

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAÏD
FACULTE DE MEDECINE
DR. B. BENZERDJEB - TLEMEN



وزارة التعليم العالي
والبحر العلمى
جامعة ابوبكر بلقايد
كلية الطب
د. ب. بن زرجب - تلمسان

DEPARTEMENT DE PHARMACIE

**MEMOIRE DE FIN D'ETUDES POUR L'OBTENTION
DU DIPLOME DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Dosage de la 25OHD : Comparaison des résultats obtenus sur deux
techniques immunologiques au niveau du laboratoire du service de
médecine nucléaire du CHU de Tlemcen.**

Présenté par :

Mr. CHIKH DAHO Youcef

Mr. DJELLOUL BENCHERIF Mohammed

Soutenu le : 10 octobre 2021

Le jury

Présidente :

Pr. ABOURIDJAL Nesrine

Faculté de Médecine de Tlemcen

Membres :

Dr. DJELTI Abdelwahab

Faculté de Médecine de Tlemcen

Dr. KHERBOUCHE Fatima Zahra

Assistante en Médecine nucléaire

Encadreur : Pr MEGHELLI Sidi Mohammed

Faculté de Médecine de Tlemcen

Co encadreur : Pr KHELIL Nour EL Houda

Faculté de Médecine de Tlemcen

REMERCIEMENTS

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir de modeste travail.

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui nous voudrions témoigner toute notre reconnaissance.

Nous tenons avant tout à exprimer notre reconnaissance à **Pr MEGHELLI Sidi Mohammed** pour avoir accepté de nous encadrer dans cette étude, et apporté ses éclairages judicieux en particulier lorsque le chemin faisait plus sinueux. Nous le remercions aussi pour son implication, son soutien et ses encouragements tout au long de ce travail. Nous tenons également à remercier vivement la co-encadreur **Pr KHELIL Nour EL Houda** pour son aide, sa disponibilité et ses très précieux conseils. Nous aimerions aussi gratifier sa flexibilité, sa confiance professionnelle et son orientation ficelée tout au long de la réalisation de ce travail.

Nos remerciements vont également au **Pr ABOURIDJAL Nesrine**, **Dr DJELTI Abdelwahab** et **Dr KHERBOUCHE Fatima Zahra** qui ont accepté de faire partie de notre jury et de nous consacrer leurs temps en examinant le manuscrit. Nous en sommes honorées et nous leurs exprimons toute notre profonde reconnaissance.

Nous voudrions aussi remercier **Pr HENAOUI Latifa**, **Pr BORSALI Fethi** et **Madame MALTI Zakia** la coordinatrice du service de médecine nucléaire CHU TLEMCEN pour leurs aides et leurs encouragements afin de mener à bien ce travail.

Nous remercions enfin tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre, ont contribué à la réussite de ce travail et qui n'ont pas pu être cités ici.

Dédicaces

Je dédie ce mémoire de fin d'étude

A mes très chers parents

Grâce à leurs tendres encouragements et leurs sacrifices, ils ont pu créer le climat affectueux et propice à la poursuite de mes études.

Aucune dédicace ne pourrait expliquer mon respect, ma considération et mes profonds sentiments envers eux

A mes chers frères Mohammed et Younes ; à qui je souhaite un avenir radieux plein de réussite.

A toute ma famille.

A mes amies.

Avec tous mes vœux de les voir réussir dans la vie.

A mon très chère ami Mohammed.

Ensemble nous avons pu mener ce travail à terme

A tous ceux qui me sont chers.

Yousef

Dédicaces

Je dédie ce mémoire de fin d'étude

A mes très chers parents

Pour leurs efforts et leurs sacrifices durant toute ma vie, leurs encouragements et soutiens pour que je puisse atteindre mes objectifs.

Aucune dédicace ne serait exprimer mes sentiments, que Dieu vous préserve et vous procure santé et longue vie.

A mes chers frères et sœurs

Pour ses soutiens moral et leurs conseils précieux tout au long de mes études.

A ma femme

Je t'aime à la folie, tu est la femme de ma vie

A mon cher binôme Yousef

Et finalement, à mes ami(e)s

Mohammed

Table de matières

Introduction :	01
<u>Chapitre I : Aspects théoriques</u>	02
1. Généralités sur la vitamine D	03
2. Structure chimique	03
3. Origine et sources	04
4. Physiologie de la vitamine D.....	06
4 .1 Absorption	06
4 .2 Stockage	06
4 .3 Métabolisme	07
4 .4 Mécanisme d'action	08
4 .5 Mécanisme de régulation.....	10
5. Effets osseux de la vitamine D et homéostasie phosphocalcique	11
6. Effets extra osseux de la vitamine D.....	12
7. Statut de la vitamine D	13
7.1 Valeurs de référence.....	13
7.2 Causes d'insuffisances.	15
8. Epidémiologie de déficit en vitamine D.....	15
9. Dosage de la vitamine D	16
9.1 Dosage de la 25[OH]D.....	16
9.2 Facteurs pré-analytiques	16
9.3 Facteurs analytiques	17
9.4 Techniques de dosage de la 25[OH]D.....	18
9.4.1 : Techniques utilisant un marqueur radio actif.....	18
9.4.2 : Techniques utilisant un marqueur chimiluminescent.	21
9.4.3 : High-performance liquid chromatography(HPLC).....	22
9.4.4 : Spectrométrie de masse (SM)	24
9.4.5: Chromatographie en phase liquide haute performance-Spectrométrie de masse (CLHP-SM)...	24
9.5 Technique de référence et standardisation des techniques de dosage	26
9.6 Avantages et inconvénients de différentes techniques de dosages de la VIT D	27
10 .Autres dosages	28
10.1 : Dosage de la 1,25[OH]D	28

<u>Chapitre II : Partie pratique</u>	29
1. <u>Matériels et méthodes</u> :	30
1.1 Type d'étude	30
1.2 Population d'étude	30
1.3 Prélèvement et conservation des échantillons.....	30
1.4 Les techniques de dosages	30
1.4.1 Technique CMIA-Architect-i-1000-SR.....	30
1.4.1.1 Principe.....	30
1.4.1.2 Caractéristiques de la technique de dosage CMIA-Architect-i1000 SR.....	31
1.4.1.3 Calibration : CMIA Architect i1000 SR.....	32
1.4.1.4 Le contrôle qualité.....	32
1.4.2 Technique DIASource_25OH_Vitamin_D_total__RIA_CT_Kit.....	33
1.4.2.1 Principe.....	33
1.4.2.2 Caractéristiques de la technique de dosage DIASource-25OH-Vitamin-D-total-RIA-CT-Kit	35
1.4.2.3 Calibration	35
1.4.2.4 Contrôle de qualité.	36
1.5 Comparaison entre les caractéristiques techniques des deux techniques de dosage	36
1.6 Analyse statistique.	37
1.6.1 Logiciel utilisé	37
1.6.2 Le test de corrélation de Pearson	37
1.6.3 Comparaison des moyennes par le test T de Student pour échantillons appariés	38
1.6.4 Comparaison des moyennes par le test T de Student pour échantillons indépendants.....	38
1.6.5 Droite de régression de Passing-Bablok	38
2. <u>Résultats</u>	40
2.1 Statistique descriptive	41
2.1.1 Nombre d'échantillons	41
2.1.2 Répartition de la population d'étude selon le lieu de résidence.	41
2.1.3 Le sexe.....	42
2.1.4 L'âge.....	42
2.1.5 Moyenne de la VIT D chez la population d'étude selon les tranches d'âge et la technique du dosage	43
2.1.6 Moyennes des valeurs de la VIT D chez la population d'étude globale en fonction de la technique du dosage.....	44
2.2 Tests statistiques	44

2.2.1 Test de corrélation.....	44
2.2.2 Droite de régression de Passing-Bablok	45

Liste des abréviations

1,25[OH]D : 1,25 di hydroxy vitamine D (Calcitriol).

25[OH]D : 25 hydroxy vitamine D (Calcidiol).

25[OH]D2 : 25 hydroxy-ergocalciférol

25[OH]D3 : 25 hydroxy-cholécalciférol

7-DHC : 7-déhydrocholestérol

Ac : Anticorps

Ag : Antigène

ANC : Apport Nutritionnel Conseillés

Ca : Calcium

Ca-ATPASE : Calcium-Atérase

CaBP : Calcium Binding Protein

CLHP-SM : Chromatographie en phase Liquide Haute Performance -Spectrométrie de Masse

CLSI : Clinical and Laboratory Standards Institute

CMIA : Chemiluminescent Microparticle Immuno Assay

CYP24A1 : Cytochrome P450 family 24 subfamily A member 1

CYP27A1 : Cytochrome P450 family 27 subfamily A member 1

CYP27B1 : Cytochrome P450 family 27 subfamily B member 1

DHC : Déhydrocholestérol

ELISA : Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay

ES : Endocrin Society

FGF23 : Fibroblastic Growth Factor 23

GRIO : Groupe de Recherche et d'Information sur les Ostéoporoses

HPLC : High-Performance Liquid Chromatography

IOM : Institute Of Medicine

IMC : Indice de Masse Corporelle

IRMA : ImmunoRadioMetric Assay

JCTLM : Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine

NCCLS : National Committee for Clinical Laboratory Standards

NIST : National Institute of Standards and Technology

PTH : Parathormone

RANK L : Receptor Activator for Nuclear Factor Ligand

RDA : Recommended Dietary Allowance

RI : Radio Immunologie

RIA : Radio Immuno Assay

SM : Spectrométrie de Masse

UI : Unité Internationale

URL : Unités Relatives de Lumières

UV : Ultra Violet

UV-B : Ultra-Violet B

VDBP : Vitamine D Binding Protéin

VDR : Vitamin D Receptor

VDRE : Vitamin D Response Element

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

VIT D : Vitamine D

VIT D2 : Vitamine D2

VIT D3 : Vitamine D3

Liste des tableaux

Tableau 01 : Principales sources alimentaires de la VIT D3. ^[10]	05
Tableau 02 : Valeurs déterminant les différents statuts en VIT D. ^[15]	07
Tableau 03 : Valeurs de référence (nmol/L) définissant la carence, l'insuffisance et les taux recommandés de la VIT D retrouvées dans la littérature. ^[25]	14
Tableau 04 : Critères sur lesquels se base les valeurs spécifiées par les différents organismes. ^[25]	14
Tableau 05 : Caractéristiques de l'HPLC et la CLHP-SM. ^[43]	26
Tableau 06 : Avantages et inconvénients de différentes techniques de dosages de la VIT D. ^{[53] [54][55][56] [57]}	27
Tableau 07 : les concentrations des différents calibrateurs de la technique de dosage DIAsource_25OH_Vitamin_D_total_RIA_CT_Kit.....	35
Tableau 08 : Résultats de contrôle de qualité	36
Tableau 09 : Tableau comparatif entre les caractéristiques techniques des deux techniques de dosage	36
Tableau 10 : Moyenne d'âge chez la population d'étude selon le sexe	42
Tableau 11 : Répartition de la population d'étude en fonction des tranches d'âge et selon la technique du dosage	43
Tableau 12 : Moyenne de la VIT D chez la population d'étude.....	44
Tableau 13 : Résultat du test de corrélation de Pearson.....	45
Tableau 14 : Résultat du test de corrélation de Kendall.....	46

Liste des figures

Figure 01 : Structure chimique des vitamines D2 et D3. ^[10]	03
Figure 02 : Structures chimiques des différents métabolites de la VIT D. ^[10]	04
Figure 03 : La synthèse endogène de la VIT D. ^[12]	05
Figure 04 : Métabolisme de la VIT D. ^[17]	08
Figure 05 : Mécanisme d'action de la 1,25[OH]D dans les cellules cibles. ^[19]	10
Figure 06 : Principe général des dosages radio-immunologiques. ^[35]	18
Figure 07 : La courbe décroissante de la radioactivité. ^[35]	19
Figure 08 : Principe du dosage RIA. ^[35]	20
Figure 09 : Principe du dosage IRMA. ^[35]	20
Figure 10 : Principe de la réaction de la chimiluminescence. ^[38]	21
Figure 11 : Réaction chimiluminescente du luminol . ^[38]	21
Figure 12 : Représentation schématique du principe de l'HPLC. ^[37]	23
Figure 13 : Les composants d'un spectromètre de masse. ^[41]	24
Figure 14 : Schéma de l'instrument (CLHP-SM) ^[44]	25
Figure 15 : Principe de dosage de la 25[OH]D par technique CMIA. ^[60]	31
Figure 16 : Principe de dosage de la 25[OH]D par la technique RIA. ^[63]	33
Figure 17 : Principe de fonctionnement du compteur gamma . ^[64]	34
Figure 18 : Répartition de la population d'étude selon le lieu de résidence (Daïra)	41
Figure 19 : Répartition de la population d'étude selon le sexe	42
Figure 20 : Corrélacion entre DIAsource_25OH-Vitamin-D-total-RIA-CT-Kit et CMIA-Architect-i-1000-SR.	44
Figure 21 : Régression de DIAsource-25OH-Vitamin-D-total-RIA-CT-Kit par CMIA-Architect-i-1000SR	45

Introduction :

De plus en plus d'études épidémiologiques ont montré l'importance de la carence en vitamine D (VIT D) dans la population générale.^[1] Près d'un milliard de personnes dans le monde manquent de VIT D et ont besoin d'un apport supplémentaire^[2], par conséquent le déficit en VIT D peut avoir un impact majeur sur la santé globale des sujets. ^[3]

Peu d'aliments en contiennent naturellement, c'est pourquoi il existe des suppléments et des médicaments enrichis en VIT D. ^[2]

La connaissance de la physiologie de la VIT D a progressé de manière considérable, faisant passer sa conception d'une hormone purement phosphocalcique et osseuse à une hormone qui joue un rôle dans la santé globale (effets anti-infectieux, anti-inflammatoires, anti-tumoraux). ^[1]

La détermination des valeurs de référence pour la concentration optimale de la VIT D reste un sujet de débat entre les organismes et les sociétés savantes et la définition du seuil de carence, d'insuffisance et le taux optimal à atteindre ne semble pas encore complètement consensuelle. ^{[4][5][6][7]}

Les techniques de dosage de la VIT D peuvent être divisées en deux groupes: les techniques d'immunodosages et les techniques séparatives comme la high performance liquid chromatography (HPLC) ou la spectrométrie de masse (SM). Bien que la HPLC-SM soit la technique de référence pour le dosage de la VIT D, les techniques d'immunodosage restent les plus utilisées en raison de leur simplicité et leur rapidité. ^[8]

L'objectif principal de notre travail est de comparer les résultats du dosage de la VIT D obtenus sur deux techniques immunologiques : la technique radio immunologique (DIAsource 25OH Vitamin D total -RIA-CT Kit) du fournisseur CIS-BIO INTERNATIONAL vs la technique CMIA (Chemiluminescent-Microparticle-Immunoassay) __Architect_i_1000_SR de chez Abbott diagnostics) au niveau de l'unité d'exploration invitro du service de médecine nucléaire du centre hospitalier universitaire de Tlemcen .

Partie théorique

1. Généralités sur la vitamine D :

Le complexe VIT D comprend un groupe de pro hormones qui contribuent au maintien de l'homéostasie du calcium (Ca) et du phosphate et de l'intégrité osseuse et musculaire.

La vitamine D est disponible sous deux formes distinctes principales: la vitamine D2 (VIT D2) (ergocalciférol) qui est d'origine végétale et la vitamine D3 (VIT D3) (cholécalfiérol) qui est d'origine animal. ^[9]

Ces deux formes sont liposolubles et relativement stables, notamment à la chaleur. ^[10]

2. Structure chimique :

La structure chimique de la VIT D (Figure 01) est étroitement liée à celle des hormones stéroïdes classiques. Plus spécifiquement, la VIT D appartient au groupe des sécostéroïdes par sa structure et ses fonctions. ^[11] (Figure 02)

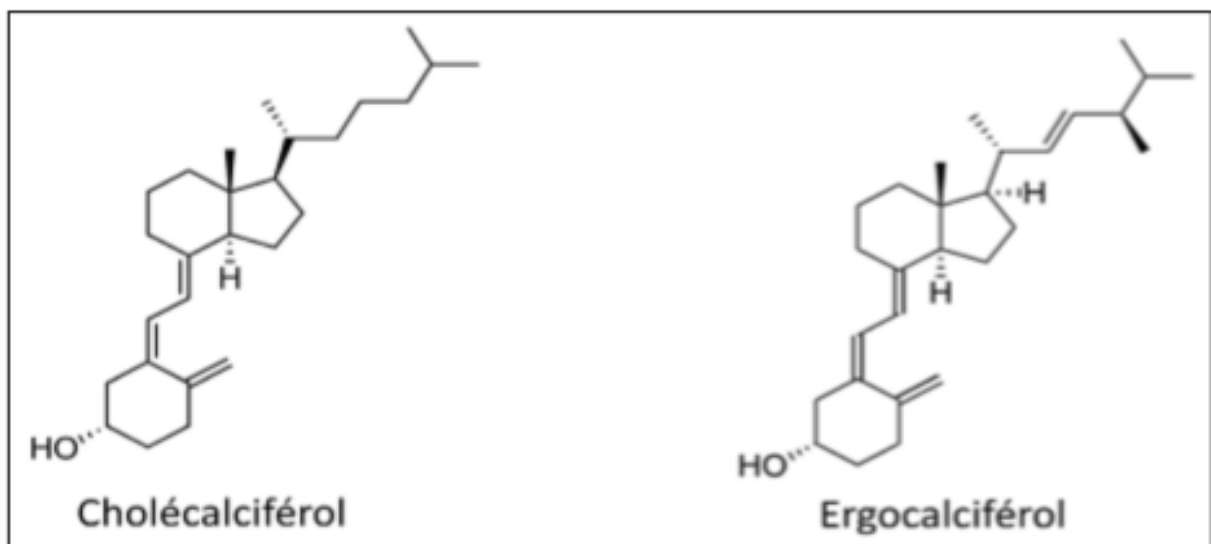


Figure 01 : Structure chimique des vitamines D2 et D3 ^[10]

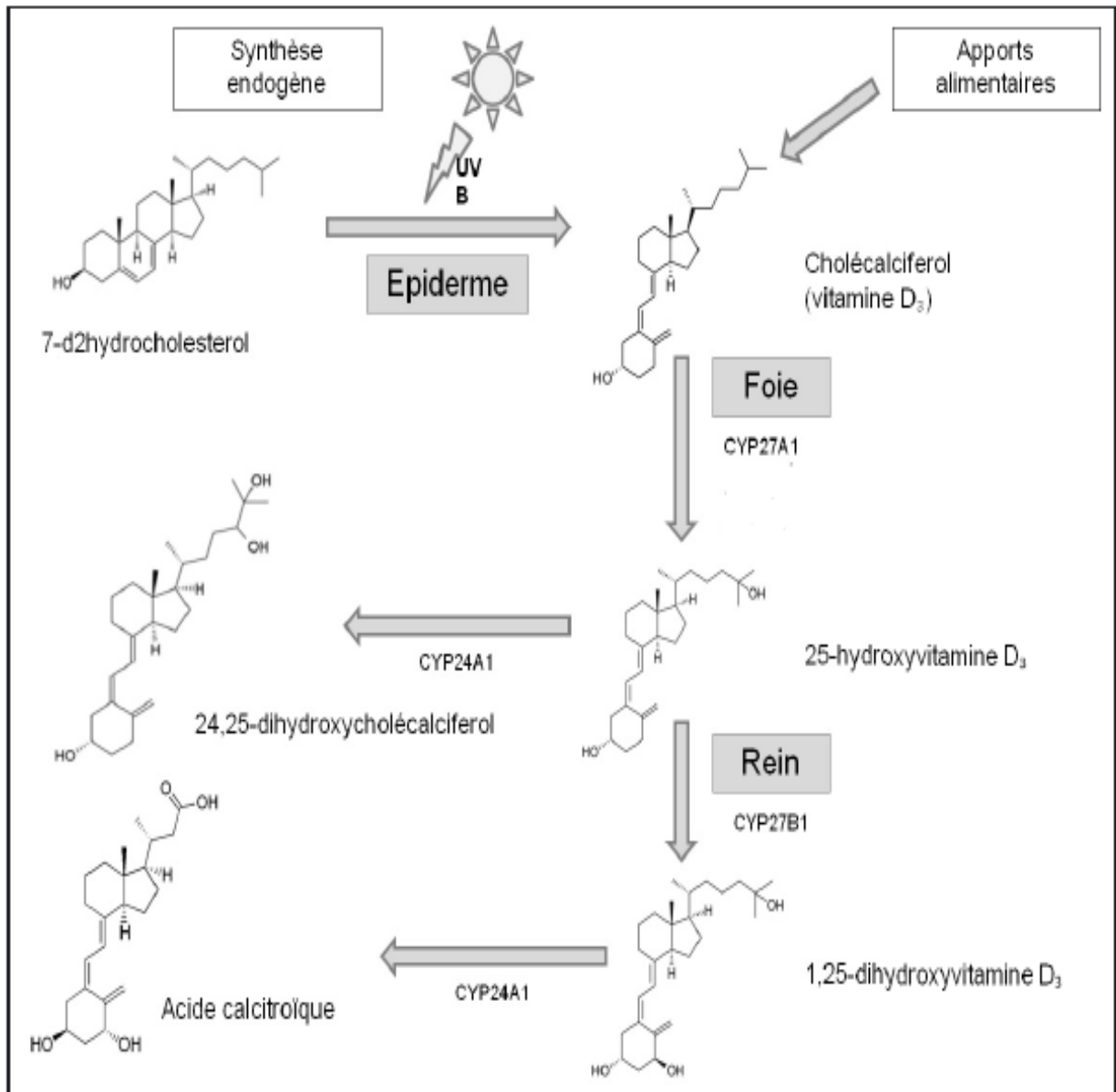


Figure 02 : Structures chimiques des différents métabolites de la VIT D ^[10]

3. Origine et sources :

Contrairement à d'autres vitamines qui ne sont apportées que par l'alimentation, la VIT D a une double source: exogène, qui correspond à l'apport alimentaire et endogène qui est le résultat d'une néo synthèse dans l'épiderme. ^[10]

La vitamine D existe dans notre alimentation sous deux formes: la VIT D2 ou ergocalciférol, qui est principalement produite par les plantes et les champignons et la VIT D3 ou cholécalférol, qui est dérivée des animaux. Les aliments contenant de la VIT D3 sont rares. ^[10]

On la trouve principalement dans l'huile de foie de morue, certains poissons gras (saumon, sardines, hareng, maquereau), les jaunes d'œufs et même le foie. ^[10] (Tableau 01)

Tableau 01. Principales sources alimentaires de la VIT D3. ^[10]

Aliments	VIT D3 (Ug/100 g)	VIT D3 (UI(Unité Internationale)/100 g)
Huile de foie de morue	250	10000
Saumon, Hareng, Anchois	12-20	480-800
Sardine, Maquereau	8-12	320-480
Thon	4-7	160-280
Foie de veau	2-3	80-120
Jaune d'œuf	2-3	80-120
Laitages enrichis	1,25	50
Beurre	0,6-1,5	24-60

La vitamine D3 se trouve naturellement dans le lait, le jus d'orange, le pain ou les céréales, ces aliments peuvent être également enrichis. ^[10]

La principale source de la VIT D dans le corps humain est l'exposition au soleil (90-95%). Au cours de cette exposition, le rayonnement Ultra-Violet B (UV-B) (290-315 nm) photolyse le 7-déhydrocholestérol (7-DHC) dans l'épiderme en pré VIT D3. Une fois formée, une isomérisation thermique est effectuée pour former la VIT D3. ^[2] (Figure 03)



Figure 03 : La synthèse endogène de la VIT D. ^[12]

4. Physiologie de la vitamine D :

4.1 Absorption :

L'absorption de la VITD2 et de la VITD3 dans l'intestin grêle dépend de la présence concomitante de graisse dans la lumière intestinale, ce qui déclenche la sécrétion d'acides biliaires et de lipase pancréatique. La VITD2, VITD3 et la graisse hydrolysée vont former des micelles, qui diffusent principalement à travers la paroi duodénale à travers les cellules épithéliales intestinales. La VITD2 et VITD3 seront presque entièrement stockées dans des chylomicrons et transportées vers la circulation systémique par la voie lymphatique.^[13]

Les tissus exprimant la lipoprotéine lipase, en particulier le tissu adipeux et le muscle squelettique, métabolisent les chylomicrons pour libérer la VITD2 et la VITD3, qui sont ensuite transportés via deux protéines principales, la vitamine D binding protéin (VDBP) et l'albumine dans le sang.^[13]

4.2 Stockage :

Quelle que soit son origine, la VIT D qui entre dans la circulation est : soit hydroxylée dans le foie en 25 hydroxy vitamine D (25[OH]D), soit stockée principalement dans les tissus adipeux. De même, la 25[OH]D peut être d'avantage hydroxylée dans les reins en sa forme active, la 1,25 di hydroxy vitamine D(1,25[OH]D), ou stockée et hydroxylée en petites quantités dans les tissus adipeux .^[14]

La vitamine D est principalement stockée dans les tissus adipeux et les muscles sous forme naturelle (cholécalférol) ou sous forme 25[OH]D.^[15]

Soixante-cinq pour cent (65%) des formes totales de la VIT D présentes dans le corps sont sous forme de VIT D3 (73% et 16% dans les tissus adipeux et les muscles, respectivement). Quant au 25[OH]D qui représente 35 % de la VIT D de l'organisme, 34% se retrouve dans le tissu adipeux, 30% dans le sérum et 20% dans le muscle.^[15] (Tableau 02)

Tableau 02 : Valeurs déterminant les différents statuts en VIT D.^[15]

	VIT D(UI)	25OHD (UI)	Total (UI)
Tissu adipeux	6960	1763	8723
Muscle	1527	1055	2582
Foie	168	214	382
Sérum	271	1559	1830
Autre	571	578	1149
Total	9497	5169	14666

UI : Unité International

4.3 Métabolisme :

La vitamine D subit une première hydroxylation, sur le carbone 25 sous l'effet de la 25-hydroxylase hépatique (Cytochrome P450 family 27 subfamily A member 1) (CYP27A1), subit ensuite une deuxième hydroxylation sur le carbone 1 sous l'effet des 1 α -hydroxylases (Cytochrome P450 family 27 subfamily B member 1) (CYP27B1) ,la 1 α -hydroxylase rénale et celles exprimées localement dans les tissus autres que le rein (prostate, côlon, sein, pancréas, cerveau, monocytes et macrophages), est ainsi convertie en 1,25[OH]D , ou calcitriol, forme active de la VIT D. ^[16](Figure 04)

Le catabolisme de la 25[OH]D et du 1,25[OH]D est assuré par la 24-hydroxylase (Cytochrome P450 family 24 subfamily A member 1) (CYP24A1) rénale, qui transforme le calcidiol et le calcitriol en composés inactifs, hydroxylés sur le carbone 24. ^[16](Figure 04)

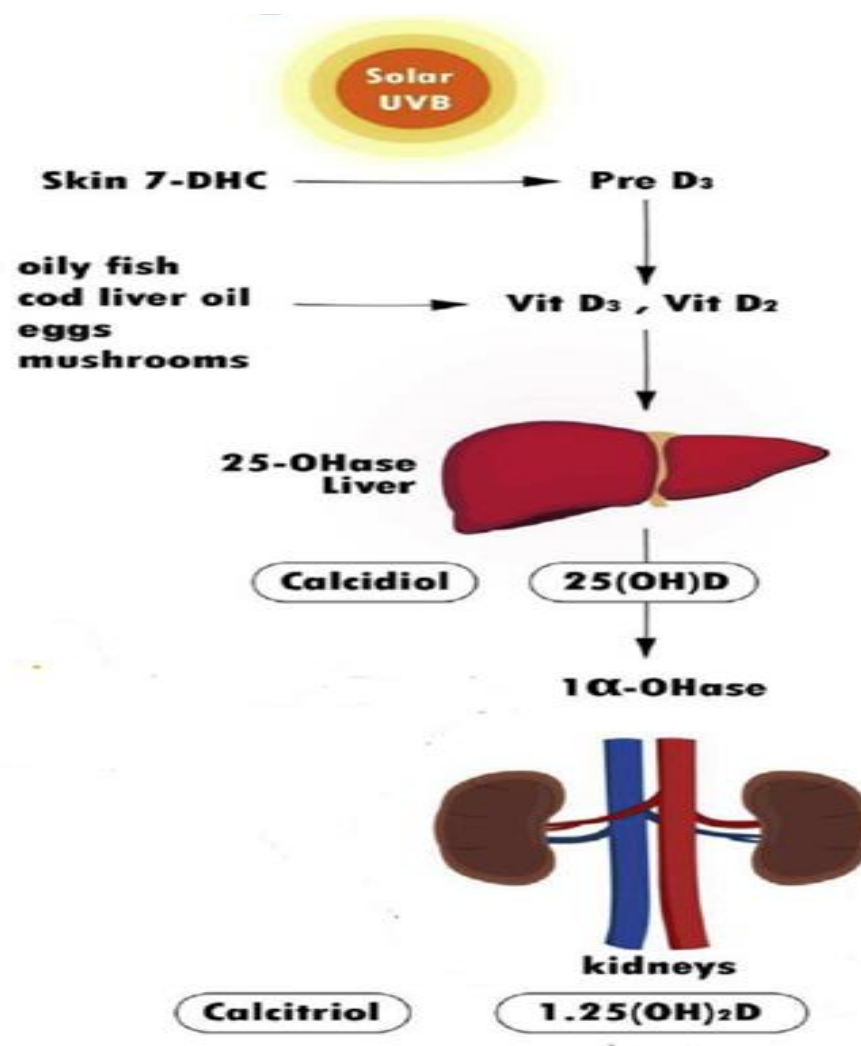


Figure 04 : Métabolisme de la VIT D. ^[17]

4.4 Mécanisme d'action :

La 1,25-di-hydroxy-vitamine D augmente le Ca sérique en stimulant la capacité de l'intestin à absorber le Ca. Elle augmente également la calcémie en activant la différenciation et la fusion des ostéoclastes en libérant le Ca des os déjà minéralisés. Mais en même temps, elle inhibe la synthèse de la parathormone (PTH) par les glandes parathyroïdes, réduisant ainsi le risque de déminéralisation osseuse excessive.

De plus, elle favorise la minéralisation osseuse en augmentant l'absorption intestinale des minéraux essentiels et en augmentant localement la différenciation et l'activité des ostéoblastes. ^[18]

Au niveau des ostéoblastes, elle stimule la sécrétion de nombreuses protéines spécifiques par exemple, l'ostéocalcine, l'ostéoprotégérine et le Receptor Activator for Nuclear Factor Ligand

(RANK-L), tandis qu'au niveau des ostéoclastes, elle stimule la différenciation des précurseurs myélomonocytaires en lignées ostéoclastiques. ^[1]

La 1,25-di-hydroxy-vitamine D augmente la phosphatémie, en stimulant l'absorption intestinale des phosphates et leur libération à partir de l'os déjà minéralisé, et en inhibant la production de la PTH. Mais ces actions sont compensées par un effet inverse, hypophosphatémiant, résultant de l'activation de la production du Fibroblastic growth factor 23(FGF23) qui augmente l'élimination urinaire des phosphates. Cet ensemble d'actions opposées rend compte des effets complexes de la 1,25[OH]D sur la phosphatémie, l'élevant en cas d'hypophosphatémie, par exemple dans les carences en VIT D ou la diminuant en cas d'hyperphosphatémie par exemple en cas de dysfonctionnement des parathyroïdes. ^[18]

Au niveau rénal, la VIT D stimule la réabsorption du Ca par les tubules rénaux. Elle inhibe également la synthèse de la PTH, hormone hypercalcémiant et phosphaturiant. ^[1]

La 1,25-di-hydroxy-vitamine D agit au niveau cellulaire avec une liaison initiale cytoplasmique au récepteur de la VIT D Vitamin D Receptor (VDR) qui appartient à la superfamille des récepteurs nucléaires. Le récepteur de la VIT D se déplace ensuite dans le noyau pour interagir avec le Vitamin D response element (VDRE) pour déclencher l'expression ou la suppression de gènes cible contrôlés par la VIT D. Même si la 25[OH]D est généralement considérée comme une forme de stockage sans activité biologique, il est important de noter que le VDR peut être combiné avec la 1,25[OH]D, mais il peut également être combiné avec la 25[OH]D, mais L'affinité est trois fois plus faible. ^[1] (Figure 05)

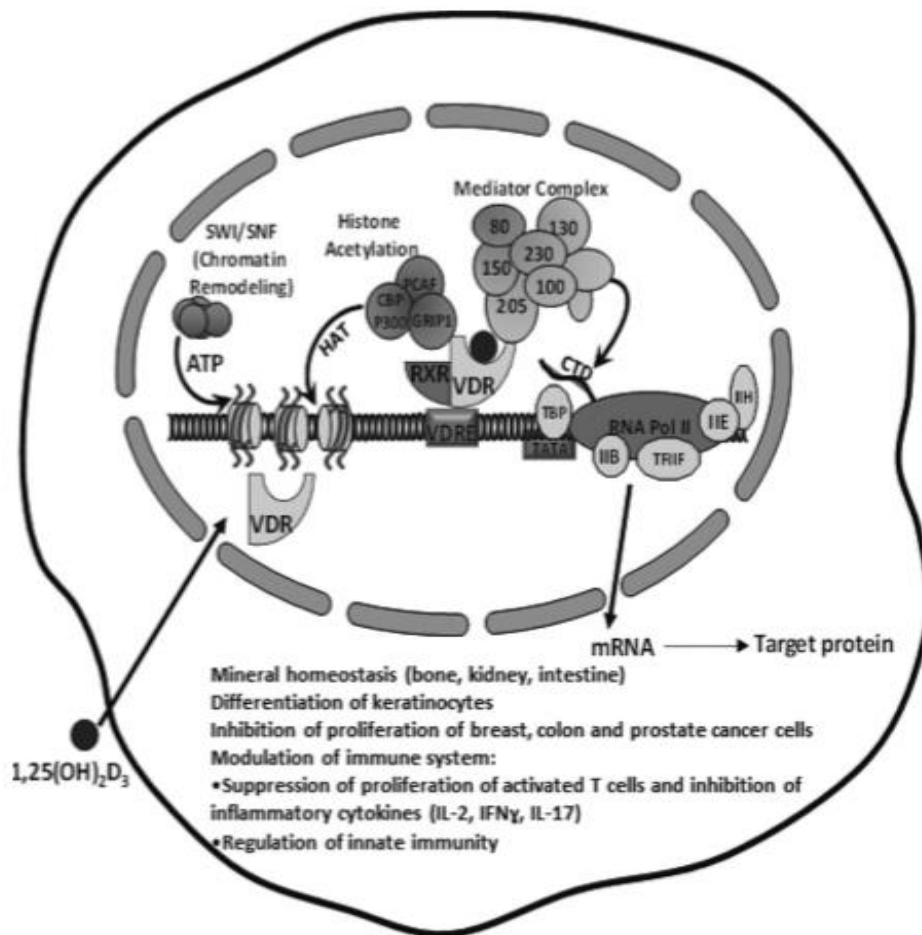


Figure 05 : Mécanisme d'action de la 1,25[OH]D dans les cellules cibles. [19]

4.5 Mécanisme de régulation :

- Plus la quantité de la VIT D absorbée est grande, plus la concentration sérique de la 25[OH]D s'élève. [12]
- Il existe des voies de rétrocontrôle dont l'une se fait par la 24-hydroxylase qui transforme la 25[OH]D et la 1,25[OH]D en deux composés inactifs excrétés dans la bile. [12]
- La Parathormone stimule l'expression de la 1 α -hydroxylase avec pour effet la synthèse de la 1,25[OH]D. A l'inverse, la 1,25[OH]D exerce un rétrocontrôle négatif sur la synthèse de la PTH par les glandes parathyroïdes. [12]
- La calcitonine stimule l'expression de la 1 α -hydroxylase et celle de PTH. [12]
- L'hypocalcémie et l'hypophosphatémie stimulent l'expression de la 1 α -hydroxylase, l'inverse l'hypercalcémie et l'hyperphosphatémie l'inhibent. [12]

■Le Fibroblastic growth factor 23 qui est un facteur libéré par l'os en croissance, témoin d'un climat phosphocalcique satisfaisant, effectue un rétrocontrôle négatif sur la 1 α -hydroxylase et stimule la synthèse de la 24-hydroxylase. De plus, il diminue directement l'absorption phosphocalcique intestinale et la réabsorption rénale. Cela entraîne une diminution de concentration de la 1,25[OH]D. A l'inverse, la VIT D exerce un rétrocontrôle positif sur la synthèse de FGF23 par l'ostéocyte. ^[12]

■Le taux de la 1,25[OH]D circulant s'autorégule : en effet, un excès inhibe la production et l'activité de la 1 α -hydroxylase et stimule la 24-hydroxylase . ^[12]

■En effet, tout excès de pré-VIT D3 ou de VIT D3 dans le derme est transformé en composé inactif par les rayons solaires eux-mêmes. La pré-VIT D3 subit une photo-isomérisation en composés inertes (tachystérol ou lumistérol) ou revient à son état de base le 7-DHC. ^[12]

■Le vieillissement est associé à une diminution de la concentration de Déhydrocholestérol (DHC) (précurseur de la VIT D3). Les personnes âgées possèdent environ 25% de moins de DHC, ce qui réduit leur capacité à synthétiser de la VIT D à partir des rayons solaires. De plus, une personne âgée de 70 ans produit 75% de moins de VIT D qu'une personne de 20 ans. ^[12]

5. Effets osseux de la vitamine D et homéostasie phosphocalcique :

Le calcium est un élément de base de la qualité osseuse, car il en résulte ses propriétés de rigidité. L'optimisation de l'état du Ca est essentielle. Assurer sa sécurité en répondant aux exigences nécessaires d'apport nutritionnel conseillés(ANC) et en augmentant sa biodisponibilité. Par conséquent, les professionnels de santé recommandent de combiner tout supplément de Ca (que ce soit un régime alimentaire ou un médicament) avec de la VIT D. ^[20]

La 1,25-di-hydroxy-vitamine D régule l'absorption du Ca dans l'intestin, augmentant ainsi le transport actif des minéraux dans l'intestin. Il peut également contrôler l'expression des gènes codant pour le Calcium binding protein (CaBP) et induire la synthèse de cette protéine, améliorant ainsi la migration de Ca par les entérocytes, la 1,25[OH]D peut également activer le calcium ATPase (Ca-ATPASE), puis augmenter la perméabilité de la membrane aux ions Ca . ^[20]

La vitamine D peut également réguler indirectement l'état du Ca grâce à la synthèse de l'hormone parathyroïdienne PTH qui augmente lorsque le taux de la 25[OH]D baisse en dessous de 30 ng/mL.^[20]

Chez l'adulte, une carence en VIT D peut entraîner l'ostéomalacie, c'est une maladie osseuse courante caractérisée par un défaut de minéralisation primaire de la matrice osseuse et par conséquent le résultat est une accumulation anormale de tissu ostéoïde et donc une fragilité.^[20]

Chez les personnes âgées, une carence en VIT D peut être à l'origine de l'ostéoporose, qui est le résultat d'une perte osseuse et de modifications de la microstructure osseuse. Les manifestations pathologiques sont : une compression asymptomatique continue du corps vertébral et le développement des fractures.^[20]

6. Effets extra osseux de la vitamine D :

► Effet musculaire :

Plusieurs recherches ont montré que la forme active de la VIT D la 1.25[OH]D régule le métabolisme des cellules musculaires via le contrôle de l'expression de différents gènes et voies intracellulaires. En générale, la VIT D modifie les fonctions de la cellule musculaire par 2 mécanismes principaux:

- 1) L'effet génomique de la VIT D : c'est la régulation positive ou négative de la transcription de gènes cibles.^[21]
- 2) L'effet non-génomique de la VIT D : par l'induction des voies de régulation intracellulaires ne dépendant pas d'un mécanisme transcriptionnel.^[21]

► Effet de la VIT D sur les cancers :

Plusieurs hypothèses expliquent le lien entre le cancer et la VIT D. La première hypothèse est que la 1,25[OH]D contrôle directement ou indirectement plus de 200 gènes, dont des gènes responsables de la prolifération, de la différenciation, de l'apoptose, de la régulation des cellules et l'angiogenèse, des proto-oncogènes et les gènes suppresseurs de tumeurs.^[22]

► Effet de la VIT D sur les infections:

La vitamine D peut induire la production de peptides antimicrobiens (tel que la cathélicidine) lorsque les macrophages et les cellules épithéliales de la peau et des voies respiratoires, des voies urinaires entre en contact avec des agents infectieux (tels que Mycobacterium tuberculosis). [23]

La vitamine D participe au renforcement de la barrière mécanique formée par la peau et les muqueuses. De nombreuses études d'observation ont prouvé que la carence en VIT D est liée à la sensibilité aux infections aiguës d'une part, et à l'aggravation de certaines infections chroniques (infection par le Virus de l'Immunodéficience Humaine(VIH)) d'autre part. [23]

7. Statut de la vitamine D.

7.1 Valeurs de référence :

Classiquement, on parle de taux normal pour la VIT D de 30 ng/mL (75 nmol/L). Ce seuil a été établi sur la base de deux essais randomisés contrôlés (datant de 1992 et 2003) démontrant une diminution du risque de fracture de la hanche chez les personnes de 65 ans et plus. [24]

Plusieurs critères ont été pris en considération par différents organismes pour fixer des valeurs de références du taux recommandé de la VIT D ainsi que les valeurs de la carence et l'insuffisance en VIT D (Tableau 04). Par exemple le groupe de recherche et d'information sur les ostéoporoses (GRIO) qui est une société savante européenne a pris comme critère le niveau de 25[OH]D, en dessous duquel une réaction parathyroïdienne (augmentation du taux de PTH) se produira ainsi que l'absorption de calcium, le taux des chutes et de fractures. [25] [26] [27]

Pour le GRIO [25], on parle d'insuffisance entre 10 et 30 ng/mL [25] (25-75 nmol/L) et de carence lorsque le taux est inférieur à 10 ng/mL [25] (25 nmol/L).

D'autres sociétés comme l'endocrin society (ES) [25], elle propose un seuil de 20 ng/mL (50 nmol/L) [27] comme seuil de carence, et des valeurs entre 21 et 29 ng/mL [25][26] (52.5 et 72.5 nmol/L) pour définir l'insuffisance. [24] (Tableau 03)

D'autres sociétés savantes notamment américaine comme l'Institute of Medicine (IOM) s'est basée sur le taux des chutes, le taux des fractures, la réaction parathyroïdienne secondaire ainsi que l'avis des experts. [25] [26] [27]

L'Institute of Medicine ^[25] jugent suffisante une concentration de 20 ng/mL ^[25] (50 nmol/L) et estiment qu'une concentration de 30 ng/mL ^[25] (75 nmol/L) n'est pas toujours associée à un meilleur bénéfice . ^{[25] [28]}

Tableau 03 : Valeurs de référence (nmol/L) définissant la carence, l'insuffisance, les taux recommandés de la VIT D retrouvées dans la littérature. ^{[25] [26] [27]}

Définition	Institute Of Medicine (IOM)	Groupe de Recherche et d'Information sur les Ostéoporoses (GRIO)	Endocrin Society(ES)
Carence (nmol/L)	< 25	< 25	< 50
Insuffisance (nmol/L)	< 50	25 - 75	52,5-72.5
Taux recommandé (nmol/L)	> 50	75 -175	75 – 250

Facteur de conversion : 1ng/mL =2.5 nmol/L

Tableau 04: Critères sur lesquels se base les valeurs spécifiées par les différents organismes. ^{[25] [26] [27]}

Méthode de définitions des valeurs de références	Institute of Medicine (IOM)	Groupe de Recherche et d'Information sur les Ostéoporoses (GRIO)	Endocrin Society (ES)
PTH (parathormone) Secondaire	X	X	X
Absorption de Ca		X	X
Chutes	X	X	
Fractures	X	X	X
Rachitisme/ostéomalacie			
Avis des experts	X	X	

7.2 Causes d'insuffisances :

■ **L'âge:** le niveau moyen de VIT D des sujets âgés est inférieur par rapport au niveau du VIT D des sujets jeunes de la même zone et de phototype similaires. ^[29]

■ **Le sexe :** en moyenne, les femmes ont des concentrations plus faibles que les hommes. ^[29]

■ **Le phototype:** le niveau de VIT D des individus ayant une peau de couleur foncée est inférieur à celui des individus de couleur claire. ^[29]

■ **L'emplacement géographique et la saison:** la quantité d'UV-B atteignant la surface de la terre dépend de nombreux facteurs, notamment l'angle des rayons par rapport à la couche d'ozone et la distance à travers l'atmosphère, latitude, altitude, saison, heure de la journée. ^[29]

Par conséquent, pour des latitudes supérieures à 35-40 ° (sud ou nord), la concentration moyenne de VITD en hiver est nettement inférieure à celle de l'été. ^[18]

■ **L'Indice de Masse Corporelle (IMC):** le taux moyen de VIT D chez les sujets obèses ou en surpoids est inférieur à celui des sujets maigres de la même région. Une des explications est que les cellules graisseuses peuvent emprisonner la VIT D, réduisant ainsi sa biodisponibilité. ^[29]

■ **Le mode de vie:** les vêtements, les mesures de protection solaire et le manque d'exercice physique ou d'habitudes d'exercice sont tous des facteurs de risque de carence en VIT D. ^[18]

■ **La politique de la supplémentation:** les personnes qui prennent quotidiennement des suppléments de VIT D (États-Unis, certains pays nordiques) ont un rapport moyen de 25[OH]D plus élevé. ^[29]

■ **État physiologique:** la grossesse et l'allaitement entraîneront une consommation excessive de la VIT D, qui est essentielle pour la croissance du fœtus puis du nouveau-né, de sorte que la mère aura un risque élevé de carence en VIT D. ^[29]

■ **Le manque d'exposition solaire :** l'exposition de 5 à 10 minutes, tous les jours, bras et jambes exposés entre 10h et 15h est indispensable. ^[30]

8. Epidémiologie de déficit en vitamine D :

La carence et l'insuffisance en VIT D sont un problème de santé mondial. Les femmes enceintes, les personnes de peau noires, et toute personne ayant une pigmentation accrue de la mélanine de la peau, les enfants et les adultes qui ne s'exposent pas au soleil sont particulièrement à haut risque. ^[31]

En Algérie, peu d'études ont été réalisées. MA. Himeur et al.^[32] ont publié en 2015 une étude portant sur 150 témoins adultes et qui a objectivé un déficit en VIT D. Chez l'enfant, une étude réalisée par le Dr Drali au CHU Nafissa Hamoude Hussein dey de la Wilaya d'Alger (2012–2017), a rapporté 10 % de carence en VIT D sur 1016 enfants entre 9 mois et 6 ans, une autre étude réalisée par l'auteur et ayant touché 286 enfants de 1 à 16 ans, issus des différents communes de la Wilaya d'Alger, il a été recensé 7.93 % de carence, 33 % de déficit, 35 % d'insuffisance et seulement 24 % de suffisance.^[32]

Dans la ville de Boston ^[31] aux États-Unis 40 femmes enceintes dont il a été prouvé qu'elles ingéraient en moyenne 600 UI de VIT D par jour tout au long de leur grossesse , a rapporté que 76% des mères et 81% des nouveau-nés ont un taux de VIT D <20 ng/mL .^[31]

La carence et l'insuffisance en VIT D sont courantes aussi chez les enfants. Même aux États-Unis, où le lait et certains jus et céréales sont enrichis en VIT D, 50% des enfants de 1 à 5 ans et 70% des enfants de 6 à 11 ans avaient un taux de VIT D <30 ng/mL. Cela pourrait être en relation avec une diminution de la consommation de lait, un manque d'exposition au soleil et à une augmentation de l'incidence de l'obésité.^[31]

9 . Dosage de la vitamine D :

9.1 Dosage de la 25[OH]D :

Seul le dosage de la 25[OH]D dans le sérum permet d'évaluer le statut en VIT D du patient, et sa détermination peut être utilisée pour prendre des mesures préventives et thérapeutiques en cas de suspicion de carence en VIT D ou d'insuffisance .^[33]

9.2 Facteurs pré-analytiques :

Pour le dosage de la 25[OH]D, le sérum ou le plasma peut être utilisé. Dans la pratique actuelle, le sérum est le plus utilisé. Il a été démontré qu'il est possible de surestimer le niveau de 25[OH]D par HPLC ou SM lorsque les échantillons sont collectés dans des tubes à essai avec gel de séparation. La 25[OH]D étant extrêmement stable dans le sérum, il n'est pas nécessaire de prendre des précautions particulières pour conserver les échantillons. En effet, si la mesure est effectuée pendant la journée, l'échantillon (décanté) peut être conservé à température ambiante (dans les zones où la température ambiante dépasse

25 °C, il est préférable de conserver le sérum au réfrigérateur). Si la mesure est effectuée un autre jour (plus de 24 heures), il est recommandé de conserver le tube décanté à -20 ° C. [8]

9.3 Facteurs analytiques :

Quelle que soit la technique utilisée pour le dosage de la VIT D, une étape de dissociation complète de la 25[OH]D de ses protéines porteuses est indispensable. Leurs concentrations peuvent influencer la cinétique de dissociation. De plus le caractère très lipophile de la 25[OH]D et sa liaison à la VDBP rendent l'opération complexe. On estime que plus de 99% de la 25[OH]D circulante serait liée aux protéines plasmatiques dont environ 85% à la VDBP, la majorité de la partie restante étant liée à l'albumine. [34]

Du fait de la supplémentation, soit en VIT D2, soit en VIT D3, il est essentiel que les techniques soient capables de doser les deux formes indistinctement. [34]

La technique qui ne peut doser que de la 25hydroxy-cholécalciférol (25[OH]D3) sous-estimera inévitablement la concentration de 25[OH]D chez les patients prenant de la VIT D2. [26]

Pour les laboratoires qui utilisent des techniques de séparation de concentration (HPLC ou SM), de la 25 hydroxy-ergocalciférol(25[OH]D2) et la 25[OH]D3, la somme des deux formes doit être utilisée comme résultat principal dans le tableau des résultats car c'est la seule information importante pour les cliniciens. [26]

9.4 Techniques de dosage de la 25[OH]D:

9.4.1 Techniques utilisant un marqueur radio actif :

La radio-immunologie (RI) est basée sur 2 principes :

Le premier principe est biologique : Il utilise une réaction d'anticorps(Ac) très spécifique pour identifier une substance organique donnée.

Le deuxième principe est physique : l'idée est de marquer ces substances en introduisant des atomes radioactifs dans ces derniers.^[35]

Principe de dosage : la technique radio immunologique est basée sur un phénomène de compétition entre un antigène (Ag) marqué par un radio isotope et un Ag non marqué que l'on veut doser. L'Antigène marquée produit le complexe Ag marqué-Ac . L'Antigène marquée libre et le complexe Ag marqué-Ac peuvent être séparés.^[35] (Figure 06)

Ensuite, nous pouvons mesurer la radioactivité de chacune de ces deux fractions séparées et calculer le rapport :

$$\text{Rapport} = \frac{\text{Radioactivité liée}}{\text{Radioactivité libre}}$$

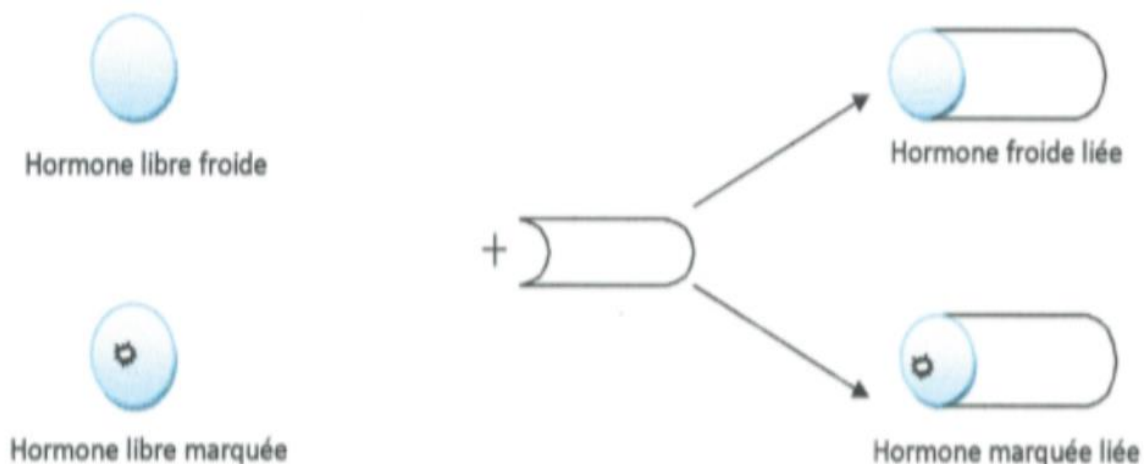


Figure 06 : Principe général des dosages radio-immunologiques.^[35]

L'antigène libre non marquée se lie préférentiellement à l'Ac d'une manière qui est inversement proportionnelle à la quantité d'Ag libre marquée ajoutée au milieu réactionnel, car la quantité d'Ag libre ajoutée sera plus grande.^[35]

Dans cette détermination, se référer toujours à la courbe de décroissance de la radio activité (R). La courbe de décroissance de la radio activité est formée par l'augmentation du nombre d'Ag libres non marquées ajoutées au milieu de réaction et son aspect est le suivant. ^[35] (Figure 07)

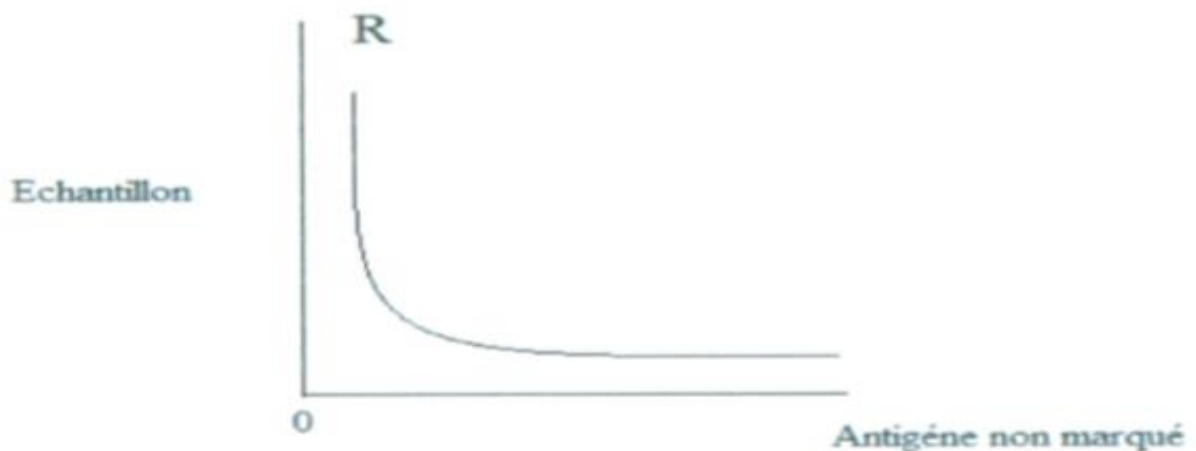


Figure 07: La courbe décroissante de la radioactivité ^[35]

Nous décrivons les deux techniques les plus couramment utilisées :

- Technique par compétition.
- Technique immunométrique.

■ **Technique par compétition type Radio immuno assay (RIA) (par défaut d'Ac):**

On met dans le milieu réactionnel :

- Un antigène (molécule à doser ou Ag libre) .
- Un même Ag préalablement « marqué » .
- Un anticorps dirigé contre cet antigène.

Dans la technique par compétition, la concentration d'Ac est inférieure à la concentration totale de l'Ag marqué.^[35]

La concentration de l'Ac et de la molécule marquée reste fixe .Donc toute augmentation de la concentration de l'Ag (molécule à doser) se traduira par une augmentation de la concentration du complexe Ag-Ac, endommageant ainsi le complexe Ag marqué-Ac. À l'aide du signal transmis par le marqueur, nous pouvons déterminer la concentration de la substance. ^[35](Figure 08)

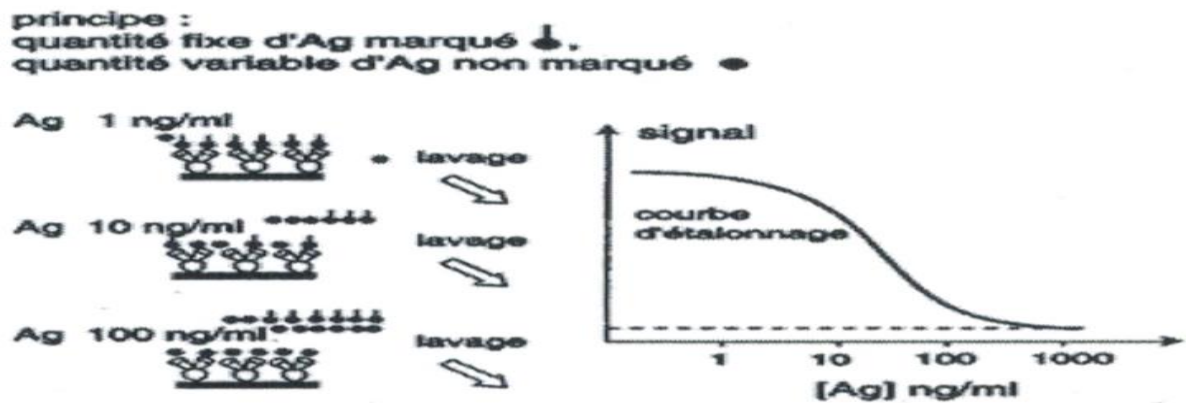


Figure 08 : Principe du dosage RIA. ^[35]

■ **Technique immunométrique a deux sites dite « SANDWICH» ou technique par excès d'Ac**
Immunoradiometric assay (IRMA): (Figure 09)

Depuis l'utilisation des Ac monoclonaux, ces méthodes ont fait des progrès considérables

Le milieu réactionnel comporte :

- Un antigène (la molécule à doser) .
- Un excès d'Ac ou premier Ac ou Ac liant (fixé sur un support): leur quantité doit être calculée de telle façon que le nombre de sites de liaison disponible soit supérieur au nombre de molécules d'Ag (molécule à doser) qui vont se fixer sur les sites d'Ac. ^[35]
- Un deuxième Ac « marqué » qui va s'accrocher à l'Ag, prenant ainsi en sandwich. ^[35]

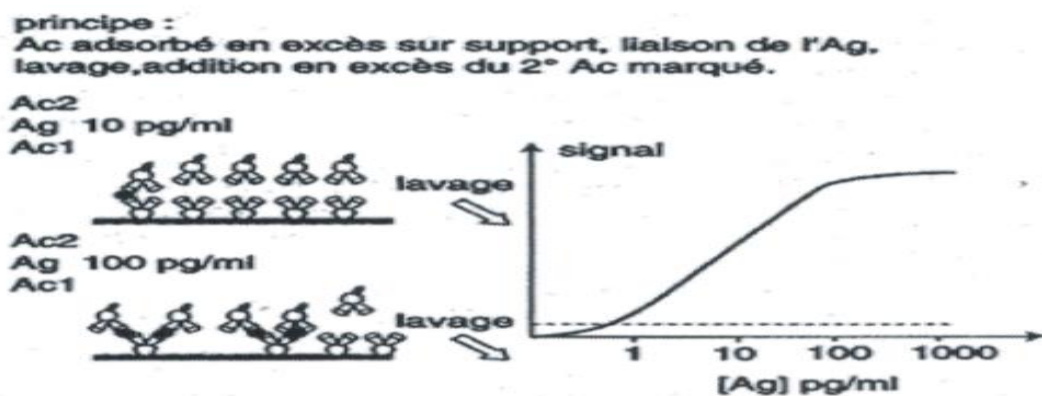


Figure 09 : Principe du dosage IRMA. ^[35]

La technique de radio immunodosage présente une haute sensibilité, spécificité, reproductibilité, les trousse commerciales radioimmunologiques se sont accréditées dans le monde de l'endocrinologie. [36]

Pour obtenir une sensibilité suffisante, la quantité d'Ag marqué ne doit pas être trop importante comparée à la quantité d'Ag non marqué. [36]

En ce qui concerne la spécificité du dosage radio-immunologique l'Ac doit être spécifique à l'Ag analysé (aucun autre Ag ne doit interagir avec l'Ac). [36]

9.4.2 Techniques utilisant un marqueur chimiluminescent :

La chimiluminescence est une réaction de luminescence dans laquelle le substrat est une substance chimique (comme le luminol). Cette technique peut être utilisée pour détecter des réactions Ac-Ag dans des tests immunoenzymatiques classiques tels que Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). [37]

La réaction de base de la chimiluminescence peut être schématisée de la manière suivante : (Figure 10)

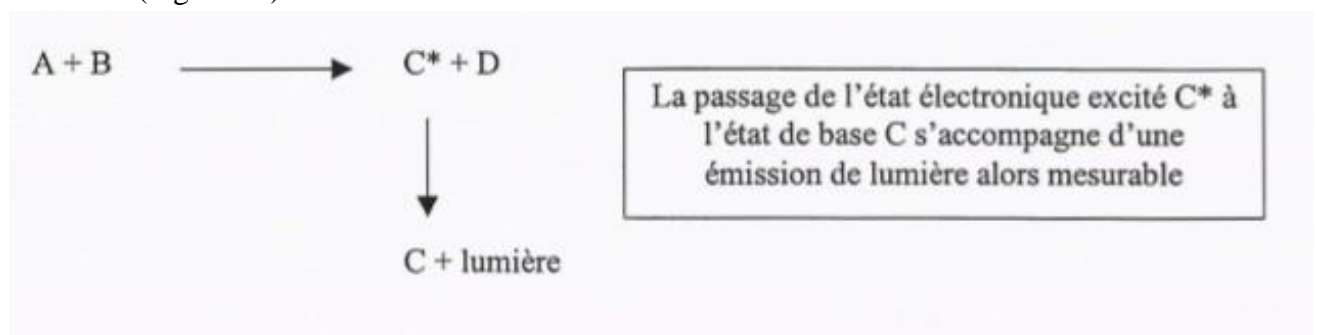


Figure 10 : Principe de la réaction de la chimiluminescence. [38]

Dans ce type de réaction, le substrat est de nature chimique (A / B). Il existe différents composés luminescents, (lucigénine, luciférine, le ruthénium tris-bipyridine, les esters d'oxalate) mais le plus courant reste le luminol ou ses dérivés, tels que l'isoluminol). [37]

Réaction chimiluminescente du luminol: (Figure 11)

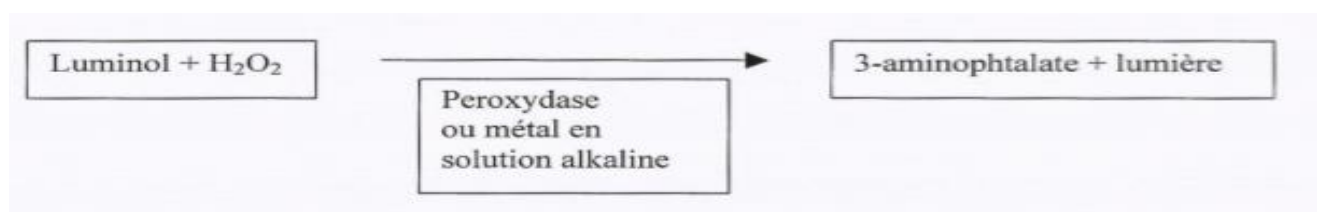


Figure 11 : Réaction chimiluminescente du luminol . [38]

L'oxydation du luminol par le peroxyde conduit à la formation de 3-aminophtalate (état excité). Le produit revient à l'état électronique de base en produisant de la lumière. Cependant, l'intensité du signal lumineux selon cette réaction est faible et la durée est courte. Afin de l'amplifier, un composé dit "enhancer" (par exemple 4-iodophénol) est ajouté au milieu réactionnel. Donc on parle de la chimiluminescence amplifiée. ^[38]

Les applications de la chimiluminescence datent des années 1960. Cette technique est intéressante par: sa sensibilité, sa sélectivité (nombre limité de réactions connues), sa simplicité (peu exigeante en instrumentation).^[38]

9.4.3 : High-performance liquid chromatography (HPLC):

Définition :

La chromatographie liquide haute performance est une technique basée sur les mêmes principes que la chromatographie sur colonne conventionnelle, elle ne présente pas les inconvénients d'une séparation lente, l'absence de détecteurs et la nécessité d'un grand nombre d'échantillons. Il s'agit d'une technique d'analyse aussi bien qualitative que quantitative de la composition d'un mélange homogène. ^[37]

Principe de la technique :(Figure 12)

Pour séparer le mélange, on va le diluer dans un solvant approprié, puis on va injecter un volume connu dans le système chromatographique à travers une boucle d'injection. Les composés du mélange sont transportés par la phase mobile, dont laquelle ils sont solubles vers la colonne siège de la phase stationnaire, sous l'influence de deux effets antagonistes: l'effet d'entraînement produit par la phase mobile, l'effet de rétention produit par la phase stationnaire. ^[39]

Dans la phase stationnaire, les composants du mélange se déplacent à des vitesses différentes, et ils vont être séparés. ^[39]

Cette séparation est basée sur la différence d'affinité des composés du mélange vis à vis la phase stationnaire, le composant avec la plus grande affinité sera le plus retenu. ^[39]

Dans le détecteur, chaque composé du mélange qui sort de la colonne est détecté donne un signal, qui est enregistré par le système de traitement des données dans la forme du pic. Tous les pics forment un chromatogramme. ^[39]

Le système se compose de : réservoirs de la phase mobile : les solvants utilisés comme phase mobile en chromatographie de partage sur la phase stationnaire apolaire, doivent répondre aux certains exigences qui sont comme suit :

■ **La Pureté** : la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants qui doit être pur et filtré pour éliminer les particules solides susceptibles d'endommager ou bloquer la colonne. Le filtre est en acier inoxydable avec une porosité de 2 μm , placé à l'extrémité du réservoir de solvant.^[39]

■ **Compatibilité avec le système de détection** : Utilisez un solvant qui n'absorbe pas la même longueur d'onde que la longueur d'onde des composants de l'analyte. La longueur d'onde du solvant utilisé comme phase mobile dans l'étude de la VIT D doit être différente que la longueur d'onde d'absorption maximale de la VIT D qui est 265 nm.^[39]

■ **Miscibilité des solvants** : Si la phase mobile est constituée d'un mélange de solvants, ceux-ci doivent être complètement miscibles. En plus le soluté à séparer doit y être soluble.^[39]

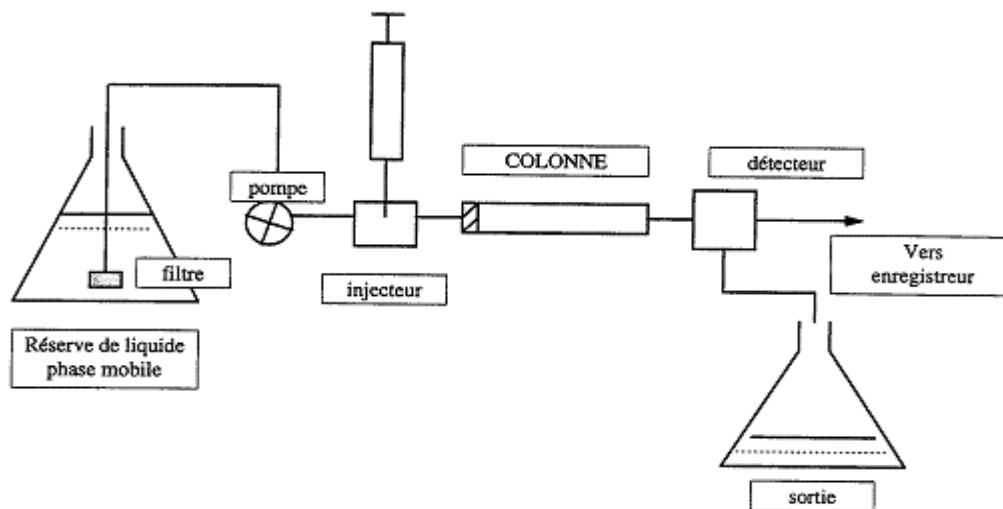


Figure 12: Représentation schématique du principe de l'HPLC.^[37]

9.4.4 : Spectrométrie de masse :

La spectrométrie de masse est une technique d'analyse qui permet la détermination des masses moléculaires des composés analysés ainsi que leurs identification et leurs quantification. ^[40]

Elle se base sur la séparation et la détection d'ions formés dans une source d'ionisation. Ces ions proviennent de la molécule à analyser. ^[40]

Elle permet de mesurer des rapports masse/charge de molécules ionisées et de leurs produits de fragmentation. ^[41]

Le graphique représentant l'intensité des ions en fonction de leurs rapport masse/charge est appelé spectre de masse. ^[40]

La spectrométrie de masse permet d'apporter les informations suivantes :

- La valeur masse/charge du pic moléculaire permet de calculer la masse moléculaire.
- Les pics de fragmentation permettent de reconstituer une partie de la structure moléculaire.
- L'intensité des pics permet de faire de l'analyse quantitative.

Un spectromètre de masse se compose principalement de trois parties : la chambre d'ionisation produisant des ions en phase gazeuse, l'analyseur séparant les ions selon le rapport masse sur charge, le détecteur transformant le courant ionique en courant électrique. Le courant généré est amplifié, numérisé et enregistré ^[42] (Figure 13)

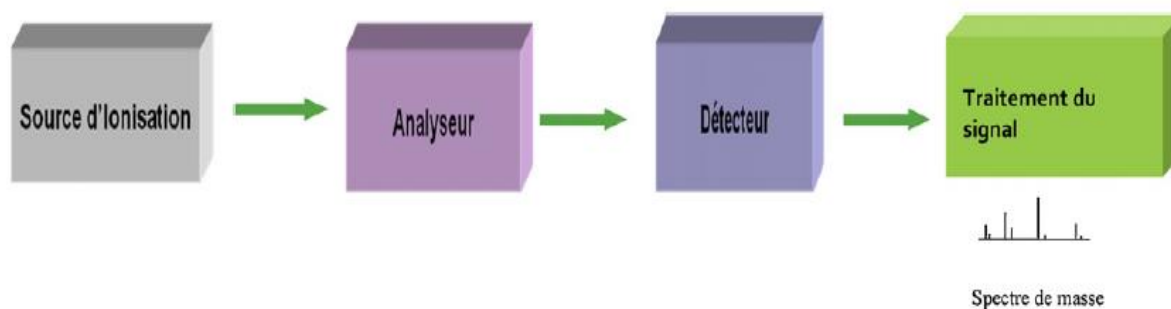


Figure 13 : Les composants d'un spectromètre de masse ^[41]

9.4.5 : Chromatographie en phase liquide haute performance couplée à la spectrométrie de masse (CLHP-SM) :

La chromatographie en phase liquide haute performance -spectrométrie de masse (CLHP-SM) est une technique analytique qui combine les capacités de séparation physique de la HPLC aux capacités d'analyse de masse de la SM (Figure14). La HPLC est une technique de séparation et la SM est utilisée pour analyser le rapport masse sur charge des particules chargées. ^[43]

Elle est utilisée dans de nombreuses applications telles que la recherche, l'analyse des médicaments, l'analyse d'aliments. Utilisé pour séparer, identifier, et quantifier un échantillon particulier en présence de mélanges chimiques complexes.^[43]

La chromatographie en phase liquide haute performance -spectrométrie de masse est une technique d'analyse dominante qui présente une très grande précision, sensibilité et spécificité comparé à la HPLC.^[43](Tableau 05)

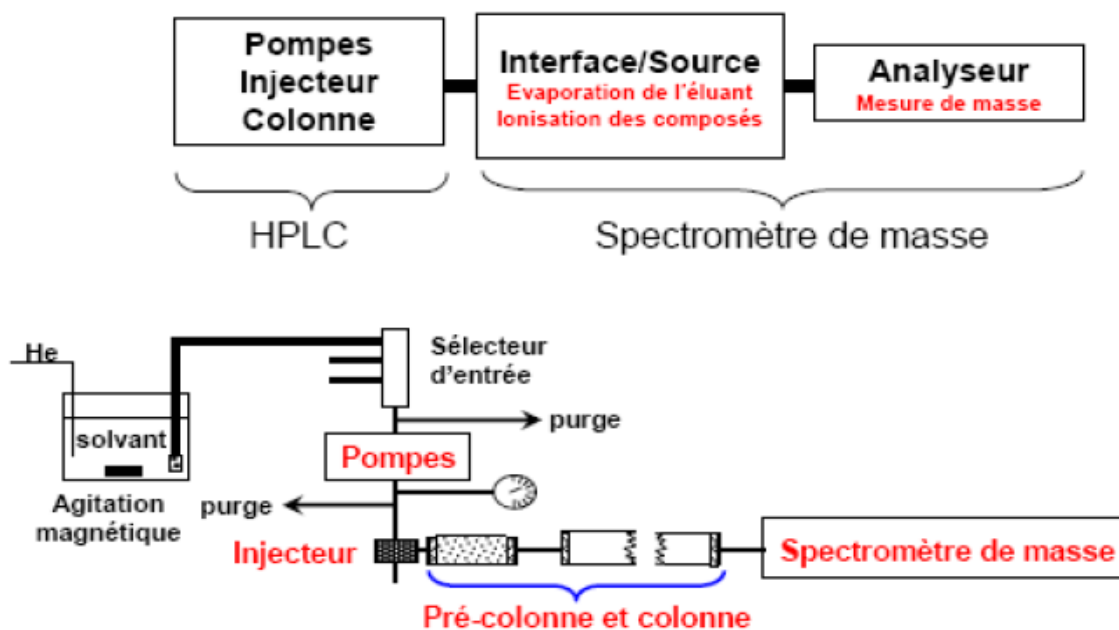


Figure 14 : Schéma de l'instrument (CLHP-SM) ^[44]

Tableau 05 : Caractéristiques de l'HPLC et la CLHP-SM [43]

Caractéristiques / Technique	HPLC	CLHP-SM
<u>Classification</u>	Ceci est une technique de chromatographie en phase liquide seulement.	Ceci est une combinaison de la technique de chromatographie en phase liquide et de la technique de spectrométrie de masse.
<u>Efficacité</u>	Comparé au CLHP-SM, l'analyse HPLC est moins efficace et plus lente.	Comparée à la HPLC, l'analyse CLHP-SM est efficace et plus rapide.
<u>Sensibilité</u>	Comparé au CLHP-SM, l'analyse HPLC est moins sensible.	Comparé à la HPLC, l'analyse CLHP-SM est plus sensible.
<u>Spécificité</u>	Comparé au CLHP-SM, l'analyse HPLC est moins spécifique.	Comparée à la HPLC, l'analyse CLHP-SM est plus spécifique.
<u>Précision</u>	La HPLC donne des résultats moins précis que la CLHP-SM pour la détermination de certains produits chimiques.	La CLHP-SM donne des résultats plus précis que la HPLC pour la détermination de certains produits chimiques.
<u>Composant</u>	La HPLC peut être considérée comme un composant du CLHP-SM.	La CLHP-SM ne peut pas être considéré comme un composant de la HPLC.
<u>Source d'ions</u>	La source d'ions n'existe pas dans l'instrument HPLC.	La source d'ions est présente dans l'instrument CLHP-SM.
<u>Applications</u>	Les ions, les polymères, les molécules organiques et les biomolécules peuvent être analysés par HPLC.	Les molécules organiques et les biomolécules peuvent être analysées. Contrairement à la HPLC la CLHP-SM peut être utilisée pour examiner des mélanges incomplètement résolue.

9.5 Technique de référence et standardisation des techniques de dosage :

Selon le Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine (JCTLM), il n'existe pas à ce jour de technique de référence pour doser la 25[OH]D3 et la 25[OH]D2, ce qui rend difficile la standardisation des techniques et la comparaison entre elles .^{[26][45][46]}

Toutefois, le National Institute of Standards and Technology (NIST) a développé une technique de spectrométrie de masse 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^[47]

Les problèmes de standardisation des dosages devraient donc être résolus dans les années à venir .^{[46][45][48]}

Ce manque d'homogénéité est à l'origine de différences de mesures observées entre laboratoires et entre techniques 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 techniques de dosage sont attendus pour améliorer la définition et la prise en charge de l'hypovitaminose D .^{[49][50][51][52]}

9.6 Avantages et inconvénients de différentes techniques de dosages de la VIT D :

Tableau 06: Avantages et inconvénients de différentes techniques de dosages de la VIT D. ^{[53] [54][55][56] [57]}

Technique		Avantages	Inconvénients
Technique utilisant un traceur radio actif	RIA	-L'isotope permet un marquage facile. -Le signal est direct, émis par le marqueur lui-même. -Le signal est spontané, ne faisant pas intervenir une source d'énergie extérieure.	-Nécessitent une affinité élevée de l'Ac pour l'Ag . -Un nombre constant de sites Ac dans chaque tube de réaction pour avoir une bonne précision. -Précaution et surveillance lors des manipulations.
	IRMA	-Spécificité : L'utilisation de 2 Ac dirigés contre 2 épitopes différents améliore la reconnaissance spécifique -Sensibilité : Toute molécule d'Ag mise en présence de l'Ac liant est susceptible d'être captée.	- l'Ag doit avoir 2 épitopes. - L'effet crochet (effet cloche) : l'effet par lequel une concentration très élevée est largement sous estimée par un dosage immunométrique. -Précaution et surveillance lors des manipulations.
Technique utilisant un traceur chimiluminescent		-La chimiluminescence directe utilisant l'ester d'acridinium est facile à automatiser et fournit de nombreux avantages tels que la grande durée de vie des réactifs, la rapidité de la réaction et la sensibilité des dosages.	-Le processus de chimiluminescence dure peu de temps d'où la nécessité d'amplifier le signal lumineux. -Certains traceurs comme le luminol est réputé comme cancérigène, par conséquent l'utilisation de la chimiluminescence pourrait avoir des risques pour la santé des personnels.

HPLC	-l'HPLC offre une méthode rapide, automatisée et très précise pour identifier certains composants chimiques dans un échantillon. -l'HPLC est polyvalente et extrêmement précise lorsqu'il s'agit d'identifier et de quantifier des composants chimiques.	-l'HPLC peut être coûteuse. -Présente une faible sensibilité pour certains composés.
SM	- La nécessiter de faibles quantités d'échantillon.	-Son inconvénient est de ne pas être une mesure directe des propriétés structurales, et de ne permettre un accès à ces propriétés qu'après ionisation et passage en phase gazeuse.
HPLC-SM	-La combinaison des capacités de séparation physique de l'HPLC aux capacités d'analyse de masse de la SM -une très grande précision, sensibilité et spécificité .	-Instrument couteux .

10 : Autre dosage :

10 .1 : Dosage de la 1,25[OH]D :

La concentration sérique de la 1,25[OH]D est mille fois inférieure à celle de la 25[OH]D. Les dosages de la 1,25[OH]D sont des techniques difficiles car elles nécessitent de séparer obligatoirement la 1,25[OH]D des autres métabolites de la VIT D avant le dosage proprement dit.^[58]

Le dosage de la 1,25[OH]D, qui représente la forme active de la VIT D doit être limitée au diagnostic et au suivi des maladies rares du métabolisme phosphocalcique, au suivi de certains patients insuffisants rénaux, et au diagnostic différentiel des hypercalcémies/hypercalciuries avec des PTH basses. Ce dosage ne devrait être demandé que dans le cadre de consultations et diagnostics spécialisées.^[59]

Partie pratique

Partie pratique :

1. Matériels et méthodes :

1.1 Type d'étude :

Il s'agit d'une étude rétrospective visant à comparer deux trousse de dosage de la VIT D: la technique radio immunologique (DIAsource 25OH Vitamin D total -RIA-CT Kit) du fournisseur CIS BIO INTERNATIONAL versus la technique CMIA (Chemiluminescent Microparticle Immunoassay) __Architect_i_1000_SR de chez Abbott diagnostics.

1.2 Population d'étude :

Il s'agit de patients prélevés au niveau du laboratoire du service de médecine nucléaire du centre hospitalier-universitaire de Tlemcen pour le dosage de la VIT D réalisé sur une période de 15 jours (du 15 au 30 janvier 2021).

1.3 Prélèvement et conservation des échantillons :

Les prélèvements sanguins ont été réalisés, sur tubes secs, puis centrifugés, aliquotés et immédiatement congelés à -20°C jusqu'à analyse.

1.4 Les techniques de dosages : les techniques utilisées dans ce travail sont :

1.4.1 Technique CMIA-Architect-i-1000-SR :

1.4.1.1 Principe :

Le principe de la technique repose sur un dosage immunologique en une étape retardée, avec pré-traitement de l'échantillon, pour la détermination quantitative de la 25[OH]D dans le sérum et le plasma humains. C'est un dosage par compétition.

L'échantillon est mis en présence d'un réactif de prétraitement pour qu'ensuite lui soit ajoutées des microparticules paramagnétiques recouvertes d'Ac anti-Vit D pour créer le mélange réactionnel. La VIT D présente dans l'échantillon, se lie aux microparticules recouvertes d'Ac anti-VIT D. Après incubation, le conjugué sous forme d'un complexe IgG anti-biotine /VIT D biotinylée marquée à l'ester d'acridinium (DMAE) est ajouté au mélange réactionnel et se lie aux sites de liaisons libres sur les microparticules recouvertes d'Ac anti-Vit D. Après lavage, les solutions de préactivation et d'activation sont ajoutées au mélange réactionnel. La réaction chimiluminescente qui en résulte est mesurée en unités relatives de lumières (URL). Il existe une relation indirecte entre la quantité de la VIT D présente dans l'échantillon et les URL détectées par le système optique de l'appareil^[60] (Figure 15).

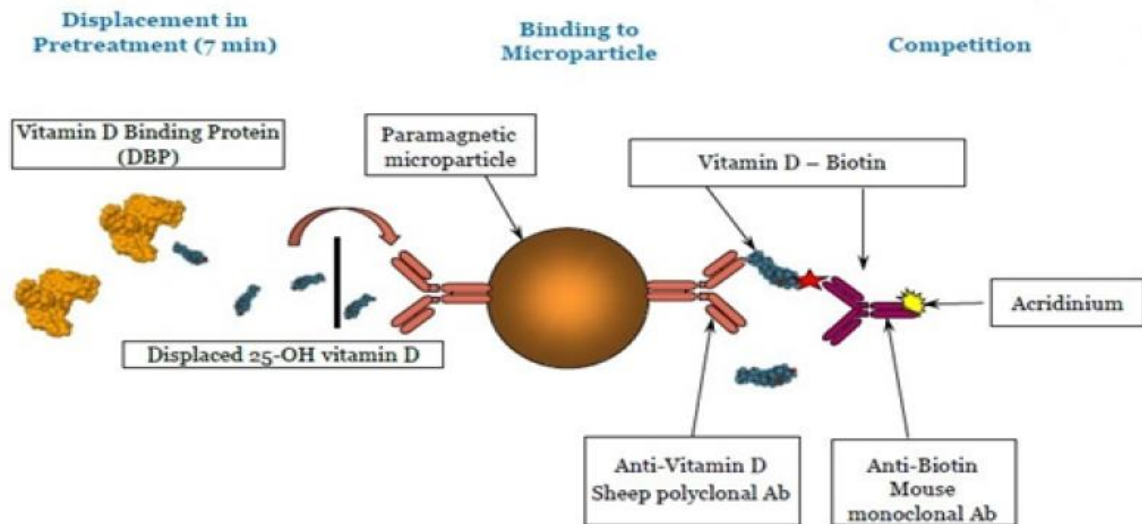


Figure 15: Principe de dosage de la 25[OH]D par technique CMIA.^[60]

1.4.1.2 Caractéristiques de la technique de dosage CMIA Architect i1000

SR :

■ **Linéarité** : La technique CMIA Architect i1000SR a présenté une linéarité comprise entre 3.4 et 155.9 ng/mL (8.5 a 389.8 nmol/L) selon une étude qui a été menée sur la base du document EP6-A du National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)^[61].

■ **Sensibilité** :

► **Limite de détection** : La limite de détection observée était de 2.2 ng/mL (5.5 nmol/L), selon une étude qui a été menée sur la base du document EP17-A2 du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)^[62].

► **Limite de quantification** : La limite de quantification observée était de 2.4 ng/mL (6.0 nmol/L), selon une étude qui a été menée sur la base du document EP17-A2 du CLSI.^[62]

1.4.1.3 Calibration : CMIA Architect i1000 SR :

Les calibrateurs sont utilisés pour la calibration de l'ARCHITECT iSystem lors de la détermination quantitative de la 25[OH]D dans le sérum et le plasma humains.

On a 6 flacons de calibrateurs (4.0 mL chacun). (Tableau 09)

Les calibrateurs A à F contiennent du tampon PBS et du sérum humain. Les calibrateurs B à F contiennent différentes concentrations de 25[OH]D. Conservateurs : ProClin .950, azide de sodium.

Pour effectuer une calibration, les calibrateurs doivent être chargés en position prioritaire. Une seule réplique de chaque niveau de contrôles doit être analysée afin d'évaluer la calibration du dosage.

Il est nécessaire de s'assurer que les valeurs des contrôles du dosage se situent dans les limites de concentration spécifiées dans la notice des contrôles.

Plage de calibration : 0.0 à 160.0 ng/mL (0.0 - 400,0nmol/L).

Lorsqu'une calibration a été acceptée et mémorisée, tous les échantillons qui suivent peuvent être analysés sans qu'une nouvelle calibration soit nécessaire, sauf si :

- La calibration est plus ancienne que 30 jours.
- Un kit de réactifs portant un nouveau numéro de lot est utilisé.
- Les résultats du contrôle de qualité quotidien se situent en dehors des limites du contrôle de qualité utilisées pour surveiller et contrôler la performance du système.

1.4.1.4 Le contrôle qualité :

Le contrôle de qualité recommandé consiste à analyser un échantillon de chaque niveau de contrôle une fois toutes les 24 heures d'utilisation. Si les procédures du contrôle de qualité du laboratoire requièrent une utilisation plus fréquente des contrôles pour vérifier les résultats d'analyses, se conformer à ces exigences, des contrôles supplémentaires peuvent être effectués conformément à la réglementation en vigueur ou aux exigences relatives à l'accréditation ainsi qu'aux exigences du laboratoire en matière de contrôle de qualité. Les valeurs des contrôles doivent se situer dans les limites acceptables spécifiées dans la notice des contrôles. Si les résultats d'un contrôle ne se situent pas dans ces limites, les résultats des échantillons analysés dans la même série ne sont pas valables et ces échantillons devront être ré-analysés. Une recalibration peut être nécessaire.

1.4.2 Technique DIAsource 25OH Vitamin D total RIA CT Kit :

1.4.2.1 Principe : Le dosage RIA de la 25[OH]D est destiné à la détermination quantitative de la 25[OH]D dans le sérum et le plasma humains.^[63]

La technique radio immunologique est basée sur un phénomène de compétition entre un Ag marqué par un radio isotope et un Ag non marqué que l'on veut doser, cette compétition s'exerce vis-a-vis d'un Ac spécifique. L'antigène a doser est placé en même temps que l'Ag marqué sur une plaque recouverte de l'Ac spécifique. Plus il y a d'Ag dans l'échantillon, moins les Ag marqué peuvent lier l'Ac.^[63] (Figure 16)

A l'équilibre, le complexe Ag marqué (lié) est séparé de l'Ag marqué (libre).^[63]

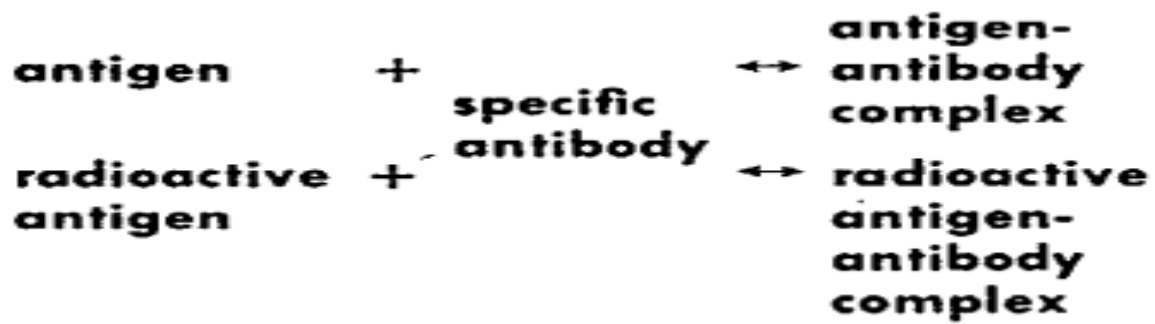


Figure 16 : Principe de dosage de la 25[OH]D par la technique RIA^[63]

En ce qui concerne le dosage de la 25[OH]D une quantité fixe de 25[OH]D marqué à l'iode 125 est ajoutée dans chaque tube pour entrer en compétition avec la 25[OH]D3 et la 25[OH]D2 provenant d'échantillons, de contrôles ou d'étalons, pour une quantité fixe d'Ac spécifique immobilisée sur la surface inférieure et intérieure des tubes.^[58] La quantité de la radioactivité fixée (complexe Ag marqué-Ac) est indirectement proportionnelle à la concentration en 25[OH]D de l'échantillon^[63]

Après incubation à température ambiante, les tubes sont aspirés pour mettre fin à la réaction de compétition. La lecture des tubes se fait après lavage sur un appareil appelé «Compteur gamma ».

■ **Principe de fonctionnement du compteur gamma :**

Un compteur gamma utilise un cristal à scintillation entourant l'échantillon pour détecter les rayons gamma : les rayons gamma interagissent avec le cristal, sont absorbés et produisent de la lumière ; la lumière produite est ensuite mesurée par un détecteur de lumière, généralement un tube photomultiplicateur. L'énergie des rayons gamma pouvant être détectée dépend de l'épaisseur du cristal : les cristaux fins conviennent à la détection des rayons gamma de faible énergie, tandis que les rayons gamma de haute énergie nécessitent des cristaux plus épais. Les compteurs gamma ne sont pas portables, car ils nécessitent un lourd blindage en plomb pour protéger le détecteur des sources de rayonnement. ^[64] (Figure 17)

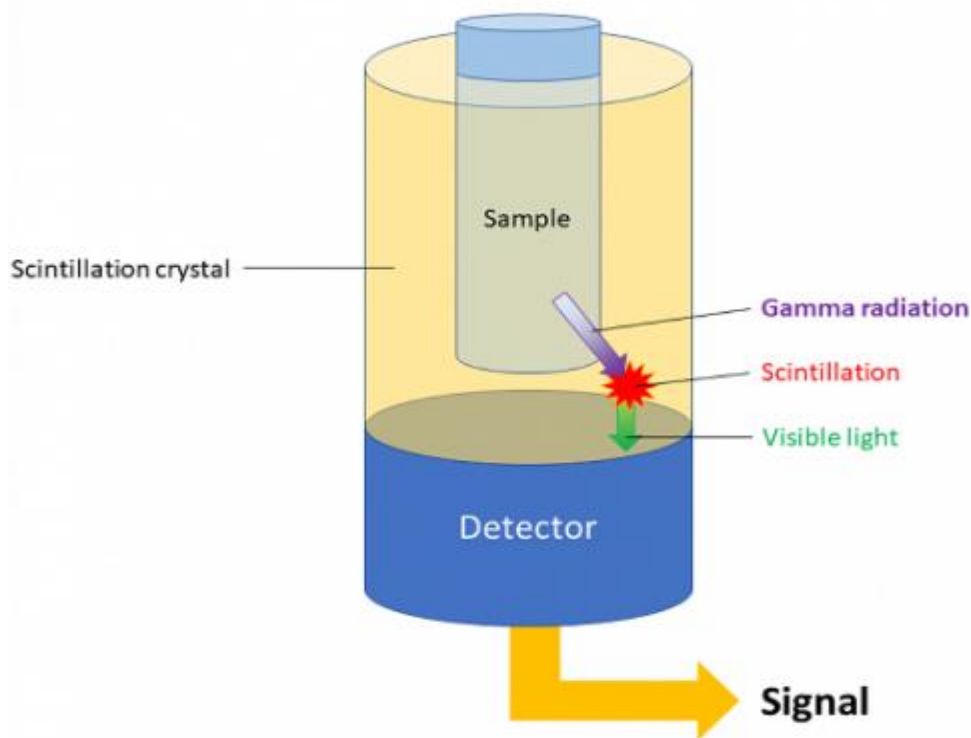


Figure 17: Principe de fonctionnement du compteur gamma .^[64]

1.4.2.2 Caractéristiques de la technique de dosage DIAsource25OHVitaminD total RIACT Kit :

■ Sensibilité :

- ▶ **Limite de détection** : La limite de détection observée était de 5.76 ng/mL.
- ▶ **Limite de quantification** : La limite de quantification observée était de 7 ng/mL .

1.4.2.3 Calibration :

L'analyseur est fourni avec 6 calibrateurs (Tableau 07) dont les concentrations en 25[OH]D dans du sérum d'humain sain sont comme suivant :

Tableau 07 : les concentrations des différents calibrateurs de la technique de dosage
DIAsource_25OH_Vitamin_D_total_RIA_CT_Kit

Calibrateurs	Concentrations
Calibrateur 0	0.0 ng/mL
Calibrateur 1	10 ng/mL
Calibrateur 2	20 ng/mL
Calibrateur 3	40 ng/mL
Calibrateur 4	60 ng/mL
Calibrateur 5	100 ng/mL

La calibration doit se faire à chaque changement de lot de réactifs et si sur exigence du contrôle de qualité (résultats des contrôles en dehors des limites de confiance définies).

Une courbe de calibration doit être réalisée à l'aide de ces calibrants. Elle est mémorisée par l'analyseur.

1.4.2.4 Contrôle de qualité :

La fréquence des contrôles et les limites de confiance doivent être adaptées aux exigences du Laboratoire d'analyse. Les résultats doivent se situer dans les limites de confiance définies. (Tableau 08)

Tableau 08 : Résultats de contrôle de qualité.

Concentration de contrôle	Concentration obtenue par la technique de dosage DIAsource_25OH_Vitamin_D_total__RIA_CT_Kit
• Contrôle 1: 29.0 ± 7.3 ng/mL	34.05 ng/mL
• Contrôle 2 : 51.0 ± 13.8 ng/mL	54.89 ng/mL

1.5 Comparaison entre les caractéristiques techniques des deux techniques de dosage:

Tableau 09 : Tableau comparatif entre les caractéristiques techniques des deux techniques de dosage.

CARACTERISTIQUES	DIAsource_25OH_Vitamin_D_total__RIA_CT_Kit	CMIA__Architect_i_1000_SR
Principe	Compétition	Compétition
Calibrateurs	06 calibrateurs : <ul style="list-style-type: none">• cal 0 : 0 ng/mL• cal 1 : 10 ng/mL• cal 2 : 20 ng/mL• cal 3 : 40 ng/mL• cal 4 : 60 ng/mL• cal 5 : 100 ng/mL	06 calibrateurs : <ul style="list-style-type: none">• cal A : 0 ng/mL• cal B : 4.0 ng/mL• cal C : 10.0 ng/mL• cal D : 30.0 ng/mL• cal E : 75.0 ng/mL• cal F : 160.0 ng/mL
Contrôle	<ul style="list-style-type: none">• Contrôle 1: 29.0 ± 7.3 ng/mL• Contrôle 2 : 51.0 ± 13.8ng/mL	<ul style="list-style-type: none">• Contrôle 1: 20 ng/mL limites(14 - 26)• Contrôle 2 : 40 ng/mL Limites(28 - 52)• Contrôle 3 : 75ng/mL limites(52.5 - 97.5)
Marqueur	IODE 125	ACRIDINIUM
Intervalles de normalité de la 25[OH]D (ng/mL)	[30-100]	[30-80]

1.6 Analyse statistique :

1.6.1 Logiciel utilisé :

Les résultats obtenus ont fait l'objet d'une analyse statistique par le logiciel IBM SPSS Statistics version 28.0.0.0 , le logiciel Med Calc version 18.11 , le logiciel Microsoft Office Excel 2007.

■ **Le test T de Student pour échantillons** appariés permet de comparer les moyennes de deux séries de mesures pour le même groupe d'étude.

■ **Le test T de Student pour échantillons** indépendants permet de comparer les moyennes de deux séries de mesures pour deux groupes d'étude différents.

■ Le test de **corrélation de Pearson** ainsi que le test de **Passing-Bablok** pour évaluer le niveau de corrélation entre les deux techniques de dosage étudiées.

1.6.2 Le test de corrélation de Pearson :

Pour évaluer le niveau de corrélation entre les deux techniques de dosage étudiées, un test paramétrique de Pearson a été réalisé.

Ce test permet de déterminer le degré d'association entre deux variables quantitatives en calculant le r (statistique de Pearson) :

Le signe du coefficient indique la direction de la relation. Si les deux variables ont tendance à augmenter ou à diminuer ensemble, le coefficient est positif, et la ligne qui représente la corrélation s'incline vers le haut. Si une variable a tendance à augmenter lorsque l'autre diminue, le coefficient est négatif, et la ligne représentant la corrélation s'incline vers le bas.

L'interprétation se fait selon la grille suivante :

- **$r \neq 0$ les deux variables sont corrélées.**
- **$r > 0$ Correlation positive.**
- **$r < 0$ Correlation negative.**

Pour déterminer si la corrélation entre les variables est significative, on doit comparer la valeur de p (p-value) au seuil de signification. En général, un seuil de signification (noté alpha ou α) de 0,05 donne de bon résultats. La valeur de p indique si le coefficient de corrélation est significativement différent de 0.

Valeur de $p \leq \alpha$: la corrélation est statistiquement significative .

Valeur de $p > \alpha$: la corrélation n'est pas statistiquement significative .

1.6.3 Comparaison des moyennes par le test T de Student pour échantillons appariés :

Le test T de Student pour échantillons appariés compare la moyenne de deux variables pour un seul groupe. il permet de calculer les différences entre les valeurs des deux variables pour chaque observation et de tester si la moyenne diffère de 0.

Lorsque le degré de signification est petit ($p < 0,05$), nous pouvons rejeter l'hypothèse nulle (Il n'y a pas de différence entre les moyennes des deux groupes dans la population d'étude) et donc conclure que les deux moyennes ne proviennent pas de la même population.

Lorsque le degré de signification est trop élevé ($p > 0,05$) on peut accepter l'hypothèse nulle.

1.6.4 Comparaison des moyennes par le test T de Student pour échantillons indépendants :

Le test T de Student pour échantillons indépendants permet de comparer la moyenne de deux groupes d'éléments différents.

Lorsque le degré de signification est petit ($p < 0,05$), nous pouvons rejeter l'hypothèse nulle (Il n'y a pas de différence entre les moyennes des deux groupes dans la population d'étude) et donc conclure que les deux moyennes ne proviennent pas de la même population.

Lorsque le degré de signification est trop élevé ($p > 0,05$) on peut accepter l'hypothèse nulle.

1.6.5 La droite de régression de Passing-Bablok :

Les résultats d'une technique sont reportés en ordonnées et ceux de l'autre technique en abscisses. La relation mathématique entre les deux techniques est estimée par la droite de régression. La discordance entre les techniques est évaluée par l'écart entre la droite de régression et la bissectrice des axes (la ligne d'identité).^[65]

Cette représentation permet d'obtenir une droite de type $y = a x + b$.

■ Un test de corrélation de Kendall a été réalisé pour déterminer le niveau de corrélation entre les deux techniques de dosage étudiées en calculant le coefficient de corrélation de Kendall (le **tau de Kendall**).

Le signe du coefficient indique la direction de la relation.

L'interprétation se fait selon la grille suivante :

- $r \neq 0$ les deux variables sont corrélées.
- $r > 0$ Correlation positive.
- $r < 0$ Correlation negative.

Pour déterminer si la corrélation entre les variables est significative, on doit comparer la valeur de p (p-value) au seuil de signification. La valeur de p indique si le coefficient de corrélation est significativement différent de 0 .

Valeur de $p \leq \alpha$: la corrélation est statistiquement significative .

Valeur de $p > \alpha$: la corrélation n'est pas statistiquement significative .

Résultats

2. Résultats :

2.1 Statistique descriptive :

2.1.1 Nombre d'échantillons :

Un total de 71 patients ont été recrutés.

2.1.2 Répartition de la population d'étude selon le lieu de résidence :

Selon la figure n°18 on remarque que la plus part des patients recrutés pour notre étude résident dans la daïra de Tlemcen. (Figure18)

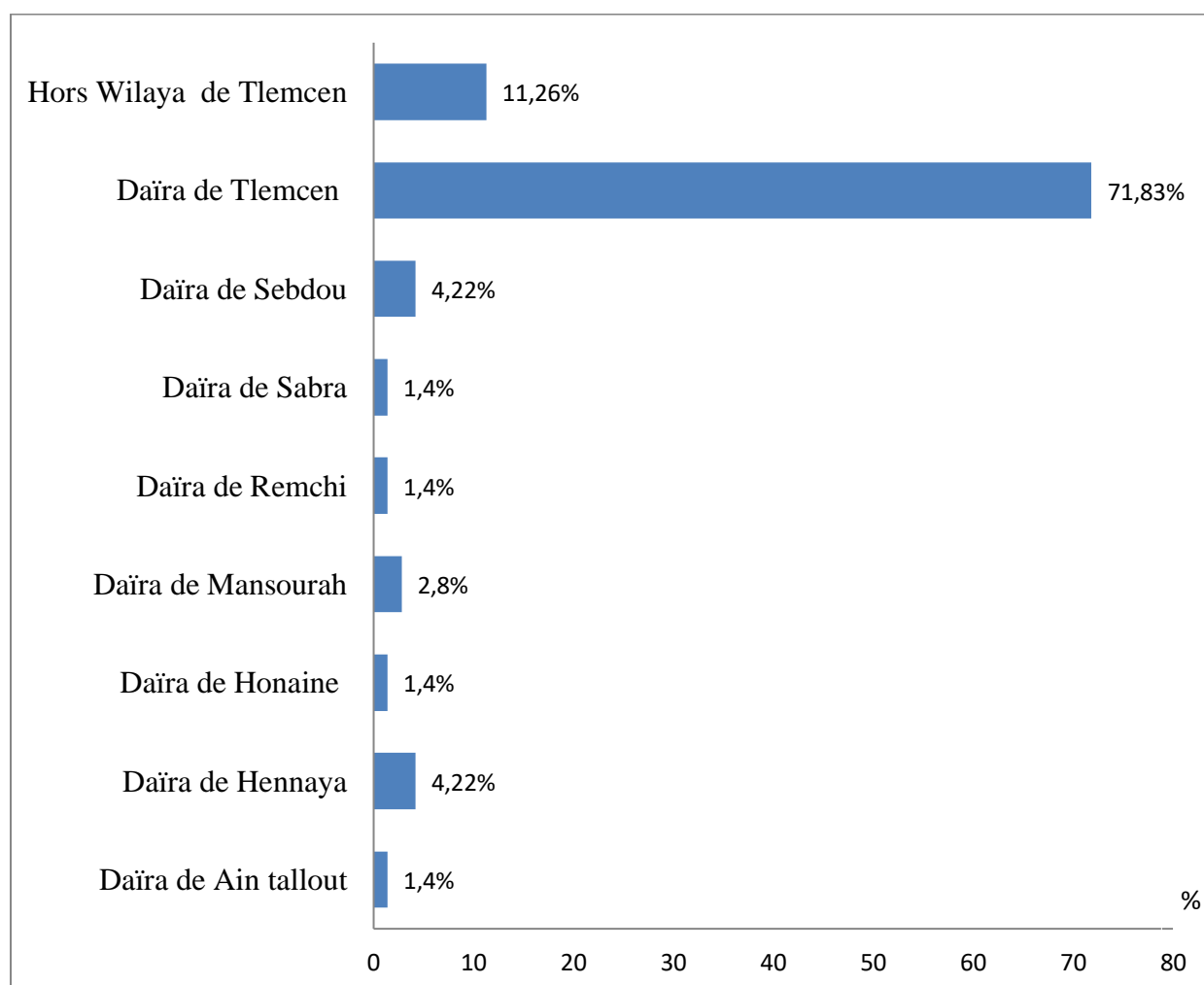


Figure18 : Répartition de la population d'étude selon le lieu de résidence. (Daïra)

2.1.3 Le sexe :

La répartition de la population d'étude selon le sexe, montre une prédominance féminine (95.97%) avec un sex-ratio de 0.044 (Figure 19).

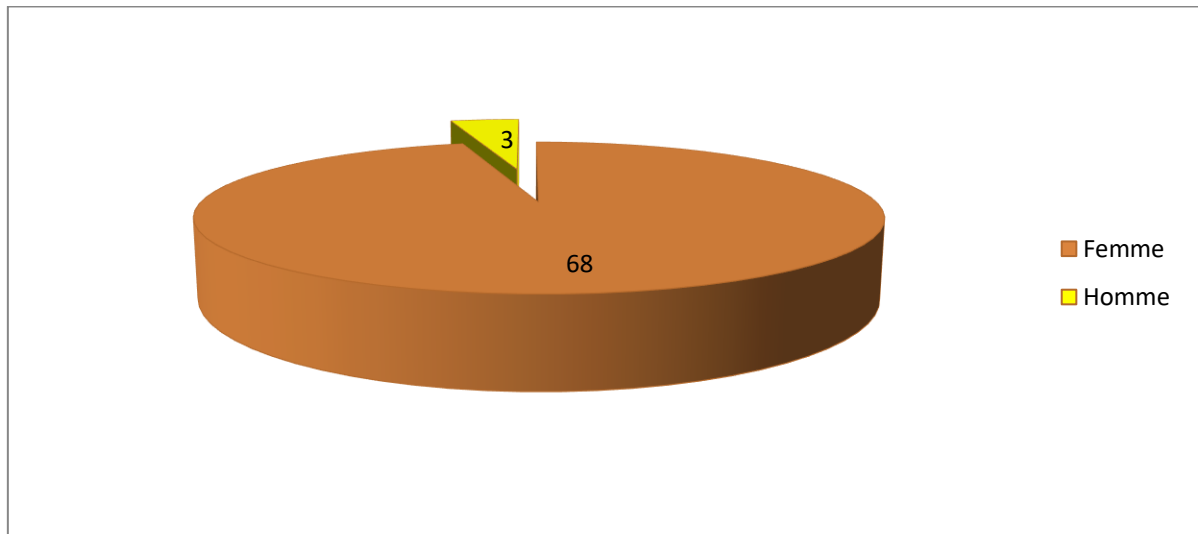


Figure 19 : Répartition de la population d'étude selon le sexe.

2.1.4 L'âge :

L'âge moyen chez les hommes est de 45.33 ± 29.16 vs 44.21 ± 18.79 chez les femmes.

La comparaison de ces deux moyennes par le test T de Student pour échantillons indépendants a montré une différence non significative. ($P=0.921$) > 0.05 (Tableau 10)

Tableau 10 : Moyenne d'âge chez la population d'étude selon le sexe.

	Age		<i>P</i>
	Homme (n =3)	Femme (n=68)	
Moyenne d'âge Moy \pm ET	45.33 \pm 29.16	44.21 \pm 18.79	0.921

Moy : moyenne, ET : écart type

2.1.5 Moyenne de la VIT D chez la population d'étude selon les tranches d'âge et la technique du dosage :

La comparaison des moyennes de la VIT D dans chaque tranche d'âge et selon la technique du dosage montre l'absence d'une différence significative (**l'ensemble des valeurs *P* sont supérieurs au seuil de significativité 0.05**) dans toutes les tranches d'âge. (Tableau 11)

Tableau 11 : Répartition de la population d'étude en fonction des tranches d'âge et selon la technique du dosage.

Tranches d'âge	Effectif (n=71)	Moy des concentration de la VIT D par la technique RIA ± ET (ng/mL)	Moy des concentration de la VIT D par la technique CMIA ± ET (ng/mL)	<i>P</i>
<25	10	10.36±3.67	10.1±5.06	0.765
[25-39]	19	19.71±17.58	18.62±16.78	0.285
[40-54]	17	20.56±20.62	19.01±18.60	0.222
[55-69]	17	15.04±6.83	17.44±10.81	0.109
[>69]	8	24.43±19.99	25.13±19.02	0.667

Moy : moyenne, ET : écart type

2.1.6 Moyennes des valeurs de la VIT D chez la population d'étude globale en fonction de la technique du dosage :

La valeur **minimale** obtenue par la technique **DIASource_25OH_Vitamin_D_total_RIA_CT_Kit** est de 3.69 ng/mL contre 4.0 ng/mL avec la technique **CMIA_Architect_i_1000_SR**.

La valeur **maximale** obtenue par la technique **DIASource_25OH_Vitamin_D_total_RIA_CT_Kit** est de 86.88 ng/mL contre 69.7 ng/mL avec la technique **CMIA_Architect_i_1000_SR**.

La moyenne de la VIT D dans la population d'étude obtenue sur les deux techniques de dosage DIAsource_25OH_Vitamin_D_total_RIA_CT_Kit et CMIA_Architect_i_1000_SR est respectivement de 18.015 ng/mL ± 15.70693 vs 17.968 ng/mL ± 15.2649.

La comparaison de ces deux moyennes par le test T de Student pour échantillons appariés a montré une différence non significative ($P=0.935$) > 0.05 (Tableau 12)

Tableau 12 : Moyenne de la VIT D chez la population d'étude.

Technique	Effectif	Moy ± ET (ng/mL)	Les intervalles [min-max] (ng/mL)	P
DIAsource_25OH_Vitamin_D_total_RIA_CT_Kit	71	18.015 ± 15.70693	[3.69 - 86.88]	0.935
CMIA_Architect_i_1000_SR	71	17.968 ± 15.2649	[4.0 - 69.7]	

Moy : moyenne, ET : écart type

2.2 Tests statistiques :

2.2.1 Test de corrélation :

Test de corrélation de Pearson (N=71) :

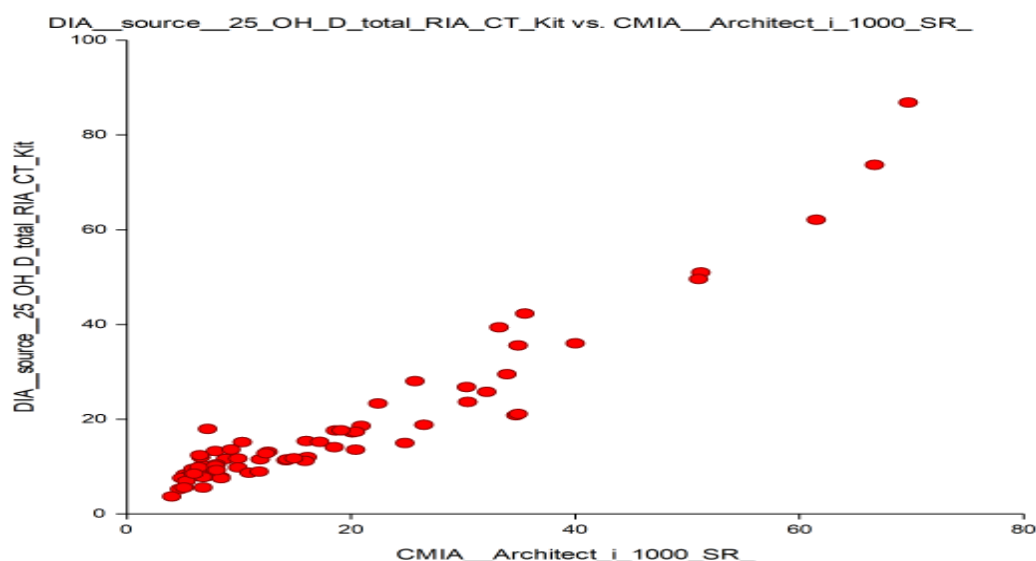


Figure 20 : Corrélation entre DIAsource_25OH-Vitamin-D-total-RIA-CT-Kit et CMIA-Architect-i-1000-SR

Il existe une forte corrélation entre les deux techniques du dosage et de manière significative. (r=0.951 , p-value < 0.05) (Figure 20) (Tableau 13)

Tableau 13 : Résultat du test de corrélation de Pearson

Corrélations			
		DIA -source -25 OH D-total-RIA- CT-Kit	CMIA__Architect_i _1000_SR.
DIA -source -25 OH D-total-RIA- CT-Kit	Corrélation de Pearson	1	0,951*
	Sig. (bilatérale)		,000
	N	71	71
CMIA__Architect_i_1000_SR.	Corrélation de Pearson	0,951	1
	Sig. (bilatérale)	,000	
	N	71	71

2.2.2 Droite de régression de Passing-Bablok :

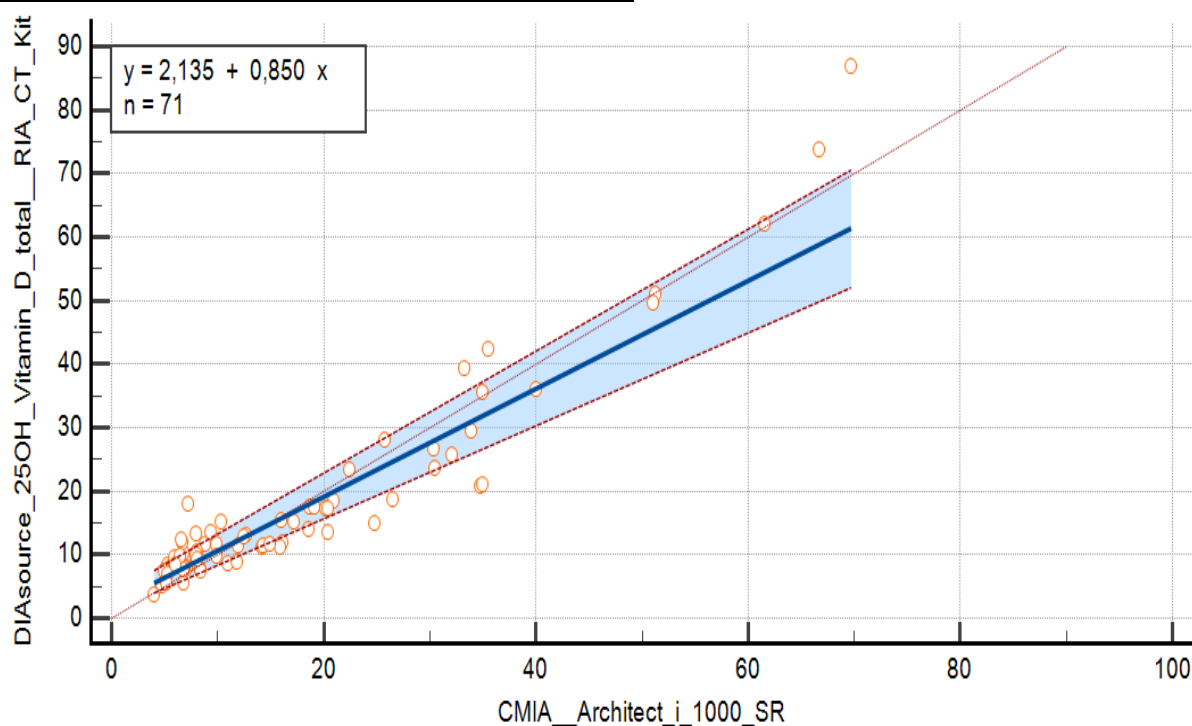


Figure 21 : Régression de DIAsource-25OH-Vitamin-D-total-RIA-CT-Kit par CMIA-Architect-i-1000SR
La droite de régression de Passing-Bablok illustrant la corrélation existant entre les deux techniques du dosage. (Figure 21)

L'analyse de la corrélation par le test de Kendall (Tableau 14) a révélé l'existence d'une forte corrélation entre les deux techniques du dosage et de manière significative. ($r=0.756$, $p\text{-value} < 0.05$).

Tableau 14 : Résultat du test de corrélation de Kendall

Corrélations				
			DIA -source -25 OH D-total-RIA- CT-Kit	CMIA__Architect t_i_1000_SR.
Tau-B de Kendall	DIA -source -25 OH D-total- RIA-CT-Kit	Coefficient de corrélation	1,000	0,756
		Sig. (bilatéral)	.	,000
		N	71	71
	CMIA__Architect_i_1000_S R.	Coefficient de corrélation	0,756*	1,000
		Sig. (bilatéral)	,000	.
		N	71	71

Discussion :

■ L'objectif principal de ce travail est de comparer les résultats du dosage de la VIT D obtenus sur deux techniques immunologiques (la technique radio immunologique (DIAsource 25OH Vitamin D total -RIA-CT Kit) du fournisseur CIS-BIO INTERNATIONAL vs la technique CMIA(Chemiluminescent-Microparticle-Immunoassay)__Architect_i_1000_SR de chez Abbott diagnostics) au niveau de l'unité d'exploration invitro du service de médecine nucléaire du CHU de Tlemcen .

■ La vitamine D apparaît aujourd'hui comme une vitamine a multiples potentialités, puisque elle est impliquée dans de nombreux processus physiologiques. D'une part son double origine alimentaire et endogène, la VIT D constitue une vitamine particulière dont les apports et les besoins restent délicats à définir et font actuellement débat.^[10]

■ L'installation de l'insuffisance en VIT D se manifeste surtout avec l'avancement d'âge, plusieurs études montrent que le niveau moyen de la VIT D chez les sujets âgés est inférieur par rapport au niveau du VIT D chez les sujets jeunes.^[29]

■ Le dosage de la VIT D bénéficie actuellement de multiples techniques de dosage disponible sur le marché, cette variabilité des techniques d'analyses est considérée comme un des facteurs favorisant la variation des valeurs de la 25[OH]D.^{[26][45][46]}

■ Concernant le taux optimal de la VIT D, aucun consensus n'a encore pu être trouvé, ceci est du a plusieurs facteurs a titre d'exemple l'hétérogénéité des populations, leurs apports calciques ainsi que la non standardisation des techniques du dosage^[66].

Les valeurs de références utilisées dans notre étude sont celles recommandées par l'organisme «GRIO». Une carence en VIT D est définie par un taux de VIT D < 10 ng/mL ,une insuffisance est définie par un taux de < 30 ng/mL ,le taux normal de la VIT D est supérieur a 30 ng/mL

■ Il nous paraît important de commencer notre discussion en mettant en avant la principale limite de notre étude : la taille de notre échantillon est seulement 71 sérums analysés, ainsi que son point fort: c'est la première étude au niveau de la Wilaya de Tlemcen ayant comparé le dosage de la VIT D sur deux techniques immunologiques.

■ Dans notre étude, les prélèvements du sang se sont déroulés principalement durant la période hivernale, période de l'année où le taux d'ensoleillement est faible, donc on suppose que le taux de la VIT D le sont aussi.

■ Au cours de ce travail, 71 échantillons ont été dosés simultanément par la technique radio immunologique (DIAsource-25OH-Vitamin-D-total-RIA-CT-Kit) et la technique CMIA(Chemiluminescent- Microparticle -Immunoassay)-Architect-i-1000-SR.

■ La plus part des patients recrutés dans notre étude sont originaire de la Wilaya de Tlemcen avec un pourcentage de 89 % de la population d'étude cependant le reste des patients 11% viennent d'autres wilayas.

■ L'analyse descriptive de l'échantillon montre une prédominance féminine (95.97 %) avec un sexe ratio de 0.044 soit 01 homme pour 22 femmes.

■ La moyenne d'âge dans notre échantillon d'étude est de 44.25 ± 19.03 ans avec des extrêmes de 5 a 83 ans ainsi que chez les groupes (hommes / femmes) est respectivement de 45.33 ± 29.16 et 44.21 ± 18.79 ans avec une différence non significative. ($P=0.921$) > 0.05

■ La tranche d'âge la plus fréquente se situe entre 25 et 39 ans.

■ La moyenne de la VIT D de l'ensemble des sujets de l'étude par les deux techniques de dosage sont respectivement $18.015 \text{ ng/mL} \pm 15.70$ et $17.968 \text{ ng/mL} \pm 15.26$ avec une différence de 0.047 ng/mL , cette différence n'est pas statistiquement significative ($P = 0.935$) > 0.05

■ La comparaison des moyennes de la VIT D dans chaque tranche d'âge et selon la technique du dosage montre l'absence d'une différence significative (**l'ensemble des valeurs P sont supérieurs au seuil de significativité 0.05**) dans toutes les tranches d'âge.

■ Le test de corrélation de Pearson a révélé une forte corrélation entre les valeurs de la VIT D (N=71) obtenus par la technique de dosage RIA et celle de CMIA et ceci de manière significative ($r=0.951$, $P<0.05$). Cette forte corrélation était attendue puisque les deux techniques reposent sur le principe d'immunodosage.

■ L'équation de la droite de régression de Passing -Bablok (régression de la technique RIA par la technique CMIA) s'écrit : $y = 2.135000 + 0.850000 x$

L'analyse de corrélation par le test de Kendall en utilisant la régression de Passing-Bablok a révélé une forte corrélation entre les valeurs de la VIT D obtenus par la technique du dosage RIA et celle de CMIA et ceci de manière significative ($r=0.756$, $P < 0.05$).

Conclusion :

L'objectif de ce travail consiste à comparer deux techniques immunologiques pour le dosage de la VIT D.

Dans cette étude rétrospective, ayant inclus 71 sujets, la majorité d'entre eux sont issus de la Wilaya de Tlemcen.

La comparaison des moyennes de la VITD dans notre échantillon d'étude obtenues par les deux techniques de dosage a révélé l'absence d'une différence significative entre les résultats obtenus. ($P=0.935$), >0.05

Une corrélation positive et significative a été observée entre les deux techniques étudiées, par le test de corrélation de Pearson ($r=0.951$, $P < 0.05$), ainsi que par le test de Passing-Bablok ($r=0.756$, $P < 0.05$). Ceci indique que les deux techniques donnent des résultats qui ont tendance à augmenter dans le même sens et qu'elles peuvent être substituées l'une par l'autre. Ce résultat reste à confirmer vu le nombre réduit d'échantillons inclus dans notre étude ($N=71$). Il serait important dans le futur de travailler sur un échantillon plus important.

Cependant il serait intéressant d'impliquer une troisième technique de référence comme la CLHP-SM, chose qui nous a été impossible à réaliser.

Liste des références

- [1]** Bacchetta, J. (2019). Vitamine D en pédiatrie. *Journal de Pédiatrie et de Puériculture*, 32(6), 310-321.
- [2]** Mistretta, V. I., Delanaye, P., Chapelle, J. P., Souberbielle, J. C., & Cavalier, E. (2008). Vitamine D2 ou vitamine D3?. *La Revue de médecine interne*, 29(10), 815-820.
- [3]** Edouard, P., Nguyen, S., & Billard, P. (2019). Prévalence de l'insuffisance en vitamine D chez les gymnastes français de haut niveau. *Journal de Traumatologie du Sport*, 36(1), 12-19.
- [4]** Holick, M. F., Binkley, N. C., Bischoff-Ferrari, H. A., Gordon, C. M., Hanley, D. A., Heaney, R. P., ... & Weaver, C. M. (2011). Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *The Journal of clinical endocrinology & metabolism*, 96(7), 1911-1930.
- [5]** Cavalier, E., & Souberbielle, J. C. (2009). La vitamine D: effets «classiques», «non classiques» et évaluation du statut du patient. *Médecine nucléaire*, 33(1), 7-16.
- [6]** Souberbielle, J. C., Body, J. J., Lappe, J. M., Plebani, M., Shoenfeld, Y., Wang, T. J., ... & Zittermann, A. (2010). Vitamin D and musculoskeletal health, cardiovascular disease, autoimmunity and cancer: Recommendations for clinical practice. *Autoimmunity reviews*, 9(11), 709-715.
- [7]** BischoffFerrari, H., & Stähelin, H. B. (2011, December). Supplémentation en vitamine D et en calcium. In *Forum Médical Suisse* (Vol. 11, No. 50, pp. 930-936). EMH Media.
- [8]** El Bakkouri, J., Bahri, L., Tayeb, Z., El Maataoui, O., Farouqi, B., Takourt, B., & Fellah, H. Le dosage de la vitamine D en pratique de laboratoire.
- [9]** Giammanco, M., Di Majo, D., La Guardia, M., Aiello, S., Crescimannno, M., Flandina, C., ... & Leto, G. (2015). Vitamin D in cancer chemoprevention. *Pharmaceutical biology*, 53(10), 1399-1434.
- [10]** Landrier, J. F. (2014). Vitamine D: sources, métabolisme et mécanismes d'action. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 49(6), 245-251.
- [11]** Laaksi, I. (2012). Vitamin D and respiratory infection in adults. *Proceedings of the Nutrition Society*, 71(1), 90-97.
- [12]** MESLI, D., & MEBAREK, M. *Sévérité de la dermatite atopique et taux de vitamine D* (Doctoral dissertation).
- [13]** Fortier, C. (2012). La vitamine D en hémodialyse: Évaluation du risque de chute.
- [14]** Martinaityte, I., Kamycheva, E., Didriksen, A., Jakobsen, J., & Jorde, R. (2017). Vitamin D stored in fat tissue during a 5-year intervention affects serum 25-hydroxyvitamin D levels the following year. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 102(10), 3731-3738.
- [15]** Bonnet, L. (2017). *Régulation du métabolisme adipocytaire de la vitamine D: effet de l'obésité et d'une supplémentation en vitamine D* (Doctoral dissertation, Aix-Marseille).

- [16]** Courbebaisse, M., Souberbielle, J. C., & Thervet, É. (2011). Effets osseux et extra-osseux potentiels de la vitamine D après transplantation rénale. *Le Courrier de la transplantation*, 11, 133-140.
- [17]** Chang SW, Lee HC. Vitamin D and health - The missing vitamin in humans. *Pediatr Neonatol*. 2019 Jun;60(3):237-244. doi: 10.1016/j.pedneo.2019.04.007. Epub 2019 Apr 17. PMID: 31101452.
- [18]** Garabédian, M., Linglart, A., Mallet, E., & Lienhardt-Roussie, A. (2011). *Métabolisme phosphocalcique et osseux de l'enfant*. Lavoisier.
- [19]** Pike, J. W., & Christakos, S. (2017). Biology and Mechanisms of Action of the Vitamin D Hormone. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*, 46(4), 815–843. <https://doi.org/10.1016/j.ecl.2017.07.001>
- [20]** Coxam, V., Davicco, M. J., & Wittrant, Y. (2014). Vitamine D et santé osseuse. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 49(6), 260-266.
- [21]** El Hajj, C. (2019). Effet de la vitamine D sur les marqueurs métaboliques et la fonction musculaire: étude chez des sujets libanais âgés, normo-pondéraux ou obèses.
- [22]** Firmin, N., Lamy, P. J., Romieu, G., & Jacot, W. (2014). Vitamine D et cancer du sein: physiopathologie, implications biologiques et cliniques. *Bulletin du cancer*, 101(3), 266-282.
- [23]** BENSAGHIR, I. (2019). VITAMINE D ET INFECTIONS.
- [24]** Lamy, O., Aubry-Rozier, B., & Stoll, D. (2012). Aspects thérapeutiques de la vitamine D: Quels taux cibler avec quels traitements? *Revue Medicale Suisse*, 8(360), 2066-2071.
- [25]** Del Valle, H. B., Yaktine, A. L., Taylor, C. L., & Ross, A. C. (Eds.). (2011). Dietary reference intakes for calcium and vitamin D.
- [26]** Benhamou, C. L., Souberbielle, J. C., Cortet, B., Fardellone, P., Gauvain, J. B., & Thomas, T. (2011). La vitamine D chez l'adulte: recommandations du GRIO. *Presse Med*, 40(7/8), 673-82.
- [27]** Watts, N. B., Adler, R. A., Bilezikian, J. P., Drake, M. T., Eastell, R., Orwoll, E. S., & Finkelstein, J. S. (2012). Osteoporosis in men: an Endocrine Society clinical practice guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 97(6), 1802-1822.
- [28]** Vanlint, S. J. (2005). Vitamin D and adult bone health in Australia and New Zealand: a position statement.
- [29]** Personne, V., Partouche, H., & Souberbielle, J. C. (2013). Insuffisance et déficit en vitamine D: épidémiologie, indications du dosage, prévention et traitement. *La Presse Médicale*, 42(10), 1334-1342.
- [30]** Briot, K., Audran, M., Cortet, B., Fardellone, P., Marcelli, C., Orcel, P., ... & Roux, C. (2009). Vitamine D: effet osseux et extra-osseux; recommandations de bon usage. *La Presse Médicale*, 38(1), 43-54.

- [31]** Holick M. F. (2017). The vitamin D deficiency pandemic: Approaches for diagnosis, treatment and prevention. *Reviews in endocrine & metabolic disorders*, 18(2), 153–165. <https://doi.org/10.1007/s11154-017-9424-1>
- [32]** Karim, A. I., & MOUBRI, M. (2018). Impact de la vitamine D sur quelques maladies cutanées majeures. *journal algérien de médecine*, 26(4), 10-14.
- [33]** Le Goff, C., Souberbielle, J. C., Delvin, E., & Cavalier, É. (2015, January). Le dosage de la vitamine D: considérations pré-analytiques et analytiques. In *Annales de Biologie Clinique* (Vol. 73, No. 1, pp. 79-92).
- [34]** Heraud, C. (2016). *La Vitamine D vue à travers le prisme du Marmandais*. 1179.
- [35]** Benyeles, F. Z. *Contrôle de qualité des dosages radioimmunologiques* (Doctoral dissertation).
- [36]** Patrono, C. and Peskar, B.A. (eds) *Radioimmunoassay in basic and clinical pharmacology*. Heidelberg, Springer-Verlag, 1987.
- [37]** OTURAN, M. A. Minir MURATI.
- [38]** Sarter, S., & Lafond, M. D. (2003). Principes et applications des méthodes de bioluminescence et chimiluminescence: cas des mycotoxines: synthèse bibliographique.
- [39]** KADARI, M. Dosage des vitamines plasmatiques (Vit. D) par RP-HPLC dans des échantillons du service pédiatrie au CHU de Tlemcen.
- [40]** Menet, M. C. (2011). Principes de la spectrométrie de masse. *Revue francophone des laboratoires*, 2011(437), 41-53.
- [41]** Leban, M. (2013). Apport des techniques de chromatographie liquide couplée à la spectroscopie de masse tandem aux dosages des stéroïdes. *Médecine Nucléaire*, 37(1), 8-13.
- [42]** Courcol, R. (2009). Quelles utilisations de la spectrométrie de masse de type MALDI-TOF en microbiologie médicale?. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2009(416), 61-64.
- [43]** Arpino, P. J. (1992). Combined Liquid Chromatography/Mass Spectrometry (LC/MS): A Review. *Mass Spectrometry in the Biological Sciences: A Tutorial*, 253-267.
- [44]** Morhit, E. Couplage.
- [45]** Tai SS, Bedner M, Phinney KW. Development of a candidate reference measurement procedure for the determination of 25-hydroxyvitamin D3 and 25-hydroxyvitamin D2 in human serum using isotopedilution liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Chem* 2010;82(5):1942-8.
- [46]** 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.
- [47]** National Institute of Standards and Technology. Standard Reference Material 972. Vitamin D in Human Serum. Gaithersburg: NIST; 2009.
- [48]** Carter GD. Accuracy of 25-hydroxyvitamin D assays: confronting the issues. *Curr Drug Targets* 2011;12(1):19-28.
- [49]** de la 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.

- [50]** 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.
- [51]** Binkley N, Krueger D, Cowgill CS, Plum L, Lake E, Hansen KE, *et al.* Assay variation confounds the diagnosis of hypovitaminosis D: a call for standardization. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89(7):3152-7.
- [52]** Roth HJ, Schmidt-Gayk H, Weber H, Niederau C. Accuracy and clinical implications of seven 25 hydroxyvitamin D methods compared with liquid chromatography-tandem mass spectrometry as a reference. *Ann Clin Biochem* 2008;45(Pt 2):153-9.
- [53]** Inconvénients et avantages d'une HPLC (2021, 19) septembre. <http://fr.scienceaq.com/Biology/100110983.html>
- [54]** Principes de la Chimiluminescence(2021, 19 septembre). http://oldccp.scei-concours.fr/cpge/sujet/2008/tsi/SII_2_ANNEXES.pdf
- [55]** La chimiluminescence (2021,19septembre). <http://tpechimiluminescence.blogspot.com/2016/01/utilisations.html>
- [56]** Boukli Hassene, Y. *DOSAGES RADIO-IMMUNOLOGIQUES*[Fichier PDF] pp (20-24) http://univ.ency-education.com/uploads/1/3/1/0/13102001/bioph2an31-dosages_radioimmunologiques.pdf
- [57]** Frédéric ,H. (2021,19 septembre). Spectrométrie de masse biostructurale. <http://www.lcp.u-psud.fr/spip.php?article352&lang=fr>
- [58]** Gaillard, O., & Desbène, C. (2013). Caractéristiques immunoanalytiques des vitamines D (formes 25 (OH) D et 1, 25 (OH) 2D). *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*, 28(1), 84-90.
- [59]** Boulat, O., Rey, F., & Mooser, V. (2012). Marqueursbiologiques des. *Rev Med Suisse*, 8, 2052-8.
- [60]** MEGHELLI Sidi Mohammed. (2019). *CORRELATION ENTRE LE STATUT DE VITAMINE D ET LE TITRE D'ANTICORPS ANTITHYROIDIENS DANS LA THYROIDITE D'HASHIMOTO CHEZ LES PATIENTS DE LA WILAYA DE TLEMCEN*[THESE POUR L'OBTENTION DU DIPLÔME DE DOCTORAT EN SCIENCES MEDICALES].FACULTE DE MEDECINE DE TLEMCEN. TLEMCEN.
- [61]** National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods ; Approved Guidelie –Second Edition.NCCLS Document EP5-A2.Wayne ,PA :NCCLS ;2004.
- [62]** Clinical and Laboratory Standards Institue (CLSI).Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures ;Approved Guideline-Second Edition.CLSI Document EP17-A2.Wayne ,PA :CLSI ;2012.
- [63]** Goldsmith S. J. (1975). Radioimmunoassay: review of basic principles. *Seminars in nuclear medicine*, 5(2), 125–152. [https://doi.org/10.1016/s0001-2998\(75\)80028-6](https://doi.org/10.1016/s0001-2998(75)80028-6)
- [64]** BERTHOLD. «Compteur gamma » ,[en ligne],juin2021[<https://www.berthold.com/fr-fr/bio-analyses/produits/compteur-gamma/>](15 aout2021).

[65] Marquis, P. 2011. La comparaison des méthodes analytique en biologie clinique. Metz-France : Service de biochimie Centre hospitalier, 2011.

[66] Souberbielle, J. C. (2014). Épidémiologie du déficit en vitamine D. *Cahiers de nutrition et de diététique*, 49(6), 252-259.

Résumé

Introduction : Le complexe vitamine D comprend un groupe de pro hormones qui contribuent au maintien de l'homéostasie du calcium (Ca) et du phosphate et de l'intégrité osseuse et musculaire.

La détermination des valeurs de référence pour la concentration optimale de la VIT D reste un sujet de débat entre les organismes et les sociétés savantes ainsi que la définition du seuil de carence, d'insuffisance et le taux optimal à atteindre, ne semble pas encore complètement consensuelle.

L'objectif principal de ce travail consiste à comparer deux techniques immunologiques pour le dosage de la VIT D.

Matériels et méthodes: Il s'agit d'une étude rétrospective visant à comparer deux trousse de dosages de la VIT D: la technique radio immunologique (RIA) du fournisseur CIS BIO INTERNATIONAL vs la technique CMIA de chez Abbott diagnostics.

Résultats : Pour un échantillon de 71 sérums, la comparaison des deux techniques montre qu'il existe une forte corrélation entre les résultats de la VIT D ($r=0.951$, $P<0.05$), ainsi que la comparaison des moyennes montre l'absence d'une différence significative ($P=0.935$) > 0.05 . Le test de Passing-Bablock confirme cette relation.

Conclusion : Notre étude a montré qu'il n'existe pas de différence entre les résultats obtenus par les deux techniques de dosage. Cependant ce résultat reste à confirmer vu le nombre restreint de notre échantillon d'étude. Un travail avec un nombre de patients plus important est recommandé.

Mots clés : Vitamine D , Dosages immunologiques

Summary

Introduction: The vitamin D complex includes a group of pro hormones that help maintain calcium (Ca) and phosphate homeostasis and bone and muscle integrity.

The determination of the reference values for the optimal concentration of VIT D remains a subject of debate between organizations and learned societies as well as the definition of deficiency, insufficiency and the optimal rate to be achieved, does not yet seem completely consensual.

The main objective of this work is to compare two immunological techniques for the determination of VIT D.

Materials and methods: This is a retrospective study to compare two VIT D assay kits: the radioimmunoassay technique (RIA) from the supplier CIS BIO INTERNATIONAL vs the CMIA technique from Abbott diagnostics.

Results: For a sample of 71 serum, the comparison of the two techniques shows that there is a strong correlation between the results of the VIT D ($r = 0.951$, $P < 0.05$), as well as the comparison of the means shows the absence of a significant difference ($P = 0.935$) > 0.05 . The Passing Bablock test confirms this relationship.

Conclusion: Our study showed that there is no difference between the two assay techniques, however this result remains a confirmatory given the small number of our study sample. Work with a larger number of patients is recommended.

Keywords: Vitamin D, Immunoassays

ملخص

مقدمة: يحتوي مركب فيتامين (د) على مجموعة من الهرمونات التمهيدية التي تساعد على الحفاظ على توازن نسبة الكالسيوم والفسفات في الجسم وتعمل أيضا على تقوية العظام والعضلات .

إن تعريف القيم المرجعية لتركيز الفيتامين (د) في الجسم لا يزال لحد الآن يعتبر موضوعا للنقاش بين مختلف المعاهد والمنظمات الصحية و تعريف النقص والقصور والمعدل الأمثل للفيتامين (د) لم يتم لحد الان الاتفاق عليه.

الهدف الرئيسي من هذا العمل هو مقارنة تقنيتين مناعيتين مختلفتين لمعرفة تركيز الفيتامين (د) في الجسم. المواد والأساليب: تعد هذه الدراسة دراسة مرجعية هدفها مقارنة تقنيتين مناعيتين لمعايرة تركيز فيتامين (د) ، التقنية الأولى هي تقنية المناعة الإشعاعية من نوع (ارنيا) من المورد (سيسبيوانتر ناسيونال) والتقنية الثانية (سي-ام-عيا) من المورد (ابوت).

النتائج: من اجل عينة تحتوي على 71 مصلى ، توضح المقارنة بين التقنيتين أن هناك علاقة ارتباط قوية بين نتائج فيتامين (د) (معامل $r = 0.951$ / معامل ب اصغر من 0.05) وأيضاً أظهرت نتائج مقارنة المعدل المتوسط لتركيز الفيتامين (د) عند مجموعة الدراسة عدم وجود فرق بين التقنيتين المدروستين (معامل بي = 0.935 اكبر من 0.05) ، يؤكد اختبار باسنيك بابلوك هذه العلاقة.

خاتمة: أظهرت نتائج دراستنا عدم وجود فرق بين التقنيتين، ومع ذلك يجب تأكيد هذه النتيجة نظراً للعدد القليل من الافراد في مجموعتنا الدراسية ، ولذلك ينصح بدراسة ذات عدد أكبر من المرضى.

الكلمات المفتاحية: فيتامين (د) ، التحليل المناعي

