**METHODE POUR DETECTER ET/OU QUANTIFIER DES LIGANDS SPÉCIFIQUES À UNE PATHOLOGIE ASSOCIÉE À UNE RÉACTION ALLERGIQUE OU AUTO-IMMUNE OU À UN CANCER DU POUmons**

**Abstract**

Le présent inventaire se rapporte à un méthodologie de détection et/ou de quantification de ligands spécifiques à une maladie, telle que des maladies auto-immunes ou cancer du poumon, par le biais du dosage d'anticorps spécifiques dans un échantillon de liquide corporel. La méthode est basée sur une reaction compétitive avec d'autres ligands et est utilisée pour déterminer la présence et la concentration de ligands spécifiques à une maladie.
La présente invention concerne un procédé de détection et/ou de quantification de ligands spécifiques d’une pathologie choisie parmi le groupe constitué par les pathologies liées à une réaction allergique ou auto-immune et le cancer du poumon, et présents dans un fluide corporel d’un patient, caractérisé en ce que : on préleve un échantillon du fluide corporel du patient, on fait réagir dans un test de compétition les ligands présents dans l’échantillon avec d’autres ligands discriminables, cesdits ligands discriminables réagissant avec au moins une structure antigénique spécifique de ladite pathologie, et on détecte et/ou quantifie l’inhibition de la réaction entre les ligands discriminables et la structure antigénique spécifique de la pathologie, par les ligands présents dans l’échantillon.
PROCÉDÉ DE DÉTECTION ET/OU DE QUANTIFICATION DE LIGANDS SPÉCIFIQUES D'UNE PATHOLOGIE LIÉE À UNE RÉACTION ALLERGIQUE OU AUTO-IMMUNE OU DU CANCER DU POUMON

15 **Objet de l'invention.**

La présente invention concerne un procédé de détection et/ou de quantification de ligands spécifiques d'une pathologie liée à une réaction allergique ou auto-immune ou du cancer du poumon, un complexe immunoréactif, un ou plusieurs épitopes d'un allergène, l'anticorps dirigé contre ledit complexe immunoréactif ou contre lesdits épitopes, un dispositif de détection et/ou une composition pharmaceutique, cosmétique et/ou alimentaire contenant ledit complexe immunoréactif, lesdits épitopes et/ou ledit anticorps.

La présente invention concerne également l'utilisation dudit complexe, desdits épitopes et dudit anticorps pour la prévention et/ou la thérapie de pathologies liées à une réaction allergique ou auto-immune ou du cancer du poumon.
Arrière-plan technologique et état de la technique à la base de l'invention.

L'allergie est une réaction d'hypersensibilité provoquée par le contact avec un allergène.

L'allergie chez les êtres humains est dépendante de prédispositions génétiques, mais différents facteurs environnementaux peuvent influencer le développement des manifestations allergiques.

Les manifestations allergiques respiratoires (asthme, rhume des foins, ...) ou cutanées (urticaire, eczéma, ...) ou des manifestations allergiques digestives, nerveuse, réno-vésicales, cardiaques, articulaires, oculaires peuvent être dues à l'absorption ou au contact par manipulation de produits d'origine animale (poils), végétale (poussière de bois, fibres textiles, pollen, ...) ou de produits chimiques (antibiotiques, neuroleptiques, ...).

En outre, de nombreuses études cliniques ont suggéré une relation entre la réaction d'hypersensibilité et le cancer, en particulier entre l'atopie respiratoire et le cancer des surfaces muqueuses (Meers P. D., Allergy and Cancer, Lancet 1983, 1, pp. 884 - 885).

La réaction immunitaire vis-à-vis de certaines allergies telles que l'anaphylaxie ou l'atopie, est une des formes d'allergie incluant une hypersensibilité immédiate.

La réaction immunitaire allergique implique les immunoglobulines de classe E (IgE).

Le complexe formé entre les allergènes spécifiques et les IgE fixés sur des cellules basophiles induit la libération de molécules telles que l'histamine, la sérotonine, l'héparine, ..., qui peuvent notamment provoquer la constriction prolongée des cellules musculaires des bronches (Hood et al., Immunology, deuxième édition, de
Benjamin/Cumming Publishing Corporation, Inc. (1984)).

Différentes techniques ont été proposées pour diagnostiquer la présence d'anticorps de type IgE à l'endroit de certains allergènes spécifiques (allergènes impliquée dans la réaction allergique vis-à-vis des pollens, des poils de chat et de chien, ...) (Pharmacia - Cap System®, Phadebas RAST®, Phadezym RAST®, ...).

Cependant, il apparaît que d'autres classes d'anticorps réagissent également spécifiquement vis-à-vis de certains allergènes (classe d'immunoglobulines de type IgM, IgA et IgG).

En outre, il est à noter que les immunoglobulines de classe G sont, contrairement aux immunoglobulines de classe E, présentes en plus grande quantité chez un patient, en particulier chez les enfants en bas âge.

Les pools d'immunoglobulines de classe G (caractérisés par une demi-vie de longue durée) peuvent donc être plus facilement détectés.

De nombreux travaux ont été également effectués sur les allergènes et sur des épitopes particuliers de ceux-ci. Ainsi, des travaux ont été réalisés sur les allergènes présents dans le lait de vache.

En particulier, il a été reconnu qu'il était possible d'obtenir une tolérance des enfants en bas âge vis-à-vis du lait en utilisant à titre de produit diététique des extraits d'un hydrolysat de protéines du lait de vache.

Dans la demande de brevet EP-0 629 350, on décrit l'utilisation d'un hydrolysat de protéines de lait pour la préparation d'une composition diététique permettant l'induction d'une tolérance au lait de vache pour des enfants susceptibles de développer une allergie au lait de vache.
Cet hydrolysat de lait dépourvu de protéines allergéniques est obtenu en soumettant les allergènes à un traitement par trypsine et chymiotrypsine en présence d'une élastase.

Selon ce document, on démontre que les enfants traités seraient devenus tolérants vis-à-vis du lait de vache par le fait qu'ils présenteraient une réaction immunitaire cellulaire atténuée.

**Buts de l'invention.**

La présente invention vise à mettre au point un nouveau procédé et un nouveau dispositif de détection et/ou de quantification de ligands spécifiques d'une pathologie liée à une réaction allergique ou auto-immune ou du cancer du poumon.

Un but particulier de la présente invention vise à mettre au point ledit procédé et ledit dispositif qui pourraient être utilisés dans le diagnostic de patients qui présenteraient éventuellement de faibles productions en immunoglobulines de classe E.

La présente invention vise également à fournir une composition pharmaceutique, cosmétique et/ou alimentaire destinée à modifier la réponse immunitaire d'un patient vis-à-vis d'un allergène et/ou pour le traitement et/ou la prévention de syndromes liés à une pathologie immunitaire, en particulier les allergies, les maladies auto-immunes et/ou le cancer du poumon.

Un but complémentaire de la présente invention vise à utiliser ladite composition de manière prophylactique et/ou thérapeutique pour modifier la réponse immunitaire humorale et/ou cellulaire d'un patient vis-à-vis d'un allergène, en particulier si le patient est un nouveau-né.
Eléments caractéristiques de l'invention.

La présente invention concerne un nouveau procédé de détection et/ou de quantification de ligands spécifiques d'une pathologie choisie parmi le groupe constitué par les pathologies liées à une réaction allergique ou auto-immune et le cancer du poumon, lesdits ligands étant présents dans un fluide corporel d'un patient (tel que le sérum ou le liquide céphalo-rachidien), ledit procédé comprenant les étapes suivantes :

- on prélève un échantillon du fluide corporel du patient,
- on fait réagir dans un test de compétition les ligands présents dans l'échantillon avec d'autres ligands discriminables par rapport aux ligands présents dans l'échantillon, lesdits ligands discriminables réagissant avec au moins une structure antigénique (de préférence fixée sur un support solide) spécifique de ladite pathologie, et
- on détecte et/ou quantifie l'inhibition de la réaction entre les ligands discriminables et la structure antigénique spécifique de la pathologie, par les ligands présents dans l'échantillon.

On entend par "pathologies liées à une réaction allergique ou auto-immune", les réactions d'hypersensibilité de type immédiat ou différé provoquées par le contact avec un allergène. Cette réaction peut être immédiate et spécifique (anaphylaxie, urticaire, ...) ou différée dans le temps.

Cette pathologie comprend également les maladies auto-immunes et/ou les infections conduisant à un désordre du système immunitaire. L'auto-immunité est un état d'immunisation d'un sujet contre ses propres constituants.
La production par un organisme d'anticorps dirigés contre ses propres constituants a été observée dans un certain nombre de pathologies, telles que les infections liées au SLE (Systemic Lupus Erythematosus disease), le syndrome Gougerot-Sjögren (ou pathologie Sjögren), la polyarthrite rhumatoïde, etc. D'autres exemples de maladies ayant ces caractéristiques sont également des pathologies telles que sarcoidosis et osteopenia, spondylarthritide, scleroderma, multiple sclerosis, amyotrophic lateral sclerosis, hyperthyroidism, maladie d'Addison, auto-immune haemolytic anaemia, maladie de Crohn, syndrome de Goodpasture, maladie de Graves, Hashimoto's thyroiditis, idiopathic purpura haemorrhagica, diabètes insulinodépendants, myasthenia, pemphigus vulgaris, pernicious anaemia, poststreptococcal glomerulonephritis, psoriasis et stérilité spontanée.

Cette pathologie peut être également un syndrome d'hyperprolifération, en particulier le cancer du poumon.

Selon l'invention, les ligands sont choisis parmi le groupe constitué par les cellules APC (Antigen Presenting Cell telles que les macrophages, les cellules dendritiques), les récepteurs des cellules APC, les anticorps (monoclonaux ou polyclonaux) ainsi que leurs fragments (portions Fab des anticorps) et/ou un mélange d'entre eux.

De préférence, les ligands selon l'invention sont des immunoglobulines de classe G.

On entend par "ligands discriminables par rapport aux ligands présents dans l'échantillon", des ligands différents de ceux présents dans l'échantillon et qui sont susceptibles d'être identifiés et/ou quantifiés de manière sélective par différents moyens chimiques ou physiques. De tels moyens peuvent par exemple être un marquage desdits
ligands au moyen d'un marqueur radioactif, enzymatique, chemoluminescent, bioluminescent, ou biochimique (biotine).

Lesdits ligands peuvent également être des ligands spécifiques d'une espèce animale. De préférence, les ligands selon l'invention sont des immunoglobulines de classe G. Selon une forme d'exécution préférée de l'invention, les ligands sont des immunoglobulines de classe Y purifiés à partir du jaune d'oeuf de poule. Il est donc possible d'utiliser le procédé de détection et/ou de quantification selon l'invention en utilisant des ligands discriminables (IgY de jaune d'oeuf de poule) que l'on fait réagir sur une structure antigénique (par exemple un allergène) fixé sur un support solide et spécifique de ladite pathologie, lesdits IgY saturant la structure antigénique. On fait ensuite réagir dans un test de compétition les ligands présents dans l'échantillon, par exemple un sérum d'un patient malade ou d'un patient sain, comportant notamment des immunoglobulines avec lesdits IgY extraits de l'oeuf de poule.

Avantageusement, il est également possible de rajouter de manière additionnelle au sérum à tester des immunoglobulines IgY extraites de l'oeuf de poule. Ensuite, on détecte et/ou quantifie l'inhibition de la réaction croisée entre les ligands discriminables, c'est-à-dire les IgY extraits de l'oeuf de poule, et la structure antigénique spécifique de la pathologie (par exemple un allergène testé), par les ligands présents dans l'échantillon (c'est-à-dire les immunoglobulines présentes dans le sérum du patient testé).

Il est ensuite possible de comparer l'inhibition de la réaction de patients sains par rapport à celle de patients souffrant de la pathologie testée.

Préférentiellement, la structure antigénique est un allergène choisi parmi le groupe constitué par les
allergènes majeurs présents dans la lait de vache, en particulier la β-lactoglobuline bovine (BLG), les antigènes majeurs intervenant dans les phénomènes allergiques vis-à-vis des plantes, (en particulier les allergènes des pollens), des animaux (en particulier les allergènes présents dans les poils d'animaux, les allergènes des venins d'animaux, l'antigène des acariens présents dans la poussière domestique, les antigènes responsables de l'allergie aux acariens, l'entérotoxine B staphylococcale (SEB), un ou plusieurs épitopes de ces allergènes et/ou un mélange d'entre eux tel que décrit dans la publication ISBN 91-970475-5-4 Pharmacia AB incorporée ici par référence.

De préférence, la structure antigénique est un complexe antigénique spécifique d'une maladie auto-immune.

De préférence, cette structure antigénique est un marqueur spécifique du lupus (SLE) ou de la pathologie de Sjögren, en particulier la membrane plasmatique ou une portion de cette membrane contenant du DNA membranaire et ayant un poids supérieur à 100 KD, tel que notamment décrit dans la demande de brevet PCT/BE95/00100 dont le numéro de dépôt est incorporé par référence.


Cette structure antigénique peut être également un allergène présenté au niveau d'une muqueuse utilisé selon l'invention dans le diagnostic du cancer du poumon.

La présente invention concerne également un complexe immunoréactif comprenant au moins un allergène lié à un ligand, éventuellement marqué, réagissant spécifiquement
contre cet allergène.

On entend par "complexe immunoréactif", une liaison spécifique entre les allergènes ou les complexes antigéniques spécifiques d'une pathologie liée à une réaction auto-immune, et les ligands spécifiques précédemment décrits, susceptible d'être utilisée dans un dispositif de détection et/ou de quantification de ligands spécifiques de la pathologie liée à une réponse allergique.

Un autre aspect de la présente invention concerne les épitopes allergéniques spécifiques d'un syndrome liés à une réponse allergique, en particulier les épitopes allergéniques de l'antigène de la β-lactoglobuline bovine (BLG) tels que décrits dans les figures 14 à 16 et les épitopes allergéniques de l'antigène DRP1 (Major Mite Fecal Allergene) et les épitopes allergéniques de l'antigène majeur LolPl de Lolium Perenne tels que décrits dans les figures 34 et 35 respectivement.

La présente invention concerne également l'anticorps (monoclonal ou polyclonal) dirigé contre le dit complexe immunoréactif ou lesdits épitopes allergéniques selon l'invention.

Un autre aspect de l'invention concerne le dispositif de détection et/ou de quantification d'un ligand spécifique desdites pathologies, comprenant ledit complexe, lesdits épitopes et/ou ledit anticorps selon l'invention.

Le dispositif selon la présente invention comprend, en outre, des réactifs destiné à la détection et/ou à la quantification desdits ligands par un procédé choisi parmi le groupe constitué par la reconnaissance par des anticorps marqués, de manière isotopique ou non isotopique, sur filtre, sur support solide, sur gel, en solution, en "sandwich", par double immunodiffusion, par contre-immunoélectrophorèse, par
hémagglutination et/ou un mélange d'entre eux.

La présente invention concerne également une composition pharmaceutique, cosmétique et/ou alimentaire destinée à modifier la réponse immunitaire humorale et/ou cellulaire d'un patient vis-à-vis d'un allergène, comprenant ledit allergène, un ou plusieurs épitopes dudit allergène, le complexe immunoréactif selon l'invention, l'anticorps dirige contre ce complexe et/ou un mélange d'entre eux.

On entend par "modification de la réponse immunitaire humorale et/ou cellulaire d'un patient vis-à-vis d'un allergène", la modification du pool d'anticorps réagissant de manière spécifique à l'encontre de certains épitopes allergiques, c'est-à-dire la capacité pour un patient d'avoir une production d'anticorps comparable à celle d'un sujet sain telle qu'elle est diagnostiquée dans les exemples de la description.

Avantageusement, le patient est un nouveau-né et la composition est administrée à la mère avant et/ou pendant la grossesse ou l'allaitement maternel.

Un dernier aspect de la présente invention concerne l'utilisation de ladite composition pharmaceutique pour la préparation d'un médicament destiné à modifier la réponse immunitaire humorale et/ou cellulaire d'un patient vis-à-vis d'un allergène et/ou pour le traitement et/ou la prévention de pathologies liées à une réponse allergique, en particulier le traitement et/ou la prévention d'allergies et/ou de cancers.

Selon une forme d'exécution préférée de cette utilisation, le patient est un nouveau-né et la composition est administrée à la mère avant ou pendant la grossesse ou l'allaitement maternel.
Brève description des figures.

Les figures 1 à 7 représentent l'influence de l'administration orale d'un hydrolysat de lait sur la réponse immunitaire d'un individu adulte à la β-lactoglobuline.

Les figures 8 et 9 représentent la modulation de la réponse anticorps anti-β-lactoglobuline de nouveaux-nés en fonction de l'alimentation lactée de leur mère.

Les figures 10 à 12 représentent la mesure de l'inhibition d'un pool d'immunoglobulines IgG marquées par le sérum de patients sains et intolérants à un allergène particulier.

La figure 13 représente la mesure de l'inhibition d'un anticorps monoclonal marqué par le sérum d'un patient sain et intolérant à un allergène.

Les figures 14 à 16 représentent la reconnaissance spécifique de certains épitopes linéaires de l'allergène BLG par des pools d'immunoglobulines de sérum de patients sains, atteints d'allergie ou d'un cancer du poumon.

Les figures 17 à 31 représentent la mesure de l'inhibition d'un pool d'immunoglobulines IgG marquées par le sérum de patients sains et intolérants à un allergène particulier (antigène SEB de l'entérotoxine de staphylocoque,
antigène DPT spécifique de l'allergie aux acariens, antigènes Gl et LolPl spécifiques de l'allergie au pollen de la graminée d'Antoxanthum odoratum et Lolium Perenne et antigène majeur du venin de guêpe).

La figure 32 représente la mesure de l'inhibition d'un pool d'IgG obtenues d'un individu sain fixées sur un complexe antigénique spécifique du lupus et éventuellement du Sjögren par différents sera issus de patients souffrant de la pathologie du lupus, de la pathologie de Sjögren et de patients sains à différentes dilutions de sérum.

La figure 33 représente la mesure de l'inhibition d'un pool d'IgG issues de patients souffrant des symptômes du lupus fixées sur un complexe antigénique spécifique du lupus et/ou du Sjögren par des sera issus de patients souffrant des symptomes du lupus, des symptomes du Sjögren ou de patients sains à différentes dilutions de sérum.

Les figures 34 et 35 représentent la reconnaissance spécifique de certains epitopes linéaires des allergènes DRP1 et LolPl par des pools d'immunoglobulines de sérum de patients sains ou de patients allergiques.
La figure 36 représente l'inhibition de la liaison d'anticorps discriminables (IgY purifiées du jaune d'oeuf de poule) au complexe antigénique BLG par des anticorps IgG de différents sera.

**Exemples.**

1. **Influence de l'administration orale d'un hydrolysat de lai sur la réponse IgG et IgM de souris adultes à la β-lactoglobuline.**

Depuis l'invention des tests de détection d'anticorps par l'utilisation d'une surface recouverte d'un antigène comme les RASTS et les ELISAS (phase solide), mesurant des anticorps de plus faible affinité que les tests antérieurs (RIA; phase liquide), on s'est aperçu d'une chose qui reste étonnante, bien que jamais soulignée : de nombreux antigènes capables d'induire une réponse allergique par anticorps de classe IgE chez les malades, sont aussi capables d'induire des anticorps de classe IgG chez tous les individus, y compris les sujets sains, atopiques ou non. C'est le cas de la β-lactoglobuline (BLG), la lactalbumine et la caséine, les antigènes majeurs du lait de vache (LV), ou de pollens, du DPT et diverses moisissures pour les aéroallergènes.

Pourtant, il ne suffit pas qu'une protéine soit ingérée pour induire cette réponse; chacun ne fait pas de tels anticorps contre l'albumine de boeuf ou la gliadine du blé, par exemple. Considérant l'allergie comme un cas particulier de réponse immune généralement répandue, il est important d'analyser aussi cette réponse chez les sujets non allergiques, car elle singularise déjà certains antigènes parmi d'autres protéines alimentaires.
La réponse IgG anti-BLG (et IgA) est dirigée contre des épitopes qui diffèrent partiellement entre sujets allergiques symptomatiques et sujets guéris ou sains.

Des souris syngéniques de trois souches distinctes (l'une domestique, les autres BalbC et C57Bl) nourries sans lait depuis 5 générations au moins et âgées de 6 semaines ont été réparties en groupes égaux de 8 animaux et soumises à des régimes différents (voir figure 1).

Le premier consistait à recevoir de l'eau comme unique boisson pendant 72 jours, l'autre consistait à recevoir de l'eau pendant 6 semaines puis un hydrolysat commercial de lait de vache (NANHA ® de Nestlé), pendant 30 jours. Ensuite, toutes les souris ont reçu du lait de vache dilué de 1/3 dans leur eau de boisson. On mesure les anticorps IgG et IgM au jour 0 (début du lait entier à 1/3) et 30 jours plus tard vis-à-vis de la β-lactoglobuline (BLG) comme représentant de l'allergénicité du lait, par une méthode d'ELISA, en utilisant la BLG intacte (n-BLG à l'état natif) et des peptides obtenus par digestion pepsinique de la BLG (d-BLG) (voir figs. 2 à 7).

Il apparaît que :
- le régime alimentaire constitué par des granules déclarés sans addition de lait n'est cependant pas entièrement dépourvu d'antigènes de lait (contamination à la production). Les mesures montrent cependant que l'apport est 30 fois inférieur à celui de l'équivalent antigénique fourni par l'hydrolysat de lait. Ceci explique que même les souris ne recevant que de l'eau comme boisson ont développé des anticorps anti-BLG;
- la pré-nutrition des souris à l'hydrolysat de lait influence manifestement la réponse IgM et IgG vis-à-vis de la β-lactoglobuline;
- ceci dépend de la souche sélectionnée et indique donc un déterminisme génétique;
- enfin, la spécificité des anticorps est ainsi modifiable puisque les titres mesurés sur n-BLG et d-BLG ne varient pas de façon parallèle, indiquant donc une modulation différente selon la catégorie ou le type d'épitopes (ici, conformationnels; versus structurels);
- ceci est observé pour les IgM (demi-vie courte) (voir figs. 2 et 3) mais déjà observable aussi pour les IgG (voir figs. 5 et 6).


Dans ce même modèle, on administre du lait entier à la concentration de 1/1 ou 1/30 dans le lait de boisson à des souris en âge de se multiplier et appartenant à la souche domestique. On mesure les anticorps des souriceaux à l'âge de 4 semaines en tenant compte du délai entre le début du régime maternel et la date de naissance (et donc de la conception) (voir figs. 8 et 9).

Il apparaît que le régime alimentaire de la mère fait indéniablement varier les titres et la spécificité des anticorps de sa progéniture selon le délai entre l'instauration du régime maternel et celui de la conception, et d'autre part en fonction de l'apport quantitatif de lait.

L'ensemble de ces données permet de montrer que les manipulations à la fois quantitatives et qualitatives du rapport alimentaire en antigènes de lait a une influence sur la réponse immune de souris adultes, tant pour le titre des anticorps que pour la spécificité épitopique. Ceci est vrai pour leur propre réponse et pour celle qui apparaîtra chez
leur progéniture. Cette influence de la réponse de la progéniture par la manipulation de la diète maternelle rend vraisemblable l'hypothèse d'une manipulation de la réponse de bébés contre les antigènes de lait en modifiant l'apport et la qualité des antigènes de lait fournis à la mère avant et durant sa grossesse.

Il est donc possible d'apporter chez un nouveau-né une tolérance immunitaire (humorale, mais probablement aussi cellulaire) vis-à-vis d'un syndrome lié à une réponse allergique en traitant la mère du nouveau-né avant et/ou pendant sa grossesse. Ce traitement prophylactique permet donc d'éviter chez un patient un traitement thérapeutique lourd de longue durée et coûteux durant l'enfance et/ou l'adolescence.

3. Diagnostic de groupes d'individus présentant des syndromes liés à une réponse allergique.

a. Réponse allergique à la β-lactoglobuline.

La β-lactoglobuline du lait de vache utilisée comme allergène est fixée sur un support solide.

On identifie des groupes d'individus par un test de compétition entre des immunoglobulines marquées (ces immunoglobulines sont fixées à de la biotine et révélées par la réaction d'une enzyme peroxydase liée à de la polystreptavidine) et les sérum de patients (test ELISA).

On analyse le sérum de 44 individus sains (CM tolérants) et de 44 individus présentant une intolérance au lait de vache (CM intolérants).

L'analyse de ces résultats indique qu'il est possible d'identifier les groupes d'individus sains et intolérants au lait de vache par rapport à leur réaction spécifique vis-à-vis de l'allergène (voir figure 10).
Cette réaction s'observe également avec des allergènes constitués de l'allergène BLG natif (n-BLG) ou digérés à la pepsine (d-BLG) (voir figs. 11 et 12).

Un test de compétition a également été réalisé en utilisant une compétition entre des anticorps monoclonaux de souris M7 marqués comme précédemment et des sérum de patients.

La figure 13 donne le résultat de ce test de compétition qui permet d'identifier les individus sains (44 CM tolérants et 65 donneurs de sang (BD)) et les 44 individus présentant une intolérance au lait de vache (CM intolérants).

Par conséquent, certains anticorps monoclonaux permettent d'identifier de manière préférentielle dans cette compétition les individus présentant une intolérance au lait de vache.

b. Caractérisation des épitopes linéaires d'un allergène spécifique de certains syndromes.


Certains allergènes (BLG, antègène pl de la mite présente dans la poussière domestique (Dermatophagoïdes pteronyssinus) induisent la production d'immunoglobulines chez des patients atteints de cancer.

Par conséquent, la Demandésse a cherché à identifier les épitopes linéaires particuliers de l'allergène BLG susceptibles de réagir avec des immunoglobulines G présentes dans le sérum de patients atteints d'un cancer.

On synthétise sur une phase solide des octapeptides composant une suite successive de 8 acides aminés dans
l'ordre de la structure primaire de la BLG.

On révèle ensuite des peptides ayant permis de fixer des immunoglobulines G biotinées et provenant d'un pool de 12 sujets, qui sont soit allergiques au lait, soit normaux, soit atteints d'un cancer du poumon.

La révélation de la fixation des anticorps est faite par de la streptavidine couplée à de la β-galactosidase (voir figures 13 à 15). Dans ces figures, on identifie certains épitopes particuliers reconnus uniquement par des pools d'immunoglobulines d'un sérum de patients atteints d'un cancer du poumon ou uniquement reconnus par les immunoglobulines présentes dans le sérum d'un patient allergique au lait.

Une procédure similaire a été utilisée pour caractériser les épitopes linéaires des allergènes DRP1 et LolPl (figures 34 et 35).

Par conséquent, il est possible de caractériser une "signature" précise d'une pathologie (allergie, cancer, cancer et allergie).

En conclusion, sur base des exemples susmentionnés, il est possible de caractériser une pathologie liée à une réponse allergique par le fait que le système immunitaire de patients sains, par rapport à des patients malades, reconnaît spécifiquement certains épitopes d'allergènes par des anticorps spécifiques.

Il est donc possible de modifier cette réponse immunitaire en présentant à des patients un choix particulier d'épitopes allergiques ou non allergiques pour diagnostiquer une pathologie liée à une réponse immunitaire ou pour obtenir une prévention ou une thérapie de cette pathologie liée à une réponse allergique.
En particulier, il est possible de moduler cette réponse d'anticorps spécifiques chez des nouveau-nés en additionnant une composition pharmaceutique, cosmétique et/ou alimentaire à la mère avant et/ou pendant la grossesse.

Comme le démontrent les figures 11 et 12, il est possible d'utiliser comme référence marquée un pool d'immunoglobulines spécifiques d'un épitope d'un allergène caractéristique d'un profil épitopique normal (individus CM tolérants) et de diagnostiquer les individus normaux (CM tolérants caractérisés par leur important pourcentage d'inhibition) et les individus intolérants au lait de vache (CM intolérants caractérisés par leur faible pourcentage d'inhibition).

4. Diagnostic de groupes d'individus présentant des syndromes liés à une réponse allergique vis-à-vis de différents allergènes majeurs.

Le diagnostic de différents groupes d'individus a pu être effectué vis-à-vis de certains antigènes majeurs de différentes allergies selon la procédure expérimentale telle que décrite dans l'exemple précédent.

Les différents allergènes ont été fixés sur un support solide. On identifie des groupes d'individus par un test de compétition entre des immunoglobulines marquées et les sera de patients.
a. Eczéma et réaction à l'antigène SEB de l'entérotoxine de staphylocoque

<table>
<thead>
<tr>
<th>Fig</th>
<th>Type de patient</th>
<th>Eff.</th>
<th>Origine du pool d'IgG</th>
<th>Antigène utilisé</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>17</td>
<td>Allergie aux acariens</td>
<td></td>
<td>IgG</td>
<td>SEB</td>
</tr>
<tr>
<td>5</td>
<td>eczéma enfants</td>
<td>22</td>
<td>d'enfants</td>
<td>entérotoxine de</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>eczéma adultes</td>
<td>39</td>
<td>avec eczéma</td>
<td>staphylocoque</td>
</tr>
<tr>
<td>Contrôles</td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>10</td>
<td>enfants sains</td>
<td>22</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>adultes sains</td>
<td>48</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>psoriasis adultes</td>
<td>8</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
</tbody>
</table>

<table>
<thead>
<tr>
<th>Fig</th>
<th>Type de patient</th>
<th>Eff.</th>
<th>Origine du pool d'IgG</th>
<th>Antigène utilisé</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>18</td>
<td>Allergie aux acariens</td>
<td></td>
<td>IgG</td>
<td>SEB</td>
</tr>
<tr>
<td>15</td>
<td>eczéma enfants</td>
<td>31</td>
<td>d'enfants</td>
<td>entérotoxine de</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>avec eczéma</td>
<td></td>
<td></td>
<td>staphylocoque</td>
</tr>
<tr>
<td>Contrôles</td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>20</td>
<td>adultes sains</td>
<td>50</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>psoriasis adultes</td>
<td>4</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
</tbody>
</table>

<table>
<thead>
<tr>
<th>Fig</th>
<th>Type de patient</th>
<th>Eff.</th>
<th>Origine du pool d'IgG</th>
<th>Antigène utilisé</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>19</td>
<td>Allergie aux acariens</td>
<td></td>
<td>IgG</td>
<td>SEB</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>eczéma adultes</td>
<td>31</td>
<td>d'adultes sains</td>
<td>entérotoxine de</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
<td>staphylocoque</td>
</tr>
<tr>
<td>Contrôles</td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>25</td>
<td>adultes sains</td>
<td>50</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>psoriasis adultes</td>
<td>4</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
</tbody>
</table>

L'analyse des résultats des figures 17 à 19 indique qu'il est possible d'identifier des groupes d'individus sains
et présentant une allergie aux acariens (enfants et adultes) par leur réaction spécifique vis-à-vis de l'allergène.

Cette allergie active aux acariens se présente sous la forme d'un eczéma, qu'il soit adulte ou enfant.

On peut conclure que les anticorps de malades souffrant d'une allergie active aux acariens reconnaissent sur l'antigène majeur des épitopes particuliers peu ou mal reconnus par les anticorps sériques des sujets sains, qu'ils soient adultes ou enfants, ou encore atteints d'une maladie de peau non allergique comme le psoriasis, utilisés comme contrôle.

Il semblerait que des épitopes particuliers soient de type conformationnel car toute altération physique de l'antigène SEB (comme celle qui suit les congélation/dégel répétés) modifie la sensibilité des tests.

\[ \text{b. Éczémas de type rhinite et asthmes allergiques} \]

<table>
<thead>
<tr>
<th>Fig</th>
<th>Type de patient</th>
<th>Eff.</th>
<th>Origine du pool d'IgG</th>
<th>Antigène utilisé</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>20</td>
<td>Allergie aux acariens</td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>- eczéma adultes</td>
<td>29</td>
<td>IgG</td>
<td>DPT</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>- rhinite</td>
<td>17</td>
<td>d'adultes avec eczéma</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>- asthme</td>
<td>40</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Contrôles</td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>- adultes sains</td>
<td>64</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>- psoriasis</td>
<td>4</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
</tbody>
</table>

L'analyse des résultats figurant à la figure 20 indique qu'il est également possible d'identifier des groupes d'individus sains et allergiques aux acariens (eczéma ou rhinite ou asthme) par leur réaction spécifique vis-à-vis de
l’allergène DPT.

<table>
<thead>
<tr>
<th>Fig</th>
<th>Type de patient</th>
<th>Eff.</th>
<th>Origine du pool d'IgG</th>
<th>Antigène utilisé</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>21</td>
<td>Allergie au pollen G1</td>
<td>IgG</td>
<td>G1 = pollen de la graminée</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>5</td>
<td>- asthme</td>
<td>16</td>
<td>d’adultes</td>
<td>Antoxanthum odoratum</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
<td>avec eczéma</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>10</td>
<td>Allergie aux acariens</td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>- eczéma adultes</td>
<td>31</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Contrôles</td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>- adultes sains</td>
<td>50</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>- psoriasis</td>
<td>4</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
</tbody>
</table>

L’analyse des résultats figurant à la figure 21 montre que les sujets allergiques aux acariens ressemblent aux sujets de contrôle pour l’inhibition d’IgG d’autres allergiques (eczéma) sur cet antigène de pollen, alors que les allergiques au pollen G1 se distinguent par une inhibition différente (moindre) de symptômes à l’égard de l’antigène testé. C’est l’expression de symptômes chez le sujet qui détermine le niveau de compétition spécifique entre sérum et IgG purifiées.

<table>
<thead>
<tr>
<th>Fig</th>
<th>Type de patient</th>
<th>Eff.</th>
<th>Origine du pool d'IgG</th>
<th>Antigène utilisé</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>22</td>
<td>Allergie aux acariens</td>
<td>IgG</td>
<td>BLG 8-</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
<td>lactaglobuline du lait de vache</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>- eczéma adultes</td>
<td>31</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Contrôles</td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>- sujets sains</td>
<td>64</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>- psoriasis</td>
<td>4</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
</tbody>
</table>
L'analyse des résultats figurant à la figure 22 indique les sujets allergiques et les sujets de contrôle ne diffèrent pas entre eux lorsqu'ils sont testés sur un antigène sans relation avec leur état.

c. Allergies respiratoires aux acariens

<table>
<thead>
<tr>
<th>Fig</th>
<th>Type de patient</th>
<th>Eff.</th>
<th>Origine du pool d'IgG utilisée</th>
<th>Antigène</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>23</td>
<td>Allergie aux acariens</td>
<td></td>
<td>IgG</td>
<td>DPT</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>- rhinite</td>
<td>17</td>
<td>d'allergiques</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>- asthme</td>
<td>39</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Controles</td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>- adultes sains</td>
<td>64</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
</tbody>
</table>

<table>
<thead>
<tr>
<th>Fig</th>
<th>Type de patient</th>
<th>Eff.</th>
<th>Origine du pool d'IgG utilisée</th>
<th>Antigène</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>24</td>
<td>idem que pour la figure 23</td>
<td>IgG de contrôles</td>
<td>DPT</td>
<td></td>
</tr>
</tbody>
</table>

<table>
<thead>
<tr>
<th>Fig</th>
<th>Type de patient</th>
<th>Eff.</th>
<th>Origine du pool d'IgG utilisée</th>
<th>Antigène</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>25</td>
<td>idem que pour la figure 23</td>
<td>IgG de contrôles</td>
<td>BLG</td>
<td></td>
</tr>
</tbody>
</table>

L'analyse des résultats présentés dans les figures 23 à 25 indique qu'il est possible d'identifier des groupes d'individus sains par rapport à des individus allergiques ou intolérents, par leur réaction spécifique vis-à-vis de l'allergène DPT ou BLG.
<table>
<thead>
<tr>
<th>Fig</th>
<th>Type de patient</th>
<th>Eff.</th>
<th>Origine du pool d'IgG</th>
<th>Antigène utilisé</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>26</td>
<td>Allergie aux acariens</td>
<td></td>
<td></td>
<td>G1</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>- respiratoire</td>
<td>43</td>
<td>IgG de contrôles</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>5</td>
<td>Allergie au pollen G1</td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>- respiratoire</td>
<td>16</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Contrôles</td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>- adultes sains</td>
<td>50</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
</tbody>
</table>

L'analyse des résultats présentés à la figure 26 indique que les allergiques aux acariens et les sujets de contrôle sont semblables à présent qu'ils sont testés sur pollen G1. Cependant, on distingue maintenant les allergiques au pollen G1 par rapport aux allergiques aux acariens et aux sujets de contrôles.

<table>
<thead>
<tr>
<th>Fig</th>
<th>Type de patient</th>
<th>Eff.</th>
<th>Origine du pool d'IgG</th>
<th>Antigène utilisé</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>27</td>
<td>Allergie au pollen</td>
<td></td>
<td></td>
<td>LolPl</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>LolPl</td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>- respiratoire</td>
<td>62</td>
<td>IgG d'allergiques</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Contrôles</td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>- adultes sains</td>
<td>63</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
</tbody>
</table>

L'analyse des résultats présentés dans la figure 27 indique qu'il est possible d'identifier des groupes d'individus sains par rapport aux allergiques par leur réaction spécifique vis-à-vis de l'allergène LolPl.
<table>
<thead>
<tr>
<th>Fig</th>
<th>Type de patient</th>
<th>Eff.</th>
<th>Origine du pool d'IgG</th>
<th>Antigène utilisé</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>28</td>
<td>idem que pour la figure 23</td>
<td>Anticorps monoclonal de souris anti Der p1 n° M5</td>
<td>DPT</td>
<td></td>
</tr>
</tbody>
</table>

L'analyse des résultats présentés dans la figure 28 montre que les patients allergiques au DPT et sujets de contrôle inhibent différemment l'anticorps monoclonal sur le DPT, mais avec un chevauchement important des distributions.

<table>
<thead>
<tr>
<th>Fig</th>
<th>Type de patient</th>
<th>Eff.</th>
<th>Origine du pool d'IgG</th>
<th>Antigène utilisé</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>29</td>
<td>idem que pour la figure 23</td>
<td>Anticorps monoclonal de souris anti Der p1 n° M6</td>
<td>DPT</td>
<td></td>
</tr>
</tbody>
</table>

L'analyse des résultats figurant à la figure 29 indique que les sujets de contrôle inhibent mieux que les allergiques alors que ceux-ci ont des titres plus élevés d'anticorps anti-DPT. Il ya donc reconnaissance d'épitopes distincts permettant d'identifier les différents groupes d'individus. L'épitope unique (reconnu ici par un anticorps monoclonal) est surtout reconnu par les sujets de contrôle et nettement moins bien par les allergiques.

L'analyse de ces différents résultats indique que les sujets allergiques aux acariens et qui souffrent de symptômes respiratoires reconnaissent par leurs anticorps...
(notamment IgG) des épitopes différents de ceux des sujets sains ou souffrant d'allergie à l'égard d'un autre type d'allergène.

Ceci s'observe dans l'un ou l'autre sens selon le type d'anticorps (IgG purifiées ou anticorps monoclonal). Cette caractéristique ne semble cependant pas s'étendre à d'autres allergènes (BLG ou pollen G1), auxquels ils sont cliniquement indifférents. Ceci a pu également se vérifier à l'échelon d'un épitope singulier de type conformationnel (reconnu par un anticorps monoclonal).

d. Allergie au venin de guêpe

<table>
<thead>
<tr>
<th>Fig</th>
<th>Type de patient</th>
<th>Eff</th>
<th>Origine du pool d'IgG utilisée</th>
<th>Antigène</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>30</td>
<td>All. au venin (IgE+)</td>
<td></td>
<td>IgG</td>
<td>Venin de guêpe</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>- symptômes systémiques avant vaccin</td>
<td>32</td>
<td>d'allergiques au venin de guêpe</td>
<td>Vespula germanica</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>- id. après 2 ans de vaccin (désensibilisés)</td>
<td>32</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>- symptômes locaux</td>
<td>4</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Contrôles</td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>- sujets sains</td>
<td>32</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
</tbody>
</table>

L'analyse des résultats de la figure 30 montre que les sujets allergiques (en danger) se distinguent des sujets sains et des sujets désensibilisés par leur aptitude à mieux inhiber les IgG d'allergiques. Les sujets n'ayant présenté que des symptômes locaux sont semblables au sujets de contrôle.
<table>
<thead>
<tr>
<th>Fig</th>
<th>Type de patient</th>
<th>Eff.</th>
<th>Origine du pool d'IgG utilisé</th>
<th>Antigène utilisé</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>31</td>
<td>idem que pour la figure 30</td>
<td>IgG de sujets désensibilisés</td>
<td>idem que pour la figure 30</td>
<td></td>
</tr>
</tbody>
</table>

L'analyse des résultats de la figure 31 indique que les sujets allergiques et les sujets désensibilisés se ressemblent et diffèrent des sujets de contrôle ou sensibilisés mais sans symptômes généralisés.

L'analyse de ces résultats indique que l'expression systémique des symptômes (généralisés) est associée à la reconnaissance d'épitopes particuliers sur les antigènes du venin de guêpe distincts de ceux reconnus par les sujets de contrôle, voire sensibilisés mais ne courant pas de danger d'anaphylaxie. La désensibilisation par immunothérapie spécifique fait perdre une partie de cette spécificité, sans pour autant faire revenir ces sujets à un spectre de reconnaissance d'épitopes complètement différent de celui des sujets à risque d'anaphylaxie avant traitement.

5. Diagnostic de groupes d'individus présentant des syndromes liés à une maladie auto-immune : lupus érythémateux disséminé (SLE)

<table>
<thead>
<tr>
<th>Fig</th>
<th>Type de patient</th>
<th>Eff</th>
<th>Origine du pool d'IgG utilisé</th>
<th>Antigène utilisé</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>32</td>
<td>Malades</td>
<td></td>
<td>IgG de SLE</td>
<td>ADN de membrane purifié</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>- SLE</td>
<td></td>
<td>8</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>25</td>
<td>- Sjögren</td>
<td></td>
<td>8</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Contrôles</td>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>- adultes sains</td>
<td></td>
<td>6</td>
<td></td>
</tr>
</tbody>
</table>
L'analyse des résultats présentés dans la figure 32 montre qu'à diverses dilutions de sérum, les malades inhibent mieux les IgG de SLE que les sujets normaux (analyse variance à une voie + correction de Scheffe : p < 0,05).

<table>
<thead>
<tr>
<th>Fig</th>
<th>Type de patient</th>
<th>Eff.</th>
<th>Origine du pool d'IgG utilisée</th>
<th>Antigène</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>33</td>
<td>idem que pour la figure 32</td>
<td>IgG de sujets sains</td>
<td>ADN de membrane</td>
<td></td>
</tr>
</tbody>
</table>

L'analyse des résultats présentés dans la figure 33 montre que les sujets normaux inhibent mieux les liaisons anticorps que les sujets malades (SLE et Sjögren vs normaux : p < 0,05 : anova + Scheffe) bien qu'ils aient des titres d'anticorps nettement plus faibles.

Par conséquent, le procédé selon l'invention permet également de discerner avec une spécificité fine la reconnaissance d'épitopes particuliers sur des molécules d'ADN de membrane par des auto-anticorps en fonction de l'état clinique (malades ou pas).

La figure 36 représente l'inhibition de la liaison d'IgY obtenues de jaune d'oeuf de poule au complexe antigénique BLG par des IgG issues de différents sera (patients allergiques, patients normaux, patients souffrant d'un cancer du poumon).

Les IgY discriminables spécifiquement par rapport à des anticorps humains, sont extraits et purifiées à partir du jaune d'oeuf de poules, lesdites poules étant soit normales sans avoir été nourries au lait (oeuf type I), soit
ayant été immunisées par os au lait par administration de lait (oeuf type II).

Ces résultats montrent qu'il est possible d'obtenir une discrimination entre des individus allergiques et des individus normaux ou souffrant du cancer du poumon.

7. Composition cosmétique selon l'invention

<table>
<thead>
<tr>
<th>Composition</th>
<th>Pourcentage en poids</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td><strong>Phase huileuse</strong></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>Tampon BRIJ 721</td>
<td>6.00</td>
</tr>
<tr>
<td>Alcoolcétyle</td>
<td>10.00</td>
</tr>
<tr>
<td>Huile minérale</td>
<td>3.00</td>
</tr>
<tr>
<td>Propylparahydrobenzoate</td>
<td>0.002</td>
</tr>
<tr>
<td><strong>Phase aqueuse</strong></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>Carbopol 934 ®</td>
<td>0.15</td>
</tr>
<tr>
<td>Hydroxyde de sodium</td>
<td>0.05</td>
</tr>
<tr>
<td>Méthylparahydrobenzoate</td>
<td>0.18</td>
</tr>
<tr>
<td>Epitopes selon l'invention</td>
<td>0.05 à 5.00</td>
</tr>
<tr>
<td><strong>Total</strong></td>
<td>100.00</td>
</tr>
</tbody>
</table>

La composition cosmétique selon l'invention peut être appliquée sous forme de crème directement sur la peau du patient.

Certains dérivés selon l'invention peuvent également être incorporés dans la phase huileuse de la composition cosmétique au lieu d'être dissous dans la composition aqueuse.

8. Composition alimentaire selon l'invention

Les épitopes spécifiquement allergiques obtenus de
la structure primaire de la BLG sont additionnés à un yoghourt à boire avec les ferment lactiques, un substitut de lait écrémé ainsi que des matières grasses obtenues après pasteurisation dans un échangeur thermique à plaque et après incubation en cuve à 45 °C pendant environ 4 heures sous brassage.

8. Composition pharmaceutique comprenant les épitopes ou le complexe immunoréactif selon l'invention

Les épitopes ou le complexe immunoréactif selon l'invention sont additionnés à un véhicule pharmaceutique adéquat pour l'administration orale, par exemple sous forme de tablettes, enrobées ou non, de pilules, de capsules, de solution, d'huile essentielle et/ou de sirop. Pour d'autres types d'application, d'autres véhicules pharmaceutiques peuvent être utilisés selon le mode d'administration choisi.

La composition pharmaceutique selon l'invention est préparée selon les procédés généralement utilisés par l'Homme du Métier, en particulier par les pharmaciens, et peut comprendre tout véhicule ou tout adjuvant pharmaceutiquement adéquat, solide ou liquide et non toxique.

L'incorporation des épitopes ou du complexe immunoréactif selon l'invention dans un milieu galénique peut également être envisagé.

Le pourcentage de produit actif dans le véhicule pharmaceutique peut varier selon de très larges gammes, uniquement limitées par la tolérance ou le niveau d'acceptation du produit par le patient. Les limites sont généralement déterminées par la fréquence d'administration et le mode d'administration au patient (intraveineuse, orale, etc).
REVENDICATIONS.

1. Procédé de détection et/ou de quantification de ligands spécifiques d'une pathologie choisie parmi le groupe constitué par les pathologies liées à une réaction allergique ou auto-immune et le cancer du poumon, et présents dans un fluide corporel d'un patient, caractérisé en ce que :
   - on prélève un échantillon du fluide corporel du patient,
   - on fait réagir dans un test de compétition les ligands présents dans l'échantillon avec d'autres ligands discriminables, lesdits ligands discriminables réagissant avec au moins une structure antigénique spécifique de ladite pathologie, et
   - on détecte et/ou quantifie l'inhibition de la réaction entre les ligands discriminables et la structure antigénique spécifique de la pathologie, par les ligands présents dans l'échantillon.

2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que les ligands sont choisis parmi le groupe constitué par les cellules APC (Antigen Presenting Cell), les récepteurs des cellules APC, les anticorps, leurs fragments et/ou un mélange d'entre eux.

3. Procédé selon la revendication 1 ou 2, caractérisé en ce que les ligands discriminables sont des ligands marqués.

4. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que les ligands sont des immunoglobulines de classe G.
5. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que les ligands discriminables sont des immunoglobulines IgY extraites du jaune d'oeuf de poule.

6. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que la structure antigénique est un allergène choisi parmi le groupe constitué par les antigènes majeurs allergiques présents dans le lait, en particulier la Β-lactoglobuline bovine (BLG) issue du lait de vache, les antigènes majeurs allergiques présents dans les végétaux, en particulier dans les pollens, dans les poils d'animaux, dans les venins d'animaux, en particulier dans le venin de guêpe, les antigènes majeurs de réaction allergique aux acariens, à la mite présente dans la poussière de maison (antigène p1 du Dermatophagoides pteronyssinus), l'antigène majeur de l'Aspergillus fumigatus, l'entérotoxine B staphylocooccale (SEB), un ou plusieurs épitopes de ces allergènes et/ou un mélange d'entre eux.

7. Complexe immunoréactif comprenant au moins un allergène lié à un ligand, éventuellement marqué, réagissant spécifiquement contre cet allergène ou un complexe antigénique spécifique d'une pathologie liée à une réaction auto-immune.

8. Complexe immunoréactif selon la revendication 7, caractérisé en ce que le ligand est choisi parmi le groupe constitué par les cellules APC (Antigen Presenting Cell), les récepteurs des cellules APC, les anticorps, leurs fragments et/ou un mélange d'entre eux.
9. Complexe immunoréactif selon la revendication 7 ou 8, caractérisé en ce que le ligand est une immunoglobuline de classe G.

10. Complexe immunoréactif selon l'une quelconque des revendications 7 à 9, caractérisé en ce que l'allergène est choisi parmi le groupe constitué par les antigènes majeurs allergiques présents dans le lait, en particulier la β-lactoglobuline bovine (BLG) issue du lait de vache, les antigènes majeurs allergiques présents dans les végétaux, en particulier dans les pollens, dans les poils d'animaux, dans les venins d'animaux, en particulier dans le venin de guêpe, les antigènes majeurs de réaction allergique aux acariens, à la mite présente dans la poussière de maison (antigène pl du Dermatophagoides pteronyssinus), l'antigène majeur de l'Aspergillus fumigatus, l'entéotoxine B staphylocoaccale (SEB), un ou plusieurs épitopes de ces allergènes et/ou un mélange d’entre eux.

11. Épitope allergénique d'un allergène choisi parmi le groupe constitué par les antigènes majeurs allergiques présents dans le lait, en particulier la β-lactoglobuline bovine (BLG) issue du lait de vache, les antigènes majeurs allergiques présents dans les végétaux, en particulier dans les pollens, dans les poils d'animaux, dans les venins d'animaux, en particulier dans le venin de guêpe, les antigènes majeurs de réaction allergique aux acariens, à la mite présente dans la poussière de maison (antigène pl du Dermatophagoides pteronyssinus), l'antigène majeur de l'Aspergillus fumigatus, l'entéotoxine B staphylocoaccale (SEB), un ou plusieurs épitopes de ces allergènes et/ou un
mélange d'entre eux.

12. Epitope allergénique de l'antigène de la β-lactoglobuline bovine (BLG) identifié dans les figures 14 à 16.

13. Epitope allergénique de l'antigène DERPI identifié dans la figure 34.

14. Epitope allergénique de l'antigène LolPl identifié dans la figure 35.

15. Anticorps dirigé contre le complexe immunoréactif selon l'une quelconque des revendications 7 à 10 et/ou contre les épitopes selon l'une quelconque des revendications 11 à 14.

16. Dispositif de détection et/ou de quantification de ligands spécifiques d'une pathologie liée à une réponse allergique comprenant le complexe selon l'une quelconque des revendications 7 à 10, les épitopes selon l'une quelconque des revendications 11 à 14 et/ou l'anticorps selon la revendication 15.

17. Dispositif selon la revendication 16, caractérisé en ce qu'il comprend les réactifs destinés à la détection et/ou quantification des ligands par un procédé choisi parmi le groupe constitué par la reconnaissance par des anticorps marqués, de manière isotopique ou non isotopique, sur filtre, sur support solide, sur gel, en solution, en "sandwich", par double immunodiffusion, par
contre-immunoélectrophorèse, par hémagglutination et/ou un mélange d'entre eux.

18. Composition pharmaceutique, cosmétique et/ou alimentaire destinée à modifier la réponse immunitaire d'un patient vis-à-vis d'un allergène ou d'un complexe antigénique spécifique d'une pathologie liée à une réaction auto-immune, caractérisée en ce qu'elle comprend ledit allergène ou ledit complexe antigénique, l'hydrolysat dudit allergène, un ou plusieurs épitopes de celui-ci, un complexe immunoréactif selon l'une quelconque des revendications 7 à 10, les épitopes selon l'une quelconque des revendications 11 à 14, l'anticorps dirigé contre ledit complexe selon la revendication 15 et/ou un mélange d'entre eux.

19. Composition selon la revendication 18, caractérisée en ce que l'allergène est choisi parmi le groupe constitué par les antigènes majeurs allergiques présents dans le lait, en particulier la β-lactoglobuline bovine (BLG) issue du lait de vache, les antigènes majeurs allergiques présents dans les végétaux, en particulier dans les pollens, dans les poils d'animaux, dans les venins d'animaux, en particulier dans le venin de guêpe, les antigènes majeurs de réaction allergique aux acariens, à la mite présente dans la poussière de maison (antigène pI du Dermatophagoides pteronyssinus), l'antigène majeur de l'Aspergillus fumigatus, l'entérotoxine B staphylococcale (SEB), un ou plusieurs épitopes de ces allergènes et/ou un mélange d'entre eux.
20. Composition selon la revendication 18 ou 19, caractérisée en ce que le patient est un nouveau-né et que la composition est administrée à la mère avant et/ou pendant la grossesse.

21. Utilisation de la composition pharmaceutique selon la revendication 18 ou 19 pour la préparation d'un médicament destiné à modifier la réponse immunitaire d'un patient vis-à-vis d'un allergène.

22. Utilisation de la composition pharmaceutique selon la revendication 21, caractérisée en ce que le patient est un nouveau-né et que la composition est administrée à la mère avant et/ou pendant la grossesse.

23. Utilisation de la composition pharmaceutique selon la revendication 18 ou 19, pour la préparation d'un médicament destiné au traitement et/ou la prévention de pathologies liées à une réaction allergique.

24. Utilisation selon la revendication 23, caractérisée en ce que le syndrome lié à une réponse allergique est le cancer.

25. Utilisation de la composition pharmaceutique selon la revendication 18 ou 19 pour la préparation d'un médicament destiné au traitement et/ou à la prévention de pathologies liées à une réaction auto-immune.
FIG. 5

%D.OBLG dig./natifs (IgG)

FIG. 6

durée d'administration (jours)

FIG. 7

durée d'administration (jours)
Titre Anticorps (A.U.)

**FIG. 8**

n = 8 7 12 8 10

ligne : HOME

Titre anticorps (A.U.)

**FIG. 9**

n = 11 5 9 15

Durée du régime à la date de conception
FIG. 11

FIG. 12
FIG. 17

- Psoriasis (n=8)
- Sujets sains (n=22)
- Donneurs sang (n=48)
- AD enfant (n=22)
- AD adulte (n=39)
FIG. 21

anthoxantum odoratum (G1)
FIG. 25

- G1 Pol Allerg (n=18)
- Der p1 Allerg (n=43)
- Control (n=60)
Fig. 35

PATIENTS SAINS (Control) * Allerg.
Densité Optique

Allergiques

Cancer pulm.

Normaux

Oeuf type I

Oeuf type II

Dilutions des pools de sérum
INTERNATIONAL SEARCH REPORT

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

<table>
<thead>
<tr>
<th>Category *</th>
<th>Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th>
<th>Relevant to claim No.</th>
</tr>
</thead>
</table>
| X, P       | WO,A,95 33770 (REPLICON CORPORATION & DANA FARBER CANCER INSTITUTE) 14 December 1995  
see page 5, line 1 - line 17  
see page 7, line 1 - line 13  
see page 27, line 18 - page 30, line 13  
see page 31, line 1 - page 35, line 13 | 1-5,7-9, 18,23-25 |
| Y, P       | --- | 6,16,17, 19-22 |
| Y          | EP,A,0 629 350 (SANDOZ NUTRITION LTD) 21  
December 1994  
cited in the application  
see the whole document | 6,16,17, 19-22 |
| A          | --- | 10-15 |

Further documents are listed in the continuation of box C. Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

A: document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

E: earlier document but published on or after the international filing date

L: document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another invention or other special reason (as specified)

O: document referred to in an oral disclosure, use, exhibition or other means

P: document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T: later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X: document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y: document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

&: document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search: 27 September 1996

Date of mailing of the international search report: 07.10.1996

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2230 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl  
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Van Bohemen, C
<table>
<thead>
<tr>
<th>Category</th>
<th>Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th>
<th>Relevant to claim No.</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>Patent document cited in search report</td>
<td>Publication date</td>
<td>Patent family member(s)</td>
</tr>
<tr>
<td>---------------------------------------</td>
<td>-----------------</td>
<td>-------------------------</td>
</tr>
<tr>
<td>WO-A-9533770</td>
<td>14-12-95</td>
<td>AU-A- 2692095</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td></td>
<td>CA-A- 2125793</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td></td>
<td>JP-A- 7101873</td>
</tr>
</tbody>
</table>
### A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

**CIB 6**

G01N33/574  
G01N33/564  
G01N33/68

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB.

### B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

**Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)**

**CIB 6**  
**G01N**

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche.

### C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

<table>
<thead>
<tr>
<th>Catégorie</th>
<th>Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents</th>
<th>no. des revendications visées</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>X, P</td>
<td>WO, A, 95 33770 (REPLICON CORPORATION &amp; DANA FARBER CANCER INSTITUTE) 14 Décembre 1995</td>
<td>1-5, 7-9, 18, 23-25</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>voir page 5, ligne 1 - ligne 17</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>voir page 7, ligne 1 - ligne 13</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>voir page 27, ligne 18 - page 30, ligne 13</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>voir page 31, ligne 1 - page 35, ligne 13</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>Y, P</td>
<td>---</td>
<td>6, 16, 17, 19-22</td>
</tr>
<tr>
<td>Y</td>
<td>EP, A, 0 629 350 (SANDOZ NUTRITION LTD) 21 Décembre 1994</td>
<td>6, 16, 17, 19-22</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>cité dans la demande</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>voir le document en entier</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>A</td>
<td>---</td>
<td>10-15</td>
</tr>
</tbody>
</table>

**X** Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

**X** Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

---

"C" Catégories spéciales de documents cités:

"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent.

"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date.

"L" document pouvant émettre un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (l'indiquée).

"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou à toute autre manière.

"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée.

---

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée: 27 Septembre 1996

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale:

Office Europeen des Brevets, P. B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tél. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé:

Van Bohemen, C

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale: 07-10-1996

---

Formuaire PCT/ISA/210 (deuxième feuille) (juillet 1992)
<table>
<thead>
<tr>
<th>Catégorie</th>
<th>Identification des documents cités, avec le cas échéant, l'indication des passages pertinents</th>
<th>no. des revendications visées</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>T</td>
<td>CANCER, vol. 77, no. 4, 15 Février 1996, BETHESDA MD USA, pages 657-664, XP000603241</td>
<td>1-25</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>A. MICHILIS ET AL.: &quot;Fine tuning of epitopic dominance induced by lung cancer on the IgG response to bovine betalactoglobin.&quot; voir le document en entier</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>Document brevet cité au rapport de recherche</td>
<td>Date de publication</td>
<td>Membre(s) de la famille de brevet(s)</td>
</tr>
<tr>
<td>--------------------------------------------</td>
<td>---------------------</td>
<td>------------------------------------</td>
</tr>
<tr>
<td>WO-A-9533779</td>
<td>14-12-95</td>
<td>AU-A-2692095</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td></td>
<td>CA-A-2125793</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td></td>
<td>JP-A-7101873</td>
</tr>
</tbody>
</table>