



AVIS DU CONSEIL SUPERIEUR DE LA SANTE N° 8641

Equivalence substantielle D-Tagatose

4 août 2010

1. INTRODUCTION ET QUESTION

La demande d'équivalence substantielle a été introduite par Nutrilab (Belgique) via la société Bioresco (Suisse) pour le D-tagatose.

Le D-tagatose, ou D-lyso-hexulose ou D-xylo-hexulose (JECFA, 2006), est un épimère du fructose, non cariogène et prébiotique. Son autorisation de mise sur le marché a été accordée en 2006 à la société Arla.

Afin de donner suite à la demande, le dossier a été confié au groupe de travail permanent NASSA (Nutrition, Alimentation et Santé, y compris Sécurité Alimentaire). L'avis est basé sur l'opinion des experts, sur l'analyse du dossier transmis par BIORESKO et certains articles scientifiques.

2. CONCLUSION

Mise à part l'utilisation d'enzymes recombinants pour laquelle une analyse des risques ne permet pas, en fonction des connaissances actuelles, d'apporter une garantie absolue en termes d'allergénicité et qui impose un suivi de la consommation, le CSS estime que le D-tagatose produit par la société Nutrilab ne présente pas de différences chimiques et structurales vis-à-vis du D-tagatose produit précédemment par la société Arla. La firme ayant répondu aux critères d'équivalence substantielle à savoir la composition, la valeur nutritionnelle, le métabolisme, le niveau de consommation attendu et la présence de substances indésirables, la demande d'équivalence est donc acceptée.

3. ELABORATION ET ARGUMENTATION

Le D-tagatose a été autorisé comme nouvel aliment le 21 mars 2006 suite à une demande de la société Arla.

La demande d'équivalence substantielle s'appuie sur les critères de pureté du produit Arla ainsi que sur le procédé de production qui présenterait des similitudes.

A l'analyse des informations fournies, le D-tagatose de la société Nutrilab répond aux spécifications et critères de qualité du D-tagatose de la société Arla.

3.1 Comparaison des deux procédés de production et de la pureté du D-tagatose.

Les procédés de fabrication présentent certaine similitudes, mais aussi, toutefois, des différences.

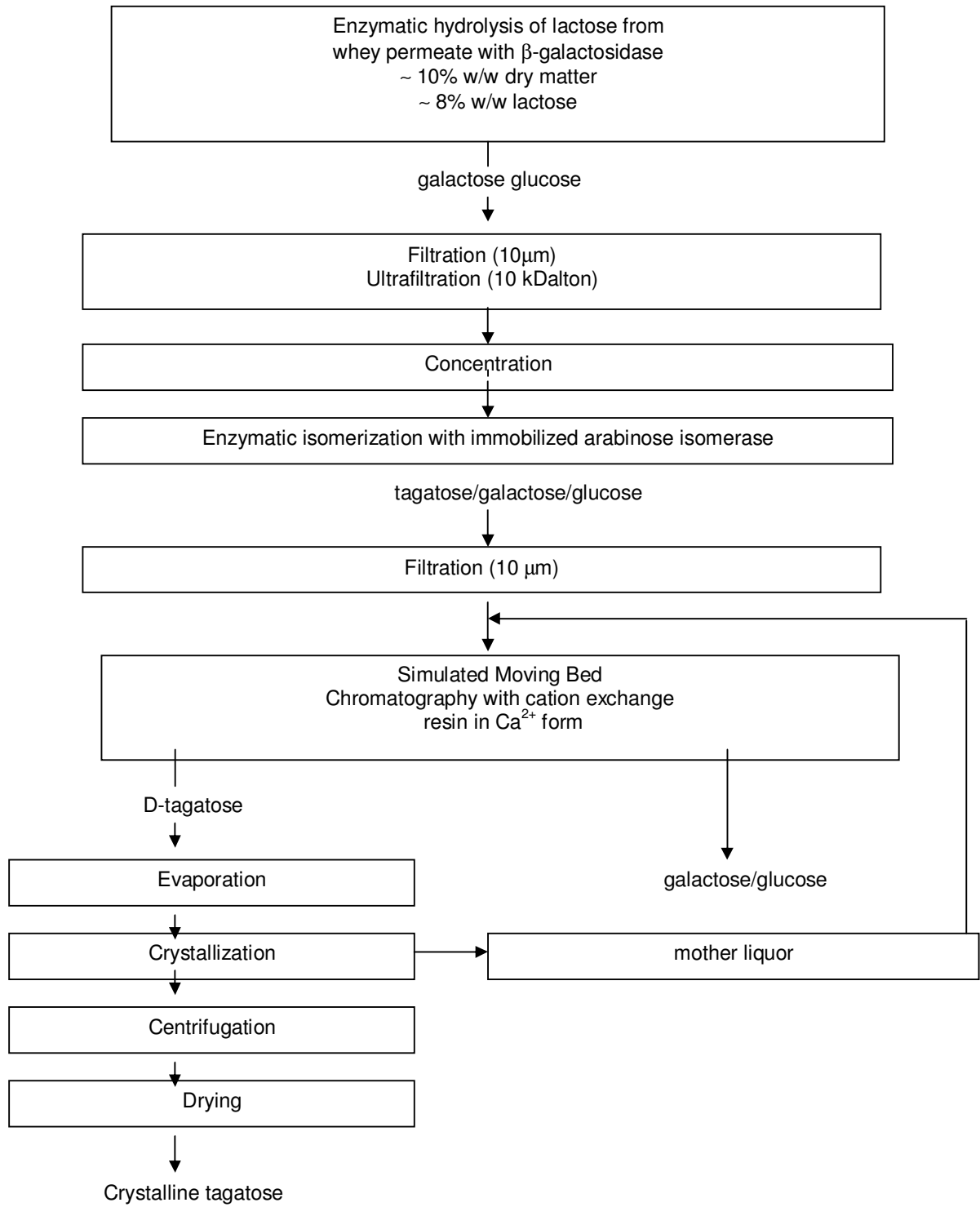
Parmi les similitudes, nous trouvons le choix du lactose du lait (perméat du lactosérum) comme substrat de départ, l'étape d'hydrolyse enzymatique en galactose et glucose, l'isomérisation du galactose et certaines étapes de purification et de cristallisation du tagatose.

Parmi les différences, les procédés se distinguent notamment au niveau du choix de la β -galactosidase et de l'étape d'isomérisation du galactose qui se pratique par voie enzymatique, à l'aide d'enzymes recombinants, dans le procédé Nutrilab.

Dans les deux procédés, le lactose du lait est la substance de départ. Le lactose est hydrolysé par voie enzymatique (β -galactosidase) en glucose et galactose. Le galactose est isomérisé en une étape en D-tagatose. L'isomérisation est catalysée soit par le calcium en conditions fortement alcalines dans le procédé Arla, soit par enzyme immobilisée (arabinose isomerase) dans le procédé Nutrilab.

Pour le requérant, il n'y a pas de sous-produits indésirés dans ces procédés, ni d'impuretés introduites via la matière première, les produits chimiques, les enzymes ou adjuvants de *process*.

Un diagramme de fabrication est fourni ci-après pour le procédé Nutrilab.



Du lactose (perméat de lactoserum) est utilisé au départ. La préparation enzymatique est obtenue à partir d'une souche recombinante d'*E. coli* exprimant les gènes de la β -galactosidase de *Pseudoalteromonas haloplanktis* (le dossier contient une annexe reprenant une analyse des caractéristiques de la souche et de ses effets éventuels sur la santé). L'hydrolyse est réalisée à 18-23°C durant 24 heures. L'hydrolysate est filtré et ultrafiltré puis concentré environ 5 fois. La solution concentrée galactose-glucose est isomérisée (60°C, pH 7, 1mM MnCl₂ comme co-facteur) par une arabinose isomérase immobilisée par couplage covalent à des billes de polyméthacrylate portant des groupes réactionnels de type époxyde.

L'enzyme est produite à partir d'une souche recombinante d'*E. coli* exprimant les gènes de l'enzyme de *Geobacillus stearothermophilus*. Le dossier contient une annexe reprenant une analyse des caractéristiques de la souche et de ses effets éventuels sur la santé. L'éluat est filtré après l'étape d'isomérisation et purifié par chromatographie d'échange cationique. Cette étape élimine aussi le manganèse. La fraction riche en tagatose est concentrée par évaporation puis cristallisée, centrifugée, lavée et séchée.

L'examen des impuretés et des sous-produits est réalisé. Pour le lactosérum ultrafiltré, il s'agit essentiellement de minéraux. L'étape d'hydrolyse du lactose est suivie d'une ultrafiltration qui élimine les protéines de poids moléculaire supérieur à 10kDa.

L'isomérisation a lieu à 60°C pendant 24h. Les protéines résiduelles labiles à la chaleur seraient inactivées dans ces conditions. Les particules qui se forment sont éliminées par filtration.

L'étape chromatographique sépare le D-tagatose du D-galactose, glucose, lactose résiduel et minéraux.

La cristallisation complète la purification.

Les critères de pureté du D-tagatose, comme pour les spécifications JECFA sont repris au tableau suivant.

Critères de pureté du D-tagatose

Teneur	Pas moins de 98% sur base du poids sec
Description	Quasiment inodore, cristaux blancs ou presque blancs
Perte à la dessiccation	Pas plus de 0,5% (102°C, 2 heures)
Plomb	Pas plus de 1 mg/kg
Rotation spécifique	$[\alpha]^{20}_D$: -4 à -5,6° (solution aqueuse à 1%)
Intervalle de fusion	133-137°C

Compte tenu de la matière première commune aux deux procédés, l'absence (ou presque) de protéines de lait est un autre critère de pureté de façon à satisfaire aux exigences (directive 2000/18/EC). Une analyse comparative des D-tagatoses produits par Arla et par Nutrilab est présentée ci-dessous.

Specification	Enzymatic production process	Chemical production process (Arla food ingredients)
Assay (%)	99	99
D-Galactose (%)	0,55	0,50
D-Glucose (%)	< 0,01	< 0,01
Lactose (%)	< 0,01	< 0,01
Ash content (%)	< 0,1	< 0,1
$[\alpha]_D^{20} (1\%, H_2O)(^\circ)$	- 4,5	-5,0
Melting point (°C)	134-136	134-136
Minerals		
Arsenic (ppm)	< 0,050	< 0,050
Cadmium (ppm)	< 0,020	< 0,020
Mercury (ppm)	< 0,020	< 0,020
Lead (ppm)	0,15	< 0,050
Manganese (ppm)	< 1,0	< 0,050

Le produit Nutrilab satisfait aux critères de qualité du JEFCA. Ceux-ci n'incluent pas le manganèse qui est utilisé dans le procédé Nutrilab (chlorure de manganèse). Cependant, son niveau est inférieur à 1 ppm et son apport journalier estimé à 20 µg est négligeable par rapport à la dose de 4 mg considérée par l'EFSA comme satisfaisant aux critères de sécurité alimentaire.

La présence de protéines laitières allergènes dans le D-tagatose a fait l'objet d'études dans la littérature et dans le dossier de la société Arla.

Des tests Elisa ont ainsi été effectués. Le D-tagatose contient beaucoup moins que 10 µg de protéines de lait/g. Dans une étude plus récente, Taylor et al. (2005) n'ont pas trouvé de caséine ou de protéines de lactosérum dans le D-tagatose commercialisé, au niveau de 2,5 ppm (mg/kg) et 1,0 ppm (mg/kg) respectivement. En comparaison, le D-tagatose de la société Nutrilab a été analysé quant à la présence de β-lactoglobuline. La teneur est inférieure à 10 µg/g (une analyse à 9,4 mg/kg et une autre < à 5 mg/kg, dans l'annexe 7). Le niveau de consommation attendu est présenté dans le dossier Arla. Pour l'ensemble des catégories d'aliments concernés, à l'exception des chewing-gums et compléments alimentaires, la consommation attendue est de 0,08 g/kg de

poids corporel/jour et de 0,19 g/kg poids corporel/jour au 90° percentile. Ces chiffres montrent que la consommation serait proche ou inférieure à 10 g/jour par personne.

Au sujet des seuils de réactivité ou seuils réactogènes¹, plusieurs éléments sont à prendre en considération. Suivant les articles de Taylor et al. (2002) et Bindslev-Jensen et al. (2002), la plupart des individus allergiques au lait de vache réagissent cliniquement après ingestion de quantité de lait de vache de l'ordre du milligramme, tandis que les seuils réactogènes des patients les plus sensibles, et faisant partie des différentes études, sont inférieurs à un microgramme. Mais encore, concernant le lait de vache, le comité d'experts « produits diététiques, nutrition et allergies » de l'EFSA signale qu'une proportion importante des individus allergiques réagit à de très faibles quantités (de l'ordre du microgramme) d'allergènes (protéines). Toutefois, le comité souligne que **les données disponibles pour les laits de vache, bufflonne, chèvre et brebis ne suffisent pas pour établir des doses seuils validées et pour déduire un niveau d'exposition susceptible de prévenir les consommateurs allergiques de toute réaction à des produits laitiers qui seraient présents dans leur alimentation à l'état de traces** (EFSA, 2004). Actuellement, les données semblent toujours insuffisantes pour établir des doses seuils validées.

La bibliographie n'indique pas que :

- l'hydrolyse du lactose par la β -galactosidase recombinante utilisée par la société Nutrilab produit des substances capables d'induire une / des réaction(s) d'hypersensibilité alimentaire allergique ou non,
- l'utilisation de l'arabinose isomérase recombinante engendre des risques pour la santé des consommateurs,
- l'isomérisation de la solution glucose-galactose par l'arabinose isomérase recombinante utilisée par la société Nutrilab produit des substances capables d'induire une / des réaction(s) d'hypersensibilité alimentaire allergique ou non,
- l'exposition au D-tagatose de la société Arla est responsable de cas cliniques ou de réactions allergiques depuis sa mise sur le marché.

Cependant, le CSS a relevé que la technique de l'ADN recombinant utilise fréquemment la β -galactosidase issue de *E. coli* comme protéine de fusion qui contiendrait parfois des épitopes d'allergènes. Il paraît donc intéressant de comparer ces épitopes à ceux de la β -galactosidase recombinante utilisée par la société Nutrilab.

¹ Un seuil de réactivité ou seuil réactogène est une dose minimale d'aliment qui peut déclencher une réaction clinique chez un individu allergique.

De plus, certains vaccins recombinants, vivants atténués, expriment de la β -galactosidase, car son gène a été inséré dans le génome des agents infectieux. Une immunogénicité de la β -galactosidase recombinante exprimée par ces vaccins a été mise en évidence par différents auteurs, dont ceux référés. Il serait pertinent de comparer les structures primaire, tertiaire et quaternaire de la β -galactosidase recombinante utilisée par la société Nutrilab avec les structures primaire, tertiaire et quaternaire de β -galactosidases recombinantes auxquelles certains auteurs ont attribué un caractère immunogène.

Mis à part les risques pour la santé des consommateurs hypersensibles liés à l'utilisation d'enzymes recombinants, il semble que les deux D-tagatoses² peuvent être jugés « équivalents » en termes de risque pour la santé des patients allergiques au lait et des patients intolérants au lactose, étant données les similitudes de fabrication. Le choix du lactose du lait³ comme substrat de départ est identique. Et comme aucun cas de réaction allergique au D-tagatose de la société Arla n'a été trouvé dans la littérature, il paraît peu probable que des patients allergiques au lait et des patients intolérants au lactose développent des réactions secondaires indésirables après une exposition aux protéines du lait ou au lactose résiduels du D-tagatose produit par la société Nutrilab.

3.2 Equivalence substantielle du D-Tagatose de Nutrilab et Arla

Selon la réglementation, cette équivalence substantielle doit s'appuyer sur la composition, la valeur nutritionnelle, le métabolisme, le niveau de consommation attendu et la présence de substances indésirables.

3.3 Composition et valeur nutritionnelle

Le D-Tagatose est une substance chimique pure (pureté \geq 98% selon les spécifications). La composition et la valeur nutritionnelle sont donc les mêmes pour les 2 produits.

La littérature (Taylor et al., 2005) rapporte que le tagatose est utilisé comme édulcorant à teneur calorique réduite (1,5 cal/g pour 4,0 cal/g pour le saccharose, même pouvoir sucrant que le saccharose). En solution, le D-tagatose se présente principalement sous forme de α -D Tagatopyranose.

3.4 Métabolisme

Vu la similitude des 2 produits, le métabolisme est identique.

² Le D-tagatose produit par la société Arla et le D-tagatose produit par la société Nutrilab.

³ La précision de l'espèce animale n'a pas été retrouvée dans les dossiers.

3.5 Teneur en substances indésirables

Aucune source de substances indésirables n'est identifiée dans le procédé de production de Nutrilab. De plus, le procédé de production comprend plusieurs étapes de purification (ultrafiltration, chromatographie d'échange d'ions, cristallisation) qui éliminerait ces substances.

Les spécifications du produit final doivent être respectées, ce qui est également une garantie de la pureté du produit.

Le CSS s'est montré très attentif aux risques liés à l'utilisation d'enzymes recombinants.

- En ce qui concerne l'utilisation de la β -galactosidase recombinante:

Tout d'abord, dans l'annexe 3 de la communication de la Commission EU aux Etats Membres du 21 mars 2006, se trouve le passage suivant : « Of course, the protein sequence of the cold lactase is different from its human counterpart and, potentially could be antigenic if injected. Noteworthy, **the introduced gene's product lack structural homology with known allergens.** »

Par ailleurs, la technique de l'ADN recombinant utilise fréquemment **la β -galactosidase issue de *E. coli* comme protéine de fusion qui contiendrait parfois des épitopes d'allergènes.**

De fait, l'équipe de A. Ruffilli a mis en évidence **un épitope** dominant (6a) des allergènes majeurs de pollen de *Parietaria officinalis* et *Parietaria Judaica* (*Par o 1* et *Par j 1*) **dans une protéine de fusion β -galactosidase** (6a-BG), puis a caractérisé la séquence en acides aminés de cet épitope (Menna et al., 1999). Il y a lieu de comparer cet épitope à ceux de la β -galactosidase recombinante utilisée par la société Nutrilab. En effet, **la pariétaire** est une plante **très allergénique dans la région méditerranéenne.** (Elle ne pousse pas en Belgique.) Selon le réseau national de surveillance aérobiologique français, l'espèce de plante *Parietaria Judaica* a un potentiel allergisant élevé.

Mais encore, **une autre protéine de fusion de la β -galactosidase** contiendrait des **épitopes** des allergènes majeurs de l'albumine canine (Spitzauer et al., 1994). Dans cette étude, les auteurs se basent sur la réactivité commune des IgE des patients pour l'albumine canine et pour la protéine de fusion de la β -galactosidase. Or, la sensibilisation (production excessive d'IgE spécifique) à un allergène ne signifie pas réaction clinique allergique. Malgré cela, il serait intéressant de comparer ces épitopes à ceux de la β -galactosidase recombinante utilisée par la société Nutrilab.

De plus, selon la littérature scientifique, plusieurs arguments indiquent que **la β -galactosidase recombinante est un antigène parfois immunogène :**

- Après clonage du gène de la β -galactosidase dans le génome de *Salmonella* et infection de souris par ces *Salmonella* vivantes atténuées exprimant la protéine β -galactosidase

recombinante, une réponse immunitaire humorale et cellulaire dirigée contre la β -galactosidase a été mise en évidence par l'équipe de G. Dougan (Dougan et al., 1987 ; Brown et al., 1987 ; Chatfield et al., 1989).

- Après transfection du plasmide pAM₃₂₀⁴ dans le génome de *Mycobacterium bovis* (BCG 1173P₂) et administration orale, respiratoire et intradermale du bacille LacZ-BCG recombinant⁵ à des cochons d'Inde, on observe une induction de la prolifération des lymphocytes T en réponse à une injection de β -galactosidase, une induction de réactions d'hypersensibilité retardées⁶ dirigées contre la β -galactosidase et une induction d'anticorps anti- β -galactosidase. Les auteurs ont mis en évidence l'immunogénicité de la β -galactosidase recombinante exprimée dans le bacille LacZ-BCG recombinant (Gheorghiu et al., 1994).
- Selon l'équipe de A. Murray, le même bacille LacZ-BCG recombinant entraîne chez des souris immunisées par voie parentérale une réponse immunitaire à la fois humorale et cellulaire dirigée contre la β -galactosidase (Murray et al., 1992).
- Selon l'équipe de M. Kumar, après vaccination de souris avec une dose unique de 10⁶ rBCG exprimant la protéine β -galactosidase, les taux d'anticorps spécifiques de la β -galactosidase augmentent chez l'animal. Chez la souris, le vaccin rBCG- β -gal (exprimant la β -galactosidase) générerait une réponse immunitaire de type T_H1 dirigée spécifiquement contre la β -galactosidase (Kumar et al., 1999).
- Chez la souris immunisée avec une souche recombinante de *Listeria monocytogenes*, exprimant de la β -galactosidase de *E. coli*, une réponse immunitaire cellulaire et humorale dirigée contre cette β -galactosidase a été décrite (Schafer et al., 1992).

Ainsi, certains vaccins recombinants vivants atténués, expriment de la β -galactosidase, car son gène a été inséré dans le génome des agents infectieux. Une immunogénicité de la β -galactosidase recombinante exprimée par ces vaccins a été mise en évidence par différents auteurs, dont ceux référés.

La β -galactosidase produite par des organismes génétiquement modifiés a une structure protéique qui diffère selon l'origine du gène (souche bactérienne différente), les sites de restriction des enzymes de restriction utilisées et les différentes manipulations réalisées (dont

⁴ Le plasmide pAM₃₂₀ contient le gène LacZ « fusionné avec » le promoteur PAN de *Mycobacterium paratuberculosis* et une partie de ORF2 de la séquence d'insertion IS 900.

⁵ Le bacille rBCG (bacille de Calmette-Guérin recombinant) est un vaccin recombinant entier atténué, dérivé de *Mycobacterium bovis*.

⁶ Une réaction d'hypersensibilité retardée correspond à une réaction d'hypersensibilité de type IV dans la classification de Gell et Coombs.

l'utilisation d'exonucléase). Par exemple, la construction du plasmide pPCR-Script Amp SK (+)⁷ est différente de celle du plasmide pAM₃₂₀ rapportée par l'équipe de M. Gheorghui (Gheorghui, 1994).

Il serait donc pertinent de **comparer les structures primaire, tertiaire et quaternaire de la β -galactosidase recombinante** utilisée par la société Nutrilab avec les structures primaire, tertiaire et quaternaire de la β -galactosidase recombinante à laquelle ces auteurs, par exemple, ont attribué un caractère immunogène.

Les éléments suivants sont également à prendre en considération :

- Les expériences qui ont mis en évidence une éventuelle immunogénicité de la β -galactosidase ont été réalisées sur des modèles murins qui ne sont pas directement transposables à l'homme ;
- Les expériences réalisées par G. Dougan (Dougan et al., 1987) et par M. Gheorghui (Gheorghui, 1994) avaient pour objectif de mettre en évidence une éventuelle immunogénicité de la β -galactosidase recombinante ;
- La solution finale de D-tagatose a subi différentes étapes de purification (chromatographie, cristallisation).

Enfin, aucune donnée indiquant que l'hydrolyse du lactose par la β -galactosidase recombinante utilisée par la société Nutrilab produit des substances capables d'induire une / des réaction(s) d'hypersensibilité alimentaire allergique ou non n'a été rencontrée.

- En ce qui concerne l'utilisation de l'arabinose isomérase recombinante:

L'arabinose isomérase qui intervient lors de la production du D-tagatose de la société Nutrilab est obtenue à partir des souches recombinantes d'*E. coli TGT130 et TGT131* exprimant les gènes de l'arabinose isomérase de *Geobacillus stearothermophilus*.

Au cours des recherches, aucune donnée indiquant d'éventuels risques pour la santé liés à l'utilisation de l'arabinose isomérase recombinante n'a été trouvée.

De même, aucune donnée n'indiquait que l'isomérisation de la solution glucose-galactose par l'arabinose isomérase recombinante utilisée par la société Nutrilab produit des substances capables d'induire une / des réaction(s) d'hypersensibilité alimentaire allergique ou non.

⁷ Le plasmide pPCR-Script Amp SK (+) code pour la β -galactosidase utilisée dans le processus de production du D-tagatose de la société Nutrilab.

3.6 Niveau de consommation attendu

Vu l'équivalence des 2 produits, les niveaux de consommation attendus correspondent à ceux du produit Arla.

3.7 Commentaire particulier

En cas d'acceptation de l'équivalence substantielle, les exigences imposées pour le produit Arla doivent être appliquées au produit Nutrilab.

En particulier, l'étiquetage doit mentionner pour tout produit dont la teneur dépasse 15g par portion et toutes boissons contenant plus de 1% de D-tagatose « une consommation excessive peut produire des effets laxatifs ». Cette mention inscrite en caractères au moins aussi grands que ceux de la liste des ingrédients.

En outre, comme le lactosérum est utilisé comme substrat de départ dans la production du D-tagatose et qu'il est toujours présent, sous forme modifiée (β -lactoglobuline) dans le produit (Benijts, 2009), il est obligatoire d'étiquetage avec une référence claire au nom de l'ingrédient s'il s'agit du lait de vache (Directive 2000/13/CE).

4. REFERENCES

- Baer A, Bioresco Dossier prepared and submitted on behalf of Arla Food Ingredients amba, Viby, Denmark for evaluation pursuant to EU Novel Food Regulation EC 258/97 by the UK Advisory Committee on Novel Foods and Processes. 2004
- Benijts F, Laboratorium ECCA NV Rapport 09-021823 Merelbeke, 2009
- Bindlev-Jensen C., Briggs D., Osterballe M. Can we determine a threshold dose for allergenic foods by statistical analysis of published data in the literature? *Allergy* 2002 ; 57: 741-746
- Brown A, Hormaeche CE, DeMamo de Hormaeche R, Winther MD, Dougan G, Maskell DJ and Stocker BAD. An attenuated area S. typhimurium vaccine elicits humeral and cellular immunity to cloned beta-galactoside in mice. *J Infect Dis* 1987;155:86
- Chatfield SN, Strugnell RA, Dougan G. Live Salmonella as vaccines and carriers of foreign antigenic determinants. *Vaccine* 1989;7:495-498
- Dougan G, Hormaeche CE, Maskell DJ. Live oral Salmonella vaccines: potential use of attenuated strains as carriers of heterologous antigens to the immune system. *Parasite Immunol* 1987;9(2):151-60
- EC - European Commission. Directive 2000/18/EC of the European parliament and the council on minimum examination requirements for safety advisers for the transport of dangerous goods by road, rail or inland waterway; 2000 Apr 17; <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2000:118:0041:0043:EN:PDF>
- EFSA – European Food Safety Authority. Scientific Opinion of the Panel on Food additives and nutrient sources added to food (ANS). Manganese ascorbate, manganese aspartate, manganese bisglycinate and manganese pidolate as sources of manganese added for nutritional purposes to food supplements. *The EFSA Journal* 1114 : 1-23

- EFSA – European Food Safety Authority. Opinion of the Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA) on a request from the Commission relating to the evaluation of allergenic foods for labelling purposes (Request N° EFSA-Q-2003-016). Adopté le 19.02.04
www.efsa.europa.eu/EFSA/Scientific_Opinion/opinion_nda_04_en1,1.pdf
- Gheorghui M. BCG-induced mucosal immune responses. *Int J Immunopharmacol* 1994;16(5-6):435-44
- JECFA - Joint FAO/WHO Expert Committee on food additives. Summary of evaluations performed by the JECFA. Evaluations -D-Tagatose-. www.inchem.org 2006
- Kumar M, Behera AK, Matsuse H, Lockey RF, Mohapatra SS. A recombinant BCG vaccine generates a Th1-like response and inhibits IgE synthesis in Balb/c mice. *Immunology* 1999;97:515-521
- Menna T, Cassese G, Di Modugno F, Chersi A, Buono C, Ruffilli A Characterization of a dodecapeptide containing a dominant epitope of Par j 1 and Par o 1, the major allergens of *P. judaica* and *P. officinalis* pollen. *Allergy* 1999;54(10):1048-57
- Murray A, Winter N, Lagranderie M, Hill DF, Rozier J, Timm J, Leclerc C, Mariarty KM, GHeorghui M, Gicquel B. Expression of *Escherichia coli* β -galactosidase in *Mycobacterium bovis* BCG using an expression system isolated from *Mycobacterium paratuberculosis* which induced humoral and cellular immune response. *Mol Microbiol* 1992;6:3331-3342
- Parlement Européen, Conseil Directive n°2000/13/CE du Parlement Européen et du Conseil du 20 mars 2000 relative au rapprochement des législations des Etats membres concernant l'étiquetage et la présentation des denrées alimentaires ainsi que la publicité faite à leur égard. Modifiée en dernier lieu par le Règlement 596/2009/CE. La Charte SA, Législation alimentaire, www.legislatinalimentaire.be, consulté le 14/04/10
- Schafer R, Portnoy DA, Brassel SA, Paterson Y Induction of a cellular immune response to a foreign antigen by a recombinant *Listeria monocytogenes* vaccine. *J Immunol* 1992;149(1):53-59
- Spitzauer S, Schweiger C, Sperr WR, Pandjaitan B, Valent P, Muehl S, Ebner C, Scheiner O, Kraft D, Rumpold H, et al. Molecular characterization of dog albumin as a cross-reactive allergen. *JACI* 1994;93(3):614-27
- Taylor S.L., Lambrecht D.M., Hefle S.L Tagatose and milk allergy *Allergy* GO (3): 412/413, 2005
- Taylor S.L, Hefle SL, Bindslev-Jensen C, Bock SA, Burks AW, Christie L et al. Factor affecting determination of thresh-old doses for allergenic foods: how much is too much? *J. Allergy Clin Immunol* 2002, 109:24-30

5. COMPOSITION DU GROUPE DE TRAVAIL

Tous les experts ont participé *à titre personnel* au groupe de travail. Les noms des experts du CSS sont annotés d'un astérisque *.

Les experts suivants ont participé à l'élaboration de l'avis :

ANZEVUI Aude	(nutrition, diététique – CIRIHA – Haute Ecole Lucia de Brouckère)
CARPENTIER Yvon *	(nutrition, biochimie pathologique – ULB)
DESTAIN Jacqueline *	(microbiologie industrielle, technologie – Gembloux Agro-Bio Tech)
DUFOURNY Ghislaine	(nutrition, diététique – CIRIHA – Haute Ecole Lucia de Brouckère)
FONDU Michel	(chimie, additifs, contaminants – ULB)
GOSSET Christiane *	(santé publique – ULg)
HUYGHEBAERT André	(chimie, technologie – UGent)
KOLANOWSKI Jaroslaw	(physiologie et physiopathologie de l'alimentation ; physiopathologie de l'obésité, du syndrome métabolique et du diabète de type 2 – UCL)
MAGHUIN-ROGISTER Guy *	(analyse des denrées alimentaires – ULg)
NOIRFALISE Alfred	(toxicologie, bromatologie - ULg)
PAQUOT Michel *	(chimie, technologie – Gembloux Agro-Bio Tech)
VANDENPLAS Yvan *	(pédiatrie – UZ Brussel, VUB)

L'administration est représentée par :

HORION Benoît (SPF Santé publique, DG 4)

Le groupe de travail a été présidé par Monsieur Guy MAGHUIN-ROGISTER et le secrétariat scientifique a été assuré par Madame Michèle ULENS.