



Miljøministeriet  
Miljøstyrelsen

# Kortlægning og risikovurdering af fødevareproteiner i kosmetiske produkter

Kortlægning af kemiske  
stoffer i forbruger pro-  
dukter Nr. 196

August 2024

Udgiver: Miljøstyrelsen

Redaktion:

Jepp Madura Larsen

Katrine Lindholm Bøgh

Ellen Trolle

Anne Mette Zenner Boisen

Juliane Gregersen

Charlotte Bernhard Madsen

DTU Fødevareinstituttet

Danmarks Tekniske Universitet

Kemitorvet 202

2800 Kgs. Lyngby

ISBN: 978-87-7038-636-4

Miljøstyrelsen offentliggør rapporter og indlæg vedrørende forsknings- og udviklingsprojekter inden for miljøsektoren, som er finansieret af Miljøstyrelsen. Det skal bemærkes, at en sådan offentliggørelse ikke nødvendigvis betyder, at det pågældende indlæg giver udtryk for Miljøstyrelsens synspunkter. Offentliggørelsen betyder imidlertid, at Miljøstyrelsen finder, at indholdet udgør et væsentligt indlæg i debatten omkring den danske miljøpolitik

Må citeres med kildeangivelse

# Indhold

<b>Forord</b>	<b>6</b>
<b>Sammenfatning</b>	<b>7</b>
<b>English summary</b>	<b>11</b>
<b>1. Introduktion</b>	<b>15</b>
1.1 Anvendelse af fødevarer baserede ingredienser i kosmetiske produkter	15
1.2 Fødevarerallergi	15
1.3 Allergene fødevarer	15
1.4 Hyppigheden af fødevarerallergi	16
1.5 Udvikling af fødevarerallergi	17
1.6 Tolerance over for fødevarer	17
<b>2. Formål</b>	<b>19</b>
<b>3. Kortlægning af kosmetiske produkter</b>	<b>20</b>
3.1 Brug af fødevarer i kosmetiske produkter på det danske marked	20
3.1.1 Baggrund og metode	20
3.1.2 Identifikation af ingredienser baseret på fødevarer	20
3.1.3 Identifikation af kosmetiske produkter med ingredienser baseret på fødevarer	21
3.1.4 Identifikation af modificerede fødevarer baserede ingredienser i kosmetiske produkter	22
3.1.5 Fødevarer i kosmetiske produkter på det danske marked rettet mod børn	25
3.1.6 Fødevarer i kosmetiske produkter på det danske marked rettet imod specifikke hudtyper	26
3.2 Fødevarer baseret ingredienser i kosmetiske produkter tilgængelig på internettet	28
3.2.1 Identifikation af kosmetiske produkter på ikke-danske EU webshops	28
3.2.2 Identifikation af kosmetiske produkter på webshops uden for EU	30
3.3 Delkonklusion	31
<b>4. Konsum af allergene fødevarer hos børn</b>	<b>32</b>
4.1 Kostundersøgelse: Introduktion til fødevarer hos børn i alderen 0-24 måneder	32
4.1.1 Amning og introduktion af modermælkserstatning og drømmælk	32
4.2 Kostundersøgelse: Kostregistrering hos børn i alderen 6-36 måneder	34
4.2.1 Andel der indtager mælkeprodukter og brystmælk	34
4.2.2 Konsorter: Hvede og havre	35
4.2.3 Æg, fisk og skaldyr	36
4.2.4 Jordnødder, trænødder og sesam	37
4.3 Styrker og begrænsninger	38
4.4 Delkonklusion	38
<b>5. Analyse af fødevarerproteiner i kosmetiske produkter</b>	<b>39</b>
5.1 Udvælgelse af fødevarer i fokus	39
5.2 Udvælgelse af kosmetiske produkter til analyse	39

5.3	Valg af analysemetode	40
5.4	Metodevalidering	41
5.4.1	Valideringsparametre	42
5.4.2	Valideringsresultater: Komælk ELISA assay	42
5.4.3	Valideringsresultater: Mandel ELISA assay	43
5.4.4	Valideringsresultater: Soja ELISA assay	43
5.5	Analyseresultater: Komælk	44
5.6	Analyseresultater: Mandel	45
5.7	Analyseresultater: Soja	45
5.8	Delkonklusion	46
<b>6.</b>	<b>Risikovurdering</b>	<b>47</b>
6.1	Data fra mennesker: Elicitering	47
6.2	Data fra Mennesker: Sensibilisering	47
6.2.1	Protein fra jordnødder kan sensibilisere børn med atopisk eksem	48
6.2.2	Syrehydrolyseret hvedegluten kan bryde oral tolerance over for hvede	48
6.2.3	Mælk	49
6.2.4	Havre	49
6.2.5	Soja	49
6.2.6	Delkonklusion	49
6.3	Dyrestudier: Elicitering	50
6.4	Dyrestudier: Sensibilisering	50
6.4.1	Faktorer der skal inddrages i vurdering af dyremodeller for hudsensibilisering med proteiner	50
6.4.1.1	Dyremodeller for hudsensibilisering med fødevareproteiner	50
6.4.1.2	Fødevarer - fødevareproteiner	50
6.4.1.3	Dyr	51
6.4.1.4	Foder	51
6.4.1.5	Hudens tilstand	51
6.4.1.6	Påføring og okklusion	51
6.4.1.7	Varighed og dosis-respons	52
6.4.1.8	Post-immunisering	52
6.4.1.9	Påvisning af sensibilisering	52
6.4.2	Vurdering af udvalgte studier	52
6.4.2.1	Ovalbumin (OVA)	52
6.4.2.2	Valleproteinkoncentrat (VPC) og hydrolysater af VPC	53
6.4.2.3	Gluten og hydrolysater af gluten	53
6.4.2.4	Sammenfatning dyrestudier	54
6.5	Konklusion på analyseresultater til brug for delrapport 3	54
6.5.1	Mælk	54
6.5.2	Mandel	54
6.5.3	Soja	54
6.6	Eksponering baseret på analysedata	55
6.6.1	Eksponeringsscenarier for de udvalgte produkter:	55
6.6.2	Metode til udregning af eksponering	55
6.6.3	Datagrundlag for spædbørns udsættelse for de udvalgte kosmetiske produkter.	56
6.6.4	Eksponeringsscenarie for anvendelse af de udvalgte produkter i bleområdet.	57
6.7	Vurdering af kosmetiske produkters sensibiliserende egenskaber	58
6.8	Risikovurdering af fødevareproteiner i kosmetiske produkter til børn	58
6.9	Konklusion og perspektiver	59
<b>7.</b>	<b>Referencer</b>	<b>61</b>

<b>Bilag 1. Validering: genfindingsforsøg</b>	<b>68</b>
Bilag 1.1 Genfindingsforsøg: Mælk ELISA assay	68
Bilag 1.2 Genfindingsforsøg: Mandel ELISA assay	69
Bilag 1.3 Genfindingsforsøg: Soja ELISA assay	70

# Forord

Denne rapport beskriver resultaterne af en undersøgelse af kosmetiske produkter, der indeholder ingredienser baseret på fødevarer, samt risikoen for forbrugerne for udvikling af fødevarerallergi ved brug af disse produkter. Databasen bag appen Kemiluppen fra Forbrugerrådet Tænk Kemi blev anvendt til kortlægning af kosmetiske produkter med fødevarerbaserede ingredienser på det danske marked. Derudover blev hjemmesider i EU og uden for EU screenet for denne type produkter. Produkter, der indeholdt ingredienser baseret på de fødevarer der hyppigst giver fødevarerallergi, blev identificeret. Med fokus på produkter til børn, blev der indkøbt produkter til analyse for mængden af fødevarerprotein. Med baggrund i den videnskabelige litteratur og i en undersøgelse af kosten hos små børn, blev der foretaget en vurdering af risikoen for udvikling af fødevarerallergi efter eksponering med fødevarerproteiner i kosmetiske produkter beregnet til børn.

Opgaven blev udført i perioden fra maj 2022 til april 2023 af Fødevarerinstitutionen, Danmarks Tekniske Universitet. Projektgruppen vil gerne takke Forbrugerrådet Tænk Kemi for at stille databasen bag Kemiluppen til rådighed for projektet. Firmaet Eurofins takkes for sparring i forbindelse med udarbejdelse af validerings- og analyseplan. Eurofins leverede ELISA assays til brug i projektet til en reduceret pris, men var ikke involveret i gennemførelse af analyser, dataanalyse eller fortolkning af data.

Projektet blev fulgt af:  
Camilla Maria Petersen, Miljøstyrelsen  
Nadine Heidi Nepper-Rasmussen, Miljøstyrelsen  
Stinne von Seelen Havn, Fødevarerstyrelsen  
Dagny Løvoll Warming, Fødevarerstyrelsen

# Sammenfatning

## Introduktion

Fødevarebaserede ingredienser finder bred anvendelse i produktionen af kosmetiske produkter. Flere studier har i de seneste par årtier indikeret, at udvikling af fødevareallergi kan ske igennem eksponering med fødevarer på huden. Det er derfor relevant at vurdere, om der er en risiko for forbrugerne for udvikling af fødevareallergi ved brug af kosmetiske produkter, der indeholder ingredienser baseret på fødevarer.

Normalt udvikler mennesker tolerance over for fødevarer når de spiser dem. Det sker hos små børn når de gradvist introduceres til nye fødevarer. Denne tolerance beskytter mod sensibilisering via huden. Udsættes man for en fødevare via huden før den orale tolerance er etableret, risikerer man at udvikle fødevareallergi. Risikoen er speciel høj når hudbarrieren ikke er intakt, som det ses ved atopisk eksem (børneeksem). Denne rapport fokuserer derfor på produkter rettet mod børn, samt produkter der forventes at blive brugt til børn med ikke-intakt hud.

## Kortlægning af kosmetiske produkter

Databasen bag appen Kemiluppen fra Forbrugerrådet Tænk Kemi, blev anvendt til kortlægning af kosmetiske produkter på det danske marked. Databasen blev gennemgået for identifikation af produkter med ingredienser baseret på fødevarer, der typisk giver anledning til fødevareallergi. I alt blev 3.741 kosmetiske produkter indeholdende fødevarebaserede ingredienser identificeret svarende til 27 % af de 13.845 produkter i databasen. Af disse indeholdte 28 % to eller flere ingredienser baseret på fødevarer. Ingredienserne kunne opdeles i fire kategorier: 1. Protein udvundet fra fødevaren, 2. Hele fødevaren (f.eks. mælk) eller en del af fødevaren (f.eks. kerner, skaller o. lign.), 3. Ekstrakter udvundet fra fødevaren og 4.olie eller fedt udvundet fra fødevaren.

Proteiningredienser er typisk fra mælk, kornsorter og soja. Ekstrakt-ingredienter er typisk produceret fra soja og kornsorter. Olie-ingredienter er typisk baseret på trænødder, soja, sesam og kornsorter. I alt blev 76 produkter rettet mod børn identificeret indeholdende ingredienser baseret på fødevarer, der typisk giver anledning til fødevareallergi.

Kosmetiske produkter med indhold af fødevareallergener markedsført til brug på sensitiv, inflammatorisk, beskadiget, kløende og/eller tør hud kan udgøre en risiko for børn med atopisk eksem. Der blev identificeret 154 produkter med fødevarebaserede ingredienser rettet mod specifikke hudtyper.

Derudover blev produkter tilgængelige på udenlandske webshops i og uden for EU undersøgt. Resultatet var sammenlignelige med de danske data fra Kemiluppen.

Det kan konkluderes at fødevarebaserede ingredienser finder bred anvendelse i kosmetiske produkter både i umodificeret og modificeret form. Kosmetiske produkter rettet mod børn og specifikke hudtyper indeholder især olier fra mandel eller soja. Derudover er der havre i mange produkter som hel-ingredient eller ekstrakt. Endeligt blev det fundet, at mælk i visse produkter tilsættes som proteiningrediens eller hel-ingredient.

## Konsum af allergene fødevarer hos børn

DTU Fødevareinstituttet har ud fra en kostundersøgelse fra 2014-15 undersøgt, hvornår danske børn blev introduceret til de forskellige fødevarer, der typisk giver anledning til fødevareallergi. Undersøgelsen omfattede to dele, et spørgeskema om introduktionstidspunkt for forskellige fødevarer hos børn i alderen 0-24 måneder og kostregistrering blandt børn i alderen 6-36 måneder. I kostregistreringen noterede forældre de fødevarer og drikkevarer barnet spiste og drak hver dag over en periode på én uge.

Kostregistreringen viste, at stort set alle børn i alderen 6-7 måneder (91 %) havde indtaget et mælkebaseret produkt. Andelen, der indtog fødevarer med hvede, var høj (>70 % brugere) i aldersgruppen 6-7 måneder stigende til nær 100 % ved 8-9 måneders alderen. Andelen der indtog havreholdige produkter var >80 % i aldersgruppen 6-7 måneder med en lidt faldende andel i ældre aldersgrupper. Andelen, der spiste æg, fisk eller skaldyr, var <50 % i aldersgruppen 6-7 måneder. Andelen steg i de ældre aldersgrupper, hvor andelen der spiste æg, nåede over 90 % i gruppen 10-11 måneder. Andelen, der spiste jordnødder, trænødder og sesam, var lav (<10 %) i aldersgruppen 6-7 måneder. Andelen stiger, men først omkring 12-måneders alderen er andelen >50 %.

Kostundersøgelsen påviser variation i introduktion og konsum af fødevarer, der typisk giver anledning til fødevarerallergi. Resultaterne indikerer tidlig introduktion af mælk og kornsorter (omkring 4-6-måneders alderen), efterfuldt af æg, fisk og skaldyr (omkring 6-9-måneders alderen) og derefter jordnødder, trænødder og sesam (1-2 års alderen).

## Analyse af fødevarerprotein i kosmetiske produkter

Kortlægningen fandt, at kosmetiske produkter rettet mod børn og specifikke hudtyper typisk indeholder ingredienser baseret på mandel, soja, havre, komælk, hvede og/eller macadamianødder (blandt de fødevarer der typisk giver anledning til fødevarerallergi). Baseret på kortlægningen blev det besluttet at fokusere på analyse af proteiner fra følgende fødevarer. 1. Komælk, der er den hyppigste årsag til fødevarerallergi hos børn, og som typisk anvendes som protein- eller helingrediens i kosmetiske produkter. 2. Mandel, da mandelolie finder hyppig anvendelse i kosmetiske produkter, og da enkelte produkter indeholder mandelekstrakt og 3. Soja, der typisk anvendes som protein-, ekstrakt- eller olie-ingrediens. Der blev indkøbt 19 produkter i danske butikker eller på webshops, mens hhv. 13 og 7 produkter blev indkøbt fra webshops i resten af EU og uden for EU.

Der findes flere kommercielt tilgængelige ELISA analysekits, der kan måle fødevarerproteiner i komplekse blandinger. De er validerede til brug på forskelligartede fødevarer, men ikke til analyse af fødevarerproteiner i kosmetiske produkter. Det var derfor nødvendigt at fortage en metodevalidering. I metodevalideringen tilsættes en kendt mængde mælk-, mandel- eller sojaprotein, således at det kan afgøres, om matricerne påvirker resultatet. Forsøgene viste at de specifikke kosmetikmatricer påvirker genfindingsgraden, detektionsgrænser og kvantificeringsgrænser.

Resultatet af de endelige analyser var, at alle 8 produkter analyseret for komælk havde målbare mængder protein fra 0,36-250 µg mælkeprotein/g produkt. Af de 23 produkter analyseret for mandelprotein havde ét produkt et tydeligt indhold af mandel (43 µg mandelprotein/g). De øvrige produkter indeholdt protein under eller tæt på ELISA'ens detektionsgrænse. Resultaterne for de 10 produkter analyseret for sojaprotein lå alle under eller tæt på ELISA'ens detektionsgrænse.

Overordnet kan ELISA metoden anvendes til bestemmelse af tilstedeværelsen af mælkeprotein, mandelprotein og sojaprotein i kosmetiske produkter, når proteinerne er til stede i tilstrækkelig mængde. De specifikke kosmetikmatricer påvirker genfindingsgraden, detektionsgrænser og kvantificeringsgrænser. Der er derfor en vis usikkerhed ved bestemmelse af proteinkoncentrationer i kosmetiske produkter.

## Risikovurdering

Sammenlignet med kontaktallergi over for kemikalier, er viden om sensibilisering over for fødevarerproteiner via huden begrænset. For kemikalier vides, at den enhed der skal bruges i risikovurderinger, er koncentration pr. arealenhed, da der skal være en vis koncentration af stoffet til stede for at udløse en sensibilisering. Det antages, at dette også gælder for proteiner.

### *Protein kan sensibilisere via huden hos mennesker*

Der er to velbeskrevne sammenhænge mellem eksponering for fødevarerallergener på huden og fødevarerallergi. Den ene hos små børn (jordnødder) og den anden hos voksne (syrehydrolyseret gluten).

Børnene, der havde atopisk eksem og ikke var tolerante overfor jordnødder, er sandsynligvis blevet sensibiliseret af lave doser jordnøddeprotein i cremer med jordnøddeolie og både hudens



tilstand og den manglende orale tolerance har været af afgørende betydning. Der kan ikke ud fra undersøgelserne udledes data om sammenhængen mellem dosis af jordnøddeprotein, hyppighed og varighed af eksponering og risikoen for sensibilisering. Resultater fra undersøgelser af proteinindholdet i jordnøddeolie varierer fra 0,1-10,7 µg/g. Disse data kan desværre ikke knyttes til de kliniske studier.

Sammenhængen, at hudsensibilisering kan lede til fødevareallergi, hvis der ikke er etableret oral tolerance, er blevet formuleret som "the dual allergen exposure hypothesis" som antages at gælde for fødevareallergener generelt.

Studier af hudeksponering med syrehydrolyseret gluten kommer især fra anvendelse af en ansigtssæbe i Japan, hvor et stort antal mennesker udviklede fødevareallergi over for gluten. Her drejer det sig om voksne, der må antages at have været tolerante over for hvede og dermed gluten. Det er ikke muligt at udregne en eksakt dosis/arealenhed, men indholdet af syrehydrolyseret gluten i sæben antyder en eksponeringsdosis der kan være 1000 gange højere end den eksponering med protein fra jordnød, der har sensibiliseret små børn med eksem. Dette peger på, at der skal en højere dosis til at bryde en i forvejen etableret tolerance. Derudover spiller de nye epitoper dannet efter syrehydrolyse også en rolle.

### *Protein kan sensibilisere via huden hos dyr*

Der er mange studier, især i mus, der undersøger, hvilke forhold der er afgørende for sensibilisering for fødevareproteiner over huden. Det er kun nogle af disse studier der har oplysninger om dosis/areal. Heraf er der kun tre studier med dosis-respons data med lave doser, alle udført i dyr der ikke er tolerante i forhold til de allergener der undersøges. Det drejer sig om følgende studier med 1. OVA fra hønseæg, 2. Valleprotein og hydrolysater af valleprotein fra komælk og 3. Gluten og modificerede former for gluten. 1. og 2. er foretaget med langvarig okklusion, der medfører forandringer i huden der ligner atopisk eksem. I 3. er forandringerne i huden lette. I dette studie er den effektive doseringsperiode én time 3x om ugen i 5 uger efterfulgt af stimulation af immunsystemet i mavetarmkanalen.

Selvom forsøgene er udført forskelligt og stofferne er forskellige, ser det ud til at LOAEL er i samme størrelsesorden nemlig under 10 µg/cm<sup>2</sup>.

### *Eksponering baseret på analysedata*

Eksponeringsvurderingerne er baseret på analyserne for mælkeprotein for tre sæber, tre cremer og en shampoo og det enkle fund af mandelprotein i en creme. Cremerne er alle bodylotions målrettet babyer eller mennesker med sensitiv, inflammert, beskadiget, kløende og/eller tør hud. Det formodes at de udvalgte cremer anvendes på hele kroppen, inkl. i bleområdene, hvor huden er okkluderet og kan være beskadiget. Alle eksponeringsscenerier er udregnet for et barn i 4-månedersalderen, hvor sandsynligheden for manglende oral tolerance er størst.

De højeste eksponeringer fås fra bodylotion. Anvendes bodylotion med mandelolie indeholdende 43,07 µg mandelprotein/g 2 gange dagligt giver det en dosis på 0,025 µg mandelprotein/cm<sup>2</sup>.

Udregnes et scenarie for et barn på 4,5 måneder som får påført sæbe med den højeste koncentration af mælkeprotein (250,54 µg/g) over hele kroppen efterfulgt af creme med den højest målte koncentration af mælkeprotein (121,71 µg/g) over hele kroppen, giver det en eksponering fra sæbe på 0,003 µg/cm<sup>2</sup> og fra creme på 0,072 µg/cm<sup>2</sup>, hvilket i alt giver 0,075 µg mælkeprotein/cm<sup>2</sup>. Udregnes et 'worst case' scenarie for creme, som udelukkende benyttes i bleområdene, og benyttes cremen med den højeste koncentration af mælkeprotein (121,71 µg /cm<sup>2</sup>), bliver dosis 0,346 µg mælkeprotein/cm<sup>2</sup>.

### *Risikovurdering af fødevareproteiner i kosmetiske produkter til børn*

Der er risiko for sensibilisering over huden med fødevareproteiner blandt børn med atopisk eksem, hvor den orale tolerance ikke er blevet etableret. Det er ikke muligt, på baggrund af data fra humane studier eller fra dyrestudier, at fastsætte hvilke doser (µg protein/cm<sup>2</sup>) der sensibiliserer.

Forsigtighedsprincippet tilsiger derfor at fødevareproteiner eller fødevareproteinrige ingredienser (fx mælkepulver) ikke bør tilsættes til kosmetiske produkter til børn i en alder hvor det ikke forventes at der er etableret oral tolerance over for proteinerne. Den orale tolerance etableres, når børnene introduceres til fødevarerne typisk i løbet af de to første leveår.

Studier i dyr underbygger betydningen af den beskyttende effekt af oral tolerance. De viser også at fødevareproteiner kan sensibilisere over huden i lave doser, ned til omkring 1 µg protein/cm<sup>2</sup>.

### *Konklusion og perspektiv*

Den tilgængelige viden tillader ikke at fastsætte grænser for mængden af fødevareprotein der ikke kan sensibilisere små børn.

Fra dyrestudier vides det, at hudens tilstand og doseringens længde er af betydning for sensibilisering, men der mangler viden om disse parametres indflydelse på den dosis der sensibiliserer. Derudover mangler der viden om forholdet mellem allergenernes potens og den dosis der sensibiliserer.

Der er stor fokus på udvikling af alternative proteinkilder til human ernæring, såkaldte nye fødevarer (novel food). Det bør overvejes om disse fødevarer skal anvendes i kosmetiske produkter før de introduceres som fødevare, da det er vigtigt at der er etableret oral tolerance før den humane population eksponeres for nye proteiner via huden.

# English summary

## Introduction

Food-based ingredients are widely used in the production of cosmetic products. Several studies conducted over the past few decades have indicated that food allergy may be developed through skin exposure to foods. It is thus relevant to assess whether the use of cosmetic products containing food-based ingredients poses a risk to consumers of developing food allergy.

People normally develop tolerance to foods when they eat them. This occurs in young children when they are gradually introduced to new foods. The tolerance protects against sensitization via the skin. If you are exposed to a food via the skin before oral tolerance has been established, you risk developing food allergy. The risk is particularly high when the skin barrier is not intact, as seen in atopic dermatitis (infantile eczema). This report therefore focuses on products aimed at children and products aimed at specific skin types.

## Mapping of cosmetic products

The database behind the Kemiluppen app from the Danish Consumer Council was used to map cosmetic products in the Danish market. The database was reviewed for identification of products with food-based ingredients that typically cause food allergy. A total of 3,741 cosmetic products containing food-based ingredients were identified, corresponding to 27 per cent of the 13,845 products in the database. Of these, 28 per cent contained two or more food-based ingredients. The ingredients could be divided into four categories: 1. Protein extracted from the food, 2. The whole food (e.g. milk) or part of the food (e.g. seeds, shells, or the like), 3. Extracts extracted from the food and 4. Oil or fat extracted from the food.

Protein ingredients typically come from milk, cereals, and soy. Extract ingredients are typically produced from soy and cereals. Oil ingredients are typically based on tree nuts, soy, sesame, and cereals. In total, 76 products aimed at children were identified as containing food-based ingredients that typically cause food allergy.

Cosmetic products containing food allergens marketed for use on sensitive, inflamed, damaged, itchy, and dry skin pose a specific risk to children with atopic dermatitis. 154 products containing food-based ingredients and aimed at specific skin types were identified.

In addition, products available from non-Danish webshops in and outside the EU were examined. The results were comparable to the Danish data from Kemiluppen.

It can be concluded that food-based ingredients are widely used in cosmetic products in both unmodified form and modified form. Cosmetic products aimed at children and specific skin types contained oils from almond or soy, in particular. In addition, there were oats in many products as a whole ingredient or an extract. Finally, it was found that milk in certain products is added as a protein ingredient or whole ingredient.

## Consumption of allergenic foods in children

Based on a dietary survey from 2014-15, DTU Food has examined when Danish children were introduced to the various foods that typically cause food allergy. The survey comprised two parts: a questionnaire on the time of introduction of different foods in children aged 0-24 months and diet registration among children aged 6-36 months. In the diet registration, the parents noted the foods and beverages their child ate and drank each day over a period of one week.

The diet registration showed that virtually all children aged 6-7 months (91 per cent) had consumed a milk-based product. The proportion consuming foods with wheat was high (>70 per cent users) in the group aged 6-7 months, increasing to nearly 100 per cent at 8-9 months of age. The proportion consuming oat-containing products was >80 per cent in the group aged 6-7 months, with a slightly declining proportion in older age groups. The proportion who ate eggs,

fish, or shellfish was <50 per cent in the group aged 6-7 months. The proportion increased in the older age groups, where the proportion who ate eggs reached more than 90 per cent in the group aged 10-11 months. The proportion who ate peanuts, tree nuts, and sesame was low (<10 per cent) in the group aged 6-7 months. The proportion increases, but only reaches >50 per cent around the age of 12 months.

The dietary survey shows variation in the introduction and consumption of foods that typically cause food allergy. The results indicate early introduction of milk and cereals (around 4-6 months of age), followed by eggs, fish, and shellfish (around 6-9 months of age), and then peanuts, tree nuts, and sesame (1-2 years of age).

## **Analysis of food protein in cosmetic products**

It was found in connection with the mapping that cosmetic products aimed at children and specific skin types typically contain ingredients based on almond, soy, oats, cow's milk, wheat, and/or macadamia nuts (among the foods that typically cause food allergy). Based on the mapping, it was decided to focus on analysis of proteins from the following foods: 1. Cow's milk, which most frequently causes food allergies in children and is typically used as a protein or whole ingredient in cosmetic products. 2. Almond, as almond oil finds frequent use in cosmetic products and as individual products contain almond extract, and 3. Soy, which is typically used as protein, extract, or oil ingredient. 19 products were purchased from Danish stores or webshops, while 13 and 7 products, respectively, were purchased from webshops in the rest of the EU and outside the EU.

There are several commercially available ELISA analysis kits that can measure food proteins in complex mixtures. They are validated for use in a diverse range of foods, but not for analysis of food proteins in cosmetic products. Performance of a method validation was therefore necessary. In the method validation, a known quantity of milk, almond, or soy protein is added to determine whether the matrices affect the result. The trials showed that the specific cosmetic matrices affect the recovery rate, limits of detection, and limits of quantification.

The result of the final analyses was that all eight products analysed for cow's milk had measurable quantities of protein from 0.36-250 µg milk protein/g product. Of the 23 products analysed for almond protein, one product had a clear almond content (43 µg almond protein/g). The other products contained protein below or close to the ELISA limit of detection. The results for the 10 products analysed for soy protein were all below or close to the ELISA limit of detection.

Overall, the ELISA method can be used to determine the presence of milk protein, almond protein, and soy protein in cosmetic products when the proteins are present in a sufficient quantity. The specific cosmetic matrices affect the recovery rate, limits of detection, and limits of quantification. There is therefore some uncertainty in determining protein concentrations in cosmetic products.

## **Risk assessment**

Compared to contact allergy to chemicals, there is limited knowledge about sensitization to food proteins via the skin. For chemicals, it is known that the unit to be used in risk assessments is dose per unit area, as a certain concentration of the substance must be present to trigger sensitization. It is assumed that this also applies to proteins.

### *Protein can sensitize via human skin*

There are two well-described associations between skin exposure to food allergens and food allergy. One in young children (peanuts) and the other in adults (acid hydrolysis of gluten).

The children who had atopic dermatitis and were not tolerant to peanuts have probably been sensitized through low doses of peanut protein, and both the condition of the skin and the lack of oral tolerance have been of decisive importance. Data on the correlation between the dose of peanut protein, frequency, and duration of exposure and the risk of sensitization cannot be derived from the studies. Results from studies on the protein content in peanut oil range from 0.1-10.7 µg/g. Unfortunately, these data cannot be linked to the clinical studies.

The correlation—that skin sensitization can lead to food allergies if oral tolerance has not been established—has been formulated as “the dual allergen exposure hypothesis”, which is assumed to apply to food allergens in general.

Studies of skin exposure to acid hydrolyzed gluten come mainly from the use of a facial soap in Japan, where a large number of people developed food allergy to gluten. These are adults who must be assumed to have been tolerant to wheat and thus gluten. It is not possible to calculate an exact dose/area exposure, but the content of acid hydrolyzed gluten in the soap suggests an exposure dose that may be 1,000 times higher than the exposure to peanut protein that has sensitized young children with eczema. This suggests that a higher dose is needed to break a previously established tolerance. In addition, the new epitopes formed after acid hydrolysis also play a role.

#### *Protein may sensitize via the skin in animals*

There are many studies—especially in mice—that examine which conditions are crucial to skin sensitization with food proteins. Only some of these studies contain data on dose/area. Of these, there are only three studies containing dose response data with low doses, all conducted in animals without tolerance to the allergens being studied. This concerns the following studies with 1. Ovalbumin (OVA) from chicken eggs, 2. Whey protein and whey protein hydrolysates from cow's milk, and 3. Gluten and modified forms of gluten. 1. and 2. have been conducted with prolonged occlusion, which causes skin changes similar to atopic dermatitis. In 3., the skin changes are minor. In this study, the effective dosage period is 1 hour 3 times per week for 5 weeks, followed by stimulation of the immune system in the gastrointestinal tract.

Although the trials have been conducted differently and the substances are different, it seems that lowest effect level (LOAEL) is of the same magnitude, that is less than 10 µg/cm<sup>2</sup>.

#### *Exposure based on analysis data*

The exposure assessments are based on milk protein analyses for three soaps, three creams, and a shampoo, and the single finding of almond protein in one cream. The creams are all body lotions for babies or people with dry skin/atopic dermatitis. It is assumed that the selected creams are applied to the whole body, including in the diaper area, where the skin is occluded and may be damaged. All exposure scenarios have been calculated for a 4-month-old baby, where the likelihood of a lack of oral tolerance is greatest.

The highest exposures are obtained from body lotion. If body lotion with almond oil containing 43.07 µg almond protein/g is used twice a day, this gives a dose of 0.025 µg almond protein/cm<sup>2</sup>. If a whole body scenario is calculated for a 4.5-month-old baby to whom soap is applied with the highest concentration of milk protein (250.54 µg/g) all over the body followed by a cream with the highest measured concentration of milk protein (121.71 µg/g) all over the body, this gives an exposure from soap of 0.003 µg/cm<sup>2</sup> and from cream of 0.072 µg/cm<sup>2</sup>, totalling 0.075 µg milk protein/cm<sup>2</sup>. If a worst-case scenario is calculated for cream used solely in the diaper area and using the cream with the highest concentration of milk protein (121.71 µg /cm<sup>2</sup>), the dose will be 0.346 µg milk protein/cm<sup>2</sup>.

#### *Risk assessment of food proteins in cosmetic products for children*

Among children with atopic dermatitis there is a risk of skin sensitization to food proteins, where oral tolerance has not been established. On the basis of data from human studies or from animal studies, it is not possible to determine which doses (µg protein/cm<sup>2</sup>) cause sensitization.

The precautionary principle therefore warrants that food proteins or food protein-rich ingredients (e.g. milk powder) should not be added to cosmetic products for children having an age where oral tolerance to the proteins cannot be expected. The oral tolerance is established when the children are introduced to the foods, typically during the first two years of their life.

Studies in animals support the importance of the protective effect of oral tolerance. They also show that food proteins may cause skin sensitization in low doses, down to about 1 µg protein/cm<sup>2</sup>.

### *Conclusion and perspective*

The available knowledge does not allow limits to be set for the quantity of food protein that cannot sensitize young children.

Knowledge from animal studies show that the condition of the skin and the duration of the exposure are of importance to sensitization, but there is a lack of knowledge about the influence of these parameters on the sensitizing dose. There is also a lack of knowledge about the correlation between the potency of the allergens and the dose that causes sensitization.

There is high focus on the development of alternative protein sources for human nutrition, so-called novel foods. It should be considered, if these foods should be used in cosmetic products, before being introduced as food, as it is important that oral tolerance is established before the human population is exposed to new proteins via the skin.

# 1. Introduktion

## 1.1 Anvendelse af fødevarer baserede ingredienser i kosmetiske produkter

Fødevarer baserede ingredienser finder bred anvendelse i produktionen af kosmetiske produkter. Ingredienserne kan anvendes med det formål at give produkterne bestemte fysisk-kemiske egenskaber, såsom en cremet konsistens samt skummende eller emulgerende effekter (Day et al 2006, Wu et al 1976). Derudover har visse fødevarer baserede ingredienser anti-inflammatoriske, anti-oxiderende eller andre ønskværdige biologiske egenskaber, der formodes at give de kosmetiske produkter sundhedsfremmende kvaliteter (Dini og Laneri 2021). Endeligt kan det være et ønske fra virksomhederne at tilsætte disse ingredienser til deres produkt med henblik på at markedsføre produkterne som værende "naturlige", "økologiske", "veganske", "bæredygtige" eller lignende (Dini og Laneri 2021).

En tidligere undersøgelse har afdækket brugen af naturlige ingredienser i kosmetiske produkter, der er tilgængelige i den danske detailhandel (Bruusgaard-Mouritsen et al 2020). I undersøgelsen blev "naturlige ingredienser" defineret som ingredienser afledt fra planter og dyr. Denne undersøgelse viste, at mange kosmetiske produkter indeholder ingredienser fremstillet af fødevarer, der kan give anledning til fødevarer allergi. Derudover afdækkede undersøgelsen, at flere af disse fødevarer er brugt i kosmetiske produkter, der har givet allergiske reaktioner hos nogle forbrugere. Flere studier har i de seneste par årtier indikeret, at udvikling af fødevarer allergi kan ske igennem eksponering for fødevarer på huden (Brough et al 2020). Det er derfor relevant at vurdere, om der er en risiko for forbrugerne for udvikling af fødevarer allergi ved brug af kosmetiske produkter, der indeholder ingredienser baseret på fødevarer.

## 1.2 Fødevarer allergi

Fødevarer allergi er en allergisk reaktion mod normalvis harmløse proteiner (allergener) i fødevarer. Allergiske individer, der kommer i kontakt med den fødevarer, de er allergiske overfor, kan udvikle en række symptomer, herunder reaktioner i huden (udslæt og angioødem) og mave-tarmkanalen (smerter, opkast og diarré) (Longo et al 2013). I svære tilfælde kan disse individer udvikle livstruende anafylaksi med påvirkning af lunge- og kredsløbsfunktionen. Fødevarer allergi er hyppigst medieret af allergenspecifikt IgE antistof, der binder sig til mastceller (celle i immunforsvaret) i slimhinder og hud (Yu et al 2016). Her vil eksponering for allergener aktivere mastcellerne med allergisk vævsinflammation og symptomer til følge. Der findes på nuværende tidspunkt ingen kurativ behandling af fødevarer allergi, hvorfor allergiske individer må undgå eksponering til allergener og nøjes med symptombehandling ved utilsigtet eksponering.

## 1.3 Allergene fødevarer

Principielt kan enhver fødevarer give fødevarer allergi, da immunforsvaret potentielt kan genkende alle fødevarer proteiner som et fremmed protein kommende udefra og ind i kroppen. Imidlertid er det primært visse fødevarer, der typisk giver anledning til fødevarer allergi. Dette skyldes formentlig, at de fødevarer proteiner, der giver anledning til allergi, har specifikke fysisk-kemiske egenskaber, der stimulerer immunforsvaret til udvikling af allergi (Bannon 2004). Nogle fødevarer proteiner har et højt potentiale for at lede til udvikling af fødevarer allergi og har derfor såkaldt 'høj allergenicitet'. Det er blevet foreslået, at fødevarer allergener typisk er små, varmestabile og svært nedbrydelige proteiner (Monaci et al 2020). Disse egenskaber formodes at mindske allergenbrydningen i mave-tarmkanalen og dermed øge risikoen for en allergisk reaktion. Udover høj allergenicitet skal 'allergene' fødevarer konsumeres i en mængde og et omfang, der medfører allergiudvikling i befolkningen. F.eks. vil en høj-allergen fødevarer, der ikke konsumeres, ikke være et klinisk problem, hvorimod der ved en fødevarer med ukendt allergenicitet, såsom novel

foods, der ikke tidligere er blevet spist af befolkningen, vil være en ukendt risiko for udvikling af fødevareallergi. EU-forordning 1169/2011 bilag II angiver de fødevarer, der hyppigst giver anledning til allergi og svære allergiske reaktioner (TABEL 1). Produkter indeholdende disse fødevarer, eller elementer herfra, kræver fremhævet mærkning ved salg til konsum i EU, så allergiske individer kan udgå allergener fra disse fødevarer.

**TABEL 1.** Mest allergene fødevarer jf. EU-forordning 1169/2011 bilag II

<b>Fødevarer</b>
Mælk
Æg
Kornsorter
- Hvede
- Rug
- Byg
- Havre
Jordnødder
Soja
Lupin
Trænødder
- Mandler
- Hasselnødder
- Valnødder
- Cashewnødder
- Pekannødder
- Paranødder
- Pistacie
- Macadamianødder
- Queensland nødder
Sesam
Sennep
Selleri
Fisk
Skaldyr
Bløddyr

## 1.4 Hyppigheden af fødevareallergi

Hyppigheden (prævalensen) af fødevareallergi er afhængig af demografiske parametre såsom geografisk region og alder. Blandt landene i Europa er prævalensen af fødevareallergi hos børn imellem 1,9 %-5,6 % (Lyons et al 2020) og hos voksne imellem 0,3 %-5,6 % (Lyons et al 2018). Derudover er der variation i forhold til, hvilke fødevarer der primært giver anledning til allergi hos børn og voksne. Iblandt børn i Europa er allergi over for mælk og æg mest udbredt, hvorimod allergi over for fisk, skaldyr, hasselnødder og visse frugter er mest udbredt blandt voksne. Internationale studier tyder på, at prævalensen af fødevareallergi har været stigende i den vestlige verden i de sidste årtier (Sichrer og Sampson 2018). Antallet af behandlingskrævende fødevarerinduceret anafylaksi er ligeledes stigende (Pouessel et al 2018) Derudover er fødevarer den hyppigste årsag til anafylaksi iblandt børn (Yu og Lin 2018). Både individer med fødevareallergi og pårørende oplever nedsat livskvalitet på grund af sygdommen (Greenhawt 2016).



## 1.5 Udvikling af fødevareallergi

Udvikling af fødevareallergi (sensibilisering) er svært at undersøge i mennesker, da allergi af etiske årsager naturligvis ikke kan induceres i raske individer. Derfor spiller dyremodeller en central rolle for forståelsen af de sensibiliserende mekanismer. Traditionelt har undersøgelser af allergiudvikling fokuseret på sensibilisering via den orale vej (Kanagaratham et al 2018, Li et al 1999). Dette skyldes formentlig, at oralt indtag er den naturlige eksponeringsvej for fødevarer, og de fleste fødevareinducerede allergiske reaktioner sker efter oralt indtag. Imidlertid har flere epidemiologiske studier i mennesker de seneste par årtier indikeret, at udvikling af fødevareallergi kan ske igennem eksponering for fødevarer på huden (Brough et al 2020). Et af de første studier fandt en sammenhæng mellem brug af hudcremer med jordnøddolie og udvikling af jordnøddeallergi hos børn med eksem (Lack et al 2003). Efterfølgende studier fandt, at miljømæssig eksponering til jordnødder er en risikofaktor for udvikling af jordnøddeallergi, især hos børn med eksem og nedsat hudbarrierefunktion (Fox et al 2009, Brough et al 2014, 2015). Flere eksperimentelle studier har vist, at fødevarer kan sensibilisere igennem huden i dyremodeller for eksem (Hussain et al 2018, Noti et al 2014, Ballegaard et al 2021). Men eksperimentelle studier viser også, at eksem ikke er nødvendig for sensibilisering overfor visse fødevarer via huden (Tordesillas 2014, Larsen et al 2022). Den underliggende immunologiske mekanisme involverer antigenpræsenterende celler, der optager fødevareallergenet i huden, hvorefter disse celler migrerer til drænerende lymfeknuder og initierer et T-celle-medieret type-2 immunrespons (Brough et al 2020). De aktiverede T-celler stimulerer B-celler, der differentierer til IgE-producerende plasmaceller. Et studie har for nyligt vist, at antigenpræsenterende celler i huden hos mennesker har specifikke egenskaber, der promoverer sensibilisering (Mayer et al 2021). Til sammen understøtter disse studier, at sensibilisering via huden spiller en rolle i udvikling af fødevareallergi hos mennesker. Men det er uvist i hvilken udstrækning, at sensibilisering via den orale eksponeringsvej også spiller en rolle, og om der er forskel i sensibiliseringsvej imellem forskellige fødevarer. Derudover er det uvist, hvor meget hudens tilstand betyder for sensibilisering for forskellige fødevarer (f.eks. tilstedeværelse af eksem, fysiske skader, inflammationstilstande og nedsat hudbarrierefunktion). Endeligt er det uvist i hvilket omfang, at miljømæssig eksponering for fødevarer via luftvejene kan bidrage til udvikling af fødevareallergi (Kulis et al 2021). Til trods for disse ubekendte, må det antages, at huden spiller en central rolle i udvikling af fødevareallergi, især hos individer med eksem og nedsat hudbarrierefunktion.

## 1.6 Tolerance over for fødevarer

Under normale omstændigheder er kroppens reaktion på indtag af fødevarer udvikling af oral tolerance, der er en aktiv immunologisk proces (Tordesillas 2018). Den udviklede tolerance er specifik over for de proteiner, der er til stede i den indtagne fødevare. Dvs. der opnås kun tolerance over for de fødevarer, der spises. På trods af at denne viden har været tilgængelige i årtier, har der været varierende anbefalinger ift. introduktion af allergene fødevarer hos børn. Tidligere kliniske guidelines fokuserede på forebyggelse af fødevareallergi ved sen introduktion af allergene fødevarer (12-36-månedersalderen) – den såkaldte 'allergen avoidance' strategi (Zieger 2003). Imidlertid har nyere kliniske studier vist, at tidlig introduktion (3-4-månedersalderen) af jordnødder og æg beskytter mod udvikling af hhv. jordnøddeallergi og æggeallergi (Du Toit et al 2015, Perkin et al 2016). På baggrund af disse studier anbefaler de seneste guidelines fra European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI) introduktion af jordnødder og æg i alderen 4-6 måneder (Halken et al 2021). Tidlig introduktion af allergene fødevarer til forebyggelse af fødevareallergi hos børn underbygger den såkaldte 'dual allergen exposure'-hypotese. Denne hypotese siger, at hvis oralt indtag sker før eksponering via huden udvikles oral tolerance – hvorimod der sker udvikling af allergi, hvis eksponering sker på huden først (Kulis et al 2021). Hypotesen støttes yderligere af eksperimentelle studier i dyr, der viser, at oral tolerance beskytter mod sensibilisering for fødevarer via huden (Ballegaard et al 2021, Larsen et al 2022). Det kan derfor antages, at risikoen for udvikling af fødevareallergi via miljømæssig eksponering for fødevarer på huden er størst hos børn, der endnu ikke er blevet introduceret for den givne fødevare via kosten. Dog skal det påpeges, at en sæbe indeholdende hydrolyseret

hvede var årsag til flere tilfælde af hvedeallergi hos voksne, der formodes at have været tolerante overfor hvede inden brug af den pågældende sæbe (Yagami et al 2017).

## 2. Formål

Et tidligere studie har fundet, at fødevarebaserede ingredienser anvendes i kosmetiske produkter tilgængelige i dansk detailhandel. Den seneste forskning har vist, at udvikling af fødevareallergi kan ske igennem huden ved eksponering for fødevareproteiner. Det er derfor relevant at vurdere, om der er en risiko for udvikling af fødevareallergi hos forbrugerne efter brug af kosmetiske produkter, der indeholder fødevareproteiner. Det overordnede formål med dette projekt er at opbygge viden om anvendelsen af fødevareproteiner i kosmetiske produkter. Markedet kortlægges for kosmetiske produkter med fødevarebaserede ingredienser, som er tilgængelige for danske forbrugere i almindelig detailhandel samt via køb på internettet i webshops i og uden for EU. Da alder for introduktion af fødevarer i barndommen påvirker risikoen for udviklingen af fødevareallergi, undersøges mønsteret af fødevareintroduktion hos børn igennem analyse af data fra dansk kostundersøgelse. Baseret på kortlægningen udvælges et antal produkter, der markedsføres til børn og/eller til en bestemt hudtype, til analyse af proteinindhold ved brug af ELISA metoden, og analysemetoden valideres til dette formål. Slutteligt undersøges det igennem litteraturstudier, om der kan foretages en risikovurdering af kosmetiske produkter indeholdende fødevareprotein ift. udvikling af allergi hos forbrugere, der ikke tidligere har været eksponeret for de pågældende fødevareproteiner via kosten.

# 3. Kortlægning af kosmetiske produkter

Denne kortlægning afdækker i hvilket omfang kosmetiske produkter med fødevarebaserede ingredienser er tilgængelige for danske forbrugere i almindelig detailhandel og via køb på internettet. Med fokus på de fødevarer, der er blandt de mest hyppige årsager til fødevareallergi, undersøges anvendelse af forskellige typer af fødevarebaserede ingredienser (herunder protein, ekstrakter, olier m.v.), samt i hvilken udstrækning ingredienserne anvendes efter kemisk modifikation. Yderligere vurderes det, i hvilket omfang de forskellige typer af ingredienser indeholder fødevareprotein, da det er protein fra fødevarer, der giver anledning til allergi.

## 3.1 Brug af fødevarer i kosmetiske produkter på det danske marked

### 3.1.1 Baggrund og metode

Databasen bag appen Kemiluppen blev anvendt til kortlægning af kosmetiske produkter på det danske marked. Databasen er etableret og vedligeholdt af Forbrugerrådet Tænk Kemi. Via Kemiluppen kan forbrugere indsende billeder af kosmetiske produkter, som de finder i detailhandlen. Forbrugerrådet Tænk Kemi indsamler herefter information om produktets ingredienser og angiver, hvorvidt produktet indeholder kontaktallergener (type IV allergi), mistænkte hormonforstyrrende stoffer, miljøbelastende stoffer m.v. Efterfølgende bliver informationen tilgængelig for forbrugerne via appen. I nærværende analyse anvendes databasen bag Kemiluppen fra april 2022 indeholdende information om 13.845 produkter. Grundet det store antal produkter i databasen antages det, at produkterne i databasen er et repræsentativt udsnit af kosmetiske produkter tilgængelige på det danske marked. Der kan dog være bias ift. hvilke typer af produkter, der typisk scannes, hvad forbrugernes bevæggrunde er for at scanne produkterne mv. Det antages, at produkterne i Kemiluppen udgør de mest tilgængelige kosmetiske produkter på markedet, da det formodes, at det er dem, som forbrugerne oftest finder i detailhandlen. Det må derudover forventes, at produkterne i stor udstrækning er tilgængelige for danske forbrugere på nettet, da de fleste danske detailkæder har tilknyttede webshops.

### 3.1.2 Identifikation af ingredienser baseret på fødevarer

I alt blev 13.845 kosmetiske produkter i Kemiluppen-databasen gennemgået for ingredienser, der er udvundet fra de fødevarer, der hyppigst giver anledning til fødevareallergi (se fødevarer i tabel 1). Informationer fra CoSIng-databasen (European Commission database for information on Cosmetic Substances and Ingredients) og SpecialChem-databasen (specialchem.com) blev anvendt til klassifikation af ingredienser. Overordnet kunne ingredienserne opdeles i følgende typer:

- **Protein:** Protein udvundet fra fødevarer
- **Hel:** Hele fødevarer (f.eks. mælk) eller en del af fødevarer (f.eks. kerner, skaller o. lign.)
- **Ekstrakt:** Ekstrakter udvundet fra fødevarer
- **Olie:** Olie eller fedt udvundet fra fødevarer

Ingredienser baseret på protein fra fødevarer må antages at indeholde fødevareallergener, hvis proteinet er udvundet fra den del af fødevarer, der typisk konsumeres (mælk, kerner, nød o. lign.).

Overordnet må det antages, at hel-ingredientstypen typisk vil indeholde protein fra fødevarer. Denne type ingredienser baseret på f.eks. mælk, kerner eller nødder må ligeledes antages at

indeholde fødevareallergener, men det er ukendt om ingredienser baseret på dele af fødevaren, der typisk ikke konsumeres (f.eks. skaller, blomster og strå) indeholder fødevareallergener.

Det vides ikke, om ingredienser, der er ekstrakter af en fødevare, indeholder protein eller fødevareallergener, da det typisk ikke er specificeret, hvordan ekstraktet er produceret eller evt. yderligere behandlet. Det antages dog, at der typisk vil være tale om vandige ekstrakter, hvorfor ekstraktet må antages at indeholde vandopløselige fødevareallergener, hvis ekstraktet er produceret fra den del af fødevaren, der typisk konsumeres (kerner, nød o. lign).

Det er ukendt, om ingredienser, der er olie eller fedt udvundet fra fødevarer, indeholder protein eller fødevareallergener. Det må dog antages at være i meget små mængder sammenlignet med proteiningredienser, ekstrakter og hel-ingredientstypen. Dog er det tidligere fundet, at brug af cremer der indeholdt jordnøddeolie øger risikoen for udvikling af jordnøddeallergi hos børn [18]. Dette indikerer, at selv meget små mængder protein kan lede til udvikling af fødevareallergi via huden.

Overstående fund understreger, at en risikovurdering af kosmetiske produkter indeholdende ingredienser fra fødevarer må tage højde for typen af ingrediens og fra hvilken del af fødevaren, ingrediensen er fremstillet. Det er yderligere nødvendigt at måle indholdet af fødevareallergen i produktet og/eller den anvendte ingrediens, da der formodes at være stor variation i proteinindhold imellem de forskellige typer af ingredienser.

### 3.1.3 Identifikation af kosmetiske produkter med ingredienser baseret på fødevarer

Kemiluppen-databasen blev gennemgået for identifikation af produkter med ingredienser baseret på fødevarer, der typisk giver anledning til fødevareallergi (se fødevarer i tabel 1). I alt blev 3.741 (27 % af total 13.845 produkter i databasen) kosmetiske produkter identificeret, og mere end 28 % af disse produkter indeholdt 2 eller flere ingredienser baseret på fødevarer. TABEL 2 viser antallet af kosmetiske produkter fordelt på fødevare og type af ingrediens.

Det blev fundet, at proteiningredienser typisk er fra mælk, kornsorter og soja. Hel-ingredientstypen er typisk fra mælk og kornsorter. Ekstrakt-ingredientier er typisk produceret fra soja og kornsorter. Olie-ingredientier er typisk baseret på trænødder, soja, sesam og kornsorter.

Overstående resultater viser, at der er variation i hvilke fødevarer, der typisk danner basis for de forskellige fødevarebaserede ingrediens typer brugt i kosmetiske produkter.

**TABEL 2.** Antal kosmetiske produkter i Kemiluppen-databasen indeholdende ingredienser fra fødevarer.

Fødevare	Protein	Hel	Ekstrakt	Olie
Mælk	166	105	3	3
Æg	0	2	0	0
Kornsorter				
- Hvede	578	19	215	136
- Havre	40	44	178	50
- Byg	0	0	91	0
- Ryg	0	0	7	0
Soja	240	5	760	745

Jordnød	0	0	0	36
<b>Trænødder</b>				
- Mandel	6	9	87	962
- Paranød	0	0	0	21
- Cashewnød	0	0	1	0
- Hasselnød	4	0	0	30
- Macadamianød	0	0	0	153
- Pekannød	0	1	0	0
- Queensland nød	0	1	3	263
- Valnød	0	36	3	2
Sesam	1	2	8	173
Selleri	0	0	4	0
Lupin	7	0	2	0
Sennep	0	0	2	0
Skaldyr	0	0	17	0
Fisk	0	0	6	1

### 3.1.4 Identifikation af modificerede fødevarer baserede ingredienser i kosmetiske produkter

Fødevarer baserede ingredienser til brug i kosmetiske produkter kan modificeres for at give det endelige produkt bestemte egenskaber. Derudover kan hydrolyse og/eller kemisk modificering af proteiner i de fleste tilfælde nedsætte de allergifremkaldende egenskaber (reducere proteinet's allergenicitet) (Bøgh og Larsen 2021).

Modifikation af de fødevarer baserede ingredienser identificeret i de 3.741 kosmetiske produkter i Kemiluppen (kapitel 3.1.3) blev gennemgået for hver ingrediensstype (TABEL 3, TABEL 4, TABEL 5, TABEL 6). Overordnet kunne modifikationerne inddeles i følgende modifikationstyper:

- **Umodificeret (UM):** Ingen modifikation.
- **Hydrolyse (H):** Hydrolyse (nedbrydning) af protein ved behandling med syre, base og/eller enzym.
- **Kemisk modifikation (KM):** Anden kemisk modifikation end hydrolyse. Typisk binding til kulhydrater med lav molekylvægt.
- **Hydrolyse og kemisk modificering (HKM):** Både hydrolyse og anden kemisk modifikation.
- **Fermentering (F):** Fermentering giver typisk anledning til nedbrydning af proteiner.

Det blevet fundet, at proteiningredienser baseret på hvede og soja typisk var hydrolyseret eller både hydrolyseret og kemisk modificeret (tabel 3). Blandt proteiningredienserne var mælk den hyppigste ingrediens, der anvendes uden modifikation.

I sammenligning med proteiningredienser, er ingredienser baseret på hele fødevarer, ekstrakter og olier i langt mindre grad modificeret (TABEL 4, TABEL 5, TABEL 6). Det må derfor antages, at eventuelle fødevarer allergener i denne type af ingredienser typisk vil have uændret allergenicitet.

Overstående resultater viser, at hydrolyse og anden kemisk modifikation er udbredt blandt ingredienser baseret på fødevarer til brug i kosmetiske produkter, hvor især proteiningredienser i

høj grad anvendes modificeret. En risikovurdering af kosmetiske produkter indeholdende ingredienser fra en fødevare må derfor tage højde for ingrediensens kemiske modifikation.

**TABEL 3.** Modifikation af fødevarebaserede ingredienser af typen protein.

Fødevarer	Umodificeret	Hydrolyse	Hydrolyse og kemisk	Fermentering
Mælk	124	31	8	3
Kornsorter				
- Hvede	20	356	202	0
- Havre	5	7	28	0
Soja				
	36	202	2	0
Træ nødder				
- Hasselnød	0	4	0	0
- Mandel	6	0	0	0
Sesam				
	0	1	0	0
Lupin				
	0	7	0	0

**TABEL 4.** Modifikation af fødevarebaseret ingredienser af typen hel.

Fødevarer	Umodificeret	Hydrolyse	Kemisk	Fermenteret
Mælk	104	0	0	1
Æg				
	2	0	0	0
Kornsorter				
- Hvede	5	1	13	0
- Havre	39	5	0	0
Soja				
	0	3	0	2
Træ nødder				
- Mandel	9	0	0	0
- Pekannød	1	0	0	0
- Queensland nød	1	0	0	0
- Valnød	36	0	0	0
Sesam				
	2	0	0	0

**TABEL 5.** Modifikation af fødevarer baserede ingredienser af typen ekstrakt.

Fødevarer	Umodificeret	Hydrolyse	Kemisk	Hydrolyse og kemisk	Fermenteret
Mælk	3	0	0	0	0
Kornsorter					
- Hvede	129	44	37	5	0
- Havre	178	0	0	0	0
- Byg	89	0	0	0	2
- Rug	7	0	0	0	0
Soja	757	0	0	0	3
Trænødder					
- Cashewnød	1	0	0	0	0
- Mandel	87	0	0	0	0
- Queensland nød	3	0	0	0	0
- Valnød	3	0	0	0	0
Sesam	8	0	0	0	0
Selleri	4	0	0	0	0
Lupin	1	1	0	0	0
Sennep	2	0	0	0	0
Skaldyr	17	0	0	0	0
Fisk	6	0	0	0	0

**TABEL 6.** Modifikation af fødevarer baserede ingredienser af typen olie/fedt.

Fødevarer	Umodificeret	Kemisk
Mælk	3	0
Kornsorter		
- Hvede	130	6
- Havre	50	0
Soja	595	150
Jordnød	35	1
Trænødder		
- Hasselnød	30	0
- Macadamianød	152	1
- Mandel	960	2
- Paranød	21	0



- Queensland nød	263	0
- Valnød	2	0
Sesam	173	0

### 3.1.5 Fødevarer i kosmetiske produkter på det danske marked rettet mod børn

Børn er den befolkningsgruppe, der er i størst risiko for udvikling af fødevareallergi. Dette kan skyldes, at børn har et umodent immunforsvar, større prævalens af atopisk eksem (børneeksem) og/eller ikke har udviklet oral tolerance. Derfor kan eksponering for fødevareproteiner igennem kosmetiske produkter være særligt problematisk for denne gruppe. De 3.741 kosmetiske produkter med fødevarebaserede ingredienser identificeret i Kemiluppen-databasen (kapitel 3.1.3) blev gennemgået for produkter rettet imod spædbørn og børn. Gennemgangen blev baseret på produktnavne, der kunne indikere markedsføring mod denne gruppe samt efterfølgende inspektion af emballagen. I alt blev 76 produkter rettet mod børn identificeret indeholdende ingredienser baseret på fødevarer, der typisk giver anledning til fødevareallergi. TABEL 7 viser antallet af produkter fordelt på produktkategori, ingrediensstype og fødevare med angivelse af modifikation. Produkterne blev fundet typisk at indeholde olie, især udvundet fra mandler, soja og sesam. Derudover blev der fundet protein-, hel- og ekstrakt-ingredientier baseret på soja, havre og hvede.

**TABEL 7.** Antal kosmetiske produkter rettet mod børn identificeret på det danske marked fordelt efter produktkategori, ingrediensstype og fødevare.

Kategori	Ingrediensstype			Olie	Antal
	Protein	Hel	Ekstrakt		
Olie	-	-	-	Mandel (UM)	7
Olie	-	-	-	Soja (UM)	3
Olie	-	-	-	Mandel (UM) + Havre (UM)	1
Olie	-	-	-	Soja (UM) + Hvede (UM)	1
Olie	-	-	-	Havre (UM)	1
Olie	-	-	-	Sesam (UM)	1
-	-	-	-	-	-
Creme	-	-	-	Mandel (UM)	17
Creme	-	-	-	Mandel (UM) + Sesam (UM)	9
Creme	-	-	-	Soja (UM)	5
Creme	-	-	Soja (UM)	-	4
Creme	-	-	-	Havre (UM)	3
Creme	-	Havre (UM)	-	Havre (UM)	2
Creme	-	-	Havre (KM)	-	2
Creme	-	Havre (UM)	-	-	1
Creme	-	-	Havre (UM)	Mandel (UM)	1
Creme	-	-	Soja (UM)	Sesam (UM)	1
-	-	-	-	-	-
Shampoo	-	-	Soja (UM)	-	3
Shampoo	-	-	Havre (UM)	-	2

Shampoo	Soja (H)	-	-	-	1
Shampoo	-	-	Havre (UM)	Mandel (UM)	1
Shampoo	-	-	-	Mandel (UM)	1
Shampoo	-	-	-	Mandel (UM) + Sesam (UM)	1
Shampoo	-	-	-	Sesam (UM)	1
Sæbe	-	Havre (UM)	-	-	5
Sæbe	Hvede (HKM)	-	-	-	1
Sæbe	-	-	-	Mandel (UM) + Sesam (UM)	1

Creme: Creme, lotion og salve. Shampoo: Shampoo og shampoo+kropsvask produkter. Sæbe: Hånd-sæbe, kropssæbe, badsæbe og andre vaskeprodukter. UM: Umodificeret. H: Hydrolyseret. HKM: Hydrolyseret og anden kemisk modifikation. F: Fermenteret.

### 3.1.6 Fødevarer i kosmetiske produkter på det danske marked rettet imod specifikke hudtyper

Atopisk eksem (børneeksem) er en risikofaktor for udvikling af fødevareallergi. Dette skyldes formentlig, at sygdommen er sat i forbindelse med øget hudpermabilitet og hudinflammation, hvilket i dyrestudier har vist at øge sensibilisering over for fødevareallergener ved eksponering på huden. Derfor kan kosmetiske produkter med indhold af fødevareallergener markedsført til brug på sensitiv, inflammatorisk, beskadiget, kløende og tør hud udgøre en specifik risiko for denne befolkningsgruppe. Børn har i højere grad end voksne atopisk eksem, og vi forventer, at forældre ser spædbørns og børns hud som følsom. Derfor antages det, at børn også i særlig grad er eksponeret for produkter rettet mod specifikke hudtyper.

De 3.741 kosmetiske produkter med fødevarebaserede ingredienser identificeret i Kemiluppen-databasen (kapitel 3.1.3) blev gennemgået for produkter rettet mod specifikke hudtyper. Gennemgangen blev baseret på produktnavne, der kunne indikere markedsføring mod en bestemt hudtype (sensitiv, eksem, kløe, tør m.v.) og efterfølgende inspektion af emballagen. I alt blev 154 produkter rettet mod specifikke hudtyper identificeret, som indeholdt ingredienser baseret på fødevarer, der typisk giver anledning til fødevareallergi. TABEL 8 viser antallet af produkter fordelt på produktkategori, ingrediensstype og fødevare med angivelse af modifikation. Produkterne blev fundet typisk at indeholde havre og mandel, hvor især havre er tilsat som ekstrakt. Der blev fundet protein-, hel- og ekstrakt-ingredienter baseret på mælk, soja og hvede. Derudover blev olie fra mandel og macadamianød fundet tilsat enkelte produkter.

**TABEL 8.** Antal kosmetiske produkter rettet mod specifikke hudtyper identificeret på det danske marked fordelt efter produktkategori, ingrediensstype og fødevare.

Kategori	Ingrediensstype				Antal
	Protein	Hel	Ekstrakt	Olie	
Olie	-	-	Havre (UM)	-	4
Olie	-	-	Soja (UM)	-	2
Olie	-	-	-	Mandel (UM)	1
Olie	-	-	-	Mandel (UM) + Havre (UM)	1
Creme	-	-	Havre (UM)	-	35
Creme	-	-	-	Mandel (UM)	28

Creme	-	-	-	Havre (UM)	10
Creme	-	-	Soja (UM)	-	8
Creme	-	-	-	Soja (UM)	5
Creme	-	-	-	Mandel (UM) + Soja (UM) + Soja (KM)	4
Creme	-	-	-	Macadamianød (UM)	2
Creme	-	-	-	Macadamianød (UM) + Soja (UM)	2
Creme	Mælk (UM) + Soja (UM)	-	Soja (UM)	-	2
Creme	-	-	Hvede (KM)	-	2
Creme	Mælk (H)	-	-	-	1
Creme	Mælk (UM) + Soja (UM)	-	Soja (UM) + Hvede (UM) + Byg (UM)	-	1
Creme	Mælk (UM) + Soja (UM)	-	Soja (UM)	Soja (KM)	1
Creme	Hvede (H)	-	Hvede (H)	-	1
Creme	Hvede (HKM) + Havre (H)	-	-	-	1
Creme	Soja (H)	-	-	Soja (UM)	1
Creme	-	Mælk (UM)	-	-	1
Creme	-	Havre (UM)	-	-	1
Creme	-	Mælk (UM)	-	Mandel (UM)	1
Creme	-	Havre (UM)	-	Mandel (UM)	1
Creme	-	-	Hvede (UM)	-	1
Creme	-	-	Soja (UM)	Soja (UM)	1
Creme	-	-	Havre (UM)	Soja (UM)	1
Creme	-	-	-	Hvede (UM)	1
Creme	-	-	-	Hvede (UM) + Havre (UM)	1
Creme	-	-	-	Mandel (UM) + Macadamia nød (UM)	1
Creme	-	-	-	Mælk (UM)	1
Creme	-	-	-	Sesam (UM)	1
Creme	-	-	-	Sesam (UM) + Macadamia nød (UM)	1
Shampoo	-	-	-	Mandel (UM)	2
Shampoo	Hvede (H)	-	-	-	1
Shampoo	-	-	Mandel (UM)	-	1
Sæbe	-	-	Havre (UM)	-	9
Sæbe	Mælk (UM)	-	-	-	5
Sæbe	-	-	Mandel (UM)	-	3
Sæbe	-	-	Soja (UM)	-	3

Sæbe	-	-	-	Mandel (UM)	3
Sæbe	-	-	-	Hvede (UM) + Havre (UM)	1
Sæbe	-	-	-	Soja (UM)	1

Creme: Creme, lotion og salver. Shampoo: Shampoo og shampoo+kropsvask produkter. Sæbe: Hånd-sæbe, kropssæbe, badsæbe og andre vaskeprodukter. UM: Umodificeret. H: Hydrolyseret. HKM: Hydrolyseret og andet kemisk modifikation.

## 3.2 Fødevarer baseret ingredienser i kosmetiske produkter tilgængelig på internettet

### 3.2.1 Identifikation af kosmetiske produkter på ikke-danske EU webshops

Denne kortlægning afdækkede udvalget af kosmetiske produkter, som er tilgængelige for danske forbrugere på internettet via kommercielle webshops, der sender produkter til Danmark fra udenlandske adresser i EU. Produkter rettet mod børn og indeholdende ingredienser baseret på fødevarer, der typisk giver anledning til fødevarerallergi, blev identificeret via systematiske søgninger på Google, webshops og producenters hjemmesider. I alt blev 151 kosmetiske produkter identificeret. TABEL 9 viser antallet af produkter fordelt på produktkategori, ingrediens-type og fødevarer med angivelse af modifikation. Produkterne blev fundet typisk at indeholde olie, især udvundet fra mandler og soja. Der blev fundet protein-, hel- og ekstrakt-ingredienter baseret på mælk, havre, hvede og soja. Derudover blev olie fra macadamianød fundet tilsat enkelte produkter.

**TABEL 9.** Antal kosmetiske produkter rettet mod børn identificeret på udenlandske webshops i EU fordelt efter produktkategori, ingrediens-type og fødevarer.

Kategori	Ingrediens-type			Olie	Antal
	Protein	Hel	Ekstrakt		
Olie				Mandel (UM)	38
Olie				Mandel (UM) + Soja (UM)	3
Olie				Macadamianød (UM)	2
Olie				Sesam (UM)	2
Olie				Soja (UM)	2
Olie			Soja (UM)	Mandel (UM)	1
Olie				Havre (UM)	1
Olie				Mandel (UM) + Macadamianød (UM)	1
Olie				Mandel (UM) + Sesam (UM)	1
Creme				Mandel (UM)	17
Creme				Soja (UM)	12
Creme			Havre (UM)		6
Creme		Mælk (UM)			4
Creme			Havre (UM)	Mandel (UM)	4
Creme				Soja (UM) + Macadamianød (UM)	4
Creme		Havre (UM)			3

Creme		Mandel (UM)	Mandel (UM)	3
Creme		Havre (UM)	Havre (UM)	2
Creme		Mandel (UM)		2
Creme		Havre (UM)	Soja (UM)	2
Creme			Mandel (UM) + Sesam (UM)	2
Creme			Mandel (UM) + Soja (UM)	2
Creme			Sesam (UM)	2
Creme		Havre (UM)	Mandel (UM)	1
Creme		Havre (UM + H)		1
Creme		Havre (UM)	Sesam (UM)	1
Creme			Macadamianød (UM)	1
Creme			Soja (UM) + Paranød (UM)	1
Creme			Soja (UM) + Sesam (UM)	1
Shampoo	Hvede (H)			4
Shampoo	Havre (HKM)			2
Shampoo			Mandel (UM)	2
Shampoo	Hvede (UM)		Mandel (UM)	1
Shampoo	Hvede (UM)			1
Shampoo	Havre (H)			1
Shampoo	Hvede (H)	Mælk (UM)		1
Shampoo	Hvede (HKM)		Mandel (UM)	1
Shampoo	Hvede (HKM)			1
Shampoo		Havre (UM)	Mandel (UM)	1
Shampoo		Havre (UM)		1
Shampoo			Sesam (UM)	1
Shampoo			Soja (UM)	1
Shampoo			Soja (UM) + Sesam (UM)	1
Sæbe		Havre (UM)		3
Sæbe		Mælk (UM)		2
Sæbe	Hvede (H)			1
Sæbe		Havre (UM)	Sesam (UM)	1
Sæbe		Mandel (UM)		1
Sæbe			Mandel (UM)	1
Sæbe			Soja (UM)	1

Creme: Creme, lotion og salver. Shampoo: Shampoo og shampoo+kropsvask produkter. Sæbe: Hånd-sæbe, kropssæbe, badsæbe og andre vaskeprodukter. UM: Umodificeret. H: Hydrolyseret. HKM: Hydrolyseret og andet kemisk modifikation.

### 3.2.2 Identifikation af kosmetiske produkter på webshops uden for EU

Der blev gennemført en kortlægning af kosmetiske produkter med indhold af fødevarebaserede ingredienser, som er tilgængelige for danske forbrugere på internettet via webshops, der forsender produkter til Danmark fra adresser uden for EU. Produkter rettet mod børn og indeholdende ingredienser baseret på fødevarer, der typisk giver anledning til fødevarerallergi, blev identificeret via systematiske søgninger på Google, webshops og producenters hjemmesider. Webshops i USA og England havde generelt en ingrediensliste, hvorfor de var den største kilde til indkøbte produkter fra lande uden for EU. Store webshops i f.eks. Kina og Indien havde sjældent en ingrediensliste, var ikke engelsksprogede og krævede ofte forsendelse af store partier. Disse webshops blev ekskluderet, da det ikke forventes at danske forbrugere vil benytte disse i betydelig udstrækning. I alt blev 91 kosmetiske produkter identificeret. TABEL 10 viser antallet af produkter fordelt på produktkategori, ingrediensstype og fødevare med angivelse af modifikation. Produkterne blev fundet typisk at indeholde olie, især udvundet fra mandler og soja. Der blev fundet protein-, hel- og ekstrakt-ingredienter baseret på havre, mælk, hvede og soja. Derudover blev olie fra macadamianød fundet tilsat enkelte produkter.

**TABEL 10.** Antal kosmetiske produkter rettet mod børn identificeret på webshops uden for EU fordelt efter produktkategori, ingrediensstype og fødevare.

Kategori	Ingrediensstype			Olie	Antal
	Protein	Hel	Ekstrakt		
Olie				Soja (UM)	3
Olie		Havre (UM)	Havre (UM)	Havre (UM)	1
Olie				Havre (UM) + soja (UM)	1
Olie				Hvede (UM)	1
Olie				Mandel (UM)	1
Olie				Mandel (UM) + Sesam (UM)	1
Creme				Mandel (UM)	8
Creme		Havre (UM)			8
Creme				Macadamianød (UM)	4
Creme				Mandel (UM) + Macadamianød (UM)	4
Creme				Mandel (UM) + Soja (UM)	4
Creme		Mælk (UM)		Soja (UM)	3
Creme		Mælk (F)			3
Creme				Soja (UM)	3
Creme		Havre (UM)			2
Creme			Havre (UM)	Havre (UM)	2
Creme			Havre (UM)		2
Creme	Havre (H + HKM)		Havre (UM)		1
Creme		Havre (UM)	Havre (UM)		1
Creme				Havre (UM)	1
Shampoo			Havre (UM)		3

Shampoo	Soja (HKM)			2
Shampoo	Havre (H)		Havre (UM)	2
Shampoo		Havre (UM)		2
Shampoo			Soja (UM)	2
Shampoo	Hvede (?)			1
Shampoo	Hvede (H)			1
Shampoo	Havre (H)			1
Shampoo	Havre (HKM)			1
Shampoo			Havre (UM)      Hvede (UM)	1
<hr/>				
Sæbe			Havre (UM)	5
Sæbe		Mælk (UM)	Mandel (UM)	4
Sæbe		Havre (UM)		4
Sæbe		Havre (UM)	Havre (UM)	3
Sæbe	Hvede (H)			2
Sæbe	Soja (HKM)			1
Sæbe	Havre (HKM)			1
Sæbe			Mandel (UM)	1

Creme: Creme, lotion og salver. Shampoo: Shampoo og shampoo+kropsvask produkter. Sæbe: Hånd-sæbe, kropssæbe, badsæbe og andre vaskeprodukter. UM: Umodificeret. H: Hydrolyseret. HKM: Hydrolyseret og andet kemisk modifikation. F: Fermenteret.

### 3.3 Delkonklusion

Fødevarebaserede ingredienser finder bred anvendelse i kosmetiske produkter både i umodificeret og modificeret form. Det blev fundet, at kosmetiske produkter rettet mod børn og specifikke hudtyper især indeholdt olier fra mandel eller soja. Derudover blev havre fundet tilsat mange produkter som hel-ingredient eller ekstrakt. Endeligt blev det fundet, at mælk i visse produkter tilsættes som proteiningrediens eller hel-ingredient.

## 4. Konsum af allergene fødevarer hos børn

Studier tyder på, at tidlig introduktion af fødevarer hos børn beskytter mod udviklingen af fødevarerallergi. Dvs. at der tidligt i barndommen er et tidsmæssigt vindue for allergiudvikling, før barnet er blevet introduceret til en given fødevarer via kosten. På baggrund af kostundersøgelser udført af DTU Fødevarerinstitutionen undersøges det i dette kapitel, hvornår danske børn bliver introduceret til de forskellige fødevarer, der typisk giver anledning til fødevarerallergi.

### 4.1 Kostundersøgelse: Introduktion til fødevarer hos børn i alderen 0-24 måneder

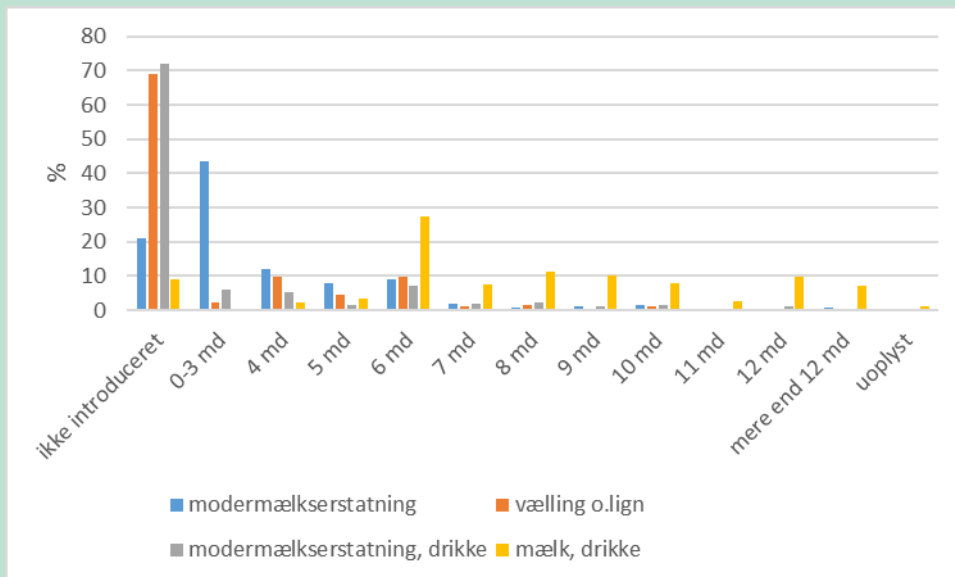
DTU Fødevarerinstitutionen gennemførte i perioden april 2014-april 2015 en national kostundersøgelse blandt spæd- og småbørn, hvori der var et personligt interview af forældrene. Her indgik spørgsmål til afdækning af introduktionstidspunkt for forskellige fødevarer hos børn i alderen 0-24 måneder. I alt blev 437 forældre til børn i alderen 12-24 måneder adspurgt, i hvilken alder deres barn blev introduceret til en given fødevarer. Heraf har 427 besvaret spørgsmålene. Baseret på disse data er det muligt at vurdere introduktionen af visse fødevarer, der typisk giver anledning til fødevarerallergi (angivet i TABEL 1).

#### 4.1.1 Amning og introduktion af modermælkserstatning og drikkemælk

De fleste mødre startede amning ved fødslen (95 %) og ca. 75 % angav fuld amning ved 1 måneders alderen, 55 % ved 4 måneder og 11 % ved 6 måneder. Således var modermælkserstatning introduceret af 5 % tidligt efter fødslen og 25 % efter 1 måned.

Der var ca. 20 % af forældrene til 1-årige børn, der angav, at modermælkserstatning ikke var introduceret, og næsten 70 % havde ikke fået vælling eller mælkeblanding (follow-on formula, som er modermælkserstatning til børn fra 6 måneder), se FIGUR 1. Ca. 70 % havde ikke fået modermælkserstatning som drik af kop, mens under 10 % ikke havde fået almindelig drikkemælk. Af de ca. 80 % som fik modermælkserstatning i løbet af det første år, fik 44 % det introduceret i alderen 0-3 måneder. Enkelte fik drikkemælk før 6 måneder, men de fleste i løbet af det første år og enkelte først efter 1 år. Dette billede må man formode har ændret sig, fordi anbefalingerne fra Sundhedsstyrelsen blev revideret i marts 2015, så drikkemælk først anbefales introduceret fra 1 år, mens modermælkserstatning som drikkemælk i kop anbefales at kunne startes ved 9 måneder. Almindelig mælk i maden kan gives i små mængder (under 100 ml) fra 9 måneder.

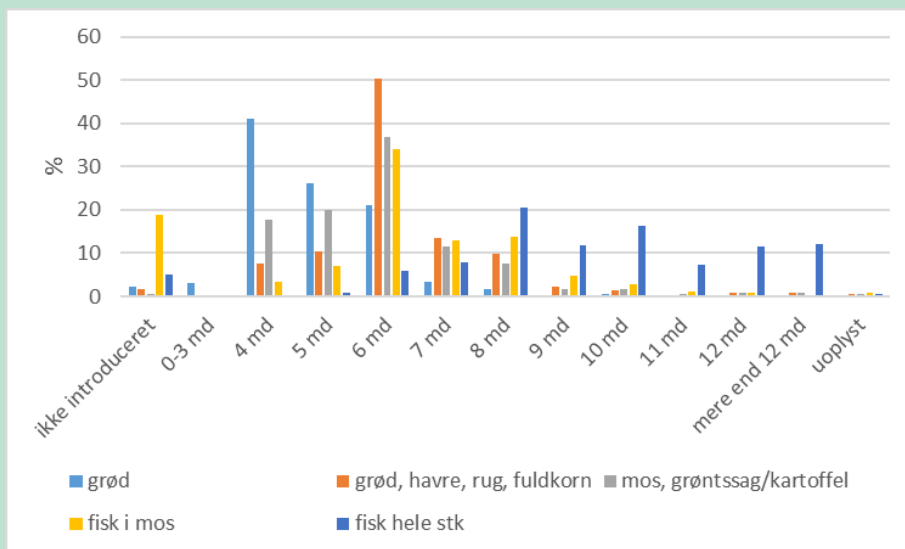




**FIGUR 1.** Introduktionstidspunkt for modermælkserstatning, vælling o.lign. samt drikkemælk, oplyst af forældre til børn i alderen 12 - 24 måneder (n = 427).

#### 4.1.2 Introduktion af grød og mos af forskellige fødevarer

Enkelte forældre til børn i alderen 12-24 måneder angav at have introduceret grød før 4 måneder (FIGUR 2). Den første grød var typisk majs-, ris- eller hirsegør. Det anbefales på nuværende tidspunkt ikke i så høj grad at bruge ris til små børn pga. indhold af uorganisk arsen. De fleste blev introduceret til disse typer grød i alderen 4-6 måneder, flest ved 4 måneder. Ligeledes startede introduktion til havre- og fuldkornsgrød samt øllebrød også ved 4 måneder, hvor under 10 % fik det mens ca. 50 % fik introduceret disse typer grød ved 6 måneder. Grøntsags-/kartoffelmos var også introduceret til ca. 80 % af børnene ved 6 måneder; ca. 40 % fik det introduceret før 4 måneder, og ca. 20 % hhv. 4 og 5 måneder. Enkelte introducerede fisk i mos ved 4 og 5 måneder men de fleste fra 6 måneder, mens ca. 20 % ikke blev introduceret til mos med fisk. Fisk i hele stykker blev introduceret til nogle ganske få ved 5 måneder, men flest fra 8 måneder og frem. Kun ca. 5 % var ikke introduceret til fisk.



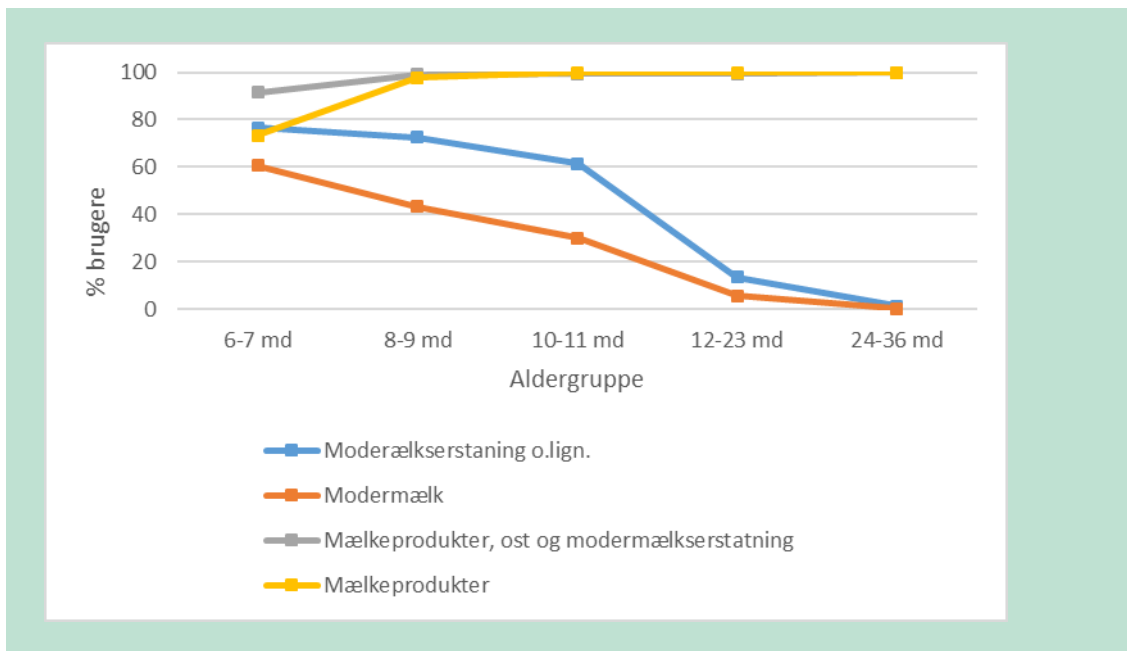
**FIGUR 2.** Introduktionstidspunkt for grød, mos og fisk, oplyst af forældre til børn i alderen 12-24 måneder (n = 427).

## 4.2 Kostundersøgelse: Kostregistrering hos børn i alderen 6-36 måneder

I den nationale kostundersøgelse af spæd- og småbørn gennemførte DTU Fødevarerinstitutionen i perioden april 2014-april 2015 en kostregistrering blandt børn i alderen 6-36 måneder. I alt registrerede 1.364 forældre de fødevarer og drikkevarer barnet spiste og drak hver dag over en periode på én uge. I kostundersøgelsen blev børnene opdelt i forskellige aldersgrupper: 6-7 måneder, 8-9 måneder, 10-11 måneder, 12-23 måneder og 24-36 måneder. Baseret på disse data kan vi for hver aldersgruppe beregne andelen af børn, der har spist den pågældende fødevarer. Andelen af børn, som har spist den pågældende fødevarer for hver aldersgruppe (opgjort i % af total antal børn i aldersgruppen), kan give et estimat for, hvornår og hvor mange børn, der er introduceret til visse af de fødevarer, som typisk giver anledning til fødevarerallergi (angivet i TABEL 1).

### 4.2.1 Andel der indtager mælkeprodukter og brystmælk

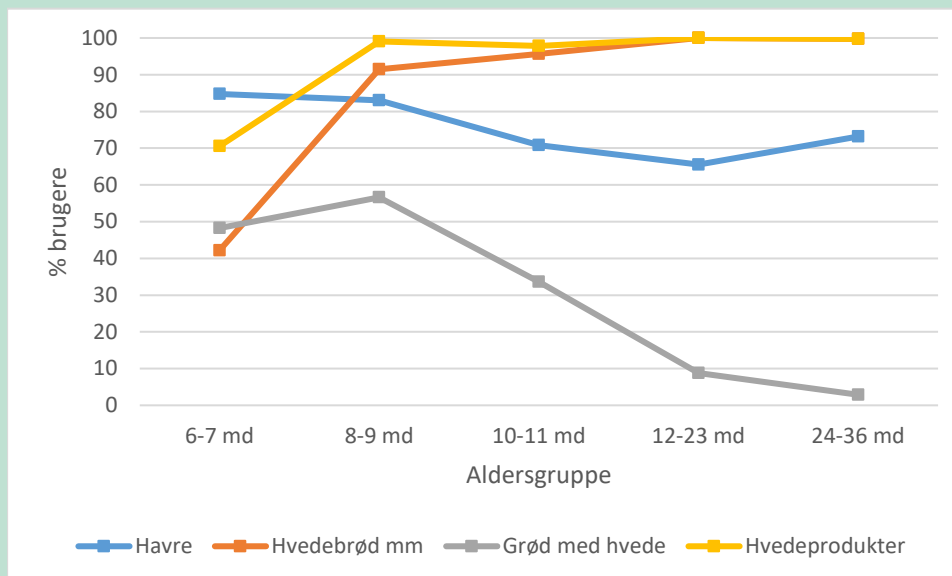
Kostregistreringen viste, at stort set alle børn i alderen 6-7 måneder (91 %) havde fået et mælkebaseret produkt, inklusiv modernælkserstatning o. lign. (FIGUR 3) og andelen, der har fået modernælkserstatning, var høj i denne aldersgruppe hhv. 73 % og 77 %, mens andelen der fik modernælk var 61 % i denne aldersgruppe. Andelen, der får modernælkserstatning og modernælk, falder i efterfølgende aldersgrupper, og i disse grupper er konsum af almindelige mælkeprodukter stigende til næsten 100 %. Konsumerede mælkeprodukter oprinder primært fra køer. I sammenligning med fødevarerintroduktion (kapitel 4.1) ses, at mælk først blev introduceret som modernælkserstatning med efterfølgende introduktion af almindelige mælkeprodukter.



**FIGUR 3.** Andelen af børn, som havde et indtag af mælk og mejeriprodukter i løbet af den uge, hvor kostregistreringen foregik, fordelt på aldersgruppe. Til sammenligning er moder-mælkserstatning og modermælk vist.

#### 4.2.2 Konsorter: Hvede og havre

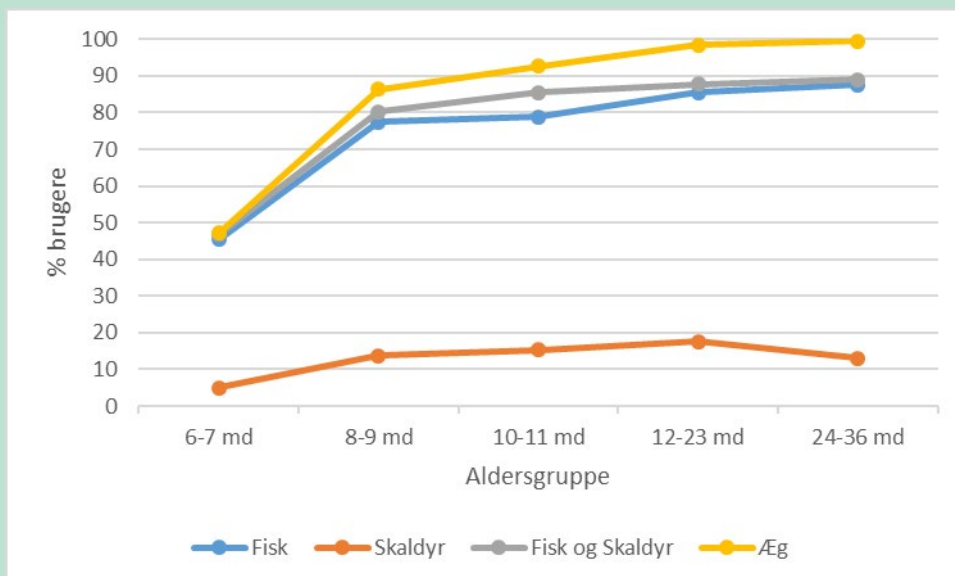
Andelen, der indtog fødevarer med hvede, var høj (>70 % brugere) i aldersgruppen 6-7 måneder (figur 4). I de ældre aldersgrupper stiger andelen af hvedebrødspisere samtidigt med, at andelen der spiser grød med hvede falder. Dette viser et skift i kilden til hvedeprotein med alderen. Andelen der indtog havreholdige produkter var >80 % i aldersgruppe 6-7 måneder med en lidt faldende andel brugere i ældre aldersgrupper.



**FIGUR 4.** Andelen af børn, som havde et indtag af havre, hvedebrød, grød med hvede, og produkter i alt med hvede i løbet af den uge hvor kostregistreringen foregik fordelt på aldersgruppe.

#### 4.2.3 Æg, fisk og skaldyr

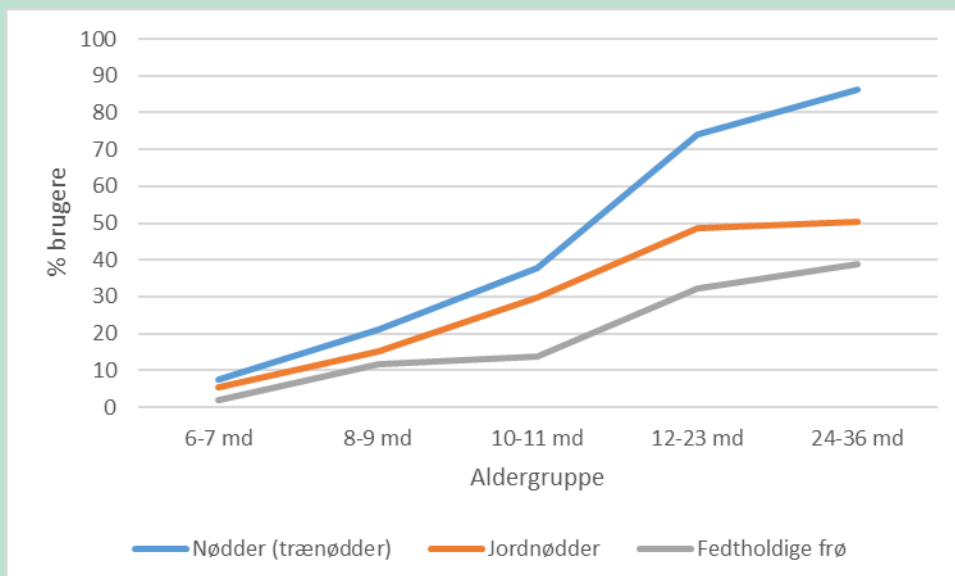
Andelen, der spiste æg, fisk eller skaldyr, var <50 % i kostregistreringsundersøgelsens aldersgruppe 6-7 måneder (FIGUR 5). Andelen, der spiser disse fødevarer, steg i de efterfølgende aldersgrupper, hvor spisere af æg nåede en andel tæt på 100 %. Den lidt lavere andel af børn, der havde spist fisk kan skyldes, at denne fødevarer ikke spises hver uge blandt studiets deltagere. Konsum af skaldyr er generelt lavt i alle aldersgrupper (<20 %), men dette niveau kan også skyldes, at fødevarer ikke konsumeres hver uge blandt studiets deltagere.



**FIGUR 5.** Andelen af børn, som havde et indtag af æg, fisk eller skaldyr i løbet af den uge hvor kostregistreringen foregik fordelt på aldersgruppe.

#### 4.2.4 Jordnødder, trænødder og sesam

Andelen, der spiste jordnødder, trænødder og sesam, var lav (<10 %) i undersøgelsens aldersgruppe 6-7 måneder (FIGUR 6). Andelen stiger i de efterfølgende aldersgrupper, men først omkring 12-måneders alderen er andel >50 %. Disse fund indikerer, at introduktionerne af jordnødder og trænødder sker langt senere end mælk, kornsorter, æg og fisk.



**FIGUR 6.** Andelen af børn, som havde et indtag af trænødder, jordnødder (inkl. jordnødde-smør) og fedtholdige frø (inkl. sesam) i løbet af den uge hvor kostregistreringen foregik, for hver aldersgruppe.

### **4.3 Styrker og begrænsninger**

Det er en styrke ved overstående kostundersøgelser, at der både indgår spørgsmål om introduktion af fødevarer bagud i tid hos børn i alderen 12-24 måneder, samt en registrering af fødevarerindtag over en periode på én uge blandt børn i alderen 6-36 måneder. Der kan dog være en vis usikkerhed i tolkningen af det registrerede indtags sammensætning, hvilket skyldes detaljeringsgraden i måden der registreres på. For eksempel, så er det ikke registreret, om hvedebrødet indeholder frø og kerner, eller om æg og mælk er indeholdt i sammensatte produkter. Grundet manglende detaljegråd kan der ikke findes information om introduktion af visse allergene fødevarer, såsom soja, selleri og lupin.

Undersøgelserne blev gennemført i 2014-2015. Kulturen og kostvejledninger omkring introduktion af fødevarer til børn kan have ændret sig siden. F.eks. formodes det, at introduktion af mælk er ændret efter ny vejledning om mælk og modermælkserstatning i overgangskosten fra Sundhedsstyrelsen i 2015.

### **4.4 Delkonklusion**

Kostundersøgelsen fra 2014-2015 påviser variation i introduktion og konsum af fødevarer, der typisk giver anledning til fødevarerallergi. Resultaterne indikerer tidlig introduktion af mælk og kornsorter (omkring 4-6-måneders alderen), efterfuldt af æg, fisk og skaldyr (omkring 6-9-måneders alderen) og derefter jordnødder, trænødder og sesam (1-2 års alderen).

# 5. Analyse af fødevareproteiner i kosmetiske produkter

Danske forbrugeres adgang til kosmetiske produkter indeholdende ingredienser baseret på fødevarer, der typisk giver anledning til allergi (angivet i TABEL 1), blev kortlagt i kapitel 3. Da det er proteinerne fra disse fødevarer, der primært giver anledning til fødevareallergi, er det nødvendigt at undersøge, om de kosmetiske produkter indeholder proteiner fra de anvendte ingredienser.

## 5.1 Udvalgelse af fødevarer i fokus

Kortlægningen i kapitel 3 fandt, at kosmetiske produkter rettet mod børn og specifikke hudtyper typisk indeholder ingredienser baseret på mandel, soja, havre, komælk, hvede og/eller macadamianødder (blandt de fødevarer, der typisk giver anledning til fødevareallergi). Baseret på kortlægningen blev det besluttet at fokusere på analyse af proteiner fra følgende fødevarer.

- **Komælk:**

Den hyppigst forekommende fødevareallergi hos børn  
Anvendes typisk som protein eller hel ingrediens i kosmetiske produkter

- **Mandel:**

Mandelolie finder hyppig anvendelse i kosmetiske produkter  
Enkelte produkter indeholder mandelekstrakt

- **Soja:**

Anvendes typisk som protein-, ekstrakt- eller olie-ingrediens i kosmetiske produkter

## 5.2 Udvalgelse af kosmetiske produkter til analyse

Baseret på kortlægningen i kapitel 3 blev et repræsentativt udvalg af kosmetiske produkter indeholdende ingredienser baseret på mælk, mandel og/eller soja indkøbt til analyse (se TABEL 11). I alt blev der indkøbt 39 produkter, som er tilgængelige for danske forbrugere i butikker og/eller webshops med forsendelse i eller til Danmark. I alt blev 19 produkter indkøbt i danske butikker eller webshops, mens hhv. 13 og 7 produkter blev indkøbt fra webshops i resten af EU og uden for EU.

**TABEL 11.** Kosmetiske produkter indkøbt til analyse af fødevareproteinindhold med angivelse af ingrediensstype og indhold af fokusallergen.

Produkt ID	Indkøbssted*	Kategori**	Ingrediensstype Protein***	Ingrediensstype Hel***	Ingrediensstype Ekstrakt***	Ingrediensstype Olie***
MST-01	DK	Creme	-	-	-	Mandel (UM)
MST-03	DK	Creme	-	-	-	Mandel (UM) + Sesam (UM)
MST-04	DK	Creme	Mælk (H)	-	-	-
MST-05	DK	Creme	-	-	-	Mandel (UM)
MST-06	DK	Creme	-	-	-	Mandel (UM)

MST-07	DK	Creme	-	-	-	Mandel (UM)
MST-08	DK	Creme	Soja (H)	-	-	Soja (UM)
MST-09	DK	Creme	-	-	Havre (UM)	Soja (UM)
MST-11	DK	Olie	-	-	-	Mandel (UM)
MST-12	DK	Olie	-	-	-	Mandel (UM)
MST-13	DK	Olie	-	-	-	Mandel (UM)
MST-14	DK	Olie	-	-	-	Soja (UM)
MST-15	DK	Olie	-	-	-	Soja (UM)
MST-16	DK	Olie	-	-	-	Mandel (UM)
MST-17	DK	Shampoo	-	-	Havre (UM)	Mandel (UM)
MST-18	DK	Shampoo	-	-	-	Mandel (UM)
MST-19	DK	Sæbe	Mælk (UM)	-	-	-
MST-20	DK	Sæbe	-	-	-	Mandel (UM)
MST-21	DK	Sæbe	-	-	-	Mandel (UM)
MST-22	Resten af EU	Creme	-	-	Mandel (UM)	Mandel (UM)
MST-23	Resten af EU	Creme				Mandel (UM)
MST-24	Resten af EU	Creme				Soja (UM)
MST-25	Resten af EU	Creme		Mælk (UM)		
MST-26	Resten af EU	Olie				Mandel (UM)
MST-27	Resten af EU	Olie				Mandel (UM)
MST-28	Resten af EU	Olie				Mandel (UM) + Soja (UM)
MST-29	Resten af EU	Shampoo	Hvede (H)	Mælk (UM)		
MST-30	Resten af EU	Shampoo				Mandel (UM)
MST-31	Resten af EU	Sæbe			Mandel (UM)	
MST-32	Resten af EU	Sæbe		Mælk (UM)		
MST-33	Resten af EU	Sæbe		Mælk (UM)		
MST-34	Resten af EU	Creme				Mandel (UM) + Soja (UM)
MST-35	Uden for EU	Creme				Soja (UM)
MST-36	Uden for EU	Creme		Mælk (UM)		
MST-37	Uden for EU	Creme		Mælk (F)		
MST-38	Uden for EU	Olie				Mandel (UM)
MST-39	Uden for EU	Olie				Soja (UM)
MST-40	Uden for EU	Shampoo	Soja (HKM)			
MST-41	Uden for EU	Creme				Mandel (UM)

\*Hvor det kosmetiske produkt er indkøbt. \*\*Creme: Creme, lotion og salver. Shampoo: Shampoo og shampoo+kropsvask produkter. Sæbe: Håndsæbe, kropssæbe, badsæbe og andre vaskeprodukter. \*\*\*Ingredienserstyper. UM: Umodificeret. H: Hydrolyseret. HKM: Hydrolyseret og andet kemisk modifikation. F: Fermenteret.

### 5.3 Valg af analysemetode

Til analyse af fødevarerproteiner i kosmetiske produkter anvendes metoden enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Denne antistof-baserede metode finder udbredt anvendelse til analyse af proteiner grundet den generelt høje specificitet (evnen til kun at detektere ét bestemt protein) og sensitivitet (detektion af meget små mængder protein). Der findes flere kommercielt



tilgængelige analysekits, der kan måle fødevareproteiner. Disse finder anvendelse i fødevareindustrien til kontrol af krydsforurening af fødevarer med fødevareallergener. Metoden bruges af industrien til at sikre, at forarbejdede fødevarer ikke indeholder allergener, der kan give allergiske reaktioner hos forbrugere med fødevareallergi. I dette projekt anvendes kommercielt tilgængelige analysekits fra Eurofins Technologies. Disse analysekits har producenten valideret til brug på komplekse og forskelligartede fødevarer (f.eks. kager, kødprodukter, chokolade, m.v.). Derudover er analyserne testet for fraværet af krydsreaktivitet med andre fødevareallergener, end det analysekittet skal detektere. Nedenfor ses analysernes specifikationer, inklusiv standardrække, detektionsgrænse (Limit of Detection, LOD) og kvantificeringsgrænse (Limit of Quantification, LOQ).

- **Komælk:**

- ELISA kit: SENSISpec ELISA Milk 96 Wells
- Producent: Eurofins Technologies ([www.eurofins-technologies.com](http://www.eurofins-technologies.com))
- Standardrække: 0, 0,4, 1, 4, and 10 ppm
- LOD: 0,05 ppm
- LOQ: 0,4 ppm

- **Mandel:**

- ELISA kit: SENSISpec ELISA Almond 96 Wells
- Producent: Eurofins Technologies ([www.eurofins-technologies.com](http://www.eurofins-technologies.com))
  - Standardrække: 0, 0,4, 1, 4, and 10 ppm
  - LOD: 0,06 ppm
  - LOQ: 0,4 ppm

- **Soja:**

- ELISA kit: SENSISpec ELISA Total Soy Protein
- Producent: Eurofins Technologies ([www.eurofins-technologies.com](http://www.eurofins-technologies.com))
- Standardrække: 0, 2, 6, 18, and 36 ppm
- LOD: 0,2 ppm
- LOQ: 2 ppm

Producenten af ovenstående analysekits har ikke undersøgt, om disse ELISA assays kan finde anvendelse til analyse af fødevareproteiner i kosmetiske produkter. I forskningslitteraturen forefindes kun to tidligere studier, der anvender kommercielt tilgængelige ELISA assays til proteinanalyse af kosmetiske produkter (begge til analyse af hvedeprotein) (Thomson og Grace 2012, Sharma et al 2016). Derfor er det nødvendigt at fortage en metodevalidering, der afdækker, om de valgte ELISA assays er brugbare til analyse af fødevareproteiner i kosmetiske produkter.

## 5.4 Metodevalidering

Kosmetiske produkter er en blanding af forskellige stoffer, der giver produktet de ønskede egenskaber (f.eks. fedtstoffer og sæbestoffer). Disse stoffer kan påvirke analysen af fødevareproteiner, da de kan have indflydelse på funktionen af de analytiske reagenser. Derfor blev en række kosmetiske produkter, primært rettet mod børn, udvalgt til metodevalidering. De udvalgte produkter (matricer) fremgår af TABEL 12 med angivelse af produkttype og indhold. Der blev kun udvalgt produkter, der ikke indeholder ingredienser baseret på mælk, mandel eller soja. I metodevalideringen tilsættes en kendt mængde mælk-, mandel- eller sojaprotein, således at det kan afgøres, om matricerne påvirker resultatet. Denne type forsøg kaldes genfindingsforsøg, hvor en kendt mængde protein tilsættes (ved såkaldt 'spiking' af prøven).

**TABEL 12.** De kosmetiske produkter (matricer) udvalgt til metodevalidering.

Matrice nr.	Beskrivelse
1	Babyolie & bad
2	Babyolie
3	Babycreme
4	Babycreme
5	Babyshampoo & bad
6	Babyshampoo

#### 5.4.1 Valideringsparametre

Analysernes detektionsgrænse og kvantificeringsgrænse bestemmes ved analyse af 6 prøver, der ikke indeholder fødevareprotein (såkaldte blanke prøver). Detektionsgrænsen og kvantificeringsgrænsen bestemmes som analysens middelværdi tillagt hhv. 3 og 10 gange prøvernes standardafvigelse. Analysernes måleområde og korrekthed (evnen til at bestemme den korrekte mængde af protein) bestemmes ved spiking med en kendt mængde fødevareprotein i de koncentrationer, der anvendes i analysernes standardrække. Korrekthed bestemmes som hældning på kurven for lineær korrelation imellem tilsat (spike) koncentration vs. målt koncentration. Dvs. en hældning på 1 angiver optimal korrekthed med god sammenhæng, hvorimod en værdi på større eller mindre end 1 påviser hhv. en over- eller underestimering i analysen.

#### 5.4.2 Valideringsresultater: Komælk ELISA assay

Stort set alle matricer (TABEL 13) gav anledning til en højere værdi for komælk ELISA'ens detektionsgrænse og kvantificeringsgrænse ift. de fra producentens angivne grænser (hhv. LOD: 0,05 ppm og LOQ: 0,4 ppm). Resultaterne fra genfindingsforsøget (TABEL 14 og Bilag 1.1) var, at analyser med oliematricerne havde en god korrekthed. Korrektheden var derimod kun rimelig for det ene cremeprodukt, hvorimod det andet cremeprodukt førte til en overestimering af proteinindholdet. Dette fund tyder på, at forskellig sammensætninger af cremeprodukter har forskellig indflydelse på komælk ELISA'ens korrekthed. Derudover blev det fundet, at shampoo-produkterne førte til en underestimering af proteinindholdet. Konklusionen er derfor, at kosmetikmatricer påvirker funktionen af komælk ELISA assayet.

**TABEL 13.** LOD og LOQ for matricer analyseret med komælk ELISA assay.

Matrice nr.	Beskrivelse	LOD*	LOQ**
1	Babyolie & bad	0,92 ppm	3,02 ppm
2	Babyolie	0,49 ppm	1,03 ppm
3	Babycreme	0,84 ppm	2,22 ppm
4	Babycreme	0,56 ppm	2,60 ppm
5	Babyshampoo & bad	0,32 ppm	0,79 ppm
6	Babyshampoo	< 0,05 ppm	1,35 ppm

\*Limit of Detection. \*\*Limit of Quantification.

**TABEL 14.** Resultater fra genfindingsforsøg for matricer analyseret med komælk ELISA assay.

Matrice nr.	Beskrivelse	Måleområde	Korrekthed*
1	Babyolie & bad	0 – 4 ppm	0,996x
2	Babyolie	0 – 10 ppm	0,943x
3	Babycreme	0 – 4 ppm	1,409x

4	Babycreme	0 – 10 ppm	0,803x
5	Babyshampoo & bad	0 – 10 ppm	0,352x
6	Babyshampoo	0 – 10 ppm	0,134x

\*Hældning på kurven for lineær korrelation imellem tilsat (spike) koncentration vs. målt koncentration.

### 5.4.3 Valideringsresultater: Mandel ELISA assay

De forskellige matricer har en begrænset indvirkning på mandel ELISA'ens detektionsgrænse og kvantificeringsgrænse (TABEL 15), da de fleste lå under kittets grænser på hhv. 0,06 og 0,4 ppm. Resultaterne fra genfindingsforsøget (TABEL 16 og Bilag 1.2) var dog, at analyser med olie- og cremematricerne førte til en overestimering af proteinindholdet. Denne overestimering medførte, at 10 ppm prøven lå uden for analysens målbarhed. Derfor udgik 10 ppm i bestemmelse af måleområde, hvorfor analyserne med olie- og cremematricerne har et måleområde på 0 - 4 ppm. Derimod var der en god korrekthed for shampooprodukterne, der havde en korrelation tæt på 1 og et måleområde på 0 - 10 ppm.

**TABEL 15.** LOD og LOQ for matricer analyseret med mandel ELISA assay.

Matrice nr.	Beskrivelse	LOD*	LOQ**
1	Babyolie & bad	<0,06 ppm	<0,40 ppm
2	Babyolie	0,09 ppm	<0,40 ppm
3	Babycreme	<0,06 ppm	<0,40 ppm
4	Babycreme	0,14 ppm	0,41 ppm
5	Babyshampoo & bad	<0,06 ppm	0,40 ppm
6	Babyshampoo	<0,06 ppm	<0,40 ppm

\*Limit of Detection. \*\*Limit of Quantification.

**TABEL 16.** Resultater fra genfindingsforsøg for matricer analyseret med mandel ELISA assay.

Matrice nr.	Beskrivelse	Måleområde	Korrekthed*
1	Babyolie & bad	0 – 4 ppm	1,459x
2	Babyolie	0 – 4 ppm	1,451x
3	Babycreme	0 – 4 ppm	1,312x
4	Babycreme	0 – 4 ppm	1,243x
5	Babyshampoo & bad	0 – 10 ppm	0,988x
6	Babyshampoo	0 – 10 ppm	0,943x

\*Hældning på kurven for lineær korrelation imellem tilsat (spike) koncentration vs. målt koncentration.

### 5.4.4 Valideringsresultater: Soja ELISA assay

Flere af matricerne (TABEL 17) gav anledning til en højere værdi for soja ELISA'ens detektionsgrænse og kvantificeringsgrænse ift. de fra producenten angivne grænser (hhv. LOD: 0,2 ppm og LOQ: 2 ppm). Resultaterne fra genfindingsforsøget (TABEL 18 og Bilag 1.3) var, at matricerne gav anledning til varierende korrekthed, hvor flere havde en underestimering af proteinindholdet. Dette fund tyder derfor på, at den forskelligartede sammensætning af kosmetiske produkter vil have forskellig indflydelse på soja ELISA'ens korrekthed.

**TABEL 17.** LOD og LOQ for matricer analyseret med soja ELISA assay.

Matrice nr.	Beskrivelse	LOD*	LOQ**
1	Babyolie & bad	0,92 ppm	3.02 ppm
2	Babyolie	0,49 ppm	< 2 ppm
3	Babycreme	0,84 ppm	2.22 ppm
4	Babycreme	0,56 ppm	2.60 ppm
5	Babyshampoo & bad	0,31 ppm	< 2 ppm
6	Babyshampoo	0,03 ppm	< 2 ppm

\*Limit of Detection. \*\*Limit of Quantification.

**TABEL 18.** Resultater fra genfindingsforsøg for matricer analyseret med soja ELISA assay.

Matrice nr.	Beskrivelse	Måleområde	Korrektthed*
1	Babyolie & bad	0 – 36 ppm	0,859x
2	Babyolie	0 – 36 ppm	0,339x
3	Babycreme	0 – 36 ppm	0,830x
4	Babycreme	0 – 36 ppm	0,941x
5	Babyshampoo & bad	0 – 36 ppm	0,597x
6	Babyshampoo	0 – 36 ppm	0,361x

\*Hældning på kurven for lineær korrelation imellem tilsat (spike) koncentration vs. målt koncentration.

## 5.5 Analyseresultater: Komælk

Ved ELISA-analyserne blev der fundet målbart mælkeprotein i alle indkøbte produkter med ingredienser baseret på mælk (TABEL 19). Især var det produkter med hel- og proteiningrediens-type, der havde de højeste niveauer af mælkeprotein. Det er vigtigt at være opmærksom på, at resultaterne fra metodevalideringen viser, at produkternes specifikke sammensætning kan føre til en over- eller underestimering af proteinindholdet. Dog må det konkluderes, at de analyserede produkter indeholder målbare niveauer af mælkeprotein. Flere af prøver havde lav genfindning af tilsat spike (TABEL 19). Dette kan skyldes en varierende effekt af kosmetikmatricerne, som det også blev set i valideringsanalyserne af ELISA assayet for mælk (kapitel 5.4.2). Derfor er der en væsentlig usikkerhed på det eksakte mælkeproteinindhold i analysen. Derfor bør en anden metode anvendes, såfremt der ønskes en mere præcis bestemmelse af mængden af mælkeproteinindhold.

**TABEL 19.** Analyseresultater for kosmetiske produkter indeholdende mælk.

Produkt ID	Indkøbssted*	Kategori**	Indhold***	Koncentration	Spike****
MST-04	DK	Creme	Mælk: Protein (H)	0,36 ppm	55,93 %
MST-19	DK	Sæbe	Mælk: Protein (UM)	36,09 ppm	-
MST-25	Resten af EU	Creme	Mælk: Hel (UM)	10,07 ppm	-2,11 %
MST-29	Resten af EU	Shampoo	Mælk: Hel (UM)	3,91 ppm	-10,82 %
MST-32	Resten af EU	Sæbe	Mælk: Hel (UM)	250,54 ppm	-
MST-33	Resten af EU	Sæbe	Mælk: Hel (UM)	101,66 ppm	-
MST-36	Uden for EU	Creme	Mælk: Hel (UM)	4,36 ppm	48,43 %
MST-37	Uden for EU	Creme	Mælk: Hel (F)	121,71 ppm	-

\*Hvor det kosmetiske produkt er indkøbt. \*\*Creme: Creme, lotion og salver. Shampoo: Shampoo og shampoo+kropsvask produkter. Sæbe: Håndsæbe, kropssæbe, badsæbe og andre vaskeprodukter. \*\*\*Ingrediensstype. UM: Umodificeret. H: Hydrolyseret. F: Fermenteret. \*\*\*\*Procent genfindning af 5 ppm spike tilsat under analysen af det kosmetiske produkt.

## 5.6 Analyseresultater: Mandel

Mandelolie var den hyppigste ingrediens i de kosmetiske produkter, der blev analyseret for mandelprotein (TABEL 20). Produkt MST-06 var det produkt, hvor der blev fundet mest mandelprotein. De resterende produkter lå under eller tæt på detektionsgrænsen (0,06 ppm). I produkterne MST-21, MST-26 og MST-41 blev der fundet små mængder mandelprotein. Generelt var der en god genfindning af mandelprotein i spike-prøverne (TABEL 20), hvilket indikerer at mandel ELISA'en kan anvendes på kosmetiske produkter med en varieret produktsammensætning.

**TABEL 20.** Analyseresultater for kosmetiske produkter indeholdende mandel.

Produkt ID	Indkøbssted*	Kategori**	Indhold***	Koncentration	Spike****
MST-01	DK	Creme	Mandel: Olie (UM)	0,03 ppm	107 %
MST-03	DK	Creme	Mandel: Olie (UM)	0,02 ppm	109 %
MST-05	DK	Creme	Mandel: Olie (UM)	0,00 ppm	93 %
MST-06	DK	Creme	Mandel: Olie (UM)	43,07 ppm	-
MST-07	DK	Creme	Mandel: Olie (UM)	0,00 ppm	101 %
MST-11	DK	Olie	Mandel: Olie (UM)	0,00 ppm	111 %
MST-12	DK	Olie	Mandel: Olie (UM)	0,00 ppm	109 %
MST-13	DK	Olie	Mandel: Olie (UM)	0,00 ppm	113 %
MST-16	DK	Olie	Mandel: Olie (UM)	0,00 ppm	108 %
MST-17	DK	Shampoo	Mandel: Olie (UM)	0,00 ppm	94 %
MST-18	DK	Shampoo	Mandel: Olie (UM)	0,00 ppm	106 %
MST-20	DK	Sæbe	Mandel: Olie (UM)	0,00 ppm	55 %
MST-21	DK	Sæbe	Mandel: Olie (UM)	0,08 ppm	63 %
MST-22	Resten af EU	Creme	Mandel: Ekstrakt (UM) + olie (UM)	0,04 ppm	89 %
MST-23	Resten af EU	Creme	Mandel: Olie (UM)	0,02 ppm	85 %
MST-26	Resten af EU	Olie	Mandel: Olie (UM)	0,08 ppm	119 %
MST-27	Resten af EU	Olie	Mandel: Olie (UM)	0,01 ppm	99 %
MST-28	Resten af EU	Olie	Mandel: Olie (UM)	0,00 ppm	103 %
MST-30	Resten af EU	Shampoo	Mandel: Olie (UM)	0,00 ppm	83 %
MST-31	Resten af EU	Sæbe	Mandel: Ekstrakt (UM)	0,00 ppm	81 %
MST-34	Resten af EU	Creme	Mandel: Olie (UM)	0,03 ppm	81 %
MST-38	Uden for EU	Olie	Mandel: Olie (UM)	0,03 ppm	97 %
MST-41	Uden for EU	Creme	Mandel: Olie (UM)	0,20 ppm	75 %

\*Hvor det kosmetiske produkt er indkøbt. \*\*Creme: Creme, lotion og salver. Shampoo: Shampoo og shampoo+kropsvask produkter. Sæbe: Håndsæbe, kropssæbe, badsæbe og andre vaskeprodukter. \*\*\*Ingrediensstype. UM: Umodificeret. \*\*\*\*Procent genfindning af 5 ppm spike tilsat under analysen af det kosmetiske produkt.

## 5.7 Analyseresultater: Soja

Sojaolie var den hyppigste ingrediens i de kosmetiske produkter, der blev analyseret for soja-protein (TABEL 21). Alle produkter lå under eller tæt på ELISA'ens detektionsgrænsen (0,2 ppm). I metodevalideringen blev det fundet, at detektionsgrænsen og kvantificeringsgrænsen

var en del højere, når der blev analyseret på kosmetikmatricer. I valideringen af kosmetikmatricer blev der generelt fundet en detektionsgrænse på omkring 1 ppm (se TABEL 17). Det må derfor antages, at der ikke kan detekteres sojaprotein i de analyserede produkter da de målte koncentrationer er langt under 1 ppm (TABEL 21). Analyse af spike-prøverne viser en rimelig genfinding (dvs. en spike genfinding tæt på 100%) af sojaprotein i de kosmetiske produkter (TABEL 21). Dette indikerer, at analysen kan gennemføres på de udvalgte kosmetiske produkter.

**TABEL 21.** Analyseresultater for kosmetiske produkter indeholdende soja.

Produkt ID	Indkøbssted*	Kategori**	Indhold***	Koncentration	Spike****
MST-08	DK	Creme	Soja: Protein (H)	0,21 ppm	2 %
MST-09	DK	Creme	Soja:olie (UM)	0,30 ppm	75 %
MST-14	DK	Olie	Soja:olie (UM)	0,32 ppm	51 %
MST-15	DK	Olie	Soja:olie (UM)	0,13 ppm	125 %
MST-24	Resten af EU	Creme	Soja:olie (UM)	0,28 ppm	96 %
MST-28	Resten af EU	Olie	Soja:olie (UM)	0,00 ppm	50 %
MST-34	Resten af EU	Creme	Soja:olie (UM)	0,00 ppm	99 %
MST-35	Uden for EU	Creme	Soja:olie (UM)	0,08 ppm	79 %
MST-39	Uden for EU	Olie	Soja:olie (UM)	0,22 ppm	44 %
MST-40	Uden for EU	Shampoo	Soja: Protein (HKM)	0,00 ppm	118 %

\*Hvor det kosmetiske produkt er indkøbt. \*\*Creme: Creme, lotion og salver. Shampoo: Shampoo og shampoo+kropsvask produkter. Sæbe: Håndsæbe, kropssæbe, badsæbe og andre vaskeprodukter. \*\*\*Ingrediensstype. UM: Umodificeret. H: Hydrolyseret. HKM: Hydrolyseret og andet kemisk modifikation. \*\*\*\*Procent genfinding af 10 ppm spike tilsat under analysen af det kosmetiske produkt.

## 5.8 Delkonklusion

Overordnet kan ELISA metoden anvendes til bestemmelse af tilstedeværelsen af mælkeprotein, mandelprotein og sojaprotein i kosmetiske produkter, når proteinerne er til stede i tilstrækkelig mængde. De specifikke kosmetikmatricer påvirker genfindingsgraden, detektionsgrænser og kvantificeringsgrænser. Der er derfor en vis usikkerhed ved bestemmelse af lave proteinkoncentrationer i kosmetiske produkter. Især kunne mælkeprotein findes i de kosmetiske produkter, hvor mælk er hel- eller proteiningrediens. Der er dog en væsentlig usikkerhed ved bestemmelse af mælkeproteinkoncentrationer i kosmetiske produkter ved brug af ELISA metoden. Der blev fundet mandelprotein i et enkelt cremeprodukt indeholdende mandelolie. Det er usikkert om kosmetiske produkter indeholdende olie fra mandel eller soja indeholder protein fra disse fødevarer, da niveauerne er meget tæt på analysens detektionsgrænse. Overordnet viste ELISA resultaterne at bestemmelse af indholdet af proteiner i kosmetiske produkter er afhængig af kosmetik produktets matrice og af den af type af fødevarerprotein der skal analyseres for.

## 6. Risikovurdering

Kosmetiske produkter, der indeholder fødevarer baserede ingredienser, er tilgængelige for danske forbrugere via køb i butikker og på internettet. Flere studier tyder på, at fødevarerallergi kan udvikles ved eksponering for fødevarerproteiner på huden. Der foretages en litteraturgennemgang med det formål at afdække, om der på nuværende tidspunkt er tilstrækkelig viden til at gennemføre en vurdering af risikoen ved brug af kosmetiske produkter der indeholder fødevarerproteiner i relation til fødevarerallergi hos børn.

Sammenlignet med kontaktallergi over for kemikalier er viden om sensibilisering over for fødevarerproteiner via huden begrænset. For kemikalier vides, at den enhed der skal bruges i risikovurderinger, er koncentration pr. arealenhed (Api et al 2008). Det betyder, at det ikke er den totale dosis der anvendes. Baggrunden er, at der skal være en vis koncentration af stoffet til stede for at udløse en sensibilisering. Det vides ikke om dette også gælder for proteiner, men da mekanismen i de to former for sensibilisering ligner hinanden, antages det at det er koncentration pr. arealenhed der er afgørende for sensibilisering. Denne antagelse benyttes i det efterfølgende.

I analyserne af de kosmetiske produkter blev der fundet målbare indhold af mælkeprotein og mandelprotein, og det undersøges om det er muligt at finde sensibiliseringsdata, der kan bruges i en risikovurdering. Eksponeringsdata vil være baseret på analyseresultaterne.

### 6.1 Data fra mennesker: Elicitering

Kontaktallergi overfor kemikalier, en type IV reaktion, er hyppig i den humane population. Diagnosen stilles på basis af lappetest, dvs. elicitering efter eksponering, hvor den dosis, der anvendes, er høj nok til at inducere et allergisk respons og lav nok til ikke at udløse en irritation. Der bruges typisk én dosis, der er standard. Fisher et al (2011) har undersøgt muligheden for at bruge humane data for elicitering til at bestemme en sikker dosis for sensibilisering. Til det har de undersøgt data fra dosis-respons forsøg med otte forskellige kontaktallergener og bestemt den dosis, der gav positiv reaktion efter lappetest (elicitering) hos 10 % af den undersøgte population (ED10). De fandt at medianværdien for ED10 var 0,835 µg/cm<sup>2</sup>. De sammenlignede ED10 for elicitering med sensibiliseringsdata (EC3 fra Local Lymph Node Assay se afsnit 6.7) og fandt ingen åbenlys sammenhæng mellem sensibiliseringsdoser og eliciteringsdoser. Når først kontaktallergien er etableret, synes der ikke at være stor forskel på de doser der udløser symptomer (Fisher et al 2011).

Det vides ikke om det forholder sig på samme måde for sensibilisering over for proteiner, en type I allergi, og der er ikke data til at undersøge det. Derudover er den mest relevante eksponering for elicitering i dette projekt ikke huden men mavetarmkanalen. Der er mange dosis-responsdata på elicitering af fødevarerallergi efter oral eksponering der er brugt til at udregne ED01, ED05 etc. (Remington et al 2020), men der er ingen viden om sammenhængen med sensibiliseringsdata, hverken oral sensibilisering eller sensibilisering via hud eller luftveje.

Som det fremgår af ovenstående, kan eliciteringsdata fra mennesker ikke bruges til vurderingen af risikoen for sensibilisering.

### 6.2 Data fra Mennesker: Sensibilisering

Det har været kendt i mange år at proteiner kan sensibilisere via huden i arbejdsmiljøet, på engelsk kaldet "food handler dermatitis" (Hjorth and Roed-Petersen 1976, Lukács et al 2016).

Erkendelsen af at huden kan være sensibiliseringsvej for fødevareallergener, der ikke er arbejdsbetinget, er relativt ny. Formålet med dette afsnit er at undersøge studier med en veldokumenteret sammenhæng mellem sensibilisering via huden og fødevareallergi.

### **6.2.1 Protein fra jordnødder kan sensibilisere børn med atopisk eksem**

Det har historisk været vanskeligt at forklare, hvordan børn kunne få allergiske symptomer første gang de spiste en fødevarer. En mulig forklaring kom i 2003 med et studie der viste, at allergi over for jordnødder hos små børn korrelerede med brug af jordnøddeoliebaseret hudcreme hos børn med betændelse i huden (atopisk eksem/børneeksem). 91 % af de børn der fik symptomer på fødevareallergi efter indtag af jordnødder, var blevet eksponeret for jordnøddeoliebaseret hudcreme i de første seks levemåneder, i stor udstrækning i perioder hvor barnet havde eksem (Lack et al. 2003).

Senere studier har påvist allergener fra jordnødder i husstøv. Studier af sammenhængen mellem forekomsten af jordnøddeallergener i husstøv og sensibilisering over for jordnødder har vist, at eksponering for jordnøddeprotein i støvet (13-151 µg jordnøddeprotein/g støv) korrelerede med sensibilisering overfor jordnødder og sandsynlig fødevareallergi. Korrelationen var stærkest blandt børn med atopisk eksem. Der var ingen association mellem eksponering med jordnøddestøv og sensibilisering med jordnødder i gruppen af børn uden atopisk eksem, hvilket indikerer at sensibiliseringen fremmes af en beskadiget hudbarriere. Studiet indikerer også at en ufuldstændig hudbarriere, som det forekommer hos børn med filaggrinmutation der nedsætter hudbarrieren, ikke er tilstrækkeligt til sensibilisering, men at der også skal være en aktiv betændelsestilstand til stede (Brough et al 2013, 2014, 2015).

Hypotesen, at sensibiliseringen af små børn med jordnødder kan ske via hud med en aktiv betændelsestilstand, blev underbygget af senere studier af oral tolerance. Det viste sig at tidlig introduktion af jordnødder i kosten nedsatte hyppigheden af jordnøddeallergi i højrisikobørn dvs. børn med alvorlig eksem, allergi over for æg eller begge dele (Du Toit et al 2015).

Det er ikke muligt, ud fra tilgængelige studier, at sige noget om hvilke doser protein der har sensibiliseret da der ikke er analyser af fx creme for jordnøddeprotein der knytter mængde sammen med sensibilisering. Mængden af protein i husstøv kan ikke oversættes til eksponeringsdoser.

Teuber et al (1997) undersøgte jordnøddeolier for proteinindhold og viste at to højraffinerede olier havde et indhold på henholdsvis 3,0 og 5,7 µg protein/ml. To olier med lav grad af raffinering indeholdt 10,5 og 10,7 µg protein/ml. Mængderne korrelerede med graden af binding til IgE fra patienter med jordnøddeallergi. I et tilsvarende studie målte Olszewski et al (1998) protein-koncentrationen i kommercielle jordnøddeolier og fandt 0,1-0,2 µg protein/g. Blom et al (2017) citerer resultater fra et upubliceret studie, hvor højraffineret jordnøddeolie, der lever op til FE-DIOL (the European Vegetable Oil and Proteinmeal Association) standarder er blevet undersøgt. Resultaterne var en proteinkoncentration i raffineret jordnøddeolie på 0,69 mg jordnøddeprotein/kg (0,69 µg/g) baseret på 22 prøver med et indhold på 0,070 til 1,756 mg/kg.

Data på proteinindholdet i jordnøddeolie varierer altså fra 0,1-10,7 µg/g. Disse data kan desværre ikke knyttes til de kliniske studier.

### **6.2.2 Syrehydrolyseret hvedegluten kan bryde oral tolerance over for hvede**

Gluten kan hydrolyseres med enzymer eller ved brug af syre og opvarmning. Syrehydrolyse medfører forskellige grader af deamidering og ændrer de fysiske-kemiske egenskaber på en måde der gør produktet egnet som emulgator der kan bruges i kosmetik- og fødevarerindustrien (Kroghsbo et al 2014, Ballegaard et al 2021).

Pecquet et al. beskrev i 2002 et tilfælde af urtikaria (nældefeber) hos en kvinde med atopi, der havde brugt en hudcreme med hydrolyseret hvedeprotein. Kvinden fik senere generaliseret urtikaria efter at have spist en fødevarer med hydrolyseret hvedeprotein fra den samme producent. Kvinden kunne godt spise produkter med almindelig hvede. Selvom sensibiliseringsvejen ikke



er kendt, foreslår forfatterne at kronologien af reaktioner tyder på huden som sensibiliseringsvej. Andre beskrivelser af tilfælde fulgte, men det var ikke fuldstændigt klart, hvordan sensibiliseringen var foregået eller hvilken type af hydrolyseret gluten der var tale om (Leduc et al 2003, Laurière et al 2006). Der er senere kommet beskrivelser af allergiske reaktion overfor fødevarer med syrehydrolyseret gluten fra Finland (Pelkonen et al 2011) og Danmark (Christensen et al 2018). Sensibiliseringsvejen var heller ikke kendt i disse tilfælde, men det har været karakteristisk for de europæiske tilfælde at personerne godt kunne spise almindelige hvedeprodukter. IgE fra personer med allergi over for syrehydrolyseret hvede kan binde til deamiderede epitoper (glutamin til glutaminsyre) i gluten og bindingen tillægger med øget grad af deamidering (Denery-Papini et al. 2012).

Rapporter fra Japan beskrev IgE medierede reaktioner over for en ansigtssæbe med syrehydrolyseret gluten og fødevarerallergi over for almindelig hvede hos voksne (Fukutomi et al 2011, Chinuki et al 2011, Nakamura et al 2013). Sæben havde været brugt af et stort antal mennesker og et epidemiologisk studie viste korrelation mellem brug af sæben og hvedeallergi (Fukutomi 2014). I de Japanske tilfælde var det klart at sensibiliseringen var sket via huden. Kombinationen af syrehydrolyseret gluten og detergent i sæben kan have bidraget til sensibiliseringen, men også længden af eksponering. Patienterne beskrevet af Fukutomi et al (2011) havde brugt sæben i 1-3 år før de fødevarerrelaterede symptomer startede. Det er karakteristisk for de Japanske tilfælde, sammenlignet med de Europæiske, at tolerancen over for almindelig hvede brydes.

Cosmetic Ingredient Review, CIR (2014) beskriver indhold af hydrolyseret hvedegluten i kosmetiske produkter op til 0,09% (900 µg/g). Den Japanske sæbe indeholdt 0,3 % (3 mg/g) syrehydrolyseret gluten (Fukutomi et al 2014) dvs. 1 g sæbe gav en eksponering på 3 mg syrehydrolyseret gluten.

### **6.2.3 Mælk**

Bruusgaard-Mouritsen et al (2020) har gennemgået litteraturen der beskriver reaktioner over for fødevarerproteiner i huden. De beskriver fire tilfælde af type I reaktioner over for mælkeproteiner hvor den forudgående historie antyder at sensibilisering over for mælk er foregået via huden. De to af tilfældene er små børn (alder 11 og 12 mdr). De to andre er kvinder på 16 og 35 år.

### **6.2.4 Havre**

Cremer med havre forbedrer hudbarrieren og bruges i behandlingen af eksem og kan give både type I og IV reaktioner efter hudeksponering (Bruusgaard-Mouritsen et al 2020). Bruusgaard-Mouritsen et al (2020) beskriver to tilfælde af type I sensibilisering og fire tilfælde af kombineret type I og IV sensibilisering. Et af de beskrevne tilfælde, en kvinde på 33 år, fik symptomer i munden efter oral indtagelse af havre.

### **6.2.5 Soja**

Sojaprotein bruges i forskellige kosmetiske produkter. Der er beskrevet to tilfælde af Type I allergi over for sojaprotein efter hudeksponering, hvor den ene, en kvinde på 30 år, udviklede alvorlige allergiske symptomer efter at have spist sojaprodukter (Bruusgaard-Mouritsen et al 2020).

### **6.2.6 Delkonklusion**

Der er to velbeskrevne sammenhænge mellem eksponering for fødevarerallergener på huden og fødevarerallergi. Den ene hos små børn (jordnødder) og den anden hos voksne (syrehydrolyseret gluten).

Børnene, der havde atopisk eksem og ikke var tolerante overfor jordnødder, er sandsynligvis blevet sensibiliseret af lave doser jordnøddeprotein og både hudens tilstand og den manglende orale tolerance har været af afgørende betydning (Brough et al 2015, Du Toit et al 2015). Der kan ikke ud fra undersøgelserne udledes data om sammenhængen mellem dosis af jordnøddeprotein, hyppighed og varighed af eksponering og risikoen for sensibilisering.

Sammenhængen, at hudsensibilisering kan lede til fødevareallergi, hvis der ikke er etableret oral tolerance, er blevet formuleret som "the dual allergen exposure hypothesis" (Lack 2012) som antages at gælde for fødevareallergener generelt.

I de japanske studier af hudeksponering med syrehydrolyseret gluten drejer det sig om voksne der må antages at være tolerante over for hvede og dermed gluten. Beskrivelserne tyder på, at huden ikke har været beskadiget inden brug af sæben begyndte, så den initiale kontakt har været på intakt hud. Det er ikke muligt at udregne en eksakt dosis/arealenhed, men indholdet af syrehydrolyseret gluten i sæben antyder en eksponeringsdosis der kan være 1000 gange højere end den eksponering med protein fra jordnøddolie, der har sensibiliseret små børn med eksem. Dette peger på, at der skal en højere dosis til at bryde en i forvejen etableret tolerance. Derudover spiller de nye epitoper dannet efter syrehydrolyse også en rolle (Ballegaard 2021).

### **6.3 Dyrestudier: Elicitering**

Data om elicitering, der typisk vil være anafylaktisk chok efter oral eksponering, omtales i afsnittet om sensibilisering. I tråd med teksten om elicitering i mennesker, er det usandsynligt at data om elicitering efter hudeksponering i dyr, vil kunne gøre os klogere på sensibiliseringsdoser.

### **6.4 Dyrestudier: Sensibilisering**

Til en indledning er det vigtigt at slå fast, at dyrestudierne der undersøger sensibilisering over huden med fødevareallergener, ikke er designede med det formål at lave risikovurdering. De er typisk udført for at undersøge om det er muligt at sensibilisere med proteiner over huden, hvilke forhold der er af betydning og konsekvenserne for fødevareallergi. Derfor er der mange bud på hvordan sådanne forsøg kan designes og det gør det vanskeligt at sammenligne dem. Erkendelsen af at sensibilisering over huden kan have konsekvenser der strækker sig videre end huden og betydningen af oral tolerance er relativ ny (Lack et al. 2003). Det er måske derfor videnskaben stadig er optaget af mekanismer snarere end overvejer hvordan der skal udføres risikovurderinger.

#### **6.4.1 Faktorer der skal inddrages i vurdering af dyremodeller for hudsensibilisering med proteiner**

##### **6.4.1.1 Dyremodeller for hudsensibilisering med fødevareproteiner**

Det første studie der påviste at påføring af fødevareprotein på huden af mus kunne lede til dannelse af specifik IgE, et såkaldt Th2 respons, er fra 1996 (Wang et al. 1996). Siden er der kommet en lang række studier i dyr der undersøger sensibilisering med proteiner via huden. Der er primært brugt mus i forsøgene, men der har også været brugt rotter, marsvin og hunde (Spergel et al. 1998; Fallon et al. 2009; Dunkin, Berin and Mayer, 2011; Marsella, 2015; Matsunaga et al., 2015; Ballegaard et al. 2019). Der er brugt mange forskellige eksperimentelle designs af mange forskellige forskningsgrupper. De enkelte grupper har som regel udført få forsøg med det samme design, hvilket gør det vanskeligt at sammenligne de forhold der skal til for at sensibilisering sker.

##### **6.4.1.2 Fødevarer - fødevareproteiner**

Der findes kun forsøg med tre forskellige fødevarer, hvor vi har oplysninger om dosis-respons. Det er 1. Ovalbumin (OVA) fra hønsæg, der har været brugt som modelstof af mange forskningsgrupper, 2. valleprotein koncentrat og hydrolysater af valleprotein fra komælk og 3. gluten fra hvede og hydrolysater af gluten (se afsnit 6.4.2).

Ikke alle proteiner sensibiliserer tilsyneladende lige effektivt. Sammenligning af forskellige fødevarer har vist at ekstrakt fra jordnødder eller cashew nødder er bedre til at sensibilisere end ekstrakter fra soja eller grønne bønner (Tordesillas et al 2014).

Både rene proteiner og proteinekstrakter kan altså sensibilisere, men betydningen af matrix er ikke klar. I et studie viste Wawrin et al (2014) at eksponering med mælkeprotein resulterede i betalaktoglobulin (BLG)-specifik IgE, men det gjorde eksponering med ren BLG ikke, så her har der været en effekt af de øvrige komponenter i mælken.

### 6.4.1.3 Dyr

Forsøgene med dosis-respons bruger Balb/c mus, der er den musestamme der giver højst respons i orale forsøg med fødevareallergener (Smit et al 2011) eller Brown Norway rotter, der også bruges til at studere fødevareallergi i andre sammenhænge, da det er en såkaldt høj IgE responder stamme (Ballegaard 2019).

### 6.4.1.4 Foder

Dyrenes foder er en vigtig parameter i forhold til at vide om dyrene er naive eller tolerante over for den fødevare der bliver brugt til sensibilisering. I forsøgene med OVA er der ingen oplysninger om foderet, men da æg ikke indgår i almindeligt foder til mus, kan det med stor sandsynlighed antages at dyrene ikke har fået æg i foderet og altså er naive i forhold til æg. I studiet med valleproteiner er det specificeret at dyrene er på mælkefrit foder. I forsøgene med glutenproteiner er dyrene enten på glutenfrit foder eller på glutenholdigt foder og dermed enten naive i forhold til gluten eller tolerante. Forsøgene viste at oral tolerance beskyttede imod udvikling af allergi over for gluten, hvilket understøtter vigtigheden af at være eksponeret for en fødevare via munden så oral tolerance kan etableres før eksponering med fødevaren på huden forekommer (Ballegaard et al 2019, 2021, Larsen et al 2022).

### 6.4.1.5 Hudens tilstand

Atopisk eksem i mennesker er en kendt risikofaktor for udvikling af fødevareallergi (Martin et al 2015) ligesom mutationer i det gen der koder for fillagrin, et protein der er essentiel for opretholdelse af en normal hudbarriere, yderligere er blevet associeret med udvikling af fødevareallergi (Brown et al. 2011).

Hudens tilstand er derfor en afgørende faktor i dyreforsøgene. Det er ikke altid tydeligt i beskrivelserne af forsøgene hvilken tilstand huden har været i før og under eksponeringen for allergener.

I de forsøg hvor stoffet påføres kroppen er det nødvendigt at klippe hårene af og gentage dette jævnligt fx én gang om ugen. Det foregår typisk med en elektrisk klipper. I nogle studier er også brugt hårfjerningscreme.

Skader på huden kan fremme sensibilisering. Den såkaldte "tape-stripping", hvor man bruger almindelig tape 3-10 gange for at fjerne det yderste lag af huden påvirker hudens tilstand og fremmer cytokinproduktionen i huden. Det bruges som surrogat for kradsen med neglene som forekommer hyppigt ved atopisk eksem (Oyoshi et al., 2009).

Både tape-stripping og brug af hårfjerningscreme kan skade huden og forårsage betændelse med øget produktion af cytokiner (Wavrin et al 2014, Galand et al 2016, Pazos-Castro et al 2022).

En anden måde at påvirke huden på er at påsmøre vitamin D analogen MC903, som giver hudforandringer der ligner atopisk eksem (Noti et al 2014).

Brugen af lapper (patches) til påføring af fødevarer kan også påvirke huden. Spergel et al (1998) fandt at efter 3 uger med lapper var huden fortykket med betændelse hos dyrene der var doseret med OVA, men ikke hos dyrene der kun var doseret med saltvand. Iwamoto et al (2019) finder også histologiske forandringer i huden efter tape-stripping og okklusion. De antager at tape-stripping aktiverer Langerhans celler i huden der fremmer optagelse af protein fra overfladen parallelt til hvad der sker ved atopisk eksem (for yderligere uddybning se afsnit 1.5)

### 6.4.1.6 Påføring og okklusion

Det er vigtigt at dyrene ikke kan indtage fødevaren gennem munden. Det er sikkert forklaringen på at mange studier bruger lapper der fastgøres i op til uger ad gangen. Når stoffet påføres ved hjælp af lapper der sidder længe på huden, er det sandsynligt at hudens permeabilitet og dermed optagelsen af stoffet påvirkes (se afsnit 6.4.1.5).

#### 6.4.1.7 Varighed og dosis-respons

Både dosen og varigheden af doseringen er af betydning. I et studie med sesam i mus viste Navuluri et al (2006) at 5 µg/mus (0,05 mg/ml) ikke kunne inducere målbart specifik IgG1 og IgE. 50 µg/mus (0,5 mg/ml) inducerede kun IgG1 og 500 µg/mus inducerede både et IgG1 og et IgE respons (5 mg/ml). Derudover var der tydelige tegn på at varigheden spillede en rolle. Andre har fundet lignende resultater (Birmingham et al. 2007, Parvataneni et al. 2009).

#### 6.4.1.8 Post-immunisering

Immunisering efter hudsensibilisering kan bruges til yderligere at stimulere immunsystemet og dermed gøre det lettere at måle effekten af hudsensibilisering. I forskellige forsøg er der foretaget post-immunisering i luftveje og mave-tarm-kanal (oral) (Morita et al 2012, Tordesillas et al 2014, Ballegaard et al 2019). Oral post-immunisering er mest relevant i den aktuelle sammenhæng.

#### 6.4.1.9 Påvisning af sensibilisering

De fleste studier bruger ELISA metoder til påvisning af specifik IgE og IgG1 i blodet som mål for sensibilisering. Derudover måles fx Th2 cytokiner efter stimulation af celler fra lymfeknuder eller milt. I nogle studier måles anafylaktisk chok efter provokation for at vise at det målte specifikke IgE er funktionelt dvs. kan udløse en allergisk reaktion.

### 6.4.2 Vurdering af udvalgte studier

Nedenfor er medtaget studier, hvor der er oplysning om doser pr. arealenhed og hvor der er undersøgt flere doser og dermed er oplysninger om dosis-respons. Det drejer det sig om studier med 1. OVA fra hønseæg, 2. valleprotein og hydrolysater af valleprotein fra komælk og 3. gluten og modificerede former for gluten. De tre studier der undersøger de laveste doser gennemgås i det følgende.

#### 6.4.2.1 Ovalbumin (OVA)

Wang et al (1996) er de første der bruger en fødevarer til at undersøge sensibilisering med protein over huden i mus. Det bagvedliggende spørgsmål er om proteiner i latex kan sensibilisere over huden. Antagelsen indtil da har været, at hudens hydrofobe barriere og proteinernes størrelse gør at proteiner ikke kan sensibilisere over huden.

Studiet blev udført i Balb/c mus, der blev barberet på ryggen. OVA påførtes med en patch der sad en uge ad gangen og blev fornyet efter 4 dage. Denne procedure blev gentaget 2x med 2 ugers mellemrum eller 5x, formodentlig med 2 ugers mellemrum. Patchen blev fastholdt med bandage. Doserne var 10.000, 100 eller 10 µg/cm<sup>2</sup> i 2x forsøget. Der påvist specifik IgE i blodet samt T-celle og cytokin produktion efter stimulation af celler fra den regionale lymfeknude som godtgør at det er en type I allergi. IgE niveauet var det samme i de tre dosisgrupper. I 5x forsøget doseredes dyrene med 10.000, 100 eller 1 µg/cm<sup>2</sup>. Dyrene doseret med 10.000 og 100 µg/cm<sup>2</sup> dannede specifik IgE. 1/6 dyr doseret med 1 µg/cm<sup>2</sup> udviklede et lavt, men målbart IgE respons. Der er ikke lavet statistik på resultaterne, men responset i den lave gruppe er højst sandsynligt ikke statistisk signifikant. Forfatterne konkluderer, at længden af eksponeringsperioden har betydning for hvilken dosis der sensibiliserer. De påviser, at der er lymfocytinfiltration i huden efter eksponering, hvilket er i tråd med den nuværende viden at lang tids eksponering med okklusion inducerer forandringer i huden der ligner atopisk eksem (Iwamoto et al 2019).

Resultatet af dette forsøg er at OVA kan inducere et specifikt IgE respons i dyr med en tilstand af huden der minder om atopisk eksem. Dosen 10 µg/cm<sup>2</sup> giver et klart positivt respons efter 2 ugers dosering. Dosen 1 µg/cm<sup>2</sup> er efter 5 ugers dosering på kanten til at kunne sensibilisere. Det er altså ikke muligt, på basis af dette studie, at fastsætte et No Expected Sensitizing Induction Level (NESIL). Det laveste effektniveau (LOAEL) ligger mellem 1 og 10 µg/cm<sup>2</sup>.

#### 6.4.2.2 Valleproteinkoncentrat (VPC) og hydrolysater af VPC

Iwamoto et al (2019) har undersøgt den sensibiliserende effekt af valleprotein og 2 hydrolysater af valleprotein. Studiet udførtes i Balb/c mus på mælkefrit foder, 8 dyr pr. hold, der blev barberet på ryggen og tape-stripped 6 gange. Stofferne blev påført på to 1 cm<sup>2</sup> store patches fastholdt med tape der sad én uge ad gangen med 2 ugers pause enten 2x eller 3x. Dosen var 3 µg i alt, 1,5 µg/cm<sup>2</sup>. Resultaterne af hovedforsøget med 2x dosering var forøget BLG-specifik IgE i blodet, basofil aktivering, cytokin produktion og forøget koncentration af mastcelleprotease i blodet og anafylaksi efter provokation. Histologi efter 3x dosering viste forøget antal eosinofile i huden og undersøgelse af blodet viste yderligere forøget BLG-specifik IgE sammenlignet med 2x doseringen. Alle disse forandringer sås kun i holdet doseret med valleproteinkoncentrat (VPC) og ikke i holdene med de 2 hydrolysater. Forfatterne konkluderer at den brugte tape-stripping har skadet hudens yderste lag, stratum corneum, og induceret migration af Langerhans celler i lighed med hvad der ses ved atopisk eksem.

Resultatet af dette forsøg er at valleproteinkoncentrat kan inducere et BLG specifikt IgE respons i dyr, hvor hudens tilstand minder om atopisk eksem. Dosen 1,5 µg/cm<sup>2</sup> giver et klart positivt respons efter 2 ugers dosering. BLG udgør 33 % af det brugte VPC og der er derfor doseret med 0,5 µg BLG/cm<sup>2</sup>. Da det ikke kan udledes af forsøget om det er BLG alene der har udløst responset eller om de andre valleproteiner bidrager til sensibiliseringen, bruges dosen 1,5 µg VPC/cm<sup>2</sup> i det videre. Valle udgør 20 % af proteinfraktionen i mælk (Maryniak et al 2022). Skal eksponeringen med VPC omregnes til den tilsvarende eksponering med mælkeprotein bliver den 5 x højere = 7,5 µg mælkeprotein/cm<sup>2</sup>. Denne dosis tager ikke højde for en evt. sensibiliserende effekt af kasein, der udgør 80 % af proteinerne i mælk. Der er ingen effekt af dosering med hydrolysaterne. Vi kender ikke mængden af intakt protein i hydrolysaterne, men PHW1 indeholder 2 % protein med en molekylvægt > 5000 Dalton og PHW2 4 % protein med en molekylvægt > 5000 Dalton. Det er ikke muligt på basis af disse informationer at udregne mængden af intakt protein og dermed et NESIL for intakt protein.

Det er altså ikke muligt, på basis af dette studie, at fastsætte et NESIL. LOAEL er 7,5 µg mælkeprotein/cm<sup>2</sup>.

#### 6.4.2.3 Gluten og hydrolysater af gluten

Ballegaard et al (2019, 2021) har brugt Brown Norway (BN) rotter naive over for gluten til at undersøge sensibilisering med gluten og hydrolysater af gluten. Dyrene blev barberet på maven og huden blev skrabet let med sandpapir før stoffet blev påført og dækket med forbindelse i en time for at undgå at dyrene kunne blive eksponeret for stoffet oralt. Efter en time blev forbindingen fjernet og det doserede hudstykke vasket af. Doseringen er altså den dosis der optages i huden i løbet af en time. Dette blev gentaget 3 dage om ugen i 5 uger. I Ballegaard et al. (2021) blev dyrene doseret med 5, 50 eller 500 µg/cm<sup>2</sup>. Efter huddoseringen doseredes dyrene med mave-sonde med gluten 2x med en uges mellemrum.

Gluten: Specifik serum IgE efter 50 eller 500 µg/cm<sup>2</sup> med dosis-respons.

Enzymhydrolyseret gluten: Specifik serum IgE efter 5, 50 eller 500 µg/cm<sup>2</sup> med dosis-respons. 5/8 dyr doseret med 5 µg/cm<sup>2</sup> har lavt men målbart IgE.

Syrehydrolyseret gluten 1: Specifik serum IgE efter 50 eller 500 µg/cm<sup>2</sup> med dosis-respons.

Syrehydrolyseret gluten 2: Specifik serum IgE efter 50 eller 500 µg/cm<sup>2</sup> med dosis-respons.

Syrehydrolyseret gluten 3: Specifik serum IgE efter 50 eller 500 µg/cm<sup>2</sup> med dosis-respons.

Der er forøget væsketab over huden lige efter skrabning med sandpapir som der også ses ved atopisk eksem, men ingen celleinfiltration dvs. ingen betændelsesforandringer (Larsen et al 2022).

På basis af dette studie er NESIL for gluten og de tre syrehydrolyserede gluten 5 µg/cm<sup>2</sup>. LOAEL for enzymhydrolyseret gluten er 5 µg/cm<sup>2</sup>.

#### 6.4.2.4 Sammenfatning dyrestudier

De tre studier med dosisrespons er alle udført i dyr der er naive i forhold til de allergener der undersøges. To af disse er foretaget med langvarig okklusion der medfører forandringer i huden der ligner atopisk eksem. I det tredje studie er forandringerne i huden lette. I dette studie er den effektive doseringsperiode én time 3x om ugen i 5 uger efterfulgt af stimulation af immunsystemet i mave-tarm-kanalen.

Larsen et al (2022) har sammenlignet forskellige hudtilstandes indflydelse på sensibilisering i samme model som Ballegaard (2019, 2021). Konklusionen af dette studie er at hud skrabet med sandpapir og huden med forandringer der minder om irritativ kontaktallergi (dosering med SLS) eller atopisk eksem (dosering med MC903) ikke påvirker sensibiliseringsgraden sammenlignet med intakt hud. I dette studie doseres med 500 µg/cm<sup>2</sup>. Det er ikke til at vide om konklusionen ville være den samme ved lavere doser.

Selvom forsøgene er udført forskelligt og stofferne er forskellige ser det ud til at LOAEL er i samme størrelsesorden nemlig under 10 µg/cm<sup>2</sup>.

Gluten og de syrehydrolyserede gluten har en NESIL på 5 µg/cm<sup>2</sup> efter postimmunisering med gluten.

Data der kan tages videre til risikovurderingen er:

LOAEL for mælkeprotein på 7,5 µg/cm<sup>2</sup> og intet NESIL.

Der er ingen data på mandelprotein. Bruger vi data fra OVA og valle i risikovurderingen af mandelprotein har vi et LOAEL på mellem 1 og 10 µg/cm<sup>2</sup> og intet NESIL.

Data fra forsøgene med gluten bruges ikke til risikovurdering af mandel da gluten udgøres af en gruppe proteiner der er meget store med helt særlige fysisk-kemiske egenskaber, der ikke ligner proteinerne i mandel.

### 6.5 Konklusion på analyseresultater til brug for delrapport 3

#### 6.5.1 Mælk

Prøven MST-04 er en creme med hydrolyseret mælkeprotein. Da ELISA metoden er udviklet til at teste intakt protein og hydrolyseringsgraden ikke kendes kan resultatet ikke bruges til en bestemmelse af mængden af mælkeprotein.

Flere af produkterne viste en lav genfinding af det tilsatte spike protein (se TABEL 19). Det er derfor vanskeligt at sige noget generelt om i hvor høj grad det er lykkedes at bestemme mængden af det tilstedeværende mælkeprotein ved hjælp af den anvendte ELISA metode. Det antages derfor, at de fundne værdier er minimumsværdier. Det skal dog bemærkes at resultaterne fra genfindingsforsøget (tabel 14) viste god genfinding af mælkeprotein i olie og creme. Analyseresultaterne (TABEL 19) fra tre sæber (MST-19, MST-32, MST-33), tre cremer (MST-25, MST-36, MST-37) og en shampoo (MST-29) tages direkte med over i risikovurderingen.

#### 6.5.2 Mandel

Der er en høj til meget høj genfinding af mandelprotein i alle produkttyper, hvilket gør resultaterne troværdige mht. muligheden for at detektere mandelprotein og det målte indhold. Alle resultater, på nær et, ligger under detektionsgrænsen (TABEL 20). Det er et produkt MST-06, en creme, med målbart indhold af mandelprotein og dette resultat tages med over i risikovurderingen.

#### 6.5.3 Soja

Prøven MST-08 er en creme med hydrolyseret sojaprotein og MST-40 er en shampoo med modificeret protein (hydrolyseret og anden kemisk modifikation). Da ELISA metoden er udviklet til at teste intakt protein og hydrolyseringsgraden ikke kendes kan resultatet ikke bruges til en kvantitativ vurdering.

Der er en høj til meget høj genfinding af sojaprotein i alle andre produkttyper, hvilket gør resultaterne troværdige mht. muligheden for at detektere sojaprotein og det målte indhold. Alle prøver ligger under grænsen der kan kvantificeres (2 ppm) og tæt på metodens detektionsgrænse (0,2 ppm) (TABEL 21). Alle prøver anses derfor for ikke at indeholde målbare mængder sojaprotein og tages derfor ikke med over i risikovurderingen.

## 6.6 Eksponering baseret på analysedata

### 6.6.1 Eksponeringsscenarioer for de udvalgte produkter:

I TABEL 22 nedenfor er der foretaget vurdering af småbørns eksponering for de analyserede produkter, som indeholdt en målbar koncentration af fødevarerprotein (se TABEL 19). Da der ikke kunne påvises målbare mængder sojaprotein i de udvalgte produkter, er der udelukkende foretaget en risikovurdering for indhold af mælk eller mandel.

**TABEL 22. Oversigt over produkter benyttet i risikovurderingen**

Produkt ID	Kategori	Indhold	Protein koncentration (µg/g) (ppm)
MST-06	Creme (helkrop)	Mandel: Olie (UM)	43,07
MST-19	Sæbe (shower gel)	Mælk: Protein (UM)	36,09
MST-25	Creme (helkrop)	Mælk: Hel (UM)	10,07
MST-29	Shampoo	Mælk: Hel (UM)	3,91
MST-32	Sæbe (shower gel)	Mælk: Hel (UM)	250,54
MST-33	Sæbe (shower gel)	Mælk: Hel (UM)	101,66
MST-36	Creme (helkrop)	Mælk: Hel (UM)	4,36
MST-37	Creme (helkrop)	Mælk: Protein (F)	121,71

De ovenstående cremer er alle bodylotions målrettet babyer eller mennesker med tør hud/ato-pisk eksem. Det formodes, at det er mest sandsynligt at de udvalgte cremer anvendes på hele kroppen, inkl. i bleområdet, hvor huden er okkluderet og kan være beskadiget (jf. SCCS' Notes of Guidance).

### 6.6.2 Metode til udregning af eksponering

Eksponeringsvurderingen for de udvalgte kosmetiske produkter er foretaget med udgangspunkt i den nyeste udgave af SCCS' Notes of Guidance fra 2021 (SCCS/1628/21).

Eksponering til fødevarerproteiner igennem huden beregnes som dosis/areal eksponeret hud. Den eksterne dermale eksponering udregnes pr. produkt ved hjælp af følgende formel:

$$E_{\text{dermal } x} = C_x \times q_x \times f_{\text{ret } x}$$

$E_{\text{dermal } x}$ (µg/dag):	Daglig dermal eksponering fra produkt x
$X$ :	Produkt
$C_x$ (µg/g):	Koncentrationen af ingrediens i produkt x
$q_x$ (g/dag):	Mængde af produkt som anvendes pr. dag
$f_{\text{ret } x}$ :	Retentionsfaktor for produkt x

For leave-on produkter som creme benyttes en retentionsfaktor på 1. For rinse-off produkterne (shampoo og sæbe) benyttes en retentionsfaktor på 0,01 i henhold til SCCS' Notes of Guidance. Den daglige dermale eksponering divideres med det eksponerede hudareal. Eksponeringsscenarioerne er foretaget for børn, som ikke tidligere har været eksponeret oralt for hhv. komælk eller mandel, og hvor den dermale eksponering dermed udgør første eksponering.

Indtaget af komælk for danske børn beskrives i rapportens afsnit 4.1 og viser, at 55 % af spædbørn ved 4-månedersalderen fuldammes. Lidt over halvdelen af spædbørnene er derfor endnu ikke blevet udsat for komælk via kosten (modermælkserstatning eller fødevarer) ved 4-månedersalderen. Derfor er alle eksponeringsscenarier udregnet for et barn i 4-månedersalderen. Ifølge kostundersøgelsen bliver trænødder (herunder mandler) en del af kosten langt senere. Som det fremgår af afsnit 4.2.4 figur 5 er det under 10% af de 6-7 måneder gamle spædbørn, som indtager trænødder. I 12-månedersalderen er andelen >50 %.

Det formodes, at den gruppe af spædbørn, som er i størst risiko for at udvikle allergi for enten mælk eller mandel, er de spædbørn som udsættes for den højeste samlede dosis af hhv. mælk eller mandel/areal eksponeret hud. Den estimerede dosis er afhængig af koncentrationen i de analyserede produkter samt af de mængder af kosmetiske produkter, som anvendes på børnene.

### 6.6.3 Datagrundlag for spædbørns udsættelse for de udvalgte kosmetiske produkter.

Den mængde af de udvalgte kosmetiske produkter, som anvendes på småbørn, er forsøgt estimeret vha. relevante vejledningsdokumenter. Ifølge SCCS' vejledning er omfattende eksponeringsdata for småbørns udsættelse for kosmetiske produkter, som er repræsentativt for hele den europæiske befolkning, ikke tilgængeligt i den åbne litteratur. Referencer på nyere studier (fra 2015-2020), som undersøger, hvor store mængder som anvendes på småbørn, inden for specifikke kosmetiske produktkategorier, er refereret i SCCS' vejledning i tabel A.7. Der findes bl.a. originale studier omhandlende franske børn (Ficheux et al. 2016 og 2019, Gomez-Berrada et al. 2017a) samt et metastudie omhandlende småbørn fra lande i og uden for Europa (Gomez-Berrada et al. 2017b). Desuden findes et mindre antal studier fra USA og Asien. For hovedparten af studierne er småbørn samlet i en aldersgruppe fra 0-23/24 måneder og det er derfor svært eller umuligt at udlede specifikke data for spædbørn.

Det vurderes at de mest repræsentative værdier vedr. mængde og frekvens af de udvalgte produktkategorier shampoo, sæbe og creme (til hele kroppen) som anvendes på småbørn kan findes i studiet af Gomez-Berrada et al. 2017a fordi dette studie beskriver europæiske forhold og fordi det er muligt at udlede anvendte mængder af de kosmetiske produkter på småbørn. Studiet undersøgte franske småbørns eksponering for 7 hyppigt benyttede kosmetiske produkter målrettet småbørn under realistiske forhold. 78 småbørn deltog i studiet, som fandt sted i 2010-2011. Produkterne blev udleveret ved forsøgets start og familierne selvrapporterede frekvensen af brug, mens mængden af produkterne blev målt. Fra dette studie er det muligt at udlede hvor store mængder af de relevante produktkategorier sæbe, shampoo og creme som blev benyttet på 50 % percentilen af småbørn i alderen 0-5 måneder.

**TABEL 23. Anvendte kosmetikmængder for 0-5 måneder gamle børn\***

Produkt	Percentil	mængde	alder	kommentar
Sæbe (shower gel, body)	P50	4,5 g	0-5 mdr	Per gang
Shampoo	P50	2,7 g	0-5 mdr	Per gang
Creme	P50	1,0 g	0-5 mdr	Per gang

\*Fra Gomez-Berrada et al. 2017a

95 percentilen (P95) af de undersøgte børn fik vasket hår og blev vasket med sæbe (shower gel) hver dag. Halvdelen (P50) blev smurt ind i creme hver dag, mens 95 percentilen blev smurt ind 2 gange dagligt. I eksponeringsvurderingerne antages det at børnene smøres ind i creme 2 gange dagligt fordi en del af produkterne er målrettet tør eller rød hud og 2 daglige indsmøringer anbefales til børn med atopisk eksem (atopiskeksemforening.dk).



#### 6.6.4 Eksponeringsscenario for anvendelse af de udvalgte produkter i bleområdet.

Huden i bleområdet er særligt udsat for at blive rød og irriteret. I forbindelse med overgang til fast føde fra 6-12 måneder er risikoen muligvis større og dette kunne være relevant ifm. dermal eksponering for mandel, men rødme og irritation i bleområdet optræder også hos yngre børn. Et enkelt af produkterne (MST-25) er målrettet brug ved beskadiget hud eller atopisk eksem og det må formodes at det er realistisk at det muligvis vil blive anvendt udelukkende i bleområdet, se scenarie 5).

ECHA's vejledning vedr. forbrugereksponeering (ECHA Guidance, Chapter R.15) anbefaler det digitale forbrugereksponeeringsprogram CONSEXPO, udviklet af RIVM. Data som benyttes i programmet kan bl.a. findes i RIVM's Cosmetics Fact Sheet (RIVM report 320104001/2006) og her angives en default værdi for mængden af babycreme/-salve til brug i bleområdet på 0,27 g pr. gang og en frekvens på 2 anvendelser om dagen. Disse værdier er anvendt i eksponeringsscenario 4. Der findes ikke data i RIVM's Cosmetics Fact Sheet på hvilke mængder af creme som bruges på hele kroppen af småbørn.

##### Anatomiske data for spædbørn:

###### Helkropsareal og hoved:

Default data fra RIVM's general fact sheet (Biesebeek et al 2014) for et barn på 3-6 måneder benyttes størrelsen på et 4,5 måneders barn svarende til et totalt kropsareal på 3400 cm<sup>2</sup> og hoved (inkl. hals) svarende til 18,2% af totalt kropsareal (620 cm<sup>2</sup>) (Biesebeek et al. 2014).

###### Bleområdet:

RIVM's general fact sheet (Biesebeek et al 2014) angiver en default værdi på 190 cm<sup>2</sup> for bleområdet på et 4,5 måneders gammelt barn.

##### Eksponeringsscenario 1:

###### Creme med indhold af Mandel (4,5 måneders baby):

Bodylotion med mandelolie indeholdende 43,07 µg mandelprotein/g

1 g creme med 43,07 µg/g mandelprotein med en retentionsfaktor på 1 anvendes 2 gange dagligt på hele kroppen svarende til 3400 cm<sup>2</sup>. (1g x 43,07 µg/g x 1 RF x 2)/3400 cm<sup>2</sup>.

Dette giver en dosis på 0,025 µg/cm<sup>2</sup>.

###### Eksponeringsscenario 2:

###### Sæbe + creme med de højest målte koncentrationer af mælk (4,5 måneders baby):

Et worst case scenarie for hele kroppen er udregnet for et barn på 4,5 måneder som får påført sæbe med den højeste koncentration af mælkeprotein (250,54 µg/g) over hele kroppen efterfulgt af creme med den højest målte koncentration af mælkeprotein (121,71 µg/g) over hele kroppen.

**Sæbe:** (4,5 g x 250,54 µg/g x 0,01 RF x 1)/3400 cm<sup>2</sup> = 0,003 µg/cm<sup>2</sup>

**Creme:** (1 g x 121,71 µg/g x 1 RF x 2)/3400 cm<sup>2</sup> = 0,072 µg/cm<sup>2</sup>

**Total eksponering:** 0,003 µg/cm<sup>2</sup> + 0,072 µg/cm<sup>2</sup> = 0,075 µg/cm<sup>2</sup>.

###### Eksponeringsscenario 3:

###### Shampoo med det højest målte koncentration af mælk.

Scenariet er udregnet for et 4,5 måneders barn. Da huden i hovedbunden ikke udsættes for hverken sæbe eller creme er den udregnede lokale eksponering ikke lagt sammen med den udregnede helkropseksponering for eksponeringsscenario 2. Det eksponerede hudareal beregnes som halvdelen af hudarealet på hovedet (RIVM Cosmetics Fact Sheet). Dvs. halvdelen af 620 cm<sup>2</sup>.

Shampoo: (2,7 g x 3,91 µg/g x 0,01 RF x 1) / 310 cm<sup>2</sup> = 0,0003 µg/cm<sup>2</sup>

###### Eksponeringsscenario 4:

###### Eksponering udelukkende i bleområdet

Til dette scenarie er anvendt det produkt (MST-25), som det er mest sandsynligt ville blive anvendt udelukkende i bleområdet. 0,27 g creme med 10,07 µg/g hel mælk (UM) anvendes 2 gange dagligt i bleområdet svarende til 190 cm<sup>2</sup>. Dette giver en dosis på 0,029 µg /cm<sup>2</sup>.

Hvis man laver et worst case scenarie for creme, som udelukkende benyttes i bleområdet og benytter cremen med den højeste koncentration af mælkeprotein (121,71 µg/cm<sup>2</sup>) ville dosis blive 0,346 µg /cm<sup>2</sup>.

## 6.7 Vurdering af kosmetiske produkters sensibiliserende egenskaber

Mange kemiske stoffer kan sensibilisere ved eksponering af huden og en del af disse benyttes i kosmetik f.eks. konserveringsstoffer og parfumestoffer. Det er små molekyler (haptener) der skal bindes til hudens proteiner for at kunne sensibilisere. Det resulterer i en såkaldt type IV reaktion, hvor sensibiliseringen foregår i den regionale lymfeknude. Der udvikles ikke antistoffer, men T-celler, der er ansvarlige for den allergiske reaktion efterfølgende. I risikovurdering af nye stoffer bruges typisk data fra en dyremodel, Local Lymph Node Assay (LLNA) (OECD Guideline TG 429) der er udviklet til at forudsige et stofs evne til sensibilisering og dets potens. Stoffet (3 doser) påsmøres ørene på mus dag 0, 1 og 2 og der indsprøjtes radioaktivt mærket thymidin på dag 5. Den regionale lymfeknude tages ud og graden af proliferation i lymfeknuden, der er et mål for sensibilisering, måles vha. inkorporering af radioaktivt mærket thymidin. Den dosis der giver proliferation der er 3x højere end baggrunden benævnes LC3. Valget af LC3, som den dosis der bruges til vurdering af potens, er empirisk, baseret på viden om potens af stoffer fra humane data. LLNA giver altså et billede af stoffets potens, men resultatet kan ikke oversættes til, hvilken dosis der vil sensibilisere mennesker. QRA2 metoden er et forsøg på at oversætte disse data, baseret på kort tids eksponering af få mus, til brug for vurderingen af risikoen for eksponering af mennesker i lang tid fra forskellige kilder.

I 2017 publicerede SCCS en videnskabelig vurdering af QRA2 metoden (SCCS/1589/17). Deres konklusion var, at det endnu ikke er muligt at benytte QRA2 metoden til at fastlægge et NESIL for kontaktallergi over for parfumestoffer, fordi flere aspekter af metoden ikke er gennemskuelige og det videnskabelige rationale bag metoden bør beskrives bedre. Ifølge SCCS kan QRA2 metoden, hvis den revideres, benyttes til sikkerhedsvurdering af parfumeallergener, og potentielt også for andre kosmetiske ingredienser.

SCCS's kritikpunkter af QRA2 metoden var blandt andet manglende rationale for størrelsen på de benyttede usikkerhedsfaktorer (i QRA2 kaldet SAFs) for at tage højde for varigheden af eksponeringen og variabilitet i befolkningen (intraspecies variation). QRA2 metoden benytter en 'default værdi' på 10 for intraspecies variation, som også bruges i mange andre regulatoriske sammenhænge bl.a. i ECHA's vejledninger (Guidance on information requirements and chemical safety assessment Chapter R.8: Characterisation of dose[concentration]-response for human health). Datagrundlaget for QRA2 viste imidlertid indikationer på at intraspecies variationen hos mennesker som udviklede kontaktallergi for parfumestoffer var højere end 10.

Det er ikke muligt at bruge QRA2 metoden i risikovurderingen af fødevareproteiner i kosmetik. Det samme gør sig gældende i forhold til at kunne foretage en klassisk risikovurdering med fastsættelse af DNEL.

Der er ikke udviklet validerede eksperimentelle metoder til at vurdere proteiners evne til at sensibilisere via huden. Der er altså ikke sammenlignelige data der tager højde for hudens tilstand, eksponeringens længde og dosis.

## 6.8 Risikovurdering af fødevareproteiner i kosmetiske produkter til børn

Som det fremgår af ovenstående, er der risiko for sensibilisering over huden med fødevareproteiner blandt børn med atopisk eksem, hvor den orale tolerance ikke er blevet etableret. Det er ikke muligt, på baggrund af data fra humane studier eller data fra dyrestudier at fastsætte hvilke doser (µg protein/cm<sup>2</sup>) der sensibiliserer. Forsigtighedsprincippet (EU 2000) tilsiger derfor at fødevareproteiner eller fødevareproteinrige ingredienser (fx mælkepulver) ikke bør tilsættes til kosmetiske produkter til børn i en alder hvor det ikke forventes at der er etableret oral tolerance over for proteinerne. Den orale tolerance etableres når børnene introduceres til fødevarerne, typisk i løbet af de to første leveår (se afsnit 4).

Studier i dyr underbygger betydningen af den beskyttende effekt af oral tolerance. De viser også at fødevarerproteiner kan sensibilisere over huden i lave doser, ned til omkring 1 µg protein/cm<sup>2</sup>. Det er som nævnt ovenfor ikke muligt at vurdere, hvor lav en dosis som vil være sensibiliserende for mennesker uden oral tolerance, der typisk vil være små børn. Resultaterne fra denne rapport har vist, at det er muligt at påvise fødevarerproteiner (mælk, mandel) i kosmetiske produkter som markedsføres til børn eller hvor det er sandsynligt, at produkterne vil blive benyttet til børn. Ud fra de beregnede eksponeringsscenerier ses det, at de doser som småbørn kan blive udsat for fra de analyserede produkter, er i størrelsesordenen 0,0003-0,075 µg protein/cm<sup>2</sup> for shampoo, sæbe og creme som benyttes til hele kroppen. Sammenligner vi med worst case eksponeringen i scenarie 4, for creme som udelukkende benyttes i bleområdet, er den estimerede dosis med mælkeprotein 0,346 µg /cm<sup>2</sup>, hvilket er tæt på den dosis der sensibiliserer i dyreforsøg.

Olier udvundet af fødevarer indeholder varierende mængde protein, afhængig af ekstraktionsmetoden. Olier til brug i kosmetiske produkter til små børn bør, ifølge ovenstående, indeholde så lidt protein som muligt. Højraffinerede olier har det laveste proteinindhold. Højraffineret sojaolie indeholder 0,062-0,265 µg sojaprotein/g (Rigby et al 2011). Til sammenligning indeholder højraffineret jordnøddolie (data fra samme laboratorium) 0,070 til 1,756 µg jordnøddprotein/g (Blom et al 2017). Projektet fandt 36 kosmetiske produkter der indeholdt olie fra jordnødder. Ingen af disse var rettet mod børn eller specifikke hudtyper.

Ikke alle proteiner er lige effektive til at sensibilisere over huden. I et forsøg på mus kunne musene sensibiliseres med protein fra jordnødder eller cashew nødder, men ikke med protein fra sojabønner eller ærter (Tordesillas 2014). Disse studier indikerer, at konsekvensen af proteinrester i olier vil være forskellig og afhænge af om olien stammer fra en fødevarer med potente fødevarerallergener. Derudover er det også afgørende om proteinresterne udgøres af allergener.

## 6.9 Konklusion og perspektiver

Den tilgængelige viden tillader ikke at fastsætte grænser for mængden af fødevarerprotein der ikke kan sensibilisere små børn.

Dyrestudier viser at fødevarerproteiner kan sensibilisere i lave doser. Det har ikke været muligt at fastsætte NESIL for de relevante fødevarer. Selvom det havde været muligt at fastsætte NESIL ville det ikke have været muligt at omsætte denne viden til risiko for mennesker. Der er ikke data til at understøtte dette.

Oral tolerance eller mangel på samme er den mest afgørende parameter for sensibilisering med fødevarer via huden. Denne viden baserer sig på undersøgelser af sensibilisering af små børn. En viden der understøttes af resultater fra eksperimentelle studier i dyr.

Det vides, at hudens tilstand og doseringens længde er af betydning for sensibilisering, men der mangler viden om disse parametres indflydelse på den dosis der sensibiliserer. Derudover mangler der viden om forholdet mellem potens og dosis. Skal der f.eks. 50x så meget sojaprotein til at sensibilisere via huden sammenlignet med protein fra jordnødder?

Det er vigtigt at små børn ikke udsættes for proteiner på huden tidligt i livet. De planteolier der bruges i kosmetiske produkter, bør have så lavt indhold af protein som muligt og komme fra fødevarer hvor risikoen for udvikling af allergi er mindst. I dette projekt fandt vi kun ét ud af 23 produkter med mandelolie med målbart indhold af mandelprotein og ingen ud af 10 produkter med sojaolie med målbart indhold af sojaprotein. Dette viser at det er muligt at producere kosmetiske produkter med meget lave rester af protein fra fødevarer.

Modificeres fødevarerproteiner, som det ses ved syrehydrolyse af gluten, kan det resultere i sensibilisering over for de nye epitoper, men også brud på en etableret oral tolerance over for ikke-

modificerede epitoper i gluten. Hvorvidt dette er en enestående historie, der kun kan forekomme i forbindelse med syrehydrolyse af glutenproteiner, vides ikke, men der bør tages højde for denne viden i vurderingen af risikoen ved modifikation af fødevareproteiner der anvendes i kosmetik.

Der er stor fokus på udvikling af alternative proteinkilder til human ernæring, såkaldt nye fødevarer (novel food). Det bør overvejes, om det er hensigtsmæssigt at disse fødevarer anvendes i kosmetiske produkter før de introduceres som fødevarer, da det er vigtigt at der er etableret oral tolerance, før den humane population eksponeres for nye proteiner via huden.

## 7. Referencer

Ballegaard ASR, Madsen CB, Bøgh KL. An animal model for wheat allergy skin sensitisation: a comparative study in naive versus tolerant Brown Norway rats. *Int Arch Allergy Immunol.* 2019;178:106-118.

Ballegaard, A. R., Castan, L., Larsen, J. M., Piras, C., Villemin, C., Andersen, D., Madsen, C. B., Roncada, P., Brix, S., Denery-Papini, S., Mazzucchelli, G., Bouchaud, G. & Bøgh, K. L. Acid Hydrolysis of Gluten Enhances the Skin Sensitising Potential and Drives Diversification of IgE Reactivity to Unmodified Gluten Proteins. *Mol. Nutr. Food Res.* 2100416 (2021) doi:10.1002/mnfr.202100416.

Bannon, G. A. What makes a food protein an allergen? *Curr. Allergy Asthma Rep.* 4, 43–46 (2004).

Biesebeek et al 2014: General Fact Sheet General default parameters for estimating consumer exposure - Updated version 2014 RIVM report 090013003/2014

Birmingham, N. P. et al. (2007) 'An adjuvant-free mouse model of tree nut allergy using hazelnut as a model tree nut.', *International archives of allergy and immunology*, 144(3), pp. 203–10. doi: 10.1159/000103993.

Blom MW, Kruizinga AG, Rubingh CM, Remington BC, Crevel RWR, Houben GF Assessing food allergy risks from residual peanut protein in highly refined vegetable oil *Food and Chemical Toxicology* 106 (2017) 306-313

Brough HA, Santos AF, Makinson K, et al. Peanut protein in household dust is related to household peanut consumption and is biologically active. *J Allergy Clin Immunol* 2013;132:630-8

Brough, H. A., Simpson, A., Makinson, K., Hankinson, J., Brown, S., Douiri, A., Belgrave, D. C. M., Penagos, M., Stephens, A. C., McLean, W. H. I., Turcanu, V., Nicolaou, N., Custovic, A. & Lack, G. Peanut allergy: effect of environmental peanut exposure in children with filaggrin loss-of-function mutations. *J. Allergy Clin. Immunol.* 134, 867-875. (2014).

Brough, H. A., Liu, A. H., Sicherer, S., Makinson, K., Douiri, A., Brown, S. J., Stephens, A. C., Irwin McLean, W. H., Turcanu, V., Wood, R. A., Jones, S. M., Burks, W., Dawson, P., Stablein, D., Sampson, H. & Lack, G. Atopic dermatitis increases the effect of exposure to peanut antigen in dust on peanut sensitization and likely peanut allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 135, 164-170 (2015).

Brough, H. A., Nadeau, K. C., Sindher, S. B., Alkotob, S. S., Chan, S., Bahnson, H. T., Leung, D. Y. M. & Lack, G. Epicutaneous sensitization in the development of food allergy: What is the evidence and how can this be prevented? *Allergy* 75, 2185–2205 (2020)

Brown, S. J. et al. (2011) 'Loss-of-function variants in the filaggrin gene are a significant risk factor for peanut allergy', *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. Elsevier Ltd, 127(3), pp. 661–667. doi: 10.1016/j.jaci.2011.01.031.

Bruusgaard-Mouritsen, M. A., Johansen, J. D., Zachariae, C., Kirkeby, C. S. & Garvey, L. H. Natural ingredients in cosmetic products—A suggestion for a screening series for skin allergy. *Contact Dermatitis* 83, 251–270 (2020).

Bøgh, K. L. & Larsen, J. M. Reducing Allergenicity by Proteolysis. *Food Eng. Ser.* 499–523 (2021) doi:10.1007/978-3-030-55482-8\_19/FIGURES/1.

Chinuki Y, Murata S, Morita E. A case of wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis sensitized with hydrolysed wheat protein in a soap. *Contact Dermatitis* 2011;65:55-7.

Christensen MJ, Skov PS, Poulsen LK, Bindslev-Jensen C, Mortz C (2018) Clinical relevance of sensitization to hydrolyzed wheat protein in wheat-sensitized subjects. *J Allergy Clin Immunol*;141, 802-805

CIR (2014) Cosmetic ingredient review. Safety assessment of hydrolysed wheat protein and hydrolysed wheat gluten as used in cosmetics. Tentative report March/June 2014.

Day, L., Augustin, M. A., Batey, I. L. & Wrigley, C. W. Wheat-gluten uses and industry needs. *Trends Food Sci. Technol.* 17, 82–90 (2006).

Denery-Papini S, Bodinier M, Larré C, Brossard C, Pineau F, Triballeau S, Pietri M, Battais F, Mothes T, Paty E, Moneret-Vautrin DA. Allergy to deamidated gluten in patients tolerant to wheat: specific epitopes linked to deamidation. *Allergy* 2012;67:1023-32.

Dini, I. & Laneri, S. The New Challenge of Green Cosmetics: Natural Food Ingredients for Cosmetic Formulations. *Molecules* 26, (2021).

Du Toit, G., Roberts, G., Sayre, P. H., Bahnsen, H. T., Radulovic, S., Santos, A. F., Brough, H. A., Phippard, D., Basting, M., Feeney, M., Turcanu, V., Sever, M. L., Gomez Lorenzo, M., Plaut, M. & Lack, G. Randomized Trial of Peanut Consumption in Infants at Risk for Peanut Allergy. *N. Engl. J. Med.* 372, 803–813 (2015).

Dunkin, D., Berin, M. C. and Mayer, L. (2011) 'Allergic sensitization can be induced via multiple physiologic routes in an adjuvant-dependent manner.', *The Journal of allergy and clinical immunology*, 128(6), p. 1251–1258.e2. doi: 10.1016/j.jaci.2011.06.007.

ECHA Guidance on Information Requirements and Chemical Safety Assessment Chapter R.8: Characterisation of dose [concentration]-response for human health (version 2.1 2012).

ECHA Guidance on Information Requirements and Chemical Safety Assessment Chapter R.15: Consumer exposure assessment (Version 3.0 July 2016).

EU kommissionen. Communication from the Commission on the precautionary principle <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/AUTO/?uri=celex:52000DC0001> of 2 February 2000.

Fallon, P. G., Sasaki, T., Sandilands, A., Campbell, L. E., Saunders, S. P., Mangan, N. E., Callanan, J. J., Kawasaki, H., Shiohama, A., Kubo, A., Sundberg, J. P., Presland, R. B., Fleckman, P., Shimizu, N., Kudoh, J., Irvine, A. D., Amagai, M. & McLean, W. H. I. A homozygous frameshift mutation in the mouse Flg gene facilitates enhanced percutaneous allergen priming. *Nat. Genet.* 41, 602–608 (2009).

Ficheux AS., Dornic N., Bernard A., Chevillotte G., Roudot AC. Probabilistic assessment of exposure to cosmetic products by French children aged 0-3 years, *Food Chem Toxicol* 94:85-92 (2016a). doi: 10.1016/j.fct.2016.05.02

Ficheux, AS., Gomez-Berrada, M. P., Roudot, A. C. & Ferret, P. J. Consumption and exposure to finished cosmetic products: A systematic review. *Food and Chemical Toxicology* vol. 124 280–299 (2019). doi: 10.1016/j.fct.2018.11.060

Fischer LA, Menné T, Voelund A, Duus Johansen J. (2011) Can exposure limitations for well-known contact allergens be simplified? An analysis of dose–response patch test data. *Contact Dermatitis*, 64, 337–342.

Fox, A. T., Sasieni, P., du Toit, G., Syed, H. & Lack, G. Household peanut consumption as a risk factor for the development of peanut allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 123, 417–423 (2009).

Fukutomi Y, Itagaki Y, Taniguchi M, Saito A, Yasueda H, Nakazawa T, Hazegawa M, Nakamura H, Akiyama K. Rhinoconjunctival sensitization to hydrolysed wheat protein in facial soap can induce wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127:531-3.

Fukutomi, Y, Taniguchi, M, Nakamura H, Akiyama, K. 2014 Epidemiological link between wheat allergy and exposure to hydrolyzed wheat protein in facial soap *Allergy* 69, 1405–1411  
Galand, C. et al. (2016) 'IL-33 promotes food anaphylaxis in epicutaneously sensitized mice by targeting mast cells', *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. Elsevier Inc., 138(5), pp. 1356–1366. doi: 10.1016/j.jaci.2016.03.056.

Gomez-Berrada MP., Ficheux S., Guillou S., Berge C., de Javel D., Roudot AC., Ferreta PJ., Consumption and exposure assessment to cosmetic products for children under 2 years old. *Food Chem Toxicol* 105:151-160 (2017). doi: 10.1016/j.fct.2017.04.011

Greenhawt, M. Food allergy quality of life and living with food allergy. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 16, 284–290 (2016).

Halken, S., Muraro, A., de Silva, D., Khaleva, E., Angier, E., Arasi, S., Arshad, H., Bahnson, H. T., Beyer, K., Boyle, R., du Toit, G., Ebisawa, M., Eigenmann, P., Grimshaw, K., Hoest, A., Jones, C., Lack, G., Nadeau, K., O'Mahony, L., Szajewska, H., Venter, C., Verhasselt, V., Wong, G. W. K. & Roberts, G. EAACI guideline: Preventing the development of food allergy in infants and young children (2020 update). *Pediatr. Allergy Immunol.* 32, 843–858 (2021).

Hjorth N, Roed-Petersen J. Occupational protein contact dermatitis in food handlers. *Contact Dermatitis* 1976; 2:28–42.

Hussain, M., Borcard, L., Walsh, K. P., Pena Rodriguez, M., Mueller, C., Kim, B. S., Kubo, M., Artis, D. & Noti, M. Basophil-derived IL-4 promotes epicutaneous antigen sensitization concomitant with the development of food allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 141, 223-234. (2018).

Höglund, L., Räisänen, J., Hämäläinen, A-M., Warholm, M., van der Hagen, M., Suleiman, A., Kristjánsson, V., Nielsen, E., & Kopp, T. I. (2012). Existing Default Values and Recommendations for Exposure Assessment - A Nordic Exposure Group Project 2011. *Nordic Council of Ministers. TemaNord Vol. 2012 No. 505* <https://doi.org/10.6027/TN2012-505>

Iwamoto H, Matsubara T, Okamoto T, et al. Epicutaneous immunogenicity of partially hydrolyzed whey protein evaluated using tape-stripped mouse model. *Pediatr Allergy Immunol.* 2020;31:388–395. <https://doi.org/10.1111/pai.13211>

Kanagaratham, C., Sallis, B. F. & Fiebiger, E. Experimental Models for Studying Food Allergy. *Cell. Mol. Gastroenterol. Hepatol.* 6, 356-369.e1 (2018).

Krogsho S, Andersen NB, Rasmussen TF, Jacobsen S, Madsen CB (2014) Acid hydrolysis of wheat gluten induces formation of new epitopes but does not enhance sensitizing capacity by the oral route: a study in "gluten free" Brown Norway rats. *PLoS ONE* 9 (9): e107137

Kulis, M. D., Smeekens, J. M., Immormino, R. M. & Moran, T. P. The airway as a route of sensitization to peanut: An update to the dual allergen exposure hypothesis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 148, 689–693 (2021).

Lack G, Fox D, Northstone K, Golding, J. (2003) Factors Associated with the Development of Peanut Allergy in Childhood. *N Engl J Med* 348, 977-985

Lack G. Update on risk factors for food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 129:1187–97.

Larsen, J. M., Ballegaard, A. S. R., Dominguez, A. S., Kristoffersen, N. J., Maryniak, N. Z., Locke, A. V., Kazemi, S., Epstein, M., Madsen, C. B. & Bøgh, K. L. The role of skin inflammation, barrier dysfunction, and oral tolerance in skin sensitization to gluten-derived hydrolysates in a rat model. *Contact Dermatitis* (2022) doi:10.1111/COD.14233.

Laurière M, Pecquet C, Bouchez-Mahiout I, Snégaroff J, Bayrou O, Raison-Peyron N, Vigan M. Hydrolysed wheat proteins present in cosmetics can induce immediate hypersensitivities. *Contact Dermatitis* 2006;54:283-9.

Leduc V, Moneret-Vautrin D-A, Guerin L, Morisset M, Kanny G. Anaphylaxisto wheat isolates: immunochemical study of a case proved by means of double-blind, placebo-controlled food challenge. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:897-9.

Li, X. M., Schofield, B. H., Huang, C. K., Kleiner, G. I. & Sampson, H. A. A murine model of IgE-mediated cow's milk hypersensitivity. *J. Allergy Clin. Immunol.* 103, 206–214 (1999).

Longo, G., Berti, I., Burks, A. W., Krauss, B. & Barbi, E. IgE-mediated food allergy in children. *Lancet* 382, 1656–1664 (2013).

Lukács J, Schliemann S, Elsner P 2016 Occupational contact urticaria caused by food – a systematic clinical review *Contact Dermatitis*, 75, 195–204

Lyons, S. A., Burney, P. G. J., Ballmer-Weber, B. K., Fernandez-Rivas, M., Barreales, L., Clausen, M., Dubakiene, R., Fernandez-Perez, C., Fritsche, P., Jedrzejczak-Czechowicz, M., Kowalski, M. L., Kralimarkova, T., Kummeling, I., Mustakov, T. B., Lebens, A. F. M., van Os-Medendorp, H., Papadopoulos, N. G., Popov, T. A., Sakellariou, A., Welsing, P. M. J., Potts, J., Mills, E. N. C., van Ree, R., Knulst, A. C. & Le, T. M. Food Allergy in Adults: Substantial Variation in Prevalence and Causative Foods Across Europe. *J. allergy Clin. Immunol. Pract.* 7, 1920-1928.e11 (2019).

Lyons, S. A., Clausen, M., Knulst, A. C., Ballmer-Weber, B. K., Fernandez-Rivas, M., Barreales, L., Bieli, C., Dubakiene, R., Fernandez-Perez, C., Jedrzejczak-Czechowicz, M., Kowalski, M. L., Kralimarkova, T., Kummeling, I., Mustakov, T. B., Papadopoulos, N. G., Popov, T. A., Xepapadaki, P., Welsing, P. M. J., Potts, J., Mills, E. N. C., van Ree, R., Burney, P. G. J. & Le, T. M. Prevalence of Food Sensitization and Food Allergy in Children Across Europe. *J. allergy Clin. Immunol. Pract.* 8, 2736-2746.e9 (2020).



Marsella, R. (2015) 'Experimental model for peanut allergy by epicutaneous sensitization in atopic beagle dogs', *Experimental Dermatology*, 24(9), pp. 711–712. doi: 10.1111/exd.12776.

Martin, P. E. et al. (2015) 'Which infants with eczema are at risk of food allergy? Results from a population-based cohort', *Clinical and Experimental Allergy*, 45(1), pp. 255–264. doi: 10.1111/cea.12406.

Maryniak, N. Z., Sancho, A. I., Hansen, E. B., & Bøgh, K. L. (2022). Alternatives to Cow's Milk-Based Infant Formulas in the Prevention and Management of Cow's Milk Allergy. *Foods*, 11(7), [926]. <https://doi.org/10.3390/foods11070926>

Matsunaga, K. et al. (2015) 'Anaphylactic augmentation by epicutaneous sensitization to acid-hydrolyzed wheat protein in a guinea pig model.', *The Journal of toxicological sciences*, 40(6), pp. 745–52. doi: 10.2131/jts.40.745.

Mayer, J. U., Hilligan, K. L., Chandler, J. S., Eccles, D. A., Old, S. I., Domingues, R. G., Yang, J., Webb, G. R., Munoz-Erazo, L., Hyde, E. J., Wakelin, K. A., Tang, S. C., Chappell, S. C., von Daake, S., Brombacher, F., Mackay, C. R., Sher, A., Tussiwand, R., Connor, L. M., Gallego-Ortega, D., Jankovic, D., Le Gros, G., Hepworth, M. R., Lamiable, O. & Ronchese, F. Homeostatic IL-13 in healthy skin directs dendritic cell differentiation to promote TH2 and inhibit TH17 cell polarization. *Nat. Immunol.* 22, 1538–1550 (2021).

Monaci, L., Pilolli, R., De Angelis, E., Crespo, J. F., Novak, N. & Cabanillas, B. Food allergens: Classification, molecular properties, characterization, and detection in food sources. *Adv. Food Nutr. Res.* 93, 113–146 (2020).

Morita, H. et al. (2012) 'ST2 requires Th2-, but not Th17-, type airway inflammation in epicutaneously antigen-sensitized mice.', *Allergology international: official journal of the Japanese Society of Allergology*, 61(2), pp. 265–73. doi: 10.2332/allergolint.11-OA-0379

Nakamura R, Nakamura R, Sakai S, Adachi R, Hachisuka A, Urisu A, Fukutomi Y, Teshima RJ. Tissue transglutaminase generates deamidated epitopes on gluten, increasing reactivity with hydrolysed wheat protein-sensitized IgE. *Allergy Clin Immunol* 2013;132:1436-8.

Navuluri, L. et al. (2006) 'Allergic and anaphylactic response to sesame seeds in mice: identification of Ses i 3 and basic subunit of 11s globulins as allergens', *Int Arch Allergy Immunol*, 140(3), pp. 270–276. doi: IAA2006140003270 [pii]n10.1159/000093284.

Noti, M., Kim, B. S., Siracusa, M. C., Rak, G. D., Kubo, M., Moghaddam, A. E., Sattentau, Q. A., Comeau, M. R., Spergel, J. M. & Artis, D. Exposure to food allergens through inflamed skin promotes intestinal food allergy through the thymic stromal lymphopoietin-basophil axis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 133, 1390–9, 1399.e1–6 (2014).

Olszewski A, Pons L, Moutete F, et al. Isolation and characterization of proteic allergens in refined peanut oil. *Clin Exp Allergy*. 1998;28 (7):850-859.

Oyoshi, M. K. et al. (2009) 'Chapter 3 Cellular and Molecular Mechanisms in Atopic Dermatitis', in *Advances in Immunology*, pp. 135–226. doi: 10.1016/S0065-2776(09)01203-6.

Parvataneni, S. et al. (2009) 'Development of an adjuvant-free cashew nut allergy mouse model.', *International archives of allergy and immunology*, 149(4), pp. 299–304. doi: 10.1159/000205575.

- Pazos-Castro D et al 2022 NLRP3 priming due to skin damage precedes LTP allergic sensitization in a mouse model *Scientific Reports*, 2022, 12, 3329 <https://doi.org/10.1038/s41598-022-07421-y>
- Pecquet C, Lauriere M, Huet S, Leynadier F. Is the application of cosmetics containing protein-derived products safe? *Contact Dermatitis* 2002;46:123.
- Pelkonen AS, Mäkinen-Kiljunen S, Hilvo S, Siltanen M, Mäkelä MJ. Severe allergic reaction to gluten hydrolysate without reaction to wheat. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2011;106:343-4.
- Perkin, M. R., Logan, K., Tseng, A., Raji, B., Ayis, S., Peacock, J., Brough, H., Marrs, T., Radulovic, S., Craven, J., Flohr, C. & Lack, G. Randomized Trial of Introduction of Allergenic Foods in Breast-Fed Infants. *N. Engl. J. Med.* 374, 1733–1743 (2016).
- Pouessel, G., Turner, P. J., Worm, M., Cardona, V., Deschildre, A., Beaudouin, E., Renaudin, J. M., Demoly, P. & Tanno, L. K. Food-induced fatal anaphylaxis: From epidemiological data to general prevention strategies. *Clinical and Experimental Allergy* vol. 48 1584–1593 (2018).
- Remington, B.C., et al., 2020. Updated population minimal eliciting dose distributions for use in risk assessment of 14 priority food allergens. *Food Chem. Toxicol.* 139, 111259.
- RIVM report 320104001/2006 Cosmetics Fact Sheet To assess the risks for the consumer Updated version for ConsExpo 4 H.J. Bremmer, L.C.H. Prud'homme de Lodder, J.G.M. van Engelen
- 'SCCS Notes of Guidance for the testing of Cosmetic Ingredients and their safety evaluation', 11th Revision SCCS Guidance SCCS/1628/21. (SCCS, Scientific Committee for Consumer Safety).
- SCCS (Scientific Committee on Consumer Safety), Opinion on Skin Sensitisation Quantitative Risk Assessment for Fragrance Ingredients (QRA2), preliminary version of 24-25 October 2017, final version of 30 July 2018, SCCS/1589/17
- Sharma, G. M., Rallabhandi, P., Williams, K. M., Herrmann, M. & Sadrieh, N. Gluten Quantitation in Cosmetic Products by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *J. AOAC Int.* 99, 586–590 (2016).
- Sicherer, S. H. & Sampson, H. A. Food allergy: A review and update on epidemiology, pathogenesis, diagnosis, prevention, and management. *J. Allergy Clin. Immunol.* 141, 41–58 (2018).
- Spiegel, J. M. et al. (1998) 'Epicutaneous sensitization with protein antigen induces localized allergic dermatitis and hyperresponsiveness to methacholine after single exposure to aerosolized antigen in mice', *Journal of Clinical Investigation*, 101(8), pp. 1614–1622. doi: 10.1172/JCI11647.
- Smit, J. et al. (2011) 'Contribution of classic and alternative effector pathways in peanut-induced anaphylactic responses', *Plos One*, 6(12). Available at: <http://findit.dtu.dk/en/catalog/2305820417>
- Teuber SS, Brown RL, Haapanen LAD. Allergenicity of gourmet nut oils processed by different methods *J Allergy Clin Immunol* 1997;99:502-7
- Thompson, T. & Grace, T. Gluten in cosmetics: is there a reason for concern? *J. Acad. Nutr. Diet.* 112, 1316 (2012).

Tordesillas, L., Goswami, R., Benedé, S., Grishina, G., Dunkin, D., Järvinen, K. M., Maleki, S. J., Sampson, H. A. & Berin, M. C. Skin exposure promotes a Th2-dependent sensitization to peanut allergens. *J. Clin. Invest.* 124, 4965–75 (2014).

Tordesillas, L. & Berin, M. C. Mechanisms of Oral Tolerance. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 55, 107–117 (2018).

Wang, L.-F. et al. (1996) 'Epicutaneous exposure of protein antigen induces a predominant Th2-like response with high IgE production in mice', *Journal of Immunology*, 156(11), pp. 4079–4082.

Wavrin, S. et al. (2014) 'Cutaneous or respiratory exposures to peanut allergens in mice and their impacts on subsequent oral exposure.', *International archives of allergy and immunology*, 164(3), pp. 189–99. doi: 10.1159/000363444.

Wu CH, Nakai S, Powrie WD. Preparation and properties of acid-solubilized gluten. *J. Agric. Food Chem.* 24, 504–510 (1976).

Yagami, A., Aihara, M., Ikezawa, Z., Hide, M., Kishikawa, R., Morita, E., Chinuki, Y., Fukutomi, Y., Urisu, A., Fukushima, A., Itagaki, Y., Sugiura, S.-I., Tanaka, H., Teshima, R., Kato, Z., Noguchi, E., Nakamura, M., Saito, H. & Matsunaga, K. Outbreak of immediate-type hydrolyzed wheat protein allergy due to a facial soap in Japan. *J. Allergy Clin. Immunol.* 140, 879-881.e7 (2017).

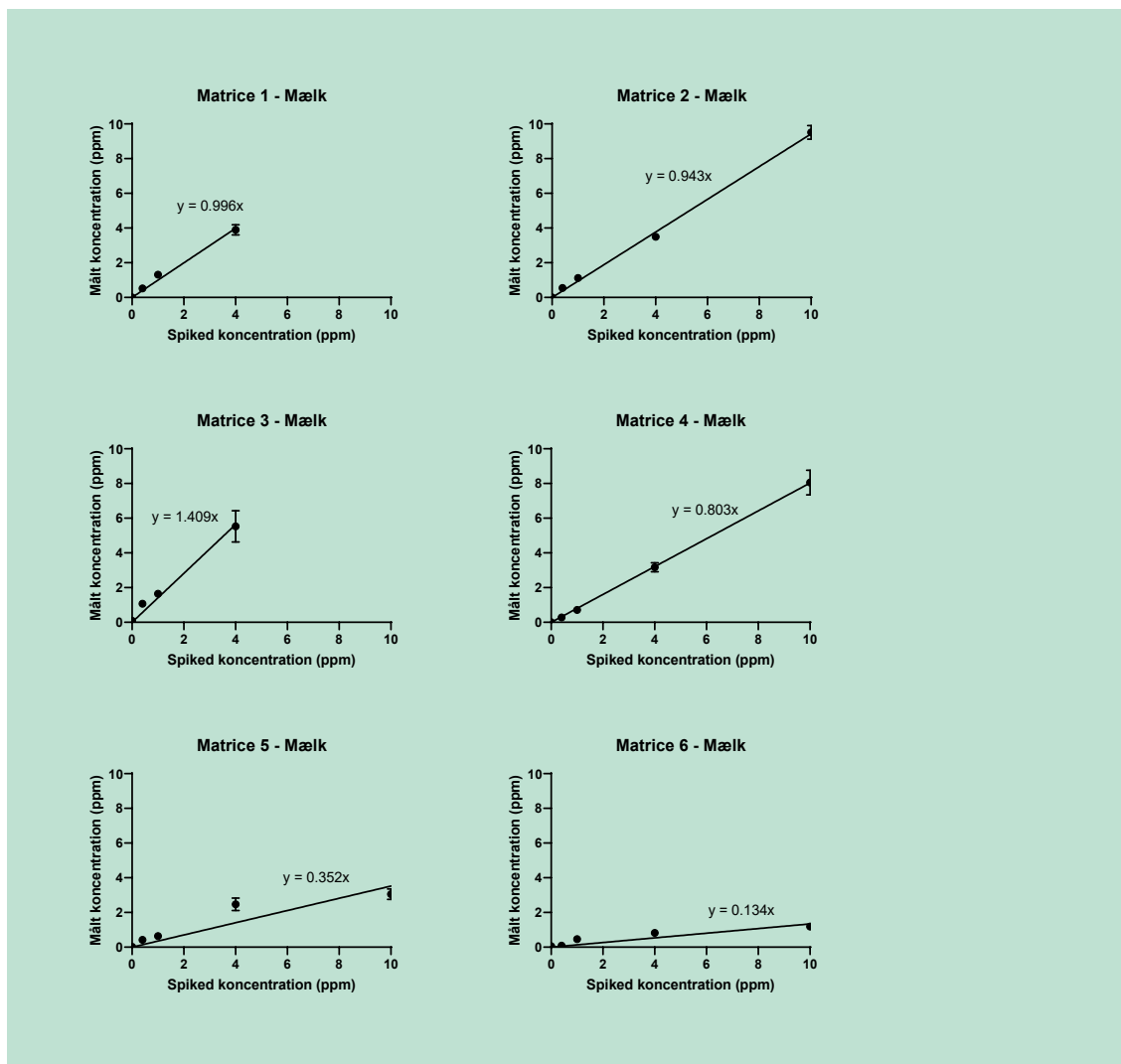
Yu, W., Freeland, D. M. H. & Nadeau, K. C. Food allergy: immune mechanisms, diagnosis and immunotherapy. *Nat. Rev. Immunol.* 16, 751–765 (2016).

Yu, J. E. & Lin, R. Y. The Epidemiology of Anaphylaxis. *Clinical Reviews in Allergy and Immunology* vol. 54 366–374 (2018).

Zeiger, R. S. Food allergen avoidance in the prevention of food allergy in infants and children. *Pediatrics* 111, 1662–1671 (2003).

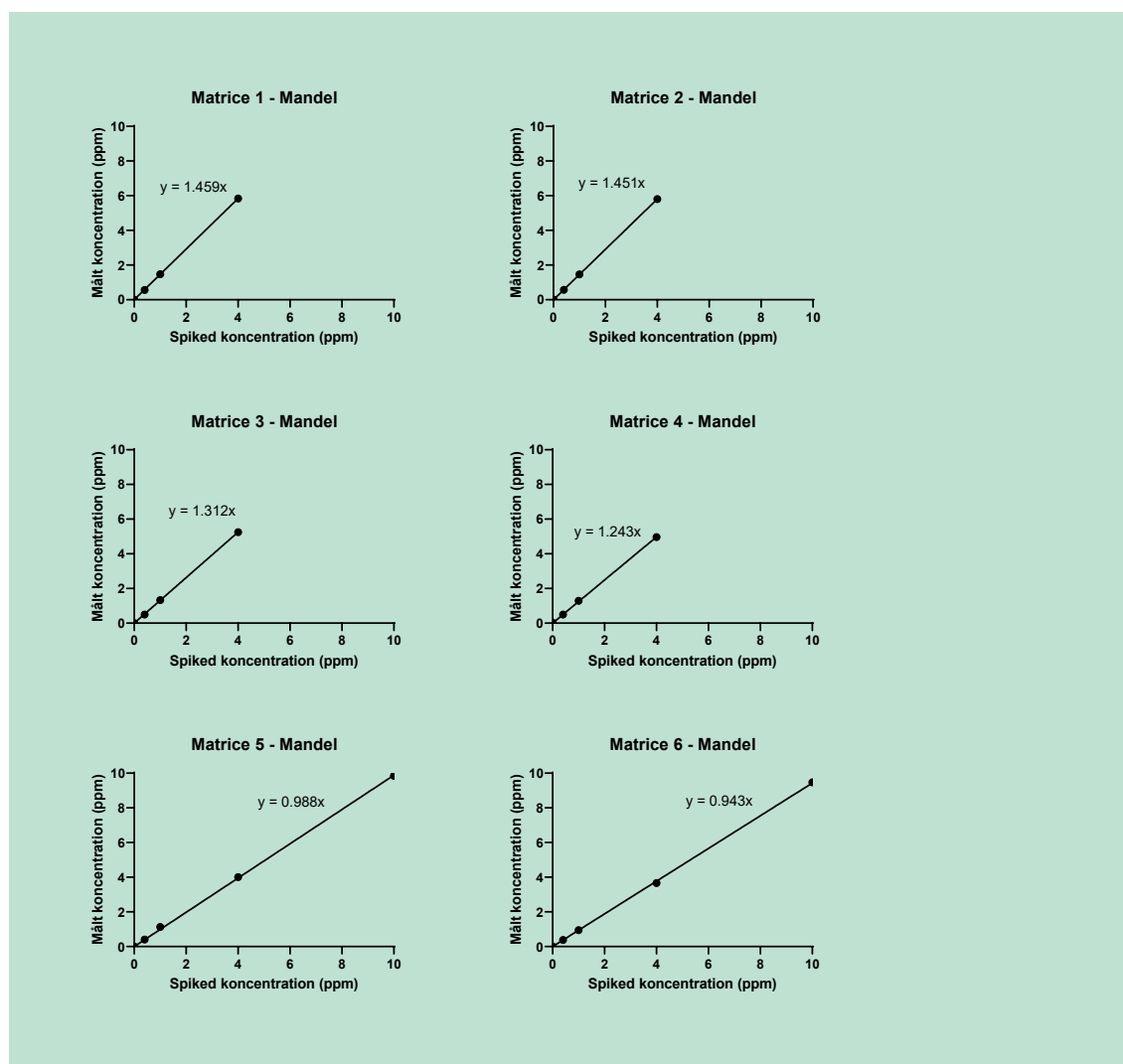
# Bilag 1. Validering: genfindingsforsøg

## Bilag 1.1 Genfindingsforsøg: Mælk ELISA assay



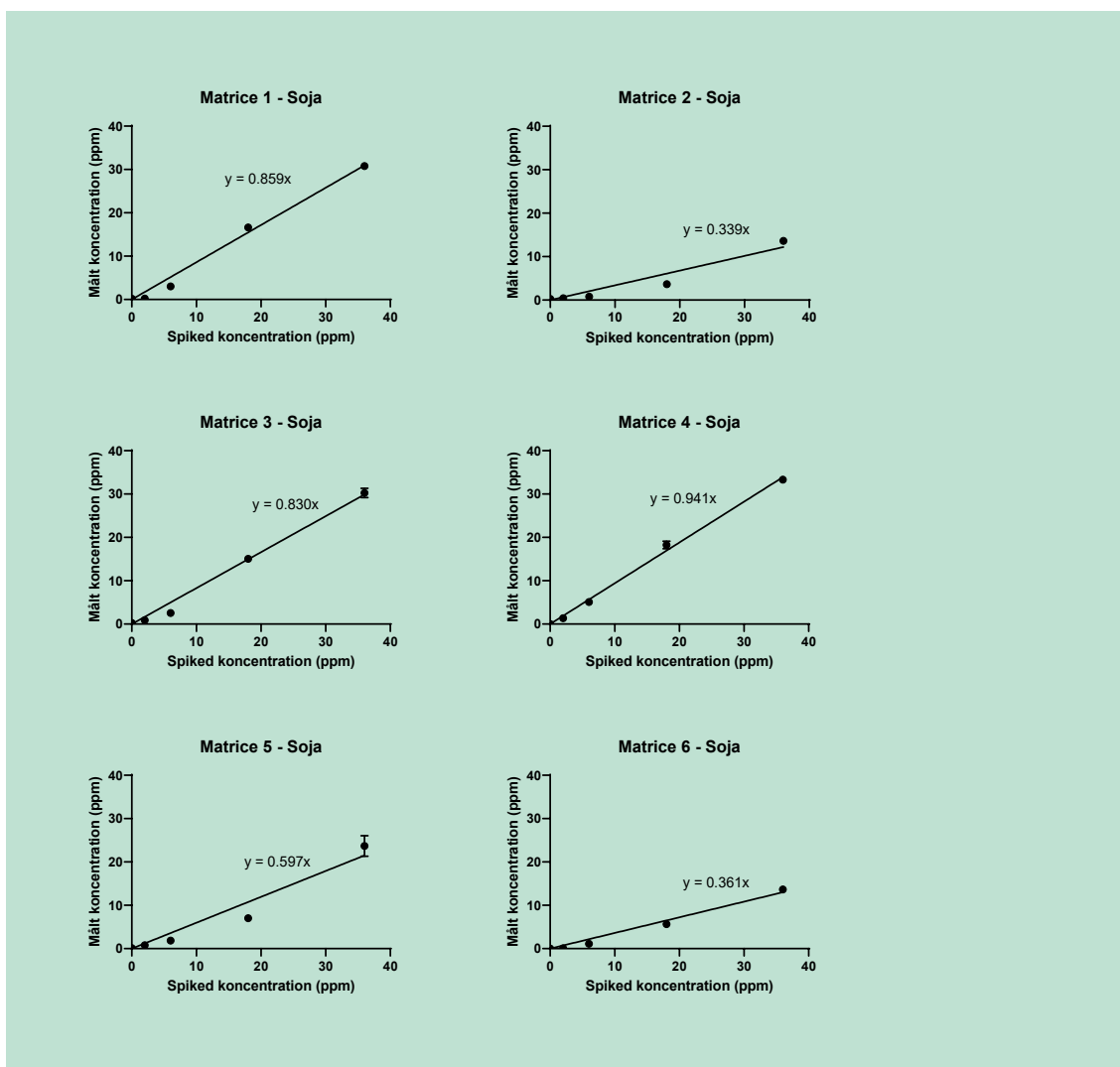
**FIGUR 7.** Sammenhængen imellem tilsat spike koncentration og målt koncentration ved måling af mælkeprotein med ELISA. En hældning på 1 angiver optimal korrekthed med god sammenhæng, hvorimod en værdi på større eller mindre end 1 påviser hhv. en over- eller underestimering i analysen.

## Bilag 1.2 Genfindingsforsøg: Mandel ELISA assay



**FIGUR 8.** Sammenhængen imellem tilsat spike koncentration og målt koncentration ved måling af mandelprotein med ELISA. En hældning på 1 angiver optimal korrekthed med god sammenhæng, hvorimod en værdi på større eller mindre end 1 påviser hhv. en over- eller underestimering i analysen.

### Bilag 1.3 Genfindingsforsøg: Soja ELISA assay



**FIGUR 9.** Sammenhængen imellem tilsat spike koncentration og målt koncentration ved måling af sojaprotein med ELISA. En hældning på 1 angiver optimal korrekthed med god sammenhæng, hvorimod en værdi på større eller mindre end 1 påviser hhv. en over- eller underestimering i analysen.

## **Kortlægning og risikovurdering af fødevarerproteiner i kosmetiske produkter**

Det er populært at anvende fødevarerbaserede ingredienser i kosmetiske produkter. Flere studier har dog indikeret, at udvikling af fødevarerallergi kan ske igennem eksponering for fødevarer via huden.

Små børn udvikler tolerance over for fødevarer, når de introduceres til dem, hvilket typisk sker i de første to leveår. Denne tolerance beskytter mod sensibilisering via huden. Udsættes man for en fødevarer via huden, før den orale tolerance er etableret, risikerer man at udvikle fødevarerallergi. Børn, hvis hudbarriere ikke er intakt, som det ses ved atopisk eksem (børneeksem), er særligt udsatte.

Markedet blev kortlagt, dels ved brug af databasen bag appen Kemiluppen fra Forbrugerrådet Tænk Kemi, og dels ved søgninger i webshops. Målet var at identificere kosmetiske produkter med ingredienser baseret på fødevarer, der typisk giver anledning til fødevarerallergi.

Baseret på kortlægningen blev det besluttet at fokusere på analyse af proteiner fra mælk, mandel og soja. Der blev indkøbt en række produkter i danske butikker og webshops samt i webshops i resten af EU og uden for EU. De indkøbte produkter var enten rettet mod børn eller mod specifikke hudtyper.

Overordnet blev det fundet, at analysemetoden ELISA kan anvendes til bestemmelse af tilstedeværelsen af mælkeprotein, mandelprotein og sojaprotein i kosmetiske produkter, når proteinerne er til stede i tilstrækkelig mængde.

Det var ikke muligt at fastsætte grænser for mængden af fødevarerprotein, hvorunder der ikke er en risiko for udvikling af fødevarerallergi hos små børn.



Miljøstyrelsen  
Tolderlundsvej 5  
5000 Odense C

[www.mst.dk](http://www.mst.dk)