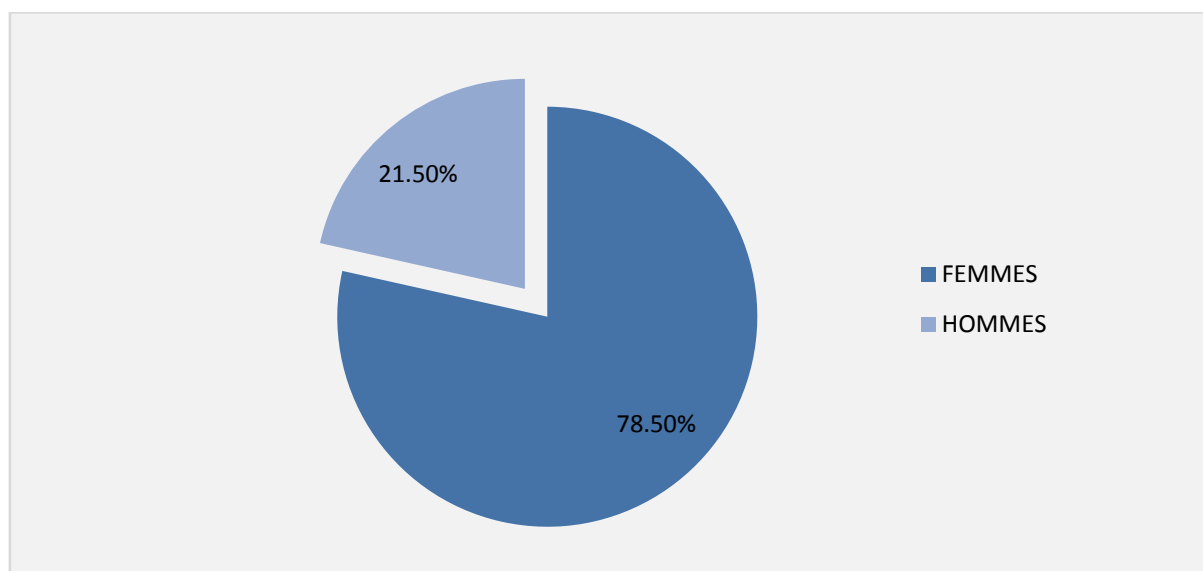


Figure 14 : Répartition de la population étudiée selon le sexe

1.2. Répartition selon l'âge :

L'âge moyen dans notre population était de $51,27 \pm 12,72$ ans (Fig.15)

[12-86]. 32 personnes (16 %) avaient moins de 40 ans, 119 (59 %) entre 40 et 60 ans, 49 (25%) plus de 60 ans.

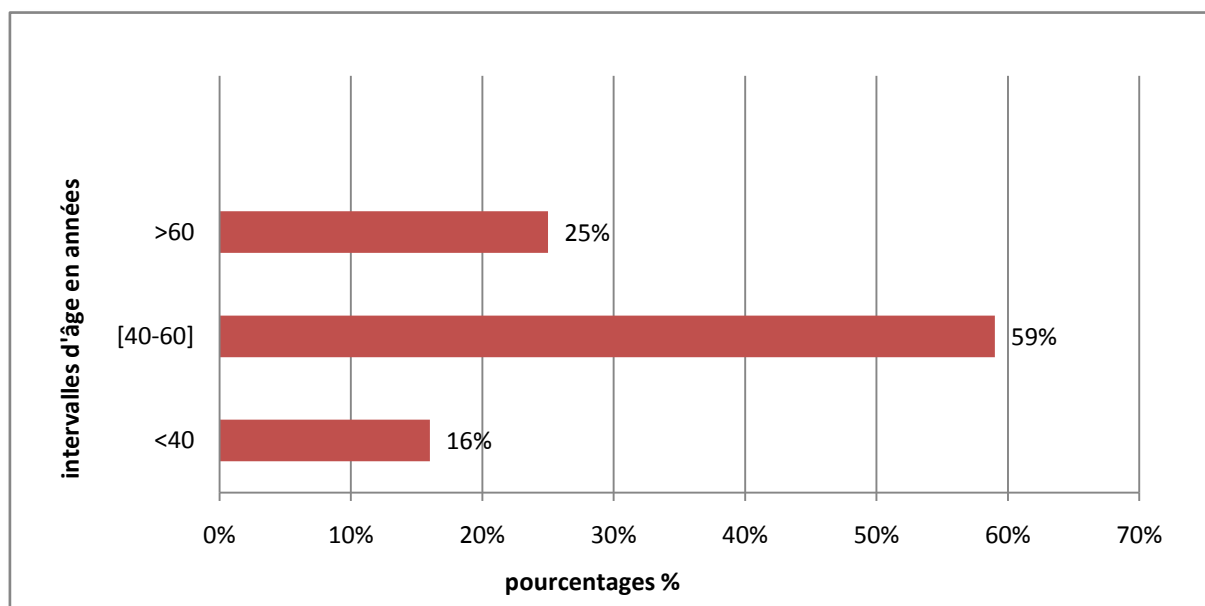


Figure 15 : Répartition de la population étudiée selon l'âge

1.3. Répartition selon le lieu de résidence :

Parmi les 200 patients, 179 (89.5%) résident en milieu urbain, contre 21 patients (10,5%) en milieu rural (Fig.16).

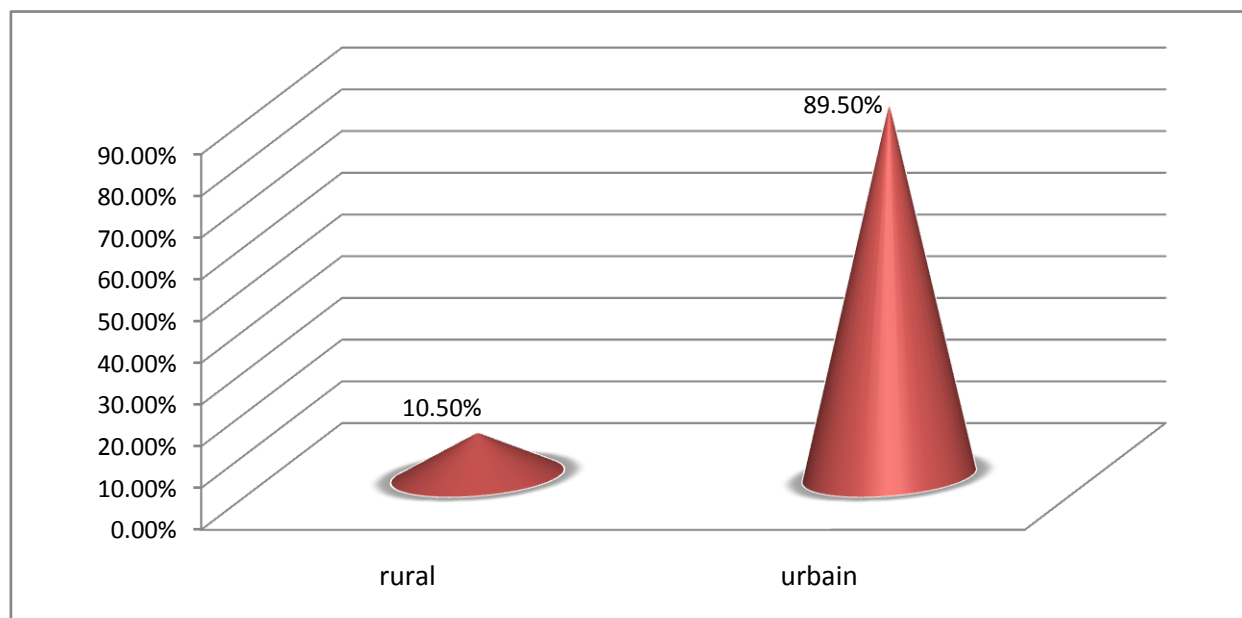


Figure 16 : Répartition des patients selon le lieu de résidence

1.4. Répartition selon le phototype :

Plus du tiers des patients ont un teint mat (IV) soit 44%, le teint clair concerne 35% de la population et 21% ont un teint brun.

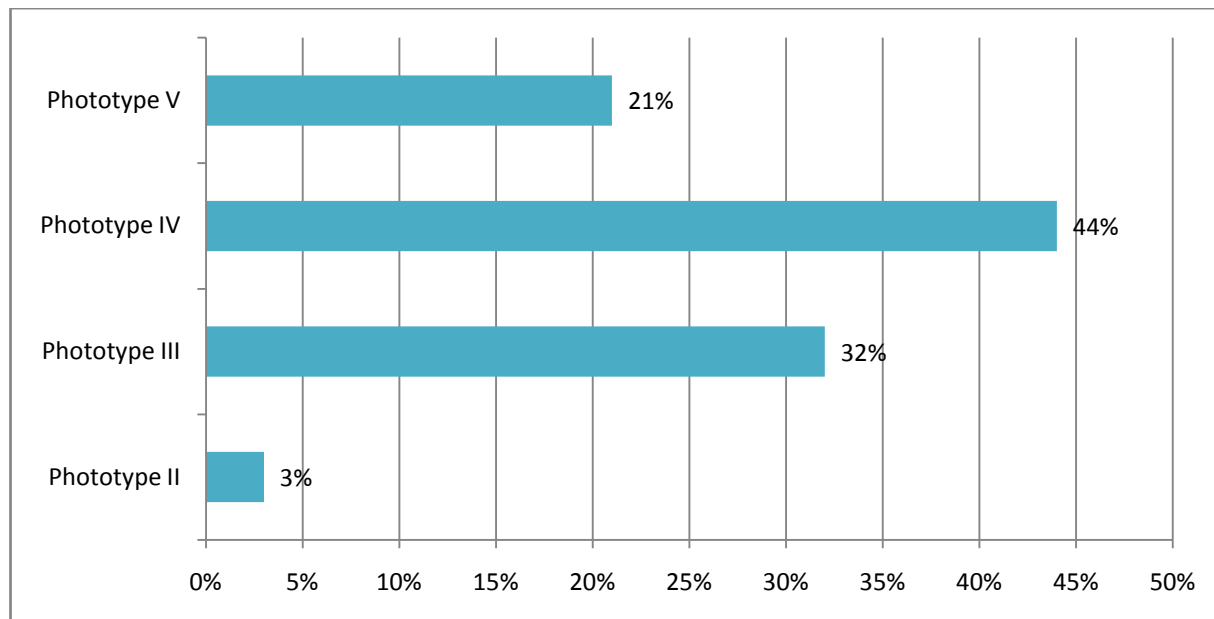


Figure 17 : Répartition des patients selon le phototype

1.5. Exposition solaire : vêtements couvrants / utilisation de crème solaire

- Vêtements couvrants :

Parmi les 157 femmes, 143 (91,08%) porte le voile et 14 (8,92%) non voilée (Fig.18).

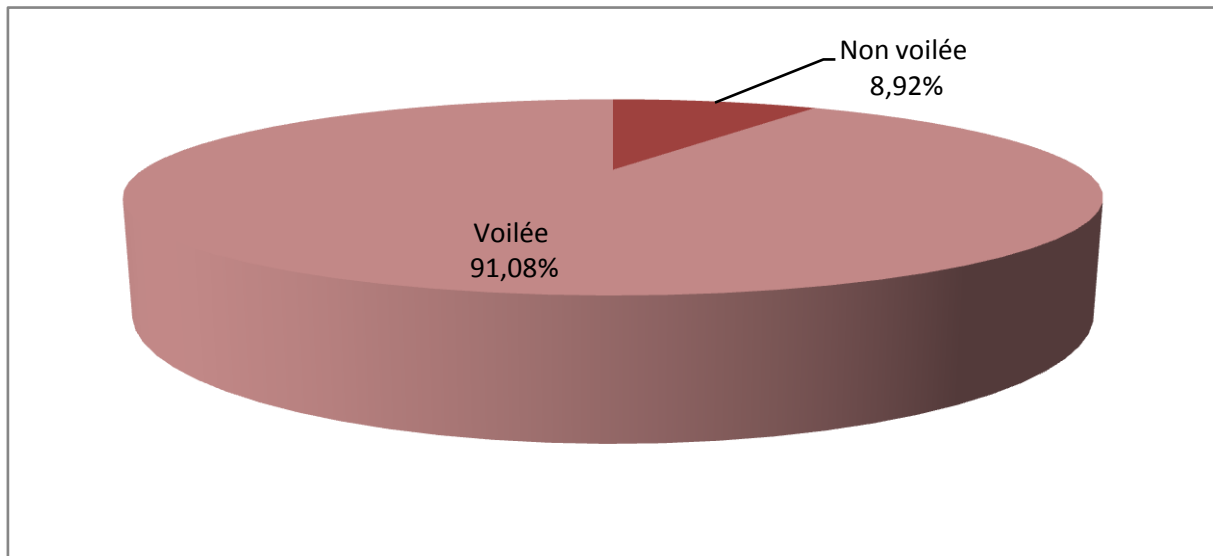


Figure 18 : Répartition des femmes selon le port de voile

- **Utilisation de crème solaire :**

67 des femmes utilisent une crème solaire soit 42.68 %

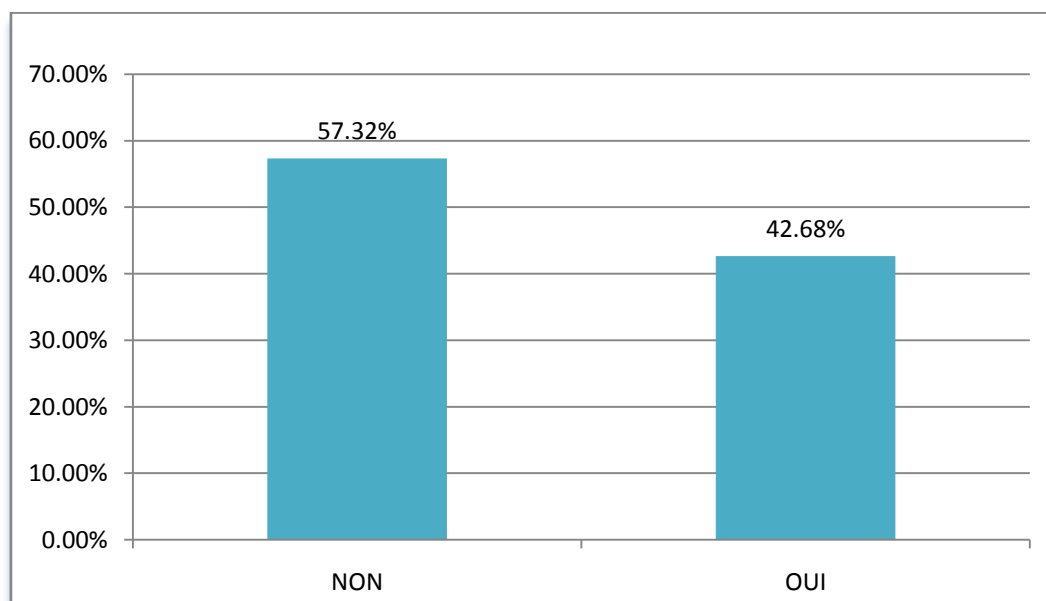


Figure 19 : Répartition des femmes selon l'utilisation de crème solaire

1.6. Répartition selon les antécédents des patients :

- Les antécédents pathologiques :

Les antécédents de notre population d'étude étaient comme suit : 22 patients (23%) ayant une HTA, 32 (33%) ayant un diabète, 11(12%) ayant une ostéoporose et 17 (18%) ont une IRC. (Fig.20)

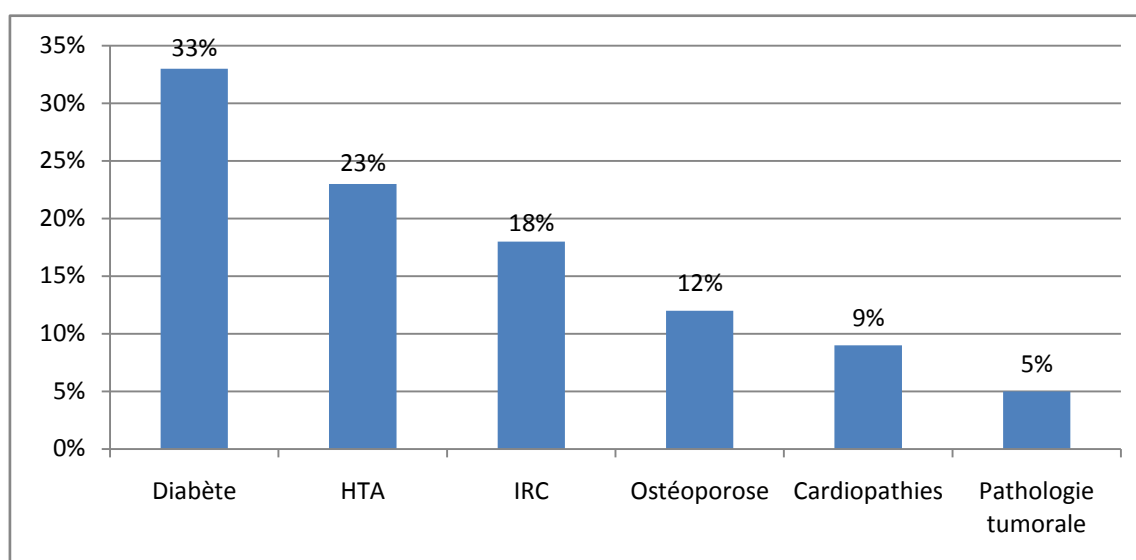


Figure 20 : Répartition des patients selon les antécédents pathologiques

- La ménopause :

Parmi les 157 femmes, 106 (68%) sont ménopausées.

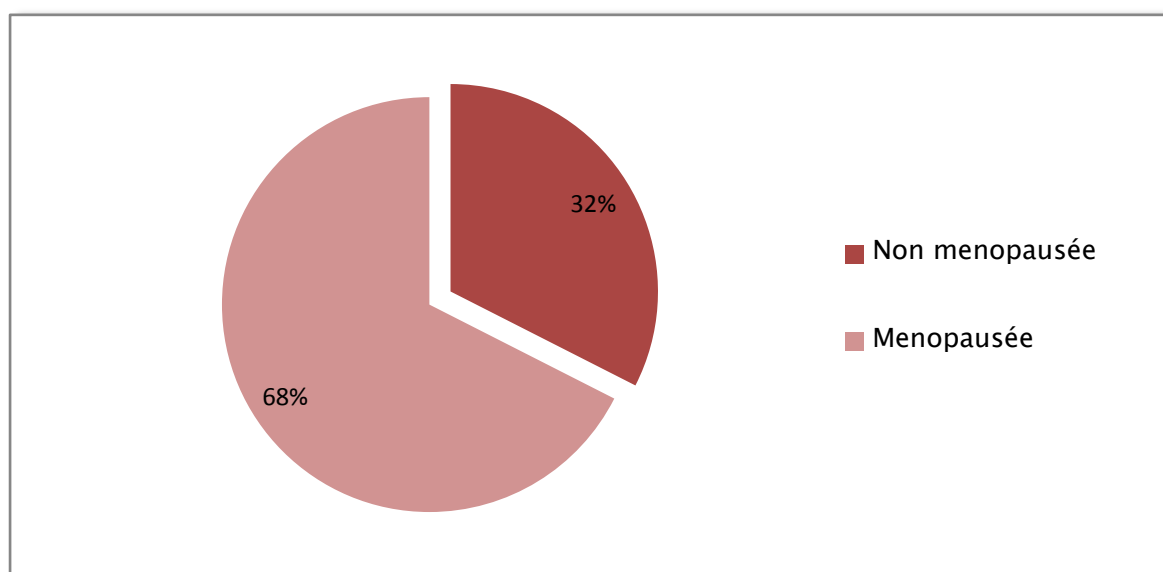


Figure 21 : Répartition des femmes ménopausée/non ménopausée

- **Contraception :**

8 patientes ont déjà utilisé des méthodes contraceptives (15.69 % de la population), 6 ont utilisé la contraception orale (75%), 2 ont utilisé un dispositif intra-utérin (25%).

- **Prise médicamenteuse :**

Aucun des sujets ne prenaient de traitement à risque de carence en vitamine D (glucocorticoïdes, anticonvulsivant, ...)

- 7% (14) de la population prenaient un traitement à base de vitamine D, la prise a duré en médiane 3 mois, avec une durée minimale de 30 jours et maximale de 6 mois : 12 (86%) sont tout de même en insuffisance en vitamine D et 2 sont à taux normal.
- 11 (5 %) recevaient le traitement de l'ostéoporose.

2. Données cliniques :

2.1. Indice de masse corporelle :

Dans la population étudiée, l'IMC moyen était de $26,25 \pm 3,89$ kg/m².

Chez les femmes, il était de $26,76 \pm 3,96$ kg/m², significativement plus élevé comparé à celui des hommes $24,36 \pm 2,98$ kg/m² (fig.22).

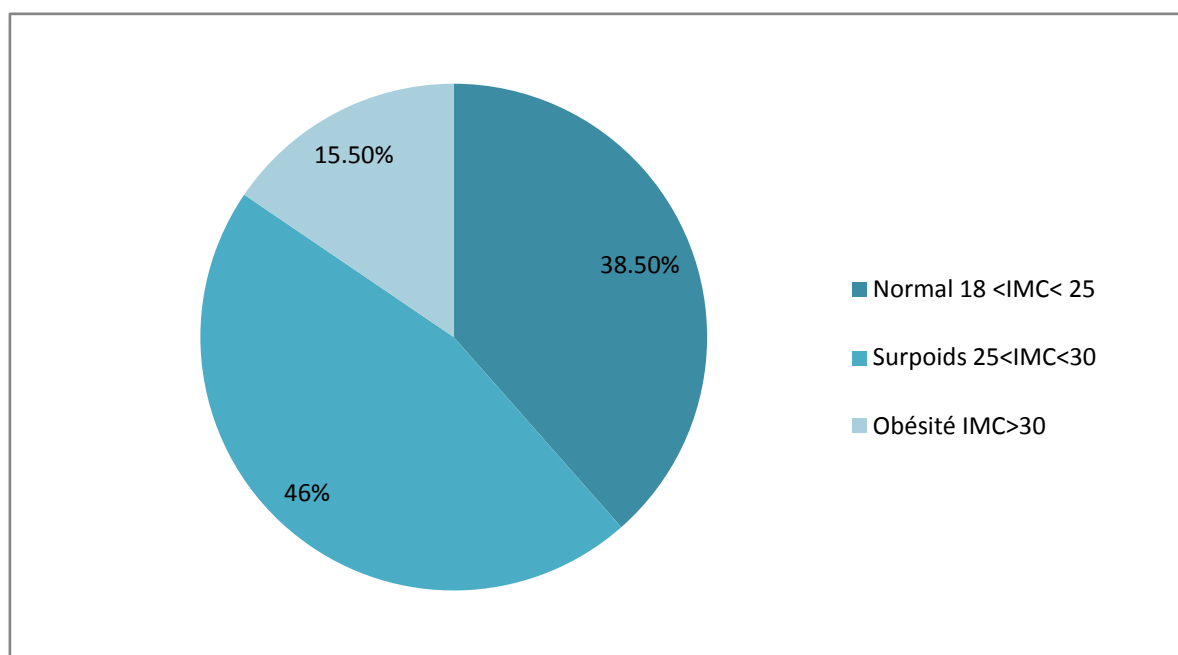


Figure 22 : Répartition de la population étudiée selon la valeur de l'IMC

2.2. Les signes cliniques :

Sur le plan clinique, 81% de la population présentaient des symptômes.

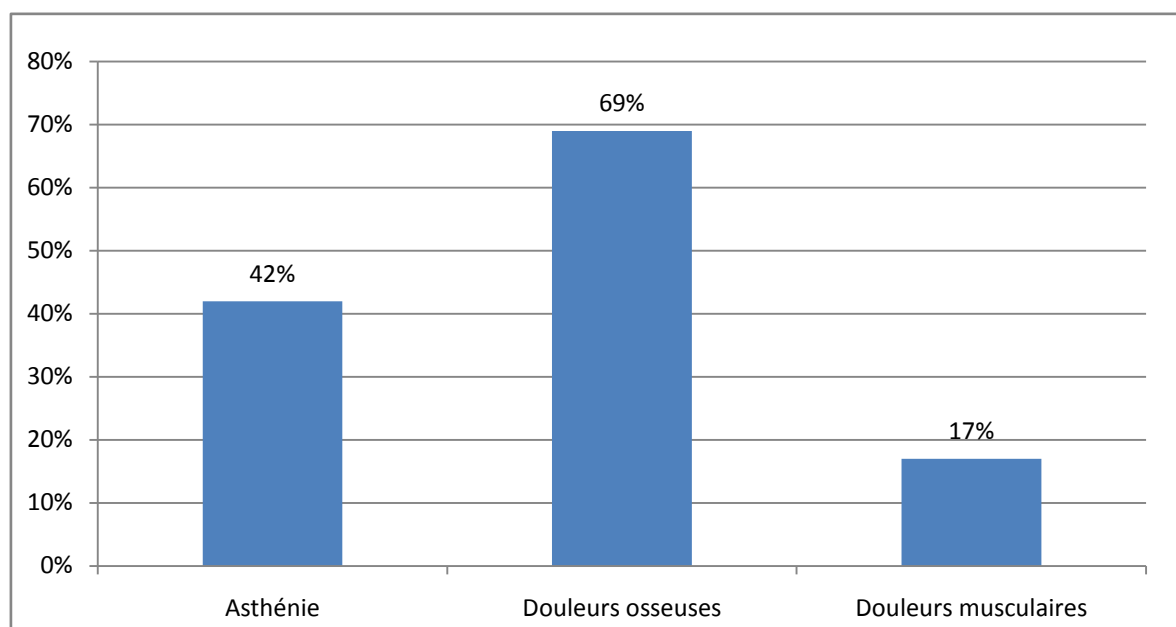


Figure 23 : Répartition selon les signes cliniques

Tableau 7 : Caractéristiques démographiques et cliniques de la population étudiée
(hypovitaminose D < 29 µg/l).

		Population générale (n=200)	Hypovitaminose D (n=172)	Vit normale (n=28) D
Age (en années)	Moyenne	51,27± 12,72	50,44±12,57	56,35±12,71
	Extrêmes	12-86	12-86	20-77
IMC moyen (en kg/m2)		26,25±3,89	26,35±3 ,92	25,61±3,71
Sexe	Femmes	157	140 (89%)	17 (11%)
	Hommes	43	32 (74%)	11 (26%)
Origine	Urbaine	179	154 (93%)	25 (7%)
	Rurale	21	18 (86%)	3 (14%)
Habillement	Voilée	143	126 (88%)	17 (12%)
	Non voilée	14	14 (100%)	0
Ménopausée		106	92 (87%)	14 (13%)
Non ménopausée		51	48 (94%)	3 (6%)
Utilisation de crème solaire		67	62 (93%)	5 (7%)
Phototype	II	7	6 (86%)	1 (14%)
	III	63	60 (95%)	3 (5%)
	IV	88	79 (90%)	9 (10%)
	V	44	29 (64%)	15 (36%)

3. Résultats des analyses biochimiques (tableau 8) :

La concentration moyenne de la 25(OH) D était de $17,67 \pm 11,41$ µg/l,

Avec ces valeurs extrêmes [3 – 63,3].

Elle était en moyenne de $14,26 \pm 7,24$ µg/l dans le groupe des patients en hypovitaminose D contre $38,64 \pm 9,86$ µg/l chez les patients non déficitaires.

La concentration moyenne de la PTH était de $124,26 \pm 219,9$ pg/ml, [14–2024]. Elle était en moyenne de $98,5 \pm 123,41$ pg/ml dans le groupe des patients en hypovitaminose D contre $282,46 \pm 479,37$ pg/ml chez les patients non déficitaires.

La calcémie moyenne était de $92,83 \pm 6,97$ mg/l, [64,1–108,1].

Dans le groupe des patients en hypovitaminose D, 14 (14%) présentaient une hypocalcémie, 13 (14%) présentaient une hypercalcémie alors que 145 (72%) avaient une calcémie normale.

La phosphorémie moyenne était de $32,92 \pm 9,58$ mg/l [16,1–120,9].

Dans le groupe des patients en hypovitaminose D, 140 (82%) présentaient une normophosphorémie, 10 (2%) présentaient une hyperphosphatémie alors que 32 (16%) présentaient une hypophosphorémie.

Les hommes présentaient des concentrations moyennes de PTH significativement plus élevées que celles des femmes (Annexe 2).

Les taux moyens de calcium et de phosphore chez les deux sexes étaient sans différence significative.

Pour les concentrations moyennes en 25(OH) D, les taux des hommes

($24,71 \pm 13,14$ µg/l) étaient significativement plus élevés que ceux des femmes ($15,74 \pm 10,1$ µg/l) ($p < 0,001$).

Tableau 8 : Résultats des examens biologiques concernant tous les patients de l'étude et permettant de comparer les patients déficitaires et non déficitaires.

Données biologiques		Population générale (n=200)	Patients déficitaires en vitamine D (n=172)	Patients non déficitaires (n=28)	P
25OHD (µg/l)	Moyenne	17,67±11,41	14,26±7,24	38,64 ±9,86	<0.001
	Valeurs extrêmes	3-63,3	3-28,9	29,2-63,3	
PTH (pg/ml)		124,26±219,9	98,5±123,41	282±479,3	<0.001
Ca (mg/l)		92,83±6,97	93,1±6,61	91,17 ± 8,85	0,27
Phosphore (mg/l)		32,92±9,58	31,94±8,75	36,53±10,67	<0.001
GAJ (g/l)		1,08±0,43	1,06±0,35	1,21±0,76	0,32
CRP (mg/l)		5,89±11,05	5,6±11,48	7,73±7,78	0,21
Créatininémie (mg/l)		14,33±22,78	10,38±15,73	38,53±39,37	<0,001

* Valeurs normales : 25(OH) D $\geq$ 29 µg /l (suffisance)

PTH: 15 – 65 pg/ml

Ca: 85 – 100 mg/l

Phosphore : 27–45 mg/l

Glycémie à jeun : 0,72 – 1,07 g/l

CRP : 0 – 4,5 mg/l

Créatinine : 5 – 12 mg/l

II. Statut vitaminique D :

1. Dans la population générale :

La prévalence de l'hypovitaminose D (taux de 25OHD $<29 \mu\text{g/l}$) dans la population étudiée était de 86% (Fig. 24). Elle se répartissait comme suit :

- 26 % des cas d'insuffisance modérée en vitamine D (taux de 25OHD entre 20 et 29 $\mu\text{g/l}$)
- 37 % d'insuffisance importante (taux de 25OHD entre 10 et 20 $\mu\text{g/l}$)
- 37 % de carence sévère (taux de 25OHD $<10 \mu\text{g/l}$) (Fig. 25).

Un statut optimal (normal) souhaitable était observé chez 14 % de notre population.

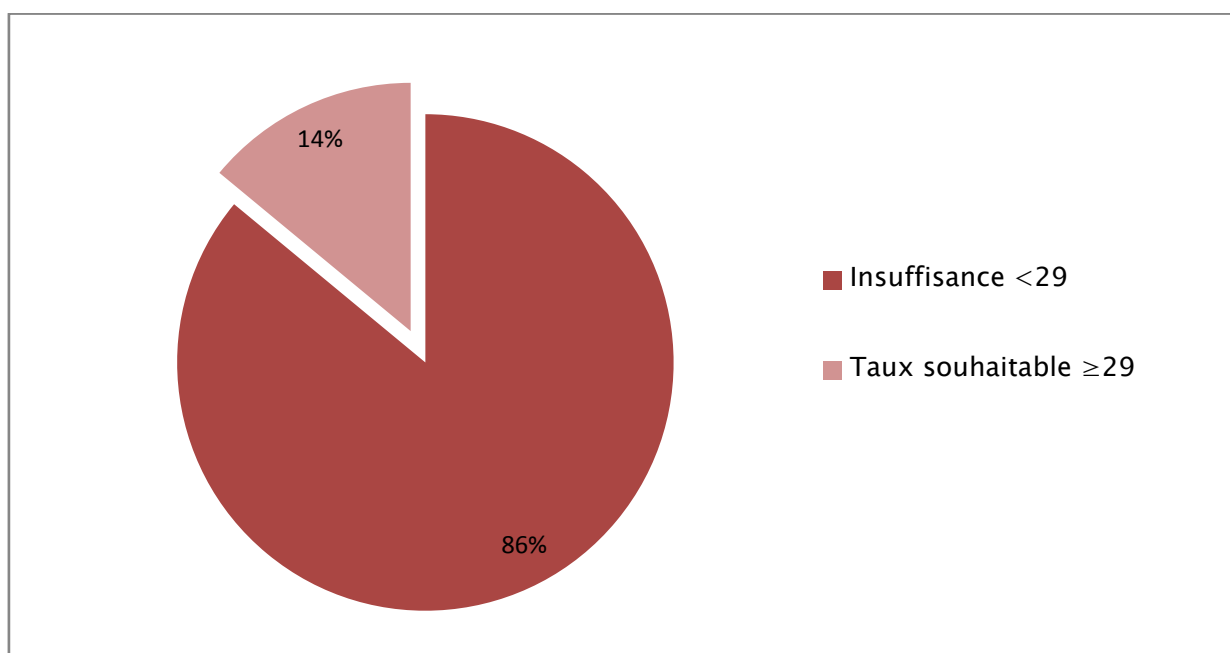


Figure 24 : Prévalence de l'hypovitaminose D dans la population étudiée

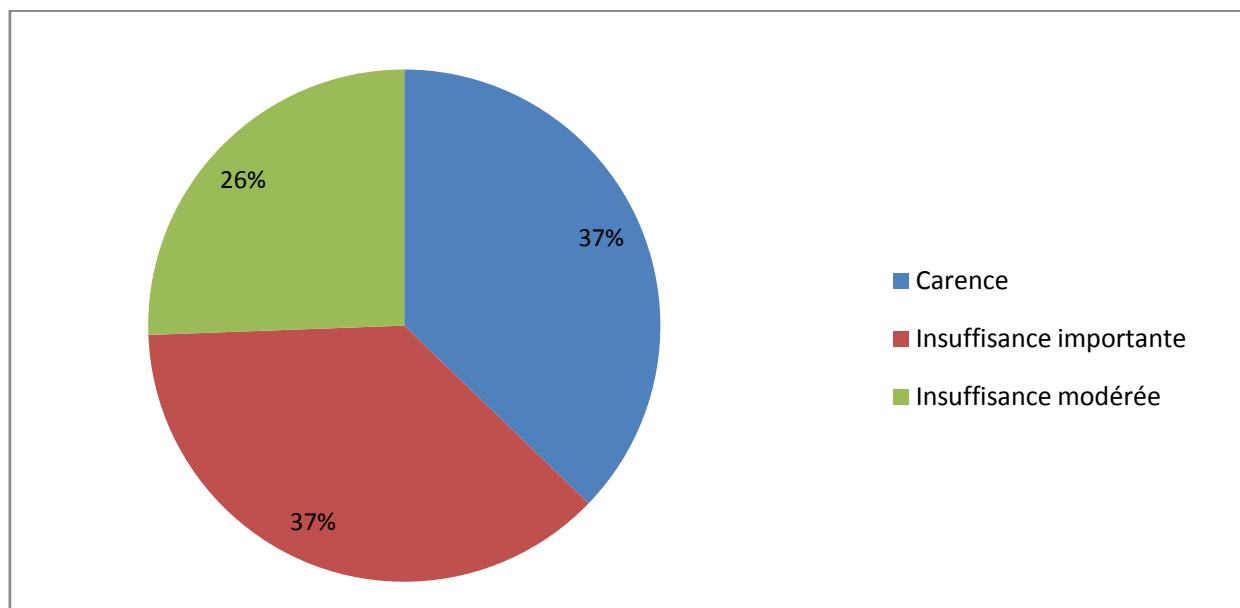


Figure 25: Répartition de la population selon les différents seuils de la 25OHD

2. Selon le sexe :

– Chez les femmes, la prévalence de l’hypovitaminose D était de 89% :

- 23% des cas d’insuffisance modérée
- 34% des cas d’insuffisance importante
- 43% de carence sévère

Un statut optimal était observé chez 11% de la population féminine (Fig. 26).

– Chez les hommes, la prévalence de l’insuffisance était de 74%:

- 9% des cas d’insuffisance modérée
- 53% des cas d’insuffisance importante
- 38% de carence sévère

Un statut optimal a été retrouvé chez 26 % de la population masculine.

– La différence dans le statut vitaminique entre les deux sexes était statistiquement significative ($p < 0.001$).

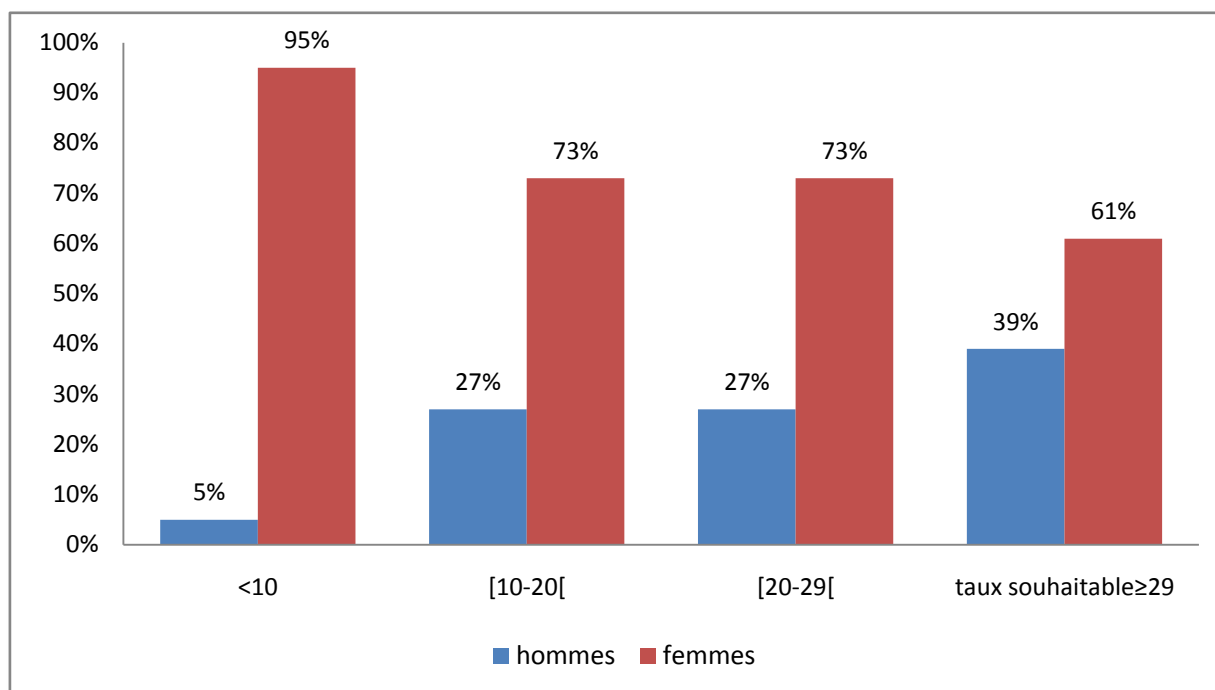


Figure 26 : Statut vitaminique D selon le sexe

3. Selon la tranche d'âge (fig. 27) :

La prévalence de l'hypovitaminose D est élevée dans toutes les tranches d'âge, plus faible dans la tranche d'âge <40 ans et plus élevée dans la tranche d'âge 40 à 60 ans, la différence était statistiquement significative ($p < 0,001$).

Le taux de carence (<10 µg/l) était de 19%, 73% et 8% respectivement pour les tranches d'âge : <40 ans, 40 à 60 ans et >60 ans.

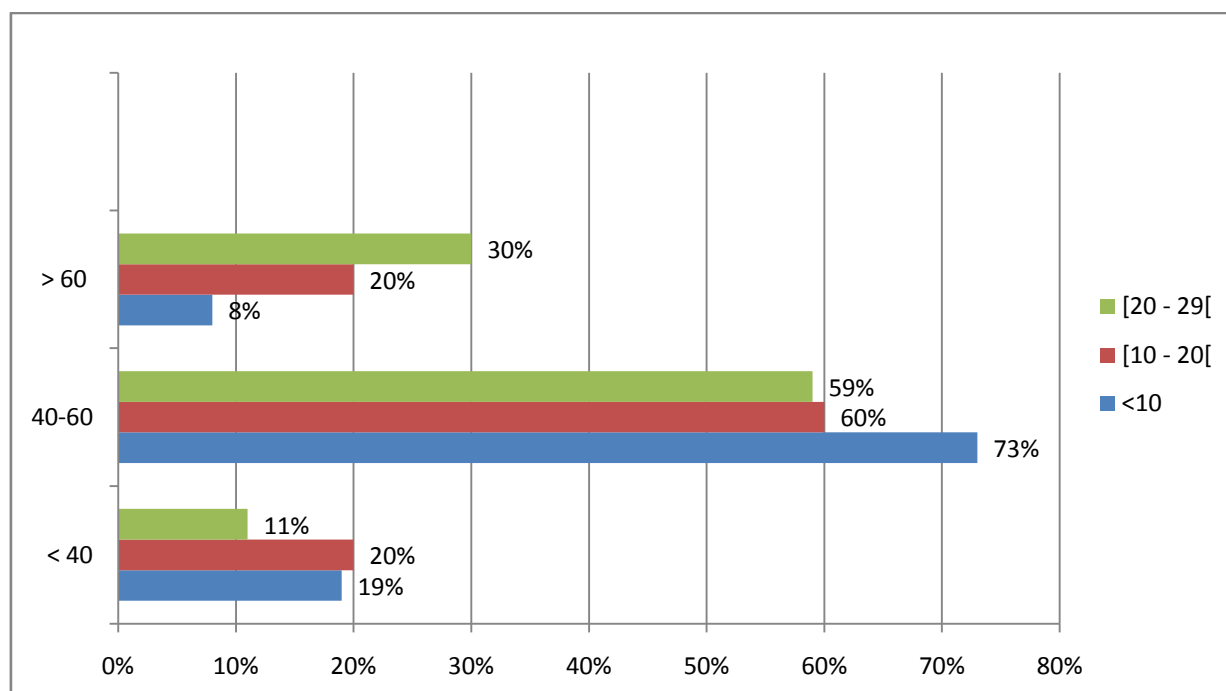


Figure 27 : Prévalence de l'hypovitaminose D selon la tranche d'âge

4. Selon les signes cliniques :

Dans le groupe des patients symptomatiques, le taux moyen de la 25OHD était de $17,19 \pm 11,41 \mu\text{g/l}$, alors que celui des patients asymptomatiques était de $19,72 \pm 11,32 \mu\text{g/l}$, la différence n'était pas statistiquement significative $p=0,22$.

- Douleurs osseuses : 138 (54%) des sujets rapportaient des douleurs osseuses. Parmi eux, 126 (91%) sont en hypovitaminose D : 52 (41%) en carence, 43 (34%) en insuffisance importante et 31 (25%) en insuffisance modérée.

Les résultats sont significatifs ($p < 0,001$).

- Douleurs musculaires : 34 (13%) des sujets présentaient des douleurs musculaires, Ils sont tous en hypovitaminose D : 29 (85%) en carence, 4 (12%) en insuffisance importante, 1 (3%) en insuffisance modérée.

Les résultats sont significatifs ($p=0,001$).

- Asthénie : 84 sujets (33%) se trouvent fatigués, dont 67 (80%) avec un taux de 25 OH vitamine D $< 29 \mu\text{g/l}$: 38 (57%) en carence, 21 (31%) en insuffisance importante et 8 (12%) en insuffisance modérée.

Les résultats ne sont pas significatifs ($p=0,54$).

- Fracture osseuse : 3 sujets de sexe féminin (1%) ont présenté une fracture osseuse, 2 (60%) sont en insuffisance importante en vitamine D (12,7 et 11,3 $\mu\text{g/l}$), et une en carence sévère avec une vitamine D à 7 $\mu\text{g/l}$.

Les résultats ne sont pas significatifs ($p=0,15$).

III. Les déterminants du statut vitaminique :

1. Les facteurs influençant la variation du taux de la 25OHD

Par régression linéaire, nous avons testé l'effet de chaque variable étudiée séparément sur les taux de la 25OHD (tableau 9).

1.1. L'âge :

Une comparaison bi-variée entre les trois catégories d'âge montre que : la différence n'était pas statistiquement significative entre <40 ans et [40–60] $p=0,3$, alors qu'elle était significative entre [40–60] et plus de 60 ans $p=0.001$ et entre <40 ans et >60 ans $p=0.001$ (Fig. 28).

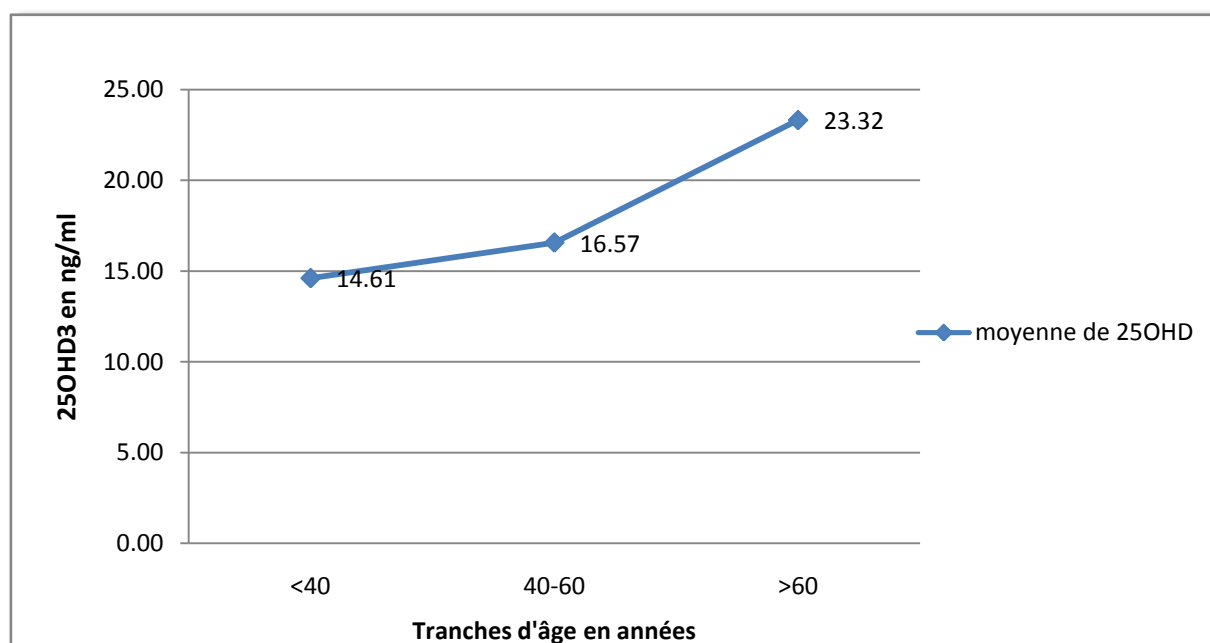


Figure 28 : Taux moyens de la 25OHD selon la tranche d'âge

En régression linéaire, une corrélation positive et significative ($r= 0.22$, $p=0.001$) a été retrouvée entre le taux de la 25OHD et l'âge. Dans cette population, le taux de la 25OHD augmente avec l'âge (tableau 7).

1.2. IMC :

Une corrélation négative et non significative ($r=-0.11$, $p=0.1$) a été retrouvée entre le taux de la 25OHD et l'IMC.

Dans la catégorie obèse, le taux moyen de la 25OHD était de $15,38 \pm 8,86$ $\mu\text{g/l}$, dans la catégorie corpulence normale $19,09 \pm 12,15$ $\mu\text{g/l}$, la différence n'était pas statistiquement significative $p=0,08$. (fig. 29)

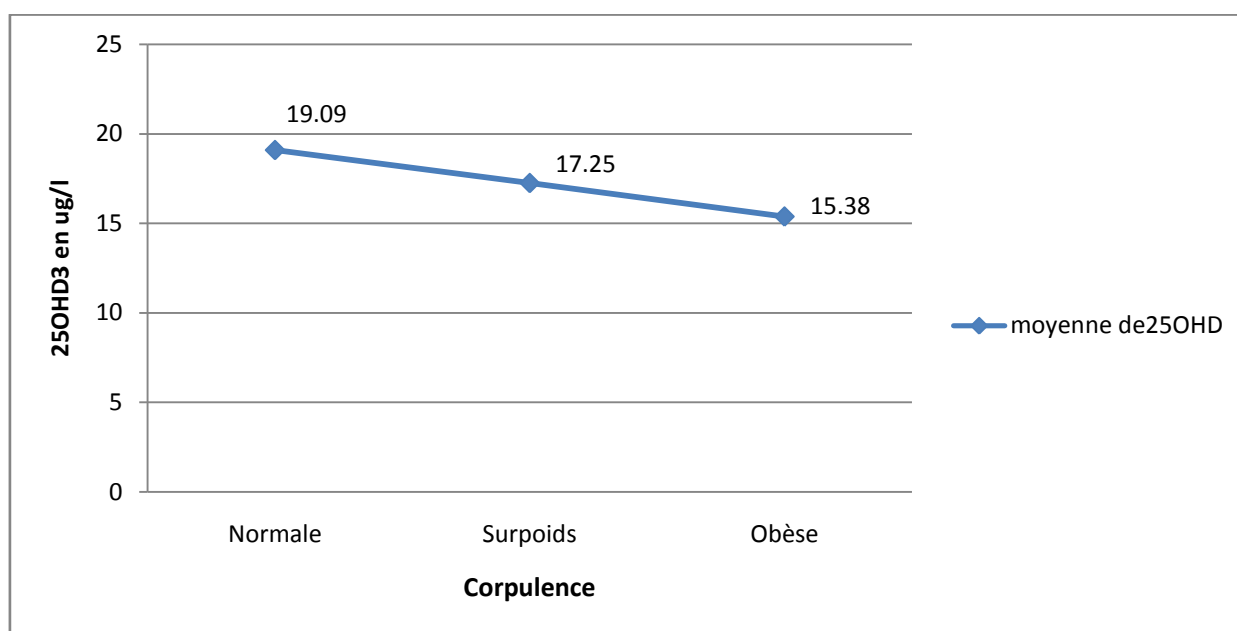


Figure 29 : Taux moyens de la 25OHD selon la corpulence

1.3. Le phototype et l'exposition solaire :

Par régression linéaire, le phototype est significativement lié au taux de la 25OHD ($p<0.001$). Les sujets présentant une peau claire avaient un taux moyen de la 25OHD de $19,59 \pm 12,51$ $\mu\text{g/l}$ Versus $14,11 \pm 7,94$ $\mu\text{g/l}$ pour ceux qui ont une peau foncée.

Par contre, l'utilisation de crème solaire et le mode d'habillement n'étaient pas significativement liés au taux de la 25OHD.

1.4. Autres variables :

Par régression linéaire, il n'a pas été mis en évidence de relation significative entre l'origine, la ménopause et le taux de la 25OHD.

Tableau 9 : Taux moyen de la 25OHD selon les paramètres étudiés

	Effectif %	Taux moyen de 25OHD (µg/l)	p
Sexe			
Féminin	78 (157/200)	15,74±10,1	<0.001
Masculin	22 (43/200)	24,71±13,14	
Age			
<40 ans	16 (32/200)	14,6±8,99	<0.001
40–60 ans	63 (126/200)	16,57±11,31	
>60 ans	21 (42/200)	23,32±11,68	
Phototype			
Claire	65 (70/200)	19,59±12,51	<0.001
Foncé	35 (130/200)	14,11±7,94	
Origine			
Urbaine	89 (179/200)	17,29±10,96	0,33
Rurale	11 (21/200)	20,3±13,51	
Utilisation d'écran			
Oui			0,17
Non	43 (67/157)	14,52±8,69	
	57 (90/157)	16,65±11	
Ménopause			
Oui	68 (106/157)	16,69±10,64	0,06
Non	32 (51/157)	13,77±8,65	
Port de Voile			
Oui	92 (144/157)	15,82±10,27	0,69
Non	8 (13/157)	14,83±8,34	
IMC			
Obésité	15 (31/200)	15,38±8,86	0,14
Surpoids	46 (92/200)	17,25±11,48	
Normal	39 (77/200)	19,09±12,15	

2. Corrélations du taux de la 25OHD avec les paramètres biochimiques :

Les résultats de ces corrélations sont reportés dans les tableaux 10 et 11.

Tableau 10 : Corrélations entre le taux de la 25OHD et les paramètres biochimiques étudiés

25OHD		
	r	p
PTH	0.27	<0.001
Calcium	-0.05	0.45
Phosphore	0.13	<0.001
Créatinine	0.4	<0.001

2.1. Corrélation avec le taux de la PTH :

Une corrélation positive et significative a été retrouvée entre les taux sériques de la 25OHD et ceux de la PTH ($r = 0.27$, $p = 0.001$).

Une hyperparathyroïdie secondaire selon le seuil fourni par la technique utilisée dans notre laboratoire (> 65 pg/ml) a été détectée chez 60% des sujets présentant une hypovitaminose D.

Près de 84 % des sujets présentant une hyperparathyroïdie étaient en hypovitaminose D.

En effet la concentration de vitamine D n'est pas le seul déterminant du taux de PTH ; bien d'autres facteurs peuvent influencer ce taux, en particulier la quantité de calcium ingéré, absorbé et retenu par chaque individu [134].

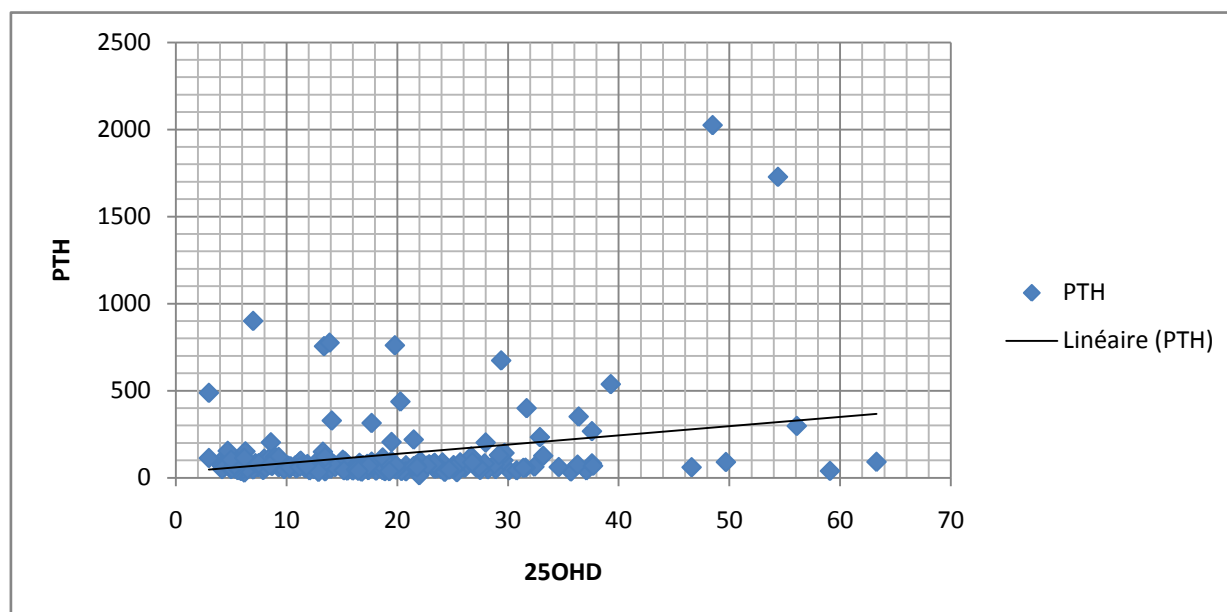


Figure 30 : L'évolution de la PTH en relation avec la vitamine D

Les patients avec un taux normal de la 25OHD ($>29 \mu\text{g/l}$), présentaient des taux de PTH plus élevés par comparaison avec ceux qui ont une hypovitaminose D (tableau 8).

Tableau 11 : Corrélation entre le taux de la PTH et les autres paramètres étudiés.

PTH		
	r	p
Calcium	-0.005	0.93
Phosphore	0.34	<0.001
Créatinine	0.65	<0.001

2.2. Corrélation avec les paramètres du bilan phosphocalcique :

Le taux sérique de la 25OHD corrélait positivement et significativement ($r=0.13$, $p=0.001$) avec les concentrations en phosphore.

Il n'y avait, cependant pas de corrélation significative entre le taux de la 25OHD et la concentration sériques du calcium ($p=0.45$).

DISCUSSION

A. La prévalence de l'hypovitaminose D

Les résultats de notre étude montrent une forte prévalence de l'hypovitaminose D. En effet on atteint ici une prévalence de 86%, répartie comme suit :

- 22 % des cas d'insuffisance modérée
- 32 % d'insuffisance importante
- 32 % de carence sévère

Le taux de 25(OH) D moyen était de $17,67 \pm 11,41 \mu\text{g/l}$. Cela suggère que même dans un pays comme le nôtre où l'ensoleillement est fort tout au long de l'année, l'hypovitaminose D est donc très fréquente.

Ces chiffres concordent pour la majorité avec les résultats de diverses études menées dans différentes populations (Tableau 12).

Tableau 12 : Prévalence de l'hypovitaminose D dans différentes études selon différents seuils

Références	Population	Lieu	Technique de dosage	Seuil(s) utilisé(s) µg/l	Pourcentage d'insuffisance en vitamine D (%)
Étude SUVIMAX Chapuy MC, et al. 1997 (110)	1579 sujets en bonne santé (805 F, 774 H) 35–60 ans	France toutes régions	Diasorin RIA	< 30	78
Étude nationale nutrition santé (ENNS, 2006–2007) (177)	1 587 adultes en bonne santé	France	–	<30	80.1
Daoudi et al 2009 (178)	332 patients hospitalisés (192 F, 140 H) âge moyen : 65 ans	Belgique	Diasorin RIA	<30 <20 <12	95 85 62
Francesco Vierucci et Marta Del Pistoia 2014 (179)	427 sujets moins de 21 ans	Italie		<30	82.2
González–Molero et IMorcillo S, 2011 (180)	1262 volontaires sains âgés entre 20 et 83	Espagne		<20	33.9

	ans				
Caryl A Nowson et John JMcGrath 2012 (181)	11247 Australiens âgés de 25 ans et plus	Australie		<20	31
Arya et al 2004 (182)	92 volontaires sains (67 F, 25 H) âgés entre 24 et 53 ans	Inde	RIA INCSTAR	<20	78,3
Forrest KY1, Stuhldreher WL.2006 (183)	4495 volontaires	USA		<20	41.6
Schwalfenberg et al 2010 (184)	Canadiens tout âge confondu	Canada	-	30-32	70-97
Erkal et al 2006 (185)	994volontaires sains (589 F, 405 H) âgés entre 16-69 ans	Turquie	CLIA	<20	75
Gannage Yared MH 2000 (186)	99 H, 217 F âgés de 30 à 50 ans	Liban	-	<12 <5	72,8 30.7
Kanan RM1, Al Saleh YM 2009 (187)	543 femmes	Arabie saoudite	-	<20	85

Talbi E, 2011 (188)	32 F et 32 H, d'âge moyen de 37 ± 10 ans.	Tunisie	CLIA	<30	93
El Hamdaoui 2010 (175)	200 hommes d'âge moyen de 47.7 ± 14 ans	Rabat-Salé	–	<30	94.5
Allali et al 2008 (112)	415 femmes saines âgées entre 24 et 77 ans	Rabat-Salé	Diasorin Liaison	< 30 <15 <5	91 43 4
Lazrak et al. 2008 (189)	100 femmes d'âge moyen de 59.74 ans	Casa	–	<30	90
S.Baki, G. El Mghari, 2015 (190)	96 patientes jeunes âgées de 18 à 45 ans	Marrakech	–	< 10	78,1

Pour les mêmes seuils de vitamine D retenus, nous avons comparé nos résultats avec ceux des pays européens, comme la France et la Belgique. Les prévalences retrouvées sont respectivement de 88 %, 95 % plus au moins proche à nos résultats, ce qui peut être expliqué par les faibles durées d'exposition solaire.

Pour les pays du Moyens orient, les prévalences de l'hypovitaminose D sont aussi élevées que la valeur de notre étude, surtout celle de l'Arabie saoudite avec 85%. Ces prévalences élevées malgré l'importance de l'ensoleillement peuvent être

expliquées par la peau foncée synthétisant moins de vitamine D, le port de vêtements couvrants, l'activité physique diminuée et les apports faibles en calcium et vitamine D.

Au Etats unies, la prévalence de l'hypovitaminose est de 41.6% (pour un seuil $<20 \mu\text{g/l}$), ce chiffre plus bas que le nôtre reflète un meilleur statut vitaminique D en rapport probablement avec l'enrichissement des aliments par la vitamine D.

En Australie, une grande étude «AusDiab» a enrôlé 11247 Australiens âgés de 25 ans et plus. Le taux moyen de vitamine D a été de 63 nmol/l avec seulement 4% de cette population en dessous de 25 nmol/l mais 31% en dessous de 50 nmol/l et 73% en dessous de 73 nmol/l .

Parmi les pays méditerranéens nous citons l'Italie, la Turquie et le Liban ou les prévalences de l'hypovitaminose D sont respectivement de 82%, 75% et 72.8%.

Chez nos voisins maghrébins, une étude tunisienne menée chez 389 personnes âgées de 20 à 60 ans entre Janvier et Mars 2011, a trouvé une prévalence de l'hypovitaminose D à 93% ($<30 \text{ ng/ml}$).

Au Maroc, les études menées à Casa et Rabat rapportent presque les mêmes résultats : 90% et 91% chez des populations de sexe féminin.

Il est difficile de comparer ces études car les seuils de normalité varient beaucoup de $12,5$ à $37,5 \text{ nmol/l}$ soit 5 à 15 ng/ml . Les populations ne sont pas exactement les mêmes au niveau des âges et les habitudes vestimentaires n'apparaissent pas toujours. Mais en général, nos résultats rejoignent ceux des autres études.

B. Déterminants du statut vitaminique :

1. Le sexe :

La prédominance féminine dans notre étude est nette. La concentration moyenne de 25 OHD chez les femmes est de $15.74 \pm 10,1$ contre $24,71 \pm 13,14$ chez les hommes, la différence est statistiquement significative ($p < 0.001$). Les prévalences respectives de l'hypovitaminose D sont de 89% chez les femmes et de 74% chez les hommes (tableau 9).

Dans notre étude, cette prédominance de l'hypovitaminose D chez le sexe féminin peut être expliquée par une faible exposition au soleil et des apports faibles en vit D et en calcium. Cette constatation est mise en évidence dans d'autres pays comme la Turquie avec des chiffres moins élevés que nos résultats 64.8% chez les femmes versus 52.1% chez les hommes (191).

2. L'âge :

Dans le présent travail, le déficit en vitamine D n'augmentait pas avec l'âge. Ces mêmes constatations sont retrouvées dans l'étude américaine (192) et celle des Emirats arabes unies (193). On peut expliquer cette corrélation positive et significative par la prédominance du sexe masculin dans les groupes plus âgés ou par la supplémentation de ces sujets par la vitamine D lors de leur traitement médical.

En revanche, d'autres études ont montré l'impact défavorable de l'âge sur le statut vitaminique D. Selon Allali et al. (112), un âge supérieur à 55 ans était un facteur déterminant de l'hypovitaminose D (population âgée entre 24 et 77 ans). Dans la cohorte NHANES III (194) (13 331 hommes et femmes américains), l'âge moyen augmentait significativement au fur et à mesure des quartiles descendants de

25OHD. L'avancement dans l'âge, le sexe féminin, la couleur foncée de la peau et l'IMC élevée, étaient les déterminants majeurs de la déficience en vitamine D (<17.8 ng/ml) dans cette étude.

Physiologiquement, le vieillissement occasionne une baisse des capacités cutanées à synthétiser la vitamine D. L'avancement dans l'âge occasionne également une diminution de l'absorption intestinale de la vitamine D, et une modification de la fonction rénale, parfois associés à des apports alimentaires diminués (195).

3. L'IMC

Dans notre population nous avons observé une corrélation négative et non significative entre le taux de la 25OHD et l'IMC : plus l'IMC augmente plus l'imprégnation en vitamine D diminue.

Cette association a été démontrée dans plusieurs études (112,196). Gordner et al. (197), en utilisant les critères actuellement admis (carence pour des taux de 25OH vitamine D inférieur à 20 ng/ml, et insuffisance pour des taux compris entre 20 et 30 ng/ml), rapportent que chez des sujets obèses (IMC moyen: 56.4 ± 12.3 Kg/m²), la fréquence des carences est de 61% et celle d'insuffisance est de 90% contre respectivement 12 et 32% chez des témoins appariés pour l'âge, le sexe, l'origine ethnique et l'exposition solaire.

Une étude Espagnole, (198) a retrouvé des résultats identiques à partir d'une cohorte de 43 femmes avec obésité morbide (IMC>40), 28 femmes avec une obésité non morbide (IMC entre 30 et 40) et 50 femmes avec IMC inférieur à 30. Les femmes obèses avaient des concentrations de 25OHD plus basses que celles avec un IMC inférieur à 30. Par ailleurs, la concentration de 25OHD était inversement associée au poids, à l'IMC et au rapport tour de taille / hanches.

4. La pigmentation de la peau

Dans notre étude, la couleur de la peau est un facteur de variation du taux de 25OHD : une peau foncée était significativement associée à l'hypovitaminose D ($p=0.001$).

Les différences raciales du statut vitaminique D ont été largement exploitées dans de nombreuses études. Tseng et al. (199), dans une étude Américaine portant sur 194 hommes Afro-américains d'âge moyen de 49.6 ± 8.4 ans, résidant à Philadelphia rapporte que 99% de la population étudiée avait un taux de vitamine D <30 ng/ml et 61 % avaient un taux inférieur à 15 ng/ml (seuil définissant l'insuffisance). Ceci souligne la fréquence de ce problème chez les sujets de race noire.

Dans l'étude de Guardia et al. (200), la carence en vitamine D était significativement plus élevée dans le groupe des personnes de couleur foncée comparativement à ceux dont la peau est claire (35%, 60% et 88% versus 15%, 32% et 72% pour les limites de 25OHD de 15, 20 et 30 ng/ml , $p<0.001$).

La nécessité d'un temps d'exposition aux UVB plus élevé pour augmenter la synthèse cutanée épidermique de la prévitamine D3 est démontrée non seulement chez les noirs mais également chez les autres groupes qui ont un taux de mélanine élevé (201).

La pigmentation de la peau, si elle est un facteur protecteur vis-vis des brulures du soleil, elle est une cause majeure de déficit en vitamine D. Cela s'explique par le fait que la mélanine agit tel un écran solaire naturel en absorbant les rayons UVB (202).

5. L'exposition solaire :

Il est à préciser que l'ensemble des participants dans notre étude ignorait l'importance de l'exposition au soleil qui était plutôt génératrice d'effets nocifs (coup de soleil, cancers cutanés, problèmes esthétiques).

- **Les vêtements couvrants :**

Dans notre étude, 91% des femmes portaient le voile, mais aucune corrélation significative n'a été retrouvée entre le port de vêtements couvrants et l'hypovitaminose D, ce qui est contradictoire si l'on se rapporte à d'autres études.

Au Koweït, en 1996, El Sonbaty et al avaient réalisé une étude cas-témoin entre des jeunes femmes voilées et non voilées et retrouvent une hypovitaminose D plus sévère chez les femmes voilées (203).

Une autre étude a été réalisée sur 2013 femmes en Jordanie au printemps 2010, les résultats ont montré que 95,7% des femmes avaient un taux inférieur à 20 ng/ml et 60,3% des femmes avaient un taux inférieur à 12 ng/ml. De plus ils constatent que les femmes portant le simple voile (hijab) ont un risque 1,6 fois supérieur d'avoir un taux de vitamine D inférieur à 12 ng/ml ; alors que celles qui portent le voile intégral (niqab) ont un risque 1,87 fois supérieur (204).

Au Maroc une étude prospective de prévalence en région de Casablanca a inclus 38 femmes âgées entre 24 et 65 ans portant le voile et donc des vêtements couvrants consultant en ambulatoire au service de MPR (Médecine physique et réadaptation) de juillet 2011 à mars 2012.

Les 38 patientes avaient un déficit variable en vitamine D allant de l'insuffisance à la carence (de 8 à 24 ng/ml) (205).

- **Le type d'habitation :**

De même pour le type d'habitation, on n'a pas pu trouver une relation significative entre statut de la vitamine D et le lieu d'habitation.

Par contre, l'étude de Ganage et al rapporte que la vie urbaine est un facteur prédictif de carence en analyse multivariée (186), probablement liée au fait que les personnes vivant en milieu rural ont plus fréquemment des maisons avec jardin et plus de facilités à s'exposer au soleil. Cette constatation a été faite dans plusieurs pays, bénéficiant pourtant d'un fort taux d'ensoleillement (Liban, Turquie), avec des pourcentages de patientes carencées élevés (127).

- **Les crèmes solaires :**

Il ressort dans notre étude que 33% de la population étudiée appliquait des crèmes solaires lors des sorties quotidiennes. Cependant, nous n'avons pas retrouvé de corrélation significative en analyse univariée avec le taux de vitamine D ($p=0.17$), l'étude VESTAL (186) rapporte le même constat. Les crèmes solaires sont considérées comme des écrans qui absorbent complètement les UVB et bloquent la synthèse de vitamine D. Elles permettent la transmission d'une fraction des UV égale à $1/\text{SPF}$ (Sun Protection Factor) de la fraction totale (par exemple : un indice de protection 15 ne bloque pas $1/15^{\text{ème}}$ soit 7% des UV). Pour avoir l'effet noté sur les notices, il faudrait une application de 2 mg/cm^2 , quantité qui n'est pas appliquée dans la vraie vie. De ces considérations, il ressort que l'hypovitaminose D n'est pas liée à l'utilisation de crèmes solaires selon Gilchrest BA (206) et Norval M (207).

6. Synthèse :

Dans la présente étude, nous retenons comme facteurs de risque de l'hypovitaminose D:

- Une peau foncée
- Le sexe féminin

L'exposition au soleil reste la principale source de vitamine D dans l'organisme. Elle représente près de 90% des besoins. Il est estimé qu'une exposition au soleil, bras et jambes, 5 à 30 minutes, deux fois par semaine, entre 10 et 15 H au printemps, été et automne, accroît significativement le taux de la 25(OH) D (208).

Au Maroc le Ministère de la Santé a pris conscience de l'importance de la vitamine D et de l'impact de l'hypovitaminose D sur la santé générale. Ainsi, la vitamine D fait partie intégrante du Programme National de Lutte contre les Troubles dus aux Carences en Micronutriments mis en place depuis l'an 2000. Ce programme concerne le fer, l'iode et les vitamines A et D.

Dans ce cadre une stratégie de fortification des aliments de base en vitamine D, notamment les huiles de tables et les produits laitiers a été adoptée (209).

95 % des huiles de table et 60% du lait pasteurisé vendus sur le marché aujourd'hui sont supplémentés en vitamines A et D3 (210).

Cependant, il ne faut jamais omettre l'importance majeure d'une exposition adéquate au soleil comme protectrice contre l'hypovitaminose D. Cela suppose d'examiner préalablement et de façon soigneuse la balance bénéfices/risques d'une telle pratique.

C. Corrélation entre le taux de la vitamine D et les paramètres étudiés

1. Vitamine D et PTH :

De façon consensuelle, l'insuffisance en vitamine D se définit, comme cela a été souligné, par un taux de vitamine D en dessous duquel il existe un effet sur le remodelage osseux par le biais d'une hyperparathyroïdie secondaire. Celle-ci correspond à une augmentation de la sécrétion de PTH afin de compenser une tendance à la baisse de la concentration sérique en calcium ionisé (136).

Selon l'étude de MC Chapuy et al. (110), portant sur 1569 sujets français, le taux de la PTH diminuait en fonction de la concentration de la 25OHD, en réalisant une asymptote dont le plateau était atteint pour une concentration de 25OHD de 31 ng/ml. Autrement dit, cela signifie que dès que la valeur de la 25OHD commence à descendre en-deçà du seuil 31 ng/ml, la PTH commence à s'élever.

Dans la présente étude, nous avons noté une corrélation positive et significative entre le taux de la 25OHD et celui de la PTH. Ainsi, les sujets qui ont une 25OHD supérieure à 29 µg/l présentaient, en moyenne, une PTH plus haute que ceux qui ont une 25OHD inférieure à ces seuils, ce qui est contradictoire avec les résultats rapportés par d'autres études.

On peut expliquer nos résultats comme ceci :

Dans le groupe des patients non déficitaires ($25\text{OHD} > 29\mu\text{g/l}$), 50% des cas étaient en IRC dont 93% présentaient une hyperparathyroïdie avec des chiffres très élevés ($\text{max}=2024$) ce qui peut être expliqué par l'hyperphosphorémie qui est très fréquente chez l'IRC dialysé et contribue à majorer l'hyperparathyroïdie par plusieurs mécanismes (Annexe 3) :

- Stimulation directe de la sécrétion et de la synthèse de PTH

- Aggravation de l'hypocalcémie
- Inhibition de l'action du calcitriol
- Inhibition encore hypothétique du récepteur du calcium

2. Vitamine D et autres paramètres étudiés :

Les valeurs moyennes de calcémie et phosphorémie sont normales et très proches dans les deux groupes, que les patients soient en déficit ou non. Ceci confirme que le dosage de la vitamine D ne peut pas être remplacé par d'autres dosages (ni de calcium ni de phosphore), ce qui a déjà été souligné dans d'autres études.

D. Intérêts et limites de ce travail :

1. Points forts :

Les points forts de cette étude sont les suivants :

- Il s'agit de la première étude qui évalue la prévalence de l'insuffisance et de la carence en vitamine D dans la population de la région de Meknès Tafilalet, chez des sujets qui ont une indication de dosage de la 25(OH)D.
- La pertinence de l'étude et son utilité dans la pratique du médecin généraliste ainsi que les répercussions potentielles concernant les thérapeutiques curatives et préventives, du déficit en vitamine D.
- La même méthode analytique de mesure de la concentration de 25(OH)D utilisée pour tous les patients dans le même laboratoire pour minimiser tous biais de variabilité et de confusion de dosage de 25(OH) vitamine D.
- L'intégralité du bilan sanguin qui comprend les concentrations de 25(OH)D, de PTH, de calcium et de phosphore.

- L'hétérogénéité de l'échantillon étudié par rapport à l'âge, le sexe, le lieu d'habitation (rural/urbain) qui permet de donner une représentation globale de la prévalence de la carence en vitamine D dans la population générale.

2. Points faibles :

Les points faibles de cette étude sont les suivants :

- Le manque de calcémie corrigée en fonction de l'albuminémie.
- Les dosages ont tous été réalisés en hiver, période où nous nous attendions à avoir des taux élevés d'insuffisance en vitamine D. Nous n'avons pas pu réaliser les dosages à une autre période pour des raisons d'organisation et de temps.
- Nous avons volontairement préféré ne pas traiter les apports alimentaires en vitamine D. Tout d'abord, parce qu'ils sont difficiles à évaluer par les patients eux-mêmes, ce qui expose à des biais d'information. Ensuite, nous avons choisi de nous concentrer sur les paramètres d'exposition solaire, le phototype, qui nous semblaient être les plus pertinents dans cette population.
- Il existe des obstacles qui rendent difficiles les comparaisons des résultats des différentes études : Les spécificités climato – géographiques des pays (latitudes, altitude et ensoleillement), l'absence de technique standardisée de dosage de la vitamine D et l'absence de consensus sur la définition du statut de la vitamine D. Néanmoins, des rapprochements peuvent être dégagés entre nos résultats et ceux des données de la littérature.

E. Perspectives :

Comme perspectives d'application des résultats de notre étude, nous proposons les actions suivantes :

- La prévalence importante de l'hypovitaminose D au Maroc et dans le monde, nous amène à poser la question du seuil de 30ng/ml, n'est-il pas trop élevé ?
- Mener des travaux de recherche pour définir une valeur de référence pour la population marocaine, élaborer une méthode de référence avec standardisation et comparaison des différentes méthodes de dosages de la 25OHD, afin d'harmoniser les résultats au Maroc.
- Des études plus approfondies sur les habitudes d'exposition au soleil de la population générale, pourrait aboutir à des recommandations spécifiques en termes d'indication (pour optimiser la synthèse cutanée de vitamine D) et de prévention (afin de limiter la survenue de cancers cutanés), ce qui paraît utile en pratique courante, notamment en médecine générale.
- Une meilleure éducation sur la vitamine D et ses fonctions. Ceci devrait concerner, au mieux, conjointement le corps médical et le grand public. Le rôle du médecin « de premier contact » qui est le médecin traitant, généraliste, est ici inestimable. Il peut ainsi, en même temps qu'un bilan sanguin de contrôle « classique », prescrire un dosage de la 25(OH)D, au moins aux patients qu'il estime « à risque ». En plus, il existe des propositions récentes d'inclure ce dosage dans le bilan périodique et même de « mesurer systématiquement la PTH et la 25(OH)D chez toute femme ménopausée ostéoporotique » (136).

- Une large éducation sur la vitamine D y compris ses fonctions extra-squelettiques, pourrait, à long terme, réduire considérablement le coût du traitement des fractures et de leurs séquelles et améliorer la santé générale des populations, d'autant plus que les études épidémiologiques soulignent son implication dans la prévention des maladies considérées de plus en plus souvent comme épidémiques comme le diabète ou le cancer (211, 212, 136).
- L'enrichissement des produits alimentaires en vitamine D et en calcium pour prévenir la carence en vitamine D.

CONCLUSION

Nous avons aujourd'hui des arguments solides établissant les effets généraux nocifs d'une carence ou d'une insuffisance en vitamine D. Le retentissement sur l'os se traduit de façon extrême par un rachitisme ou une ostéomalacie, mais bien plus souvent par une élévation de la sécrétion de PTH et un remodelage osseux accru, particulièrement impliqué dans l'ostéoporose. L'AFSSAPS, dans sa publication sur les traitements médicamenteux de l'ostéoporose, recommande de dépister et corriger une carence en vitamine D avant d'initier tout traitement.

La déficience en vitamine D apparaît également comme un facteur de risque de développement de toute une série de maladies majeures comme le cancer, les maladies immunitaires, cardiovasculaires et métaboliques. Quel que soit le domaine considéré, il est clair que la concentration sérique de la vitamine D constitue un puissant bio marqueur de l'état de santé du patient.

Dans notre étude nous avons démontré que même dans un pays bien ensoleillé comme le nôtre, la prévalence de l'hypovitaminose D était très élevée. Cela veut dire en d'autres termes que ce phénomène n'est pas uniquement l'apanage des pays peu ensoleillés, il est paradoxalement également fréquent dans les pays où l'ensoleillement peut être important. Ceci s'explique en grande partie par l'éviction de l'exposition au soleil (protection excessive, style vestimentaire), exacerbée par un apport alimentaire pauvre en vitamine D, le tout concourant au caractère très étendu de cette « épidémie » au plan géographique (213).

Toutes ces données incitent à demander que des recommandations soient faites pour supplémenter davantage l'alimentation pour l'ensemble de la population afin de maintenir un taux meilleur de vitamine D tout au long de l'année. Il semblerait judicieux de passer des 200 UI/J recommandés actuellement à 800 voire 1000 UI/J au mois de Novembre à Avril pour les personnes sans facteurs de risque et toute l'année pour les autres.

Enrichir davantage les aliments courants, s'exposer un peu plus au soleil en respectant les règles de prudence et en utilisant les crèmes solaires et si nécessaire prendre 100 000 unités toutes les 6 à 8 semaines sont des mesures simples qui pourraient réduire le nombre de consultations médicales, de consommation de soins et de médicaments tout en améliorant la santé globale et le bien-être physique de la population.

RESUMES

Résumé

Introduction :

La connaissance de la physiologie de la vitamine D a considérablement progressé ces dernières années, la faisant passer de simple vitamine à tropisme purement phosphocalcique et osseux à celui d'hormone jouant un rôle crucial dans de nombreux mécanismes physiologiques et dont le déficit est impliqué dans plusieurs pathologies.

Ce travail a pour objectif, la détermination de la prévalence de l'hypovitaminose D chez la population de la région de Meknès Tafilalt et ses facteurs de risques, d'étudier les corrélations entre le taux de la 25OHD et les paramètres démographiques, cliniques et biologiques.

Matériels et méthodes :

Il s'agit d'une étude prospective portant sur 200 volontaires (157 femmes, 43 hommes) âgés entre 12 et 84 ans. Nous avons dosé la 25OHD, la PTH, le calcium et le phosphore.

Résultats :

Il s'agit de 200 patients d'un âge moyen de 51,27 ans, la prévalence de l'hypovitaminose D ($25\text{OHD} < 29 \text{ ug/l}$) est de 86% dans la population générale, 89 % chez les femmes, 74 % chez les hommes.

L'hypovitaminose D n'est pas corrélée avec l'âge, l'indice de masse corporelle, l'origine et le mode d'habillement.

L'hypovitaminose D est positivement corrélée avec le sexe et le phototype.

Pour les paramètres biologiques, une corrélation positive et significative a été retrouvée entre la 25OHD et la PTH ($r = 0.27$, $p = 0.001$).

Le taux sérique de la 25OHD corrélait positivement et significativement ($r=0.13$, $p=0.001$) avec les concentrations en phosphore.

Il n'y avait, cependant pas de corrélation significative entre le taux de la 25OHD et la concentration sériques du calcium.

Conclusion :

Au terme de cette étude, nous avons conclu à l'importante prévalence d'hypovitaminose D chez la population de la région de Meknès–Tafilalt consultant en médecine ambulatoire. Ce qui concordait avec les données de la littérature. Ces données doivent être confirmées par des études multicentriques plus puissantes englobant divers niveaux socioculturels et diverses régions du pays.

Summary

Introduction:

Knowledge of the physiology of vitamin D has increased considerably in recent years from a simple vitamin with a pure phosphocalcium and bone tropism to that of hormone, playing a crucial role in many physiological mechanisms and its been demonstrated that a deficit in vitamin D is involved in several pathologies.

The objective of this work is to determine the prevalence of hypovitaminosis D in the population of Meknès–Tafilalt region and its risk factors, and also to study the correlations between the level of 25OHD and the clinical and demographic parameters.

Material and Method:

This is a prospective study of 200 volunteers (157 women, 43 men) aged between 12 and 84 years. We measured concentrations of 25OHD, PTH, calcium and phosphorus.

Results:

It is 200 patients with an average age of 51.27 years. The prevalence of hypovitaminosis D (25 OHD < 29 ug/l) is 86% in the general population, 89% in women, 74% in men.

Hypovitaminosis D is not correlated with age, body mass index, origin or type of clothing.

Hypovitaminosis D is positively correlated with sex and the phototype.

For the biological parameters, a positive and significant correlation was found between 25OHD and PTH ($r = 0.27$, $p = 0.001$).

The 25OHD correlated positively and significantly ($r = 0.13$, $p = 0.001$) with phosphorus concentrations. There was, however, no significant correlation between the level of 25OHD and the calcium concentration.

Conclusion:

At the end of this study, we found a very high prevalence of hypovitaminosis D in the in the region of Meknes–Tafilalt, which was consistent with data from the literature. This data must be confirmed by more powerful multicentric studies encompassing various sociocultural levels and regions of the country.

ملخص

مقدمة:

لقد تطورت المعارف المتعلقة بوظائف فيتامين "د" بشكل ملحوظ في السنوات الأخيرة، مما أدى إلى تحولها من فيتامين لها دور محدد في أحداث توازن بين تركيز الفوسفور كالسيوم والعظام إلى هرمون يلعب دورا حاسما في العديد من الآليات الفيزيولوجية والتي يؤدي النقص فيها إلى العديد من الأمراض. ويهدف هذا العمل إلى تحديد مدى انتشار نقص فيتامين "د" في ساكنة منطقة مكناس تافيلالت والعوامل المساهمة في ذلك، ويهدف أيضا إلى دراسة العلاقة بين معدل الفيتامين "د" والمعلومات السريرية والديموغرافية.

المواد والطرق:

يتعلق الأمر بدراسة استطلاعية لـ 200 متطوع (157 نساء و 43 رجلا) الذين تتراوح أعمارهم بين 12 و 84 عاما. لقد قمنا بتحديد تركيز كل من: الفيتامين "د"، PTH والكالسيوم والفوسفور.

النتائج:

200 مريض متوسط أعمارهم 51.27 سنة، وانتشار نقص فيتامين "د" كان 86% في عموم السكان، و 89% بين النساء و 74% في الرجال. لم نجد ارتباطا لنقص فيتامين "د" مع التقدم في العمر، ومؤشر كتلة الجسم، والأصل أو طريقة اللباس.

لكن وجدنا ارتباطا لنقص فيتامين "د" بشكل إيجابي مع الجنس ونوع الجلد. فيما يخص المعلومات البيولوجية، تم العثور على علاقة إيجابية وهامة بين فيتامين "د" و PTH (ص = 0.27، ع = 0.001).

كما وجدنا ايضا ان فيتامين "د" يرتبط إيجابيا وبشكل ملحوظ (ص = 0.13، ع = 0.001) مع تركيز الفوسفور.

لكن لم تكن هنالك علاقة ذات دلالة إحصائية بين معدل فيتامين "د" وتركيز الكالسيوم.

استنتاج:

بعد هذه الدراسة، خلصنا إلى وجود ارتفاع مهم لمعدل انتشار نقص فيتامين "د" في سكان منطقة مكناس تافيلالت، الشيء الذي يتوافق مع البيانات الموجودة في الدراسات الأخرى. وينبغي تأكيد هذه البيانات عن طريق دراسات متعددة المراكز تشمل المستويات الاجتماعية والثقافية المختلفة ومناطق أخرى من البلاد.

ANNEXES

ANNEXE 1 : Fiche d'exploitation

Numéro du dossier :

1. Identité :

Nom et Prénom :

Sexe :

Age:

Origine:

Taille :

Poids :

IMC :

Phototype cutané :

Utilisation de crèmes de protection solaire : oui ☐ non ☐

Faible exposition solaire (femme voilée): oui ☐ non ☐

2. Antécédents personnels :

Médicaux :

Chirurgicaux :

Prise médicamenteuse :

Ménopausée : oui☐ non☐

Contraception : oui☐ non☐ type :

3. signes cliniques :

Asthénie :

Douleurs osseuses :

Douleurs musculaires :

4. Biologie :

25 OH Vit D :

Bilan phosphocalcique :

PTH :

Bilan rénal :

Glycémie à jeun :

CRP :

Bilan lipidique :

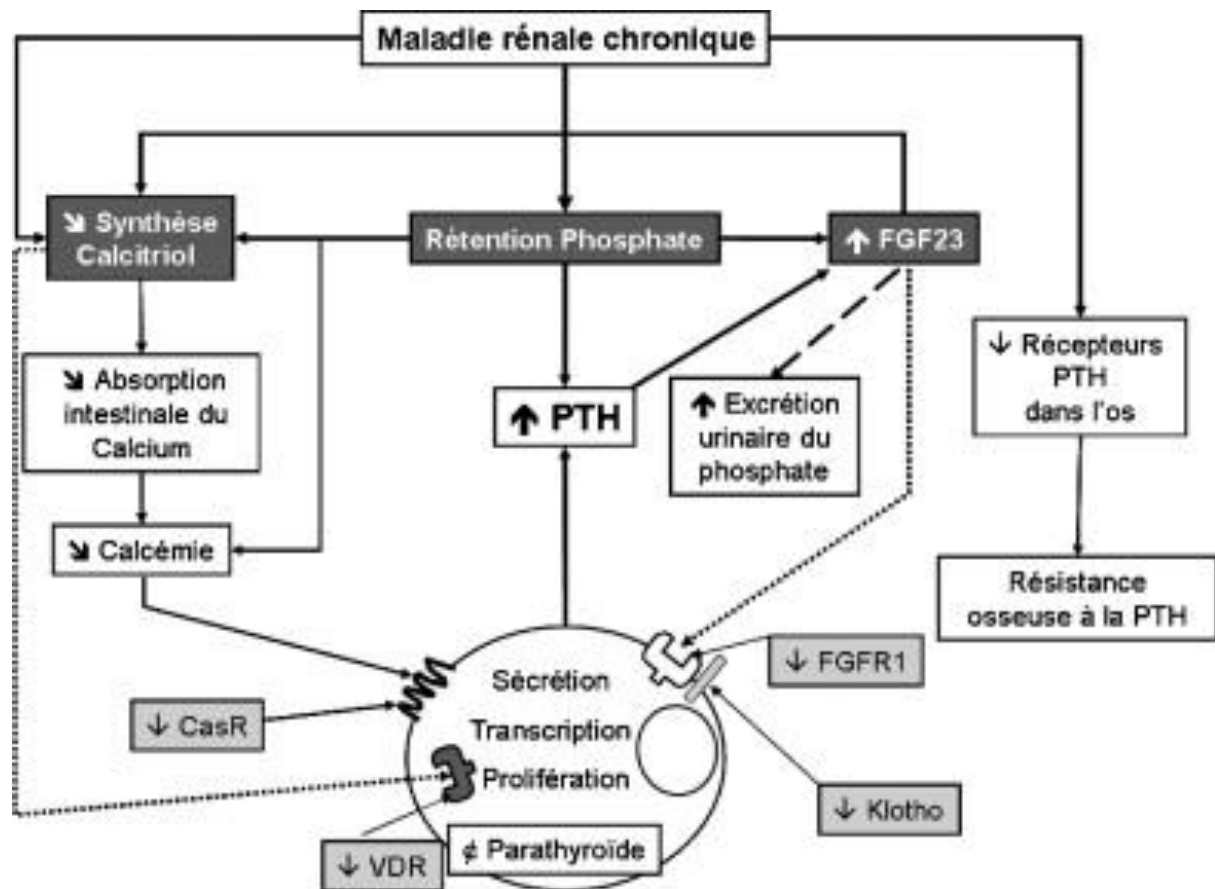
Bilan hépatique :

HbA1C :

ANNEXE 2: Caractéristiques biochimiques de la population étudiée

	Population générale	Femmes	Hommes	p
25OHD (µg/l)	17,67±11,41	15,74±10,1	24,71±13,14	<0.001
PTH (pg/ml)	124,26±219,91	89,38±97,14	251,6±415,86	<0.001
Ca (mg/l)	92,83±6,97	93,18±6,32	91,56±8,91	0,26
Phosphore (mg/l)	32,92±9,58	32,67±8,91	33,81±11,71	0,57
GAJ (g/l)	1,08±0,43	1,04±0,31	1,24±0,7	0,07
CRP (mg/l)	5,89±11,05	6,22±11,91	4,7±7,07	0,29
Créatinine (mg/l)	14 ,33±22,78	9,61±15,54	31,53±34,27	<0.001

ANNEXES 3: Physiopathologie de l'hyperparathyroïdie chez l'insuffisant rénal chronique



BIBLIOGRAPHIE

- 1–St Arnaud R Demay MB, Vitamin D biology. Elsevier Science: London 2003; 193 215.
- 2–Aude Tonson la Tour*, Alexandra Wilhelm–Bals*, Elsa Gonzalez Nguyen Tang*, Eric Girardin*, Genève. Le point sur la vitamine D
- 3–Boüüaert C, Vanmeerbeek M, Burette P et al. Déficit en vitamine D chez l’homme âgé vivant à domicile ou en institution en milieu urbain. Presse Med 2008 ; 37 : 191–200.
- 4–De jaeger C, Cherin P. Vitamine D: effets sur la santé. Recommandations de bon usage. Médecine et Longévité 2010; 2: 182–199.
- 5–Wahl DA,Cooper C,Ebeling PR,Eggersdorfer M : A global representation of vitamin D status in healthy populations.Arch.Osteoporos.2012 ;7 :155–72
- 6– Norman AW. Sunlight, season, skin pigmentation, vitamin D, and 25–hydroxyvitamin D: integral components of the vitamin D endocrine system. Am J Clin Nutr. 1998 Jun;67(6):1108–10.
- 7– M.F. Holick.Vitamin D | Physiology, Dietary Sources and Requirements. Encyclopedia of Human Nutrition Second Edition)2005, Pages 368–377
- 8– Holick MF. Photobiology of Vitamin D. In Vitamin D 2ND EDITION 2005; CHAPTER 3: p37.
- 9– De Gabriel JR. Vitamin D. Actas Dermosifiliogr 2010;101:739–741.
- 10–Amstutz V et al, Vitamin D: update and recommendations. Rev Med Suisse 2011: 7 (319); 2332, 2334–7.
- 11–Holick MF and TC Chen, Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. Am J Clin Nutr 2008: 87 (4); 1080S–6S.
- 12–Holick MF, Vitamin D deficiency entire monograph.BMJ point of care 2011; 1–19
- 13– Bouvard B, Annweiler C, Sallé A et al. Extra skeletal effects of vitamin D: Facts, uncertainties, and controversies. Joint Bone Spine 2011; 78: 10–16.
- 14– Dietary reference intakes for calcium, phosphorous, magnesium, vitamin D, and fluoride. Institute of Medicine Food and Nutrition Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes: Washington 1997; 263–285.

-
- 15- Département fédéral de l'intérieur DFI Office fédéral de la sécurité alimentaire et des affaires vétérinaires OSAV Denrées alimentaires et nutrition : Recommandations concernant la vitamine D 331.3/2014/00450\ COO.2101.102.4.358932 \ 206.02.02.08
- 16-Académie nationale de médecine, Salle,B, Duhamel,JF, Souberbielle,J-C. Statut vitaminique, rôle extra osseux et besoins quotidiens en vitamine D. Rapport, conclusions et recommandations. Paris: ANM; 2012.
- 17-Natalie Nemazannikova . Vitamin D: Metabolism, Molecular Mechanisms, and Mutations to Malignancies. *MOLECULAR CARCINOGENESIS 53:421-431 (2014).
- 18-Chittari Venkata ,Harinarayan .Vitamin D and diabetes mellitus. Hormones 2014, 13(2):163-181.
- 19-Karine Briot¹,Maurice Audran². Vitamin D: skeletal and extra skeletal effects; recommendations for good practice.La Presse Médicale Volume 38, Issue 1, January 2009, Pages 43-54
- 20-Tissandré E, Guéguen Y. Vitamin D: métabolisme, régulation et maladies associées. Medecine/Sciences.2006;22:1095-100.
- 21-Souberbielle JC. Actualité sur les effets de la vitamine D et l'évaluation du statut vitaminique D. Annales d'endocrinologie.2008;69(6):501-10.
- 22-Collège de la Haute Autorité de santé octobre 2013: Utilité clinique du dosage de la vitamine D – Rapport d'évaluation technologique
- 23- Guillaume J, Lafage-Proust MH, Massy ZA et al. La prescription de vitamine D chez le patient dialysé en pratique clinique. Néphrologie et thérapeutique 2009 ; 5 : 520-532
- 24- Mistretta V-I, Delanaye P, Souberbielle J-C et al. Vitamine D2 ou vitamine D3?. La revue de médecine interne 2008; 29: 815-820.
- 25- Esterle L. La vitamine D: nouvelles données. Cholé-doc 2010 ; 117 : disponible sur le net : www.cerin.org

- 26- Courbebaisse M, Souberbielle J-C. Equilibre phosphocalcique : régulation et explorations. *Néphrol. ther.* 2011 ; doi:10.1016/j.nephro.2010.12.004.
- 27-Cormier C, Courbebaisse M, Maury E et al. Influence de la vitamine D sur le risque Cardiovasculaire. *Journal des Maladies Vasculaires* 2010 ; 35 :235-241.
- 28- Souberbielle JC, Prié D, Courbebaisse M, et al. Actualité sur les effets de la vitamine D et l'évaluation du statut vitaminique D. *Revue Francophone des laboratoires* 2009 ; 414 : 31-39.
- 29- Actualité sur les effets de la vitamine D et l'évaluation du statut vitaminique D : Jean-Claude Souberbiellea,c,* , Dominique Priéa,c , Marie Courbebaisse,c , Gérard Friedlandera,c , Pascal Houillierb,c , Gérard Maruanib , Etienne Cavaliere , Catherine Cormierd
- 30-Visser M, Deeg D, Lips P. Low vitamin D and high parathyroid hormone levels as determinants of loss of muscle strength and muscle mass (sarcopenia): the longitudinal aging study Amsterdam. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:5766-72.
- 31-Zhu K, Dick I, Devine A, Bruce D, Prince R. An RCT of vitamin D or placebo on falls in elderly women with low vitamin D status and a falling history. *J Bone Miner Res* 2006;21:1227.
- 32-Bischoff-Ferrari, Dawson-Hughes B, Willet W, Staehelin H, Bazemore M, Zee R, et al. Effect of vitamin D on falls. A meta-analysis. *JAMA* 2004;291:1999-2006.
- 33-Sato Y, Iwamoto J, Kanoko T, Satoh K. Low-dose vitamin D prevents muscular atrophy and reduces falls and hip fractures in women after stroke: a randomized controlled trial. *Cerebrovasc Dis* 2005;20:187-92.
- 34-Capiati DA, Vasquez G, Boland RL. Protein kinase C alpha modulates the Ca^{2+} influx phase of the Ca^{2+} response to 1 alpha, 25-dihydroxy-vitamin- D3 in skeletal muscle cells. *Horm Metab Res* 2001;33:201-6.

-
- 35–Garland CF, Comstock G, Garland FC, Helsing K, Shaw E, Gorham E. Serum 25 hydroxy vitamin D and colon cancer : eight year prospective study. *Lancet* 1989;334:1176–8.
- 36–Feskanich D, Ma J, Fuchs CS, Kirkner GJ, Hankinson SE, Hollis BW et al. Plasma vitamin D metabolites and risk of colorectal cancer in women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004;13:1502–8.
- 37–Ahonen M, Tenkanen L, Teppo L, Hakama M, Tuohimaa P. Prostate cancer risk and prediagnostic serum 25–hydroxyvitamin D levels. *Cancer Causes and Control* 2000;11:847–52.
- 38–Skinner H, Michaud D, Giovannucci E, Willett W, Colditz G, Fuchs C. Vitamin D intake and the risk for pancreatic cancer in two cohort studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006;15:1688–95.
- 39–Zhou W, Heist R, Liu G, Asomaning K, Neuberger D, Hollis B, et al. Circulating 25–hydroxyvitamin D levels predict survival in early–stage nonsmall–cell lung cancer patients. *J Clin Oncol* 2007;25:479–85
- 40– Wactawski–Wende J, Kotchen JM, Anderson GL, Assaf AR, Brunner RL, O’Sullivan MJ et al. Calcium plus vitamin D supplementation and the risk of colorectal cancer. *N Engl J med* 2006;354:684–96.
- 41– Lappe JM, Travers–Gustafson D, Davies KM, Recker R, Heaney R. Vitamin D and calcium supplementation reduces cancer risk: results of a randomized trial. *Am J Clin Nutr* 2007;85:1586–91.
- 42–Carlberg C. Current understanding of the function of the nuclear vitamin D receptor in response to its natural and synthetic ligands. *Recent Results Cancer Res* 2003;164:29–42.
- 43–Shabahang M, Buras RR, Davoodi F, Shumaker LM, Nauta RJ, Uskokovic MR, et al. Growth inhibition of HT–29 human colon cancer cells by analogues of 1,25–dihydroxyvitamin D3. *Cancer Res* 1994;54:4057–64.

-
- 44– Saggese G, Federico G, Balestri M, Torriolo A. Calcitriol inhibits the PHA-induced production of IL-2 and IFN-gamma and the proliferation of human peripheral blood leucocytes while enhancing the surface expression of HLA class II molecules. *J Clin Invest* 1989;12:329–35.
- 45– Cantorna M, Hayes C, DeLuca H. 1,25-dihydroxyvitamin D₃ reversibly blocks the progression of relapsing encephalomyelitis, a model of multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:7861–4.
- 46– Lemire JM, Ince A, Takashima M. 1,25-dihydroxyvitamin D₃ attenuates the expression of experimental murine lupus of MRL/1 mice. *Autoimmunity* 1992;12:143–8.
- 47– Cantorna M, Hayes C, DeLuca H. 1,25-dihydroxycholecalciferol inhibits the progression of arthritis in murine models of human arthritis. *J Nutr* 1998;128:68–72.
- 48– Mathieu C, Waer M, Laureys J, Rutgeerts O, Bouillon R. Prevention of type I diabetes in NOD mice by 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *Diabetologia* 1994;37:552–8.
- 49– Cantorna M, Woodward W, Hayes C, DeLuca HY. 1,25-dihydroxyvitamin D₃ is a positive regulator for the two anti-encephalitogenic cytokines TGFβ₁ and IL-4. *J Immunol* 1998;160:5314–9.
- 50– DeLuca H, Cantorna M. Vitamin D: its role in immunology. *FASEB J* 2001;15:2579–85.
- 51– Hyppönen E, Läära E, Reunanen A, Järvelin MR, Virtanen S. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. *Lancet* 2001;358:1500–3.
- 52– Stene L, Ulriksen J, Magnus P, Joner G. Use of cod liver oil during pregnancy associated with lower risk of type I diabetes in the offspring. *Diabetologia* 2000;43:1093–8.
- 53– Munger KL, Levin LI, Hollis BW, Howard NS, Ascherio A. Serum 25-hydroxyvitamin D levels and risk of multiple sclerosis. *JAMA* 2006;296:2832–8.
- 54– McAlindon T, Felson D, Zhang Y, Hannan M, Aliabadi P, Weissman B, et al. Relation of dietary intake and serum levels of vitamin D to progression of arthritis of the knee among participants in the Framingham study. *Ann Int Med* 1996;125:353–9.

- 55-Liu PT, Stenger S, Li H, Wenzel L, Tan BH, Krutzik SR et al. Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. *Science* 2006;311:1770-3.
- 56-Chan TYK. Vitamin D deficiency and susceptibility to tuberculosis. *Calcif Tissue Int* 2000;66:476-8.
- 57-Schlienger JL, Luca F, Griffon C et al. Déficit en vitamine D et risque de diabète. *Médecine des maladies Métaboliques*. 2010 ; 4 : 558-562.
- 58-Cavalier E, Delanaye P, Souberbielle JC et al. Vitamin D and type 2 diabetes mellitus: Where do we stand?. *Diabetes Metab* 2011, doi:10.1016/j.diabet.2011.01.001 article in press
- 59-Munger KL, Levin LI, Hollis BW, et al. Serum 25hydroxyvitamin D levels and risk of multiple sclerosis. *JAMA* 2006; 296: 2832-8.
- 60-Nkembe CA, Myara J, Helft G, et al. Vitamine D et risque cardiovasculaire, *Médecine des maladies Métaboliques* 2009 ; 3 : 247-50.
- 61-Raghuwanshi A, Joshi SS, Christakos S et al. Vitamin D and Multiple Sclerosis. *J Cell Biochem*. 2008; 105: 338-343.
- 62- Potera C. Vitamin D Regulates MS Gene. *Environmental Health Perspectives*. 2009; 117: 196.
- 63- Sundqvist E, Bäärnhielm M, Alfredsson L, et al. Confirmation of association between multiple sclerosis and CYB27B1. *Eur J Hum Genet* 2010; 18:1349-52.
- 64- Pierrot-Deseilligny C, Souberbielle JC. Is hypovitaminosis D one of the environmental risk factors for multiple sclerosis? *Brain* 2010; 133: 1869-88.
- 65- Hanwell HEC, Banwell B. Assessment of evidence for a protective role of vitamin D in multiple sclerosis. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1812: 202-12.
- 66-Handunnetthi L, Ramagopalan S, Ebers GC et al. Multiple sclerosis, vitamin D, and HLA-DRB1*15. *Neurology* 2010; 74: 1905-10.

- 67–Garland CF, Garland FC, Gorham ED, Young JF. Geographic variation in breast cancer mortality in the United States: a hypothesis involving exposure to solar radiation. *Prev Med* 1990;19:614–22.
- 68– Wang T, Pencina M, Booth S, Jacques P, Ingelsson E, Lanier K, et al. Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular disease. *Circulation* 2008;117:503–11
- 69– Li YC, Kong J, Wei M, Chen ZF, Liu SQ, Cao LP. 1,25dihydroxyvitamin D(3) is a negative endocrine regulator of the rennin–angiotensin system. *J Clin Invest* 2002;110:229–38.
- 70– Krause R, Buhning M, Hopfenmuller W, Holick M, Sharma AM. Ultraviolet B and blood pressure. *Lancet* 1998;352:709–10.
- 71– Pfeifer M, Begerow B, Minne H, Nachtigall D, Hansen C. Effects of a short-term vitamin D3 and calcium supplementation on blood pressure and parathyroid hormone levels in elderly women. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:1633–7.
- 72– Baynes KCR, Boucher BJ, Feskens EJM, Kromhout D. Vitamin D, glucose tolerance and insulinaemia in elderly men. *Diabetologia* 1997;40:344–7.
- 73– Christian M, Girgis, Roderick J. Effects of vitamin D in skeletal muscle: falls, strength, athletic performance and insulin sensitivity. *Clinical Endocrinology* (2014) 80, 169–181.
- 74–Annweiler C, Montero-Odasso M, Schott AM, Berrut G, Fantino B, Beauchet O. Fall prevention and vitamin D in the elderly: an overview of the key role of the non-bone effects. *J Neuroeng Rehabil.* 2010 Oct 11; 7:50.
- 75–Salehi-Tabar R, Nguyen-Yamamoto. Vitamin D receptor as a master regulator of the c-MYC/MXD1 network. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012 Nov 13;109(46):18827–32.
- 76–Youssef DA, Miller CW, El-Abbassi AM, Cutchins DC, Cutchins C, Grant WB, Peiris AN. Antimicrobial implications of vitamin D. *Dermatoendocrinol.* 2011 Oct;3(4):220–9.
- 77–Bartley J. Vitamin D: emerging roles in infection and immunity. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2010 Dec;8(12):1359–69.

- 78-Carter GD, Carter CR, Gunter E et al. Measurement of Vitamin D metabolites: an international perspective on methodology and clinical interpretation. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology* 2004; 89: 467-71.
- 79-Noel M, Souberbielle JC. Annales du Contrôle national de Qualité des Analyses de Biologie Médicale: Hormone de croissance, parathormone, 25OHVitamine D. Annales GPV. 2011.
- 80-Assié G, Nonnenmacher L, Clauser E. Biochimie des hormones et leurs mécanismes d'action. Méthodes de dosage, de biologie moléculaire, et pharmacologie endocrine. EMC-Endocrinologie 2004 ; 1 : 93-105.
- 81- Mistretta V-I, Delanaye P, Souberbielle J-C et al. Vitamine D2 ou vitamine D3?. *La revue de médecine interne* 2008; 29: 815-820..
- 82-Heaney RP. Vitamin D: how much do we need, and how much is too much? *Osteoporos Int.* 2000;11(7):553-5.
- 83-Szymanowicz A, Devaaux C, Neyron et al. Etude comparative du dosage sérique de la 25-OH vitamine D3 sur Elecsys® versus Liaison®. *Immuno-analyse et biologie spécialisée* 2009; 24 :160-165.
- 84-Rosen CJ. Clinical practice. Vitamin D insufficiency. *N Engl J Med* 2011;364(3):248-54.
- 85-Endocrine Society, Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline.
- 86-Elder P, Lewis J, King R, Florkowski C. An anomalous result from gel tubes for vitamin D. *Clinica Chimica Acta* 2009;410:95.
- 87-Cavalier E, Wallace M, Knox S, Mistretta V, Cormier C, Souberbielle JC. Serum vitamin D measurement may not reflect what you give to your patients. *J Bone Miner Res* 2008;23:1864-5.
- 88-Binkley N, Drezner M, Hollis BW. Laboratory reporting of 25-hydroxyvitamin D results: potential for clinical misinterpretation. *Clin Chem* 2006;52:2124-5.

- 89-C.LBenhamou, J-C Souberbielle, B Cortet, P Fardellone, Jean-B.Gauvain, T. Thomas, pour le Groupe de recherche et d'information sur les ostéoporoses (GRIO) La vitamine D chez l'adulte : recommandations du GRIO.
- 90-Ingrand J. La spectrométrie de masse et ses principales applications en biologie médicale. *Immuno-analyse et biologie spécialisée* 2012;27(2):47-53.
- 91-Assié G, Nonnenmacher L, Clauser E. Biochimie des hormones et leurs mécanismes d'action. Méthodes de dosage, de biologie moléculaire, et pharmacologie endocrine. EMC-Endocrinologie 2004 ; 1 : 93-105.
- 92-Hollis BW. Assessment of Circulating 25(OH)D and 1,25(OH)2D: Emergence as Clinically Important Diagnostic Tools. *Nutrition Reviews* 2007; 65: 87-90.
- 93-Ersfeld DL, Sudhaker Rao D, Body JJ, et al. analytical and clinical validation of the 25OH vitamin D assay for the LIAISON® automated analyser. *Clinical biochemistry* 2004; 37: 867-74.
- 94-Chen H, McCoy LF, Rosemary L et al. Measurement of 25-hydroxyvitamin D3 (25OHD3) and 25-hydroxyvitamin D2 (25OHD2) in human serum using liquid chromatography-tandem mass spectrometry and its comparison to a radioimmunoassay method. *Clinica Chimica Acta* 2008; 391: 6-12.
- 95-Wallace AM, Gibson S, De la Hunty A, et al. Measurement of 25-hydroxyvitaminD in the clinical laboratory: Current procedures, performance characteristics and limitations. *Steroids* 2010 ; 75 : 477-488.
- 96-Snellman G, Melhus H, Gedeberg R et al. Determining Vitamin D Status: A Comparison between Commercially Available Assays. *PLoS ONE* 2010; 5: 1-7.
- 97-Leino A, Turpeinen U, Koskinen P et al. Automated Measurement of 25-OH Vitamin D3 on the Roche Modular E170 Analyzer. *Clinical Chemistry* 2008; 54 : 2059-62.
- 98-Institute of Medicine, Ross,AC, Taylor,CL, Yaktine,AL, Del Valle,HB. Dietary reference intakes for calcium and vitamin D. Washington: National Academics Press; 2011. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK56070/pdf/TOC.pdf>

- 99– Hunty A, Wallace AM, Gibson S, Viljakainen H, Lamberg–Allardt C, Ashwell M. UK Food Standards Agency Workshop Consensus Report: the choice of method for measuring 25-hydroxyvitamin D to estimate vitamin D status for the UK National Diet and Nutrition Survey. *Br J Nutr* 2010; 104(4):612–9.
- 100–Wallace AM, Gibson S, de la HA, Lamberg–Allardt C, Ashwell M. Measurement of 25-hydroxyvitamin D in the clinical laboratory: current procedures, performance characteristics and limitations. *Steroids* 2010;75(7):477–88.
- 101–Carter GD. 25-Hydroxyvitamin D assays: the quest for accuracy. *Clin Chem* 2009;55(7):1300–2.
- 102–Kennel KA, Drake MT, Hurley DL. Vitamin D deficiency in Adults :
When to Test and How to Treat. *Mayo Clin Proc* 2010 ; 85: 752–58
- 103–Pearce SHS, Cheetham TD. Diagnosis and management of vitamin D deficiency. *BMJ* 2010 ; 340 : b5664
- 104–Holick MF. High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health. *Mayo Clin Proc* 2006;81(3):353–73.
- 105–Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007;357(3):266–81.
- 106–Cavalier E, Souberbielle J–C. An update on the classical and non classical effects on vitamin D; evaluation of the patient's status. *Médecine Nucléaire* 2009;33:7–16.
- 107–Mithal A, Wahl DA, Bonjour JP, Burckhardt P, Wilson–Hughes B, Eisman JA, et al. Global vitamin D status and determinants of hypovitaminosis D.
Osteoporos Int 2009;20(11):1807–20.
- 108–Yetley EA. Assessing the vitamin D status of the US population. *Am J Nutr* 2008; 88:558S.
- 109–van der Wielen RP, Löwik MR, van den Berg H, de Groot LC, Haller J, Moreiras O et al. Serum vitamin D concentrations among elderly people in Europe. *Lancet* 1995; 346: 207–10.

- 110–Chapuy MC, Preziosi P, Maamer M, Arnaud S, Galan P, Hercberg Set al.
Prevalence of vitamin D insufficiency in an adult normal population. *Osteoporos Int* 1997 ; 7:439–43.
- 111–Vernay M, Sponga M, Salanave B, Oléko A, Deschamps V, Malon A et al.
Statut en vitamine D de la population adulte en France : l'Etude nationale nutrition santé (ENNS 2006–2007). *BEH* 2012; 16–17:189–94.
- 112–Allali F, El Aichaoui S, Khazani H, et al. High prevalence of hypovitaminosis D in Morocco: relationship to lifestyle, physical performance, bone markers, and bone mineral density. *Semin Arthritis Rheum* 2009; 38(6):444–51.
- 113–MacLaughlin J, Holick MF. Aging decreases capacity of human skin to produce vitamin D3. *J Clin Invest* 1985;76:1536.
- 114–Looker AC, Pfeiffer CM, Lacher DA, et al. Serum 25–hydroxyvitaminD status of the US population: 1988–1994 compared with 2000–2004. *Am J Clin Nutr* 2008;88:1519.
- 115–Yu CK, Sykes L, Sethi M et al. Vitamin D deficiency and supplementation during pregnancy. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2009;70:685.
- 116–Holick MF. Environmental factors that influence the cutaneous production of vitamin D. *Am J Clin Nutr*. 1995 Mar;61(3 Suppl):638S–45S. PubMed PMID: 7879731.
- 117–Bischoff–Ferrari HA, Dietrich T, Orav EJ, Dawson–Hughes B. Positive association between 25–hydroxy vitamin D levels and bone mineral density: a population–based study of younger and older adults. *Am Med*. 2004 May 116(9):634–9. PubMed PMID: 15093761.
- 118–Harris SS. Vitamin D and African Americans. *J Nutr*. 2006 Apr;136(4):1126–9. PubMed PMID: 16549493. eng.
- 119–Lucas RM, Ponsonby AL. Ultraviolet radiation and health: friend and foe. *Med J Aust*. 2002 Dec 2–16;177(11–12):594–8. PubMed PMID: 12463975. eng.
- 120–Holick MF, Matsuoka LY, Wortsman J. Age, vitamin D, and solar ultraviolet. *Lancet*. 1989 Nov 4;2(8671):1104–5. PubMed PMID: 2572832. Epub 1989/11/04. eng.

- 121–Duhamel JF, Zeghoud F, Semp C, Boudaillez B, Odievre M, et al. Prophylaxie de la carence en vitamine D chez l'adolescent Etude interventionnelle sur les effets biologiques d'un apport répété de 100 000 UI de vitamine D. Arch Pediatr 2000 ; 7 : 148–53.
- 122–Webb AR. Who, what, where and when D influences on cutaneous vitamin D synthesis. Prog Biophys Molecular Biol 2006; 92:17!25.
- 123–Melamed ML, Michos ED, Post W and Astor B. 25!hydroxyvitamin D levels and the risk of mortality in the general population. Arch Intern Med 2008;168(15):1629!37.
- 124–Tangpricha V, Pearce EN, Chen TC and Holick MF. Vitamin D insufficiency among free living healthy young adults. Am J Med 2002; 112:659!62.
- 125–Sonja B, Ambroise M, Anne–Marie S, Martine L, Marie–France G. La carence en vitamine D chez la femme de 18 à 49 ans portant des vêtements couvrants, une réalité méconnue en médecine générale. Presse Med. 2008 ; 37: 201–206.
- 126–Le Goaziou MF, Contardo G, Dupraz C, Martin A, Laville M, Schott–Pethelaz AM. Risk factors for vitamin D deficiency in women aged 20–50 years consulting in general practice: a cross–sectional study. Eur J Gen Pract 2011 Feb 25.
- 127–Lips P, Hosking D, Lippuner K et al. The prevalence of vitamin D inadequacy amongst women with osteoporosis: an international epidemiological investigation. J Intern Med 2006;260: 245!54.
- 128–Forman JP, Giovannucci E, Holmes MD, Bischoff!Ferrari HA et al. Plasma 25 hydroxyvitamin D levels and risk of incident hypertension. Hypertension 2007;49:10639.
- 129– Schwalfenberg G: Not enough vitamin D. Can Fam Physician 2007; 53:841 854.
- 130–Wagner CL, Greer FR. Prevention and Rickets and Vitamin D Deficiency in Infants, Children, and Adolescents. Pediatrics. 2008 ; 122 : 1142–52
- 131–Brett AS. Evaluation, Treatment and Prevention of Vitamin D Deficiency. J Watch Gen Med. June 23 2011.

- 132– Le Goaziou MF. L'hypovitaminose D dans les populations adultes jeunes qui consultent le médecin généraliste : Lien avec les douleurs musculo-squelettiques diffuses et chroniques. Human health and pathology. Lyon: Université Claude Bernard, 2012.
- 133– Mytton J, Frater AP, Oakley G, Murphy E, Barber MJ, Jahfar S. Vitamin D deficiency in multicultural primary care: a case series of 299 patients. Br J Gen Pract. 2007 Jul;57(540):577–9.
- 134–Lotfi A, Abdel–Nasser AM, Hamdy A, Omran AA, El–Rehany MA. Hypovitaminosis D in female patients with chronic low back pain. Clin Rheumatol. 2007 Nov;26(11):1895–901.
- 135– L. Gargouri , El Aoud, Y.Hentati, B.Maalej, M.Wali, W. Feki, Z.Mnif, A. Mahfoudh. LES RACHITISMES: RICKETS. J.I. M. Sfax, N°24; Octobre 16 ; 1–9
- 136–Cormier C, Souberbielle JC. Nouvelles définitions de l'insuffisance vitaminique D, retentissement sur les normes de PTH. La revue de médecine interne 2006; 27: 684–89.
- 137–Audran M, Chappard D. Rachitismes et ostéomalacies à l'âge adulte. Revue du rhumatisme monographies 2012 ; 79(4) : 248–252. .
- 138–Audran M, Briot K. Analyse critique du déficit en vitamine D. Revue du rhumatisme 2010 ; 77 : 139–143.
- 139–Chapuy MC, Arlot ME, Duboeuf F, et al. Vitamin D3 and calcium to prevent hip fractures in elderly women. N Engl J Med 1992; 327:1637–42.
- 140–Bischoff–Ferrari, Willett W, Wong JB, Giovannucci E, Dietrich T, Dawson–Hughes B. Fracture prevention with vitamin D supplementation: a meta–analysis of randomized controlled trials. JAMA 2005; 293:2257–64.
- 141–Bischoff–Ferrari H. Vitamin D: what is an adequate vitamin D level and how much supplementation is necessary? Best Pract Res Clin Rheumatol 2009; 23:789–95.
- 142–Tang B, Eslick GD, Nowson C, Smith C, Bensoussan A. Use of calcium in combination with vitamin D supplementation to prevent fractures and bone loss in people aged 50 years and older: a meta–analysis. Lancet 2007; 370: 657–66.

- 143– Michelino D.R Michele M Antonio Z Antonino P Lucia M. Vitamin D3 insufficiency and colorectal cancer. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 88 (2013) 594–612.
- 144–Lang PO, Samaras N, Samaras D, Aspinall R. How important is Vitamin D in preventing infections? *Intern Osteoporos* 2012 ; sous presse, <http://dx.doi.org/10.1007/s00198-012-2204-6>.
- 145–Lang PO. La vitamine D : effets de son déficit et de sa supplémentation sur l'incidence des infections. *NPG Neurologie – Psychiatrie – Gériatrie* (2013) 13, 79–88.
- 146–Chesney RW. Vitamin D and the magic mountain: the anti-infectious role of the vitamin D. *J Pediatr* 2010; 156:698–703.
- 147–Dawson–Hughes B, Heaney RP, Holick MF, Lips P, Meunier PJ, Vieth R. Estimates of optimal vitamin D status. *Osteoporos Int.* 2005 Jul;16(7):713–6. PubMed PMID: 15776217.
- 148–Souberbielle JC, Boudou P, Cormier C. Lessons from second– and third–generation parathyroid hormone assays in primary hyperparathyroidism. *J Endocrinol Invest.* 2008 May;31(5):463–9. PubMed PMID: 18560266. Epub 2008/06/19. eng.
- 149–Steingrimsdottir L, Gunnarsson O, Indridason OS, Franzson L, Sigurdsson G. Relationship between serum parathyroid hormone levels, vitamin D sufficiency, and calcium intake. *JAMA.* 2005 Nov 9;294(18):2336–41. PubMed PMID: 16278362. Epub 2005/11/10. eng.
- 150–Peacey SR. Routine biochemistry in suspected vitamin D deficiency. *J R Soc Med.* 2004 Jul;97(7):322–5. PubMed PMID: 15229256. Pubmed Central PMCID: PMC1079523.eng.
- 151–Nisbet JA, Eastwood JB, Colston KW, Ang L, Flanagan AM, Chambers TJ, et al. Detection of osteomalacia in British Asians: a comparison of clinical score with biochemical measurements. *Clin Sci (Lond).* 1990 Apr;78(4):383–9. PubMed PMID: 2160356. Epub 1990/04/01.eng.

- 152-Hypponen E, Power C. Hypovitaminosis D in British adults at age 45 y: nationwide cohort study of dietary and lifestyle predictors. *Am J Clin Nutr*. 2007 Mar;85(3):860–8. PubMed PMID: 17344510. Epub 2007/03/09. eng.
- 153-Carnevale V, Modoni S, Pileri M, Di Giorgio A, Chiodini I, Minisola S, et al. Longitudinal evaluation of vitamin D status in healthy subjects from southern Italy: seasonal and gender differences. *Osteoporos Int*. 2001 Dec;12(12):1026–30. PubMed PMID: 11846328. Epub 2002/02/16. eng.
- 154-Houghton LA and Vieth R. The case against ergocalciferol (vitamin D2) as a vitamin supplément. *Am J Clin Nutr* 2006;84:694–7.
- 155-Armas LA, Hollis BW, Heaney RP. Vitamin D2 is much less effective than vitamin D3 in Humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:5387–91.
- 156-Holick MF, Biancuzzo RM, Chen TC et al. Vitamin D2 is as effective as vitamin D3 in maintaining circulating concentrations of 25-hydroxyvitamin D. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:677–81.
- 157-Hmami F, Oulmaati A, Amarti A, et al. surdosage ou hypersensibilité à la vitamin D?. *Archives de Péd* 2014;21:1115–19.
- 158-F. Abourazzak, H.Khazzani, S. Mansouri, S. Ali Ou Alla , F.Allali, A.El Maghraoui, S. Larhrissi7, R. Niamane, W. Rachidi, L. Ichchou. Recommandations de la Société Marocaine de Rhumatologie sur la vitamine D chez l'Adulte. Recommendations of the Moroccan Society of Rheumatology on vitamin D in Adults. *Revue Marocaine de Rhumatologie*.
- 159-Romagnoli E, Mascia ML, Cipriani C, Fassino V, Mazzei F, D'erasmo E et al. Short and longterm variations in serum calciotropic hormones after a single very large dose of ergocalciferol (viamin D2) or cholecalciferol (vitamin D3) in the elderly. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93:3015–20.
- 160-Vieth R. Vitamin D supplementation, 25-hydroxy-vitamin D concentrations, and safety. *AmJ Clin Nutr* 1999;69:842–6.

- 161–Hathcock J, Shao A, Vieth R, et al. Risk assessment for vitamin D. *Am J Clin Nutr* 2007;85:6–18.
- 162–Heaney RP, Davies KM, Chen TC, et al. Human serum 25-hydroxycholecalciferol response to extended oral dosing with cholecalciferol. *Am J Clin Nutr* 2003;77:204–10.
- 163–Theodoratou E, Tzoulaki I, Zgaga L, et al. Vitamin D and multiple health outcomes : umbrella review of systematic reviews and metaanalyses of observational studies and randomized trials. *BMJ* 2014;348:2035.
- 164–Bui T, Christin-Maitre S. Vitamin D and pregnancy. *Annales d'Endocrinol.* 2011;72:S23–S28.
- 165–Bodnar LM, Catov JM, Zmuda JM. Maternal serum 25-hydroxy vitamin D concentration is associated with small-for-gestational age births in white women. *J Nutr* 2010;140:999–1006.
- 166–Collectif (Collège National Des Gynécologues et Obstétriciens Français). Supplémentation au cours de la grossesse – Recommandations pour la pratique clinique, 5 décembre 1997 Ed. CNGOF Paris, 1997. <http://www.cngof.asso.fr>
- 167–Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD–MBD Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney diseasemineral and bone disorder (CKD–MBD). *Kidney International* 2009;76:S1–S130.
- 168–Velayoudom-Cephise FL, Foucan L, Soudan B, et al. La moitié des patients atteints d'hyperparathyroïdies primaires ont un déficit en vitamine D aggravant l'atteinte osseuse. *Presse Med* 2011;40:120–7.
- 169–Marcocci C, Bollerslev J, Khan AA, Shoback DM. Medical management of primary hyperparathyroidism: proceedings of the fourth International Workshop on the Management of Asymptomatic Primary Hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99:3607.
- 170– Briot K, Adran M, Cortet B, Fardellone P, et al. Vitamine D: effets osseux et extra-osseux; recommandations de bon usage. *Presse Med* 2009 ; 38: 43–54.

- 171–Bouvard B, Annweiler C, Sallé A et al. Extra skeletal effects of vitamin D: Facts, uncertainties, and controversies. *Joint Bone Spine* 2011; 78: 10–16.
- 172–Bischoff–Ferrari HA, Can U, Staehelin HB, et al. Severe vitamin D deficiency in Swiss hip fracture patients. *Bone*. 2008;42(3):597–602.
- 173–Maier S, Sidelnikov E, Dawson–Hughes B, et al. Before and after hip fracture, vitamin D deficiency may not be treated sufficiently. *Osteoporos Int*. 2013;24(11):2765–2773.
- 174–El Maghraoui A, Ouzzif Z, Mounach A, Rezqi A, Achemlal L, Bezza A, et al. Hypovitaminosis D and prevalent asymptomatic vertebral fractures in Moroccan postmenopausal women. *BMC Womens Health*. 2012;12(11):1–8. Available on: <http://bmcwomenshealth.biomedcentral.com/articles/10.1186/1472-6874-12-11>
- 175–El Hamdaoui B, Hmamouchi I, Rostom S, Amine H, Abouqal E, Allali F, Hajjaj–Hassouni N. Prévalence de l'hypovitaminose D chez les hommes sains au Maroc. *Société Française de Rhumatologie*. Soumission de congrès 2010.
- 176–Marangella M, Gallone G. Diagnostique biologique de l'hyperparathyroïdisme. *Immuno–analyse et biologie spécialisée* 2008 ; 23: 280–285.
- 177– Michel Vernay, Marie Sponga, Benoît Salanave, Amivi Oléko, Valérie Deschamps, Aurélie Malon, Katia Castetbon. Statut en vitamine D de la population adulte en France : l'Étude nationale nutrition santé (ENNS, 2006–2007) 24 avril 2012 / n° 16–17 http://opac.invs.sante.fr/doc_num.php?explnum_id=8108
- 178–Daoudi N, Karmali R et Fuss M. Evaluation de la carence en vitamine D chez des patients hospitalisés à Bruxelles. *Rev Med Brux*. 2009 ; 30: 5–10
- 179– Francesco Vierucci, Marta Del Pistoia, Margherita Fanos, Paola Erba and Giuseppe Saggese .Prevalence of hypovitaminosis D and predictors of vitamin D status in Italian healthy adolescents.
- 180–González–Molero I, Morcillo S, Valdés S, Pérez–Valero V, Botas P, Delgado E, Hernández D, Oliveira G, Rojo G, Gutierrez–Repiso C, Rubio–Martín E, Menéndez E, Soriguer F. Vitamin D deficiency in Spain: a population–based cohort study.

- 181– Caryl A Nowson, John J McGrath, Peter R Ebeling, Anjali Haikerwal, Robin M Daly, Kerrie M Sanders, Markus J Seibel and Rebecca S Mason. Vitamin D and health in adults in Australia and New Zealand: a position statement.
- 182–Arya V, Bhambri R, Godbole M–M. Vitamin D status and its relationship with bone mineral density in healthy Asian Indians. *Osteoporos Int.* 2004; 15: 56–61.
- 183–Forrest KY1, Stuhldreher WL. Prevalence and correlates of vitamin D deficiency in US adults. Forrest KY1, Stuhldreher WL. ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21310306.
- 184–Schwalfenberg GK, Genuis SJ, Hiltz MN. Addressing vitamin D deficiency in Canada: A public health innovation whose time has come. *Public health* 2010; 124: 350–9.
- 185–Erkal MZ, Wilde J, Bilgin Y, et al. High prevalence of vitamin D deficiency, secondary hyperparathyroidism and generalized bone pain in Turkish immigrants in Germany: identification of risk factors. *Osteoporos Int.* 2006; 17:1133–40.
- 186– Gannagé–Yared MH, Chemali R, Yaacoub N, Halaby G. Hypovitaminosis D in a sunny country: relation to lifestyle and bone markers. *Bone.* 2000;15(9):1856–1862. Available on: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1359/jbmr.2000.15.9.1856/abstract>
- 187–Kanan RM, Al Saleh YM, Fakhoury HM, Adham M, Aljaser S, Tamimi W. Year-round vitamin D deficiency among Saudi female out-patients. *Public Health Nutrition.* 2013;16(3):544–548. Available on: <https://www.cambridge.org/core/journals/public-health-nutrition/article/year-round-vitamin-d-deficiency-among-saudi-female-out-patients/F37085B4F216F4C1FC8D08B5D0468494>
- 188– Talbi E, Bahlous A, Bouzid K, Zrelli L, Abdelmoula J . L'hypovitaminose D chez l'adulte tunisien, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie.
- 189–Lazrak H, Abouloukoul I, Touimi M et al. Vitamine D chez la femme marocaine de plus de 40 ans. 21e Congrès Français de Rhumatologie 2008; Société Française de Rhumatologie.
- 190– Statut de la vitamine de la vitamine D chez les femmes marocaines vivant a Marrakech
S. Baki, Dra, G. El Mghari, Pra, N. El Ansari, Pra, I.
Harkatib, Prb<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003426615007738>

-
- 191–Andiran N, Celik N, Dogan G. Vitamin D deficiency in children and adolescents. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*. 2012 Mar; 4(1) :25–9.
- 192– Yanbin Dong, Norman Pollock, Inger Susanne Stallmann–Jorgensen, Bernard Gutin, Ling Lan, Tai C Chen. Low 25–Hydroxyvitamin D Levels in Adolescents: Race, Season, Adiposity, Physical Activity, and Fitness.
- 193– Shamma J Muhairi , Aesha E Mehairi , Aysha A Khouri , Muna M Naqbi , Fatima A Maskari , Juma Al Kaabi. Vitamin D deficiency among healthy adolescents in Al Ain, United Arab Emirates.
- 194–Melamed ML, Michos ED, Post W, et al. 25–hydroxyvitamin D levels and the risk of mortality in the general population. *Arch Intern Med*. 2008; 168 :1629–37
- 195–De Cock C, Bruyere O, Collette J et al. Déficit en vitamine D chez les femmes françaises ostéoporotiques et ostéopéniques. *Revue du rhumatisme* 2008; 75: 839–844.
- 196–Konradsen S, Ag H, Lindberg F, et al. Serum 1,25– dihydroxy vitamin D is inversely associated with body mass index. *Eur J Nutr* 2008; 47: 87–91.
- 197–Goldner WS, Stoner JA, Thompson J, et al. Prevalence of vitamin D insufficiency and deficiency in morbidly obese patients: a comparison with non–obese controls. *Obes. Surg*. 2008; 18: 145–50.
- 198–Vilarrasa N, Maravall J, Estepa A, et al. Low 25–hydroxyvitamin D concentrations in obese women: their clinical significance and relationship with anthropometric and body composition variables. *J Endocrinol Invest* 2007; 30: 653–8.
- 199–Tseng M, Giri V, Bruner DW et al. Prevalence and correlates of vitamin D status in African American men. *BMC Public Health* 2009; 9: 191–8.
- 200–Guardia G, Parikh N, Eskridge T et al. Prevalence of vitamin D depletion among subjects seeking advice on osteoporosis: a five–year cross–sectional study with public health implications. *Osteoporos Int*. 2008 ; 19:13–19.
- 201–Yanoff LB, Parikh SJ, Spitalnik A, et al. The prevalence of hypovitaminosis D and secondary hyperparathyroidism in obese Black Americans. *Clin. Endocrinol*. 2006; 64: 523–29.

- 202–Rahmaniyan M, Bell NH. Effects of Race, Geography, Body Habitus, Diet, and Exercise on Vitamin D Metabolism. In Vitamin D 2005; 2ND EDITION: 789–801.
- 203–El Sonbaty MR, Abdul-Ghaffar NU. Vitamin D deficiency in veiled Kuwaiti women. *Eur J Clin Nutr*. 1996 May;50(5):315–8. PubMed PMID: 8735313. Epub 1996/05/01. eng.
- 204–Nichols EK, Khatib IM, Aburto NJ, Sullivan KM, Scanlon KS, Wirth JP, Serdula MK. Vitamin D status and determinants of deficiency among non pregnant Jordanian women of reproductive age. *Eur J Clin Nutr* 2012 Jun; 66(6):751–6.
- 205–Riah L, Cherqaoui D, Abdelfettah Y, Lmidmani F, Elfatimi E. Déficit en vitamine D chez la femme marocaine voilée. *Annals of Physical and Rehabilitation Medicine* 2012; 55: S1–73.
- 206–Gilchrest BA. Sun protection and Vitamin D: three dimensions of obfuscation. *J Steroid BiochemMol Biol*. 2007 Mar;103(3–5):655–63. PubMed PMID: 17222550. Epub 2007/01/16.eng.
- 207–Norval M, Wulf HC. Does chronic sunscreen use reduce vitamin D production to insufficient levels? *Br J Dermatol*. 2009 Oct;161(4):732–6. PubMed PMID: 19663879. eng.
- 208–Audran M, Briot K. Analyse critique du déficit en vitamine D. *revue du rhumatisme* 2010; 77 : 139–143.
- 209– Ministère de la Santé Direction de la Population. Lutte contre les Troubles dus aux Carences en Micronutriments. Manuel à l’usage des professionnels de santé 2008.
- 210–Rguibi M, Barouaca H. Les enjeux de la stratégie de lutte contre les carences en micronutriments au Maroc. *Biosanté* 2009 ; 2 : 5–10.
- 211–Adami S, Viapiana O, Gatti D et al. Relationship between serum parathyroid hormone, vitamine D sufficiency, age, and calcium intake. *Bone* 2008;42:267–70.
- 212–Bischoff–Ferrari HA, Dietrich T, Orav EJ et al. Higher 25–hydroxyvitamin D concentrations are associated with better lower–extremity fonction in both active and inactive persons aged ≥ 60 y. *Am J Clin Nutr* 2004;80:752–8.

213–Hyppönen E, Turner S, Cumberland P et al. Serum 25–hydroxyvitamin D measurement in a large population survey with statistical harmonization of assay variation to an international standard. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007; 92: 4615–22.