



UNIVERSITÉ DE LILLE
FACULTÉ DE MÉDECINE HENRI WAREMBOURG
Année : 2024

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN MÉDECINE

**Le test d'activation des basophiles : biomarqueur de la réussite de
l'induction de tolérance orale à l'arachide ?**

Présentée et soutenue publiquement le 12 janvier 2024 à 16h00
au Pôle Recherche
par **Marie d'AMONVILLE**

JURY

Présidente :

Madame la Professeure Cécile CHENIVESSE

Assesseures :

Madame la Docteure Stéphanie ROGEAU

Madame la Docteure Marie MOYART

Directeur de thèse :

Monsieur le Professeur Antoine DESCHILDRE

AVERTISSEMENT

La faculté n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses : celles-ci sont propres à leurs auteurs.

Table des matières

Liste des abréviations	7
Résumé	8
Introduction	10
Matériels et méthodes	14
I. Caractéristiques générales	14
II. Population de l'étude.....	14
A. Critères d'inclusion	14
B. Critères d'exclusion	14
III. Données anamnestiques recueillies	15
IV. L'induction de tolérance orale à l'arachide	17
A. Protocole et déroulement de l'ITO	17
B. Définition de la réussite de l'ITO	20
V. TPO post-ITO	21
A. Bilan paraclinique	21
B. Déroulement du TPO.....	21
C. Définition de la négativité du TPO post-ITO	23
VI. Le test d'activation des basophiles	24
A. Principe du test d'activation des basophiles	24
1. Déroulement du TAB.....	25
1.1. Conditions de réalisation	25
1.2. Préparation des milieux	26
1.3. Incubation au bain-marie	29
1.4. Lyse et lavage	29
1.5. Analyse en cytométrie de flux.....	30
1.6. Identification des basophiles par la CMF.....	31
1.7. Identification des basophiles activés par CMF	31
2. L'interprétation des résultats	32
B. Les paramètres étudiés lors du TAB	36
1. La réactivité des basophiles.....	36

2. La sensibilité des basophiles	37
VII. Analyses statistiques	40
Résultats	41
I. Caractéristiques générales	41
II. Résultats du TAB post-ITO et réussite de l'ITO	44
A. Réactivité des basophiles et réussite de l'ITO.....	44
1. Positivité du TAB et dilution minimale activatrice.....	44
2. Le ratio des basophiles activés CD63 ⁺ par l'allergène sur les basophiles activés CD63 ⁺ par l'anticorps anti-FcεRI.....	44
2.1. TAB arachide.....	44
2.2. TAB rArah2.....	44
3. Le CDmax	46
B. Sensibilité des basophiles et réussite de l'ITO	48
1. La concentration minimale activatrice	48
2. Le CD-sens	48
C. Performance du TAB post-ITO et réussite de l'ITO.....	50
III. Étude des autres marqueurs allergologiques après l'ITO et réussite de l'ITO	52
A. IgE post-ITO et réussite de l'ITO	52
B. Tests cutanés post-ITO et réussite de l'ITO	53
C. Étude d'un marqueur combinant les IgE avec un paramètre du TAB et réussite de l'ITO	54
IV. Évolution des paramètres biologiques et réussite de l'ITO.....	55
A. Évolution du TAB et réussite de l'ITO.....	55
B. Évolution des marqueurs biologiques (IgE, IgG4) et réussite de l'ITO.....	55
Discussion	57
I. TAB et suivi d'ITO	58
II. Personnalisation de l'ITO	65
III. Forces et limites de l'étude	67

A. Forces de l'étude	67
1. La méthodologie.....	67
2. La population de l'étude	68
B. Limites de l'étude.....	68
1. La méthodologie.....	68
2. La population de l'étude	69
3. La durée d'ITO	70
IV. Avantages et limites du TAB	70
A. Avantages.....	70
B. Limites	71
1. Étude in vitro sanguine.....	71
2. Conditions de réalisation et coût	71
3. Patients non répondeurs	72
<i>Conclusion</i>.....	73
<i>Références bibliographiques</i>	75
<i>Annexes</i>	79

Liste des abréviations

Ac	Anticorps
CCR	Chemokine cell receptor
CD	Cluster de différenciation
CMF	Cytométrie de flux
DCR	Dose cumulée réactogène
IgE	Immunoglobuline E
ITO	Induction de tolérance orale
MFI	Intensité de fluorescence moyenne
TAB	Test d'activation des basophiles
TC	Tests cutanés
TPO	Test de provocation oral

Résumé

Contexte : L'induction de tolérance orale (ITO) à l'arachide est une nouvelle thérapeutique proposée aux enfants allergiques à l'arachide. Sa réussite est évaluée par un test de provocation orale et il n'existe pas de marqueur permettant de prédire l'absence de réaction à ce test c'est-à-dire la réussite de la désensibilisation. Le but de cette étude était d'évaluer le test d'activation des basophiles (TAB) réalisé après l'ITO comme biomarqueur prédictif du succès d'une ITO à l'arachide.

Méthodologie : Étude rétrospective monocentrique réalisée au CHU de Lille de 2015 à 2023, ayant inclus les enfants présentant une allergie à l'arachide prouvée par test de provocation orale (TPO), ayant bénéficié d'un traitement par induction de tolérance orale puis d'un deuxième TPO avec la réalisation d'un TAB. Les 2 allergènes étudiés pour le TAB étaient l'extrait d'arachide f13 (de 100 ng/ml à 1.10^{-1} ng/mL) et le recombinant rArah2 (de 20 ng/mL à 2.10^{-2} ng/mL). L'ITO était considérée comme réussie en l'absence de réaction au TPO post-ITO (tolérance de 2191,5 mg de protéines d'arachide), réalisé au moins six mois après le début de la phase de maintenance.

Résultats : Quarante-trois enfants étaient inclus avec un âge médian de 13 ans [9 ; 16]. Les deux groupes étaient comparables vis-à-vis du sexe, des comorbidités atopiques, de l'âge à l'initiation de l'ITO, de la dose cumulée réactogène (DCR) initiale et de la durée médiane d'ITO. Les deux meilleurs paramètres du TAB pour prédire la réussite de l'ITO étaient le ratio des basophiles activés par le rArah2 sur les basophiles activés par l'anticorps anti-FcεRI aux dilutions au 1/5 et au 1/10 avec respectivement une aire sous la courbe de 0,81 [IC95% 0,67-0,94] et 0,82 [IC95% 0,70-0,95]. Les IgE arachide et rArah2 post-ITO étaient aussi performants avec une aire sous la courbe de respectivement 0,82 [IC95% 0,69-0,96] et 0,82 [IC95% 0,70-0,95]. Il n'y avait pas

de différence significative concernant les tests cutanés post-ITO, l'évolution du TAB et des marqueurs biologiques (IgE et IgG4) après l'ITO entre le groupe échec et le groupe réussite.

Conclusion : Notre étude a permis de mettre en évidence que le TAB post-ITO est un biomarqueur significativement associé à la réussite d'une ITO. Cependant, il ne paraît pas plus performant que les taux d'IgE post-ITO.

Introduction

La prévalence mondiale de l'allergie alimentaire n'a cessé d'augmenter au cours des deux dernières décennies, devenant un véritable enjeu de santé publique.

L'allergie alimentaire en France toucherait aujourd'hui 5,94% [IC95% 5,54-6,34] des enfants entre la naissance et l'âge de 5,5 ans selon les données de la cohorte ELFE (1).

L'allergie à l'arachide est la troisième allergie alimentaire la plus fréquente en France après le lait et l'œuf, avec une prévalence évaluée à 0,93 % [IC95% 0,75-1,12] pour les enfants jusqu'à 5,5 ans et 0,6% [IC95% 0,3-1] pour les enfants de 6 à 17 ans (2). Elle toucherait 1,55% [IC95% 1,18-0,93] des enfants de toute tranche d'âge en Europe (3), avec une médiane d'âge de 3 ans (1).

L'allergie à l'arachide, dont le diagnostic est établi par un test de provocation oral positif (4), se caractérise par des symptômes plus graves que la plupart des autres allergies alimentaires (5, 6) avec un risque majeur d'anaphylaxie en cas d'exposition (7, 8).

Le traitement de l'allergie à l'arachide repose sur l'éviction stricte de l'aliment, ainsi que l'utilisation éventuelle de thérapeutiques incluant un stylo auto-injecteur d'adrénaline en cas d'exposition accidentelle (9).

Le risque d'accidents anaphylactiques en cas d'exposition ainsi que la complexité de l'éviction de l'arachide dans l'alimentation sont à l'origine d'une anxiété importante (5) et d'une très forte altération de la qualité de vie pour les enfants allergiques (10).

L'induction de tolérance orale a pour but d'induire une tolérance par la consommation quotidienne de l'aliment afin de protéger l'enfant face à une exposition accidentelle. Elle permet une désensibilisation plutôt qu'une guérison, avec une protection durable (11, 12) ainsi qu'une franche amélioration de la qualité de vie des enfants allergiques (12, 13). De nombreuses études ont prouvé l'efficacité et la sécurité (14, 15, 16) du traitement pour les enfants de moins de 4 ans (17, 13) ainsi que pour les enfants de 4 à 17 ans (1, 18). Anagnostou et al. ont ainsi montré une efficacité chez 62% [IC95% 45-78] des patients, avec une multiplication par 25 de la dose cumulée réactogène entre le test de provocation oral (TPO) initial diagnostique et le deuxième TPO réalisé après 26 semaines d'ITO (15).

Elle fait désormais partie intégrante des recommandations européennes du traitement de l'allergie à l'arachide pour les enfants de plus de 4 ans présentant une allergie sévère (19).

Après la mise en place d'une ITO, il est donc aujourd'hui nécessaire de réaliser un deuxième test de provocation orale pour établir la réussite de la désensibilisation ou la persistance de l'allergie.

Ce deuxième TPO, dit post-ITO, expose de nouveau l'enfant à des risques importants (20) et engendre une source de stress pour les enfants et les parents.

De plus, une réaction lors de ce test peut conduire à un arrêt de l'ITO par découragement des enfants et des parents. La principale difficulté consiste donc à déterminer le moment approprié pour réaliser le TPO post-ITO. Pour cela, des marqueurs biologiques ou cutanés seraient utiles pour prédire après l'induction de tolérance orale, la réussite ou non de la désensibilisation, avant d'effectuer le deuxième test de provocation.

Les outils disponibles aujourd'hui dans notre pratique clinique (tests cutanés et IgE) ne nous permettent pas de prédire la réussite de l'ITO.

Le test d'activation des basophiles consiste à exposer les basophiles du patient à l'allergène suspecté permettant de reproduire *in vitro* les conditions ayant conduit aux réactions allergiques *in vivo*.

Après reconnaissance de l'allergène et liaison aux IgE présents dans le sang du patient, le couple allergène-IgE se lie aux récepteurs de haute affinité Fc ϵ RI présents à la surface des basophiles, entraînant la dégranulation cellulaire et donc la libération de médiateurs pouvant être mesurés en cytométrie de flux.

Certaines études font état d'une diminution de la réactivité des basophiles au cours de l'ITO (21, 17). Ce test semble d'ailleurs présenter une meilleure spécificité que les tests cutanés ou les IgE (22, 23, 24).

Dans cette étude, nous proposons d'évaluer le TAB comme outil prédictif du succès d'une ITO à l'arachide chez 44 enfants suivis au CHU de Lille dans l'unité d'allergologie pédiatrique, présentant un diagnostic certain d'allergie à l'arachide confirmé par TPO, ayant été traités par induction de tolérance orale, et ayant réalisé un TPO final post-ITO.

L'objectif principal de cette étude était donc de déterminer si un paramètre du test d'activation des basophiles était corrélé à la réussite de l'ITO et pourrait prédire sa réussite.

Nos objectifs secondaires étaient les suivants :

- Déterminer si les IgE réalisés après traitement par induction de tolérance orale étaient prédictifs du succès de l'ITO.
- Déterminer si les tests cutanés réalisés après traitement par induction de tolérance orale étaient prédictifs du succès de l'ITO.
- Déterminer si l'évolution des paramètres biologiques au cours de l'ITO : IgE et IgG4 était prédictive du succès de l'ITO.
- Déterminer si l'évolution des paramètres du TAB au cours de l'ITO était prédictive du succès de l'ITO.
- Déterminer si un marqueur combinant un paramètre du TAB et les IgE était prédictif du succès de l'ITO.

Matériels et méthodes

I. Caractéristiques générales

Il s'agit d'une étude diagnostique rétrospective monocentrique réalisée au sein du service de pneumologie et allergologie pédiatriques du CHU de Lille, de janvier 2015 à juin 2023. Les données étaient collectées de manière prospective conformément à un protocole de service, puis analysées rétrospectivement. Un formulaire de non opposition à la participation à l'étude était remis par voie postale aux patients (Déclaration CNIL n°DEC23-016).

II. Population de l'étude

A. Critères d'inclusion

La population cible comprenait les enfants âgées de 3 à 18 ans, présentant une allergie à l'arachide, ayant bénéficié d'un test d'activation des basophiles (TAB) à l'arachide lors du test de provocation orale (TPO) réalisé après l'induction de tolérance orale (ITO) à l'arachide. L'allergie à l'arachide devait avoir été initialement confirmée par un test de provocation oral positif.

B. Critères d'exclusion

Les critères d'exclusion étaient les suivants :

- Un traitement en cours par omalizumab
- Un TAB ininterprétable
- Un TPO ininterprétable

III. Données anamnestiques recueillies

Pour chaque patient, nous avons recueilli les données suivantes :

- **Les données générales :**

- Le sexe
- L'âge

- **Les comorbidités allergiques :**

- L'existence d'un asthme, d'une dermatite atopique ou d'une rhinite allergique
- La présence d'une allergie alimentaire aux fruits à coque ou d'une autre allergie alimentaire
- La présence d'une allergie respiratoire ou d'une sensibilisation aux pollens

- **Les caractéristiques de l'allergie à l'arachide :**

- L'âge du diagnostic

- **Les données cliniques recueillies lors du TPO pré-ITO et du TPO post-ITO**

- L'âge lors de la réalisation
- La dose cumulée réactogène en mg de protéines d'arachide
- La sévérité de la réaction observée définie selon la classification d'Astier
- Les traitements reçus par le patient

- La nécessité d'une hospitalisation en soins conventionnels ou en réanimation au décours

- **Les paramètres du test d'activation des basophiles recueillis lors du TPO pré-ITO (si disponibles) et du TPO post-ITO pour l'arachide et le rArah2 :**
 - Le témoin positif
 - Le pourcentage de basophiles activés pour chaque dilution (pure, 1/5, 1/10, 1/100, 1/1000)
 - Le CDmax
 - La concentration minimale activatrice
 - Le CD-sens

- **Les données paracliniques recueillies lors du TPO pré-ITO et du TPO post-ITO :**
 - Tests cutanés : témoin positif à l'histamine et test à l'extrait natif d'arachide
 - Dosage des IgE spécifiques : IgE arachide et recombinants (rArah1, rArah2, rArah3, rArah6, rArah8 et rArah9)

- **Les données relatives à l'ITO :**
 - La durée totale de l'ITO et la durée de la phase d'escalade des doses
 - La prise d'un antihistaminique quotidien lors de l'ITO
 - La nécessité de reculer à la dose précédente ou de maintenir la même dose lors des montées de doses de l'ITO

- Les effets secondaires relevés : respiratoires, digestifs, ORL et dermatologiques
- L'anxiété ou le dégoût lors de l'ITO
- Les éventuelles réactions anaphylactiques en cours d'ITO avec ou sans injection d'adrénaline

IV. L'induction de tolérance orale (ITO) à l'arachide

A. Protocole et déroulement de l'ITO

L'induction de tolérance orale a pour objectif, par la consommation quotidienne d'arachide, d'induire une tolérance et donc de protéger l'enfant allergique face à une éventuelle consommation accidentelle.

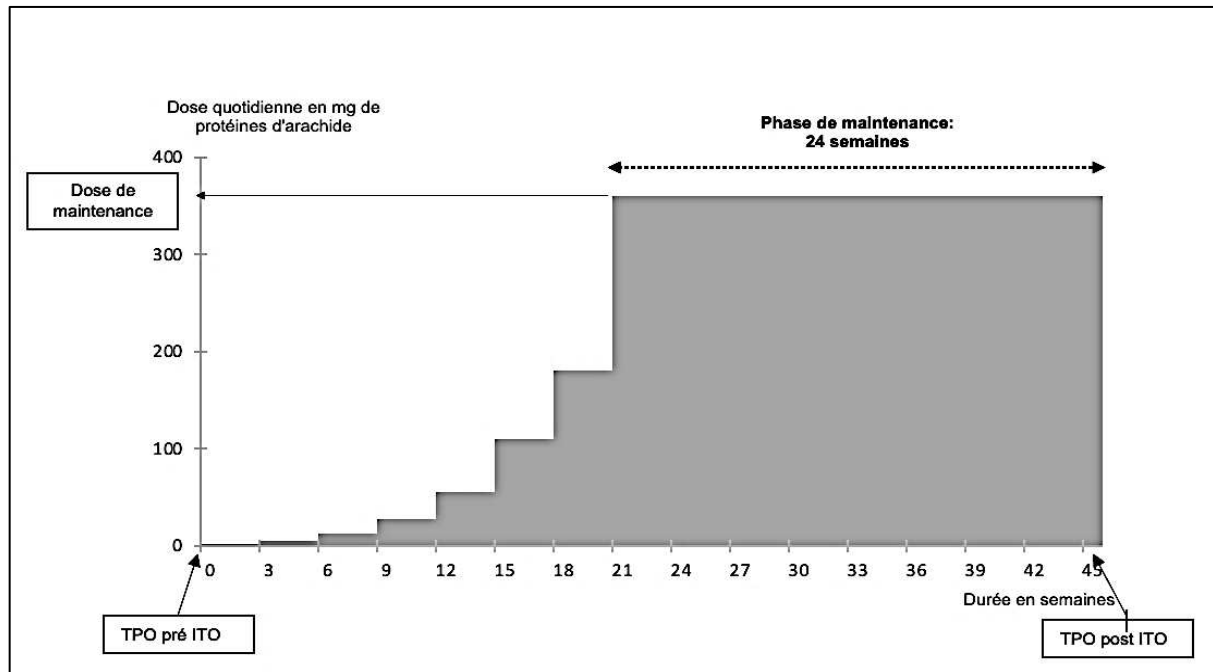
L'allergie à l'arachide devait avoir été initialement confirmée par un TPO dit pré-ITO, effectué selon les mêmes modalités que le TPO post-ITO (voir ci-dessous). La dose cumulée réactogène (DCR) initiale était recueillie.

Le traitement de l'allergie à l'arachide par induction de tolérance orale était proposé par information orale lors d'une consultation préalable au TPO puis décidé le jour du TPO pré-ITO après recueil du consentement éclairé, oral et écrit, des parents et de l'enfant.

Le protocole d'induction de tolérance orale à l'arachide réalisé dans le service est inspiré de l'étude Agnanostou (15) (figure I). Il comprenait une phase d'escalade au cours de laquelle les doses quotidiennes d'arachide étaient progressivement augmentées, puis une phase de maintenance au cours de laquelle la dose maximale du protocole (320 à 400 mg de protéines d'arachide) était maintenue jusqu'à la réalisation d'un nouveau TPO.

Le protocole d'augmentation des doses est rapporté tableau I.

Figure I. Protocole d'induction de tolérance orale à l'arachide du service



La première dose de 2 mg ou 4 mg (selon la DCR du TPO pré-ITO) était débutée dès le lendemain de la réalisation du TPO pré-ITO. La prise d'ITO était ensuite quotidienne. Elle devait s'effectuer lors d'un repas, avec une surveillance au décours de 2 heures. L'administration ne devait pas être réalisée dans les 2 heures précédant une activité sportive, lors d'un épisode infectieux avec fièvre ou avec la prise concomitante d'anti-inflammatoires non stéroïdiens. Les montées de doses étaient effectuées toutes les 3 à 4 semaines en hôpital de jour, après examen clinique .

Pendant l'interrogatoire étaient relevés les éventuels accidents anaphylactiques survenus au domicile, les effets indésirables présentés (respiratoires, digestifs, ORL, cutanés). L'observance du traitement ainsi que l'existence d'un dégoût éventuel étaient évalués.

Les médicaments de la trousse d'urgence, la connaissance du plan d'action ainsi que des techniques d'administration de l'adrénaline intra-musculaire étaient également vérifiés à chaque hospitalisation.

Tableau I. Schéma d'augmentation des doses lors de l'ITO à l'arachide

		Dose en mg d'arachide	Dose en mg de protéine d'arachide	Dosage et forme de la prise
P H A S E D' E S C A L A R D E	<i>Dose n°1</i> <i>Facultative</i> <i>si la DCR initiale était ≤5mg de protéines d'arachide</i>	1,6 mg	0,5 mg	2 mg de <u>farine d'arachide</u>
	Dose n°2	6,3 mg	2 mg	4 mg de <u>farine d'arachide</u>
	Dose n°3	15,6 mg	5 mg	10 mg de <u>farine d'arachide</u>
	Dose n°4	39,1 mg	12,5 mg	25 mg de <u>farine d'arachide</u>
	Dose n°5	87,5 mg	28 mg	3cm de <u>biscuit Curly®</u>
	Dose n°6	172 mg	55 mg	1,5 <u>biscuits Curly®</u>
	Dose n°7	343,8 mg	110 mg	3 <u>biscuits Curly®</u>
	Dose n°8	500 à 625 mg	160 à 200 mg	1 <u>cacahuète</u>
PHASE DE MAINTENANCE	Dose n°9	1000 à 1250 mg	320 à 400 mg	2 <u>cacahuètes</u>

La dose était administrée avec un véhicule (compote de pomme), et une surveillance clinique de 2 heures était ensuite effectuée.

En l'absence de symptôme lors de la montée de dose, effectuée sous surveillance hospitalière, cette dose était ensuite maintenue quotidiennement jusqu'à la prochaine augmentation.

Dans le cas d'une mauvaise tolérance au domicile ou de la survenue d'une réaction allergique lors de la montée de dose effectuée en hospitalisation, il pouvait être décidé, sur appréciation médicale :

- Un report de la montée de dose
- Un retour au palier antérieur
- Une poursuite de l'induction de tolérance avec l'association d'un traitement par antihistaminiques.

Dans le cas d'un dégoût important de l'arachide sous la forme proposée, d'autres aliments équivalents en terme de quantité de protéines d'arachide pouvaient être proposés par la diététicienne du service pour permettre une meilleure tolérance.

Lorsque la dose maximale quotidienne, dite de maintenance, de 2 cacahuètes (320 mg à 400 mg de protéines d'arachide) était atteinte, celle-ci était maintenue jusqu'à la réalisation du test de provocation orale post-ITO.

B. Définition de la réussite de l'ITO

L'ITO était considérée comme réussie si le TPO post-ITO était négatif, c'est-à-dire une tolérance de 2191,5 mg de protéines d'arachide. Le TPO post-ITO était effectué au moins 6 mois après le début de la phase de maintenance.

Un suivi médical annuel par consultation était ensuite organisé.

V. TPO post-ITO

A. Bilan paraclinique

Le bilan paraclinique réalisé lors du TPO post-ITO comprenait :

- Un test cutané réalisé avec de l'arachide native, un témoin positif à l'histamine et un témoin négatif au sérum physiologique.

- Un prélèvement veineux périphérique avec :
 - Un test d'activation des basophiles (TAB), détaillé ci-après
 - Le dosage des IgE spécifiques de l'arachide, exprimées en kUa/L (système CAP FEIA, Thermofisher®)
 - Le dosage des IgE spécifiques des composants moléculaires de l'arachide : rArah1, rArah2, rArah3, rArah8 et rArah9, exprimées en kUa/L (système CAP FEIA, Thermofisher®)
 - Le dosage des IgG4 spécifiques de l'arachide et des IgG4 spécifiques du rArah2, exprimées en mg/L (système CAP FEIA, Thermofisher®)

B. Déroulement du TPO

Le test de provocation orale (TPO) post-ITO était effectué en ouvert et permettait de déterminer la réussite ou l'échec de l'induction de tolérance orale à l'arachide.

Il était réalisé en hôpital de jour d'allergologie pédiatrique, sous surveillance médicale, selon le protocole standard du service. Un chariot d'urgence vérifié devait se tenir à proximité de la chambre. Le consentement éclairé écrit des parents était recueilli.

Un examen clinique médical préalable était effectué afin d'éliminer une éventuelle contre-indication au test telle qu'une infection concomitante, une exacerbation d'asthme ou une prise récente d'un traitement antihistaminique. Une voie veineuse

périphérique était posée et le bilan sanguin ainsi que les tests cutanés étaient réalisés avant l'ingestion de la première dose.

La prise des constantes comprenant la mesure de la saturation en oxygène, de la pression artérielle et de la fréquence cardiaque était effectués avant l'initiation du TPO puis avant l'administration de chacune des doses suivantes.

Les doses d'arachide avaient été préalablement préparées à partir de cacahuètes grillées industrielles broyées et pesées et étaient administrées à l'aide d'une compote de pomme. Aucun autre aliment que l'arachide ne devait avoir été consommé jusqu'à 30 minutes après l'ingestion de la dernière dose du test.

Les 9 doses d'arachide étaient administrées progressivement toutes les 20 à 30 minutes selon le schéma d'administration du tableau II, après contrôle des constantes et vérification de l'absence de symptôme évocateur de réaction allergique.

Devant des symptômes évocateurs de réaction allergique (cutané, digestif, respiratoire, cardiovasculaire ou neurologique), le TPO était arrêté selon le tableau décisionnel ci-joint (annexe 2). La gravité de la réaction était évaluée selon le score clinique d'Astier (annexe 3). Un traitement par antihistaminiques et/ou adrénaline intramusculaire pouvait être administré pour soulager les symptômes.

Ainsi, la dose cumulée réactogène (DCR) était définie comme la dose totale d'arachide ingérée ayant entraîné une réaction allergique anaphylactique, et ayant donc justifié l'arrêt du TPO. La surveillance médicale totale était de 4 heures après la dernière dose ou 4 heures après la réaction clinique présentée.

Tableau II. Schéma d'administration des doses d'arachide lors du TPO

	Dose de la prise en mg d'arachide	Dose cumulée en mg d'arachide	Dose de la prise en mg de protéines d'arachide	Dose cumulée en mg de protéines d'arachide
Prise n°1	5 mg	5 mg	1,25 mg	1,25 mg
Prise n°2	10 mg	15 mg	2,5 mg	3,75 mg
Prise n°3	50 mg	65 mg	12,5 mg	16,25 mg
Prise n°4	200 mg	265 mg	50 mg	66,25 mg
Prise n°5	500 mg	765 mg	125 mg	191,25 mg
Prise n°6	1000 mg	1765 mg	250 mg	441,25 mg
Prise n°7	2000 g	3765 mg	500 mg	941,25 mg
Prise n°8	5000 g	8765 mg	1250 mg	2191,5 mg
Prise n°9	5000 g	13765 mg	1250 mg	3441,25 mg

C. Définition de la négativité du TPO post-ITO

Le TPO post-ITO était considéré négatif, en l'absence de réaction clinique pour la dose cumulée de 2191,5 mg de protéines d'arachide, soit en l'absence de signe clinique évocateur d'anaphylaxie après l'avant dernière dose de 1250 mg de protéines d'arachide.

VI. Le test d'activation des basophiles (TAB)

A. Principe du test d'activation des basophiles

Le test d'activation des basophiles a pour but de recréer *in vitro* les conditions ayant conduit aux réactions allergiques *in vivo*.

Il consiste à exposer les basophiles du patient à un allergène suspecté. La reconnaissance de l'allergène par les IgE spécifiques couplées aux récepteurs de haute affinité Fc ϵ RI présents à la surface des basophiles entraîne le pontage de ces derniers et une cascade de réactions intracellulaires aboutissant à l'activation et la dégranulation des basophiles.

Ces événements entraînent la libération de médiateurs (notamment de l'histamine), responsables des symptômes connus de l'allergie IgE médiée. L'activation et la dégranulation se traduisent également par des modifications phénotypiques qui peuvent être mesurées en cytométrie de flux (CMF), grâce à 2 marqueurs :

- Le CD63 (cluster de différenciation 63), également appelé Lysosomal Associated protein 3 ou LAMP-3 est une protéine présente à la surface des basophiles, des mastocytes, des monocytes et des plaquettes. Lorsque les basophiles dégranulent en réponse à un allergène, le CD63 est transloqué vers la membrane cellulaire externe des basophiles avec un laps de temps de 10 à 25 minutes. L'expression de CD63 à la surface des basophiles est donc un marqueur de dégranulation du basophile.
- Le CD203c (cluster de différenciation 203c), également appelé ectonucléotide pyrophosphatase phospho-diestérase ou E-NPP3 est une enzyme présente de manière constitutive à la surface des basophiles et des mastocytes. Sa

surexpression rapide (5 à 15 minutes) à la surface des basophiles est un témoin d'activation des basophiles.

D'autres marqueurs peuvent être choisis par le laboratoire.

Le principe du TAB est résumé sur la figure II.

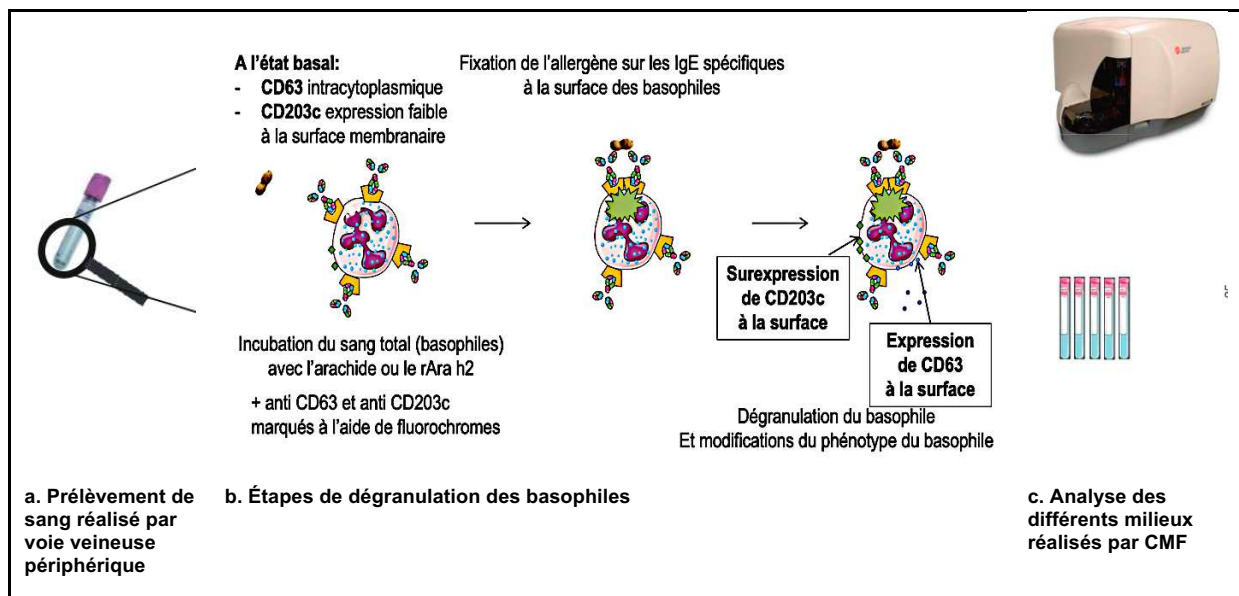


Figure II. Schéma descriptif du principe du test d'activation des basophiles (TAB), inspiré de l'étude « la place des examens biologiques dans l'allergie alimentaire, de la prévention au traitement » de Stéphanie Rogeau (25)

1. Déroulement du TAB

1.1. Conditions de réalisation

Les échantillons de sang étaient prélevés sur sang veineux périphérique, dans un tube EDTA (4 mL) avant le test de provocation oral.

Ils étaient ensuite envoyés immédiatement à température ambiante au laboratoire et analysés dans la demi-journée. Le TAB devait être effectué au moins six semaines après un accident allergique pour permettre une reconstitution optimale des granules des basophiles.

Les tests d'activation des basophiles de cette étude étaient réalisés, de manière standardisée, dans le laboratoire d'immunologie du CHU de Lille à l'aide du kit Flow CAST® et de 2 flacons d'allergènes standardisés, fournis par BÜHLMANN : l'extrait natif d'arachide f13 ainsi qu'une protéine recombinante de l'arachide : rArah2.

Le laboratoire du CHU de Lille utilisait en plus de ce kit un anticorps supplémentaire couplé au fluorochrome Pc7 : l'anticorps anti-CD203c, fourni par Beckman Coulter.

Le kit Flow CAST® (Bühlmann), prévu pour la réalisation de 100 TAB, contenait :

- 1 flacon de tampon de stimulation (contenant du calcium, de l'héparine et de l'interleukine 3) : à reconstituer avec 50 cL d'eau
- 1 flacon de contrôle de stimulation contenant des anticorps anti-FcεRI: à reconstituer avec 1,5 mL du tampon de stimulation
- 1 contrôle de stimulation contenant du formyl-méthionyl-leucyl-phénylalanine (fMLP) : à reconstituer avec 1,5 mL du tampon de stimulation
- 1 flacon de réactif de coloration contenant un mélange d'anticorps anti-CD63 marqués à l'isothiocyanate de fluorescéine (anti-CD63-FITC) et d'anticorps anti-CCR3 marqués à la phycoérythrine (anti-CCR3-PE)
- 1 flacon de réactif de lyse : à diluer avec 225 mL d'eau déionisée
- 1 flacon de tampon de lavage (avec 0,1% de formaldéhyde)

1.2. Préparation des milieux

13 milieux étaient préparés. L'ensemble des tubes était annoté.

- **Milieu n°1 « PB » : le témoin négatif**

Le but était de vérifier l'absence d'activation spontanée des basophiles.

Dans ce tube était ajouté 50 µL du tampon de stimulation.

- **Milieu n°2 « PC1 » : le 1^{er} témoin positif**

Le but était de vérifier la capacité des basophiles à dégranuler, induite par l'anticorps monoclonal anti-FcεRI venant se fixer aux récepteurs de haute affinité des IgE, FcεRI.

Dans ce tube était ajouté 50 µL du contrôle de stimulation anti-FcεRI.

- **Milieu n°3 « PC2 » : le 2^{ème} témoin positif**

Le but était de vérifier la capacité des basophiles à dégranuler par une autre voie que les IgE et donc de s'assurer de leur viabilité. La voie du fMLP, tripeptide bactérien, responsable de la dégranulation du basophile après fixation sur son récepteur, était utilisée.

Dans ce tube était ajouté 50 µL du contrôle de stimulation fMLP.

Ce contrôle permettait de différencier un patient non répondeur (PC1 négatif et PC2 conforme) d'un problème technique (PC1 et PC2 négatifs).

- **Milieu n°4 au milieu n°13 « Ax-y » : les solutions contenant les allergènes**

Les annotations x et y correspondaient respectivement à l'allergène ajouté et à la dilution de l'allergène utilisée.

L'allergène A1 correspondait à l'arachide f13 et l'allergène A2 à la protéine recombinante de l'arachide rArah2.

5 dilutions étaient testées pour chaque allergène, notées de 1 à 5 (1=pure, 2=1/5, 3=1/10, 4=1/100 et 5=1/1000).

Dans ces tubes étaient ajouté 50 µL de l'allergène à la dilution correspondante.

Les concentrations de chaque allergène sont détaillées dans le tableau III.

Tableau III. Concentration en extrait d'arachide et de rArah2 selon les dilutions

	Concentration en extrait d'arachide en ng/mL		Concentration en rArah2 en ng/mL	
	Concentration initiale après reconstitution et dilution	Concentration dans le milieu réactionnel	Concentration initiale après reconstitution et dilution	Concentration dans le milieu réactionnel
Dilution 1=pure	100 ng/mL	22,2 ng/mL	20 ng/mL	4,4 ng/mL
Dilution 2=1/5	20 ng/mL	4,44 ng/mL	4 ng/mL	8,8.10 ⁻¹ ng/mL
Dilution 3=1/10	10 ng/mL	2,22 ng/mL	2 ng/mL	4,4.10 ⁻¹ ng/mL
Dilution 4=1/100	1 ng/mL	2,22.10 ⁻¹ ng/mL	2.10 ⁻¹ ng/mL	4,4.10 ⁻² ng/mL
Dilution 5=1/1000	1.10 ⁻¹ ng/mL	2,22.10 ⁻² ng/mL	2.10 ⁻² ng/mL	4,4.10 ⁻³ ng/mL

Une fois les tubes préparés, 100 µL de tampon de stimulation, 50 µL de sang total, 20 µL de réactif de coloration ainsi que 5 µL d'anticorps anti-CD-203c étaient ajoutés dans chaque tube.

Le réactif de coloration contient des anticorps monoclonaux anti-CD63 marqués à l'aide d'un marqueur fluorescent : l'isothiocyanate de fluorescéine. En présence d'une

dégranulation des basophiles et donc de l'expression de CD63 à leur surface, les anti-CD63 ajoutés se fixent donc aux basophiles.

Le tableau IV récapitule la constitution des différents milieux et l'annotation des tubes.

Tableau IV. Constitution des différents milieux et annotation des tubes.

PB : témoin négatif, **PC1** : 1^{er} témoin positif, **PC2** : 2^{ème} témoin positif. Les tubes contenant les allergènes sont annotés **Ax-y** ; x correspond à l'allergène incubé (**A1**=arachide f13 et **A2**=rArah2) et y correspond à la dilution de l'allergène (1=pure, 2=1/5, 3=1/10, 4=1/100 et 5=1/1000).

	Annotation des tubes	Composition commune des tubes	Ajout supplémentaire dans le tube
Milieu 1	PB	<ul style="list-style-type: none"> - 100 µL de tampon de stimulation - 50 µL de sang total - 20 µL de réactif de coloration - 5 µL d'Ac anti-CD203C 	50 µL du tampon de stimulation
Milieu 2	PC1		50 µL du contrôle de stimulation anti-FcεRI
Milieu 3	PC2		50 µL du contrôle de stimulation fMLP
Milieu 4 au Milieu 8	A1-1 à A1-5		50 µL de la solution d'arachide à la dilution correspondante au numéro du tube
Milieu 9 au Milieu 13	A2-1 à A2-5		50 µL de la solution de rArah2 à la dilution correspondante au numéro du tube

1.3. Incubation au bain-marie

Les tubes étaient ensuite mélangés délicatement puis incubés pendant 15 minutes à 37°C au bain-marie.

1.4. Lyse et lavage

Après incubation au bain-marie, 2 mL de réactif de lyse étaient introduits dans chaque tube afin d'éliminer les érythrocytes.

Les tubes étaient ensuite incubés pendant 5 à 10 minutes à température ambiante avant d'être centrifugés 5 minutes, puis le surnageant était éliminé.

Enfin, était ajouté au culot cellulaire contenu dans le tube 300 µl de tampon de lavage.

1.5. Analyse en cytométrie de flux (CMF)

Les tubes étaient ensuite disposés dans le cytomètre de flux du laboratoire, l'automate Navios® (Beckman Coulter).

La technique de cytométrie de flux permet d'analyser les caractéristiques individuelles de chaque cellule à partir d'une suspension cellulaire, notamment leur taille et leur structure. Elle permet également d'analyser les marqueurs de surface ou intracellulaires grâce à un marquage préalable par des anticorps associés à des fluorochromes. Les cellules en suspension passent successivement devant un ou plusieurs faisceaux laser.

Des détecteurs optiques capturent les signaux émis par chaque cellule, tels que la lumière diffusée, qui fournit les informations sur la forme, la structure interne, la granularité des cellules.

Les signaux de fluorescence émis par un anticorps couplé à un fluorochrome et lié spécifiquement à une cellule sont également détectés.

Ces signaux optiques sont ensuite convertis en signaux électroniques, numérisés et analysés à l'aide d'un ordinateur. Les données collectées se présentent sous forme de graphiques ou d'histogrammes avec les différentes populations cellulaires identifiées ainsi que certains paramètres : le pourcentage (%), l'intensité de fluorescence moyenne (MFI).

1.6. Identification des basophiles par la cytométrie de flux

Les trois populations de leucocytes doivent apparaître sur le graphique visualisé : les lymphocytes, les monocytes et les granulocytes. Leur présence est un critère de qualité de l'échantillon sanguin.

Les basophiles sont distingués grâce à leur taille et leur granulosité. Un fenêtrage est effectué pour étudier plus précisément cette population identifiée ensuite à l'aide du marqueur CCR3 présent à la surface de tous les basophiles (figure III).

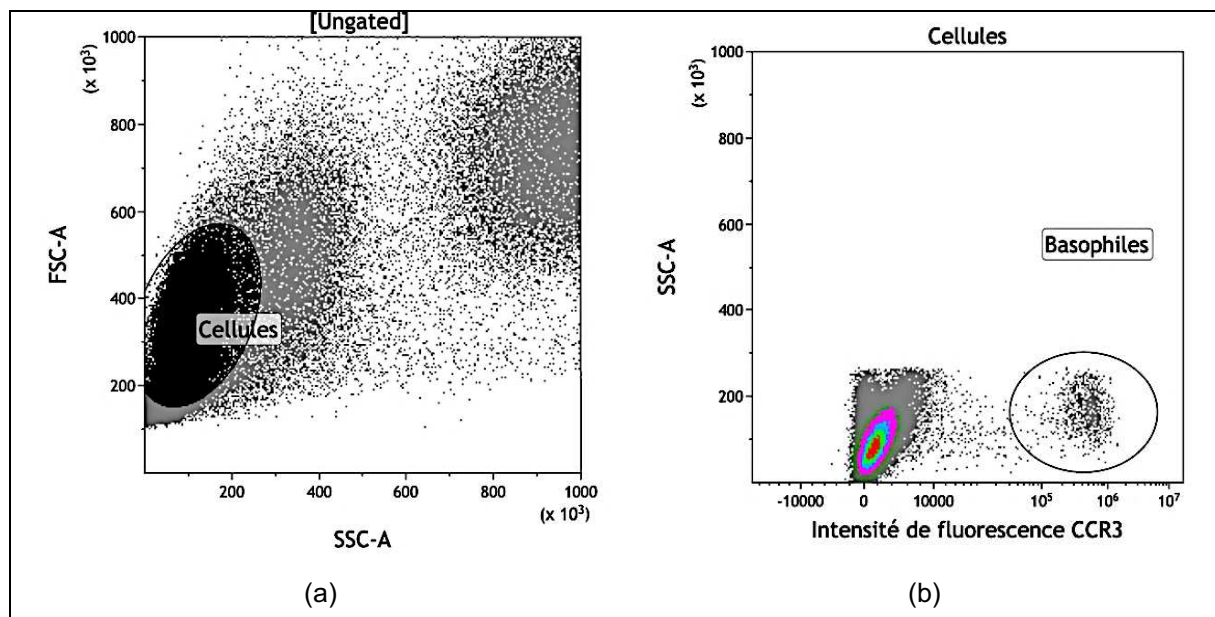


Figure III. Identification des basophiles par cytométrie de flux

(a) Identification des cellules parmi l'ensemble des éléments présents dans le tube.

(b) Identification des basophiles parmi la population cellulaire en fonction de leur structure et de l'intensité de fluorescence émise par le marqueur CCR3.

1.7. Identification des basophiles activés par cytométrie de flux

Il est nécessaire de constituer un pool de 500 basophiles minimum, nécessitant généralement une quantité totale de 500 000 leucocytes par échantillon passés sur le cytomètre, afin de pouvoir analyser les résultats des explorations.

L'intensité de fluorescence émise par les fluorochromes couplés au CD63 est ensuite mesurée. Elle permet de compter le pourcentage de basophiles exprimant le CD63, ayant donc dégranulé, sur le compte total de basophiles.

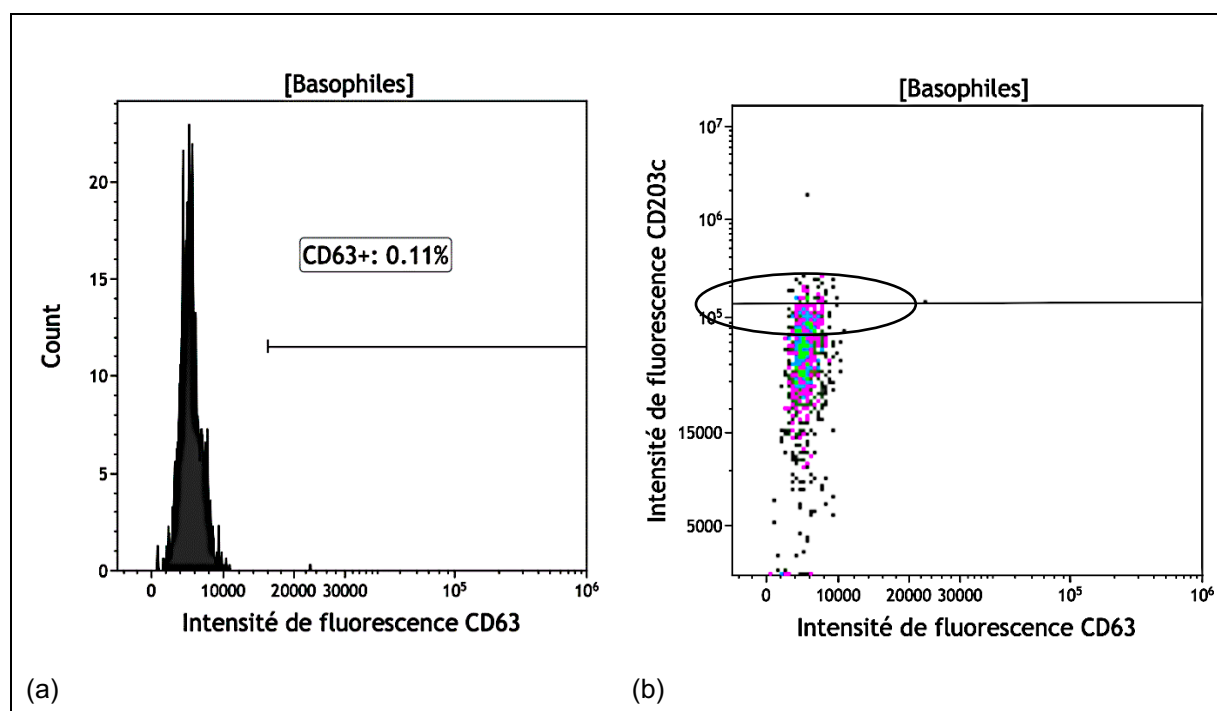
2. L'interprétation des résultats

L'interprétation des résultats nécessite 3 contrôles de qualité.

- Le 1^{er} contrôle de qualité : l'interprétation du témoin négatif « PB » :

Il est considéré comme négatif si le pourcentage de basophiles exprimant spontanément le CD63 à leur surface est inférieur à 2,5% des basophiles totaux analysés (figure IV).

Dans ce cas, on peut conclure à l'absence d'activation spontanée des basophiles du patient.



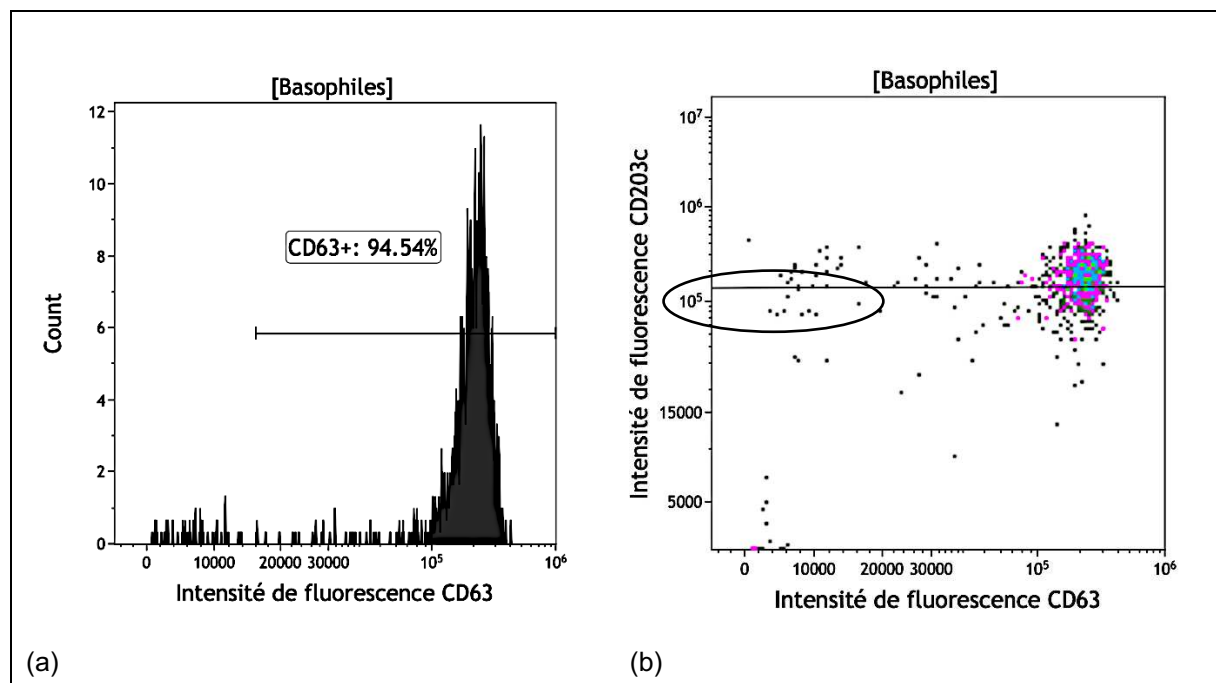
- Le 2^{ème} contrôle de qualité : l'interprétation du 1^{er} témoin positif « PC1 » :

Il est considéré comme positif si le pourcentage de basophiles activés CD63+ par les Ac anti-FcεRI est supérieur ou égal à 10% des basophiles totaux analysés (figure V).

Il permet de s'assurer de la capacité à dégranuler des basophiles du patient.

Dans le cas contraire, le patient est considéré comme non répondeur à l'anti-FcεRI, le test est ininterprétable.

Pour 10% des patients, les basophiles ne dégranulent pas, même dans des conditions de témoin positif, rendant donc le TAB ininterprétable.



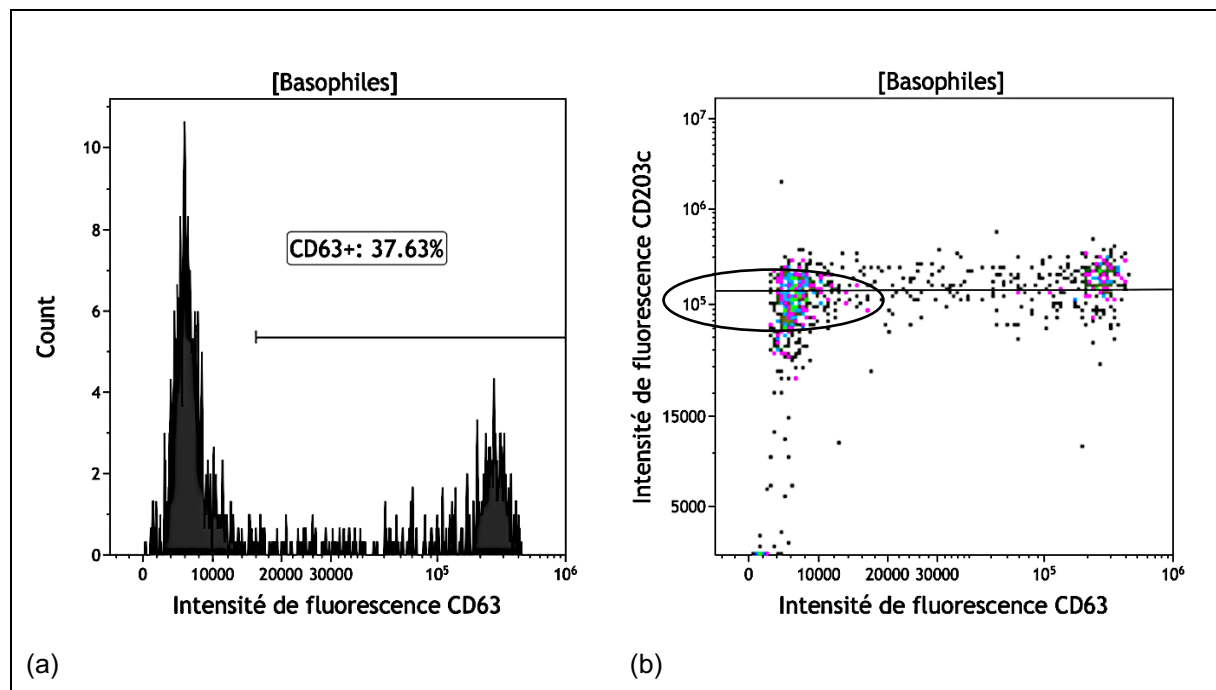
- Le 3^{ème} contrôle de qualité : l'interprétation du 2^{ème} témoin positif « PC2 » :

Il est considéré comme positif si le pourcentage de basophiles activés CD63+ par le fLMP est supérieur ou égal à 10% des basophiles totaux analysés (figure VII).

Il permet de s'assurer que les basophiles peuvent dégranuler même en l'absence de contact avec l'allergène, par une voie non IgE médiée.

Ce résultat n'est pas rendu au clinicien mais permet d'informer le biologiste médical sur la viabilité des basophiles et l'interprétabilité des résultats.

Il permet de faire la part des choses entre un problème technique (PC1 et PC2 négatifs) et un patient non répondeur (PC1 négatif et PC2 positif).



Si les 3 conditions sont réunies, les tubes contenant les allergènes peuvent ensuite être analysés par CMF.

Selon le même principe, le nombre de basophiles CD63+ est compté sur la base de l'intensité de fluorescence correspondante au marqueur CD63. Ce nombre permet d'obtenir le pourcentage de basophiles dits activés CD63+ par rapport aux basophiles totaux. La figure VIII représente les résultats obtenus en CMF pour chaque dilution d'allergène testée.

Les résultats sont rendus sous forme de diagramme (annexe 4). Les résultats seront rendus au clinicien sous forme de pourcentage de basophiles positifs pour le marqueur CD63 après stimulation avec l'allergène (annexe 5) par rapport aux basophiles totaux.

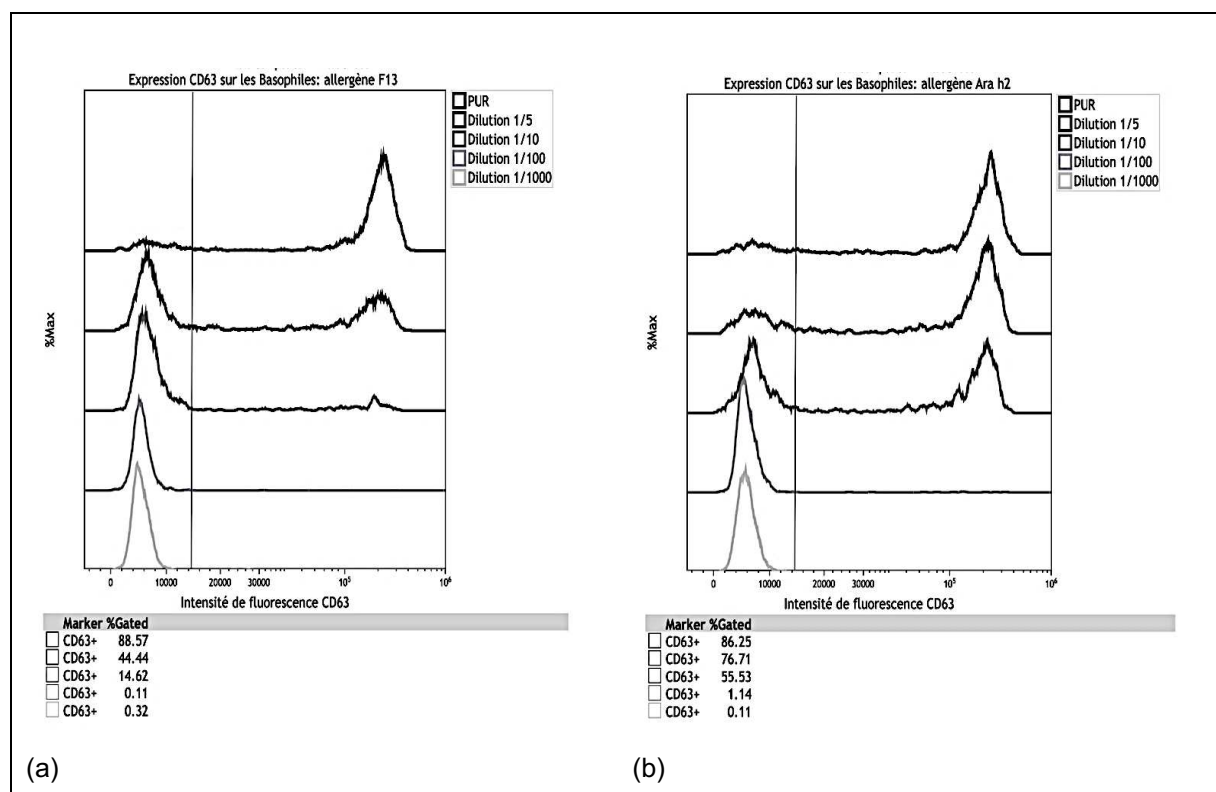


Figure VIII. Représentation des résultats obtenus en CMF pour chaque dilution d'allergène testée.

(a) pour l'allergène arachide f13

(b) pour l'allergène rAra h2

CD63+ : Pourcentage de basophiles positifs pour le marqueur CD63 sur le nombre de basophiles totaux, résultat rendu pour chaque dilution d'allergène testée.

B. Les paramètres étudiés lors du test d'activation des basophiles

Les résultats du test d'activation des basophiles permettent d'exprimer plusieurs paramètres regroupés en 2 catégories : quantitatifs ou qualitatifs.

1. La réactivité des basophiles

Les résultats reflétant la réactivité du basophile permettent de quantifier l'ampleur de la réponse des basophiles chez le patient lorsqu'il est exposé à un allergène spécifique. Cela traduit *in vitro* l'intensité avec laquelle les basophiles sont activés.

- Le témoin positif

Il s'agit du pourcentage de basophiles activés CD63+ par les Ac anti-FcεRI. Il est donc le reflet de la réactivité du basophile face à une stimulation très importante de la voie IgE médiée.

- La positivité du TAB

Selon les recommandations des fournisseurs, le test d'activation des basophiles est considéré positif pour l'extrait d'arachide f13 si le pourcentage de basophiles activés CD63+ est supérieur à 15%.

De même pour l'allergène moléculaire recombinant rArah2, il est considéré comme positif pour un pourcentage de basophiles activés CD63+ supérieur à 10%.

- La dilution minimale activatrice

Il s'agit de la dilution minimale parmi la dilution pure, 1/5, 1/10, 1/100 et 1/1000 de la concentration en arachide ou en rArah2 permettant de positiver le TAB. Il s'agit donc de la dilution minimale permettant d'obtenir un pourcentage de basophiles CD63+ supérieur à 15% ou à 10% pour l'arachide ou le rArah2 respectivement.

- Le ratio des basophiles activés CD63⁺ par l'allergène sur les basophiles activés CD63⁺ par l'anticorps anti-FcεRI

Il s'agit du pourcentage de basophiles activés CD63⁺ par l'arachide ou le rArah2 divisée par le pourcentage de basophiles activés CD63⁺ par le témoin positif.

Ce résultat est rendu pour chaque dilution d'allergène testée.

- Le CDmax

Il s'agit du pourcentage maximal de basophiles activés CD63⁺ par l'arachide ou le rArah2 parmi les différentes dilutions testées (figure IX).

2. La sensibilité des basophiles

Les résultats reflétant la sensibilité des basophiles permettent de quantifier la quantité d'allergène nécessaire pour faire réagir les basophiles du patient. Cela traduit *in vitro* la quantité d'allergène nécessaire pour déclencher une réponse immunitaire significative pour le patient.

- La Cmin

Il s'agit de la concentration minimale d'allergène nécessaire pour que le test soit considéré positif. Il s'agit donc de la concentration minimale d'arachide nécessaire pour obtenir 15% de basophiles activés et de rArah2 pour obtenir 10% de basophiles activés.

Le pourcentage de basophiles activés par les allergènes n'est connue que pour les concentrations testées. Il n'y a donc pas de mesure exacte de la Cmin.

Celle-ci est obtenu après modélisation d'une courbe de tendance logarithmique de type dose-effet, à l'aide d'un logiciel en ligne (<https://www.aatbio.com/tools/ec50-calculator>).

- L'EC50

L'EC50 ou concentration efficace médiane est un outil en biologie pour quantifier la concentration nécessaire pour provoquer une réponse spécifique à 50% de son efficacité maximale. Il s'agit ici de la concentration d'allergène nécessaire pour activer la moitié du pourcentage maximal de basophiles activés CD63+ pour l'extrait d'arachide ou le rArah2, soit la moitié de la valeur correspondante au CDmax.

L'EC50 a été obtenu après modélisation, pour chaque allergène de chaque patient, d'une courbe de tendance logarithmique de type dose-effet à l'aide d'un logiciel en ligne (<https://www.aatbio.com/tools/ec50-calculator>) (figure IX).

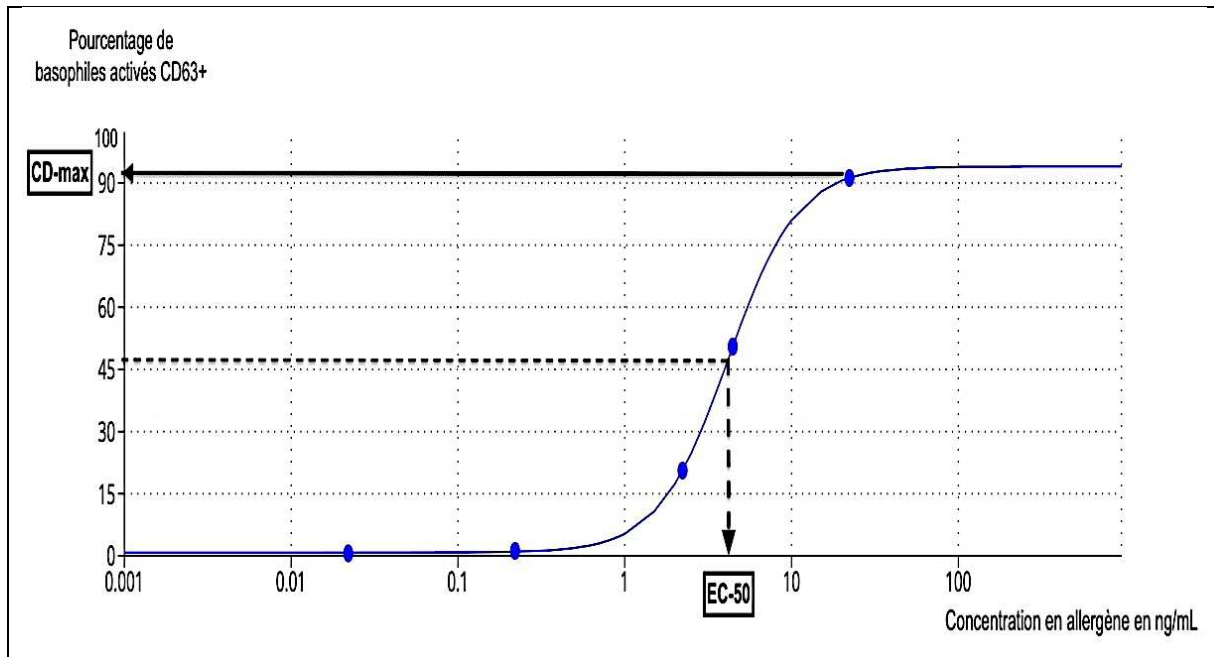


Figure IX. Courbe de tendance logarithmique, représentant le pourcentage de basophiles activés CD63+ en fonction de la concentration en allergène (ng/mL), obtenue après modélisation à l'aide du logiciel en ligne.

Le CDmax correspond au pourcentage maximal de basophiles activés CD63+ par l'arachide ou le rArah2 parmi les différentes dilutions testées.

L'EC50 correspond à la concentration d'allergène nécessaire pour activer la moitié de la valeur correspondante au CDmax.

- Le CD-sens

Il s'agit du seuil de sensibilité des basophiles pour chaque allergène.

Il s'obtient à partir de l'EC50 grâce à la formule suivante : $CD-sens = 1/EC50 \times 100$

VII. Analyses statistiques

Les variables qualitatives ont été décrites en termes de fréquences et de pourcentages. Les variables quantitatives ont été décrites par la médiane et l'intervalle interquartile en raison des effectifs.

Les paramètres qualitatifs ont été comparés entre les échecs et les succès par un test du Chi-2 ou un test exact de Fisher en cas d'effectifs théoriques <5 . Les paramètres quantitatifs ont été comparés par un test de Mann-Whitney. Le pouvoir prédictif des paramètres quantitatifs significatifs a été estimé par l'aire sous la courbe ROC et son intervalle de confiance à 95%.

Le niveau de significativité a été fixé à 5%. Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel SAS (SAS Institute version 9.4).

Résultats

I. Caractéristiques de la population

Au total, sur les 66 patients ayant bénéficié d'une ITO à l'arachide de janvier 2015 à juin 2023 dans le service, 49 ont bénéficié d'un TPO et d'un TAB post-ITO.

Douze enfants ont arrêté l'ITO du fait des effets secondaires présentés.

Parmi les 49 enfants éligibles, 43 étaient inclus : 20 filles (43,7%) et 23 garçons (56,3%). L'âge médian était de 13 ans [9 ; 16], 29 (67,4%) étaient asthmatiques, 27 présentaient une dermatite atopique (62,8%), 28 (65,1%) une rhinite allergique et 9 (20,9%) une autre allergie alimentaire.

Six enfants ont été exclus dont 5 qui présentaient un TAB post-ITO ininterprétable.

Au premier TPO, la dose cumulée réactogène médiane était de 245 mg [85 ; 1176] de protéines d'arachide.

La durée médiane de l'ITO était de 345 jours [256 ; 395] soit environ 49 semaines.

Vingt-sept enfants n'ont pas réagi à la dose cumulée de 8765 mg d'arachide soit 2191,5 mg de protéines d'arachide lors du TPO post-ITO et formaient le groupe « Réussite de l'ITO ».

Seize enfants ont réagi lors du TPO post-ITO à une dose cumulée égale ou inférieure à 2191,5 mg de protéines d'arachide et composent le groupe « Échec de l'ITO ».

Les caractéristiques cliniques des patients en fonction de leur groupe échec/réussite sont listées dans le tableau V.

Les données du TAB pré-ITO sont détaillées dans l'annexe 6.

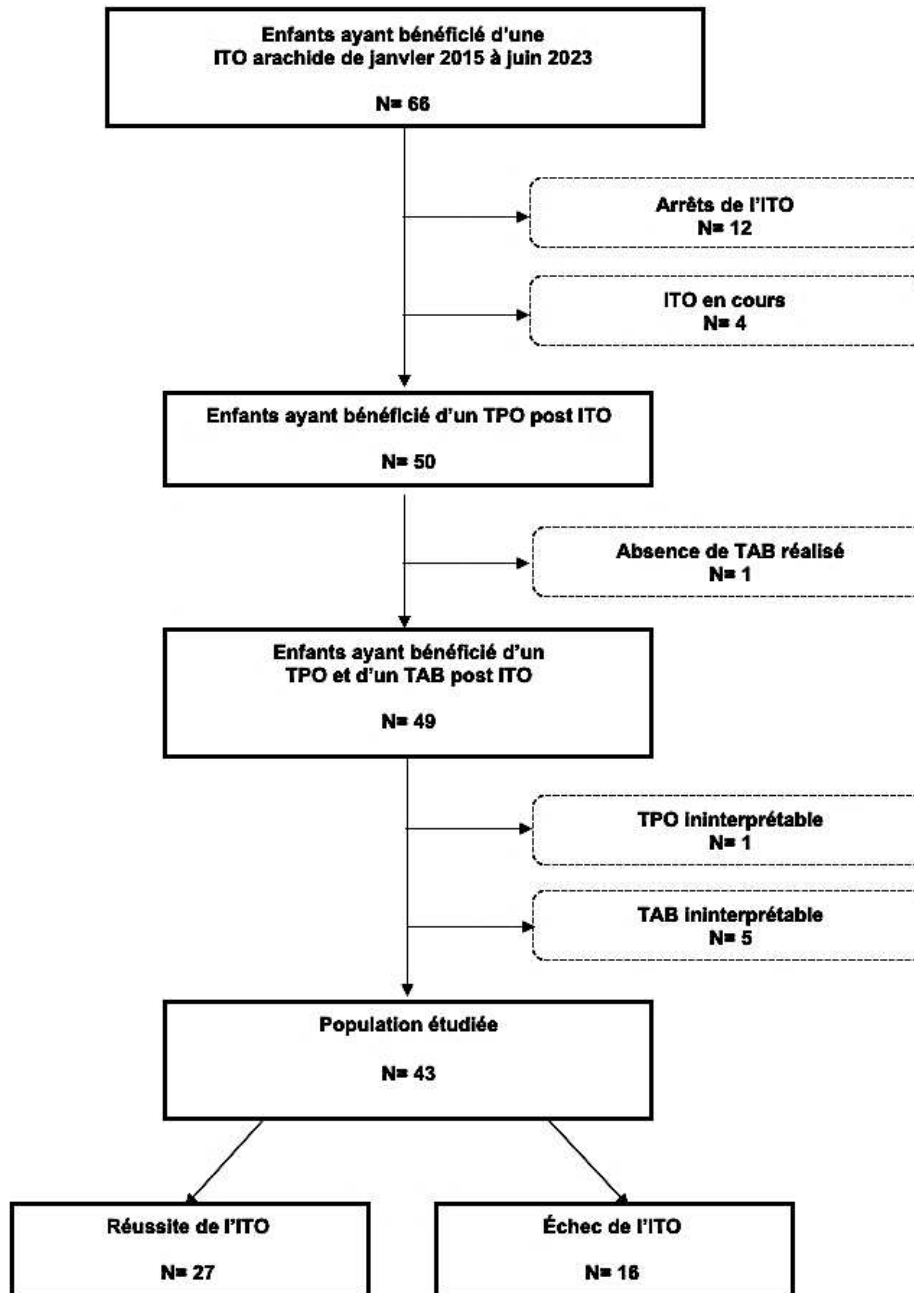


Figure X. Diagramme de flux. ITO : induction de tolérance orale ; TAB : test d'activation des basophiles ; TPO : test de provocation oral

Les deux groupes sont comparables vis-à-vis du sexe, des comorbidités atopiques (asthme, dermatite atopique, rhinite allergique ou autre allergie alimentaire) et de l'âge à l'initiation de l'ITO.

Il n'y a pas de différence significative concernant la dose cumulée réactogène (DCR) ou le grade Astier de la réaction présentée lors du TPO initial.

Les deux groupes sont également comparables vis-à-vis de la durée de l'ITO.

En revanche, il existe une différence significative concernant les IgE spécifiques arachide ($p=0,003$) et rArah2 ($p=0,001$) pré-ITO entre le groupe échec et réussite de l'ITO.

Tableau V. Caractéristiques cliniques et paracliniques des patients des groupes échec et réussite de l'ITO

	Échec n = 16	Réussite n = 27	P-value Ou Stddiff
Sexe masculin	9 (56.3)	14 (51.9)	0,78
Comorbidités atopiques			
Asthme	13 (81.3)	16 (59.3)	0,14
Dermatite atopique	11 (68.8)	16 (59.3)	0,53
Rhinite allergique	10 (62.5)	18 (66.7)	0,78
Autre allergie alimentaire	5 (31.3)	4 (14.8)	0,26
Âge au diagnostic, années	3.0 [2.0 ; 3.0]	3.0 [2.0 ; 4.0]	0,88
Âge lors du TPO initial, années	10.0 [7.0 ; 11.0]	7.0 [5.0 ; 10.0]	0,14
DCR lors du TPO initial, mg de protéines	165.0 [30.5 ; 565.0]	565.0 [85.0 ; 1204.8]	0,18
Grade Astier lors du TPO initial	2.0 [2.0 ; 3.0]	2.0 [1.0 ; 3.0]	0,07
IgE arachide (kUa/L)	66.7 [35.6 ; 100.0]	2.4 [0.8 ; 9.5]	0,003
IgE rArah2 (kUa/L)	38.6 [20.8 ; 100.0]	2.2 [0.5 ; 8.8]	0,001
Âge à l'initiation de l'ITO, années	15 [10.5 ; 16.5]	13 [9 ; 16]	0,52
Durée de l'ITO, jours	382.5 [282.0 ; 399.0]	321.0 [230.0 ; 379.0]	0,46
Nécessité de recul ou de maintien de palier lors de l'ITO	2 (12.5)	1 (4.0)	NA

Les résultats sont exprimés en médiane [Interquartiles] ou nombre (pourcentage).

NA : non analysable du fait des effectifs trop petits

II. Résultats du TAB post-ITO et réussite de l'ITO

A. Réactivité des basophiles et réussite de l'ITO

1. Positivité du TAB et dilution minimale activatrice

On remarque que 37% des patients en réussite d'ITO ont un TAB post-ITO négatif contre 6,25% pour le groupe échec. Aucun TAB post-ITO n'est positif à la dilution au 1/1000 pour les deux groupes (tableau VI).

Les patients en échec d'ITO ont une dilution minimale activatrice significativement plus basse que les patients en réussite d'ITO pour l'arachide ($p=0,0011$) et le rArah2 ($p=0,009$).

2. Le ratio des basophiles activés CD63⁺ par l'allergène sur les basophiles activés CD63⁺ par l'anticorps anti-FcεRI

2.1. TAB arachide

Le ratio des basophiles activés par l'arachide sur les basophiles activés par l'anticorps anti-FcεRI est significativement plus élevé dans le groupe en échec d'ITO pour la concentration pure, la dilution au 1/5, la dilution au 1/10 et la dilution au 1/100 (respectivement $p=0,0153$; $p=0,0030$; $p=0,0051$ et $p=0,0337$) par rapport au groupe réussite de l'ITO.

2.2. TAB rArah2

Le ratio des basophiles activés par le rArah2 sur les basophiles activés par l'anticorps anti-FcεRI est significativement plus élevé dans le groupe en échec d'ITO pour la concentration pure, la dilution au 1/5, la dilution au 1/10 et la dilution

au 1/100 (respectivement $p=0,0104$; $p=0,0012$; $p=0,0005$ et $p=0,0253$) par rapport au groupe réussite de l'ITO.

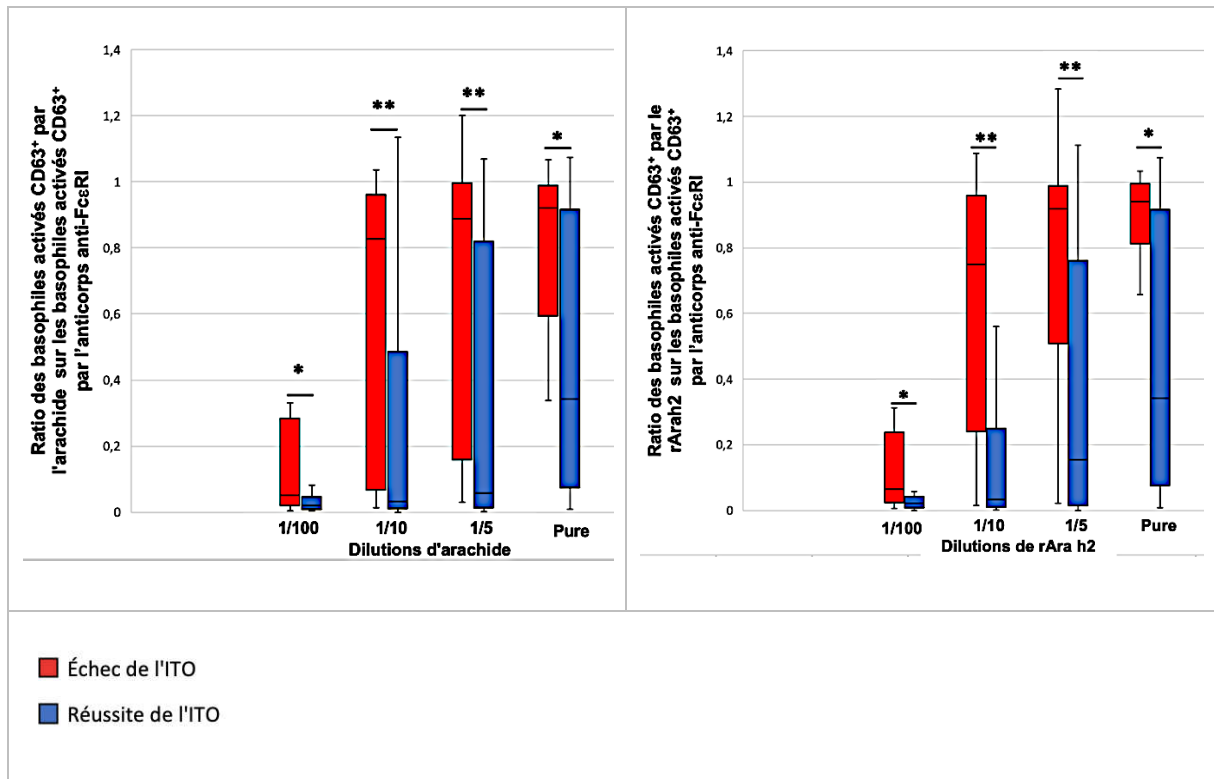


Figure XI. Comparaison de la réactivité des basophiles aux différentes dilutions d'arachide et de rAra h2 entre le groupe échec et réussite de l'ITO

Le trait vertical définit le minimum et le maximum. La boîte définit l'intervalle interquartile et le trait horizontal, la médiane.

*P-value<0,05 et **P-value<0,001

3. Le CDmax

Les valeurs de CDmax pour l'arachide et le rArah2 sont significativement plus élevées dans le groupe échec de l'ITO que pour le groupe réussite de l'ITO (respectivement $p=0,0012$ et $p=0,0028$) (figure XII).

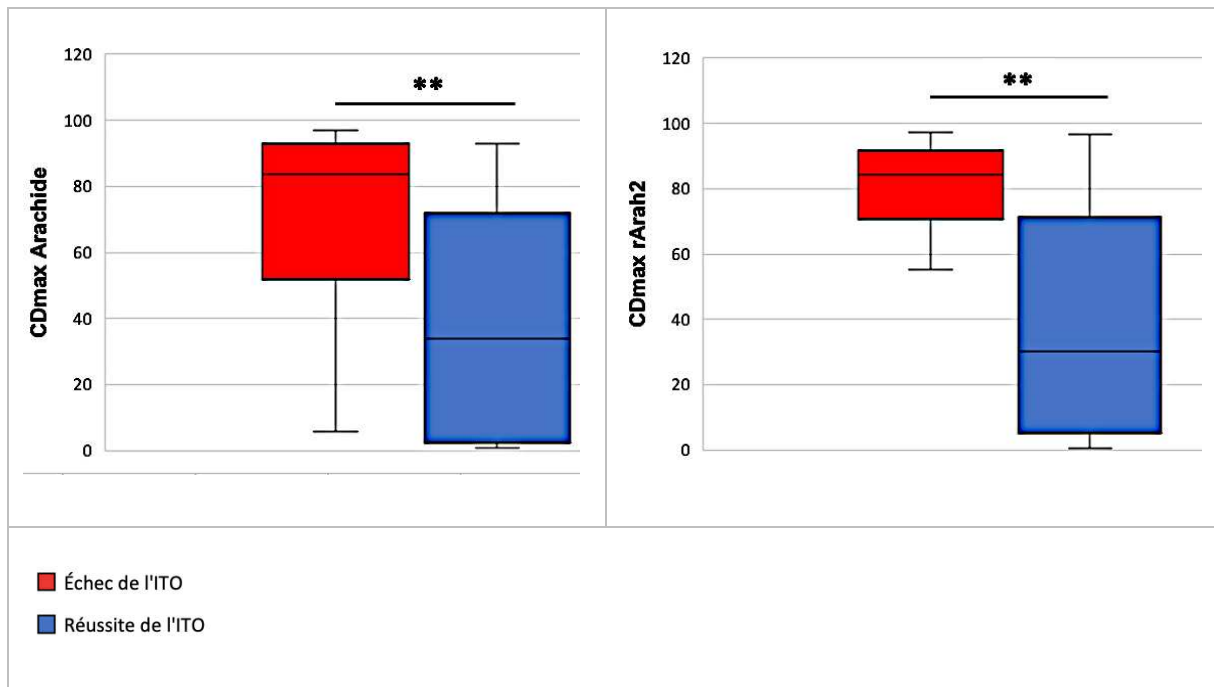


Figure XII. Comparaison des valeurs de CDmax (%) pour l'arachide et le rArah2 entre le groupe échec et réussite de l'ITO

Le trait vertical définit le minimum et le maximum. La boîte définit l'intervalle interquartile et le trait horizontal, la médiane.

*P-value<0,05 et **P-value<0,001

Tableau VI. Paramètres du TAB post-ITO évaluant la réactivité des basophiles parmi le groupe échec et réussite de l'ITO

(a) TAB Arachide f13

		Échec n = 16	Réussite n = 27	P-value
Dilution minimale activatrice	Aucune : TAB négatif	1 (6,25)	10 (37,04)	0,0011
	Dilution <u>pure</u>	3 (18,75)	8 (29,63)	
	Dilution <u>1/5</u>	1 (6,25)	1 (3,70)	
	Dilution <u>1/10</u>	5 (31,25)	8 (29,63)	
	Dilution <u>1/100</u>	6 (37,50)	0 (0)	
	Dilution <u>1/1000</u>	0 (0)	0 (0)	
%B CD63+ (arachide) %B CD63+ (Ac anti-FcεRI)	Dilution <u>pure</u>	0,92 [0,65 ; 0,99]	0,34 [0,08 ; 0,92]	0,0153
	Dilution <u>1/5</u>	0,89 [0,16 ; 0,99]	0,06 [0,02 ; 0,82]	0,0030
	Dilution <u>1/10</u>	0,83 [0,08 ; 0,99]	0,03 [0,01 ; 0,49]	0,0051
	Dilution <u>1/100</u>	0,05 [0,02 ; 0,27]	0,02 [0,01 ; 0,05]	0,0337
CDmax (%)		83,55 [56,75 ; 92,20]	33,90 [2,40 ; 71,80]	0,0012

(b) TAB rArah2

		Échec n = 16	Réussite n = 27	P-value
Dilution minimale activatrice	Aucune : TAB négatif	1 (6,25)	8 (29,63)	0,0009
	Dilution <u>pure</u>	1 (6,25)	7 (25,93)	
	Dilution <u>1/5</u>	0 (0)	2 (7,41)	
	Dilution <u>1/10</u>	7 (43,75)	8 (29,63)	
	Dilution <u>1/100</u>	7 (43,75)	2 (7,41)	
	Dilution <u>1/1000</u>	0 (0)	0 (0)	
%B CD63+ (rArah2) %B CD63+ (Ac anti-FcεRI)	Dilution <u>pure</u>	0,94 [0,82 ; 0,99]	0,35 [0,08 ; 0,94]	0,0104
	Dilution <u>1/5</u>	0,92 [0,53 ; 0,99]	0,15 [0,02 ; 0,69]	0,0012
	Dilution <u>1/10</u>	0,75 [0,25 ; 0,96]	0,03 [0,01 ; 0,49]	0,0005
	Dilution <u>1/100</u>	0,06 [0,03 ; 0,22]	0,02 [0,01 ; 0,05]	0,0253
CDmax (%)		84,40 [70,85 ; 91,35]	30,20 [5,10 ; 71,40]	0,0028

Les résultats sont exprimés en médiane [Interquartiles] ou nombre (pourcentage).

% B CD63+ : Pourcentage de basophiles activés exprimant le marqueur CD63

B. Sensibilité des basophiles et réussite de l'ITO

1. La concentration minimale activatrice

La concentration minimale activatrice (Cmin) pour le rArah2 est significativement plus faible dans le groupe échec ($p=0,0108$) (tableau VII). Il n'y a en revanche pas de différence significative entre les deux groupes concernant la concentration minimale activatrice pour l'arachide.

2. Le CD-sens

Les patients en échec d'ITO ont un CD-sens significativement plus élevé en présence de rArah2 ($p=0,0076$) (tableau VII).

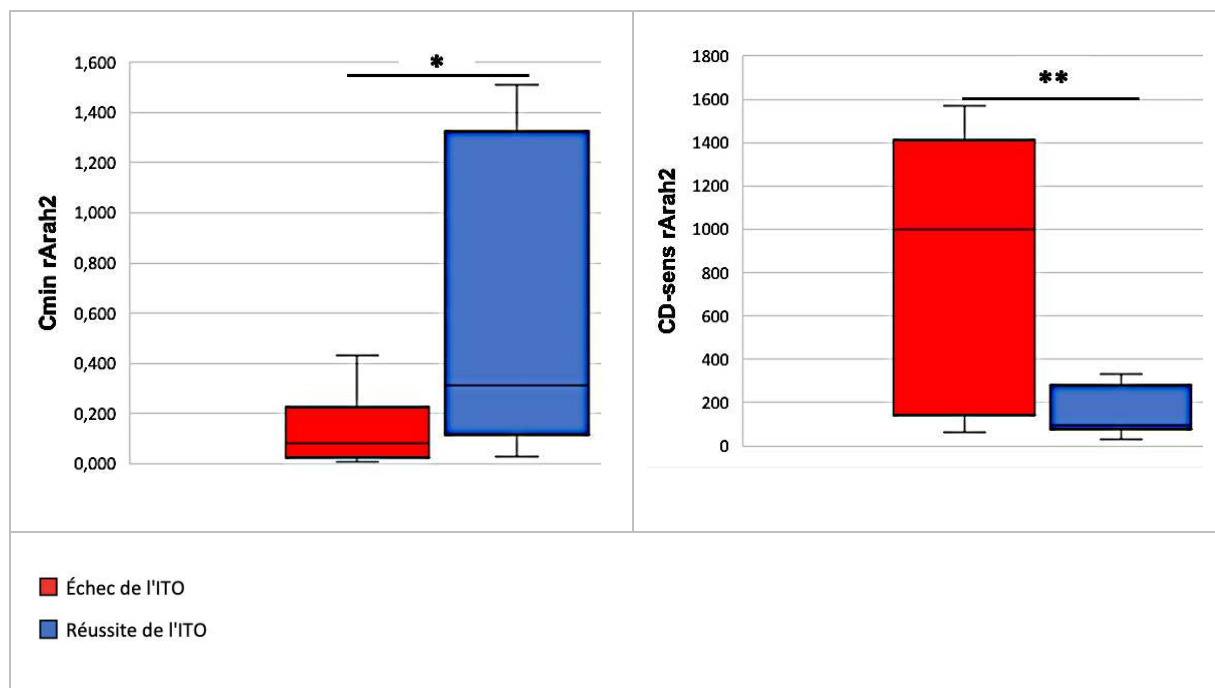


Figure XIII. Comparaison des valeurs de Cmin (ng/mL) et de CD-sens pour le rArah2 entre le groupe échec et réussite de l'ITO

Le trait vertical définit le minimum et le maximum. La boîte définit l'intervalle interquartile et le trait horizontal, la médiane.

*P-value<0,05 et **P-value<0,001

Tableau VII. Paramètres du TAB post-ITO évaluant la sensibilité des basophiles parmi le groupe échec et réussite de l'ITO

		Échec n = 16	Réussite n = 27	P-value
TAB Arachide f13	Cmin (ng/mL)	1 [0,18 ; 1,79]	1,50 [1,10 ; 6,11]	0,1263
	CD-sens	89,40 [18,15 ; 321,54]	27,06 [15,51 ; 68,03]	0,1079
TAB rArah2	Cmin (ng/mL)	0,08 [0,03 ; 0,23]	0,31 [0,12 ; 1,32]	0,0108
	CD-sens	667,11 [141,76 ; 1236,09]	94,34 [76,32 ; 282,57]	0,0076

Les résultats sont exprimés en médiane [Interquartiles].

C. Performance du TAB post-ITO et réussite de l'ITO

Des courbes ROC ont été établies pour évaluer les performances de certains paramètres du TAB pour prédire la réussite de l'ITO.

L'aire sous la courbe du CDmax pour le rArah2 est de 0,78 [IC95% 0,63-0,92] (Figure XIV). L'aire sous la courbe des ratios des basophiles activés CD63+ par le rArah2 aux dilutions pure, au 1/5, au 1/10 et au 1/100 sur les basophiles activés CD63+ par l'anticorps anti-FcεRI sont respectivement de 0,73 [IC95% 0,58-0,89] ; 0,81 [IC95% 0,67-0,94] ; 0,82 [IC95% 0,70-0,95] et 0,71 [IC95% 0,52-0,89] (Figure XV).

Aucune valeur seuil n'a pu être déterminée pour ces paramètres du fait du faible effectif de patients.

Le meilleur paramètre pour évaluer la réussite de l'ITO, en se basant sur la valeur de la p-value (0,0005) et de l'aire sous la courbe (0,82) est le ratio des basophiles activés CD63+ par le rArah2 à la dilution au 1/10 sur les basophiles activés CD63+ par l'anticorps anti-FcεRI.

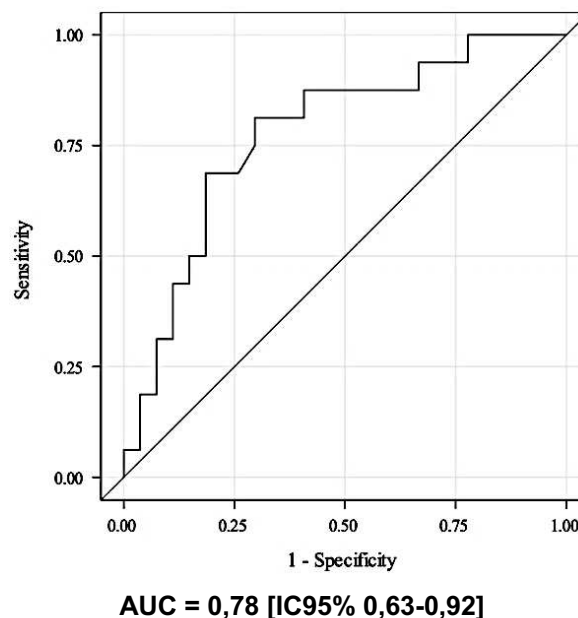
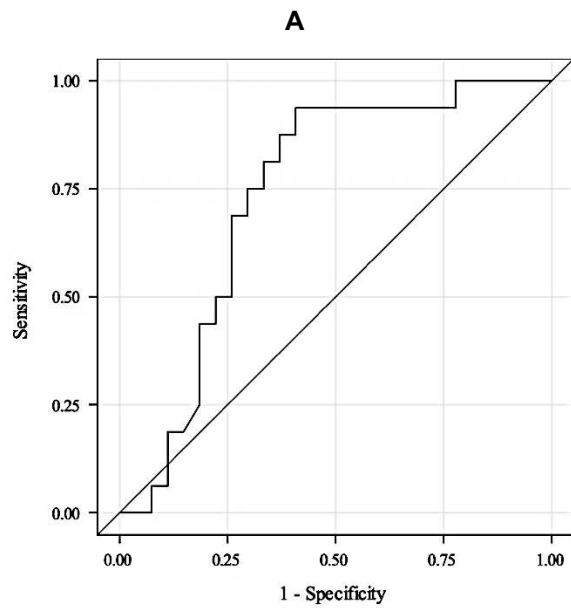
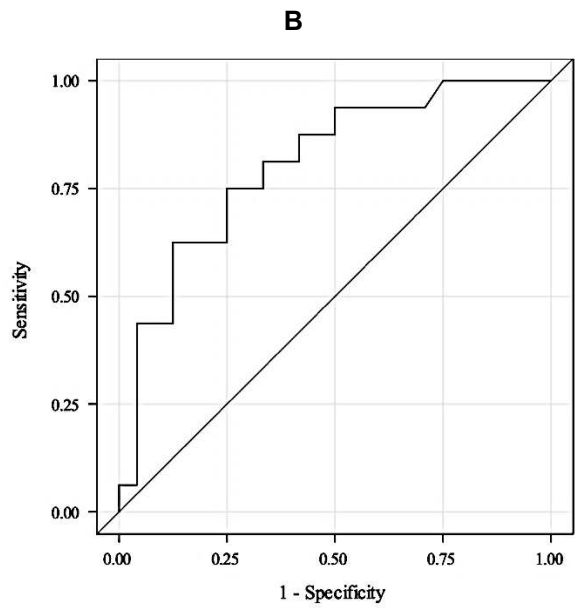


Figure XIV. Courbe ROC des performances du TAB rArah2 (CDmax) pour prédire la réussite de l'ITO à l'arachide.

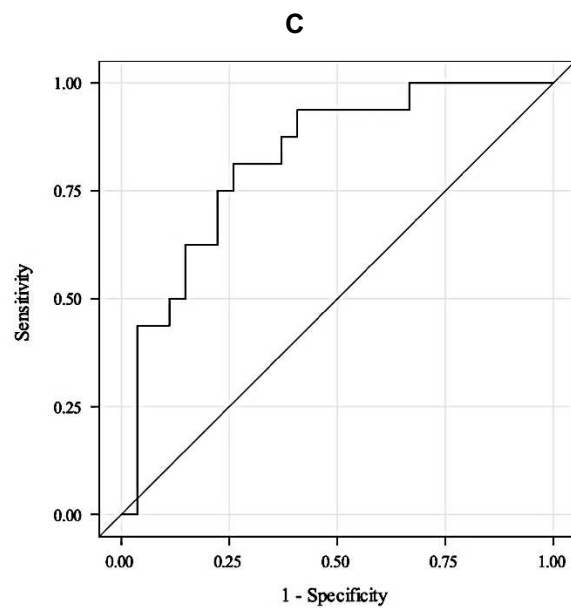
AUC = aire sous la courbe



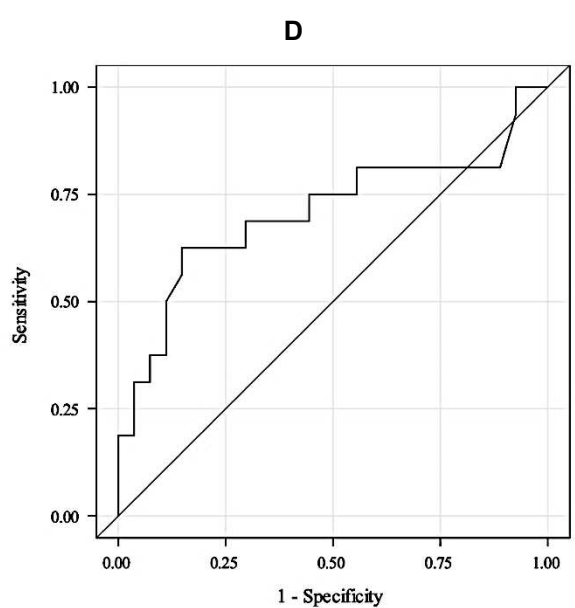
AUC = 0,74 [IC95% 0,58-0,89]



AUC = 0,81 [IC95% 0,67-0,94]



AUC = 0,82 [IC95% 0,70-0,95]



AUC = 0,71 [IC95% 0,52-0,89]

Figure XV. Courbes ROC des performances du TAB rArah2 (ratios des basophiles activés CD63+ par le rArah2 selon la dilution sur les basophiles activés CD63+ par l'anticorps anti-FcεRI) pour prédire la réussite de l'ITO à l'arachide.

AUC = aire sous la courbe

A : Dilution pure

B : Dilution 1/5

C : Dilution 1/10

D : Dilution 1/100

III. Étude des autres marqueurs allergologiques après l'ITO et réussite de l'ITO

A. IgE post-ITO et réussite de l'ITO

Les IgE arachide et rArah2 dosées lors du TPO post-ITO sont significativement plus élevées dans le groupe échec que dans le groupe réussite (respectivement $p=0,0005$ et $p=0,0004$) (tableau VIII) (figure XVI).

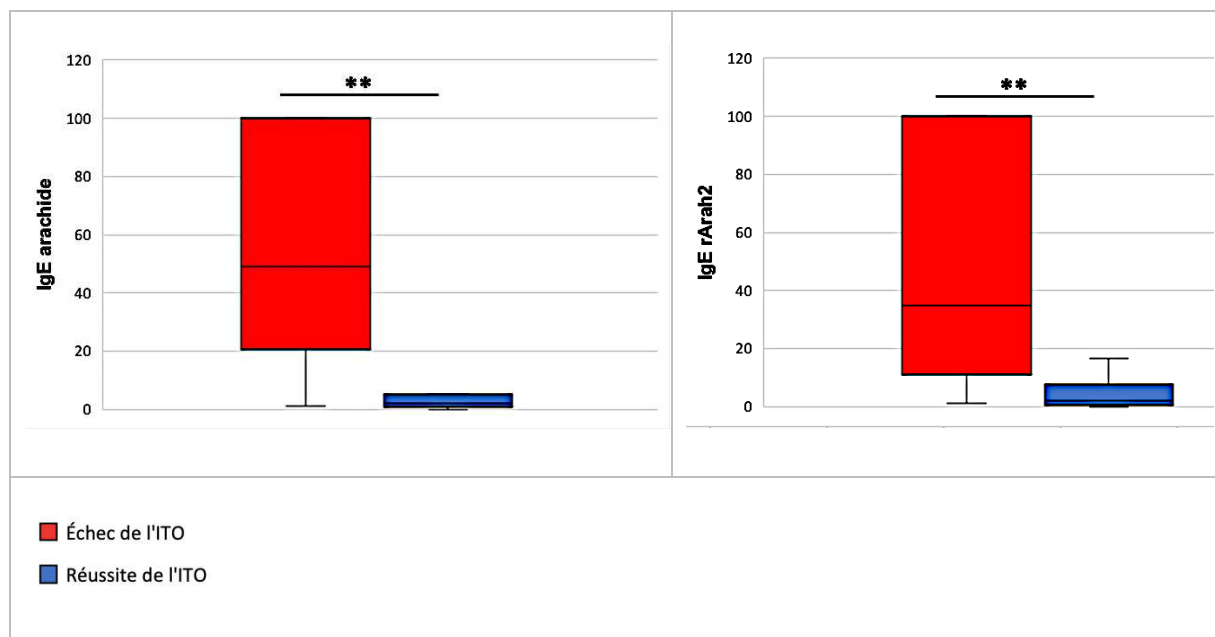


Figure XVI. Comparaison des IgE (kUa/L) pour l'arachide et pour le rArah2 entre le groupe échec et réussite de l'ITO.

Le trait vertical définit le minimum et le maximum. La boîte définit l'intervalle interquartile et le trait horizontal, la médiane.

****P-value<0,001**

L'aire sous la courbe pour prédire la réussite de l'ITO est de 0,82 pour les IgE arachide post-ITO [IC95% 0,69-0,96] et de 0,82 également pour les IgE rArah2 post-ITO [IC95% 0,70-0,95] (figure XVII).

Aucune valeur seuil n'a pu être déterminée du fait du faible effectif de patients.

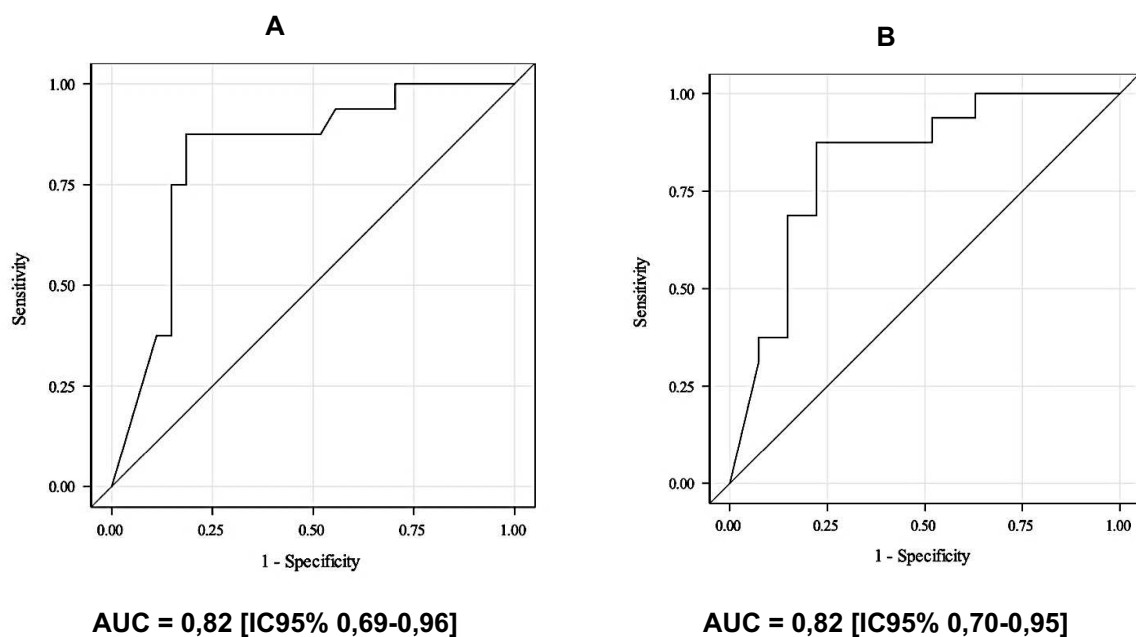


Figure XVII. Courbes ROC des IgE post-ITO pour prédire la réussite de l'ITO à l'arachide.

AUC = aire sous la courbe

A : IgE arachide

B : IgE rArah2

B. Tests cutanés post-ITO et réussite de l'ITO

Concernant les tests cutanés réalisés après l'ITO, il n'y a pas de différence significative entre le groupe échec et le groupe réussite (tableau VIII).

Tableau VIII. IgE et TC post-ITO et réussite de l'ITO

	Échec n = 16	Réussite n = 27	P-value
IgE arachide (kUa/L)	49,10 [24 ; 100]	2,13 [0,73 ; 5,21]	0,0005
IgE rArah2 (kUa/L)	34,90 [11,65 ; 100]	1,97 [0,45 ; 7,47]	0,0004
Test cutané arachide (mm)	9,00 [5 ; 12]	7 [5 ; 10]	0,3789

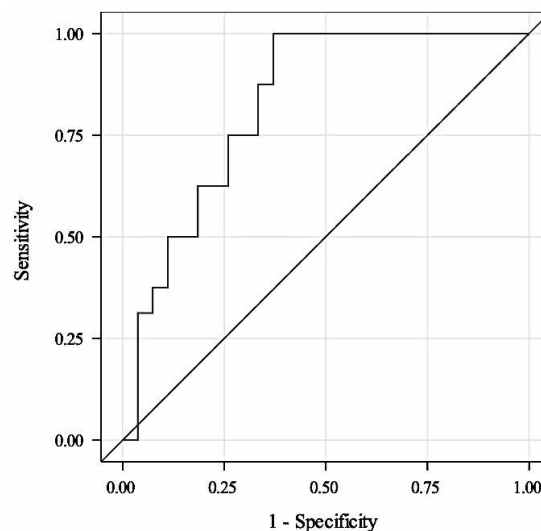
Les résultats sont exprimés en médiane [Interquartiles].

C. Étude d'un marqueur combinant les IgE avec un paramètre du TAB et réussite de l'ITO

Un marqueur combinant les IgE rArah2 post-ITO avec le meilleur paramètre du TAB post-ITO pour prédire la réussite de l'ITO : le ratio des basophiles activés CD63+ par le rArah2 à la dilution au 1/10 sur les basophiles activés CD63+ par l'anticorps anti-FcεRI a été étudié.

L'aire sous la courbe du paramètre combiné pour prédire la réussite de l'ITO est à 0,83 [IC95% 0,70-0,95] (figure XVIII). Elle n'est pas meilleure que la courbe ROC du paramètre IgE rArah2 post-ITO seul ou de celle du paramètre du TAB post-ITO étudié seul.

Cela s'explique par une très forte corrélation entre les IgE rArah2 post-ITO ou les IgE arachide post-ITO avec le paramètre du TAB post-ITO étudié avec des coefficients de corrélation de Pearson réciproquement de 0,76 et 0,77.



AUC = 0,83 [IC95% 0,70-0,95]

Figure XVIII. Courbe ROC d'un marqueur combinant IgE rArah2 post-ITO et ratio post-ITO des basophiles activés CD63+ par le rArah2 à la dilution au 1/10 sur les basophiles activés CD63+ par l'anticorps anti-FcεRI pour prédire la réussite de l'ITO à l'arachide.

AUC = aire sous la courbe

IV. Évolution des paramètres biologiques et réussite de l'ITO

A. Évolution du TAB et réussite de l'ITO

Les résultats de l'évolution du TAB selon le groupe échec ou réussite de l'ITO sont détaillés dans l'annexe 7.

Il n'y a pas de différence significative entre le groupe échec et le groupe réussite pour l'arachide et le rArah2 concernant la différence entre la dilution minimale activatrice post et pré-ITO ainsi que pour le rapport post-ITO sur pré-ITO du ratio du pourcentage de basophiles activés aux différentes dilutions (pure, 1/5, 1/10, 1/100 et 1/1000) sur le pourcentage de basophiles activés par le témoin positif.

Il n'y a pas non plus de différence significative entre le groupe échec et le groupe réussite pour l'arachide et le rArah2 concernant le rapport du CDmax et du CD-sens post-ITO sur pré-ITO.

B. Évolution des marqueurs biologiques (IgE et IgG4) et réussite de l'ITO

Concernant le rapport des dosages après et avant l'ITO pour les IgE arachide et rArah2, il n'y a pas de différence significative entre le groupe échec et le groupe réussite (tableau IX).

Il n'y a pas non plus de différence significative entre les deux groupes concernant le rapport des dosages après et avant l'ITO pour les IgG4 arachide et rArah2 (tableau IX).

Tableau IX. Évolution des marqueurs biologiques (IgE et IgG4) et réussite de l'ITO

	Échec n = 16	Réussite n = 27	P-value
Rapport entre le dosage post-ITO et pré-ITO des IgE arachide	1 [0,69 ; 1,20]	0,80 [0,46 ; 1,09]	0,2332
Rapport entre le dosage post-ITO et pré-ITO des IgE rArah2	1 [0,72 ; 1,10]	0,73 [0,46 ; 1,26]	0,3087
Rapport entre le dosage post-ITO et pré-ITO des IgG4 arachide	1,01 [1,01 ; 1,01]	1,01 [1,01 ; 1,01]	0,4655
Rapport entre le dosage post-ITO et pré-ITO des IgG4 rArah2	0,25 [0,25 ; 0,33]	0,29 [0,13 ; 0,50]	0,6975

Les résultats sont exprimés en médiane [Interquartiles].

Discussion

Notre étude a mis en évidence que les valeurs post-ITO du TAB sont significativement différentes entre les enfants du groupe échec et les enfants du groupe réussite de l'ITO.

Le TAB réalisé avec le recombinant moléculaire rArah2 est le plus performant. Les deux meilleurs paramètres pour évaluer la réussite de l'ITO sont le ratio des basophiles activés par le rArah2 sur les basophiles activés par l'anticorps anti-FcεRI aux dilutions au 1/5 et au 1/10 avec respectivement une aire sous la courbe de 0,81 [IC95% 0,67-0,94] et 0,82 [IC95% 0,70-0,95].

Cependant, on remarque que les IgE arachide et rArah2 post-ITO semblent être aussi performants comme marqueurs prédictifs de la réussite de l'ITO avec une aire sous la courbe de respectivement 0,82 [IC95% 0,69-0,96] et 0,82 [IC95% 0,70-0,95], avec un coût bien moindre. L'association de ces marqueurs ne semble pas améliorer la performance car ils sont étroitement corrélés.

Il n'y a pas de différence significative concernant l'évolution du TAB pendant la première année d'ITO entre le groupe échec et le groupe réussite.

I. TAB et suivi d'ITO

Dans notre étude, l'objectif était d'évaluer un possible apport du TAB au moment de réévaluer les enfants après la mise en place de l'ITO arachide, afin d'envisager un changement de pratiques pour éviter ou retarder la réalisation du TPO de réévaluation si des marqueurs orientaient vers un risque de TPO positif.

Le TAB a tout d'abord été étudié dans de nombreuses études comme test diagnostique de l'allergie alimentaire (26, 27, 28, 29), permettant selon les études et les seuils utilisés de distinguer les enfants tolérants (26) des enfants allergiques.

Santos et al. (22) ont par exemple montré qu'avec un seuil de 8% de positivité des basophiles activés CD63+ à la concentration de 100 ng/mL d'arachide, la spécificité diagnostique du test d'activation des basophiles était de 96%, soit meilleure que celle des IgE arachide (59%) et que celle des tests cutanés (61%) (25). Ils suggèrent d'effectuer le TAB en deuxième intention, en cas de résultats discordants entre les tests cutanés, les IgE arachide et l'histoire clinique, et permettre de confirmer le diagnostic d'allergie à l'arachide en cas de positivité. Ainsi, le test de provocation orale ne serait effectué qu'en cas de négativité du TAB.

Carette et al. (26), suggèrent, dans une étude française de 91 enfants, qu'un enfant ayant un taux d'IgE arachide <7 kUa/L, associé à un taux de basophiles activés CD63+ par l'arachide (5 ng/mL) $<6\%$ ne présente pas de risque de réaction allergique sérieuse et ne nécessite pas la réalisation d'un TPO.

La place du TAB dans l'algorithme décisionnel n'est malgré tout pas encore bien définie et le TPO reste aujourd'hui le gold standard du diagnostic d'allergie à l'arachide (19). Néanmoins, si ces données étaient confirmées, elles permettraient de réduire considérablement le nombre de tests de provocations oraux, coûteux,

chronophages et sources de stress pour les enfants et les parents, lors du diagnostic de l'allergie alimentaire ou lors de la réévaluation d'une allergie alimentaire après désensibilisation.

D'autres études ont ensuite étudié l'évolution du TAB au cours des désensibilisations alimentaires et ont notamment montré une diminution de la réactivité des basophiles pour le lait (30).

Concernant l'arachide, plusieurs études ont montré une diminution significative des paramètres du TAB au cours de l'ITO (tableau X).

L'étude de Gorelik et al. (31) montre une diminution significative du pourcentage de basophiles activés CD63+ à la concentration de 10 ng/mL d'arachide dès 16 semaines, à la fin de la phase d'escalade, à la dose de 2000 mg par jour de protéines d'arachide ($p < 0,05$).

L'étude de Tsai et al. (32) montre également une diminution précoce des paramètres du TAB au cours de l'ITO dès la semaine 12 d'ITO, en cours de phase d'escalade avant l'obtention de la dose de maintenance de 4000 mg par jour de protéines d'arachide, avec une différence significative de l'aire sous la courbe du pourcentage de basophiles activés CD63+ aux concentrations d'arachide de 0 à 1000 ng/mL.

De même l'étude de Patil et al. (33) montre également une diminution significative du pourcentage de basophiles activés CD63+ pour l'arachide et le rArah2 après l'ITO à 56 semaines, après 12 semaines de maintenance à la dose quotidienne de 4000 mg de protéines d'arachide ($p < 0,001$).

Dans l'étude de Jones et al. (24), une diminution significative du pourcentage de basophiles activés CD63+ à la concentration de 10 μ g/mL d'arachide entre le groupe

ITO et placebo est également observée pour une dose plus faible de maintenance quotidienne de 300 mg de protéines d'arachide à 4 mois d'ITO ($p < 0,01$).

Ces études ont donc montré une réduction significative des paramètres du TAB lors de l'ITO. Cependant, peu d'études ont étudié le rôle du TAB comme biomarqueur prédictif de réussite d'une ITO à l'arachide.

Tsai et al. (32) l'ont fait, dans une étude regroupant 120 enfants aux États-Unis. Les patients avaient reçu une dose de maintenance quotidienne de 4000 mg de protéines d'arachide pendant 52 semaines puis 300 mg pendant 52 semaines. Après cela, un groupe poursuivait la dose de 300 mg au long cours et l'autre groupe arrêta l'ITO. Lors du TPO post ITO à la semaine 117, il n'y avait pas de différence significative entre les deux groupes d'ITO (arrêt versus poursuite de l'ITO). Cependant, ils ont montré une différence significative du TAB post-ITO entre le groupe échec (réaction à une dose inférieure ou égale à 4 g de protéines d'arachide) et réussite, concernant le pourcentage de basophiles activés CD63+ aux différentes dilutions d'arachide entre 0 et 1000 ng/mL ($p = 0,0006$).

Notre étude retrouve donc également cette différence significative. Les deux meilleurs paramètres pour évaluer la réussite de l'ITO, concernent le TAB du recombinant rArah2 avec le ratio des basophiles activés par le rArah2 sur les basophiles activés par l'anticorps anti FcεRI aux dilutions au 1/15 et au 1/10 avec respectivement une aire sous la courbe de 0,81 [IC95% 0,67-0,94] et 0,82 [IC95% 0,70-0,95].

La meilleure performance du TAB rArah2 par rapport au TAB arachide (22) peut s'expliquer par la présence en grande quantité de la protéine de stockage rArah2 dans l'arachide et sa résistance à la digestion et la chaleur.

Cela suggère que nous pourrions privilégier la réalisation seule du TAB rArah2 pour permettre de simplifier l'étude de la réussite de l'ITO.

De même, aucun TAB arachide et rArah2 n'était positif à la dilution au 1/1000 pour les deux groupes, suggérant que cette dilution n'est pas utile à l'étude du TAB après l'ITO.

Compte-tenu du faible effectif de patients, il n'a pas été possible de déterminer une valeur seuil d'un des paramètres du TAB, permettant de prédire la réussite de l'ITO.

L'étude de Radulovic et al. (34) propose une valeur seuil de positivité du TAB permettant d'obtenir une spécificité de 74% pour prédire la gravité des réactions allergiques à l'œuf.

De même, l'étude de Santos et al. (35) a montré qu'avec un seuil de positivité de 48% de basophiles activés CD63+, la spécificité du TAB était de 97% [IC95% 95-98] pour prédire les réactions sévères, soit meilleure que celle des IgE arachide et rArah2, respectivement 90% [IC95% 87-98] et 93% [IC95% 91-98].

Ces résultats suggèrent que nous pourrions dans une prochaine étude évaluer l'intérêt d'une valeur seuil de positivité du TAB permettant d'obtenir une spécificité optimale.

Ceci pourrait permettre, en cas de positivité six mois après l'ITO, de prédire une réaction au TPO de réévaluation et donc d'éviter la réalisation du TPO post-ITO, et de le décaler.

Nous n'avons en revanche pas retrouvé de différence significative concernant l'évolution du TAB pendant l'ITO entre le groupe échec et le groupe réussite, pour une durée médiane d'ITO de 345 jours [256 ; 395] soit environ 49 semaines.

Le TAB post-ITO ne semblerait donc pas apporter d'information supplémentaire sur la réussite de l'ITO par rapport au TAB pré-ITO.

Ces résultats pourraient s'expliquer par une évaluation trop précoce du TAB au cours de l'ITO et une dose de maintenance plus faible que celle utilisée dans l'étude de Tsai et al. (32) de 4000 mg par jour de protéines d'arachide.

En effet, l'étude d'Anagnostou et al. (15) avec une dose de maintenance de 800 mg par jour n'a pas retrouvé non plus de différence significative concernant l'intensité moyenne de fluorescence des basophiles activés exprimant le marqueur CD63 entre le groupe échec et réussite après six mois d'ITO.

Il pourrait donc être intéressant, dans une prochaine étude, d'étudier l'évolution du TAB à deux ans de l'initiation de l'ITO, afin de vérifier s'il s'agit d'un meilleur marqueur prédictif de la réussite de l'ITO que le TAB initial.

Par ailleurs, notre étude souligne l'apport limité du TAB post-ITO pour prédire la réussite de l'ITO devant des performances similaires des IgE arachide f13 et rArah2 post-ITO avec une aire sous la courbe de respectivement 0,82 [IC95% 0,69-0,96] et 0,82 [IC95% 0,70-0,95].

Une différence significative du taux d'IgE arachide et rArah2 entre le groupe échec et réussite était déjà notée avant l'initiation de l'ITO respectivement ($p=0,003$) et ($p=0,001$). Ces résultats s'inscrivent donc dans la lignée de plusieurs études comme celles de Wasserman et al. (16), Vickery et al. (11), Anagnostou et al. (15), montrant l'association entre un taux biologique bas d'IgE avant l'ITO et la réussite de l'ITO.

Il n'était cependant pas réalisable d'étudier la supériorité d'un marqueur combinant un paramètre du TAB avec les IgE arachide ou rArah2 par rapport à un des deux marqueurs biologiques isolé pour prédire la réussite de l'ITO, devant la grande corrélation des données de ces examens.

Tableau X. Présentation des principaux résultats des études portant sur l'évolution du TAB lors de l'ITO à l'arachide.

		Anagnostou et al. (15) 2014	Tsai et al. (32) 2020	Thyagarajan et al.(23) 2012	Jones et al. (24) 2009	Notre étude
Type d'étude		- Monocentrique - Randomisée, contrôlée	- Monocentrique - Randomisée, contrôlée	- Monocentrique - Randomisée, contrôlée	- Multicentrique - Randomisée, contrôlée	- Monocentrique
Population d'étude		99 enfants	120 enfants	28 enfants	29 enfants	43 enfants
Âge médian		12,3 ans [8,1 ; 16,3]	11 ans [8 ; 15]	5 ans [2 ; 10]	57,5 mois [12 ; 111]	13 ans [9 ; 16]
Critère de réussite: TPO final négatif	DC	1455 mg	4000 mg	5000 mg	3900 mg	2191 mg
	Date de réalisation	M6	S117	1 mois après le début de la phase de maintenance	4 à 22 mois après le début de la phase de maintenance	Minimum 6 mois après le début de la phase de maintenance
Dose de maintenance quotidienne, en protéines d'arachide		800 mg	4000 mg - 52 semaines Puis 300 mg	4000 mg	300 mg	320 à 400 mg
Chronologie du recueil des données du TAB		- Initiation de l'ITO - M6	- Initiation de l'ITO - S12, S52, S104, S117 - Puis toutes les 13 semaines jusqu'à S156	- Initiation de l'ITO - Entre J21 et J156 - Entre J157 et J423	- Initiation de l'ITO - Entre M1 et M4 - Entre M4 et M6 - Après M6	- Initiation de l'ITO - TPO final
TAB post-ITO et réussite de l'ITO		<i>Pas de différence significative</i>	AUC % B CD63+ ** (arachide : 0 à 1000 ng/mL)			%B CD63+ (arachide : 10 et 20 ng/mL) ** %B CD63+ (Ac anti-FcεRI) %B CD63+ (rArah2 : 2 et 4 ng/mL) ** %B CD63+ (Ac anti-FcεRI)
Évolution du TAB			AUC % B CD63+ S12 ** (arachide : 0 à 1000 ng/mL)	% B CD63+ J21 à J156 ** (arachide : 10 ⁻⁴ à 10 ⁻¹ µg/mL)	% B CD63+ M4 ** (arachide : 10 µg/mL)	Pas de différence significative entre le groupe échec et réussite

[interquartiles]

S : semaine, J : jour, M : mois, DC : dose cumulée, en mg de protéines d'arachide

AUC : aire sous la courbe, % B CD63+ : Pourcentage de basophiles activés exprimant le marqueur CD63

**P-value<0,001

II. Personnalisation de l'ITO

L'induction de tolérance orale à l'arachide a pour but d'induire une tolérance par la consommation quotidienne de l'aliment afin de protéger l'enfant face à une exposition accidentelle. Ce traitement a montré son efficacité pour les enfants de moins de 4 ans (24), de 4 à 17 ans (36, 18) et fait désormais partie intégrante des recommandations européennes du traitement de l'allergie à l'arachide pour les enfants de plus de 4 ans présentant une allergie sévère (19).

Bien qu'ayant prouvé sa sécurité, l'induction de tolérance orale est un traitement contraignant, de longue durée avec des effets indésirables fréquents (en particulier gastro-intestinaux).

Après la mise en place d'une ITO, il est aujourd'hui nécessaire de réaliser un deuxième test de provocation orale pour établir la réussite de la désensibilisation ou la persistance de l'allergie. Ce deuxième TPO, dit post-ITO, expose de nouveau l'enfant à des risques importants et engendre une source de stress pour les enfants et les parents. De plus, une réaction lors de ce test peut conduire à un arrêt de l'ITO par découragement des enfants et des parents.

À l'heure de la médecine personnalisée, l'enjeu est désormais de pouvoir prédire la réussite ou non de l'ITO, avant ou pendant l'ITO, selon le profil clinique et biologique du patient afin d'adopter une prise en charge personnalisée (37).

Prédire la réussite du traitement, en cours d'ITO par l'étude du TAB nous permettrait d'adapter le traitement et plus particulièrement de connaître le meilleur moment pour réaliser son évaluation à travers le TPO post-ITO.

L'étude MIRABEL (38), cohorte française de 700 enfants allergiques à l'arachide, d'âge moyen de 8,5 ans a mis en évidence l'hétérogénéité des patients allergiques à l'arachide en identifiant trois profils allergiques, selon les comorbidités allergiques présentées, la DCR au TPO initial, les IgE rArah2 initiaux, dans le but d'une prise en charge personnalisée qui pourrait notamment permettre d'adapter l'ITO proposée.

Prendre en compte le phénotype allergique du patient en cours d'ITO semble donc également essentiel pour identifier les patients à risque d'échec d'ITO.

Notre étude n'a pas montré de différence significative concernant les caractéristiques cliniques des patients entre le groupe échec et réussite à l'initiation du traitement : notamment pour le sexe, l'âge, les comorbidités atopiques ainsi que pour le grade de sévérité de la réaction clinique présentée lors du TPO initial et la dose cumulée réactogène.

Cependant, nos résultats sont à relativiser compte-tenu du faible effectif de patients. De plus, nous avons comparé les enfants qui ont réussi à atteindre le TPO post-ITO. Les enfants ayant arrêté l'ITO du fait des effets secondaires n'ont pas été inclus et semblaient présenter une dose cumulée réactogène initiale plus faible avec une médiane de 197 mg de protéines d'arachide [21 ; 245] contre 245 mg de protéines d'arachide [85 ; 1176] pour les enfants inclus.

D'autres études ont montré que les caractéristiques cliniques des patients avant l'ITO pourraient être différentes entre le groupe réussite et le groupe échec.

Anagnostou et al. (15) a par exemple montré comme facteurs pronostiques ayant un effet négatif sur la réussite de l'ITO : un âge élevé à l'initiation, un poids élevé de l'enfant ($p=0,004$), la présence d'une allergie alimentaire familiale à l'arachide ($p=0,001$) ainsi que la sévérité clinique de la réaction lors du TPO initial ($p<0,001$).

Il n'y avait en revanche pas de différence significative retrouvée pour le sexe et les comorbidités atopiques.

Jones et al. (24) et Wasserman et al. (16) ont également montré que le jeune âge à l'initiation de l'ITO était associé à la réussite de l'ITO à l'arachide.

Il pourrait être intéressant d'étudier dans une prochaine étude l'utilité d'un score clinico-biologique associant un paramètre du TAB ou les IgE du patient avec une ou plusieurs caractéristiques cliniques du patient associées à la réussite de l'ITO. Ceci nous permettrait de mieux identifier avant ou pendant l'ITO le profil des patients afin d'adapter au mieux le traitement et son évaluation.

III. Forces et limites de l'étude

A. Forces de l'étude

1. La méthodologie

Bien que beaucoup d'études aient étudié l'évolution du TAB lors de l'ITO à l'arachide, notre étude est une des premières à étudier le rôle prédictif du TAB après l'ITO.

Les patients de notre étude ont reçu un traitement d'immunothérapie orale effectué selon un même protocole standardisé, inspiré de l'étude d'Anagnostou (15).

La dose de maintenance quotidienne de 320 à 400 mg de protéines d'arachide était similaire à celle de 300 mg ayant montré son efficacité des études PALISADE (36) et ARTEMIS (18).

De même, la méthodologie d'évaluation de la réussite de l'ITO était effectuée de manière homogène selon le protocole de TPO du centre d'allergologie-pédiatrique du CHU de Lille. Celui-ci était réalisé selon les recommandations actuelles de la littérature (4).

Enfin, les analyses de TAB étaient réalisées dans le même laboratoire du CHU de Lille, par une équipe formée et expérimentée.

2. La population de l'étude

L'ensemble des patients ayant eu recours à une ITO à l'arachide au sein du service d'allergologie-pédiatrique du CHU de Lille et ayant bénéficié d'un TPO post-ITO, entre janvier 2015 et juin 2023 étaient éligibles, permettant un recueil exhaustif.

B. Limites de l'étude

1. La méthodologie

L'évaluation de la réussite de l'ITO n'était pas réalisée par un TPO en double aveugle, contrairement aux recommandations de diagnostic d'allergie alimentaire (4).

Le critère de réussite de l'ITO était exigeant. Il correspondait à l'absence de réaction clinique au cours du TPO post-ITO pour une dose cumulée de 8765 mg d'arachide soit 2191,5 mg de protéines d'arachide. Il permettait, en cas de réussite, de s'assurer de la faible probabilité d'une ingestion accidentelle d'une quantité plus importante que celle ingérée lors du TPO.

Ce critère était proche de celui choisi par l'étude ARTEMIS (18) avec une dose cumulée ingérée de 2043 mg de protéines d'arachide au TPO final.

D'autres études ont choisi des critères de réussite de l'ITO moins strictes. L'étude PALISADE (36) a par exemple choisi comme critère de réussite au TPO final, l'absence de réaction clinique pour une dose cumulée de 1043 mg de protéines d'arachide.

De même, l'étude d'Anagnostou et al. (15) a choisi une dose cumulée de 1455 mg de protéines d'arachide.

Enfin, l'étude du TAB post-ITO ne permettait pas de prédire la réussite de l'ITO pour les enfants ayant arrêté l'ITO avant le TPO final, pour des raisons de mauvaise tolérance, d'anaphylaxie ou d'observance.

Cette population d'enfants allergiques, probablement la plus à risque d'anaphylaxie, est pourtant celle pour laquelle il pourrait être le plus intéressant de proposer une prise en charge personnalisée d'ITO en début de traitement.

2. La population de l'étude

L'effectif de notre étude (43 patients) ne nous a pas permis d'établir une valeur seuil d'un des paramètres du TAB comme critère de réussite de l'ITO à l'arachide.

D'autres études avec un effectif plus important nous permettraient d'augmenter la puissance des résultats.

Enfin, l'étude présentait un autre biais de sélection : les patients inclus étaient suivis dans un centre spécialisé d'allergologie-pédiatrique et ne représentaient donc pas l'ensemble des patients allergiques à l'arachide.

Une étude multicentrique pourrait permettre de réduire ce biais.

3. La durée d'ITO

La durée médiane de traitement était de 345 jours [256 ; 395] soit environ 49 semaines avec des durées inégales.

Celle-ci était proche de celle de l'étude PALISADE (36) prévoyant une phase d'escalade de 24 semaines puis une phase de maintenance de 24 semaines pour une durée totale de 48 semaines.

Les durées inégales de traitement peuvent s'expliquer par la réalisation de montées de dose d'ITO plus difficiles pour certains patients devant la manifestation d'effets indésirables, ayant parfois nécessité un recul à la dose inférieure ou un report de la montée de dose suivante.

Cependant il n'y avait pas de différence significative retrouvée entre les deux groupes, suggérant que ce critère ne semblerait pas prédictif d'un échec de l'ITO. Il n'a donc pas été nécessaire d'effectuer un ajustement sur la durée de traitement.

Ces résultats sont cependant à relativiser devant le manque de puissance de l'étude .

IV. Avantages et limites du TAB

A. Avantages

Il s'agit d'une technique peu invasive, sans risque pour le patient et reproductible sur un même centre (39).

De plus, il reflète une vraie réaction cellulaire, par la dégranulation déclenchée, contrairement au dosage sanguin d'IgE.

Il ne nécessite pas l'arrêt d'un éventuel traitement anti-histaminique avant sa réalisation.

B. Limites

1. Étude *in vitro* sanguine

Il est difficile d'établir que la réaction cellulaire menant à la réaction allergique clinique est reproduite *ex vivo*, malgré le changement d'environnement.

De plus, Les mastocytes tissulaires sont considérées comme les principales cellules effectrices lors d'une réaction allergique.

Bien que leur mécanisme d'activation médié par le contact avec l'allergène soit proche de celui des basophiles circulants, il est difficile d'affirmer reproduire, avec l'étude seule des basophiles, les mêmes cascades de productions de médiateurs inflammatoires (40).

2. Conditions de réalisation et coût

Le TAB présente de nombreuses contraintes le rendant accessible uniquement dans certains centres spécialisés (25).

Ses conditions de réalisation sont complexes : rapidité d'exécution nécessaire (travail sur sang frais sans possibilité de stockage), gestion des variations de température, équipements et disponibilité des allergènes solubles.

Son coût est important : 270 euros pour l'étude des 10 dilutions nécessaires pour un TAB arachide et rArah2, sans remboursement puisqu'il fait partie du Référentiel des Actes Innovants Hors Nomenclature (RHIN).

De plus, le TAB nécessite une équipe formée et expérimentée devant le peu d'automatisation réalisable.

Son manque de standardisation et la grande diversité des paramètres étudiés selon les centres peuvent rendre difficile l'interprétation de ses résultats (29).

3. Patients non répondeurs

Pour 10% des patients, les basophiles ne dégranulent pas, même dans les conditions du témoin positif rendant le TAB ininterprétable (41).

Dans notre étude, parmi 49 enfants ayant bénéficié d'un TAB post-ITO, 5 ont présenté un TAB ininterprétable (10,2%).

Le TAB indirect, qui consiste à incuber les basophiles d'un donneur avec le sang du patient et l'allergène ou le test d'activation des mastocytes pourraient être des pistes pour les non répondeurs au TAB direct (42, 43).

Conclusion et perspectives

Notre étude a permis de mettre en évidence que le TAB post-ITO est un biomarqueur significativement associé à la réussite d'une ITO.

Les deux meilleurs paramètres pour évaluer la réussite de l'ITO concernent le TAB rArah2 avec le ratio des basophiles activés par le rArah2 sur les basophiles activés par l'anticorps anti-FcεRI aux dilutions au 1/5 et au 1/10 avec respectivement une aire sous la courbe de 0,81 [IC95% 0,67-0,94] et 0,82 [IC95% 0,70-0,95].

Cependant, les IgE arachide et rArah2 post-ITO semblent être aussi performants comme marqueurs prédictifs de la réussite de l'ITO avec une aire sous la courbe de respectivement 0,82 [IC95% 0,69-0,96] et 0,82 [IC95% 0,70-0,95].

De plus, le TAB post-ITO réalisé dans la première année ne semble pas apporter plus d'informations que le TAB pré-ITO.

Nos résultats permettent d'approfondir nos connaissances vis-à-vis de ce test innovant, et d'améliorer son utilisation dans le suivi de nos patients allergiques, afin de l'utiliser au bon moment et à bon escient.

Par ailleurs, travailler sur de plus grands effectifs nous permettrait de définir une valeur seuil avec une spécificité optimale pour prédire la réussite de l'ITO.

Réévaluer le TAB plus tard, à 2 ou 3 ans de l'initiation de l'ITO nous permettrait également de mieux appréhender l'évolution clinique du patient au cours de l'ITO.

Dans le cadre d'une médecine personnalisée, devant prendre en compte les différents phénotypes allergiques, l'enjeu est de prédire avant ou pendant l'ITO la réussite du traitement. Le test d'activation des basophiles est efficace mais ne semble pas l'être plus que les IgE arachide et rArah2. D'autres travaux sont donc nécessaires pour évaluer l'utilité d'un score clinico-biologique permettant d'adapter au mieux le traitement et son évaluation au profil de chaque patient.

Références bibliographiques

1. Tamazouzt S, Adel-Patient K, Deschildre A, Roduit C, Charles MA, de Lauzon-Guillain B, et al. Prevalence of Food Allergy in France up to 5.5 Years of Age: Results from the ELFE Cohort. *Nutrients*. janv 2022;14(17):3624.
2. Rancé F, Grandmottet X, Grandjean H. Prevalence and main characteristics of schoolchildren diagnosed with food allergies in France. *Clin Exp Allergy*. 2005;35(2):167-72.
3. Nwaru BI, Hickstein L, Panesar SS, Roberts G, Muraro A, Sheikh A, et al. Prevalence of common food allergies in Europe: a systematic review and meta-analysis. *Allergy*. 2014;69(8):992-1007.
4. Sampson HA, Gerth Van Wijk R, Bindslev-Jensen C, Sicherer S, Teuber SS, Burks AW, et al. Standardizing double-blind, placebo-controlled oral food challenges: American Academy of Allergy, Asthma & Immunology–European Academy of Allergy and Clinical Immunology PRACTALL consensus report. *J Allergy Clin Immunol*. déc 2012;130(6):1260-74.
5. Deschildre A, Elegbédé CF, Just J, Bruyère O, Van der Brempt X, Papadopoulos A, et al. Peanut-allergic patients in the MIRABEL survey: characteristics, allergists' dietary advice and lessons from real life. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol*. avr 2016;46(4):610-20.
6. Hourihane JO, Kilburn SA, Dean P, Warner JO. Clinical characteristics of peanut allergy. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol*. juin 1997;27(6):634-9.
7. Pouessel G, Turner PJ, Worm M, Cardona V, Deschildre A, Beaudouin E, et al. Food-induced fatal anaphylaxis: From epidemiological data to general prevention strategies. *Clin Exp Allergy*. 2018;48(12):1584-93.
8. Pouessel G, Beaudouin E, Tanno LK, Drouet M, Deschildre A, Labreuche J, et al. Food-related anaphylaxis fatalities: Analysis of the Allergy Vigilance Network® database. *Allergy*. 2019;74(6):1193-6.
9. Muraro A, Worm M, Alviani C, Cardona V, DunnGalvin A, Garvey LH, et al. EAACI guidelines: Anaphylaxis (2021 update). *Allergy*. févr 2022;77(2):357-77.
10. Ferro MA, Van Lieshout RJ, Ohayon J, Scott JG. Emotional and behavioral problems in adolescents and young adults with food allergy. *Allergy*. avr 2016;71(4):532-40.
11. Vickery BP, Scurlock AM, Kulis M, Steele PH, Kamilaris J, Berglund JP, et al. Sustained unresponsiveness to peanut in subjects who have completed peanut oral immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol*. févr 2014;133(2):468-475.e6.
12. Nurmatov U, Dhimi S, Arasi S, Pajno GB, Fernandez-Rivas M, Muraro A, et al. Allergen immunotherapy for IgE-mediated food allergy: a systematic review and

- meta-analysis. *Allergy*. 2017;72(8):1133-47.
13. Soller L, Abrams EM, Carr S, Kapur S, Rex GA, Leo S, et al. First Real-World Effectiveness Analysis of Preschool Peanut Oral Immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol Pract*. mars 2021;9(3):1349-1356.e1.
 14. Ciaccio C, Goldsobel AB, Anagnostou A, Beyer K, Casale TB, Deschildre A, et al. Participant characteristics and safety outcomes of peanut oral immunotherapy in the RAMSES and ARC011 trials. *Ann Allergy Asthma Immunol*. déc 2022;129(6):758-768.e4.
 15. Anagnostou K, Islam S, King Y, Foley L, Pasea L, Bond S, et al. Assessing the efficacy of oral immunotherapy for the desensitisation of peanut allergy in children (STOP II): a phase 2 randomised controlled trial. *The Lancet*. avr 2014;383(9925):1297-304.
 16. Wasserman RL, Hague AR, Pence DM, Sugerman RW, Silvers SK, Rolen JG, et al. Real-World Experience with Peanut Oral Immunotherapy: Lessons Learned From 270 Patients. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 1 févr 2019;7(2):418-426.e4.
 17. Jones SM, Kim EH, Nadeau KC, Nowak-Wegrzyn A, Wood RA, Sampson HA, et al. Efficacy and safety of oral immunotherapy in children aged 1-3 years with peanut allergy (the Immune Tolerance Network IMPACT trial): a randomised placebo-controlled study. *Lancet Lond Engl*. 22 janv 2022;399(10322):359-71.
 18. Efficacy and safety of oral immunotherapy with AR101 in European children with a peanut allergy (ARTEMIS): a multicentre, double-blind, randomised, placebo-controlled phase 3 trial - *The Lancet Child & Adolescent Health* [Internet]. [cité 30 sept 2023]. Disponible sur: [https://www.thelancet.com/journals/lanchi/article/PIIS2352-4642\(20\)30234-0/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lanchi/article/PIIS2352-4642(20)30234-0/fulltext)
 19. Muraro A, de Silva D, Halken S, Worm M, Khaleva E, Arasi S, et al. Managing food allergy: GA2LEN guideline 2022. *World Allergy Organ J*. 7 sept 2022;15(9):100687.
 20. Perry TT, Matsui EC, Conover-Walker MK, Wood RA. Risk of oral food challenges. *J Allergy Clin Immunol*. nov 2004;114(5):1164-8.
 21. Mechanisms of oral immunotherapy - Barshow - 2021 - *Clinical & Experimental Allergy* - Wiley Online Library [Internet]. [cité 29 sept 2023]. Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/cea.13824>
 22. Santos AF, Douiri A, Bécares N, Wu SY, Stephens A, Radulovic S, et al. Basophil activation test discriminates between allergy and tolerance in peanut-sensitized children. *J Allergy Clin Immunol*. sept 2014;134(3):645-52.
 23. Thyagarajan A, Jones SM, Calatroni A, Pons L, Kulis M, Woo CS, et al. Evidence of pathway-specific basophil anergy induced by peanut oral immunotherapy in peanut-allergic children. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol*. août 2012;42(8):1197-205.

24. Jones SM, Pons L, Roberts JL, Scurlock AM, Perry TT, Kulis M, et al. Clinical efficacy and immune regulation with peanut oral immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol.* août 2009;124(2):292-300, 300.e1-97.
25. Rogeau S, Lejeune S. La place des examens biologiques dans l'allergie alimentaire, de la prévention au traitement. *Rev Fr Allergol.* déc 2022;62(6):6S20-8.
26. Carrette M, Couderc L, Bubenheim M, Vidal A, Youssouf A, Boyer O, et al. The combination of Ara h 2-sIgE and basophil activation test could be an alternative to oral food challenge in cases of suspected peanut allergy. *Pediatr Allergy Immunol.* août 2023;34(8):e14007.
27. Duan L, Celik A, Hoang JA, Schmidthaler K, So D, Yin X, et al. Basophil activation test shows high accuracy in the diagnosis of peanut and tree nut allergy: The Markers of Nut Allergy Study (MONAS). *Allergy.* juin 2021;76(6):1800-12.
28. Glaumann S, Nopp A, Johansson SGO, Rudengren M, Borres MP, Nilsson C. Basophil allergen threshold sensitivity, CD-sens, IgE-sensitization and DBPCFC in peanut-sensitized children. *Allergy.* févr 2012;67(2):242-7.
29. Alpan O, Wasserman RL, Kim T, Darter A, Shah A, Jones D, et al. Towards an FDA-cleared basophil activation test. *Front Allergy.* 9 janv 2023;3:1009437.
30. Keet CA, Frischmeyer-Guerrerio PA, Thyagarajan A, Schroeder JT, Hamilton RG, Boden S, et al. The safety and efficacy of sublingual and oral immunotherapy for milk allergy. *J Allergy Clin Immunol.* févr 2012;129(2):448-455.e5.
31. Gorelik M, Narisety SD, Guerrerio AL, Chichester K, Keet CA, Bieneman AP, et al. Immunologic Suppression To Peanut During Immunotherapy Is Often Transient. *J Allergy Clin Immunol.* mai 2015;135(5):1283-92.
32. Tsai M, Mukai K, Chinthrajah RS, Nadeau KC, Galli SJ. Sustained successful peanut oral immunotherapy associated with low basophil activation and peanut-specific IgE. *J Allergy Clin Immunol.* mars 2020;145(3):885-896.e6.
33. Patil SU, Steinbrecher J, Calatroni A, Smith N, Ma A, Ruitter B, et al. Early decrease in basophil sensitivity to Ara h 2 precedes sustained unresponsiveness after peanut oral immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol.* nov 2019;144(5):1310-1319.e4.
34. Radulovic S, Foong R, Bartha I, Marques-Mejias A, Krawiec M, Kwok M, et al. Basophil activation test as predictor of severity and threshold of allergic reactions to egg. *Allergy.* 8 sept 2023;all.15875.
35. Santos AF, Du Toit G, O'Rourke C, Becares N, Couto-Francisco N, Radulovic S, et al. Biomarkers of severity and threshold of allergic reactions during oral peanut challenges. *J Allergy Clin Immunol.* août 2020;146(2):344-55.
36. The PALISADE Group of Clinical Investigators. AR101 Oral Immunotherapy for Peanut Allergy. *N Engl J Med.* 22 nov 2018;379(21):1991-2001.

37. Leonard SA, Laubach S, Wang J. Integrating oral immunotherapy into clinical practice. *J Allergy Clin Immunol.* janv 2021;147(1):1-13.
38. Just J, Elegbede CF, Deschildre A, Bousquet J, Moneret-Vautrin DA, Crepet A, et al. Three peanut-allergic/sensitized phenotypes with gender difference. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol.* déc 2016;46(12):1596-604.
39. Jaumdally H, Kwok M, Jama Z, Hesse-Lampthey R, McKendry R, Galvez O, et al. Basophil activation test has high reproducibility and is feasible in the clinical setting. *Pediatr Allergy Immunol.* nov 2022;33(11):e13870.
40. Bahri R, Custovic A, Korosec P, Tsoumani M, Barron M, Wu J, et al. Mast cell activation test in the diagnosis of allergic disease and anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol.* août 2018;142(2):485-496.e16.
41. Masson E. EM-Consulte. [cité 16 nov 2023]. Apport de la biologie dans le diagnostic d'allergie immédiate. Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/1359137/apport-de-la-biologie-dans-le-diagnostic-d-allergi>
42. Ruinemans-Koerts J, Brouwer ML, Schmidt-Hieltjes Y, Stevens P, Merkus PJFM, Doggen CMJ, et al. The Indirect Basophil Activation Test Is a Safe, Reliable, and Accessible Tool to Diagnose a Peanut Allergy in Children. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 1 mai 2022;10(5):1305-1311.e3.
43. Santos AF, Couto-Francisco N, Bécares N, Kwok M, Bahnson HT, Lack G. A novel human mast cell activation test for peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 1 août 2018;142(2):689-691.e9.

Annexes

ANNEXE 1

Protocole du TPO post-ITO réalisé dans le service de pneumo-pédiatrie au CHU de Lille



Centre Hospitalier Régional
Universitaire de Lille

Hôpital Jeanne de Flandre, Clinique de pédiatrie, Hôpital de jour

TPO ARACHIDE Post - ITO

Date :

Nom :

Poids :

Prénom :

- Poser une voie veineuse périphérique et mettre un obturateur et prolongateur
- Chariot d'urgence vérifié et à proximité de la chambre
- Avoir à disposition les médicaments suivants à préparer en cas de réaction :
 - <6 ans : AERIUS 2,5 ml
 - 6 à 11 ans : AERIUS 5 ml
 - >11 ans : AERIUS 10 ml ou Cetirizine 10 mg un comprimé

Utiliser préférentiellement le stylo à ADRENALINE du patient et proposer au parent de faire l'injection. Vérifier si le dosage du stylo est adapté (*éviter le stylo à 150µg si poids > 20 kg*)

Poids (kg)	< 20kg	20 – 60kg	>60kg
Stylo auto-injecteur (µg)	150	300	300 ou 500

Si stylo indisponible : ADRENALINE (1ml =1mg) : préparer une seringue à tuberculine et une aiguille IM : **maximum : 0.5 mg**

Poids (kg)	<10	10-15	16-20	21-25	26-30	31-35	36-40	41-50	>50
Adrénaline pure (ml)	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,35	0,4	0,45	0,5

▪ **Surveillance :**

- Prendre une SaO2 avant la mise en route du test, puis si réaction
- 1 Peak-flow avant la mise en route du test pour les grands (> 6- 7 ans), puis si réaction
- FC, TA avant chaque dose puis toutes les 30 minutes après la dernière dose
- SCORAD si Dermatite atopique/ANTCD asthme
- Surveillance poursuivie au moins 4 heures après la prise de la dernière dose
- Repas autorisé 30 min après la dernière dose, en l'absence de réaction allergique

TPO arachide avec cacahuète (25% de protéines)

Donner toutes les 20 minutes :

- 5 mg (*soit 1.25 mg de protéines*)
- 10 mg (*soit 2.5 mg de protéines*)
- 50 mg (*soit 12.5 mg de protéines*)
- 200 mg (*soit 50 mg de protéines*)
- 500 mg (*soit 125 mg de protéines*)
- 1 g (*soit 250 mg de protéines*)
- 2 g (*soit 500 mg de protéines*)
- 5 g (1^{ère} dose) (*soit 1.25g de protéines*)
- 5 g (2^{ème} dose facultative à discuter) (*soit 1.25g de protéines*)

Arrêter le test et appeler le médecin référent si : (TSI :)

- malaise, choc
- asthme
- rhinite, conjonctivite
- urticaire, eczéma, prurit
- œdème
- douleurs abdominales, vomissements, diarrhée

Traiter en fonction du protocole « traitement des réactions allergiques survenant au cours du test de provocation par voie orale aux aliments »

Injecter immédiatement de l'adrénaline en INTRAMUSCULAIRE si :

Malaise, perte de connaissance, choc anaphylactique, progression et association rapide des symptômes, angio-œdème avec gêne respiratoire

ANNEXE 2

Grille décisionnelle d'arrêt du TPO en fonction des symptômes du patient

TPO www.diagnosing-food-allergy.org

Nom / Prénom : _____ Date du TPO : _____

Avant le TPO Au moment de la réaction

DECISION

Indication à poursuivre le TPO (vert)
Arrêt du TPO selon contacte clinique (orange)
Indication formelle à arrêter le TPO (rouge)

Tension Artérielle [mmHg]		/		/		/		/		/		/			
Fréquence Cardiaque [bpm]		/		/		/		/		/		/			
O ₂ saturation		%		%		%		%		%		%			
Autres Doses (repeated regular OR cumulative, eg. on other day)															
Doses	Nombre de doses	Heure de Départ		1	2	3	4	5	6	7	8	9			
	ALIMENT UTILISÉ :	DOSE COMPLETE (≥80%)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>		
	DOSE PARTIELLE (<80%)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>		
ALIMENT UTILISÉ :	DOSE COMPLETE (≥80%)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>		
DOSE PARTIELLE (<80%)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>		
Asymptomatique		Heure de Début des Symptômes		1	2	3	4	5	6	7	8	9	Autres	Autres	
Skin	Prurit	1 grattage intermittent	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
		2 grattage persistant > 2 min à la fois	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		3 grattage persistant sévère menant à des lésions d'excoriations cutanées grattage des paumes, plantes, parties génitales, du cuir chevelu	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Erythème	1 Erythème localisé	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		2 Erythème modéré (≤50%)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		3 Erythème sévère généralisé (>50%)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Urticaire	<3 Nombre de lésons	No.	No.	No.	No.	No.	No.	No.	No.	No.	No.	No.	No.	No.
		>=3 Urticaire généralisé	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Angioedème Face / Lèvres	1 œdème labial modéré	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		2 œdème labial sévère ou œdème facial	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Respiratory	Nez	1 Rares éternuements, reniflements	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
		2 <10 éternuements, reniflements fréquents OU Prurit intermittent des FV	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		3 éternuements longs, rhinorrhée persistante, OU Prurit intense des FN	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Yeux	2 Prurit oculaire intermittent	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		3 Prurit oculaire persistant Œdème palpébral, Erythème palpébral	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Sibilants	1 Sibilants expiratoires	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		2 Sibilants inspiratoires et expiratoires	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		3 Sibilants audibles Utilisation muscles accessoires	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Atteinte Laryngée	1 Gorge serrée / Douleur de Gorge	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		2 >3 épisodes Racllements de gorge ou Toux	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3 Toux sèche persistante ou Changement de voix stridor		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Gastrointestinal	Symptômes Subjectifs	1 Nausées ou douleurs abdominales	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
		2 Nausées persistantes ou douleurs abdominales avec activité normale	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		3 Gêne abdominale importante Limitation des activités	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Cavité Orale	1 Prurit buccal	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		2 Lésions endobuccales	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Vomissements	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Diarrhées	1 Nombres d'épisodes >1	No.	No.	No.	No.	No.	No.	No.	No.	No.	No.	No.	No.	No.	
	2 Nombres d'épisodes >1	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Cardio/Neuro	Cardiovasculaire	1 Tachycardie	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
		2 >20% chute tensionnelle	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		3 Collapsus cardio vasculaire	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Neurologique	1 Symptômes subjectifs Faiblesse, Malaise	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2 Changement de comportement significatif		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
3 Troubles de la conscience		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Autres	Spécifier : _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Spécifier : _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Traitement	Médicament	dose/heure	dose/heure	Médicament	dose/Heure	dose/Heure	Médicament	dose/heure	dose/heure	Médicament	dose/heure	dose/heure	Médicament	dose/heure	dose/heure

RESULTAT DU TPO Négatif Non concluant Positif

Arrêt du TPO ? Non Oui, après dose de : _____ Dose cumulée réactogène : _____

Pas ou peu de symptômes après la dose finale prévue Arrêt du TPO sur demande du patient Symptômes peu évidents Symptômes suffisants Arrêt du TPO Symptômes après la dose finale prévue

DECRIEZ LES SYMPTÔMES PERMETTANT DE MENER À VOTRE CONCLUSION (Permettant d'atteindre la dernière dose ou d'arrêter le TPO)

Cotez la sévérité de la réaction de 0 à 10

Sur la base unique des symptômes _____

Sur la base de la durée des symptômes ou leur réponse au traitement _____

Sur la base du ressenti du patient _____

ANAPHYLAXIE OUI NON

Score ASTIER : _____

MEDECIN (Nom/Signature) : _____

This work is licensed under the Creative Commons Attribution 4.0 International License. To view a copy of this license, visit creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

ANNEXE 3

Score de gravité des réactions allergiques
(cf Astier et al. , JACI 2006)

Grade 0	Aucun symptôme
Grade 1	<ul style="list-style-type: none">- Douleur abdominale isolée disparaissant sans traitement- Rhino-conjonctivite- Légère urticaire (<10 papules)- Rash sur eczéma
Grade 2	Un organe impliqué : <ul style="list-style-type: none">- Douleur abdominale nécessitant un traitement- Urticaire généralisée- Angioœdème non laryngé- Toux ou chute de DEP<20%
Grade 3	Deux organes impliqués
Grade 4	Trois organes impliqués ou asthme nécessitant un traitement ou angioœdème laryngé ou chute tensionnelle accompagnant d'autres symptômes
Grade 5	Symptômes respiratoires ou/et cardiovasculaires nécessitant une hospitalisation en soins intensifs

ANNEXE 4

Tableau représentant les histogrammes mono-paramétriques (marqueur CD63), obtenus après la réalisation d'un TAB, par CMF, pour l'allergène arachide f13 et l'allergène rArah2, pour les différentes dilutions d'allergène testées.

	Arachide f13	rArah2
Dilution pure		
Dilution 1/5		
Dilution 1/10		
Dilution 1/100		
Dilution 1/1000		

ANNEXE 5

Exemple de compte-rendu des résultats du TAB au clinicien sous forme de pourcentage de cellules positives pour le marqueur CD63 après stimulation avec l'allergène.

- TEST D'ACTIVATION DES BASOPHILES HUMAINS (TAB) : ANALYSE DE LA REACTIVITE CELLULAIRE : Cytométrie en flux.

Nature du prélèvement : Sang total/Tube E.D.T.A.

Activation spontanée	0.2	%	N : <2.5	(25/03/21 : 0.0)
Contrôle positif(témoin de stimulation)	96.7	%	N : >10	(25/03/21 : 87.2)

ACTIVATION DES BASOPHILES PAR L'ALLERGENE SPECIFIQUE :

f13 Arachide:

Concentration 1	91.2	%	(25/03/21 : 79.3)
Concentration 2	50.5	%	(25/03/21 : 17.1)
Concentration 3	20.6	%	(25/03/21 : 5.2)
Concentration 4	1.2	%	(25/03/21 : 0.4)
Concentration 5	0.6	%	(25/03/21 : 0.6)

Conclusion : Test positif
résultat précédent le 25/03/21 : Test positif

f423 nAra h 2 Arachide:

Concentration 1	91.3	%	(25/03/21 : 78.1)
Concentration 2	83.2	%	(25/03/21 : 24.0)
Concentration 3	61.6	%	(25/03/21 : 10.2)
Concentration 4	1.7	%	(25/03/21 : 0.2)
Concentration 5	0.6	%	(25/03/21 : 0.0)

Conclusion : Test positif

Réactifs et méthode: Cytométrie en flux BUHLMANN flow cast.

Les résultats sont exprimés en pourcentage de basophiles CCR3/CD 63 +

Pour les allergènes alimentaires.
≥ 15% Test positif

Pour les allergènes alimentaires recombinants.
≥ 10% Test positif.

Interprétation : Test d'activation des basophiles pour l'arachide f13 et Ara h2 :
- POSITIF au pur, 1/5 et 1/10,
- négatif au 1/100 et 1/1000.

ANNEXE 6

Résultats du TAB pré-ITO des patients des groupes échec et réussite de l'ITO

(a) TAB Arachide f13

		Échec n = 16	Réussite n = 27
%B CD63+ (arachide) %B CD63+ (Ac anti-FcεRI)	Dilution <u>pure</u>	1 [0.9 ; 1]	0.7 [0.2 ; 1]
	Dilution <u>1/5</u>	1 [0.8 ; 1]	0.3 [0 ; 1]
	Dilution <u>1/10</u>	1 [0.9 ; 1]	0 [0 ; 0.9]
	Dilution <u>1/100</u>	0.3 [0.1 ; 0.7]	0 [0 ; 0.1]
	Dilution <u>1/1000</u>	0 [0 ; 0]	0 [0 ; 0]
CDmax (%)		93.2 [70.5 ; 95.1]	58.8 [15.6 ; 82.1]
Cmin (ng/mL)		0.2 [0.1 ; 0.6]	1.7 [0.2 ; 5.1]
CD-sens		362.3 [73.4 ; 695.4]	44.6 [17.7 ; 276.0]

(b) TAB rArah2

		Échec n = 16	Réussite n = 27
%B CD63+ (rArah2) %B CD63+ (Ac anti-FcεRI)	Dilution <u>pure</u>	1 [0.9 ; 1]	0.6 [0 ; 1]
	Dilution <u>1/5</u>	1 [0.9 ; 1]	0.2 [0 ; 1]
	Dilution <u>1/10</u>	1 [0.8 ; 1]	0.1 [0 ; 0.9]
	Dilution <u>1/100</u>	0.6 [0.1 ; 0.7]	0 [0 ; 0.1]
	Dilution <u>1/1000</u>	0 [0 ; 0.1]	0 [0 ; 0]
CDmax (%)		92.8 [74.4 ; 95.7]	31.5 [4.7 ; 80.7]
Cmin (ng/mL)		0 [0 ; 0.1]	0.3 [0 ; 1.1]
CD-sens		2569.3 [689.7 ; 3389.8]	251.2 [46.9 ; 1218.0]

Les résultats sont exprimés en médiane [Interquartiles] ou nombre (pourcentage).
% B CD63+ : Pourcentage de basophiles activés exprimant le marqueur CD63

ANNEXE 7

Évolution des TAB des patients des groupes échec et réussite de l'ITO

(a) TAB Arachide f13

		Échec n = 16	Réussite n = 27	P-value
<u>Dilution min (post-ITO)</u> <u>Dilution min (pré-ITO)</u>		-1 (-1 ; 0)	-1 (-1 ; 0)	0,5845
<u>%B CD63+ (post-ITO)</u> <u>%B CD63+ (pré-ITO)</u>	Dilution <u>pure</u>	0,99 [0,80 ; 1,10]	0,81 [0,45 ; 1,02]	0,2451
	Dilution <u>1/5</u>	0,91 [0,22 ; 1,00]	0,58 [0,23 ; 0,92]	0,4326
	Dilution <u>1/10</u>	0,80 [0,22 ; 0,98]	0,66 [0,32 ; 1,23]	0,6189
	Dilution <u>1/100</u>	0,42 [0,06 ; 1,09]	0,88 [0,32 ; 1,23]	0,3457
	Dilution <u>1/1000</u>	0,84 [0,20 ; 1,26]	0,73 [0,45 ; 1,50]	0,5993
<u>CDmax (post-ITO)</u> <u>CDmax (pré-ITO)</u>		0,95 [0,80 ; 1,00]	0,80 [0,60 ; 1,00]	0,1641
<u>CD-sens (post-ITO)</u> <u>CD-sens (pré-ITO)</u>		0,67 [0,20 ; 1,25]	0,74 [0,31 ; 1,33]	0,7196

(b) TAB rArah2

		Échec n = 16	Réussite n = 27	P-value
<u>Dilution min (post-ITO)</u> <u>Dilution min (pré-ITO)</u>		-0,5 (-1 ; 0)	0 (-1 ; 0)	0,3146
<u>%B CD63+ (post-ITO)</u> <u>%B CD63+ (pré-ITO)</u>	Dilution <u>pure</u>	1 [0,88 ; 1,05]	0,81 [0,41 ; 1,08]	0,2886
	Dilution <u>1/5</u>	0,94 [0,57 ; 1,03]	0,74 [0,42 ; 1,04]	0,4825
	Dilution <u>1/10</u>	0,80 [0,22 ; 0,98]	0,66 [0,32 ; 1,23]	0,6189
	Dilution <u>1/100</u>	0,25 [0,06 ; 0,93]	0,92 [0,26 ; 1,88]	0,0974
	Dilution <u>1/1000</u>	0,31 [0,13 ; 1,15]	0,97 [0,31 ; 2,51]	0,2779
<u>CDmax (post-ITO)</u> <u>CDmax (pré-ITO)</u>		0,95 [0,90 ; 1,00]	0,80 [0,40 ; 1,00]	0,2160
<u>CD-sens (post-ITO)</u> <u>CD-sens (pré-ITO)</u>		0,36 [0,13 ; 0,93]	0,67 [0,12 ; 1,00]	0,9307

Les résultats sont exprimés en médiane [Interquartiles] ou nombre (pourcentage).

% B CD63+ : Pourcentage de basophiles activés exprimant le marqueur CD63

Dilution min : Dilution minimale activatrice

AUTEURE : Nom : d'AMONVILLE

Prénom : Marie

Date de soutenance : 12/01/2024

Titre de la thèse : Le test d'activation des basophiles : biomarqueur de la réussite de l'induction de tolérance orale à l'arachide

Thèse - Médecine - Lille « 2024 »

Cadre de classement : *Allergologie*

DES + FST/option : *Allergologie*

Mots-clés : TAB, allergie alimentaire, arachide, induction de tolérance orale, enfant

Résumé :

Contexte : L'induction de tolérance orale (ITO) à l'arachide est une nouvelle thérapeutique proposée aux enfants allergiques à l'arachide. Sa réussite est évaluée par un test de provocation orale et il n'existe pas de marqueur permettant de prédire l'absence de réaction à ce test c'est-à-dire la réussite de la désensibilisation. Le but de cette étude était d'évaluer le test d'activation des basophiles (TAB) réalisé après l'ITO comme biomarqueur prédictif du succès d'une ITO à l'arachide.

Méthodologie : Étude rétrospective monocentrique réalisée au CHU de Lille de 2015 à 2023, ayant inclus les enfants présentant une allergie à l'arachide prouvée par test de provocation orale (TPO), ayant bénéficié d'un traitement par induction de tolérance orale puis d'un deuxième TPO avec la réalisation d'un TAB. Les 2 allergènes étudiés pour le TAB étaient l'extrait d'arachide f13 (de 100 ng/ml à 1.10^{-1} ng/mL) et le recombinant rArah2 (de 20 ng/mL à 2.10^{-2} ng/mL). L'ITO était considérée comme réussie en l'absence de réaction au TPO post-ITO (tolérance de 2191,5 mg de protéines d'arachide), réalisé au moins six mois après le début de la phase de maintenance.

Résultats : Quarante-trois enfants étaient inclus avec un âge médian de 13 ans [9 ; 16]. Les deux groupes étaient comparables vis-à-vis du sexe, des comorbidités atopiques, de l'âge à l'initiation de l'ITO, de la dose cumulée réactogène (DCR) initiale et de la durée médiane d'ITO. Les deux meilleurs paramètres du TAB pour prédire la réussite de l'ITO étaient le ratio des basophiles activés par le rArah2 sur les basophiles activés par l'anticorps anti-FcεRI aux dilutions au 1/5 et au 1/10 avec respectivement une aire sous la courbe de 0,81 [IC95% 0,67-0,94] et 0,82 [IC95% 0,70-0,95]. Les IgE arachide et rArah2 post-ITO étaient aussi performants avec une aire sous la courbe de respectivement 0,82 [IC95% 0,69-0,96] et 0,82 [IC95% 0,70-0,95]. Il n'y avait pas de différence significative concernant les tests cutanés post-ITO, l'évolution du TAB et des marqueurs biologiques (IgE et IgG4) après l'ITO entre le groupe échec et le groupe réussite.

Conclusion : Notre étude a permis de mettre en évidence que le TAB post-ITO est un biomarqueur significativement associé à la réussite d'une ITO. Cependant, il ne paraît pas plus performant que les taux d'IgE post-ITO.

Composition du Jury :

Présidente : Madame la Professeure Cécile CHENIVESSE

Assesseures :

Madame la Docteure Stéphanie ROGEAU

Madame la Docteure Marie MOYART

Directeur de thèse : Monsieur le Professeur Antoine DESCHILDRE