

UNIVERSITE D'ANGERS

FACULTE DE MEDECINE

Année 2015

N°.....

THESE

pour le

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE

Qualification en : MEDECINE GENERALE

Par

Mathilde Legeay-Martin

Née le 26/03/1986 à ANGERS (49)

Présentée et soutenue publiquement le : 15 décembre 2015

***DEVELOPPEMENT ET VALIDATION D'UN OUTIL CLINIQUE DE DIAGNOSTIC
DE L'HYPOVITAMINOSE D CHEZ LA PERSONNE AGE E VIVANT A DOMICILE***

Président : Monsieur le Professeur GARNIER François

Directeur : Monsieur le Docteur ANNWEILER Cédric

LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE D'ANGERS

Doyen
Vice doyen recherche
Vice doyen pédagogie

Pr. RICHARD
Pr. PROCACCIO
Pr. COUTANT

Doyens Honoraires : Pr. EMILE, Pr. REBEL, Pr. RENIER, Pr. SAINT-ANDRÉ

Professeur Émérite : Pr. Gilles GUY, Pr. Jean-Pierre ARNAUD

Professeurs Honoraires : Pr. ACHARD, Pr. ALLAIN, Pr. ALQUIER, Pr. BASLÉ, Pr. BIGORGNE, Pr. BOASSON, Pr. BOYER, Pr. BREGEON, Pr. CARBONNELLE, Pr. CARON-POITREAU, Pr. M. CAVELLAT, Pr. COUPRIS, Pr. DAUVER, Pr. DELHUMEAU, Pr. DENIS, Pr. DUBIN, Pr. EMILE, Pr. FOURNIÉ, Pr. FRANÇOIS, Pr. FRESSINAUD, Pr. GESLIN, Pr. GINIÈS, Pr. GROSIEUX, Pr. GUY, Pr. HUREZ, Pr. JALLET, Pr. LARGET-PIET, Pr. LARRA, Pr. LE JEUNE, Pr. LIMAL, Pr. MARCAIS, Pr. PARÉ, Pr. PENNEAU, Pr. PENNEAU-FONTBONNE, Pr. PIDHORZ, Pr. POUPLARD, Pr. RACINEUX, Pr. REBEL, Pr. RENIER, Pr. RONCERAY, Pr. SIMARD, Pr. SORET, Pr. TADEI, Pr. TRUELLE, Pr. TUCHAIS, Pr. VERRET, Pr. WARTEL

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

ABRAHAM Pierre	Physiologie
ASFAR Pierre	Réanimation
AUBÉ Christophe	Radiologie et imagerie médicale
AUDRAN Maurice	Rhumatologie
AZZOUZI Abdel-Rahmène	Urologie
BARON Céline	Médecine générale
BARTHELAIX Annick	Biologie cellulaire
BATAILLE François-Régis	Hématologie ; Transfusion
BAUFRETON Christophe	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
BEAUCHET Olivier	Gériatrie et biologie du vieillissement
BEYDON Laurent	Anesthésiologie-réanimation
BIZOT Pascal	Chirurgie orthopédique et traumatologique
BONNEAU Dominique	Génétique
BOUCHARA Jean-Philippe	Parasitologie et mycologie
BRIET Marie	Pharmacologie
CAILLIEZ Éric	Médecine générale
CALÈS Paul	Gastroentérologie ; hépatologie
CAMPONE Mario	Cancérologie ; radiothérapie
CAROLI-BOSC François-Xavier	Gastroentérologie ; hépatologie
CHABASSE Dominique	Parasitologie et mycologie
CHAPPARD Daniel	Cytologie et histologie
CONNAN Laurent	Médecine générale
COUTANT Régis	Pédiatrie
COUTURIER Olivier	Biophysique et Médecine nucléaire
CUSTAUD Marc-Antoine	Physiologie
DARSONVAL Vincent	Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique
de BRUX Jean-Louis	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
DESCAMPS Philippe	Gynécologie-obstétrique
DIQUET Bertrand	Pharmacologie
DUVERGER Philippe	Pédopsychiatrie
ENON Bernard	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire
FANELLO Serge	Épidémiologie, économie de la santé et prévention

FOURNIER Henri-Dominique	Anatomie
FURBER Alain	Cardiologie
GAGNADOUX Frédéric	Pneumologie
GARNIER François	Médecine générale
GARRÉ Jean-Bernard	Psychiatrie d'adultes
GOHIER Bénédicte	Psychiatrie
GRANRY Jean-Claude	Anesthésiologie-réanimation
GUARDIOLA Philippe	Hématologie ; transfusion
HAMY Antoine	Chirurgie générale
HUEZ Jean-François	Médecine générale
HUNAUT-BERGER Mathilde	Hématologie ; transfusion
IFRAH Norbert	Hématologie ; transfusion
JEANNIN Pascale	Immunologie
JOLY-GUILLOU Marie-Laure	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
LACCOURREYE Laurent	Oto-rhino-laryngologie
LASOCKI Sigismond	Anesthésiologie-réanimation
LAUMONIER Frédéric	Chirurgie infantile
LEFTHÉRIOTIS Georges	Physiologie
LEGRAND Erick	Rhumatologie
LERMITE Emilie	Chirurgie générale
LEROLLE Nicolas	Réanimation
LUNEL-FABIANI Françoise	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
MARTIN Ludovic	Dermato-vénérologie
MENEI Philippe	Neurochirurgie
MERCAT Alain	Réanimation
MERCIER Philippe	Anatomie
MILEA Dan	Ophthalmologie
PELLIER Isabelle	Pédiatrie
PICHARD Eric	Maladies infectieuses ; maladies tropicales
PICQUET Jean	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire
PODEVIN Guillaume	Chirurgie infantile
PROCACCIO Vincent	Génétique
PRUNIER Fabrice	Cardiologie
REYNIER Pascal	Biochimie et biologie moléculaire
RICHARD Isabelle	Médecine physique et de réadaptation
RODIEN Patrice	Endocrinologie et maladies métaboliques
ROHMER Vincent	Endocrinologie et maladies métaboliques
ROQUELAURE Yves	Médecine et santé au travail
ROUGÉ-MAILLART Clotilde	Médecine légale et droit de la santé
ROUSSEAU Audrey	Anatomie et cytologie pathologiques
ROUSSEAU Pascal	Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique
ROUSSELET Marie-Christine	Anatomie et cytologie pathologiques
ROY Pierre-Marie	Thérapeutique
SAINT-ANDRÉ Jean-Paul	Anatomie et cytologie pathologiques
SENTILHES Loïc	Gynécologie-obstétrique
SUBRA Jean-François	Néphrologie
UGO Valérie	Hématologie ; transfusion
URBAN Thierry	Pneumologie

VERNY Christophe
WILLOTEAUX Serge
ZAHAR Jean-Ralph
ZANDECKI Marc

Neurologie
Radiologie et imagerie médicale
Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
Hématologie ; transfusion

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

ANNWEILER Cédric
AUGUSTO Jean-François
BEAUVILLAIN Céline
BELIZNA Cristina
BELLANGER William
BIGOT Pierre
BLANCHET Odile
BOURSIER Jérôme
CAPITAIN Olivier
CASSEREAU Julien
CHEVAILLER Alain
CHEVALIER Sylvie
CRONIER Patrick
de CASABIANCA Catherine
DINOMAIS Mickaël
DUCANCELLE Alexandra
FERRE Marc
FORTRAT Jacques-Olivier
HINDRE François
JEANGUILLAUME Christian
JOUSSET-THULLIER Nathalie
KEMPF Marie
LACOEUILLE Franck
LETOURNEL Franck
MARCHAND-LIBOUBAN Hélène
MAY-PANLOUP Pascale
MESLIER Nicole
MOUILLIE Jean-Marc
PAPON Xavier
PASCO-PAPON Anne
PENCHAUD Anne-Laurence
PETIT Audrey
PIHET Marc
PRUNIER Delphine
SIMARD Gilles
TANGUY-SCHMIDT Aline
TURCANT Alain

Gériatrie et biologie du vieillissement
Néphrologie
Immunologie
Médecine interne
Médecine générale
Urologie
Hématologie ; transfusion
Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
Cancérologie ; radiothérapie
Neurologie
Immunologie
Biologie cellulaire
Chirurgie orthopédique et traumatologique
Médecine générale
Médecine physique et de réadaptation
Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
Biologie moléculaire
Physiologie
Biophysique
Biophysique et médecine nucléaire
Médecine légale et droit de la santé
Bactériologie-virologie ; Hygiène hospitalière
Biophysique et médecine nucléaire
Biologie cellulaire
Histologie
Biologie et médecine du développement et de la reproduction
Physiologie
Philosophie
Anatomie
Radiologie et Imagerie médicale
Sociologie
Médecine et Santé au travail
Parasitologie et mycologie
Biochimie et biologie moléculaire
Biochimie et biologie moléculaire
Hématologie ; transfusion
Pharmacologie

COMPOSITION DU JURY

Président du jury :

Monsieur le Professeur GARNIER François

Directeur de thèse :

Monsieur le Docteur ANNWEILER Cédric

Membres du jury :

Monsieur Le Professeur HUEZ Jean-François

Monsieur le Docteur PARE Pierre-Yves

Monsieur le Docteur ANNWEILER Cédric

Remerciements :

A Mr le Professeur François Garnier,

Merci de m'avoir fait l'honneur de présider cette soutenance de thèse.

A Monsieur le Professeur Jean-François Huez,

Merci de m'avoir fait l'honneur de participer à mon jury de thèse.

A Monsieur le Docteur Pierre-Yves Paré,

Merci de m'avoir fait l'honneur de participer à mon jury de thèse.

A Monsieur le Docteur Cédric Annweiler,

Cédric, je te remercie de m'avoir proposé ce sujet et de participer au jury de cette thèse.

Merci pour tes conseils tout au long de ce travail.

A Franck, toi qui m'as toujours encouragée, rassurée, et soutenue. Pour les années passées et à venir...

A Oscar, malgré les journées interminables où je ne pouvais approcher l'ordinateur sous peine d'être témoin de tes bêtises en cascade, tu as su me donner l'énergie et la motivation nécessaire à l'achèvement de cette thèse !

A mes parents, vous m'avez permis de faire de longues études et toujours encouragée dans cette voie. Merci pour votre soutien.

A ma sœur et à mon frère, pour tous les bons moments passés ensemble et aux nombreux autres à venir.

A mes mamies, que j'embrasse.

A mes amis, qui m'ont accompagnée tout au long de ces années d'études. Une pensée particulière pour Caroline et Emma.

A tous les internes que j'ai croisés, merci à Julien, Anaïs et Anne, c'était un vrai plaisir de travailler avec vous !

A mes maîtres de stage, aussi différents que complémentaires, ma formation n'aurait pas été la même sans vous.

Liste des abréviations :

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ANN : Artificial neural network

AUC : Area Under Curve

BMI : Body Mass Index

CDT : Clock-Drawing Test

DBP : Vitamin D Binding Protein

DEQAS : Vitamin D external Quality assessment Scheme

EPICES : Evaluation de la Précarité et des Inégalités de santé dans les Centres d'Examen de Santé.

FGF23 : Fibroblast Growth Factor 23

FOF : Fear of Falling

GDS : Geriatric depression Scale

HAS : Haute Autorité de Santé

HPLC : Chromatographie Liquide Haute Performance

LC-MS/MS : Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry

MLP : Multilayer Perceptron

MVC : Maximal isometric Voluntary Contraction

OR : Odds Ratios

PCR4 : Prévention des Chutes Réseau 4

PTH : parathormone

RANKL : Receptor Activator of Nuclear Kappa-B Ligand

RXR : Récepteur à l'Acide Rétinoïque

ROC : Receiver Operating Characteristic

SD : Standard Deviation

TUG : timed Up and Go test

TRPV5 :TransientReceptorPotentialVanilloïd type 5

UVB : Ultraviolets B

VDR :Vitamin D Receptor

VDRE : Eléments De Réponse à la Vitamine D

1,25(OH)2D : 1,25 dihydroxyvitamineD ou calcitriol

24,25(OH)2D : 24,25 dihydroxyvitamineD

25(OH)D : 25-Hydroxyvitamine D ou calcidiol

Plan :

1. PRE-REQUIS :

1.1. Sources de vitamine D :

1.2. Métabolisme de la vitamine D :

1.3. Effets cellulaires de la vitamine D :

- 1.3.1. Effets génomiques classiques :
- 1.3.2. Effets génomiques non classiques :
- 1.3.3. Effets non génomiques :

1.4. Hypovitaminose D :

- 1.4.1. Définition :
- 1.4.2. Techniques de dosage :

1.5. Hypovitaminose D chez les personnes âgées :

- 1.5.1. Prévalence :
- 1.5.2. Enjeux :

1.6. Vitamine D et économie de santé :

1.7. Objectifs du travail de Thèse :

2. ARTICLE :

3. CONCLUSION DU TRAVAIL DE THESE :

4. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES DES PRE-REQUIS :

1. Pré-requis :

La vitamine D, véritable hormone sécostéroïde, est connue de longue date pour son rôle essentiel dans le métabolisme phosphocalcique. Au cours des dix dernières années, l'intérêt porté à cette vitamine singulière, n'a cessé de croître. Au-delà de son action préventive dans l'apparition du rachitisme ou de l'ostéomalacie, la vitamine D semble jouer un rôle décisif dans la survenue ou l'aggravation de certaines maladies (cancers, maladies cardiovasculaires, maladies auto-immunes, sarcopénie du sujet âgé...etc). La prévalence de l'hypovitaminose D est particulièrement élevée dans la population âgée, ainsi que la fréquence des pathologies aiguës et chroniques. Prendre en charge efficacement l'insuffisance vitaminique D est un enjeu crucial en gériatrie. Pourtant, l'augmentation considérable du recours au dosage sérique de la vitamine D, a conduit la Haute Autorité de santé à retenir fin 2013 un nombre limité d'indications à la prise de sang. Il est nécessaire de poursuivre cette démarche diagnostique de l'hypovitaminose D des personnes âgées à domicile, tout en réalisant des économies de santé. Nous proposons de développer un outil clinique capable de diagnostiquer avec précision les sujets âgés présentant une insuffisance vitaminique D, sans recourir au prélèvement sanguin.

1.1. Sources de vitamine D :

La vitamine D, ou calciférol, appartient à la famille des vitamines liposolubles. Pourtant on la considère davantage comme une pré-pro-hormone. Il existe deux formes de vitamine D, la vitamine D2 ou ergocalciférol d'origine végétale et la vitamine D3 ou cholécalciférol d'origine humaine et animale.

La principale source de vitamine D provient de la synthèse cutanée (environ 80 %). La vitamine D3 est fabriquée dans l'organisme à partir d'un dérivé du cholestérol (le 7-déhydrocholestérol ou pro-vitamine D3). Grâce à l'action des rayonnements ultraviolets B sur la peau, la pro-vitamine D3 est transformée en pré-vitamine D3, puis en vitamine D3 sous l'effet de la chaleur (1). De nombreux facteurs interviennent dans la quantité de vitamine D3 ainsi synthétisée (2) :

- la latitude : les UVB ne sont présents en France qu'entre avril et octobre, limitant la période de synthèse de vitamine D.
- la saison
- l'heure de la journée

- la pollution atmosphérique et la couverture nuageuse qui bloquent la disponibilité des UVB.
- la pigmentation de la peau, qui agit comme un filtre pour les UVB, avec une absorption des rayons UVB par la mélanine.
- L'âge, avec un appauvrissement de la synthèse cutanée de 7-déhydrocholestérol.
- la protection solaire qui empêche la synthèse cutanée de vitamine D.
- le port de vêtements couvrants.

Il faut noter que des expositions prolongées ne conduisent pas à un surdosage en vitamine D, grâce à la transformation possible de la pré-vitamine D3 et de la vitamine D3 en formes inactives.

La deuxième source de vitamine D, plus modeste, est apportée par l'alimentation. On trouve du cholécalciférol essentiellement dans les poissons marins (huile de foie de morue, saumon, hareng, thon, sardine etc...), et le jaune d'œuf. L'ergocalciférol, quant à lui, est présent en très faible quantité dans certains champignons (2, 3).

Tableau I : Sources alimentaires de vitamine D (Base de données Ciqual, ANSES)

Produits	µg/100g*
huile de foie de morue	200
saumon, hareng, anchois, pilchard	12-20
sardine, truite arc en ciel, maquereau, margarine	8-12
anguille, thon, huître, caviar, jaune d'œuf	3-8
truite des rivières, limande, œufs de lompe	1,5-3
rouget, foies de génisse et d'agneau, beurre, jambon, lard, pâtés, champignons.	0,6-1,5

* 1 µg = 40 UI

Enfin la vitamine D peut également être apportée sous forme de suppléments alimentaires ou médicamenteux en vitamine D2 ou D3. Certains pays comme les États-Unis permettent l'enrichissement en vitamine D de nombreux aliments (le lait, les yaourts, les céréales ou les jus de fruits etc...). La France quant à elle, autorise seulement l'enrichissement du lait, des produits laitiers et des huiles (3).

1.2. Métabolisme de la vitamine D:

La vitamine D exogène est absorbée au niveau de l'intestin grêle, pour rejoindre par voie lymphatique la circulation générale, où se trouve déjà la vitamine D endogène synthétisée par la peau. La vitamine D (cholécalférol et ergocalciférol) est alors complexée à une protéine porteuse, la vitamin D binding protein (DBP) (2). Afin de pallier au défaut d'apport ou de synthèse, la vitamine D peut être stockée dans le tissu adipeux (grâce à sa nature liposoluble) mais également dans les muscles et le sérum. Sinon elle est transportée dans le foie, où elle va subir une première hydroxylation. Cette réaction est catalysée par plusieurs cytochromes P 450 à activité 25-hydroxylase. La vitamine D devient alors la 25-hydroxyvitamine D (25(OH)D ou calcidiol), principale forme circulante de la vitamine D. Cette hydroxylation hépatique est très peu régulée. Plus l'apport et la synthèse de vitamine D sont importants, plus on obtient de 25(OH)D. La demi-vie du calcidiol est de l'ordre de 3 semaines (4). Il est maintenant consensuel que la 25(OH)D représente le statut vitaminique D d'une personne(3, 4) .

Le complexe 25(OH)D/DBP est ensuite transporté dans les cellules tubulaires proximales rénales. Une deuxième hydroxylation, a lieu au sein de ces cellules, par l'intervention de la 1 alpha-hydroxylase mitochondriale (CYP27B1). Le calcidiol est alors transformé en 1,25(OH)2D ou calcitriol, forme active de la vitamine D. Sa demi-vie est courte, de l'ordre de 4 heures (1, 2, 5). Contrairement à la première hydroxylation, cette dernière est très étroitement régulée par les hormones du métabolisme phosphocalcique. La synthèse de 1-25(OH)2D est stimulée par la production croissante de parathormone (PTH) notamment lors d'une hypocalcémie. Une hypophosphorémie accentue également la synthèse de calcitriol. A l'inverse la production de 1,25(OH)2D est inhibée par le fibroblast growth factor 23 (FGF23) sécrété par les ostéocytes, ainsi que par le calcitriol lui-même qui exerce un rétrocontrôle négatif. Il inhibe la 1-alpha-hydroxylase et stimule la 24-hydroxylase qui transforme le calcitriol en 24,25(OH)2D, forme biologique inactive. (1, 2)

La 1,25(OH)2D rejoint ensuite la circulation sanguine pour aller dans le cytosol des cellules cibles, où elle se lie au récepteur de la vitamine D (VDR). La vitamine D est bien une hormone à part entière et plus particulièrement une hormone sécostéroïde (6).

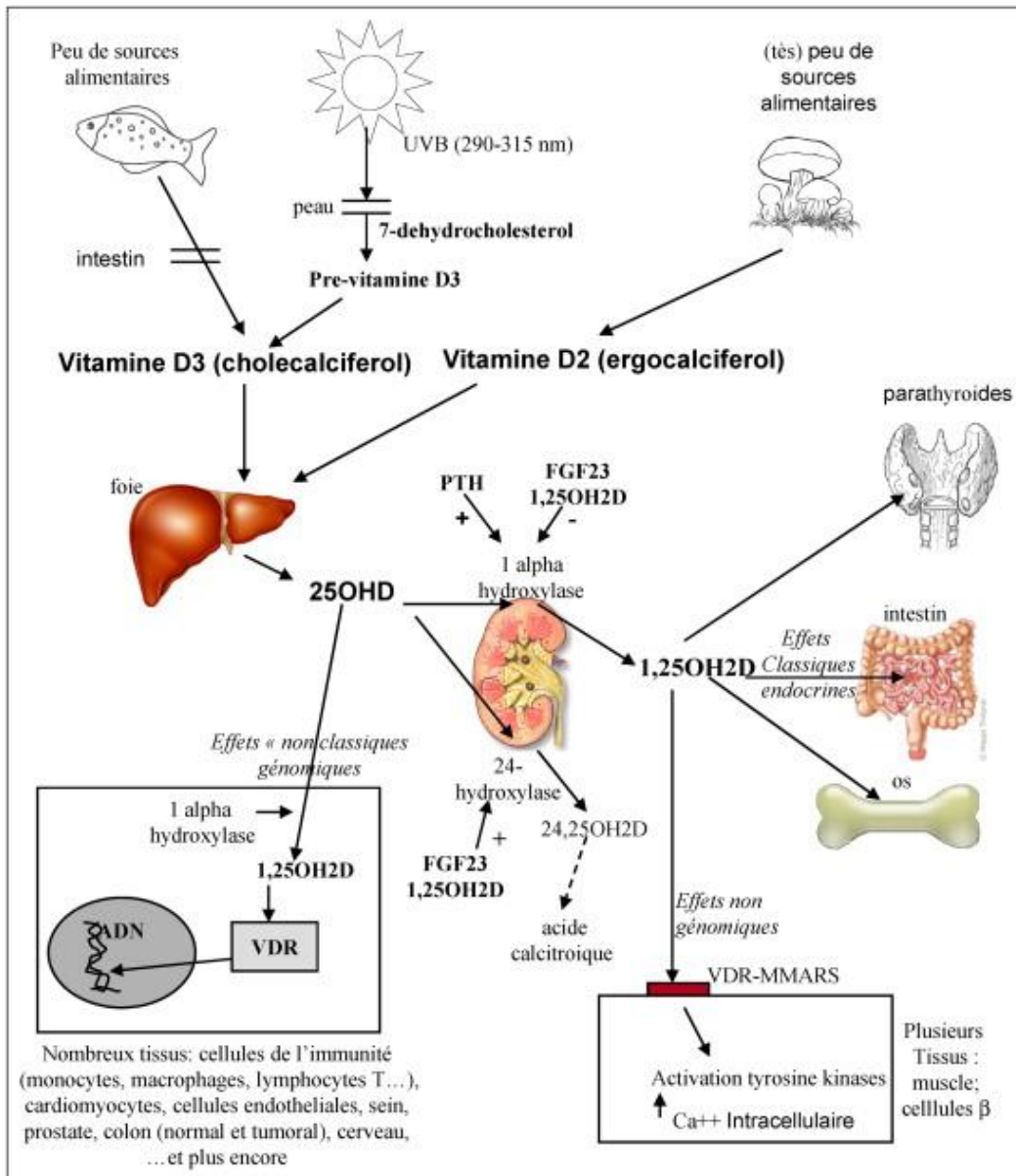


Figure 1 : Résumé du métabolisme de la vitamine D.

Source : Souberbielle J-C. Actualités sur la vitamine D. Cahiers de Nutrition et de Diététique. avr 2013;48(2):63-74.

1.3. Effets cellulaires de la vitamine D :

Ce mécanisme hormonal est à la base des effets génomiques classiques et non classiques de la vitamine D.

1.3.1. Effets génomiques classiques :

Les effets génomiques classiques correspondent au rôle bien connu de la vitamine D dans le métabolisme phosphocalcique. En effet, au sein des cytosols, le complexe calcitriol/VDR s'associe au récepteur de l'acide rétinoïque (RXR), pour ensuite se lier à l'ADN sur des sites spécifiques appelés éléments de réponse à la vitamine D (VDRE) (2). La vitamine D peut ainsi activer ou inhiber la synthèse de nombreuses protéines. Les principaux tissus cibles de la vitamine D sont : les cellules intestinales, les ostéoblastes, les reins et les parathyroïdes. Ainsi le calcitriol permet le maintien de l'homéostasie phosphocalcique en stimulant au niveau de l'intestin l'absorption du calcium et du phosphore, au sein des ostéoblastes en activant la synthèse d'une cytokine (RANKL) indispensable dans la résorption osseuse. Au niveau rénal il contrôle l'expression d'une protéine (TRPV5) nécessaire à la réabsorption du calcium, de même dans les parathyroïdes, où il régule la sécrétion de PTH. La vitamine D, joue un rôle essentiel dans la minéralisation et la croissance osseuse. Un déficit sévère en vitamine D conduit au rachitisme chez l'enfant et à l'ostéomalacie chez l'adulte (1, 2, 3). Une insuffisance vitaminique D favorise la survenue d'ostéoporose et accentue le risque fracturaire en particulier chez les personnes âgées (2, 6).

1.3.2. Effets génomiques non classiques :

Les effets génomiques non classiques de la vitamine D, font l'objet de recherches plus récentes et sont de mieux en mieux documentés. En effet, de nombreux tissus n'intervenant pas dans le métabolisme phosphocalcique, expriment à la fois le VDR, la 1-alpha-hydroxylase et la 24-alpha-hydroxylase. Le calcidiol pénètre dans ces cellules, où il est transformé localement en calcitriol. Il peut ensuite agir directement après fixation au VDR, hétérodimerisation au RXR et liaison à l'ADN (2). C'est la base des effets extra-osseux, ou intracrines attribués à la vitamine D. Cette production périphérique de vitamine D dépend d'une concentration suffisante en 25(OH)D dans le liquide extracellulaire de ces tissus. A l'inverse un excès de 1,25(OH)₂D active la 24-hydroxylase et permet sa transformation en métabolites inactifs. La présence de VDR dans la majorité des organes du corps humain, suggère un rôle déterminant de la vitamine D dans le bon fonctionnement de ces tissus (**figure 2**). A l'inverse une hypovitaminose D pourrait conduire à leur dysfonctionnement pathologique (6). Il faut toutefois rester prudent quant à l'interprétation de ces résultats, car association et causalité sont à bien différencier. Des études interventionnelles à grande échelle

seront nécessaires pour confirmer ces associations. A titre d'exemples voici certaines associations entre hypovitaminose D et pathologies, rapportées par de nombreux essais:

- Déficit en vitamine D et sarcopénie chez le sujet âgé : les VDR sont présents au sein du muscle squelettique. La vitamine D contribuerait à améliorer la force et les performances musculaires par son action sur les fibres musculaires de type 2. Plusieurs études interventionnelles ont d'ailleurs démontré qu'une supplémentation en vitamine D améliorerait les performances musculaires des personnes âgées (7).
- Déficit en vitamine D et augmentation du risque de survenue d'événements cardiovasculaires et de la mortalité cardiovasculaire (8) : l'action de la vitamine D ne se limite pas à un effet direct sur les cellules vasculaires endothéliales. Elle participe au contrôle de plusieurs gènes dont celui de la rénine (propriétés anti-hypertensives). Elle joue également un rôle décisif dans la sécrétion et la sensibilité à l'insuline (9).
- Déficit en vitamine D et augmentation du risque relatif de développer un cancer : en effet le calcitriol régule de nombreux gènes intervenant dans le contrôle de la prolifération cellulaire, l'inhibition de l'angiogénèse et dans l'apoptose des cellules tumorales (10).
- La vitamine D et système immunitaire : la 1,25(OH)₂D inhiberait l'immunité acquise et stimulerait l'immunité innée. Les études expérimentales cohérentes avec les études épidémiologiques, révèlent que le calcitriol diminue la prolifération des lymphocytes et la synthèse de certaines cytokines, ce qui conduit à atténuer, voire même à prévenir, l'apparition de maladies auto-immunes telles que la sclérose en plaques (11).

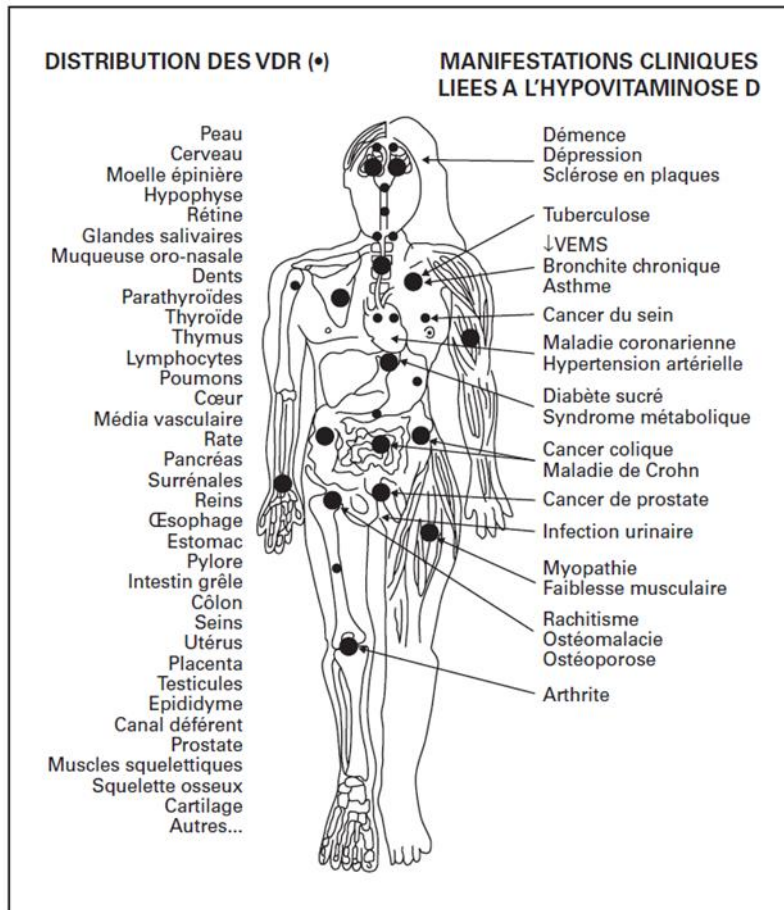


Figure 2 : Représentation schématique des tissus pourvus de récepteurs à la vitamine D (VDR) (colonne de gauche) et des manifestations cliniques associées à l'hypovitaminose D (colonne de droite.)

Source: Annweiler C, Souberbielle J-C, Schott A-M, de Decker L, Berrut G, Beauchet O. [Vitamin D in the elderly: 5 points to remember]. *GeriatrPsycholNeuropsychiatr Vieil.* sept 2011;9(3):259-67.

1.3.3. Effets non génomiques :

Enfin, le calcitriol circulant peut également exercer des effets non génomiques sur certains tissus. Il interviendrait notamment sur la régulation du flux de calcium intracellulaire, grâce à l'activation de tyrosines kinases (2).

1.4. Hypovitaminose D :

Le paramètre biologique qui définit le statut vitaminique D d'un individu est la concentration sérique de 25(OH)D. Sa demi-vie d'élimination est de l'ordre de 3 semaines, et l'hydroxylation hépatique est très peu régulée. Elle reste le meilleur reflet des stocks de vitamine D présents dans l'organisme.

1.4.1. Définition :

Pour déterminer la valeur de référence d'une constante biologique, il existe deux méthodes :

- La première nommée « population-based reference values », consiste à mesurer la constante biologique dans un large échantillon de volontaires sains, caractéristiques de la population de référence. On calcule ensuite l'intervalle de référence dans lequel se situe 95 % de ces volontaires. Avec cette méthode la concentration sérique de 25(OH)D se situe entre 25 et 137,5 nmol/L. Cependant cette approche n'est pas consensuelle en raison de la multiplicité des facteurs influençant les résultats du dosage sérique, (facteurs écologiques, habitudes de vie individuelles et caractéristiques individuelles) rendant la généralisation de ces valeurs de références difficile (3, 5, 6).
- Une seconde méthode de détermination des valeurs normales de 25(OH)D a été proposée. Il s'agit de la « health-based reference values ». Elle consiste à déterminer les concentrations de calcidiol en dessous desquelles il existe des effets délétères pour la santé (3, 5, 6). Le choix de cette méthode est désormais consensuel, mais la multiplicité des troubles liés à l'hypovitaminose D, rend la détermination de ces valeurs de référence complexe et reste source de débat au sein de la communauté scientifique internationale. Cependant il est reconnu qu'il n'existe pas de rachitisme ou d'ostéomalacie au-dessus du taux de 25 nmol/L, ce qui définit le seuil de carence en 25(OH)D. Concernant le seuil d'insuffisance vitaminique D, il se situe entre 50 et 75 nmol/L(en dessous duquel on constate une hyperparathyroïdie secondaire mais également une augmentation de l'absorption intestinale de calcium et du remodelage osseux.). Le seuil d'insuffisance vitaminique D, n'a pas cessé d'être revu à la hausse. L'équipe de Bischoff-ferrari en 2006 (12), ainsi qu'un comité de 6 experts internationaux réuni la même année (13), privilégient le seuil de 75 nmol/L pour définir l'insuffisance en vitamine D.
- Les définitions les plus largement utilisées sont (1,5):
 - o Carence en vitamine D < 25 nmol/L (< 10 ng/mL)

- Insuffisance en vitamine D de 25 à 75 nmol/L (de 10 à 30 ng/mL)
- Toxicité > 250 nmol/L (> 100 ng/mL)

1.4.2. Techniques de dosage :

La deuxième difficulté pour déterminer les valeurs de référence de l'hypovitaminose D concerne les techniques de dosage du calcidiol. On note en effet un manque de standardisation des techniques, une faible spécificité de ces méthodes et une variabilité dans l'interprétation des résultats. Quelle que soit la technique utilisée, le dosage de 25(OH)D doit comprendre la 25(OH)D2 et D3, car si la peau synthétise seulement de la 25(OH)D3 et si l'alimentation apporte essentiellement de la vitamine D3, les suppléments médicamenteux sont fréquemment de la vitamine D2. Ainsi le taux de 25(OH)D sérique pourrait être sous-estimé pour un patient traité par vitamine D2.

Les techniques actuelles peuvent être séparées en deux groupes ; les méthodes immunologiques et les méthodes non immunologiques séparatives à détection directe.

- Les méthodes immunologiques regroupent les méthodes radioimmunologiques, les méthodes enzymoimmunologiques et les méthodes luminoimmunologiques. Elles correspondent à un système de dosage dans lequel la 25(OH)D et un traceur marqué entrent en compétition pour la reconnaissance par un anticorps anti 25(OH)D. Ces techniques sont à privilégier car elles sont plus simples, plus rapides et plus accessibles.
- Les méthodes non immunologiques quant à elles, regroupent la spectrophotométrie de masse et la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC). Ces techniques lourdes et difficiles reposent sur un processus de séparation physique des molécules à analyser. Elles sont plutôt réservées à l'heure actuelle, à la recherche et à la toxicologie (3).

Le manque d'homogénéité entre ces techniques, explique les différences de mesures retrouvées entre laboratoires. Ce qui complexifie encore un peu plus la définition de l'hypovitaminose D.

1.5. Hypovitaminose D chez les personnes âgées :

1.5.1. Prévalence :

La prévalence de l'insuffisance vitaminique D est particulièrement élevée dans la population âgée de plus de 65 ans, pouvant atteindre plus de 90 % selon les études (6,14) (**tableau 2**). Ces résultats sont facilement expliqués par une multitude de facteurs :

- La diminution des apports en vitamine D avec l'âge, notamment par une modification des habitudes alimentaires, le port de vêtements couvrants et une diminution de l'exposition solaire (aggravée par l'institutionnalisation et les troubles de la marche). On note également une baisse de la production cutanée de vitamine D liée au vieillissement de la peau avec une diminution de synthèse du 7-déhydrocholestérol.
- La réduction de la biodisponibilité de la vitamine D, avec une nette diminution de l'absorption intestinale des graisses (favorisée par les pathologies digestives mais également par certains médicaments). De plus l'obésité conduit à la séquestration du calcidiol dans les graisses.
- L'augmentation du catabolisme de la vitamine D, en particulier par l'utilisation quotidienne de médicaments (antiépileptiques, glucocorticoïdes, millepertuis...).
- La baisse des hydroxylations successives, notamment au cours des insuffisances hépatiques et rénales.
- L'augmentation des pertes rénales du complexe 25(OH)D/VDR, lors du syndrome néphrotique (6).

Tableau II : Prévalence de l'insuffisance en vitamine D chez la personne âgée (25OHD<30 ng/mL) dans des études françaises.

Référence	Population	Lieu	Prévalence de l'insuffisance en vitamine D
Étude DHEAge [11]	280 sujets en bonne santé 50 % de femmes 60-79 ans	Paris	88 %
Bruyère <i>et al.</i> [19]	8 532 européennes ménopausées 100 % de femmes Age moyen 74,2 ans	Europe France toutes régions	79,6 % 90,4 %
Etude EPIDOS [20]	752 sujets en bonne santé 100 % de femmes Age moyen 80,2 ans	Amiens, Lyon, Montpellier, Paris, Toulouse	90,2 %
Barreto <i>et al.</i> [21]	140 insuffisants rénaux chroniques 39,3 % de femmes Age moyen 67 ans	Amiens	76 %
Fardellone <i>et al.</i> [17]	126 patients institutionnalisés 78,6 % de femmes Age moyen 84 ans	Picardie, Paris, Montpellier	100 %
Annweiler <i>et al.</i> [18]	399 patients hospitalisés en court séjour gériatrique 69,2 % de femmes Age moyen 84,5 ans	Angers	92,5 %
Schmidlin <i>et al.</i> [22]	165 patients hospitalisés en gériatrie 64,9 % de femmes Age moyen 86 ans	Grenoble	98,2 %
Crétel <i>et al.</i> [23]	51 patients hospitalisés en court séjour gériatrique 68,6 % de femmes Age moyen 84,4 ans	Marseille	94 %

Source : Annweiler C, Souberbielle J-C, Schott A-M, de Decker L, Berrut G, Beauchet O. [Vitamin D in the elderly: 5 points to remember]. *GeriatrPsycholNeuropsychiatr Vieil.* sept 2011;9(3):259-67.

1.5.2. Enjeux :

Tous ces facteurs, largement répandus chez les personnes âgées, en font une population à risque d'hypovitaminose D. Nous avons vu précédemment que les effets délétères de l'hypovitaminose sur la santé, étaient liés à ses effets génomiques classiques et non classiques au sein des tissus exprimant VDR et 1-alpha-hydroxylase. La plus grande prévalence des pathologies aiguës et chroniques chez les personnes âgées est aggravée par l'hypovitaminose D. En effet, elle favorise la survenue de dysfonctionnements pathologiques des organes cibles, et accélère leur décompensation. Cela explique les enjeux d'un apport optimal en vitamine D, chez la personne âgée, parmi lesquels :

- La prévention des chutes. Il est reconnu qu'une supplémentation en vitamine D, permet une réduction significative du risque de chute chez la personne âgée de plus de 60 ans (15, 6, 16).
- La diminution des fractures non vertébrales. D'après les données de la littérature une supplémentation vitamino-calcique conduit à une diminution du nombre de fractures non vertébrales (6,17), en particulier chez les personnes de plus de 65 ans, les femmes ménopausées, les personnes institutionnalisés et les patients ostéoporotiques.
- L'amélioration de la force musculaire, en luttant contre la sarcopénie des sujets âgés (7).

D'autres enjeux, pour lesquels des études interventionnelles devront asseoir les conclusions des études observationnelles, sont également à souligner :

- La diminution des pathologies tumorales (10) en particulier le cancer colorectal(18).
- Le contrôle de la pression artérielle et des pathologies cardiovasculaires (8).
- La prévention des pathologies démentielles (19), notamment la maladie d'Alzheimer.

1.6. Vitamine D et économie de santé :

On devine dès lors, l'engouement de la communauté scientifique pour la vitamine D au cours de la dernière décennie. En dix ans, le recours au dosage sérique de l'hydroxycalciférol a été multiplié par dix. Soit 8,1 millions de prélèvements en 2012, avec un montant remboursable estimé à 144 million d'euros (dont 75 % attribués à la médecine générale selon la HAS) (3). Face à cette augmentation exponentielle, il a fallu statuer sur le bon usage des dosages de vitamine D. Plusieurs éléments déterminants sont à prendre en compte concernant la vitamine D, notamment : l'absence de valeur cible de référence, le manque de standardisation et d'homogénéisation des techniques de dosage sérique, le défaut de recommandations claires concernant la supplémentation vitaminique D, et enfin l'absence de preuve de l'utilité du dosage dans de nombreuses situations cliniques. La HAS française s'est donc penchée sur la question de l'intérêt du dosage sérique de vitamine D en pratique clinique, et a remis fin 2013 un rapport ne retenant qu'un nombre limité d'indications au dosage (3). Ce rapport a mené au déremboursement massif des prélèvements sériques. A l'échelle internationale, des recommandations similaires émanent des instances de santé américaine, canadienne... (20, 21) En réaction, certains auteurs ont proposé un apport systématique de vitamine D chez la personne âgée (22), devant la facilité et le coût modeste de l'intervention. La supplémentation orale est en moyenne dix fois moins chère que le dosage sérique. Il paraît néanmoins sage de

relativiser cette pratique, car il a été montré que la supplémentation vitaminique D universelle ne présente en réalité pas un meilleur rapport coût-efficacité que le dépistage systématique de l'insuffisance vitaminique D (23). Qui plus est, la supplémentation universelle concerne par nature les personnes avec une hypovitaminose D, mais également celles avec un statut vitaminique D adéquat. Or, à ce jour, aucune étude n'a rapporté d'effet supplémentaire des doses supra-physiologiques de vitamine D. Supplémenter un individu avec une concentration normale initiale, est inutile et n'apporte pas de protection supplémentaire. Par ailleurs, il existe des risques d'intoxication à la vitamine D, même si ils sont minimes, en particulier des risques d'hypercalcémie, de néphrocalcinose, de lithiases calciques (24), ainsi qu'une propension à chuter en cas de méga-dose de vitamine D (25), voire un risque de cancer de la prostate (26). Enfin, nous ne disposons pas encore d'étude ayant évalué les risques à long terme d'une supplémentation vitaminique D au long cours.

Pour toutes ces raisons, il reste délicat à l'heure actuelle de recommander une supplémentation vitaminique D « universelle » chez la personne âgée, et il apparaît judicieux de repérer des groupes à risque d'hypovitaminose D pour lesquels une supplémentation pourrait être instaurée.

1.7. Objectifs du travail de Thèse :

Afin de poursuivre efficacement cette démarche diagnostique tout en réalisant des économies de santé, nous proposons que les recherches s'orientent vers le développement d'outils cliniques capables d'identifier avec précision les adultes âgés ayant une insuffisance en vitamine D. Ces individus pourraient alors recevoir directement des suppléments de vitamine D sans recourir à la prise de sang. Nous formulons l'hypothèse qu'il est possible d'identifier les personnes âgées ayant une insuffisance en vitamine D en utilisant des combinaisons de critères cliniques comprenant des facteurs de risque et des manifestations d'hypovitaminose D. L'objectif de notre travail de Thèse était d'élaborer et de tester un outil diagnostique clinique d'identification des personnes âgées présentant une insuffisance en vitamine D. Ce travail de thèse est présenté ci-après sous forme d'un article original.

2. Article :

Derivation and validation of a clinical diagnostic tool for the identification of older community-dwellers with hypovitaminosis D

Cedric Annweiler, MD, PhD ^{1,2}

AnastasiiaKabeshova, MS ¹

Mathilde Legeay, MD ³

Bruno Fantino, MD, PhD ¹

Olivier Beauchet, MD, PhD ¹

1: Department of Neuroscience, Division of Geriatric Medicine and Memory Clinic, UPRES EA 4638, UNAM, Angers University Hospital, Angers, France; 2: Robarts Research Institute, Department of Medical Biophysics, Schulich School of Medicine and Dentistry, the University of Western Ontario, London, ON, Canada; 3: School of Medicine, University of Angers, France

Correspondence to: Cedric Annweiler, MD, PhD, Department of Neuroscience, Division of Geriatric Medicine, Angers University Hospital, 49933 Angers, France; e-mail: CeAnnweiler@chu-angers.fr; Phone: ++33241355486; Fax: ++33241354894

Word count: 3058; **Abstract word count:** 250; **Reference count:** 30; **Table count:** 3; **Figure count:** 1; **Appendices count:** 4

Running title: Detection of hypovitaminosis D in seniors

ABSTRACT

Objectives. Hypovitaminosis D is highly prevalent among seniors. Although evidence is insufficient to recommend routine vitamin D screening in seniors, universal vitamin D supplementation is not desirable either. To rationalize vitamin D determination, our objective was to elaborate and test a clinical diagnostic tool for the identification of seniors with hypovitaminosis D without using a blood test.

Design. Derivation of a clinical diagnostic tool using artificial neural networks (multilayer perceptron; MLP) in randomized training subgroup of "Prévention des Chutes, Réseau 4" (PCR4) cohort. Validation in randomized testing subgroup.

Setting. Health Examination Centers of health insurance, Lyon, France.

Participants. 1924 community-dwellers aged ≥ 65 years without vitamin D supplements, consecutively recruited between 2009-2012.

Measurements. Hypovitaminosis D defined as serum 25-hydroxyvitamin (25OHD) concentration ≤ 75 nmol/L, or ≤ 50 nmol/L or ≤ 25 nmol/L. A set of clinical variables (age, gender, living alone, individual deprivation, body mass index, undernutrition, polymorbidity, number of drugs used daily, psychoactive drugs, biphosphonates, strontium, calcium supplements, falls, fear of falling, vertebral fractures, Timed Up&Go, walking aids, lower-limb proprioception, handgrip strength, visual acuity, wearing glasses, cognitive disorders, sad mood) was standardly recorded. Several MLPs, based on varying amounts of variables according to their relative importance, were tested consecutively.

Results. 1729 participants (89.9%) had 25OHD ≤ 75 nmol/L, 1288 (66.9%) had 25OHD ≤ 50 nmol/L, and 525 (27.2%) had 25OHD ≤ 25 nmol/L. MLP using 16 clinical variables was able to diagnose hypovitaminosis D ≤ 75 nmol/L with accuracy=96.3%, area under curve (AUC)=0.938, and $\kappa=79.3$ indicating almost perfect agreement. It was also able to diagnose hypovitaminosis D ≤ 50 nmol/L with accuracy=81.5, AUC=0.867, $\kappa=57.8$ (moderate agreement); and hypovitaminosis D ≤ 25 nmol/L with accuracy=82.5, AUC=0.385, $\kappa=55.0$ (moderate agreement).

Conclusion. We elaborated an algorithm able to identify, from 16 clinical variables, seniors with hypovitaminosis D.

Keywords: screening, vitamin D, vitamin D deficiency, older adults

INTRODUCTION

Hypovitaminosis D is highly prevalent among adults aged 65 years and over, with a prevalence estimated between 40-90% according to the different threshold values of serum 25-hydroxyvitamin D (25OHD).^{1,2} Age-related hypovitaminosis D is all the more prejudicial as it results in a significant number of adverse health events. For instance, hypovitaminosis D causes not only bone complications such as osteomalacia or secondary osteoporosis,² but also non-bone effects including greater propensity to fall.^{1,2} Depending on the depth of hypovitaminosis D, it may also precede the occurrence of various conditions such as diabetes mellitus, cognitive disorders, cancers, sarcopenia or viral infections, among others.^{1,2}

Hypovitaminosis D and related adverse events may be easily prevented and corrected by simple oral supplementation, of which dosage schedule depends on the initial level of serum 25OHD concentration.³ For this reason, the use of 25OHD assays, i.e. the most reliable indicator of vitamin D status, increased dramatically during the last decade, which gave rise to considerable health costs. For instance, in the United States (US), the rate of ambulatory care visits associated with the diagnosis code for vitamin D deficiency tripled from 2008 to 2010, to 1177 visits per 100 000 people.⁴ The whole problem is that, while supplementation is relatively cheap, the determination of serum 25OHD concentration costs at least ten times more than a one-year supplementation.⁵ To rationalize health care, US⁴ and French⁵ health authorities recently examined the clinical utility of the serum dosage of vitamin D, and concluded that evidence was insufficient to recommend routine vitamin D screening. As a result, the tendency is now to resort directly to vitamin D supplementation without first measuring serum vitamin D concentration. Universal supplementation has yet showed to be not more cost-effective than routine screening.⁶ Thus, we propose that measures to rationalize vitamin D determination and save health costs should prompt the development of clinical tools able to accurately identify older adults with hypovitaminosis D who should be administered supplements without any blood test. We hypothesized that it could be possible to identify older adults with hypovitaminosis D using combinations of clinical criteria. The objective of our study was to develop a clinical diagnostic tool for the identification of community-dwelling older adults with hypovitaminosis D.

METHODS

Participants

Between May 2009 and April 2012, 1991 community-dwelling volunteers aged 65 years and older had a blood test with serum 25OHD assay during a free medical examination in the Health Examination Centers (HEC) in Lyon, France, and were recruited in the cross-sectional "Prévention des Chutes, Réseau 4" (PCR4) study.⁷ HEC are structures belonging to the French health insurance system, which offers check-ups and screening for the prevention of health conditions, health education and actions, and chronic disease support. This is a free check-up open to all, independently of family physicians or employers. Exclusion criteria for the study were age below 65 years, institutionalization, inability to understand and speak French, acute medical illness during the past month, history of dementia, inability to walk 6m unassisted. Exclusion criterion for the present analysis was the regular use of vitamin D supplements.

Clinical assessment

Participants underwent a full medical examination that was suitable to consultation. A set of clinical variables were standardly measured based on self-report and clinical examination, without knowledge of the 25OHD concentration, including clinical risk factors for hypovitaminosis D, accompanying factors and clinical manifestations of hypovitaminosis D. Age, gender and the fact of living alone were noted. Undernutrition was defined as body mass index (BMI) $<21\text{kg/m}^2$ according to the guidelines of the National Heart, Lung, and Blood Institute. Individual deprivation was assessed using the EPICES (Evaluation of Precarity and Health Inequalities in Health Examination Centers) score,⁹ calculated from 11 socioeconomic questions, and ranging between 0-100 (worst). Polymorbidity was defined as more than 4 chronic diseases (i.e., conditions lasting at least 3 months or running a course with minimal change, whatever the nature and site). The number of drugs daily taken, and the use of psychoactive drugs (i.e., benzodiazepines, antidepressants, or neuroleptics), bisphosphonates, strontium and calcium supplements were noted from the primary care physician's prescription, whatever the dosage schedule, the route of administration and the date of commencement. History of falls over the past year was also sought, and defined as an event resulting in a person coming to rest unintentionally on the ground or at other lower level, not as the result of a major intrinsic event or an overwhelming hazard. The fear of falling (FOF) was assessed using a single question: "Are you afraid of falling?" with a binary answer (i.e., yes or no). History of vertebral fractures was defined by the loss of at least 3 cm of height

since the age of 20 years.¹³ Basic mobility was assessed with the Timed Up & Go test (TUG).⁹ The regular use of walking aids was recorded. Lower-limb proprioception was evaluated with a graduated diapason placed on the tibial tuberosity and scored from 0 to 8 (best).⁷ The mean value obtained for the left and right sides was used here. Distance binocular vision was measured at 5 m using a standard Monoyer letter chart, with corrective lenses on if usually used by the participant. The maximal isometric voluntary contraction (MVC) strength of handgrip was measured once on each side with computerized hydraulic dynamometers (Martin Vigorimeter, MedizinTchnik, Tutlingen, Germany).⁷ The highest MVC value was used here. Cognitive disorders were defined as an abnormal clock-drawing test (CDT).¹⁰ Lastly, sad mood was defined as the answer 'No' to the question "Do you feel happy most of the time?" from the 4-item Geriatric Depression Scale (GDS).¹¹

Serum 25OHD measurement

Venous blood was collected from resting participants at the time of clinical assessment for the measurement of serum 25OHD concentration. All serum 25OHD measurements were performed by radioimmunoassay (DiaSorin Inc., Stillwater, MN) in a single laboratory in Lyon, France. The intra- and interassay precisions for 25OHD were 5.2% and 11.3%, respectively. Based on previous literature, three different threshold values were used consecutively to define hypovitaminosis D: 25, 50, and 75 nmol/L (to convert to ng/mL, divide by 2.496). The serum 25OHD concentration of 25 nmol/L is the classical threshold value used to define vitamin D deficiency,¹ i.e. severe hypovitaminosis D with adverse bone effects;¹² 50 nmol/L is the value used by the World Health Organization¹³ and the US Institute of Medicine¹⁴ to define vitamin D insufficiency, and corresponds to the lowest 25OHD concentration to prevent hyperparathyroidism; 75 nmol/L is the most recent threshold value proposed in biomedical literature to define hypovitaminosis D,¹⁵ and corresponds to the lowest 25OHD concentration needed to avoid non-bone adverse health effects such as accidental falls.

Statistical analysis

The participants' characteristics were summarized using frequencies and percentages or means±standard deviations, as appropriate. As the number of observations was higher than 40, comparisons were not affected by the shape of the error distribution and no transform was applied. Firstly, a matrix of inter-correlations using Pearson correlation coefficient between all variables was performed to avoid co-linearity and, thus, to reduce the number of variables

when possible (Appendix 1). As this analysis brought out important significant correlations between some characteristics, only 23 variables were finally introduced in analyzes. We chose either holistic variables (“Body mass index” rather than “Weight” or “Height”), or variables easy to measure in clinical practice (“Sad mood” rather than “4-item Geriatric Depression Scale score”), or generic measures (“Living alone” rather than “Being in a union”). Secondly, comparisons between participants separated into two groups based on serum 25OHD concentration (i.e., either $\leq 25\text{nmol/L}$ versus $>25\text{nmol/L}$, or $\leq 50\text{nmol/L}$ versus $>50\text{nmol/L}$, or $\leq 75\text{nmol/L}$ versus $>75\text{nmol/L}$) were performed using Student's *t*-test or Chi-square test, as appropriate. Thirdly, univariate logistic regressions were used to examine the associations between participants’ clinical characteristics (independent variables) and hypovitaminosis D (dependent variable). Separate models were performed for each definition of hypovitaminosis D. Fourthly, to address the complexity and interactions of the variables related to vitamin D, we used a non-linear model of feed forward artificial neural network (ANN, Appendix 2).^{16,17} The model validation was based on stratified cross-validation. The sample of participants was randomly split into training (n=1346) and testing (n=578) subsets. The training subset was used to design the ANN architecture (derivation) and to estimate the weights and check the model converging (validation). Then, the testing subset was used for testing the usability of the model, i.e. whether the network was able to work also on data that were not used for the derivation (Appendix 3). Consecutive ANNs were designed with varying inputs: i) using all 23 clinical variables; ii) using 19 variables after removing physical tests requiring an instrument (i.e., lower-limb proprioception, distance binocular vision, handgrip strength, and EPICES score) to improve feasibility in routine consultation; iii) using 17 variables after combining anti-osteoporotic treatments (i.e., bisphosphonates, strontium, and calcium) into a single variable; and iv) using 16 variables after removing TUG as determined by the relative importance of each variable in the ANN. The metrological properties of ANNs for the identification of hypovitaminosis D were evaluated at each step. Of note, removing the next variable with a low relative importance in the ANN (i.e., the number of drugs used per day) lead to a worsening of the metrological properties of the tool (sensitivity=97.6% but specificity=71.2%, Cohen’s $\kappa=76.46$) and was not retained. P-values<0.05 were considered significant. All statistics were performed using SPSS (v19.0, IBM Corporation, Chicago, IL), R 3.1.0 (GNU project), NetBeans IDE 8.0, and Dag-stat.¹⁸

Ethics

Participants in the study were included after having given their written informed consent for research. The study was conducted in accordance with the ethical standards set forth in the Helsinki Declaration (1983). The Ethics Committee of Lyon, France, approved the entire study protocol.

RESULTS

Among 1991 recruited participants with blood test, 1965 participants (98.7%) had full data available, and 1924 (96.6%) participants met the selection criteria and were finally included in the present analysis.

The mean 25OHD concentration was 42.6 ± 22.6 nmol/L, and 1729 participants (89.9%) had serum $25\text{OHD} \leq 75$ nmol/L, 1288 (66.9%) had $25\text{OHD} \leq 50$ nmol/L, and 525 (27.2%) had $25\text{OHD} \leq 25$ nmol/L. As illustrated in Table 1, significant differences were found between groups, especially regarding age, gender, living alone, BMI, polymorbidity, number of drugs used per day, FOF, history of vertebral fractures, time to perform TUG, use walking aids, handgrip strength, visual acuity, and sad mood (Table 1).

Table 2 shows that most of clinical variables (considered individually) were associated with hypovitaminosis D defined as serum $25\text{OHD} \leq 25$ nmol/L or ≤ 50 nmol/L, with low alpha risk but small odds ratios (OR). In contrast, only older age, BMI, use of psychoactive drugs and fear of falling were associated with hypovitaminosis D defined as $25\text{OHD} \leq 75$ nmol/L (Table 2).

Table 3 shows the metrological properties of ANNs for the identification of hypovitaminosis D on the whole sample. The best performance was found for the identification of hypovitaminosis D ≤ 75 nmol/L, with accuracy above 96% and Cohen's κ above 79% indicating substantial to almost perfect agreement.¹⁹ With the 16-item combination, the OR for hypovitaminosis D was 206.0 [95% confidence interval: 126.1-336.5] while using 'not combining variables' as a reference. The ROC (receiver operating characteristic) curve showed an area under curve (AUC) of 0.938 for hypovitaminosis D ≤ 75 nmol/L (Figure 1). This 16-item combination was also able to identify hypovitaminosis D ≤ 50 nmol/L with accuracy=81.5 and $\kappa=57.8$ indicating moderate agreement (Table 3).¹⁹ Adding the TUG to the model improved the accuracy=83.3 and $\kappa=61.4$ (i.e., substantial agreement). Finally, the ability of the tool for the identification of hypovitaminosis D ≤ 25 nmol/L was similar, with accuracy=84.5 and $\kappa=59.3$ while containing TUG, and accuracy=82.5 and $\kappa=55.0$ without

TUG (i.e., moderate agreement) (Table 3).¹⁹The ROC curves showed an AUC=0.867 for hypovitaminosis D \leq 50nmol/L, and AUC=0.835 for hypovitaminosis D \leq 25nmol/L (Figure 1).The OR for hypovitaminosis D was higher when using the 16-item combination (i.e., OR=15.9 for 25OHD \leq 50nmol/L, and OR=15.1 for 25OHD \leq 25nmol/L) compared to using each variable separately in Table 2.

DISCUSSION

Using ANNs, we designed a clinical diagnostic tool able to identify, from 16 clinical variables, hypovitaminosis D \leq 75nmol/L with almost perfect agreement among older community-dwellers taking no vitamin D supplements. The identification of hypovitaminosis D \leq 50nmol/L and \leq 25nmol/L was also effective and showed moderate agreement.

Although numerous studies have examined the variables influencing serum 25OHD concentration, only few studies have designed and/or tested a questionnaire for the identification of hypovitaminosis D in older individuals. We systematically searched PubMed with the MeSH terms "Vitamin D" OR "Ergocalciferols" OR "Vitamin D Deficiency" combined with "Mass screening" OR "Diagnosis" OR "Questionnaires" OR "detection", and also identified relevant articles from the reference lists of any retrieved papers. We identified only nine studies in human beings that had designed and/or tested a questionnaire for the identification of people with hypovitaminosis D (Appendix 4).²⁰⁻²⁸None of them used ANN methods, but conventional linear statistical methods. Specifically, the few previous studies in this area tested the performance of already existing dietary questionnaires^{22,23,25} or general physical questionnaires^{27,28} or isolated questions^{24,26} to detect hypovitaminosis D. Whatever the model tested, results showed rather good sensitivity to hypovitaminosis D (range, 46-91%)^{27,28} but only modest specificity (range, 35-74%),^{25,29} and each time only a single metrological quality was observed (either sensitive, or specific). Thus, the results of the current study provide new insights into the identification of hypovitaminosis D in seniors by using a novel statistical approach, and by exhibiting greater diagnostic efficiency than hitherto. Specifically, we found that, although each separate clinical variable exhibited only modest association with hypovitaminosis D (Table 2), an algorithm combining 16 clinical variables was able to effectively identify hypovitaminosis D among older community-dwellers (Table 3). Importantly, each of these variables has already been associated with vitamin D status, either as a risk factor for hypovitaminosis D (age, gender, BMI,

undernutrition, number of drugs per day),^{1,2} or as a manifestation of hypovitaminosis D (polymorbidity, history of falls, fear of falling, history of vertebral fractures, glasses, cognitive disorders, sad mood, psychoactive drugs),^{1,2} or as an accompanying variable (living alone, anti-osteoporotic drugs, walking aids).^{1,2} Thus these findings are in concordance with previous literature, which strengthens the consistency and reliability of our diagnostic tool.

Despite a relatively low number of clinical trials reporting prevention of adverse health events with vitamin D supplements,² accumulating evidence show that hypovitaminosis D precedes and predicts the incident onset of multiple health conditions.² Thus, given the limited cost of supplementation⁵ and the almost nonexistent risk of intoxication,¹ vitamin D supplementation is desirable among people in whom hypovitaminosis D is retrieved. Since 75nmol/L is the broadest definition of hypovitaminosis D,^{1,15} it is likely that our ANN diagnostic tool, which is particularly accurate for the identification of hypovitaminosis D \leq 75nmol/L, will be valuable and helpful for the clinicians.

ANNs are data analysis tools that have been developed to overcome limitations of linear models. ANNs are computational models capable of machine learning and pattern recognition.^{16,17} Because they apply non-linear statistic to pattern recognition, ANNs are particularly adapted to multifactorial mechanisms of hypovitaminosis D. Nowadays, the advance of ANNs combined with improvement of computers technology open new perspectives in useful and widely application of ANNs in diagnostic support aids for physician to take the best decision for patients.²⁹ ANNs have a clinical impact in different specific medical areas, notably in early detection of acute myocardial infarction or cancer, and prediction of length-of-stay.²⁹ The range of prototypes already reported in the medical literature is evidence of the potential of intelligent medical instruments for multivariate prognostic or diagnostic inference. In the global context of healthcare as a commodity, a decision supported by an ANN is likely to become a necessity rather than an optional extra.

Besides the originality of the research question on an important issue in clinical routine, the strengths of our study include standardized collection of data from a single research centre, uniform measurement of serum 25OHD concentration by a single assay, and testing of older participants of both genders. The originality and rigor of our methodological approach is also to be emphasized since we used, for the first time to our knowledge, a non-linear ANN to combine clinical variables for the diagnosis of hypovitaminosis D. Moreover, our tool was not only derivated in a randomized training subgroup, but also validated in a randomized testing

subgroup in order to control for its reliability and reproducibility. Finally, the metrological properties of the tool were evaluated with the different consensus threshold values of serum 25OHD concentrations described in previous literature and used in clinical practice. Regardless, a number of limitations should be acknowledged. First, the study cohort was restricted to community-dwelling older adults who were probably healthier and more motivated and showed greater interest in health issues than the population of all seniors. Second, limitations of this study include the fact that, unlike previous studies, we did not question participants on skin color, sun exposure and sun protection habits. It is yet noteworthy that the skin synthesis of vitamin D decreases in older adults due to the reduction of cutaneous 7-dehydrocholesterol with advancing age,¹ and sun exposure is no longer the main source of vitamin D in the elderly. Third, it is noticeable that the *a priori* chance to have hypovitaminosis D ≤ 75 nmol/L was already 89.9% in our cohort (i.e., prevalence). Yet, even in the studied group, using the non-linear ANN to combine clinical variables was more contributory to identify hypovitaminosis D than using independent variables individually (accuracy around 30% while using variables individually; data not shown). Fourth, our findings should take into account the limitation of the 25OHD radioimmunoassay. Indeed, the accepted reference assay is the liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS),³⁰ even if radioimmunoassay offers clear benefits to clinicians, including reasonable cost, correct intra- and inter-rater reliability, and measurements of 25OHD₂ and 25OHD₃ at once unlike LC-MS/MS.³⁰

CONCLUSIONS

In conclusion, we successfully derived and validated a clinical diagnostic tool for the identification of older community-dwellers with hypovitaminosis D. The results showed that this tool was able to identify hypovitaminosis D ≤ 75 nmol/L with almost perfect agreement, although diagnostic efficiency was more modest for hypovitaminosis D ≤ 50 nmol/L and ≤ 25 nmol/L. Such an inexpensive tool may undoubtedly help clinicians in decisions to supplement their patients without routinely resorting to an expensive blood test. Additional studies are needed to determine the filling time, feasibility, accuracy and cost-effectiveness of the tool in family medicine consultation or in self-measurement. Further steps are to provide the tool on a larger scale for consultations using dedicated computerized support, and eventually to draw a simplified set of tests for home use. The efficiency of the tool for replacing monitoring blood tests after the initiation of vitamin D supplements should also be questioned.

REFERENCES

1. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007;357:266-81.
2. Theodoratou E, Tzoulaki I, Zgaga L, Ioannidis JP. Vitamin D and multiple health outcomes: umbrella review of systematic reviews and meta-analyses of observational studies and randomised trials. *BMJ*. 2014;348:g2035.
3. van der Velde RY, Brouwers JR, Geusens PP, et al. Calcium and vitamin D supplementation: state of the art for daily practice. *Food Nutr Res* 2014;58.
4. US Preventive Services Task Force. Screening for vitamin D deficiency: draft recommendation statement. AHRQ publication no 13-05183-EF-2. www.uspreventiveservicestaskforce.org/draftrec.htm Accessed August 6, 2014.
5. French National Authority for Health. Clinical utility of the measurement of vitamin D. Saint-Denis: Haute Autorité de Santé (HAS), 2013.
6. Lee RH, Weber T, Colón-Emeric C. Comparison of cost-effectiveness of vitamin D screening with that of universal supplementation in preventing falls in community-dwelling older adults. *J Am GeriatrSoc*2013;61:707-14.
7. Fantino B, Beauchet O, Savignat S, et al. Profile of French community-dwelling older adults supplemented with vitamin D: findings and lessons. *AdvTher* 2011;28:483-9.
8. Bihan H, Laurent S, Sass C, et al. Association among individual deprivation, glycemic control, and diabetes complications: the EPICES score. *Diabetes Care* 2005;28:2680-5.
9. Podsiadlo D, Richardson S. The timed "Up & Go": a test of basic functional mobility for frail elderly persons. *J Am GeriatrSoc* 1991;39:142-8.
10. Agrell B, Dehlin O. The clock-drawing test. *Age Ageing* 1998;27:399-403.
11. Shah A, Herbert R, Lewis S, et al. Screening for depression among acutely ill geriatric inpatients with a short Geriatric Depression Scale. *Age Ageing* 1997;26:217-21.
12. Basha B, Rao DS, Han ZH, Parfitt AM. Osteomalacia due to vitamin D depletion: a neglected consequence of intestinal malabsorption. *Am J Med* 2000;108:296-300.

13. World Health Organization. Prevention and Management of Osteoporosis: Report of a WHO Scientific Group. Geneva: World Health Organization, 2003.
14. Institute of Medicine. Dietary reference intakes for calcium and vitamin D. Committee to review dietary reference intakes for calcium and vitamin D. Washington DC: National Academies Press, Institute of Medicine, 2011.
15. Dawson-Hughes B, Heaney RP, Holick MF, et al. Estimates of optimal vitamin D status. *OsteoporosInt* 2005;16:713-6.
16. Begg R, Kamruzzaman J, Sarkar R. *Neural Networks in Healthcare: Potential and Challenges* Hershey, PA: Idea Group Publishing, 2006.
17. Yáñez A, Barro S, Bugarin A. Backpropagation multilayer perceptron: A modular implementation. In: Prieto A, ed. *Artificial Neural Networks, Lecture Notes in Computer Science*. Berlin: Springer, 1991.
18. Mackinnon A. A spreadsheet for the calculation of comprehensive statistics for the assessment of diagnostic tests and inter-rater agreement. *ComputBiol Med* 2000;30:127-34.
19. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 1977;33:159-74.
20. Bolek-Berquist J, Elliott ME, Gangnon RE, et al. Use of a questionnaire to assess vitamin D status in young adults. *Public Health Nutr* 2009;12:236-43.
21. Gagnon C, Baillargeon JP, Desmarais G, Fink GD. Prevalence and predictors of vitamin D insufficiency in women of reproductive age living in northern latitude. *Eur J Endocrinol* 2010;163:819-24.
22. Formiga F, Ferrer A, Almeda J, et al. Utility of geriatric assessment tools to identify 85-years old subjects with vitamin D deficiency. *J Nutr Health Aging* 2011;15:110-4.
23. Hacker-Thompson A, Schloetter M, Sellmeyer DE. Validation of a dietary vitamin D questionnaire using multiple diet records and the block 98 health habits and history questionnaire in healthy postmenopausal women in northern California. *J AcadNutr Diet* 2012;112:419-23.

24. Annweiler C, Schott AM, Beauchet O. Proposal and validation of a quick question to rate the influence of sun exposure in geriatric epidemiological studies on vitamin D. *Int J VitamNutr Res* 2012;82:412-6.
25. Tsagari A, Toulis KA, Makras P, et al. Performance of the mini nutritional assessment score in the detection of vitamin D status in an elderly Greek population. *HormMetab Res* 2012;44:896-9.
26. Chevallereau G, Gleyses X, Roussel L, et al. Proposal and validation of a quick question to rate the influence of diet in geriatric epidemiological studies on vitamin D. *Int J VitamNutr Res* 2013;83:254-8.
27. Nabak AC, Johnson RE, Keuler NS, Hansen KE. Can a questionnaire predict vitamin D status in postmenopausal women? *Public Health Nutr* 2014;17:739-46.
28. Hamdan S, Roussel L, Gleyses X, et al. Detection of hypovitaminosis D in older adults: a classification tree analysis. *J Am GeriatrSoc* 2014;62:1193-5.
29. Lisboa PJ. A review of evidence of health benefit from artificial neural networks in medical intervention. *Neural Netw* 2002;15:11-39.
30. Carter GD. Accuracy of 25-hydroxyvitamin D assays: confronting the issues. *Curr Drug Targets* 2001;12:19-28.

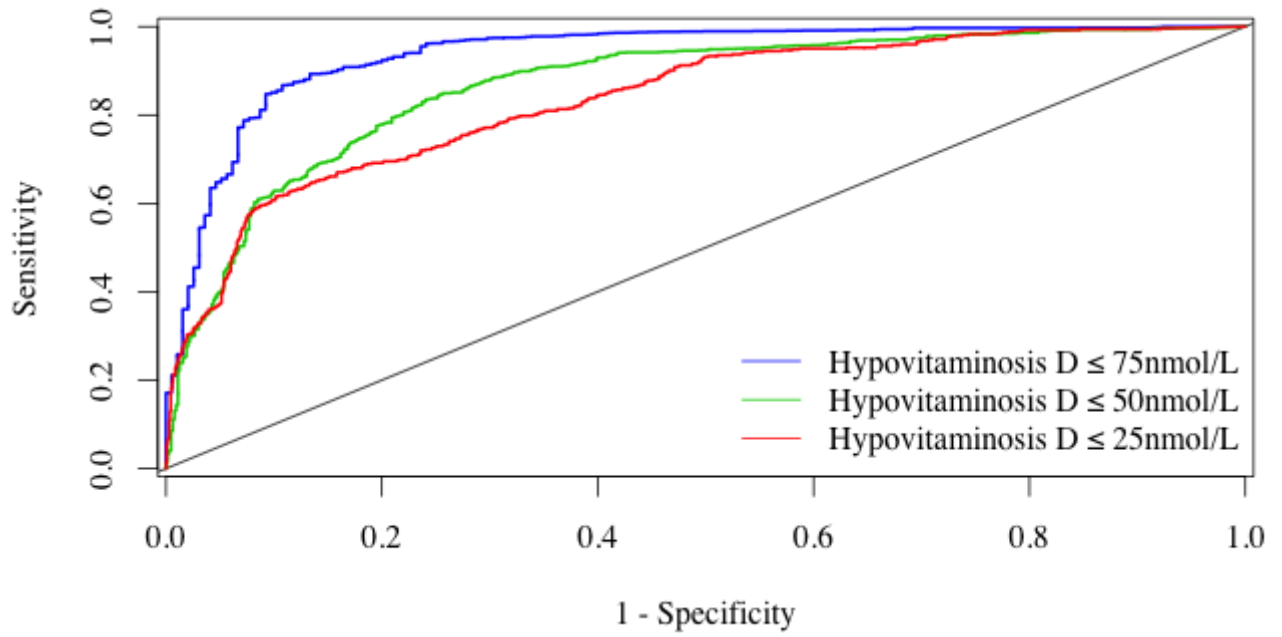


Figure 1. ROC curves for the identification of hypovitaminosis D with the 16-item clinical diagnostic tool, according to the different threshold values of serum 25-hydroxyvitamin D

Table 1. Comparison of participants' characteristics according to the different threshold values of 25OHD used to define hypovitaminosis

D(n=1924)

Clinical characteristics	Cohort									
	Whole sample (n=1924)	Serum 25OHD concentration, nmol/L			Serum 25OHD concentration, nmol/L			Serum 25OHD concentration, nmol/L		
		≤ 25nmol/L (n=525)	> 25nmol/L (n=1399)	P- value*	≤ 50nmol/L (n=1288)	> 50nmol/L (n=636)	P- value*	≤ 75nmol/L (n=1729)	> 75nmol/L (n=195)	P- value*
Age, years (mean±SD)	70.2±4.8	71.1±5.4	69.9±4.5	<0.001	70.5±5.08	69.8±4.8	0.002	70.3±4.9	69.3±4.3	0.006
Female gender	797 (41.4)	246 (46.9)	551 (39.4)	0.003	548 (42.5)	249 (39.2)	0.16	722 (41.8)	75 (38.5)	0.38
Living alone	565 (29.4)	187 (35.6)	378 (27.0)	<0.001	403 (31.3)	162 (25.5)	0.008	516 (29.8)	49 (25.1)	0.17
EPICES score, /100 (mean±SD)	21±20	29±21	20±19	<0.001	24±20	18±17	<0.001	23±20	17±17	<0.001
Body mass index, kg/m ² (mean±SD)	26.6±4.2	27.1±4.7	26.4±4.0	0.003	26.9±4.4	26.0±3.7	<0.001	26.7±4.2	25.5±3.7	<0.001
Undernutrition	119 (6.2)	33 (6.3)	86 (6.1)	0.91	76 (5.9)	43 (6.8)	0.46	102 (5.9)	17 (8.7)	0.12
Polymorbidity	375 (19.5)	127 (24.2)	248 (17.7)	0.001	288 (22.4)	87 (13.7)	<0.001	343 (19.8)	32 (16.4)	0.25
Number of drugs daily taken (mean±SD)	3±2	3±3	2±2	<0.001	3±3	2±2	<0.001	3±2	2±2	0.07
Use psychoactive drugs	1066 (55.4)	288 (54.9)	778 (55.6)	0.77	688 (53.4)	378 (59.4)	0.01	926 (53.6)	140 (71.8)	<0.001
Use bisphosphonates	15 (0.8)	5 (1.0)	10 (0.7)	0.60	11 (0.9)	4 (0.6)	0.60	14 (0.8)	1 (0.5)	0.66
Use strontium	4 (0.2)	1 (0.2)	3 (0.2)	0.92	3 (0.2)	1 (0.2)	0.73	4 (0.2)	0 (0.0)	0.50
Use calcium	18 (0.9)	6 (1.1)	12 (0.9)	0.56	11 (0.9)	7 (1.1)	0.60	17 (1.0)	1 (0.5)	0.52
Use anti-osteoporotic drugs	19 (1.0)	6 (1.1)	13 (0.9)	0.67	14 (1.1)	5 (0.8)	0.53	18 (1.0)	1 (0.5)	0.48
History of falls	593 (30.8)	168 (32.0)	425 (30.4)	0.49	409 (31.8)	184 (28.9)	0.21	538 (31.1)	55 (28.2)	0.40
Fear of falling	372 (19.3)	119 (22.7)	253 (18.1)	0.02	258 (20.0)	114 (17.9)	0.27	345 (20.0)	27 (13.8)	0.04
History of vertebral fractures	487 (25.3)	150 (28.6)	337 (24.1)	0.04	333 (25.9)	154 (24.2)	0.44	442 (25.6)	45 (23.1)	0.45
Timed Up & Go test, seconds (mean±SD)	9.9±2.5	10.4±2.8	9.7±2.4	<0.001	10.0±2.6	9.6±2.3	0.001	10.0±2.5	9.5±2.5	0.02
Use walking aids	22 (1.1)	11 (2.1)	11 (0.8)	0.02	19 (1.5)	3 (0.5)	0.05	22 (1.3)	0 (0.0)	0.11
Lower-limb	6±2	6±2	6±2	0.81	6±2	6±2	0.74	6±2	6±1	0.61

proprioception, /8 (mean±SD)										
Handgrip strength, Newton (mean±SD)	31.9±10.8	30.0±10.9	32.6±10.7	<0.001	31.5±10.6	32.8±11.2	0.01	31.8±10.8	32.8±11.2	0.25
Visual acuity, /10 (mean±SD)	7.2±2.2	6.6±2.3	7.4±2.2	<0.001	7.1±2.3	7.4±2.1	<0.001	7.2±2.3	7.4±2.1	0.11
Wearing glasses	1298 (67.5)	346 (65.9)	952 (68.0)	0.37	873 (67.8)	425 (66.8)	0.67	1164 (67.3)	134 (68.7)	0.69
Cognitive disorders	416 (21.6)	121 (23.0)	295 (21.1)	0.35	293 (22.7)	123 (19.3)	0.09	377 (21.8)	39 (20.0)	0.56
Sad mood	378 (19.6)	127 (24.2)	251 (17.9)	0.002	272 (21.1)	106 (16.7)	0.02	345 (20.0)	33 (16.9)	0.31
Serum 25OHD concentration, nmol/L (mean±SD)	42.6±25.6	14.9±6.3	53.0±22.1		28.4±13.0	71.5±19.8		36.67±18.5	95.45±18.3	

Data presented as n (%) where applicable; 25OHD: 25-hydroxyvitamin D; EPICES: Evaluation of Precarity and Health Inequalities in Health

Examination Centers; SD: standard deviation; *: Based on *t*-test or Chi-square test, as appropriate; P-value significant (i.e., <0.05) indicated in bold.

Table 2. Univariate logistic regression models examining the cross-sectional associations between participants' clinical characteristics and hypovitaminosis D according to the different threshold values (n=1924)

	Hypovitaminosis D								
	25OHD ≤ 25nmol/L			25OHD ≤ 50nmol/L			25OHD ≤ 75nmol/L		
	OR	[95%CI]	P-value	OR	[95%CI]	P-value	OR	[95%CI]	P-value
Age	1.05	[1.03-1.07]	<0.001	1.03	[1.01-1.05]	0.002	1.05	[1.01-1.09]	0.006
Female gender	1.36	[1.11-1.66]	0.003	1.15	[0.95-1.40]	0.16	1.15	[0.85-1.56]	0.38
Living alone	1.49	[1.21-1.85]	<0.001	1.33	[1.08-1.65]	0.009	1.27	[0.90-1.78]	0.17
EPICES score	1.02	[1.02-1.03]	<0.001	1.02	[1.01-1.02]	<0.001	1.02	[1.01-1.02]	<0.001
Body mass index	1.04	[1.01-1.06]	0.003	1.05	[1.03-1.08]	<0.001	1.08	[1.04-1.12]	<0.001
Undernutrition	1.02	[0.68-1.55]	0.91	0.87	[0.59-1.27]	0.46	0.66	[0.38-1.12]	0.12
Polymorbidity	1.48	[1.16-1.89]	0.001	1.82	[1.40-2.36]	<0.001	1.26	[0.85-1.88]	0.25
Number of drugs daily taken	1.08	[1.04-1.13]	<0.001	1.11	[1.06-1.16]	<0.001	1.07	[1.00-1.14]	0.07
Use psychoactive drugs	0.97	[0.79-1.19]	0.77	0.78	[0.65-0.95]	0.01	0.45	[0.33-0.63]	<0.001
Use bisphosphonates	1.34	[0.45-3.93]	0.60	1.36	[0.43-4.29]	0.60	1.58	[0.20-12.11]	0.66
Use strontium	0.89	[0.09-8.86]	0.92	1.48	[0.15-14.28]	0.73			
Use calcium	1.34	[0.50-3.58]	0.56	0.77	[0.30-2.01]	0.60	1.93	[0.26-14.55]	0.53
Use anti-osteoporotic drugs	1.23	[0.47-3.26]	0.67	1.39	[0.50-3.87]	0.53	2.04	[0.27-15.37]	0.49
History of falls	1.08	[0.87-1.34]	0.49	1.14	[0.93-1.41]	0.21	1.15	[0.83-1.60]	0.40
Fear of falling	1.33	[1.04-1.70]	0.02	1.15	[0.90-1.46]	0.27	1.55	[1.02-2.37]	0.04
History of vertebral fractures	1.26	[1.01-1.58]	0.04	1.09	[0.88-1.36]	0.44	1.15	[0.81-1.63]	0.45
Timed Up & Go test	1.11	[1.06-1.15]	<0.001	1.07	[1.03-1.12]	0.001	1.08	[1.01-1.15]	0.02
Use walking aids	2.70	[1.16-6.27]	0.02	3.16	[0.93-10.72]	0.07			
Lower-limb proprioception	0.99	[0.93-1.06]	0.81	0.99	[0.93-1.05]	0.74	0.98	[0.87-1.07]	0.61
Handgrip strength	0.98	[0.97-0.99]	<0.001	0.99	[0.98-1.00]	0.01	0.99	[0.98-1.01]	0.25
Visual acuity	0.86	[0.82-0.90]	<0.001	0.93	[0.89-0.97]	<0.001	0.95	[0.88-1.01]	0.11
Wearing glasses	0.91	[0.73-1.12]	0.37	1.04	[0.85-1.28]	0.67	0.94	[0.68-1.29]	0.69
Cognitive disorders	1.12	[0.88-1.43]	0.35	1.23	[0.97-1.56]	0.09	1.12	[0.77-1.61]	0.56
Sad mood	1.46	[1.15-1.86]	0.002	1.34	[1.05-1.72]	0.02	1.22	[0.83-1.81]	0.31

CI: confidence interval; 25OHD: 25-hydroxyvitamin D; EPICES: Evaluation of Precarity and Health Inequalities in Health Examination Centers;

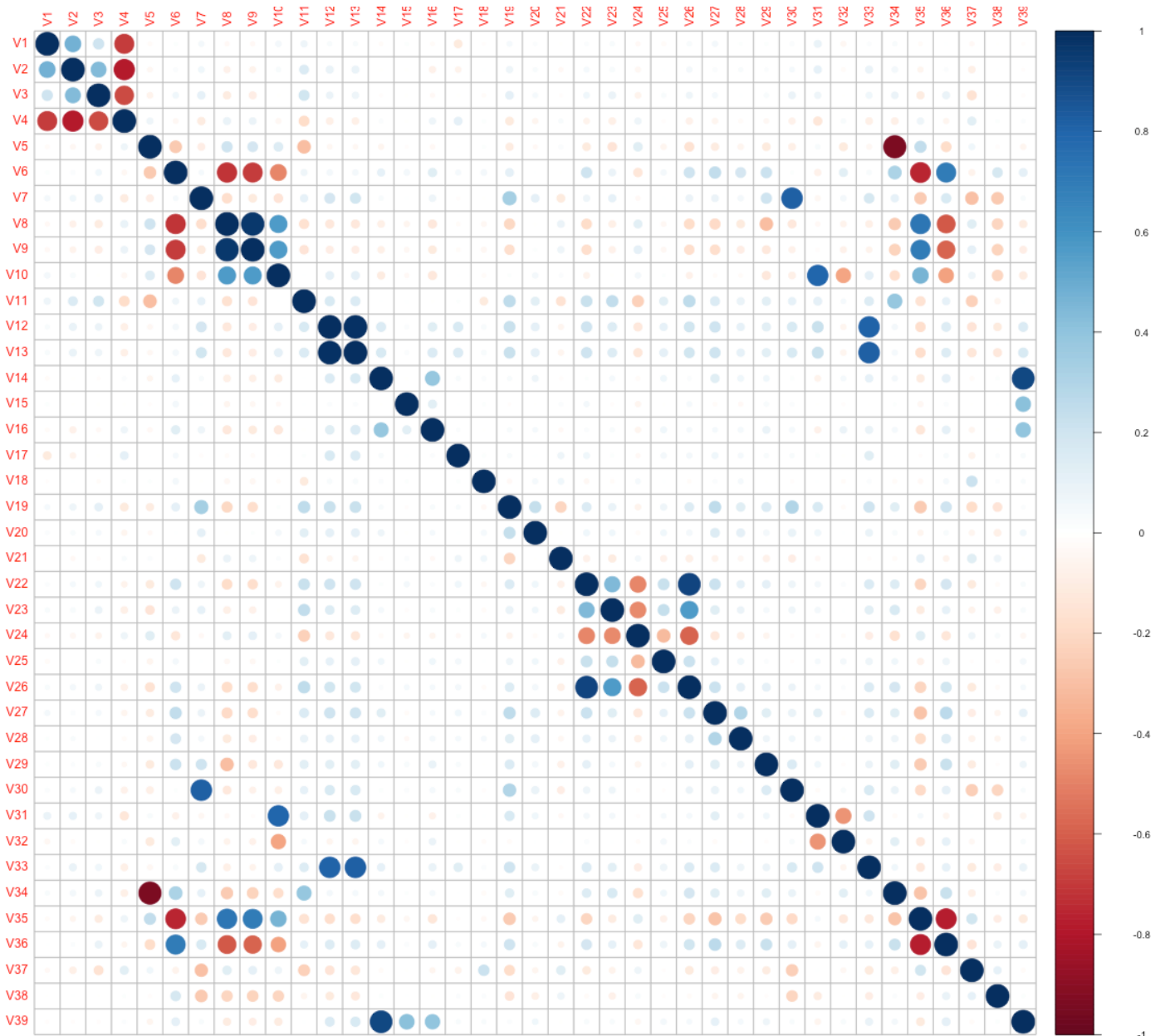
OR: odds ratio; P-value significant (i.e., <0.05) indicated in bold.

Table 3. Metrological properties of the clinical diagnostic tool for the identification of hypovitaminosis D according to the clinical input variables introduced in the diagnostic tool and based on the different threshold values of serum 25-hydroxyvitamin D (n=1924)

Hypovitaminosis D	Variables introduced in MLP	True positive	False positive	True negative	False negative	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Positive predictive value	Negative predictive value	Positive likelihood ratio	Negative likelihood ratio	Odds ratio	Accuracy (%)	Cohen's kappa (%)
						[95% CI]	[95% CI]	[95% CI]	[95% CI]	[95% CI]	[95% CI]	[95% CI]	[95% CI]	[95% CI]
≤ 75nmol/L	All 23 variables	1699	19	176	30	98.26 [97.53-98.83]	90.26 [85.20-94.03]	98.89 [98.28-99.33]	85.44 [79.87-89.95]	10.09 [6.58-15.46]	0.02 [0.01-0.03]	524.60 [289.28-951.36]	97.45 [96.65-98.11]	86.36 [82.59-90.13]
	Without tests (19 variables)	1705	34	161	24	98.61 [97.94-99.11]	82.56 [76.50-87.61]	98.04 [97.28-98.64]	87.03 [81.31-91.51]	5.66 [4.17-7.68]	0.02 [0.01-0.03]	336.40 [194.68-581.30]	96.99 [96.12-97.70]	83.07 [78.77-87.36]
	Combining anti-osteoporotic drugs (17 variables))	1699	32	163	30	98.26 [97.53-98.83]	83.59 [77.63-88.50]	98.15 [97.40-98.73]	84.46 [78.56-89.26]	5.99 [4.36-8.22]	0.02 [0.01-0.03]	288.48 [170.93-486.87]	96.78 [95.89-97.52]	82.23 [77.88-86.58]
	Without TUG (16 variables)	1695	38	157	34	98.03 [97.26-98.63]	80.51 [74.25-85.83]	97.81 [97.00-98.44]	82.20 [76.02-87.35]	5.03 [3.78-6.69]	0.02 [0.02-0.03]	205.97 [126.09-336.45]	96.26 [95.31-97.06]	79.27 [74.57-83.97]
≤ 50nmol/L	All 23 variables	1157	172	464	131	89.83 [88.05-91.43]	72.96 [69.32-76.37]	87.06 [85.13-88.82]	77.98 [74.44-81.25]	3.32 [2.92-3.78]	0.14 [0.12-0.17]	23.83 [18.53-30.64]	84.25 [82.55-85.85]	63.83 [60.09-67.57]
	Without tests (19 variables)	1106	177	459	182	85.87 [83.85-87.73]	72.17 [68.51-75.62]	86.20 [84.20-88.05]	71.61 [67.94-75.07]	3.09 [2.72-3.50]	0.20 [0.17-0.23]	15.76 [12.47-19.91]	81.34 [79.53-83.06]	57.92 [54.00-61.85]
	Combining anti-	1153	187	449	135	89.52 [87.72-	70.60 [66.89-	86.04 [84.07-	76.88 [73.25-	3.04	0.15 [0.13-	20.51	83.26	61.39 [57.54-

	osteoporotic drugs (17 variables)					91.14]	74.11]	87.86]	80.25]	[2.70-3.44]	0.18]	[16.02-26.25]	[81.52-84.91]	65.23]
	Without TUG (16 variables)	1122	190	446	166	87.11 [85.16-88.89]	70.13 [66.40-73.66]	85.52 [83.50-87.38]	72.88 [69.17-76.36]	2.92 [2.58-3.29]	0.18 [0.16-0.21]	15.87 [12.54-20.08]	81.50 [79.69-83.21]	57.79 [53.83-61.75]
≤ 25nmol/L	All 23 variables	372	84	1315	153	70.86 [66.76-74.71]	94.00 [92.62-95.18]	81.58 [77.71-85.03]	89.58 [87.90-91.09]	11.80 [9.82-14.62]	0.31 [0.27-0.35]	38.06 [28.48-50.87]	87.68 [86.13-89.12]	67.63 [63.77-71.49]
	Without tests (19 variables)	337	76	1323	188	64.19 [59.92-68.30]	94.57 [93.25-95.70]	81.60 [77.52-85.22]	87.56 [85.79-89.18]	11.82 [9.41-14.84]	0.38 [0.34-0.42]	31.20 [23.30-41.79]	86.28 [84.66-87.79]	62.95 [58.80-67.10]
	Combining anti-osteoporotic drugs (17 variables)	344	118	1281	181	65.52 [61.28-69.59]	91.57 [89.98-92.97]	74.46 [70.23-78.38]	87.62 [85.82-89.27]	7.77 [6.47-9.33]	0.38 [0.33-0.42]	20.63 [15.90-26.78]	84.46 [82.76-86.05]	59.31 [55.07-63.55]
	Without TUG (16 variables)	341	153	1246	184	64.95 [60.70-69.03]	89.06 [87.31-90.65]	69.03 [64.74-73.08]	87.13 [85.29-88.83]	5.94 [5.05-6.99]	0.39 [0.35-0.44]	15.09 [11.81-19.29]	82.48 [80.71-84.16]	55.03 [50.67-59.39]

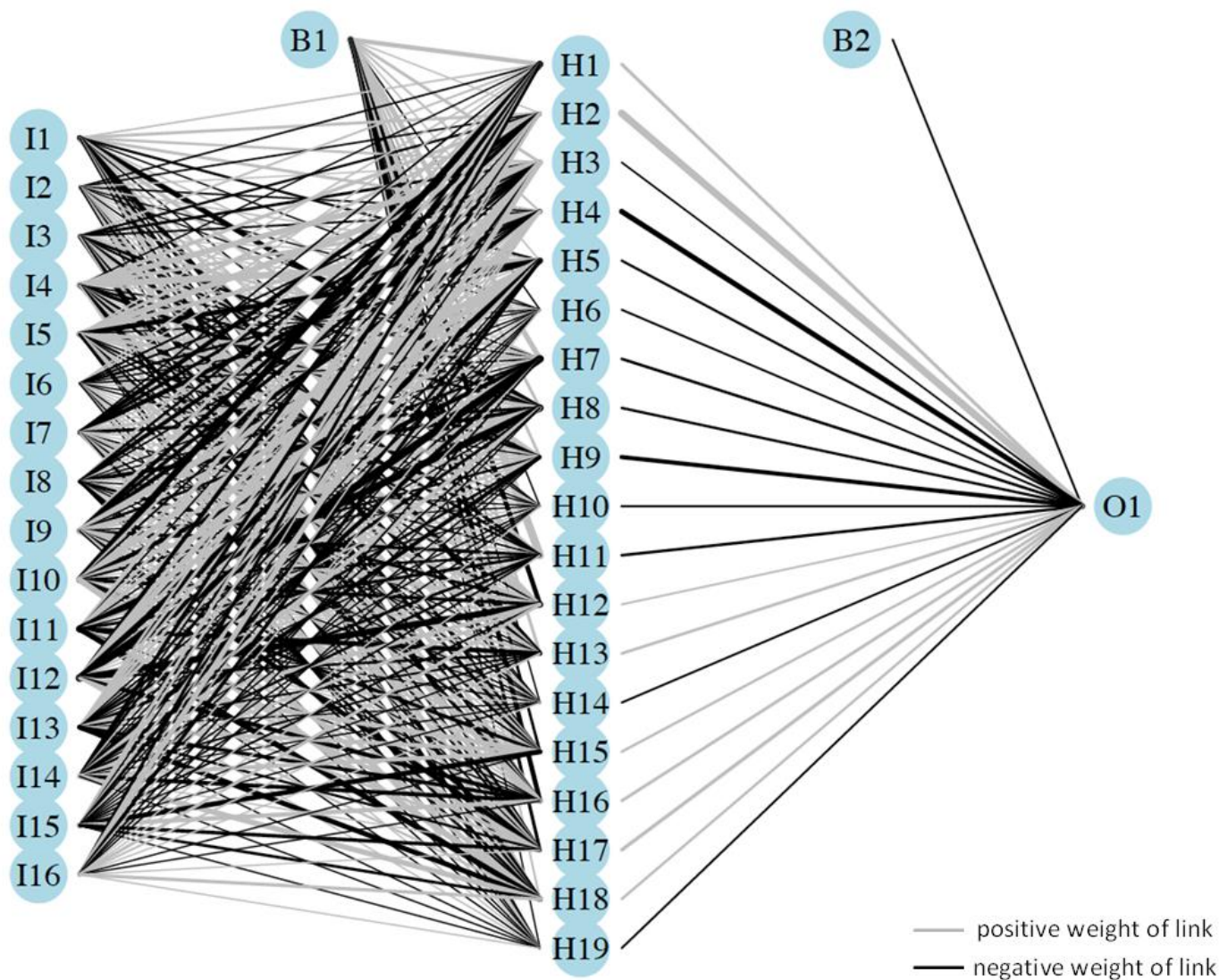
MLP: multilayer perceptron; TUG: Timed Up& Go test; CI: confidence interval



Appendix 1. Pearson correlation matrix of participants' characteristics.

On the right side the scale is colored from red (negative correlation) to blue (positive correlation). The color follows a gradient according to the strength of the correlation. Circle dimension leads to visualize the importance of correlation coefficient.

V1: Hypovitaminosis D \leq 75 nmol/L
V2: Hypovitaminosis D \leq 50 nmol/L
V3: Hypovitaminosis D \leq 25 nmol/L
V4: Serum 25-hydroxyvitamin D concentration
V5: Being in a union
V6: Gender
V7: Age
V8: Height
V9: Height at 20 years of age
V10: Weight
V11: EPICES score
V12: Number of pills taken per day
V13: Number of drugs taken per day
V14: Use bisphosphonates
V15: Use strontium
V16: Use calcium supplements
V17: Use psychoactive drugs
V18: Wearing glasses
V19: Time to perform the TUG
V20: Use walking aids
V21: Abnormal Clock Drawing Test
V22: Sad mood
V23: Feeling of emptiness
V24: Happiness
V25: Hopelessness
V26: 4-item Geriatric Depression Scale score
V27: Fear of falling
V28: History of falls
V29: History of vertebral fractures
V30: Age 75 years and older
V31: Body mass index
V32: Undernutrition
V33: Polymorbidity
V34: Living alone
V35: Handgrip strength
V36: Weakness
V37: Mean visual acuity
V38: Lower-limb proprioception
V39: Use anti-osteoporotic drugs



Appendix 2. Artificial neural network structure involving 16 clinical input variables and 1 hidden layer for the identification of hypovitaminosis D ≤ 75 nmol/L

I: input; B: bias; H: hidden; O: output; I1: gender; I2: age; I3: number of drugs used per day; I4: use psychoactive drugs; I5: wearing glasses; I6: use walking aids; I7: sad mood; I8: fear of falling; I9: history of falls; I10: cognitive disorders; I11: undernutrition; I12: polymorbidity; I13: history of vertebral fractures; I14: living alone; I15: body mass index; I16: use anti-osteoporotic drugs; O1: hypovitaminosis D ≤ 75 nmol/L

Inspired by humans' brain, artificial neural networks are usually presented as interconnected systems, which are organized in several layers. These layers are made up of a number of interconnected nodes that contain activation function. Data are presented to the network via the input layer, which communicates to one or more hidden layers where the processing is done via a system of weighted connections. In final, the hidden layers are related to an output layer that provides the result. Here, the utilized architecture was obtained with Multilayer Perceptron (MLP) (17) and contained one input, one hidden and one output layer. All nodes from input layer were fully connected to all nodes in the following layer, but there were no lateral connections within layers. The output layer contained only one neuron, indicating the achievement of hypovitaminosis D.

Appendix 3. Metrological properties of the clinical 16-item tool for the diagnosis of hypovitaminosis D in the training subset (n=1346) and in the testing subset (n=578), according to the different threshold values of serum 25-hydroxyvitamin D

Hypovitaminosis D	Variables introduced in MLP	True positive	False positive	True negative	False negative	Sensitivity (%) [95%CI]	Specificity (%) [95%CI]	Positive predictive value [95%CI]	Negative predictive value [95%CI]	Positive likelihood ratio [95%CI]	Negative likelihood ratio [95%CI]	Odds ratio [95%CI]	Accuracy (%) [95%CI]	Cohen's kappa [95%CI]
≤ 75nmol/L	Training subset	1196	23	122	5	99.58 [99.03-99.86]	84.14 [77.16-89.67]	98.11 [97.18-98.80]	96.06 [91.05-98.71]	6.28 [4.31-9.13]	0.01 [0.00-0.01]	1268.80 [473.87-3397.24]	97.92 [97.01-98.61]	88.55 [84.36-92.75]
	Testing subset	474	18	42	44	91.51 [88.76-93.76]	70.00 [56.79-81.15]	96.34 [94.28-97.82]	48.84 [37.90-59.86]	3.05 [2.07-4.49]	0.12 [0.08-0.17]	25.14 [13.35-47.32]	89.27 [86.46-91.68]	86.36 [75.60-97.12]
≤ 50nmol/L	Training subset	825	137	321	63	92.91 [91.01-94.51]	70.09 [65.66-74.25]	85.76 [83.39-87.91]	83.59 [79.50-87.16]	3.11 [2.70-3.58]	0.10 [0.08-0.13]	30.68 [22.17-42.47]	85.14 [83.13-87.00]	65.56 [61.15-69.96]
	Testing subset	343	61	117	57	85.75 [81.93-89.03]	65.73 [58.26-72.67]	84.90 [81.03-88.25]	67.24 [59.73-74.15]	2.50 [2.03-3.08]	0.22 [0.17-0.28]	11.54 [7.60-17.30]	79.58 [76.06-82.80]	51.80 [44.05-59.56]
≤ 25nmol/L	Training subset	243	69	920	114	68.07 [62.96-62.88]	93.02 [91.25-94.53]	77.88 [72.87-82.37]	88.97 [86.91-90.82]	9.76 [7.69-12.38]	0.34 [0.29-0.40]	28.42 [20.42-39.56]	86.40 [84.46-88.19]	63.65 [58.76-68.55]
	Testing subset	85	101	309	83	50.60 [42.79-58.38]	75.37 [70.90-79.46]	45.70 [38.39-53.15]	78.83 [74.44-82.77]	2.05 [1.64-2.57]	0.66 [0.56-0.77]	3.13 [2.15-4.55]	68.17 [64.20-71.95]	28.01 [16.24-34.09]

CI: confidence interval; MLP: multilayer perceptron

Appendix 4. Main characteristics of previous studies having designed and/or tested a questionnaire for the identification of people with hypovitaminosis D

Study	Population	Location	Hypovitaminosis D	Questionnaire	Metrological properties of questionnaire
Bolek-Berquist et al. ²⁰ 2009	<ul style="list-style-type: none"> • 184 healthy young adults • Age: 18-40 years 	<ul style="list-style-type: none"> • Wisconsin, USA 	<ul style="list-style-type: none"> • Serum 25OHD <75 nmol/L 	<ul style="list-style-type: none"> • General physical questionnaire including suntan, use sunscreen, and ingestion of serving of milks 	<ul style="list-style-type: none"> • Sensitivity 79% • Specificity 78%
Gagnon et al. ²¹ 2010	<ul style="list-style-type: none"> • 153 healthy young women • Age: 18-41 years 	<ul style="list-style-type: none"> • Quebec, Canada 	<ul style="list-style-type: none"> • Serum 25OHD ≤50 nmol/L 	<ul style="list-style-type: none"> • General physical questionnaire including body mass index, parathyroid hormone, oral contraceptive use, and travels 	<ul style="list-style-type: none"> • 40% of the variance in serum 25OHD explained by the questionnaire
Formiga et al. ²² 2011	<ul style="list-style-type: none"> • 312 older community-dwellers • Age: ≥ 85 years 	<ul style="list-style-type: none"> • Spain 	<ul style="list-style-type: none"> • Serum 25OHD ≤62.4 nmol/L 	<ul style="list-style-type: none"> • MNA 	<ul style="list-style-type: none"> • Poor MNA score associated with hypovitaminosis D: OR=1.07 [95%CI: 1.00-1.14]
Hacker-Thompson et al. ²³ 2011	<ul style="list-style-type: none"> • 122 post-menopausal women • Age: ≥ 85 years 	<ul style="list-style-type: none"> • California, USA 	<ul style="list-style-type: none"> • Not applicable 	<ul style="list-style-type: none"> • Two dietary questionnaires (BVDQ, Block HHHQ98) 	<ul style="list-style-type: none"> • No correlation between serum 25OHD and scores on the questionnaires
Annweiler et al. ²⁴ 2012	<ul style="list-style-type: none"> • 751 community-dwelling older women 	<ul style="list-style-type: none"> • France 	<ul style="list-style-type: none"> • Serum 25OHD <75 nmol/L 	<ul style="list-style-type: none"> • Single question on sun exposure 	<ul style="list-style-type: none"> • Sensitivity 52% • Specificity 35%

	<ul style="list-style-type: none"> • Age: ≥ 75 years 				
Tsagari et al. ²⁵ 2012	<ul style="list-style-type: none"> • 101 patients with hip fracture and 85 community-dwellers without hip fracture 	<ul style="list-style-type: none"> • Greece 	<ul style="list-style-type: none"> • Serum 25OHD <50 nmol/L 	<ul style="list-style-type: none"> • MNA 	<ul style="list-style-type: none"> • Sensitivity 90.9% • Specificity 53.6%
Chevallereau et al. ²⁶ 2013	<ul style="list-style-type: none"> • Age: ≥ 65 years • 261 geriatric in- and outpatients 	<ul style="list-style-type: none"> • France 	<ul style="list-style-type: none"> • Serum 25OHD ≤ 75 nmol/L 	<ul style="list-style-type: none"> • Single question on dietary habits 	<ul style="list-style-type: none"> • Sensitivity 46% • Specificity 74%
Nabak et al. ²⁷ 2013	<ul style="list-style-type: none"> • Age: ≥ 65 years • 609 post-menopausal women 	<ul style="list-style-type: none"> • Wisconsin, USA 	<ul style="list-style-type: none"> • Serum 25OHD <50 nmol/L 	<ul style="list-style-type: none"> • General physical questionnaire including skin color, suntan, use sunscreen, sun exposure, and weight 	<ul style="list-style-type: none"> • Sensitivity 89% • Specificity 35%
Hamdan et al. ²⁸ 2014	<ul style="list-style-type: none"> • Age: ≥ 65 years • 261 geriatric in- and outpatients 	<ul style="list-style-type: none"> • France 	<ul style="list-style-type: none"> • Serum 25OHD ≤ 75 nmol/L 	<ul style="list-style-type: none"> • General physical questionnaire including ethnicity, sadness, body mass index, and history of vertebral fractures 	<ul style="list-style-type: none"> • Identification of 3 clinical profiles with 100% hypovitaminosis D

25OHD: 25-hydroxyvitamin D; BVDQ: Brief Vitamin D Questionnaire; Block HHHQ98: Block Health History and Habits Questionnaire 1998;

MNA: Mini Nutritional Assessment; USA: United States of America

3. Conclusion du travail de thèse :

Notre étude montre qu'il est possible de repérer avec cet outil clinique, les personnes âgées ayant une hypovitaminose D. Grâce à un réseau neuronal artificiel, particulièrement adapté aux mécanismes multifactoriels de l'hypovitaminose D, nous avons pu mettre au point un algorithme capable de diagnostiquer avec précision l'hypovitaminose D ≤ 75 nmol/L chez les personnes âgées vivant à domicile, avant l'instauration de suppléments vitaminiques D. En revanche, son efficacité pour diagnostiquer une hypovitaminose D ≤ 50 nmol/L et ≤ 25 nmol/L était plus modeste.

Malgré ces résultats probants, un tel outil diagnostique devra être testé en pratique clinique et tout particulièrement en consultation de médecine générale, afin d'en contrôler la faisabilité et la validité en soins primaires. En effet l'utilisation de 16 variables cliniques, même simples, pourrait être un frein à son développement. Il pourra être envisagé de récupérer automatiquement certaines données, comme les antécédents ou le traitement habituel, depuis les logiciels médicaux des médecins généralistes.

D'autres études de validation seront également nécessaires avant d'étendre l'utilisation de cet outil à d'autres populations spécifiques, telles que les personnes âgées hospitalisées ou institutionnalisées, mais aussi les enfants, les adolescents et les femmes enceintes.

Enfin, il conviendra d'évaluer l'efficacité diagnostique de cet outil pour le suivi du statut vitaminique D suite à une supplémentation bien conduite parmi ces différentes populations.

Notre étude constitue un premier pas vers une nouvelle approche diagnostique innovante de l'hypovitaminose D, permettant de rationaliser le recours au dosage sérique onéreux. De tels outils cliniques se développent actuellement dans nombre de pathologies. Ils seront à l'avenir une aide précieuse au diagnostic clinique, et la clef de véritables économies de santé. Leur intégration au sein des logiciels métier de médecine générale facilitera leur utilisation en pratique clinique.

4. Références bibliographiques des pré-requis:

1. Holick MF. Vitamin D Deficiency. *New England Journal of Medicine*. 19 juill 2007;357(3):266-81.
2. Souberbielle J-C. Actualités sur la vitamine D. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*. avr 2013;48(2):63-74.
3. Haute autorité de santé. Rapports d'évaluation des technologies de santé : utilité clinique du dosage de la vitamine D. rapport d'évaluation. Saint-Denis La Plaine: HAS; 2013.
4. Cormier C, Souberbielle J-C. Nouvelles définitions de l'insuffisance vitaminique D, retentissement sur les normes de PTH. *La Revue de Médecine Interne*. sept 2006;27(9):684-9.
5. Souberbielle J-C, Prié D, Courbebaisse M, Friedlander G, Houillier P, Maruani G, et al. Actualité sur les effets de la vitamine D et l'évaluation du statut vitaminique D. *Annales d'Endocrinologie*. déc 2008;69(6):501-10.
6. Annweiler C, Souberbielle J-C, Schott A-M, de Decker L, Berrut G, Beauchet O. [Vitamin D in the elderly: 5 points to remember]. *GeriatrPsycholNeuropsychiatr Vieil*. sept 2011;9(3):259-67.
7. Ceglia L. Vitamin D and skeletal muscle tissue and function. *Molecular Aspects of Medicine*. déc 2008;29(6):407-14.
8. Reddy Vanga S, Good M, Howard PA, Vacek JL. Role of Vitamin D in Cardiovascular Health. *The American Journal of Cardiology*. 15 sept 2010;106(6):798-805.
9. Pittas AG, Lau J, Hu FB, Dawson-Hughes B. The role of vitamin D and calcium in type 2 diabetes. A systematic review and meta-analysis. *J ClinEndocrinolMetab*. juin 2007;92(6):2017-29.
10. Grant WB. A critical review of Vitamin D and Cancer. *Dermatoendocrinol*. 2009;1(1):25-33.
11. Pierrot-Deseilligny C, Souberbielle J-C. Is hypovitaminosis D one of the environmental risk factors for multiple sclerosis? *Brain*. juill 2010;133(Pt 7):1869-88.

12. Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willett WC, Dietrich T, Dawson-Hughes B. Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *Am J Clin Nutr*. 7 janv 2006;84(1):18-28.
13. Dawson-Hughes B, Heaney RP, Holick MF, Lips P, Meunier PJ, Vieth R. Estimates of optimal vitamin D status. *Osteoporos Int*. 18 mars 2005;16(7):713-6.
14. Holick MF. High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health. *Mayo Clin Proc* 2006;81:353-73.
15. Bischoff-Ferrari HA, Dawson-Hughes B, Staehelin HB, Orav JE, Stuck AE, Theiler R, et al. Fall prevention with supplemental and active forms of vitamin D: a meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ*. 1 oct 2009;339(oct01 1):b3692-b3692.
16. Murad MH, Elamin KB, buElnour NO, Elamin MB, Alkatib AA, Fatourechi MM, et al. Clinical review: The effect of vitamin D on falls: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96:2997-3006.
17. Bischoff-Ferrari HA, Willett WC, Wong JB, et al. Prevention of nonvertebral fractures with oral vitamin d and dose dependency: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Intern Med*. 23 mars 2009;169(6):551-61.
18. Ma Y, Zhang P, Wang F, Yang J, Liu Z, Qin H. Association between vitamin D and risk of colorectal cancer: a systematic review of prospective studies. *J Clin Oncol*. 1 oct 2011;29(28):3775-82.
19. Annweiler C, Allali G, Allain P, Bridenbaugh S, Schott A-M, Kressig RW, et al. Vitamin D and cognitive performance in adults: a systematic review. *Eur J Neurol*. oct 2009;16(10):1083-9.
20. McCarthy M. Evidence for routine vitamin D screening is insufficient, US panel concludes. *BMJ*. 2014;348:g4277.
21. Medical Services Commission. Vitamin D testing protocol. Victoria, British Columbia, Canada: British Columbia Medical Services Commission; October 1, 2010. Accessed December 17, 2011.

22. Rolland Y, de SoutoBarreto P, Abellan Van Kan G, Annweiler C, Beauchet O, Bischoff-Ferrari H, Berrut G, Blain H, Bonnefoy M, Cesari M, Duque G, Ferry M, Guerin O, Hanon O, Lesourd B, Morley J, Raynaud-Simon A, Ruault G, Souberbielle JC, Vellas B. French Group of Geriatrics and Nutrition. Vitamin D supplementation in older adults: searching for specific guidelines in nursing homes. *J Nutr Health Aging* 2013;17:402-12.
23. Lee RH, Weber T, Colón-Emeric C. Comparison of cost-effectiveness of vitamin D screening with that of universal supplementation in preventing falls in community-dwelling older adults. *J Am GeriatrSoc* 2013;61:707-14.
24. Hathcock JN, Shao A, Vieth R, Heaney R. Risk assessment for vitamin D. *Am J ClinNutr.* 1 janv 2007;85(1):6-18.
25. Sanders KM, Stuart AL, Williamson EJ, et al. Annual high-dose oral vitamin D and falls and fractures in older women: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2010;303:1815-22
26. Kristal AR, Till C, Song X, Tangen CM, Goodman PJ, Neuhauser ML, et al. Plasma vitamin D and prostate cancer risk: results from the Selenium and vitamin E cancer prevention trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* août 2014;23(8):1494-504.

Table des matières

PLAN :	9
1. PRE-REQUIS :	10
1.1. Sources de vitamine D :	10
1.2. Métabolisme de la vitamine D :	12
1.3. Effets cellulaires de la vitamine D :	13
1.3.1. Effets génomiques classiques :	14
1.3.2. Effets génomiques non classiques :	14
1.3.3. Effets non génomiques :	16
1.4. Hypovitaminose D :	17
1.4.1. Définition :	17
1.4.2. Techniques de dosage :	18
1.5. Hypovitaminose D chez les personnes âgées :	19
1.5.1. Prévalence :	19
1.5.2. Enjeux :	20
1.6. Vitamine D et économie de santé :	21
1.7. Objectifs du travail de Thèse :	22
2. ARTICLE :	23
3. CONCLUSION DU TRAVAIL DE THESE :	53
4. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES DES PRE-REQUIS :	54

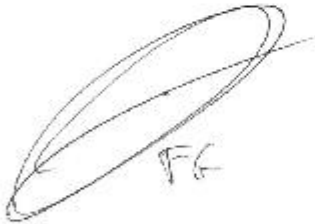
PERMIS D'IMPRIMER

THÈSE DE Madame Legeay-Martin Mathilde

Vu, le Directeur de thèse


Dr ANNWEILER Gadio
Généraliste
Faculté de Médecine
Université d'Angers
2, rue de la Chapelle, 49100 Angers

Vu, le Président du jury de thèse


FR

**Vu, le Doyen de la
Faculté de Médecine
d'ANGERS**


Pr. Richard
pour le
Professeur I. RICHARD

Vu et permis d'imprimer



01 42 86 40 00 www.univ-angers.fr

