

PRACA POGLĄDOWA/REVIEW PAPER

Karmin – pomijany alergen w diagnostyce natychmiastowej i przewlekłej nadwrażliwości o nieznannej przyczynie

Carmine – overlooked allergen in diagnostic of immediate and delayed idiopathic hypersensitivity

Beata Sadowska, Marta Chełmińska

Klinika Alergologii, Katedra Pneumonologii i Alergologii, Gdański Uniwersytet Medyczny

STRESZCZENIE

Karmin (E120, *Natural Red 4*, color index no. 75470) jest naturalnym czerwonym barwnikiem uzyskiwanym z wysuszonych ciał insektów *Dactylopius coccus* płci żeńskiej, powszechnie stosowanym w przemyśle spożywczym, kosmetycznym i farmaceutycznym. Zanieczyszczenia białkowe w karminie pochodzące z owadów mogą odpowiadać za reakcje alergiczne. Zarejestrowano ponad 80 przypadków nadwrażliwości po spożyciu, inhalacji lub kontakcie z karminem. Reakcje anafilaktyczne, pokrzywka i alergia kontaktowa zdarzały się głównie u pacjentek z atopią, podczas gdy astmę zawodową diagnozowano w większości u chorych płci męskiej po przedłużonej ekspozycji na E120. Reakcje nadwrażliwości zależne od IgE mogą pojawić się natychmiast lub nawet po kilku godzinach od spożycia karminu. Punktowe testy skórne z karminem są dodatnie u ok. 3% pacjentów diagnozowanych z powodu alergii pokarmowej i jest to prosta metoda przesiewowa na E120. W ocenie nadwrażliwości wykorzystuje się pomiar miana przeciwciał sIgE, test aktywacji bazofilów, testy płatkowe oraz prowokację doustną lub inhalacyjną. Obecnie nie są dostępne europejskie standardy postępowania w nadwrażliwości na karmin.

SŁOWA KLUCZOWE:

karmin, kochineal, alergia na czerwony barwnik, kwas karminowy, E120, anafilaksja, alergia na kosmetyki.

ABSTRACT

Carmine (E120, *Natural Red 4*, color index no.75470) is a natural red dye extracted from the dried bodies of female cochineal insects used widely in food, cosmetics and pharmaceutical industries. Protein insect impurities in carmine can be responsible for allergic reactions. Over 80 cases of hypersensitivity have been reported after carmine ingestion, inhalation or contact. Anaphylactic reactions, urticarial and contact allergy have been occurred mostly in atopic female patients, whereas occupational asthma has been diagnosed among rather male patients after prolonged exposure. IgE-mediated hypersensitivity reactions can occur immediately or even few hours after carmine ingestion. Positive skin prick test reactions occur in about 3% of patients diagnosed for food allergy and can be simple diagnostic screening method indicating carmin hypersensitivity. Measurements of serum levels of specific IgE, basophil activation test, patch tests and oral/inhalation challenge are

used in patient evaluation. No European standard methods for management with carmine hypersensitivity have been established.

KEY WORDS:

carmine, cochineal, red dye allergy, carminic acid, E120, anaphylaxis, cosmetic allergy.

ADRES DO KORESPONDENCJI:

Beata Sadowska, Klinika Alergologii, Katedra Pneumonologii i Alergologii, Gdański Uniwersytet Medyczny, ul. Smoluchowskiego 17, Gdańsk, e-mail: sadowska.beata@yahoo.pl

WPROWADZENIE

Rola dodatków do żywności w przebiegu chorób alergicznych jest nie do końca poznana i trudna do oceny. Szacuje się, że mogą one wywoływać reakcje nadwrażliwości u 0,13% populacji ogólnej i u ok. 2% dzieci z atopią [1]. Mogą być przyczyną pokrzywki, obrzęku naczynioruchowego, astmy, zewnątrzpo pochodnego alergicznego zapalenia oskrzelików, zaostrzenia wyprysku atopowego oraz anafilaksji [2, 3].

W wyselekcjonowanych grupach pacjentów unikanie dodatków do żywności przynosi złagodzenie dolegliwości. Rymarczyk i wsp. u pacjentów z podejrzeniem nadwrażliwości na dodatki do żywności po zastosowaniu 7-dniowej diety wolnej od dodatków uzyskali poprawę kliniczną u 30% pacjentów. Blisko połowa z nich wskazywała na paczkowane wędliny oraz sztucznie barwione napoje jako źródło dolegliwości skórnych [4].

Grupa dodatków do żywności obejmuje barwniki naturalne, syntetyczne, konserwanty, antyoksydanty, emulgatory, substancje stabilizujące i żelujące, słodziki oraz inne stosowane w procesach technologicznych. Ze względu na rosnącą tendencję do zastępowania barwników syntetycznych naturalnymi ich znaczenie w diagnostyce alergologicznej będzie prawdopodobnie coraz większe [5, 6].

BARWNIKI NATURALNE

Barwniki naturalne uzyskuje się ze źródeł roślinnych lub zwierzęcych poprzez ekstrakcję lub inne metody fizyczne. Najczęściej stosowane to: karmin, annato, ekstrakt ze skórki grejpfruta, szafran, β -karoten, kurkumina, chlorofil, luteina, betaina, antocyjany oraz ekstrakt z papryki [7]. Mają one na tyle małą masę cząsteczkową, że same nie wywołują reakcji nadwrażliwości, ale mogą działać jak hapteny [8, 9]. Otrzymywane jako ekstrakty, w zależności od procesu produkcji, zawierają różną ilość domieszek białkowych, które mogą wywoływać reakcje

alergiczne. Obecnie uważa się, że dotyczy to głównie karminu oraz w mniejszym stopniu annato [7].

CHARAKTERYSTYKA KARMINU

Karmin, inaczej koszenila, jest intensywnym, czerwonym barwnikiem o wysokiej termostabilności i odporności na działanie światła, wykorzystywanym od czasów starożytnych do barwienia tkanin i żywności [10, 11]. Otrzymuje się go z *Dactylopius coccus* (syn. *Coccus cacti*), owadów żyjących w Ameryce Środkowej i Południowej, Europie Południowej oraz Indiach [6, 12]. Pasożyty te wytwarzają kwas karminowy odpowiadający za czerwone zabarwienie, które wykorzystują do obrony przed drapieżnikami.

Z wysuszonych i sproszkowanych odwłoków ciężarnych samic, które pasożytują na opuncji, otrzymuje się pierwszy substrat – kochineal, który zawiera ok. 10% kwasu karminowego i w surowej postaci nie jest zalecany do spożycia ze względu na zanieczyszczenia, w tym resztki ciał owadów [13, 14]. Poddaje się go działaniu wodnego roztworu alkoholu, po czym po odparowaniu alkoholu uzyskuje się lepiej oczyszczony tzw. ekstrakt kochinealu, który zawiera 2–4% kwasu karminowego [13–15]. Profesjonalna produkcja karminu polega na precypitacji ekstraktu solami aluminium, niekiedy z dodatkiem wapnia, sterylizacji parą wodną, suszeniu oraz połączeniu z sacharozą, dzięki czemu komercyjny karmin stosowany w przemyśle zawiera wg specyfikacji Komisji Europejskiej minimum 50% kwasu karminowego [7, 15, 16].

Karmin został dopuszczony do obrotu przez Agencję ds. Bezpieczeństwa Żywności i Leków (*Food and Drug Administration* – FDA) jako niecertyfikowany (niewykazywany) barwnik żywności i leków od 1967 r. oraz kosmetyków od 1977 r., w tym jako jedyny biologiczny barwnik dopuszczony do stosowania wokół oczu [13]. Jego zawartość w produktach mogła być opisywana jako *color added*, *artificial color added*, *carmine color*. Jednak w 2006 r. w związku z rejestrem ciężkich reakcji alergicznych ustalono

TABELA 1. Odsetek produktów zawierających karmin w poszczególnych grupach

Grupa produktów	Liczba analizowanych produktów	Karmin (%)
želki i galaretki	13	46
draże czekoladowe	4	75
cukierki	4	100
przetwory mleczne	15	20
galaretki owocowe	10	10
kisiele	10	30

no, że jego obecność w żywności oraz kosmetykach musi być wykazywana na etykietach produktów [17].

W obrębie Unii Europejskiej karmin otrzymał autoryzację jako dodatek do żywności w 2008 r. [16]. Według Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności (*European Food Safety Authority – EFSA*) z 2015 r. kod E120 wykazywany w żywności obejmuje ekstrakt kochinealu, karmin oraz kwas karminowy, gdzie ekstrakt kochinealu zawiera minimum 2%, a karmin minimum 50% kwasu karminowego [16]. W kosmetykach natomiast stosuje się oznaczenie *color index* (CI) 75470 [15, 18].

Należy rozróżnić E120 od czerwonych azowych barwników syntetycznych, takich jak *ponceau 4R* (*cochineal red A*, E124, CI 16255), *allura red AC* (E129, CI 16035), należących do tzw. uwalniaczy histaminy, które nie biorą udziału w reakcjach związanych z IgE [6, 19].

Większość badań sugeruje, że to ekstrakt kochinealu oraz karmin, a nie kwas karminowy, mają potencjał alergogenny, spowodowany w większości przez zanieczyszczenia białkami pochodzącymi z owadów [15, 20–23]. Chung i wsp. nie wykluczają, że białka te mogą tworzyć kompleksy z kwasem karminowym, dlatego stopień oczyszczenia karminu jest bardzo istotny [21]. Ponieważ ani FDA, ani Unia Europejska nie określają limitów zanieczyszczeń białkowych w karminie [21], w praktyce zawartość domieszek białkowych jest różna i może wynosić nawet 25% w zależności od producenta [5, 24].

Podejmowano liczne próby identyfikacji białek z ekstraktu kochinealu za pomocą surowic pacjentów uczulonych na karmin [25]. Ohgiya i wsp. z wykorzystaniem surowic pacjentek z anafilaksją zidentyfikowali białko CC38K, o masie 38 kD, które uznali za alergen główny. Jego sekwencja przypomina fosfolipazy, które są znanymi alergenami innych insektów. Badacze sugerują, że to białko może być prekursorem dla 4 innych białek zidentyfikowanych również jako alergeny główne [17]. Nie wiadomo jednak, czy głównym alergenem jest białko zwierzęce, czy też w procesie produkcji barwnika powstaje nowy hapten z białkiem rezydualnym insektu [13, 15]. Możliwe

są reakcje krzyżowe z innymi owadami. Liippo i wsp. u pacjentów uczulonych na karmin potwierdzili ponad 10-krotnie częstsze współwystępowanie uczulenia na krewetki (22%), podczas gdy współwystępowanie z uczuleniem na roztozca uznali za wątpliwe [18].

Warto podkreślić, że gotowane campari zawierające karmin powodowało silniejszą reakcję skórą, co wskazywałoby na termostabilność alergenu [23].

ŹRÓDŁA KARMINU

Karmin jest barwnikiem powszechnie stosowanym w produkcji żywności przetworzonej, przemyśle kosmetycznym oraz farmaceutycznym i jest postrzegany jako stosunkowo bezpieczny.

Przemysł spożywczy wykorzystuje karmin oraz kochineal w produkcji napojów, wyrobów mięsnych, nabiałowych i cukierniczych w celu uzyskania czerwonego zabarwienia, np. jako dodatek do żywności o smaku owocowym [17]. Najczęściej są to owoce jogurty, mleko, dżemy, galaretki, syropy, lody, słodczyce, wypieki, a także dekoracje cukiernicze, przekąski, napoje alkoholowe, wina owocowe, napoje bezalkoholowe, kawa truskawkowa, czerwone korniszony (pikle), owoce morza, w tym sztuczne mięso krabów, oraz produkty mięsne, takie jak salami, parówki, kebaby i suszona wołowina [6, 14, 15, 23, 26].

Według EFSA średnia ekspozycja na karmin wynosi w zależności od zwyczajów żywieniowych 0,02–0,1 mg/kg m.c./dobę u dzieci oraz 0,6–6,7 mg/kg m.c./dobę u nastolatków, u których jest wyższa niż u dorosłych. Większość populacji nie przekracza dopuszczalnej dawki dobowej, którą zdefiniowano jako 5 mg/kg m.c./dobę karminu, a więc 2,5 mg/kg m.c./dobę kwasu karminowego [16, 27].

Napoje bezalkoholowe mogą zawierać do 100 mg/l karminu, natomiast pokarmy stałe – do 500 mg/kg [5]. Choć zawartość karminu w żywności jest ściśle określona, w praktyce zalecane normy mogą być przekraczane [27].

Analiza etykiet wybranych artykułów pod kątem stosowanych dodatków do żywności przeprowadzona w Polsce w 2016 r. wykazała obecność koszenili w wielu produktach (tab. 1) [28].

Wykaz produktów spożywczych, do których może być dodawany E120 [16]:

- ser dojrzewający typu *red marbled*,
- surowe wyroby mięsne: parówki śniadaniowe, mięso typu burger, *merguez – salsicha fresca*, *longaniza fresca*, *mici*, *chorizo fresco*, *cevapcici*, *pljeskavice*, *pasturmas* (surowa wołowina),
- przetworzone ryby, mięczaki i skorupiaki – surimi, zamienniki łososia, pasty rybne i pasty ze skorupiaków, ikra rybia,
- napoje alkoholowe – *Americano*, *bitter* – wino, *bitter soda*, nalewki na winie owocowym, zwłaszcza aro-

matyzowane, cydr i gruszka, przetwory z czerwonych owoców i warzyw w oleju, occie winnym, solance, w tym puszkowane i butelkowane, pickle, *chutney*,

- *mostarda di frutta*, dżemy, marmolady, *chestnut puree*,
- owoce i warzywa kandyzowane,
- przetworzone orzechy,
- pikantne smaki na bazie ziemniaków, ziaren, owocowe płatki śniadaniowe,
- curry, *tandoori*,
- guma do żucia,
- dekoracje, polewy, sosy,
- zupy, buliony,
- suplementy żywności,
- pastylki odświeżające oddech.

Przemysł kosmetyczny wykorzystuje karmin w produkcji różu, pudrów, cieni do powiek, kredek do oczu, ust, szminek, mascar, a nawet lakierów hybrydowych i zmywaczy do paznokci. Często są to produkty określane mianem „naturalnych”, „mineralnych” lub „bio”. W produktach farmaceutycznych karmin jest składnikiem np. w preparacie Elugel z chlorheksydyną 0,2% żel 40 ml. Zawiera go też pasta do zębów *Biomed sensitive*. Może być również używany w produkcji farb, tkanin lub tuszu [19].

Trudności diagnostyczne mogą sprawić wyroby spożywcze sprzedawane bezpośrednio przez producentów, w tym kebaby, do których sprzedawcy dodają karmin we własnym zakresie [6].

REAKCJE NADWRAŻLIWOŚCI

Objawy alergii mogą wystąpić po kontakcie z karminem w wyniku jego inhalacji, drogą pokarmową lub kontaktową [29].

Karmin może wywoływać ostre stany nadwrażliwości, takie jak obrzęk naczynioruchowy, bronchospazm i anafilaksja, oraz reakcje przewlekłe, takie jak nieżyt nosa, astma związana z ekspozycją zawodową i alergią kontaktową. Wstrząs anafilaktyczny opisano już po dawce 1 mg karminu, a więc po spożyciu niewielkiej ilości napoju lub pokarmu [30].

Liippo i wsp. w grupie 3164 pacjentów z podejrzeniem nadwrażliwości na pokarmy uzyskali dodatnie wyniki punktowych testów skórnych (PTS) na karmin u 3% badanych. Na podstawie badania kwestionariuszowego oszacowali, że ok. 41% pacjentów z pozytywnym wynikiem PTS na karmin zgłaszało objawy po ekspozycji na ten związek [18].

Wydaje się, że rzeczywista liczba reakcji nadwrażliwości po karminie jest niedoszacowana ze względu na brak wystandaryzowanych metod diagnostycznych [31]. Do 2009 r. opisano tylko 35 reakcji alergicznych (40% stanowiły anafilaksje, 26% – bronchospazm, 14% – reakcje skórne, takie jak wysypka, obrzęk naczynioruchowy lub

kontaktowe zapalenie skóry oraz jeden przypadek nieżytu nosa i spojówek). W 43% tych reakcji ustalono doustną drogę ekspozycji, a głównym źródłem karminu były napoje i jogurty owocowe. W 26% przypadków kontakt z karminem nastąpił poprzez inhalację, a w 17% drogą przezskórną. Wszystkie opisane reakcje potwierdzono dodatnimi wynikami PTS na karmin [13]. Do 2018 r. opisano łącznie 84 przypadki alergii na karmin [31].

Uważa się, że anafilaksja dotyczy głównie kobiet, a uczulenie następuje poprzez stosowanie kosmetyków zawierających karmin lub ekstrakt kochinealu [11, 29, 31–33].

Problem zauważono w Japonii, gdzie do 2018 r. opisano 28 przypadków reakcji alergicznych na E120 u kobiet, wśród których 24 objawiało się anafilaksją. Dziewięć pacjentek zgłaszało rumień, świąd lub obrzęk twarzy po zastosowaniu kosmetyków, podczas gdy sześć innych stosowało kosmetyki z kochinealem (głównie pomadki i cienie do powiek). W Japonii dodawanie karminu do żywności jest niedozwolone, ale można stosować ekstrakt kochinealu w ściśle limitowanej ilości. Brak ograniczeń w dodawaniu karminu do kosmetyków zwiększa jednak częstość uczuleń. Reakcje alergiczne występowały w większości po spożyciu żywności z karminem sprowadzonej z Europy oraz żywności japońskiej zawierającej kochineal [31].

Ferrer i wsp. zidentyfikowali dwie główne grupy pacjentów narażonych na alergię, u których pierwotne uczulenie następuje przez skórę lub przez inhalację [15].

Grupę pierwszy stanowią głównie kobiety, w około połowie z atopią. Uczulenie przez skórę wywołują przede wszystkim kosmetyki. Po jakimś czasie ekspozycja na pokarm zawierający karmin może spowodować objawy skórne (pokrzywka, obrzęk naczynioruchowy), objawy z układu pokarmowego (nudności, wymioty, biegunka), oddechowego (wodnisty katar, blokada nosa, duszność, kaszel, astma) lub wstrząs anafilaktyczny [15].

Grupę drugą stanowią w większości mężczyźni. Zawodowa ekspozycja na karmin dotyczy głównie mężczyzn (ok. 3/4), u których wywiad w kierunku atopii wydaje się nieistotny, a ekspozycja następuje przez inhalację w fabrykach produkujących barwnik [15, 17]. Manifestacją może być astma i/lub nieżyt nosa oraz spojówek. Pacjenci mogą tolerować karmin przyjmowany doustnie [9] lub wykazywać objawy nadwrażliwości po jego spożyciu [34, 35].

Najbardziej narażeni na reakcje na karmin są pracownicy zakładów produkujących i segregujących barwniki i przyprawy, masarze, chemicy oraz pracownicy przemysłu spożywczego [13].

EKSPOZYCJA DROGĄ POKARMOWĄ

W 1994 r. Kägi opisał po raz pierwszy reakcję anafilaktyczną u pacjentki po 15 minutach od spożycia koktajlu *campari orange*. Po początkowych objawach nieży-

towych w obrębie nosa i spojówek wystąpiły uogólniony świąd, pokrzywka, obrzęk naczyńnioruchowy, duszność, skurcz oskrzeli, dreszcze, wymioty oraz biegunka [32].

Wüthrich przedstawił 5 przypadków anafilaksji po spożyciu napojów alkoholowych i udowodnił alergiczne podłoże reakcji na podstawie dodatnich wyników PTS oraz testu RAST na karmin [29]. DiCello i wsp. ustalili, że u 2 kobiet bez atopii anafilaksja po jogurcie oraz *campari* była związana z karminem [36]. Kolejni autorzy opisali pacjentkę, u której po godzinie od spożycia *campari*, czerwonych koktajli oraz truskawkowego mleka pojawiły się pokrzywka, silny ból brzucha oraz biegunka [37].

Warto podkreślić, że w 2007 r. usunięto karmin z napoju alkoholowego *campari* i zastąpiono go innym barwnikiem [31]. Inne doniesienia o anafilaksji po karminie dotyczyły marcepanu, *chicken tikka masala*, *croissant*a z jagodami, napoju energetyzującego, soku truskawkowego, parówek rybnych oraz makaronu [31, 38, 39].

Zwraca uwagę czas do wystąpienia wstrząsu anafilaktycznego, który może wynosić od kilku minut do kilku godzin od spożycia pokarmu [16, 33]. W przypadku anafilaksji po jogurcie oceniono, że reakcja nastąpiła po spożyciu ok. 1,3 mg karminu w czasie 2 godzin po konsumpcji, a pacjentka reagowała podobnie po spożyciu innych pokarmów zabarwionych na czerwono [16]. Baldwin i wsp. opisali kobietę, u której reakcja anafilaktyczna rozwinęła się w czasie 3 godzin po spożyciu lodów [26].

Pacjenci, u których pierwotna sensytyzacja następuje przez skórę, to w większości kobiety w wieku ok. 40 lat stosujące kosmetyki zawierające karmin. Naukowcy japońscy opisali 40-letnią pacjentkę z pyłkowicą, która przez 3 lata odczuwała natychmiastowy świąd i pieczenie skóry powiek po zastosowaniu ciemnoczerwonego eyelinera oraz pomarańczowego cienia do powiek. Następnie u pacjentki obserwowano objawy po spożyciu żywności z karminem. Początkowo doświadczyła uogólnionej reakcji skórnej po zjedzeniu makaronu zabarwionego na różowo. Po zjedzeniu ciastek z truskawkowym zapachem oraz wypiciu *latte* o smaku truskawkowym po 15 minutach wystąpił wstrząs anafilaktyczny. Wyniki PTS z eyelinerem, cieniem do powiek, ciastkiem i *latte* były pozytywne. Autorzy wysunęli hipotezę, że sensytyzację na karmin ułatwiło uszkodzenie skóry powiek z powodu pyłkowicy [12].

W 2009 r. opisano przypadek anafilaksji u 47-letniej pacjentki z wywiadem astmy i alergicznego nieżytu nosa po zażyciu azytromycyny, której otoczka zawierała karmin. Wcześniej u pacjentki obserwowano trzy incydenty obrzęku naczyńnioruchowego z towarzyszącą dusznością lub bez duszności po spożyciu jogurtu o smaku malinowym, tortellini o zabarwieniu czerwonym, a także wysypki i obrzęki po zastosowaniu czerwonego cienia do powiek. Kobieta uważnie unikała kontaktu z karminem,

jednak farmaceuta wydał zamiennik azytromycyny zamiast leku przepisanego przez lekarza i doszło do anafilaksji. W diagnostyce uzyskano dodatnie wyniki PTS dla pokruszonej otoczki tabletki leku, całej tabletki oraz karminu, a ujemne dla innej azytromycyny i ekstraktu kochinealu uzyskanego z 10 owadów [13]. Podobną reakcję stwierdzono u 32-letniej pacjentki po spożyciu suplementu witaminowego zawierającego karmin [6].

EKSPOZYCJA POPRZEC INHALACJĘ

Opublikowano kilkanaście przypadków astmy zawodowej po karminie [9, 34, 35, 40–44]. Pierwszy z nich opisali Burge i wsp. w 1979 r. Stwierdzili oni astmę zawodową u 2 pracowników ekspozowanych na kochineal, u których prowokacja inhalacyjna z alergenem wykazała pozytywną, dwufazową odpowiedź [35].

Astma zawodowa na E120 może dotyczyć pracowników fabryk kolorowych kosmetyków, dodatków do żywności, barwników, zakładów pakowania przypraw, rzeźni oraz drukarni sitowych [9, 45].

Acero i wsp. opisali przypadek 35-letniego mężczyzny z astmą i nieżytem nosa pracującego w sortowni przypraw, który miał kontakt z karminem. Po spożyciu słodyczy zawierających karmin u chorego wystąpił atak astmy oskrzelowej. Prowokacja dooskrzelowa z karminem oraz wynik PTS były pozytywne [34].

Ciekawą analizę dynamiki astmy zawodowej u pracowników, którzy mają kontakt z naturalnymi dodatkami do żywności, przeprowadzili Tabar-Purroy i wsp. w Hiszpanii. Na podstawie dodatniego testu prowokacji poprzez inhalację zdiagnozowano astmę zawodową u 18,5% pracowników, potwierdzoną dodatnim wynikiem PTS na karmin. Oszacowano czas latencji objawów – od 4 miesięcy do 8 lat. Uczulenie na karmin stwierdzono u 48,1%, a na kwas karminowy u 4,2% pracowników. Niski odsetek uczuleń na kwas karminowy wskazywał, że reakcje niepożądane są efektem wpływu zanieczyszczeń z odwołów insektów. Nie zaobserwowano natomiast dodatnich wyników PTS na annato, chlorofil i kurkumę, które były sortowane w tym zakładzie [41, 46].

ALERGIA KONTAKTOWA

Karmin zawarty w kosmetykach zwykle jest oznaczony jako *carmine*, a także jako CI 75470 lub *natural red 4* [15]. W zależności od stężenia oraz pH uzyskuje się kolory czerwony, pomarańczowy, różowy lub fioletowy. Przykładowe stężenia karminu ujawniła jedna z głównych firm kosmetycznych The Estee Lauder Companies: stężenie karminu w pomadkach wynosi 0,01–4%, w różach do policzków – 0,05–10%, a w cieniach do powiek – 0,02–20% [19].

Opisano kilka przypadków opóźnionej reakcji na karmin – w postaci alergii kontaktowej [19, 47–49]. Pierwszy z nich dotyczył zapalenia czerwieni wargowej po zastosowaniu balsamu do ust u 3 pacjentów [48]. Suzuki i wsp. przedstawili przypadek 52-letniej pacjentki bez wywiadu atopii z występującą przez 6 miesięcy swędzącą wysypką na policzkach po zastosowaniu różu, u której alergię potwierdził dodatni wynik PTS [47]. Chung i wsp. opisali 27-letnią pacjentkę z anafilaksją oraz 30-letnią z obrzękiem naczynioruchowym po karminie, które doświadczały natychmiastowego świądu i wyprysku na policzkach po zastosowaniu różu odpowiednio firmy Clinix oraz Merle Norman. Reakcja nie występowała jednak, gdy róż był nałożony na warstwę podkładu [21].

ATOPOWE ZAPALENIE SKÓRY

W 2015 r. Catli i wsp. zbadali częstość uzyskiwania dodatnich wyników testów płatkowych na wybrane dodatki do żywności u 34 dzieci z atopowym zapaleniem skóry, które spożywały regularnie takie pokarmy, jak soki owocowe, jogurt owocowy, pudding, dżemy, syropy, salami, parówki, dropsy, cukierki, ciastka, czekolada, chipsy, lody, ketchup i guma do żucia. Dodatni wynik testów płatkowych uzyskano u 41,2% pacjentów w porównaniu z 15,2% w grupie kontrolnej. W analizie pojedynczych wyników tylko dla karminu różnica była znamienista statystycznie (17,6% vs 0%, $p = 0,02$). To pierwsze badanie, w którym wykazano wyższą częstość uczulenia na karmin u pacjentów z atopowym zapaleniem skóry. Pacjentów nie poddano prowokacji, jednak autorzy uważają, że PTS mogą być pomocne u pacjentów z atopowym zapaleniem skóry, którzy zgłaszają objawy po spożyciu potraw z karminem [14].

DIAGNOSTYKA NADWRAŻLIWOŚCI NA KARMIN

W diagnostyce alergii na karmin wykorzystywano punktowe i płatkowe testy skórne, badanie stężenia swoistych przeciwciał IgE, test aktywacji bazofilów (*basophil activation test* – BAT) oraz prowokację doustną i dooskrzelową. Eksperymentalnie wykorzystywano IgE immunoblotting oraz frakcjonowanie chromatograficzne [15, 23].

PUNKTOWE TESTY SKÓRNE

Punktowe testy skórne z E120 mogą być stosowane przesiewowo w diagnostyce alergii na karmin [50]. U wielu pacjentów z astmą zawodową [15, 36, 37, 44], a także u pacjentek z anafilaksją wywołaną karminem stwierdzono dodatnie wyniki PTS [26, 30, 32, 39].

Pozytywny wynik dla karminu uzyskiwano często w stężeniu 0,1% u pacjentów z anafilaksją [12, 32]. Inni badacze wykorzystywali do testów skórnych karmin w stężeniu 0,5% [15, 18, 29, 32], 1% [35, 41] oraz 5–7% [13, 21]. Opisano jednak pacjentki z anafilaksją oraz z ostrym obrzękiem naczynioruchowym po napoju *campari*, u których PTS z karminem w stężeniu 0,5% był ujemny, natomiast z karminem dostarczonym przez producenta napoju oraz natywny z napojem dały wyniki pozytywne, co może świadczyć o tym, że stężenie 0,5% karminu nie jest wystarczająco czułe [29].

Część badaczy wykorzystuje do testów skórnych nie ekstrakt kochinealu, tylko karmin, ponieważ istnieje podejrzenie, że białko staje się bardziej alergogenne w procesie produkcji karminu [13].

Należy podkreślić, że reakcja skórna w czasie wykonywania PTS rozwija się wolniej i wyniku testu nie powinno się odczytywać przed upływem 30 minut [11, 13].

Za dodatni PTS na karmin w badaniach uważano wynik minimum 3 mm średnicy bąbla, a według japońskich badaczy dodatkowym kryterium była wielkość wynosząca co najmniej połowę średnicy bąbla po histaminie [31].

Liippo i Lammintausta poddali doustnej prowokacji karminem 23 pacjentów z dodatnim PTS (minimum 3 mm średnicy bąbla). U chorych z dodatnim wynikiem prowokacji (5 osób) obserwowano bąbel o wielkości nie mniejszej niż po histaminie [51].

TESTY PŁATKOWE

Testy płatkowe wydają się cennym uzupełnieniem diagnostyki reakcji opóźnionej. Suzuki i wsp. uzyskali dodatnią reakcję z 30% różu zawieszonym w wazelinie oraz stężeniami karminu 0,2% i większymi [47]. U dzieci z atopowym zapaleniem skóry Catli i wsp. użyli karminu w stężeniu 0,5% [14]. Shaw i wsp. stwierdzili natomiast dodatni wynik dopiero po 12 dniach trwania testu powtarzanej otwartej aplikacji (*repeated open application test* – ROAT), w którym stosowano karmin w stężeniu 2,5% zawieszony w wazelinie na skórę w dole łokciowym 2 razy dziennie [19].

PRZECIWCIAŁA SWOISTE KLASY E

W procesie diagnostycznym można określić stężenie swoistych przeciwciał klasy E (sIgE) dla E120, ImmunoCap f340 (*ThermoFisher-Phadia*). Yamakawa i wsp. potwierdzili podwyższone stężenie sIgE u 2 spośród 3 pacjentów z alergią na kochineal [23].

Zwraca uwagę fakt, że przy stosunkowo niskim mianie mogą występować ciężkie reakcje alergiczne. U pacjentki z atakami obrzęku naczynioruchowego po spożyciu karminu w kebabie i hamburgerze, z dodatnim wynikiem PTS, stężenie sIgE wyniosło 0,19 kU/l [6].

W innych badaniach wartość 1,28 kU/l stwierdzono u pacjentki z nawrotowym wstrząsem anafilaktycznym po karminie [52], a 1,6 kU/l oraz 0,92 kU/l u pacjentów z astmą zawodową [15, 45]. Wraz z kolejnymi ekspozycjami na karmin u osób uczulonych wartość sIgE może wzrastać, co potwierdzono u pacjentki z anafilaksją – wyjściowa wartość 1,92 kU/l wzrosła po kolejnym wstrząsie do 2,77 kU/l [39]. Unikanie stosowania karminu przez 7 lat u uczulonej pacjentki doprowadziło do zmniejszenia jego zawartości, ale nie spowodowało całkowitej negatywizacji miana [31].

Naukowcy z Japonii na podstawie 28 reakcji zaproponowali schemat postępowania u pacjentów z podejrzeniem alergii na karmin. Badacze rekomendują PTS ze wzrastającymi stężeniami ekstraktu kochinealu 0,001% – 0,01% – 0,1% lub z karminem 0,1%, a dodatni wynik testu przy wywiadzie sugerującym nadwrażliwość uznają za potwierdzenie rozpoznania. Zalecają wykonanie sIgE, gdy pomimo ujemnych testów skórnych istnieje podejrzenie alergii z wywiadu, co dotyczyło 20% pacjentów. Autorzy zasugerowali, że stężenie minimum 0,7 kU/l jest potwierdzeniem alergii, podczas gdy dla wartości od 0,1 kU/l do poniżej 0,7 kU/l zalecają wykonanie prowokacji. Autorzy stoją na stanowisku, że PTS połączone z pomiarem stężenia sIgE mają wysoką czułość i uzyskanie ujemnych wartości obu z nich stanowi wykluczenie alergii na karmin (bez potrzeby wykonywania prowokacji). Warto jednak zaznaczyć, że wynik fałszywie dodatni – stężenie sIgE 2,2 kU/l – uzyskano u jednego mężczyzny w grupie kontrolnej [31].

TEST AKTYWACJI BAZOFILÓW (BAT)

Analiza cytometrii przepływowej aktywowanych bazofilów (CD63+CD123%HLA-DR-) wydaje się cennym narzędziem, które poprawia czułość diagnostyki alergii na karmin.

Sugimoto i wsp. stwierdzili pozytywny wynik BAT u pacjentki reagującej anafilaksją po napoju zawierającym kochineal, podczas gdy nie udało się uzyskać dodatniego wyniku w PTS. Test aktywacji bazofilów okazał się wysoce czuły, a indukcja CD203c następowała z rozcieńczeniem od 10 do 640 razy zarówno spożytego napoju, kochinealu, jak i kwasu karminowego. Jest to rzadki przypadek stwierdzenia nadwrażliwości na kwas karminowy, który potwierdza zaangażowanie bazofilów i wysoką czułość BAT [8]. W innych badaniach uzyskano dodatni wynik BAT zarówno na CD203c [12], jak i na CD63 [39, 45].

TESTY PROWOKACJI

W astmie zawodowej stwierdzono dodatni wynik prowokacji wziewnej z wykorzystaniem świeżo przygo-

towanego ekstraktu kochinealu, po którym wystąpiła reakcja dwufazowa po ok. 10 minutach oraz 11 godzinach [34]. Ferrer i wsp. wykorzystali karmin w próbie prowokacji, uzyskując pozytywny wynik dla stężenia PC20 – 0,0004 mg/ml [15].

W piśmiennictwie można znaleźć niejednolite protokoły doustnej prowokacji karminem z kontrolą placebo. Wydaje się, że schemat powinien być dobrany w zależności od nasilenia reakcji nadwrażliwości.

Liippo i Lammintausta podawali alergen w postaci roztworu od dawki 0,1 mg do 5 mg (dawką kumulacyjną było 12,1 mg) co 20 minut. Wszyscy badani otrzymali całkowitą dawkę kumulacyjną, mimo że u niektórych z nich pierwsze objawy wystąpiły po dawce 1 mg. Badani poddani prowokacji nie zgłaszali jednak ciężkich reakcji alergicznych w wywiadzie. Chorych obserwowano do 2 godzin po prowokacji i byli oni proszeni o kontakt w przypadku wystąpienia nowych objawów po opuszczeniu kliniki. Test doustnej prowokacji oceniono jako pozytywny u 22% pacjentów, a zgłoszone objawy dotyczyły skóry i przewodu pokarmowego [51].

Chung i wsp. uzależnili dawki stosowane w protokole oraz okresy przerw pomiędzy nimi od ciężkości reakcji w wywiadzie i czasu wystąpienia reakcji po podejrzanym pokarmie zawierającym karmin. U pacjentki z anafilaksją zastosowano protokół 1 mg, 5 mg i 10 mg. Objawy w postaci świądu skóry i zmniejszenia FEV1 o 19,2% obserwowano po 60 minutach od podania pierwszej dawki, po czym po 4 godzinach podano dawkę 5 mg i ponownie po 1 godzinie zaobserwowano zmniejszenie FEV1, tym razem o 27,9%. Po kolejnych 3 godzinach wystąpił silny świąd skóry oraz pokrzywka. U chorej z obrzękiem naczynioruchowym ci sami badacze zastosowali protokół 25 mg, 50 mg, 100 mg i 200 mg, przy czym pokrzywka i obrzęk naczynioruchowy wystąpiły po godzinie od przyjęcia pierwszej dawki [21].

Acerio i wsp. u pacjenta z astmą zawodową wywołaną karminem zastosowali protokół doustnej prowokacji kontrolowanej placebo ze wzrastającymi co godzinę dawkami od 5 mg do 150 mg, przy czym dawka kumulacyjna nie przekraczała 5 mg/kg m.c. Po 45 minutach od podania ostatniej dawki u pacjenta wystąpiły świąd gardła oraz duszność, która minęła spontanicznie po 30 minutach, natomiast objawy nieżytu nosa utrzymywały się 5 godzin [34].

PODSUMOWANIE

Spożywanie żywności przetworzonej oraz stosowanie kosmetyków mogą być źródłem reakcji nadwrażliwości ze względu na stosowane barwniki naturalne, uważane przez długi czas za bezpieczne.

Regulacja Unii Europejskiej z 2008 r. ustanowiła, że dodatki do żywności są przedmiotem oceny bezpieczeń-

stwa i podlegają stałej reewaluacji przez Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności [16]. Ze względu na dużą ekspozycję na karmin w kosmetykach oraz żywności celowe jest zwrócenie uwagi na ten właśnie alergen, ponieważ częstość występowania reakcji najprawdopodobniej jest niedoszacowana.

Uważa się, że diagnostyka anafilaksji idiopatycznych powinna obejmować uczulenie na karmin, który jest często ukrytym alergenem, z możliwym kilkugodzinnym opóźnieniem wystąpienia reakcji nadwrażliwości [6, 29, 38, 39, 52]. Inni badacze uważają, że w związku ze wzrostem spożycia karminu powinno się go brać pod uwagę jako przyczynę pokrzywki w codziennej praktyce [53].

Wydaje się, że wystandaryzowanie metod diagnostyki pomogłoby w rozpowszechnieniu rozpoznawania sensytyzacji na karmin. Kwestią wymagającą zbadania jest to, czy w przypadku wystąpienia uczulenia na karmin i ujemnej doustnej próby prowokacji należy wdrożyć profilaktycznie eliminację E-120/CI 75470 w celu uniknięcia potencjalnie groźnych reakcji alergicznych.

KONFLIKT INTERESÓW

Autorzy nie zgłaszają konfliktu interesów.

PIŚMIENICTWO

- Fuglsang G, Madsen C, Saval F, Østerballe O. Prevalence of intolerance to food additives among Danish school children. *Pediatr Allergy Immunol* 1993; 4: 123-9.
- Park HW, Park CH, Park SH, et al. Dermatologic adverse reactions to 7 common food additives in patients with allergic diseases: a double-blind, placebo-controlled study. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 121: 1059-61.
- Dietemann-Molard A, Braun JJ, Sohler B, Pauli G. Extrinsic allergic alveolitis secondary to carmine. *Lancet* 1991; 338: 460.
- Rymarczyk B, Glück J, Rogala B. Dodatki spożywcze jako czynniki wywołujące objawy nadwrażliwości pokarmowej u osób dorosłych. *Alerg Astma Immunol* 2014; 19: 35-41.
- Nordic Council of Ministers. Food additives in Europe 2000 – Status of safety assessments of food additives presently permitted in the EU. *TemaNord* 2002; 560: 87-91.
- Voltolini S, Pellegrini S, Contatore M, et al. New risks from ancient food dyes: cochineal red allergy. *Eur Ann Allergy Clin Immunol* 2014; 46: 232-3.
- Lucas CD, Hallagan JB. The role of natural color additives in food allergy. *Adv Food Nutr Res* 2001; 43: 195-216.
- Sugimoto N, Yamaguchi M, Tanaka Y, et al. The basophil activation test identified carminic acid as an allergen inducing anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2013; 1: 197-9.
- Quirce S, Cuevas M, Olaguibel JM, Tabar AI. Occupational asthma and immunologic responses induced by inhaled carmine among employees at a factory making natural dyes. *J Allergy Clin Immunol* 1994; 93: 44-52.
- Müller-Maatsch J, Gras C. The 'Carmine Problem' and Potential Alternatives. In: *Handbook on Natural Pigments in Food and Beverages. Industrial Applications for Improving Food Color*. Carle R, Schweiggert R (eds). 2016; 385-428.
- Greenhawt MJ, Baldwin JL. Carmine dye and cochineal extract: hidden allergens no more. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2009; 103: 73-5.
- Miyakawa M, Inomata N, Sagawa N, et al. Anaphylaxis due to carmine-containing foods induced by epicutaneous sensitization to red eye-liner. *J Dermatol* 2017; 44: 96-7.
- Greenhawt M, McMorris M, Baldwin J. Carmine hypersensitivity masquerading as azithromycin hypersensitivity. *Allergy Asthma Proc* 2009; 30: 95-101.
- Catli G, Bostanci I, Ozmen S, et al. Is patch testing with food additives useful in children with atopic eczema? *Pediatr Dermatol* 2015; 32: 684-9.
- Ferrer A, Marco FM, Andreu C, Sempere JM. Occupational asthma to carmine in a butcher. *Int Arch Allergy Immunol* 2005; 138: 243-50.
- EFSA ANS Panel (EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food), 2015. Scientific Opinion on the re-evaluation of cochineal, carminic acid, carmines (E120) as a food additive. *EFSA J* 2015; 13: 4288,66.
- Ohgiya Y, Arakawa F, Akiyama H, et al. Molecular cloning, expression, and characterization of a major 38-kD cochineal allergen. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 123: 1157-62.
- Liippo J, Lammintausta K. Allergy to carmine red (E120) is not dependent on concurrent mite allergy. *Int Arch Allergy Immunol* 2009; 150: 179-83.
- Shaw DW. Allergic contact dermatitis from carmine. *Dermatitis* 2009; 20: 292-5.
- Taylor SL, Hefle SL. Ingredient and labeling issues associated with allergenic foods. *Allergy* 2001; 56 Suppl 67: 64-9.
- Chung K, Baker Jr JR, Baldwin JL, Chou A. Identification of carmine allergens among three carmine allergy patients. *Allergy* 2001; 56: 73-7.
- Pecquet C. Allergic reactions to insect secretions. *Eur J Dermatol* 2013; 23: 767-73.
- Yamakawa Y, Oosuna H, Yamakawa T, et al. Cochineal extract-induced immediate allergy. *J Dermatol* 2009; 36: 72-4.
- Dapson RW. The history, chemistry and modes of action of carmine and related dyes. *Biotech Histochem* 2007; 82: 173-87.
- Lizaso MT, Moneo I, Garcia BE, et al. Identification of allergens involved in occupational asthma due to carmine dye. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2000; 84: 549-52.
- Baldwin JL, Chou AH, Solomon WR. Popsicle-induced anaphylaxis due to carmine dye allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1997; 79: 415-9.
- Heydari R, Hosseini M, Zarabi S. A simple method for determination of carmine in food samples based on cloud point extraction and spectrophotometric detection. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* 2015; 150: 786-91.
- Kręciđło M, Krzyśko-Lupicka T. Analiza etykiet produktów żywnościowych dostępnych w obrocie handlowym w Polsce pod kątem obecności barwników. W: *Przegląd wybranych zagadnień z zakresu przemysłu spożywczego*. Szala M, Kropiwić K (eds.). Wydawnictwo Naukowe TYGIEL, Lublin 2016; 7-20.
- Wüthrich B, Kägi MK, Stücker W. Anaphylactic reactions to ingested carmine (E120). *Allergy* 1997; 52: 1133-7.
- Beaudouin E, Kanny G, Lambert H, et al. Food anaphylaxis following ingestion of carmine. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1995; 74: 427-30.

31. Takeo N, Nakamura M, Nakayama S, et al. Cochineal dye-induced immediate allergy: review of Japanese cases and proposed new diagnostic chart. *Allergol Int* 2018; 67: 496-505.
32. Kägi MK, Wüthrich B, Johansson SG. Campari-orange anaphylaxis due to carmine allergy. *Lancet* 1994; 344: 60-1.
33. Katada Y, Harada Y, Azuma N, et al. 494 Skin sensitization to carmine before onset of systemic allergy to ingested carmine. *World Allergy Organ J* 2012; 5 (Suppl 2): S174.
34. Acero S, Tabar AI, Alvarez MJ, et al. Occupational asthma and food allergy due to carmine. *Allergy* 1998; 53: 897-901.
35. Burge PS, O'Brien IM, Harries MG, Pepys J. Occupational asthma due to inhaled carmine. *Clin Allergy* 1979; 9: 185-9.
36. DiCello MC, Myc A, Baker Jr JR, Baldwin JL. Anaphylaxis after ingestion of carmine colored foods: two case reports and a review of the literature. *Allergy Asthma Proc* 1999; 20: 377-82.
37. Kume A, Fujimoto M, Hino N, et al. A case of type I allergy due to cochineal extract [Abstract]. In: Program and Abstracts. The 22nd Annual Meeting of Japanese Society for Contact Dermatitis, 28-30 November 1997, Yokohama, Japan. Submitted to WHO by the National Food Colours Association, Basel, Switzerland.
38. Mäkinen-Kiljunen S, Haahtela T. Eight years of severe allergic reactions in Finland. *WAO J* 2008; 1: 184-9.
39. Breynaert C. A natural red pigment as a hidden allergen in delayed idiopathic anaphylaxis: carmine-induced food allergy. *Clin Transl Allergy* 2017; 7 (Suppl 1): PD61.
40. Baur X, Bakehe P. Allergens causing occupational asthma: an evidence-based evaluation of the literature. *Int Arch Occup Environ Health* 2014; 87: 339-63.
41. Tabar-Purroy AI, Alvarez-Puebla MJ, Acero-Sainz S, et al. Carmine (E-120)-induced occupational asthma revisited. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111: 415-9.
42. Stücker W, Roggembuck D, von Kirchbach G. Schweres Asthma nach beruflicher Exposition gegenüber dem Lebensmittelfarbstoff Kochenille/Karmin. *Allergo J* 1996; 5: 143-6.
43. Rodriguez A, de la Cuesta CG, Olaguibel JM, et al. Occupational asthma to inhaled carminic acid dye: case report. *Clin Exp Allergy* 1990; 20 Suppl 1: 43.
44. Anibarro B, Seoane J, Vila C, et al. Occupational asthma induced by inhaled carmine among butchers. *Int J Occup Med Environ Health* 2003; 16: 133-7.
45. Cox CE, Ebo DG. Carmine red (E-120)-induced occupational respiratory allergy in a screen-printing worker: a case report. *B-ENT* 2012; 8: 229-32.
46. Tabar AI, Acero S, Arregui C, et al. Asthma and allergy due to carmine dye. *Ann Sist Sanit Navar* 2003; 26 (Suppl 2): 65-73.
47. Suzuki K, Hirokawa K, Yagami A, Matsunaga K. Allergic contact dermatitis from carmine in cosmetic blush. *Dermat Contact Atopic Occup Drug* 2011; 22: 348-9.
48. Sarkany I, Maera RH, Everall J. Cheilitis due to carmine in lip salve. *Trans St Johns Hosp Dermatol Soc* 1961; 46: 39-40.
49. Yamamoto A, Kono T, Kato A, et al. Contact dermatitis due to cochineal carmine. *Environ Dermatol* 1999; 6: 185-9.
50. Nowak-Wegrzyn A, Assa'ad AH, Bahna SL, et al. Work Group report: oral food challenge testing. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 123 (Suppl): 365-83.
51. Liippo J, Lammintausta K. An oral challenge test with carmine red (E120) in skin prick test positive patients. *Eur Ann Allergy Clin Immunol* 2015; 47: 206-10.
52. De Pasquale T, Buonomo A, Illuminati I, et al. Recurrent anaphylaxis: a case of IgE-mediated allergy to carmine red (E120). *J Investig Allergol Clin Immunol* 2015; 25: 440-1.
53. Kotobuki Y, Azukizawa H, Nishida Y, et al. Case of urticaria due to cochineal dye in red-colored diet. *Arerugi* 2007; 56: 1510-4.