

10.17590/20170719-134410

## **Gras- und Blattprodukte zum Verzehr können mit krankmachenden Bakterien verunreinigt sein**

Stellungnahme Nr. 013/2017 des BfR vom 10. Juli 2017

Im Zuge sich ändernder Ernährungsgewohnheiten werden in Deutschland vermehrt Lebensmittel aus Blättern oder Gräsern verzehrt. Frische pflanzliche Lebensmittel tragen zu einer gesunden Ernährung bei. Dennoch können auch diese Lebensmittel mit einer Vielzahl humanpathogener Bakterien, d. h. Bakterien, die beim Menschen Krankheiten auslösen können, belastet sein, so wurden z. B. in Bio-Grasprodukten aus Deutschland Shigatoxin-bildende *Escherichia coli* (STEC) nachgewiesen. Weitere bakterielle Krankheitserreger, die in Gras- und Blattprodukten vorkommen können, sind u. a. Salmonellen und Listerien. Vor diesem Hintergrund bewertet das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) das gesundheitliche Risiko durch den Verzehr von Gras- und Blattprodukten.

Gras- und Blattprodukte sind keine definierte Lebensmittelgruppe. Für jede einzelne Produktkategorie sind eine Vielzahl unterschiedlicher Verarbeitungs-, Lagerungs- und Zubereitungsschritte denkbar. Das BfR fokussiert sich deshalb in seiner Bewertung auf humanpathogene Bakterien in frischen Blattprodukten (frische Blattgemüse einschließlich Blattsalate und Kräuter), getrockneten Blatt- und Grasprodukten (Nahrungsergänzungsmittel, getrocknete Kräuter und Teeblätter sowie Produkte daraus) und grünen Smoothies.

Blattsalate und frische Kräuter werden in Deutschland fast von der gesamten Bevölkerung sehr häufig verzehrt. Tee wird häufiger von Frauen als von Männern getrunken, der Teekonsum steigt mit zunehmendem Alter an. Bisher gibt es in Deutschland nur wenige belegte Fälle bakterieller Lebensmittelinfektionen durch den Verzehr von Gras- oder Blattprodukten. Dennoch empfiehlt das BfR Verbraucherinnen und Verbrauchern zur Risikominimierung folgende Vorsichtsmaßnahmen:

- Frische Blattprodukte sollten vor dem Rohverzehr gründlich gewaschen und möglichst schnell verbraucht werden. Zerkleinerte frische Blattprodukte sollten bis zum Verzehr möglichst bei maximal 7 °C gelagert und schnell verbraucht werden.
- Frisch hergestellte grüne Smoothies sollten bis zum Verzehr möglichst bei maximal 7 °C gelagert und am Tag der Herstellung verbraucht werden. Durch eine starke Säuerung der Smoothies, beispielsweise durch Verarbeitung von Zitrusfrüchten oder Zugabe von Zitronensaft, lässt sich die Vermehrung humanpathogener Bakterien verlangsamen bzw. ganz verhindern.
- Kräutertees sollten mit sprudelnd kochendem Wasser aufgegossen werden.
- Schwangere und Personen, deren Abwehrkräfte durch hohes Alter, Vorerkrankungen oder Medikamenteneinnahme geschwächt sind, sollten auf den Verzehr von vorgeschnittenen und verpackten Salaten vorsichtshalber verzichten und stattdessen Salate aus frischen und gründlich gewaschenen Zutaten kurz vor dem Verzehr selbst zubereiten. Nahrungsergänzungsmittel aus getrockneten Blatt- und Grasprodukten sollte diese Personen besser nur nach ärztlicher Rücksprache verzehren.

Um das Vorkommen und Verhalten der ausgewählten humanpathogenen Bakterien in Gras- und Blattprodukten künftig besser abschätzen zu können, ist weitere Forschung nötig.

## 1 Gegenstand der Bewertung

Vor dem Hintergrund der sich umstellenden Ernährungsgewohnheiten in Deutschland und den Nachweisen von Shigatoxin-bildenden *Escherichia coli* (STEC) in Bio-Grasprodukten aus Deutschland (Europäisches Schnellwarnsystem für Lebensmittel und Futtermittel: Rapid Alert System for Food and Feed, RASFF 2016. 1034 und 2016. 1255) hat das BfR eine gesundheitliche Bewertung von Gras- und Blattprodukten zum Rohverzehr vorgenommen. Konkret nimmt das BfR zu der Frage Stellung, mit welchem Risiko im Hinblick auf bakterielle Verunreinigungen zum Rohverzehr vorgesehene Gras- und Blattprodukte (z. B. als Nahrungsergänzungsmittel, teeähnliches Erzeugnis oder Smoothie) verbunden sind.

Nach einem Bericht des Emerging Risks Exchange Networks (EREN) der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) nimmt der Verzehr von Lebensmitteln mit der Zutat „Heu“ (Mischung aus Kräutern, Blumen und Gräsern) in bestimmten Teilen Europas zu<sup>1</sup>. In Österreich werden folgende Produkte mit Heubestandteilen in den Verkehr gebracht: Schokolade, Senf, Käse, Essig, Likör und Erfrischungsgetränke. Außerdem wird Heu dort als Zutat in der Gastronomie verwendet, beispielsweise in Suppen oder Fleischgerichten. In Italien soll es im Zusammenhang mit dem Verzehr von Heusuppe zu einem Todesfall gekommen sein. In der Schweiz werden ähnliche Produkte zum Verzehr angeboten und in Frankreich werden Grasprodukte über das Internet vertrieben. Im Bericht des Netzwerks wird weiter ausgeführt, dass in einer dänischen Brauerei Grasprodukte für die Bierherstellung verwendet werden.

Gras- und Blattprodukte sind keine definierten Lebensmittelgruppen. Für jede einzelne Produktkategorie sind eine Vielzahl unterschiedlicher Verarbeitungs-, Lagerungs- und Zubereitungsschritte denkbar. Das BfR hat sich deshalb im Rahmen dieser gesundheitlichen Bewertung auf humanpathogene Bakterien in frischen Blattprodukten (frische Blattgemüse einschließlich Blattsalate und Kräuter), getrockneten Blatt- und Grasprodukten (Nahrungsergänzungsmittel, getrocknete Kräuter und Teeblätter sowie Produkte daraus) und grünen Smoothies fokussiert. Um das Vorkommen und Verhalten der ausgewählten humanpathogenen Bakterien in diesen Produkten abschätzen zu können, hat das BfR Literaturstudien und Modellierungen (prädiktive Mikrobiologie) durchgeführt. Berücksichtigt wurden außerdem vom Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) zur Verfügung gestellte Daten der Länder über in den Jahren 2014 bis 2016 durchgeführte amtliche mikrobiologische Untersuchungen von frischen Blattgemüsen, Blattgemüseerzeugnissen und -zubereitungen, Nahrungsergänzungsmitteln und Tee. Zur Abschätzung der Häufigkeit des Verzehrs von Gras- und Blattprodukten in Deutschland hat das BfR Daten der Nationalen Verzehrstudie II (NVS II) ausgewertet. Mögliche Kreuzkontaminationen bei der Zubereitung in Privathaushalten oder Einrichtungen der Gemeinschaftsverpflegung einschließlich Gastronomie wurden dabei nicht berücksichtigt.

## 2 Ergebnis

Die Auswertung vorhandener Verzehrdaten macht deutlich, dass Blattsalate und frische Kräuter in Deutschland fast von der gesamten Bevölkerung und von dieser auch sehr häufig verzehrt werden, insbesondere von schwangeren Frauen. Sie zeigt weiterhin, dass Tee häufiger von Frauen als von Männern getrunken wird und dass der Teekonsum mit zunehmendem Alter ansteigt.

Die Meldungen im Portal des Europäischen Schnellwarnsystems für Lebensmittel und Futtermittel (RASFF) der zurückliegenden Jahre zeigen, dass humanpathogene Bakterien, insbesondere Salmonellen, regelmäßig in Blattprodukten und nur vereinzelt in Grasprodukten

nachgewiesen wurden. Salmonellen-Nachweise in Betelblättern und Produkten daraus wurden am häufigsten berichtet.

Blatt- und Grasprodukte können beim Anbau sowie bei der weiteren Behandlung und Verarbeitung mit humanpathogenen Bakterien kontaminiert werden. Einige Bakterien können auch in das Pflanzeninnere eindringen. Das Ausmaß der Aufnahme humanpathogener Bakterien in das Pflanzengewebe wird von unterschiedlichen Faktoren beeinflusst, zum Beispiel von der Beschaffenheit des Bodens oder des Substrates, der Art und dem Entwicklungsstadium der Pflanzen sowie von der Spezies und Kontaminationsdosis des Erregers. Humanpathogene Bakterien können auf Blattgemüsen überleben und sich unter bestimmten Lagerungsbedingungen vermehren. Gestützt von mathematischen Modellrechnungen wird eingeschätzt, dass sich die meisten humanpathogenen Bakterien in betrachteten Blattprodukten, die bis zum Ablauf der üblichen Haltbarkeit bei maximal 7 °C gelagert werden, nicht signifikant vermehren. Allerdings ist der Anstieg der Keimzahl unter anderem abhängig von der Art des Produktes, der Verpackung und der Verfügbarkeit von Feuchtigkeit und Nährstoffen durch austretende Pflanzensäfte.

Oberflächliche Dekontaminationsverfahren und das Waschen der Lebensmittel vor dem Verzehr können die Keimzahlen nur reduzieren, aber eventuell auf/in Blatt- und Grasprodukten vorkommende humanpathogene Bakterien nicht eliminieren.

Das Einfrieren von Lebensmitteln führt zu einer gewissen Keimzahlreduktion, aber nicht zu einer gesicherten Abtötung der Bakterien. Das Ausmaß des Überlebens der Bakterien hängt u. a. von der Bakteriengattung und -spezies, den Gefrier- und Auftauprozessen und den Lebensmitteln selbst ab. Grundsätzlich gilt, dass Gram-negative Bakterien empfindlicher gegenüber Gefrierprozessen sind als Gram-positive Bakterien und dass Bakteriensporen, wie sie z. B. von *Bacillus* spp. und Clostridien gebildet werden, extrem resistent sind.

Durch Erhitzen der frischen Blattprodukte lässt sich das Risiko von Lebensmittelinfektionen minimieren. Sofern die Blattprodukte vor dem Verzehr im Inneren für mindestens zwei Minuten auf mindestens 72°C erhitzt werden, kann davon ausgegangen werden, dass die vegetativen Zellen um mindestens fünf Zehnerpotenzen reduziert werden.

Der Einfluss von Trocknungsverfahren auf das Überleben von humanpathogenen Bakterien lässt sich nicht zufriedenstellend abschätzen. Es ist möglich, Keimgehalte von Lebensmitteln durch Trocknen um mehrere Zehnerpotenzen zu reduzieren. Andererseits kann die Reduktion der Wasseraktivität während des Trocknungsprozesses auf humanpathogene Bakterien auch eine Schutzfunktion ausüben. Außerdem kann das Trocknen von Lebensmitteln die Hitzeresistenz der in diesen Lebensmitteln vorhandenen humanpathogenen Bakterien erhöhen. Es ist zu erwarten, dass die meisten Bakterien-Spezies den Trocknungsprozess überleben, sich aber während der trockenen Lagerung dieser Produkte nicht vermehren können. Eine Vermehrung wäre jedoch möglich, wenn die kontaminierten Gras- und Blattprodukte als Zutat in ungekühlte Speisen und nährstoffreiche Getränke gelangen. Das Erkrankungsrisiko würde dadurch ansteigen.

Für Gras- und Blattprodukte liegen keine ausreichenden experimentellen Daten zur exakten Abschätzung des Verhaltens humanpathogener Bakterien unter relevanten Prozess- und Lagerungsbedingungen vor. In Nährmedien können sich alle betrachteten humanpathogenen Bakterien mit Ausnahme von *Campylobacter* spp. bei Raumtemperatur (25 °C) und einem pH-Wert von 7 so stark vermehren, dass sich die Keimzahlen innerhalb von einer Stunde mehr als verdoppeln. Es wird daher abgeschätzt, dass die Lagerung von Smoothies bei

Raumtemperatur mit einer Erhöhung des Infektionsrisikos verbunden ist. Das Ausmaß ist u. a. abhängig von den vorhandenen Bakterienstämmen, der Ausgangskonzentration, den vorhandenen Nährstoffen, dem pH-Wert sowie der Lagerungstemperatur und -dauer. Das Infektionsrisiko lässt sich durch Säuerung und Kühlung der Smoothies minimieren. Grundsätzlich ist es möglich, dass Verbraucherinnen und Verbraucher nach dem Verzehr frisch hergestellter grüner Smoothies an einer Salmonellose, einer EHEC-Infektion oder durch Toxin-bildende *Bacillus cereus* erkranken. Möglich ist außerdem, dass sich Personen, deren Abwehrkräfte durch Schwangerschaft, hohes Alter oder Vorerkrankungen geschwächt sind, durch den Verzehr solcher Smoothies mit *Listeria monocytogenes* infizieren. Das Erkrankungsrisiko lässt sich aufgrund der unzureichenden Datenlage jedoch nicht genauer abschätzen. Ob sich *Staphylococcus aureus* oder *Clostridium perfringens* in frisch gepressten grünen Smoothies vermehren können, hängt von deren Eiweißgehalt ab und lässt sich daher nicht allgemeingültig vorhersagen.

Das Risiko, in Deutschland nach Verzehr von frischen Blattprodukten an einer Salmonellose zu erkranken, wird als gering eingeschätzt. Das Risiko von EHEC-Infektionen nach deren Verzehr ist aber möglicherweise höher. Diese seltenen Ereignisse können trotzdem große Salmonellose- oder EHEC-Ausbrüche auslösen, weil frische Blattprodukte teilweise über weite Gebiete vertrieben werden und fast von der gesamten Bevölkerung sehr häufig roh verzehrt werden.

Das Risiko, in Deutschland durch kontaminierte getrocknete Kräuter oder Teeblätter an einer Salmonellose oder einer EHEC-Infektion zu erkranken, wird als gering eingeschätzt. Hingegen lässt sich das Risiko, nach Verzehr von Nahrungsergänzungsmitteln aus getrockneten Blättern und/oder Gräsern an einer Salmonellose oder einer EHEC-Infektion zu erkranken, für Deutschland nicht abschätzen, weil Nahrungsergänzungsmittel bisher nur selten auf humanpathogene Bakterien untersucht wurden und Verzehrdaten für diese Produktgruppe fehlen. Das Erkrankungsrisiko ist aber vermutlich höher als bei getrockneten Kräutern und Teeblättern, weil Nahrungsergänzungsmittel in der Regel ohne weitere Erhitzung verzehrt werden.

Grundsätzlich ist es möglich, dass Verbraucherinnen und Verbraucher nach dem Verzehr frisch hergestellter grüner Smoothies an einer Salmonellose oder einer EHEC-Infektion erkranken. Das Erkrankungsrisiko lässt sich aufgrund der unzureichenden Datenlage jedoch nicht genauer abschätzen.

Das Risiko, dass Schwangere oder Menschen mit geschwächter Immunabwehr in Deutschland nach Verzehr von Blattprodukten an einer Listeriose erkranken, wird für frische und getrocknete Blattprodukte als gering eingeschätzt. Für getrocknete Grasprodukte und frisch hergestellte grüne Smoothies lässt sich das Erkrankungsrisiko aufgrund fehlender Daten nicht abschätzen.

Das Risiko, in Deutschland nach Verzehr von Blattprodukten an einer Campylobacteriose zu erkranken, wird für frische Blattprodukte und grüne Smoothies als sehr gering eingeschätzt. Campylobacteriosen durch den Verzehr von getrockneten Blattprodukten sind unwahrscheinlich.

Das Risiko von Erkrankungen durch *Bacillus cereus* nach Verzehr von frischen Blattprodukten wird in Deutschland als sehr gering eingeschätzt. Auch Intoxikationen durch *Staphylococcus aureus* oder *Clostridium perfringens* sind nach deren Verzehr unwahrscheinlich. Es ist aber möglich, dass in getrockneten Blattprodukten vorhandene Sporen von *Bacillus cereus* oder *Clostridium perfringens* auskeimen, sich in unzureichend gekühlten oder unsach-

gemäß heiß gehaltenen Speisen vermehren und durch Bildung von Toxinen Magen-Darm-Erkrankungen verursachen. Intoxikationen durch *Staphylococcus aureus* wären nur möglich, wenn kontaminierte Gras- oder Blattprodukte Lebensmitteln zugegeben werden würden, in denen sich der Erreger signifikant vermehren und Enterotoxine bilden könnte.

Ob in Deutschland für Säuglinge ein Risiko besteht, nach dem Verzehr von Kräutertees an Säuglingsbotulismus zu erkranken, lässt sich aufgrund fehlender Daten nicht abschätzen.

Das Risiko, in Deutschland nach dem Verzehr dieser Lebensmittel an einer Yersiniose oder Shigellose zu erkranken, lässt sich aufgrund fehlender Daten ebenfalls nicht abschätzen.

Bisher gibt es nur wenige Berichte, die belegen, dass der Verzehr von Gras- und Blattprodukten in Deutschland bakterielle Lebensmittelinfektionen und -intoxikationen ausgelöst hat. Dennoch spricht das BfR zum Schutz der Verbraucherinnen und Verbraucher die nachfolgenden allgemeinen Empfehlungen zur Risikominimierung aus. Vor dem Hintergrund der Fragestellung, der Diversität von Gras- und Blattprodukten sowie deren Herstellungsverfahren ist es dem BfR jedoch nicht möglich, spezifischere Maßnahmen zu empfehlen.

- Bei Anbau, Lagerung, Behandlung, Transport und Analyse von Gras- und Blattprodukten sollten die Anforderungen des Codex Alimentarius (Code of Hygienic Practice for Fresh Fruits and Vegetables CAC/RCP 53/2003; Code of Hygienic Practice for Spices and Dried Aromatic Herbs CAC/RCP 42/1995) und die Empfehlungen der WHO/FAO aus dem Jahr 2008 für frische Blattprodukte und Kräuter beachtet werden, um das Risiko für eine Kontamination mit humanpathogenen Bakterien zu reduzieren<sup>2</sup>.
- Inverkehrbringer von Gras- und Blattprodukten sollten prüfen, ob die angewandten Herstellungs- und Dekontaminationsverfahren geeignet sind, das Vorkommen von humanpathogenen Bakterien soweit zu minimieren, dass von den Produkten für Menschen kein Erkrankungsrisiko ausgeht, und dazu die HACCP-Prinzipien (HACCP: Hazard Analysis and Critical Control Point) anwenden. Die Eignung der Verfahren sollte regelmäßig mittels mikrobiologischer Kontrollen verifiziert werden. Bei häufigerem Nachweis von humanpathogenen Bakterien in den Produkten ist eine regelmäßige mikrobiologische Chargenprüfung zu erwägen.
- Frische Blattprodukte sollten vor dem Rohverzehr zur Risikominimierung gründlich gewaschen und möglichst schnell verbraucht werden. Die höhere Feuchtigkeit und Verfügbarkeit von Nährstoffen in zerkleinerten frischen Blattprodukten begünstigen das Wachstum von humanpathogenen Bakterien. Um eine Keimvermehrung zu reduzieren, sollten diese Produkte daher bis zum Verzehr möglichst bei maximal 7 °C gelagert und schnell verbraucht werden.
- Frisch hergestellte grüne Smoothies sollten zur Reduzierung einer Keimvermehrung bis zum Verzehr möglichst bei maximal 7 °C gelagert und am Tag der Herstellung verbraucht werden. Zusätzlich lässt sich die Vermehrung humanpathogener Bakterien durch Absenkung des pH-Wertes auf < 4 (z. B. durch Zugabe saurer Lebensmittel/Zutaten) verlangsamen bzw. ganz verhindern.
- Kräutertees sollten mit sprudelnd kochendem Wasser aufgegossen werden, um möglicherweise vorhandene humanpathogene Bakterien abzutöten.
- Das BfR rät Personen, deren Abwehrkräfte durch Schwangerschaft, hohes Alter, Vorerkrankungen oder Medikamenteneinnahme geschwächt sind, Salate aus frischen und

gründlich gewaschenen Zutaten zum Schutz vor einer Listeriose kurz vor dem Verzehr zuzubereiten. Auf den Verzehr von vorgeschnittenen und verpackten Salaten sollten diese Personengruppen vorsichtshalber verzichten.

- Verbraucherinnen und Verbraucher sollten darüber informiert werden, dass auch Nahrungsergänzungsmittel aus getrockneten Blättern und/oder Gräsern humanpathogene Bakterien enthalten können, insbesondere wenn die Rohwaren nicht ausreichend dekontaminiert wurden. Personen, deren Abwehrkräfte durch Schwangerschaft, hohes Alter, Vorerkrankungen oder Medikamenteneinnahme geschwächt sind, sollten diese Produkte besser nur nach ärztlicher Rücksprache verzehren.

Um das Vorkommen und Verhalten der ausgewählten humanpathogenen Bakterien in Gras- und Blattprodukten zukünftig besser abschätzen zu können, ist weitere Forschung nötig. Erforscht werden sollte insbesondere das Vorkommen und das Verhalten von kommerziell im Pflanzenschutz genutzten *B. thuringiensis*-Stämmen, pathogenen Yersinien, *Shigella* spp., *Staphylococcus aureus* und STEC in Gras- und Blattprodukten einschließlich frisch hergestellten (grünen) Smoothies und Nahrungsergänzungsmitteln. Aus dem gleichen Grund sollte beim Auftreten von Säuglingsbotulismus die mikrobiologische Untersuchung von verzehrten Kräutertees erwogen werden.

Außerdem sollten die verfügbaren mathematischen Modelle zur Abschätzung des Erregerwachstums und der Inaktivierung von humanpathogenen Bakterien unter relevanten Prozess-, Verarbeitungs- und Lagerungsbedingungen sowie zur Abschätzung der Verzehrsmengen und der Dosis-Wirkungsbeziehungen für die betrachteten Erreger ausgebaut werden.

Um zukünftig robustere Aussagen zum Zusammenhang zwischen dem Verzehr belasteter Lebensmittel und sensiblen Bevölkerungsgruppen treffen zu können, sollten zukünftige Verzehrstudien die Datenlage zu Nahrungsergänzungsmitteln aus getrockneten Blättern und/oder Gräsern verbessern und zusätzlich den Verzehr von Grasprodukten und Smoothies berücksichtigen.

### 3 Begründung

#### 3.1 Risikobewertung

##### 3.1.1 Mögliche Gefahrenquelle

Pflanzliche Lebensmittel können eine Vielzahl von Bakterien auf den Menschen übertragen, die nach oraler Aufnahme eine Infektion oder Intoxikation auslösen. Von besonderer Bedeutung sind Zoonoseerreger, beispielsweise *Salmonella* spp., STEC, *Campylobacter* spp., pathogene Yersinien, *Shigella* spp. und *Listeria monocytogenes*. Wie die Untersuchungsergebnisse der Länder zeigen, kommen diese Zoonoseerreger nicht nur regelmäßig in Tierbeständen und in rohen vom Tier stammenden Lebensmitteln vor, sondern werden weniger häufig auch in pflanzlichen Lebensmitteln gefunden. Durch Erhitzungsverfahren wie Kochen, Braten und Pasteurisieren werden diese bakteriellen Zoonoseerreger abgetötet. Aus Gründen der Lebensmittelsicherheit sollten dabei im Inneren der Lebensmittel mindestens 72 °C für zwei Minuten oder gleichwertige Temperatur-Zeit-Kombinationen erreicht werden. Bei Verwendung trockener Hitze sind grundsätzlich längere Erhitzungszeiten notwendig.

Weitere bakterielle Gefahren sind Bakterien, die im Magen-Darm-Trakt des Menschen (bestimmte *Bacillus cereus*-Stämme, *Clostridium perfringens*) oder während ihrer Vermehrung

im Lebensmittel Toxine produzieren (bestimmte *Bacillus cereus*-Stämme, *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus*). Die im Lebensmittel gebildeten Toxine sind teilweise hitzestabil, sodass beim einfachen Aufkochen der Speisen oder bei der Mikrowellen-Erwärmung keine Inaktivierung erfolgt.

Eine im Jahr 2013 veröffentlichte Literaturlauswertung zur Relevanz von Krankheitserregern in pflanzlichen Lebensmitteln mit hohem Wassergehalt ergab, dass das Vorkommen von pathogenen *Escherichia (E.) coli* und *Salmonella* spp. in rohem Blattgemüse, insbesondere Salaten und Spinat, weltweit die größte gesundheitliche Bedeutung hat. An zweiter Stelle folgen *Salmonella* spp. in/auf frischen Kräutern, insbesondere Basilikum, zusammen mit anderen Erreger-Lebensmittel-Kombinationen<sup>3</sup>.

Ein Risiko-Ranking von Krankheitserregern in pflanzlichen Lebensmitteln, welches auf der Grundlage von gemeldeten lebensmittelbedingten Ausbrüchen in Europa der Jahre 2007 bis 2011 und weiteren Daten durchgeführt wurde, ergab, dass *Salmonella* spp. in/auf rohem Blattgemüse, welches als Salat verzehrt wird, am bedeutsamsten sind. Die Kombinationen von *Salmonella* spp. oder *Bacillus* spp. in Gewürzen und getrockneten Kräutern sowie *Shigella* spp. in frischen Kräutern wurden von den Autoren in die vierte Risikogruppe eingeordnet. Darüber hinaus soll das Vorkommen von *Clostridium perfringens* in frischen Kräutern bzw. in Gewürzen und getrockneten Kräutern zwei kleine Ausbrüche ausgelöst haben<sup>4</sup>.

Nachfolgend werden relevante bakterielle Krankheitserreger, die auf Gras- und Blattprodukten vorkommen können, detaillierter beschrieben.

#### 3.1.1.1 *Salmonella* spp.

*Salmonella* spp. sind in der Regel bewegliche, gramnegative nicht sporenbildende Stäbchenbakterien. Sie gehören zur Bakterienfamilie der *Enterobacteriaceae* und zu den bedeutendsten bakteriellen Zoonoseerregern. Durch biochemische und serologische Untersuchungen lassen sich die zwei Arten (Spezies) *Salmonella (S.) enterica* und *S. bongori* differenzieren. *S. enterica* wiederum weist sechs Unterarten (Subspezies) auf. *Salmonella*-Isolate können aufgrund der Struktur ihrer Körper (O)- und Geißel (H)-Antigene nach dem White-Kauffmann-Le Minor Schema geordnet und anhand einer Seroformel einem der mehr als 2.600 Serovare (Stämme mit identischen Antigenkombinationen) zugeordnet werden.

Die Bakterien der Gattung *Salmonella* sind in der Natur weit verbreitet, sie werden bei vielen kalt- und warmblütigen Tieren in allen Erdteilen nachgewiesen und können über Lebensmittel auf Menschen übertragen werden. Die meisten der 2.600 Serovare können bei Menschen und allen Tierarten vorkommen. Einige Serovare, wie *S. Typhi*, *S. Paratyphi*, *S. Gallinarum* und *S. Dublin* sind wirtsspezifisch und typischerweise nur bei Menschen bzw. Hühnern und Rindern zu finden. In der Umwelt und in oder auf verschiedenen Lebensmitteln sind Salmonellen mehrere Monate überlebensfähig.

Die Wachstumsansprüche der Salmonellen sind, verglichen mit anderen Bakterien, gering. Salmonellen wachsen im Temperaturbereich von 10-47 °C, in einigen Fällen bereits ab 6-8 °C. Sie vermehren sich bei pH-Werten von etwa 4-9; das pH-Optimum liegt zwischen 6,5 und 7,5. Der minimale  $a_w$ -Wert<sup>a</sup>, bei dem ein Wachstum stattfindet, liegt je nach Substrat und Temperatur zwischen 0,92 und 0,95. In getrockneten Lebensmitteln können Salmonellen bei  $a_w$ -Werten bis zu 0,43 lange Zeit vermehrungsfähig bleiben. Kochsalz hat eine bakteriostati-

<sup>a</sup>  $a_w$ -Wert: activity of water; Maß für die Verfügbarkeit von Wasser in Lebensmitteln und/oder Speisen. Je größer der  $a_w$ -Wert, desto mehr Wasser steht dem Wachstum/Stoffwechsel von Bakterien zur Verfügung.

sche Wirkung vor allem durch Bindung des frei verfügbaren Wassers und somit durch Herabsetzung der Wasseraktivität. Steigende Kochsalzmengen bewirken ein langsames Absinken der Wachstumsraten, aber eine vollständige Inaktivierung der Salmonellen ist durch das Salzen von Lebensmitteln nicht zu erreichen. Durch Einfrieren werden Salmonellen in ihrer Anzahl reduziert, aber nicht vollständig abgetötet.

### 3.1.1.2 Shigatoxin-bildende *Escherichia coli* (STEC)

*Escherichia (E.) coli* ist ein gramnegatives, nicht sporenbildendes Stäbchenbakterium, welches ebenfalls zur Bakterienfamilie der *Enterobacteriaceae* gehört. Es kommt natürlicherweise im Darm von Menschen und Tieren vor und ist deshalb der wichtigste Indikatorkeim für eine fäkale Verunreinigung. Der Nachweis von *E. coli* spricht für eine ungenügende Verarbeitungs-, Betriebs- oder Distributions-Hygiene. Bestimmte Stämme von *E. coli* können bei Tieren und Menschen schwerwiegende Erkrankungen hervorrufen. Von besonderer Bedeutung für den Menschen sind *E. coli*-Stämme, die Verotoxine (VT) bzw. Shigatoxine (Stx) bilden können. Shigatoxin-bildende *E. coli* (STEC) kommen natürlicherweise im Darm von Wiederkäuern wie Rindern, Schafen, Ziegen aber auch Wildwiederkäuern vor. Tiere, die STEC ausscheiden, zeigen keine Erkrankungsanzeichen. Über den Kot gelangen die Bakterien in die Umwelt und auf diverse Lebensmittel tierischen und pflanzlichen Ursprungs. Auch die direkte Übertragung vom Tier auf den Menschen und von Mensch zu Mensch ist möglich. STEC, die beim Menschen Erkrankungen auslösen, werden als enterohämorrhagische *E. coli* (EHEC) bezeichnet.

Im Rahmen der amtlichen Überwachung werden STEC am häufigsten in Wildwiederkäuerfleisch festgestellt<sup>5</sup>. Sie wurden aber auch auf pflanzlichen Lebensmitteln und bei Lebensmitteln mit niedrigem  $a_w$ -Wert wie z. B. Haselnüssen nachgewiesen<sup>6</sup>. Eine Studie mit künstlich kontaminierten Walnusskernen zeigte die Überlebensfähigkeit von *E. coli* O157 auf dieser Matrix über mehrere Monate<sup>7</sup>.

STEC können sich im Temperaturbereich von 8-45 °C vermehren. Sie sind widerstandsfähig gegenüber Austrocknen und Einfrieren, sodass sie in der Umwelt (Boden, Wasser, Fäkalien) über Wochen und Monate überleben können. Versuche zur Dekontamination von mit *E. coli* O157:H7 kontaminierten Lebensmitteln mit 0,5, 1,0 und 1,5 %-igen organischen Säuren haben sich als ineffektiv erwiesen und unterstreichen die Säuretoleranz dieses Erregers<sup>8</sup>. Auch gegenüber Salz können STEC unempfindlich sein.

Bei Temperaturen oberhalb von +60 °C beginnen STEC abzusterben. Für *E. coli* O157:H7 sind D-Werte<sup>9</sup> für Lebensmittel wie Fleisch und Milch bekannt. Diese liegen ähnlich wie bei anderen *E. coli*-Typen im Temperaturbereich von 57-64 °C bei Zeiten zwischen 270 und 9,6 Sekunden. Der Fettgehalt und das Trocknen von Lebensmitteln können allerdings den D-Wert erhöhen. Im Labor wurde die erhöhte Überlebensfähigkeit nach Trocknung und Lagerung gezeigt, wobei die Bakterien 70 °C für 5 Stunden überstanden<sup>9</sup>.

Auch mit Hilfe von Schwefeldioxid (SO<sub>2</sub>), welches als Konservierungs- und Antioxidationsmittel für verschiedene Lebensmittel zugelassen ist (E220), lässt sich die Konzentration von STEC auf Lebensmitteln reduzieren. Zum Einsatz kommt SO<sub>2</sub> unter anderem bei Trockenfrüchten, aber auch z. B. bei getrockneten Kartoffelerzeugnissen oder getrockneten oder tiefgefrorenen weißen Gemüsesorten, wobei produktspezifische Höchstmengen zugelassen sind. Eine Keimreduzierung von *E. coli* O157:H7 um bis zu fünf Zehnerpotenzen konnte bei-

<sup>b</sup> Der D-Wert ist die Zeitspanne, die bei einer gegebenen Temperatur zur Reduktion einer Mikroorganismenpopulation auf 10 % erforderlich ist.



spielsweise in verschiedenen sauren Apfelsaftprodukten durch einen Einsatz von 50 parts per million (ppm) SO<sub>2</sub> erzielt werden<sup>10</sup>.

### 3.1.1.3 *Campylobacter* spp.

*Campylobacter* (*C.*) spp. sind bewegliche gramnegative, in der Regel spiralförmig gebogene, nicht sporenbildende Stäbchenbakterien. Sie wachsen unter mikroaeroben Bedingungen (erhöhter CO<sub>2</sub>-Bedarf sowie höhere O<sub>2</sub>-Sensitivität). Im Darm warmblütiger Tiere sind sie weit verbreitet, vor allem in Geflügel. Schätzungsweise 20-30 % aller *Campylobacteriosen* werden durch den Verzehr von nicht ausreichend durchgegartem Geflügelfleisch und Geflügelfleischprodukten sowie durch Kreuzkontaminationen zwischen Geflügelfleisch und anderen Lebensmitteln ausgelöst, wobei sogar 50-80 % der Fälle mit teilweise unbekannter Übertragungsweise auf das Reservoir Huhn zurückgeführt werden<sup>11</sup>. Weitere mögliche Infektionsquellen sind Rohmilch, rohes Schweine- oder Rindfleisch, nicht aufbereitetes Trinkwasser, kontaminiertes Wasser in Badeseen sowie der Umgang mit infizierten Haustieren.

Die Hauptverursacher der humanen *Campylobacteriose* sind thermophil. Das bedeutet, dass sie sich unterhalb von Temperaturen von 30 °C nicht vermehren können und ein Wachstumsoptimum bei 42 °C aufweisen. Diese physiologischen Ansprüche resultieren darin, dass sich *Campylobacter* spp. in oder auf Lebensmitteln in der Regel nicht vermehren können. Die wichtigsten Spezies, die humane Erkrankungen auslösen können, sind *C. jejuni* und *C. coli*.

Wenn die Bakterien in einem für sie ungünstigen Umfeld vorkommen (außerhalb des Darmtraktes der Wirtstiere), sind sie oxidativem Stress, Kälte- und Austrocknungsstress ausgesetzt. In Hühnerkot waren *Campylobacter* spp. über 5-6 Tage mit abnehmender Anzahl kulturell nachweisbar<sup>12,13</sup>. Unter diesen Bedingungen verlieren die Bakterien einen Teil ihrer Vitalität, können jedoch auch einen Zustand erreichen, indem sie nicht mehr mit den klassischen Methoden kultivierbar sind, aber möglicherweise noch eine Infektiosität aufweisen (Viable But Not Culturable - VBNC)<sup>14-18</sup>.

Durch das Tiefgefrieren von Lebensmitteln werden *Campylobacter* spp. zwar in der Anzahl reduziert, aber nicht ausreichend abgetötet. Sie können allerdings durch Hitze inaktiviert werden. Die D-Werte variieren je nach Matrix und Bakterienstamm. Für *C. jejuni* werden im Darminhalt von Hühnern D-Werte von 1,96-10,82 Minuten bei 52 °C und 0,18-0,39 Minuten bei 60 °C angegeben<sup>19</sup>. In Hühnerhackfleisch wurden bei 57 °C D-Werte von 0,79-0,98 Minuten ermittelt<sup>20</sup> und auf ganzen Hühnerbrustfilets in kochendem Wasser ein D-Wert von 1,90 Minuten<sup>21</sup>.

Das pH-Optimum für *Campylobacter* spp. befindet sich zwischen 6,5 und 7; pH-Werte unter 4 oder über 9 führen zu einer schnellen Abnahme der *Campylobacter*-Konzentration<sup>22</sup>. *Campylobacter* spp. haben keine hohe Toleranz gegenüber Austrocknung<sup>19</sup> und osmotischem Stress. Bei Kochsalz-Gehalten von mehr als 2 % w/v konnte kein Wachstum beobachtet werden<sup>23</sup>. Der optimale a<sub>w</sub>-Wert liegt bei 0,997 (ca. 0,5 % w/v NaCl)<sup>24</sup>.

Daten zur Überlebensfähigkeit von *Campylobacter* spp. auf pflanzlichen Lebensmitteln gibt es nur wenige. Kärenlampi und Hänninen (2004)<sup>25</sup> zeigten, dass niedrige Temperaturen das Überleben von *Campylobacter* spp. auf frischem Eisbergsalat begünstigen. Die Absterberate von *C. jejuni* bei einer Lagerzeit von 72 Stunden bei 7 °C (D-Wert: 40,7 Stunden) lag deutlich niedriger als bei 21 °C (D-Wert: 17,9 Stunden). Auch auf frischem Spinat kommt es innerhalb von sieben Tagen zu einer signifikanteren Abnahme der *Campylobacter*-Konzentrationen bei einer Temperatur von 12 °C im Vergleich zu 4 °C<sup>26</sup>.

### 3.1.1.4 *Yersinia* (*Y.*) spp.

Yersinien sind gramnegative, fakultativ anaerobe, nicht sporenbildende Stäbchenbakterien. Die Gattung *Yersinia* umfasst derzeit 17 Spezies, von denen drei (*Y. pestis*, *Y. enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis*) beim Menschen Infektionskrankheiten auslösen können<sup>27</sup>. Während *Y. pestis* der Erreger der Pest ist, werden die durch *Y. enterocolitica* und *Y. pseudotuberculosis* verursachten Krankheitsbilder als Yersiniosen bezeichnet. Hierbei handelt es sich in erster Linie um Magen-Darm-Erkrankungen, die durch den Verzehr kontaminierter Nahrung, insbesondere von Schweinefleischprodukten, aber auch durch Trinkwasser hervorgerufen werden<sup>28</sup>. Die meisten Yersiniosen werden durch *Y. enterocolitica* verursacht<sup>29</sup>. Das Hauptreservoir dieser in der Umwelt weit verbreiteten Spezies ist das Schwein<sup>30,31</sup>. Diese Spezies ist bezüglich ihres pathogenen Potentials heterogen. Sie besteht aus sechs Biotypen und mehr als 50 unterschiedlichen Serotypen. Stämme der Biotypen 1B, 2, 3, 4 und 5 sind als humanpathogen einzustufen, wobei Biotyp 4 (Serotyp O:3) und Biotyp 2 (Serotyp O:9) am häufigsten in Verbindung mit Infektionen beim Menschen in Europa nachgewiesen werden. Stämme des Biotyps 1A (Serotyp O:5) werden häufig aus Umweltproben, Faeces von Menschen und Tieren und auch aus Lebensmitteln isoliert, aber eher selten mit Humaninfektionen in Verbindung gebracht<sup>32</sup>. *Y. pseudotuberculosis* ist in der Umwelt weit verbreitet und kann dort lange Zeit überleben. Bei dieser Spezies sind alle Stämme für Menschen und viele Tierarten potentiell pathogen. Der Serotyp I ist bei weitem der häufigste Serotyp, der bei Infektionen von Mensch und Tier in Europa gefunden wird, gefolgt von Serotyp III. Wildtiere sind wahrscheinlich das wichtigste Reservoir für *Y. pseudotuberculosis* in Europa. Nachgewiesen wurde der Erreger außerdem in unbehandeltem Oberflächenwasser. Gemüse kann durch direkten Kontakt mit Wildtierkot oder über kontaminiertes Wasser mit diesem Krankheitserreger verunreinigt werden, beispielsweise bei der Bewässerung, bei der Ernte oder beim Transport<sup>33</sup>.

Alle pathogenen Yersinien besitzen ein ähnliches, 70 Kilobasenpaare (kb) großes Virulenzplasmid (plasmid for *Yersinia* virulence, pYV), auf dem eine Reihe von Genen für Virulenzfaktoren (u. a. für Yops, „*Yersinia* outer proteins“) lokalisiert sind<sup>34</sup>. Diese spielen für die Pathogenität der Bakterien eine große Rolle, indem sie z. B. die Bindung der Bakterien an Epithelzellen ermöglichen, eine toxische Wirkung auf Wirtszellen ausüben oder eine Resistenz gegenüber dem Immunsystem (z. B. Makrophagen) vermitteln. Weitere Virulenzgene befinden sich im Chromosom der Bakterien, z. B. für Invasine, die ein Eindringen der Yersinien in eukaryotische Zellen ermöglichen.

Alle pathogenen Yersinien besitzen ein ähnliches, 70 Kilobasenpaare (kb) großes Virulenzplasmid (plasmid for *Yersinia* virulence, pYV), auf dem eine Reihe von Genen für Virulenzfaktoren (u. a. für Yops, „*Yersinia* outer proteins“) lokalisiert sind<sup>34</sup>. Diese spielen für die Pathogenität der Bakterien eine große Rolle, indem sie z. B. die Bindung der Bakterien an Epithelzellen fördern, eine toxische Wirkung auf Wirtszellen ausüben oder eine Resistenz gegenüber dem Immunsystem (z. B. Makrophagen) vermitteln. Weitere Virulenzgene befinden sich im Chromosom der Bakterien, z. B. für Invasine, die ein Eindringen der Yersinien in eukaryotische Zellen ermöglichen.

*Y. enterocolitica* und *Y. pseudotuberculosis* wachsen bei Temperaturen zwischen 0 °C und 42 °C, wobei das Temperaturoptimum bei 28 °C liegt. Da sich die Bakterien auch bei 4 °C vermehren können, reichen Kühlschranktemperaturen in der Regel nicht aus, ein Wachstum dieser Bakterien effizient zu unterdrücken. Auch in gefrorenen Lebensmitteln können Yersinien mehrere Wochen überleben und infektiös bleiben. Bei üblichen Erhitzungsverfahren, wie Kochen und Pasteurisieren, sterben die Erreger ab. Ein Wachstum von *Y. enterocolitica* ist bei pH-Werten zwischen 4,2 und 9 sowie bei Salzkonzentrationen bis ca. 5 % möglich<sup>35,36</sup>. Der minimale  $a_w$ -Wert, bei dem ein Wachstum stattfindet, beträgt etwa 0,96.

### 3.1.1.5 *Shigella* spp.

Shigellen sind unbewegliche, gramnegative nicht sporenbildende Stäbchenbakterien der Familie der *Enterobacteriaceae*, die eine enge Verwandtschaft zu *E. coli* besitzen und weltweit verbreitet sind. *Shigella sonnei*, *Shigella flexneri*, *Shigella boydii* und *Shigella dysenteriae* können beim Menschen Infektionserkrankungen auslösen. Der Mensch ist das einzige relevante Reservoir für Shigellen. Die Übertragung erfolgt fäkal-oral, überwiegend durch direkten Kontakt von Mensch zu Mensch. Infektionen durch kontaminiertes Trinkwasser oder Lebensmittel besitzen vor allem in den wärmeren Ländern Bedeutung, hier ist auch mit einer Übertragung in kontaminierten Badegewässern zu rechnen. Fliegen besitzen als mechanische Vektoren nicht nur in tropischen Ländern eine praktische Bedeutung. Alle Shigellen besitzen ein aus Lipopolysacchariden bestehendes Endotoxin, das zur entzündlichen Reizung der Darmschleimhaut beiträgt. Nur *Shigella dysenteriae* Typ 1 bildet zusätzlich ein Shigatoxin (Stx1), das zu schweren toxischen Krankheitsbildern führen kann<sup>37</sup>.

Die Hitzeresistenz und Tenazität von Shigellen entsprechen etwa denen von *E. coli* und Salmonellen<sup>38</sup>. Shigellen können sich bei Temperaturen oberhalb von 6-8 °C und pH-Werten oberhalb von 4,9 vermehren<sup>39</sup>. In einer in Belgien durchgeführten Studie konnte sich *Shigella sonnei* auch in BHI mit pH 4,5 und *Shigella flexneri* bei pH 4,75 vermehren. In Apfelsaft (pH 3,3-3,4) und Tomatensaft (pH 3,9-4,1) konnten sich die geprüften *Shigella* spp. zwar nicht vermehren, aber sie überlebten in den bei 7 °C gelagerten Säften bis zu 14 Tage. In künstlich kontaminierten Säften, die bei 22 °C gelagert wurden, waren nach 2-6 Tagen (Apfelsaft) bzw. 8-10 Tagen keine *Shigella* spp. mehr nachweisbar. Die Zugabe von Kochsalz kann die Säureresistenz von *Shigella* spp. jedoch vermindern<sup>40</sup>. Die Empfindlichkeit gegenüber Kochsalz ist Stamm-abhängig. *Shigella sonnei* wird durch eine Konzentration von 5,2 %, *Shigella flexneri* schon durch 3,8 % Kochsalz im Wachstum gehemmt<sup>38</sup>.

### 3.1.1.6 *Listeria* spp.

Listerien sind grampositive, stäbchenförmige, fakultativ anaerobe, nicht sporenbildende Bakterien der Familie der *Listeriaceae*. Sie sind peritrich begeißelt und bei 20-25 °C beweglich. Aufgrund ihrer äußerst guten Anpassungsfähigkeit an die umgebenden Bedingungen sind Listerien weltweit verbreitet und kommen beispielsweise im Erdboden, in Oberflächengewässern, Abwässern, auf Pflanzen und im Verdauungstrakt von Tieren vor.

Von den bisher beschriebenen 17 Spezies der Gattung *Listeria* (*L.*) sind lediglich *L. monocytogenes* und *L. ivanovii* pathogen. Während *L. ivanovii* bisher mit wenigen Ausnahmen nur beim Tier als Krankheitserreger nachgewiesen wurde, handelt es sich bei *L. monocytogenes* um einen Zoonoseerreger.

Der Mensch infiziert sich vor allem durch den Verzehr von mit *L. monocytogenes* kontaminierten Lebensmitteln tierischer und pflanzlicher Herkunft. Die höchsten Nachweisraten finden sich in Hackfleisch, rohen Fleischzubereitungen, geräuchertem Fisch, Käse und Feinkostsalaten. Aber auch zahlreiche andere, v. a. verzehrfertige Lebensmittel, die nach der Verarbeitung nicht noch einmal einer keimabtötenden Behandlung unterzogen werden, können mit *L. monocytogenes* kontaminiert sein. Grundsätzlich ist auch eine Infektion des Menschen durch den direkten Kontakt zu infizierten Tieren oder Menschen möglich. Lebensmittel tierischer Herkunft wie Rohmilch und rohes Fleisch können schon beim Melken oder beim Schlachten verunreinigt werden, Gemüse und Salat durch organische Düngung (Jauche, Mist). Sehr häufig wird *L. monocytogenes* jedoch während der Verarbeitung durch mangelnde Betriebshygiene in das Lebensmittel eingetragen.

Optimale Wachstumsbedingungen finden Listerien bei Temperaturen von 30-39 °C und einem neutralen bis leicht alkalischen pH-Wert. Sie können sich bei Temperaturen zwischen -2 °C und 45 °C und pH-Werten von 4,5-9 vermehren. Darüber hinaus sind Listerien relativ resistent gegenüber hohen Salzkonzentrationen von bis zu 10 %. Der minimale  $a_w$ -Wert, bei dem ein Wachstum stattfindet, beträgt 0,92<sup>41</sup>. Der Erreger kann in getrockneten Lebensmitteln in Abhängigkeit von der Lagertemperatur lange Zeit überleben<sup>42-44</sup>. Durch Gefrieren wird die Listerien-Konzentration kaum reduziert.

### 3.1.1.7 *Bacillus cereus*

*Bacillus (B.) cereus* ist der namensgebende Vertreter der sogenannten *B. cereus*-Gruppe, zu der aktuell acht eng verwandte Spezies gehören (*B. cereus sensu stricto* (s.s.), *B. thuringiensis*, *B. weihenstephanensis*, *B. cytotoxicus*, *B. toyonensis*, *B. anthracis*, *B. mycoides* und *B. pseudomycoides*). Vor allem zwischen den fünf erst genannten Spezies findet in der Routine-Diagnostik kaum eine Unterscheidung statt.

*B. cereus* ist ein ubiquitär vorkommendes grampositives, bewegliches sporenbildendes Stäbchenbakterium. Seine Sporen finden sich im Erdboden, im Darmtrakt von Menschen und Tieren sowie in vielen Lebensmitteln tierischen und vor allem pflanzlichen Ursprungs. Einige Stämme besitzen die Fähigkeit, während des Wachstums Toxine zu bilden. Bisher wurden drei bedeutende Enterotoxine bzw. Enterotoxinkomplexe von *B. cereus* beschrieben, das diarrhoetische Toxin (Hbl), das Zytotoxin K und das nicht hämolytische Enterotoxin (Nhe). Beim Zytotoxin K werden zwei Formen unterschieden. Das CytK1 ist zytotoxischer als das CytK2. Die von *B. cereus* gebildeten Enterotoxine bzw. Enterotoxinkomplexe sind hitzestabil und werden durch eine fünfminütige Erhitzung auf 56 °C inaktiviert<sup>45</sup>. Außerdem sind sie empfindlich gegenüber Proteasen und niedrigem pH-Wert, weshalb sie bei der Magen-Darm-Passage schnell inaktiviert werden. Schon geringe Mengen Trypsin oder Chymotrypsin konnten *in vitro* die biologische Aktivität der Toxine innerhalb kürzester Zeit auf 5 % und weniger verringern<sup>46</sup>. Die Enterotoxin-Gene (*nhe*, *hbl*, *cytK*) sind chromosomal verankert und können in unterschiedlichen Kombinationen in allen Spezies der *B. cereus*-Gruppe vorkommen. Die Stamm-spezifischen Unterschiede in der Pathogenität sind vermutlich in der Regulation der Toxinexpression begründet.

Einige Stämme von *B. cereus* sind darüber hinaus in der Lage, ein hitzestabiles emetisches Toxin, das sogenannte Cereulid (ein zyklisches Peptid) zu bilden, welches durch eine zweistündige Erhitzung bei 121 °C nicht zerstört wird. Die Cereulid-Produktion erfolgt in einem Temperaturbereich von 8-40 °C<sup>47</sup>. Sie beginnt am Ende der logarithmischen Wachstumsphase und ist am Beginn der stationären Phase am höchsten. Darüber hinaus existieren stammspezifische Unterschiede<sup>48</sup>. Bei anaeroben Bedingungen ist die Bildung von Cereulid unwahrscheinlich<sup>49</sup>.

Die *ces*-Gene, welche für die Bildung des Cereulids notwendig sind, sind auf einem großen Plasmid lokalisiert<sup>50</sup>. In einer in Deutschland durchgeführten Studie ließ sich bei 15 % der untersuchten *B. cereus*-Stämme das *ces*-Gen nachweisen<sup>51</sup>. In einer anderen in Deutschland durchgeführten Studie ließ sich mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) nur bei 1,5 % der untersuchten *B. cereus*-Stämme, die aus im Handel erhältlichen Lebensmittelproben angezüchtet worden waren, das *ces*-Gen detektieren<sup>52</sup>.

Durch Umweltkontaminationen (häufig Erdbodenpartikel und Staubverschmutzungen) kann *B. cereus* auf Lebensmittel gelangen. Die initiale Kontaminationsdosis ist zumeist sehr gering

(<100-1000 Kolonie bildende Einheit (KbE)<sup>°</sup> pro Gramm (g)). Unter günstigen Bedingungen können *B. cereus*-Sporen im Lebensmittel auskeimen und sich vermehren. Ob eine Vermehrung im Lebensmittel stattfindet, ist einerseits abhängig vom *B. cereus*-Stamm andererseits von der Lagertemperatur, dem pH-Wert, dem  $a_w$ -Wert und der Vorbehandlung des Lebensmittels.

Die vegetative Form von *B. cereus* wächst unter aeroben und anaeroben Bedingungen in einem Bereich von 10-50 °C, mit einem Temperaturoptimum zwischen 30 °C und 40 °C. Allerdings können sich einzelne psychrotrophe Stämme auch bei Temperaturen von 4-6 °C vermehren, wobei die Generationszeiten wesentlich verlängert sind. Solche Stämme wurden bereits in verschiedenen pflanzlichen Lebensmitteln gefunden<sup>53,54</sup>. Guinebretiere et al. (2003) konnten zeigen, dass sich *B. cereus* in pasteurisierter Zucchini innerhalb von 21 Tagen bei 10 °C von <0,2 log<sub>10</sub> KbE pro g auf 4,6 ± 1,9 log<sub>10</sub> KbE pro g vermehren konnte, während bei 4 °C kein signifikantes Wachstum stattfand<sup>55</sup>.

Krause (2007)<sup>46</sup> konnte in ihrer Dissertation darstellen, dass sich *B. cereus* unter gastrointestinalen Bedingungen vermehren und Enterotoxine bilden kann, dass aber der Wachstumsverlauf und das Toxinbildungsvermögen stammspezifische Unterschiede zeigen.

Übliche Hitzebehandlungen töten vegetative Zellen ab. Die Hitze-resistenz der Sporen ist stark abhängig von der Matrix. Außerdem ist die Stammvariabilität sehr hoch. Um sicher alle Sporen abzutöten, müsste das Lebensmittel für mindestens drei Minuten auf 121 °C erhitzt werden. Temperaturen, die beim Pasteurisieren oder Kochen von Lebensmitteln erreicht werden, reichen hingegen nicht aus, um alle Sporen sicher zu inaktivieren<sup>56</sup>. Mildere Temperatur-Behandlungen (70-80 °C für 10 Minuten) können sogar das Auskeimen und Wachstum von *B. cereus* beschleunigen<sup>57</sup>. Hitzebehandlungen bei höheren Temperaturen können hingegen das Wachstum verzögern. In einer Studie von Valero et al. (2002) konnte das Wachstum eines psychrotrophen Stamms in Karottensuppe durch Erhitzung auf 90 °C für 7,5 Minuten und anschließender Kühllhaltung bei 8 °C verhindert werden<sup>58</sup>. Das Wachstum war ebenfalls gehemmt durch Erhitzung auf 90 °C für 30 Minuten bei Lagerung bei 12 °C. Bei Lagerung bei 16 °C reichte diese Hitzebehandlung jedoch nicht aus, um Wachstum zu verhindern.

Neben der Hitzebehandlung und der Kühllhaltung kann eine Wachstumshemmung durch niedrige pH-Werte erreicht werden. Der optimale pH-Wert für die Vermehrung liegt zwischen 5,5 und 7. In einer Gemüsesuppe mit pH 5,5 konnte ein psychrotropher Stamm bei 7 °C und 10 °C über 35 Tage hinweg nicht wachsen<sup>57</sup>. Valero et al. (2002) demonstrierten eine pH-Abhängigkeit der inhibierenden Lagertemperatur für *B. cereus* Teststämme in Karottenpüree (angesäuert mit Zitronensaft)<sup>58</sup>. Bei pH 5 wurde für mindestens 60 Tage bei Temperaturen zwischen 5 °C und 16 °C kein Wachstum detektiert. Ab pH 5,1 zeigte sich bereits Wachstum bei 16 °C. Bei pH 5,3 lag die hemmende Temperatur bei 8 °C und bei pH 5,4-5,5 bei 5 °C. In Zucchinisuppe konnten die Teststämme bei pH 5 bei 16 °C wachsen, nicht jedoch bei 12 °C. In jedem Fall trägt ein niedriger pH zur Verzögerung des Wachstums bei. In unbehandelter Zucchinisuppe (pH 6,5) betrug die Lag-time (Anpassungsphase bis zum Einsetzen des Wachstums) 8-18 Stunden bei 16 °C und 16-50 Stunden bei 12 °C. Nach Ansäuerung auf pH 5 lag die Lag-time bei 16 °C bei 28-63 Stunden.

Unter pH 4,1 und bei  $a_w$ -Werten unter 0,92 sind *B. cereus* nicht in der Lage, sich zu vermehren<sup>49</sup>.

<sup>°</sup> KbE=Kolonie bildende Einheit

Weitere Vertreter aus der *B. cereus*-Gruppe mit Relevanz für pflanzliche Lebensmittel sind vor allem die Spezies *B. weihenstephanensis*, *B. thuringiensis* und *B. cytotoxicus*.

*B. cytotoxicus* ist ein thermotoleranter Vertreter (Wachstum bei über 50 °C) und wurde bereits häufig in Gemüseprodukten, z. B. Kartoffelprodukten, nachgewiesen<sup>59</sup>. Die Spezies ist durch eine stärker zytotoxisch wirkende Variante des *cytK*-Gens (*cytK-1*) gekennzeichnet und wurde als Verursacher lebensmittelbedingter Erkrankungen identifiziert.

*B. weihenstephanensis* ist eine psychrotrophe Spezies (Wachstum auch bei Temperaturen zwischen 4 °C und 7 °C), die vor allem in Milchprodukten vorkommt. Für

*B. weihenstephanensis* ist bekannt, dass die Gene für die Bildung von Enterotoxinen und selten auch für die Bildung von Cereulid vorhanden sein können<sup>60,61</sup>. *B. thuringiensis* ist bekannt für seine Insektenpathogenität, die von sogenannten parasporalen Kristallen ausgeht, welche während der Sporulation gebildet werden. Neben dem natürlichen Vorkommen von *B. thuringiensis* werden einige Stämme dieser Spezies in kommerziellen biologischen Insektiziden verwendet. Ähnlich wie *B. cereus* ist *B. thuringiensis* häufig auf pflanzlichen Lebensmitteln zu finden. Die Prävalenz von Enterotoxin-Genen ist bei *B. thuringiensis* wahrscheinlich ähnlich wie bei *B. cereus*<sup>47</sup>. Das *ces*-Gen für die Cereulid-Bildung wurde hingegen noch nicht in *B. thuringiensis* nachgewiesen. Die mögliche Humanpathogenität von *B. thuringiensis* ist umstritten. Bislang gibt es nur wenige Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen lebensmittelbedingten Erkrankungen und dem Vorkommen von *B. thuringiensis*<sup>56</sup>. Jedoch wird in der Routine-Diagnostik kaum zwischen *B. cereus*, *B. weihenstephanensis* und *B. thuringiensis* unterschieden, so dass der Beitrag der einzelnen Spezies zu Krankheitsgeschehen nicht beurteilt werden kann.

### 3.1.1.8 *Clostridium botulinum*

*Clostridium botulinum* ist ein grampositives, strikt anaerob wachsendes sporenbildendes Stäbchenbakterium. Seine Sporen finden sich im Erdboden, in Sedimenten von Gewässern und bei praktisch allen Lebensmitteln tierischen und vor allem pflanzlichen Ursprungs<sup>62</sup>. Es wird außerdem im Magen-Darm-Trakt gesunder Menschen und Tiere gefunden.

*Clostridium botulinum*-Stämme werden in die Gruppen I bis IV eingeteilt, von denen aber nur die Gruppen I und II lebensmittelhygienisch relevant sind. Die proteolytischen Stämme der Gruppe I vermehren sich bei Temperaturen zwischen 10 °C und 42 °C und unter strikt anaeroben Bedingungen ab einem pH von 4,6. Nicht-proteolytische Stämme der Gruppe II werden erst unterhalb von 3,3 °C im Wachstum unterdrückt<sup>62</sup>. Stämme der Gruppe III (Typen C und D) treten hauptsächlich beim Botulismus von Wasser- und Hausgeflügel (Typ C) sowie bei weiteren (Haus-)Säugetieren (Typ D und C) in Erscheinung<sup>63,64</sup>.

Unter anaeroben Bedingungen und bei ausreichendem Nährstoffangebot sind die Bakterien in der Lage, während der Vermehrung Botulinumneurotoxine (BoNT) zu bilden. Klassisches Beispiel hierfür sind nicht ausreichend erhitzte Konserven.

Carlin und Peck (1996) konnten zeigen, dass das Wachstum von nicht-proteolytischen Stämmen und die damit einhergehende Bildung von BoNT auf Pilzen, vakuumierten Kartoffeln, Knoblauch in Öl, sautierten Zwiebeln und gekochtem, püriertem Gemüse von der Lagertemperatur abhängt<sup>65</sup>. Der Nachweis von BoNT gelang nach 3-5 Tagen bei 16 °C, 11-13 Tagen bei 10 °C und 17-20 Tagen bei 5 °C.

Es gibt verschiedene klassische Toxintypen, die bisher mit den Buchstaben A bis G bezeichnet wurden. Vor wenigen Jahren wurde in den USA ein weiterer Toxintyp (H) entdeckt<sup>66</sup>.

Sequenzunterschiede auf Nukleotid- und Aminosäureebene innerhalb der Serotypen A, B, E und F führten zu einer weiteren Unterteilung dieser Serotypen in Subtypen. Unter Berücksichtigung der Mosaikformen der Serotypen C und D sind mehr als 30 Subtypen bzw. genetische Varianten bekannt<sup>67</sup>. Die gebildeten Toxine sind relativ hitzeempfindlich. Eine von Schneider (2013)<sup>68</sup> durchgeführte Studie ergab, dass sowohl in Kulturüberständen als auch in Lebensmitteln nach einer Hitze einwirkung von zehn Minuten bei 85 °C eine vollständige Denaturierung erreicht wurde. Schon ein Dauererhitzen (62 °C für 30 Minuten) und das Kurzzeit-Hocherhitzen von Milch (72 °C für 20 Sekunden) führten zu einem starken, graduellem Absinken der Toxinkonzentrationen. Weiterhin zeigten die Hitzebehandlungsverfahren bei den festen Lebensmitteln mit unterschiedlichen Temperatur-Zeit-Verläufen eine graduelle Inaktivierung der Toxine. Bei der Lagerung der Neurotoxine bei unterschiedlichen Temperaturen erwies sich die Toxinkonzentration bei -21 °C über 20 Tage als stabil, während bei 4 °C ab dem fünften Lagertag ein Absinken der aktiven Toxinmengen zu beobachten war. Am 20. Tag lag der Messwert unterhalb der Nachweisgrenze.

Als Präventionsmaßnahme werden Konserven bei der Herstellung ausreichend erhitzt (sog. Botulinumkochung, 121 °C für drei Minuten). Sporen von Stämmen der Gruppe I sind deutlich hitzeresistenter als von Stämmen der Gruppe II. Angaben zu D- und z-Werten<sup>d</sup> finden sich in einer Übersicht von Brown (2000)<sup>45</sup>. Bei nicht oder nicht ausreichend hitzebehandelten Lebensmitteln muss besonderer Wert auf die Einhaltung der Kühlkette gelegt werden, da die Auskeimung von Sporen durch Kühlung verzögert oder unterbunden werden kann<sup>69</sup>.

#### 3.1.1.9 *Clostridium perfringens*

*Clostridium perfringens* ist ein grampositives, unbewegliches sporenbildendes Stäbchenbakterium, das weltweit verbreitet ist. Die pathogenen Eigenschaften von *Clostridium perfringens* beruhen hauptsächlich auf der Bildung von Proteintoxinen. Auf der Grundlage ihrer Fähigkeit zur Toxinbildung werden die Stämme von *Clostridium perfringens* in die Typen A bis E (Toxovaren) eingeteilt. *Clostridium perfringens* bildet sogenannte Major- und Minortoxine, von denen bisher mindestens 16 Varianten bekannt sind.

Bei ungünstigen Umweltbedingungen, z. B. Mangel an Nährstoffen, ist der Erreger in der Lage, Sporen zu bilden und in dieser Form zu überleben. *Clostridium perfringens* kommt natürlicherweise im Darmtrakt von Menschen und Tieren vor. Conboy und Goss (2001)<sup>70</sup> fanden dieses Bakterium in Kotproben von fast allen untersuchten Warmblütern sowie von Reptilien und Vögeln. *Clostridium perfringens* wird außerdem im Boden, in Wasser, Staub und bei Lebensmitteln nachgewiesen. Eine von Hill et al. (1996)<sup>71</sup> durchgeführte Studie zeigte, dass Sporen dieses Bakteriums mindestens ein Jahr lang im Boden überleben, ohne dass die Konzentration abnimmt.

Das Bakterium wächst bevorzugt unter anaeroben Bedingungen, es kann sich aber auch bei Anwesenheit von Sauerstoff vermehren<sup>72</sup>, wobei hier die Vermehrung langsamer abläuft. *Clostridium perfringens* kann sich im Temperaturbereich zwischen 12 °C und 50 °C vermehren. Das Temperaturoptimum für seine Vermehrung liegt zwischen 43 °C und 47 °C mit einer Generationszeit von 15-20 Minuten. Ein Auskeimen der Sporen kann jedoch bereits bei Temperaturen <10 °C erfolgen<sup>69</sup>.

Bei der Erhitzung von Lebensmitteln gehen eventuell vorhandene Sporen schnell in die vegetative Zellform über, welche gegenüber Hitze und Gefriertemperaturen empfindlich reagiert. Die vegetativen Bakterien sterben bei einer Erhitzung von Speisen im Kern für mindes-

<sup>d</sup> Der z-Wert ist die Temperaturerhöhung, die erforderlich ist, um die Abtötungszeit auf 1/10 zu verringern.

tens zwei Minuten auf 70 °C oder darüber ab. Endosporen von *Clostridium perfringens* werden selbst bei längeren Garzeiten bei 100 °C nicht sicher inaktiviert. Die Hitzeresistenz der Sporen ist je nach Stamm sehr variabel und kann bei 100 °C bis zu 60 Minuten betragen (hitzeresistente Endosporen:  $D_{100} = 1-60$  Minuten)<sup>73</sup>.

Bei  $a_w$ -Werten unterhalb von 0,98 findet keine Versporung und unter 0,93 keine Vermehrung der vegetativen Zellen mehr statt. Die pH-Grenzwerte liegen bei 5,0 bzw. 9,0 für vegetative Zellen sowie bei 6,0 bzw. 7,0 für die Versporung<sup>39</sup>. Durch eine entsprechende Absenkung des  $a_w$ -Wertes (z. B. durch Salzen der Lebensmittel) und durch Ansäuerung kann einer Vermehrung bzw. einer Versporung entgegengewirkt werden.

#### 3.1.1.10 Koagulase-positive Staphylokokken

Staphylokokken sind fakultativ-anaerobe, grampositive nicht sporenbildende Bakterien, die bei Mensch und Tier natürlicherweise auf der Haut und auf Schleimhäuten vorkommen. Dadurch können sie auch in oder auf Lebensmittel gelangen. Die Bedeutung der Koagulase-positiven Staphylokokken liegt aus lebensmittelhygienischer Sicht in ihrer Fähigkeit, Staphylokokken-Enterotoxine (SE) bzw. Enterotoxin-ähnliche SE zu bilden, die als Superantigene fungieren (d. h. direkt mit dem Immunsystem interagieren können)<sup>74</sup>.

Anhand serologischer Kriterien unterscheidet man bis dato mindestens 23 verschiedene Staphylokokken-Enterotoxintypen (SE bzw. SE-like A bis E und G bis X). Die größte Bedeutung als Verursacher von Lebensmittelintoxikationen haben die fünf klassischen Toxintypen SEA bis SEE; dies ist möglicherweise aber auch in der nicht vorhandenen (Routine)-Nachweis-Diagnostik von anderen SE begründet<sup>75,76</sup>. So wird in jüngster Zeit zunehmend über lebensmittelbedingte Ausbrüche berichtet, bei denen Stämme involviert sind, die Gene tragen, die für die SE-Typen SEG, SEH und SEI codieren.

Das Temperaturoptimum von *Staphylococcus aureus*, als dem wichtigsten Vertreter der Koagulase-positiven Staphylokokken, liegt im mesophilen Bereich bei 37 °C, Wachstum ist jedoch grundsätzlich zwischen 7 °C und 40 °C möglich. Die optimale Temperatur zur SE-Produktion von *Staphylococcus aureus* liegt etwas höher, zwischen 40 °C und 45 °C. Auffällig bei *Staphylococcus aureus* ist die hohe Salztoleranz, da sich der Erreger bei Kochsalzgehalten bis zu 20 % noch vermehren kann. Der minimale  $a_w$ -Wert, bei dem sich *Staphylococcus aureus* noch vermehren und auch Staphylokokken-Enterotoxine produzieren kann, liegt bei 0,86<sup>77</sup>.

### 3.1.2 Gefährdungspotenzial/ Charakterisierung der Gefahr

#### 3.1.2.1 Salmonellose

Salmonellosen sind durch Bakterien der Gattung *Salmonella* spp. hervorgerufene Erkrankungen. Die typhöse Form (Typhus und typhusähnliche Erkrankungen) wird vorwiegend durch die Serovare S. Typhi, S. Paratyphi A, B und C ausgelöst. Die Übertragung kann von Mensch zu Mensch erfolgen. Die Erreger werden oral aufgenommen und über das Blut verbreitet. Die Infektionsdosis ist gering und nach kurzer Inkubationszeit (wenige Tage bis drei Wochen) kommt es zu einer schweren, zyklisch verlaufenden Allgemeininfektion mit Durchfall und hohem Fieber. Es kann zu Organschäden an Darm, Herz, Leber, Niere und Galle kommen. Speziell bei Patienten mit Gallensteinen können die Erreger über lange Zeiträume ausgeschieden werden.



Die meisten anderen *Salmonella*-Serovare lösen beim Menschen die sogenannte enteritische Verlaufsform aus (Enteritis = "Darm-Entzündung"). Die Infektionsdosis für den erwachsenen Menschen liegt bei  $10^4$  bis  $10^6$  Salmonellen. Wenn sich Salmonellen in stark fetthaltigen Lebensmitteln wie Käse, Hamburger, Schokolade oder Salami befinden, oder bei besonderer Disposition sind jedoch Erkrankungen bereits bei Infektionsdosen unter 100 Salmonellen beobachtet worden.

Die Inkubationszeit bei Infektionen mit Enteritis-Salmonellen beträgt 5-72 Stunden (max. 7 Tage) und ist abhängig von der Infektionsdosis. Die Salmonellose des Menschen beginnt meist plötzlich mit zahlreichen wässrigen Stühlen (im Verlauf der Krankheit zunehmend mit Blutbeimengungen), teilweise mit Fieber, Übelkeit, Erbrechen, Bauch- und Kopfschmerzen. Die Symptome dauern in der Regel nur wenige Stunden oder Tage an. Bei schweren klinischen Fällen treten Schüttelfrost, hohes Fieber, Kollaps und weitere systemische Krankheitsbilder mit typhoidem Verlauf auf. Oft kommt ein leichter oder symptomatischer Verlauf vor, der u. a. auch von der aufgenommenen Keimzahl abhängig ist. Die Keimausscheidung von Enteritis-Salmonellen dauert im Mittel 3-6 Wochen, bei Säuglingen aber auch Monate. Eine Dauerausscheidung über sechs Monate ist relativ selten.

Nur in seltenen Fällen kommt es zu schweren Krankheitsverläufen und extraintestinalen Infektionen, wie Perikarditis, neurologischen Erkrankungen, reaktiver Arthritis, Spondylitis oder Osteomyelitis. Todesfälle sind eher selten. Besonders gefährdet sind Personen, deren Immunabwehr noch nicht vollständig entwickelt ist (Kinder unter 5 Jahren) und Personen, deren Immunabwehr, beispielsweise aufgrund ihres hohen Alters oder durch Vorerkrankungen, geschwächt ist.

Die Salmonellose ist in Deutschland eine meldepflichtige Erkrankung. Die Zahl der gemeldeten Fälle hat sich im Zeitraum 2009 bis 2015 mehr als halbiert. Für das Jahr 2009 wurden noch 31.408 Salmonellosen an das Robert Koch-Institut (RKI) übermittelt, für das Jahr 2015 waren es nur noch 13.823 gemeldete Fälle. Die Salmonellose war damit auch in 2015 die zweithäufigste an das RKI übermittelte bakterielle Krankheit. Wie in den Vorjahren zeigten sich die höchsten altersspezifischen Inzidenzen bei Kindern unter 10 Jahren mit einem Maximum bei Kleinkindern. Beide Geschlechter waren nahezu gleichermaßen betroffen<sup>78</sup>.

Im Jahr 2015 wurden 38 % der mit Angabe eines Serovars übermittelten Fälle durch *S. Enteritidis* und 42 % durch *S. Typhimurium* ausgelöst. In weitem Abstand folgten *S. Infantis* (2,5 %), monophasische *S. Typhimurium* (1,4 %) und *S. Derby* (1,3 %). Alle anderen übermittelten Serovare machten zusammen 15 % aus. Dem RKI wurden im Jahr 2015 insgesamt 16 bestätigte Todesfälle im Zusammenhang mit Salmonellosen übermittelt (2014: 17). Darunter waren zehn Männer und sechs Frauen im Alter zwischen 43 und 90 Jahren (Median insgesamt: 72,5 Jahre). Im Zusammenhang mit Infektionen mit *S. Typhimurium* traten acht Todesfälle, mit *S. Enteritidis* vier Todesfälle und mit *S. Infantis* ein Todesfall auf. Drei Todesfälle wurden ohne genaue Angaben zum Serovar übermittelt<sup>78</sup>.

Gemäß Richtlinie 2003/99/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 17. November 2003 wurden von den europäischen Staaten für 2007 bis 2011 insgesamt sieben Salmonellen-Ausbrüche an die EU berichtet, die mit hoher Evidenz durch den Verzehr von Blattsalaten ausgelöst worden waren<sup>11</sup>. Eine hohe Evidenz liegt vor, wenn aufgrund der Ergebnisse mikrobiologischer und/oder epidemiologischer Untersuchungen mit hoher Wahrscheinlichkeit ein Zusammenhang zwischen dem identifizierten Lebensmittel und der diagnostizierten Erkrankung festgestellt wurde. Im Jahr 2015 standen drei (1,6 %) von 184 an die EFSA berichteten und als hoch evident eingestuft Salmonellen-Ausbrüchen mit dem Verzehr von Gemüse bzw. Gemüseerzeugnissen einschließlich Säften in Zusammenhang<sup>79</sup>.

### 3.1.2.2 EHEC-Erkrankungen

Erkrankungen durch EHEC können bei Menschen leichte bis schwere Durchfallerkrankungen auslösen. Vor allem bei kleinen Kindern droht als Folge einer Infektion das hämolytisch-urämische Syndrom (HUS). Hierbei handelt es sich um eine Krankheit, die sich in akutem Nierenversagen äußert und zum Tod führen kann. Die nachfolgenden Angaben zu Infektionsdosis, Inkubationszeit und Ausscheidungsdauer beziehen sich im Wesentlichen auf Erkenntnisse zu EHEC der Serogruppe O157. Mit Keimzahlen von unter 100 ist die Infektionsdosis sehr gering. Die Inkubationszeit beträgt üblicherweise ca. 2-10 Tage (durchschnittlich 3-4 Tage). Eine Ansteckungsfähigkeit besteht, solange EHEC-Bakterien im Stuhl nachgewiesen werden. Angaben zur durchschnittlichen Dauer der Keimausscheidung variieren deutlich von einigen Tagen bis zu mehreren Wochen.

In Deutschland wurden im Jahr 2015 insgesamt 1.604 EHEC- und 69 HUS-Fälle an das Robert-Koch-Institut (RKI) übermittelt. Wie in den Vorjahren waren Kinder unter fünf Jahren besonders betroffen (30 % der EHEC-Fälle und 54 % der HUS-Fälle). HUS-Fälle traten bei Mädchen und Frauen relativ häufiger auf als bei Jungen und Männern. 15 % der für das Jahr 2015 mit Angabe der Serogruppe übermittelten EHEC-Fälle wurden durch O103-Stämme und jeweils 13 % durch O157- bzw. O91-Stämme ausgelöst<sup>78</sup>. Vereinzelt kam es zu tödlichen Krankheitsverläufen. Dem RKI wurden im Jahr 2015 drei bestätigte Todesfälle im Zusammenhang mit HUS-Erkrankungen und ein Todesfall auf Grund einer EHEC-Erkrankung übermittelt<sup>78</sup>.

### 3.1.2.3 Campylobacteriose

Die durch *Campylobacter* spp. verursachte Infektionskrankheit heißt Campylobacteriose. Sie wird überwiegend durch *C. jejuni* und *C. coli* ausgelöst und nur selten durch *C. lari* oder *C. upsaliensis*. Die Campylobacteriose geht in der Regel mit wässrigem, gelegentlich blutigem Durchfall einher. In seltenen Fällen kann es zu Komplikationen mit Gelenkentzündungen und dem Guillain-Barré-Syndrom, einer mit Lähmungserscheinungen einhergehenden Nervenerkrankung, kommen<sup>80</sup>. Im Selbstversuch und in einer weiteren Studie mit freiwilligen Probanden wurde gezeigt, dass die Infektionsdosis von *C. jejuni* sehr niedrig ist und bei nur 500-800 KbE liegt<sup>81,82</sup>.

Die Campylobacter-Enteritis ist nach dem Infektionsschutzgesetz meldepflichtig und seit einigen Jahren die am häufigsten gemeldete bakterielle Erkrankung mit Lebensmittelbezug in Deutschland. In den Jahren 2014 und 2015 wurden jährlich mehr als 70.000 Fälle an das RKI übermittelt. Kleinkinder und junge Erwachsene waren besonders betroffen. In fast allen Altersgruppen traten Fälle von Campylobacter-Enteritis bei Jungen und Männern relativ häufiger auf als bei Mädchen und Frauen. Im Jahr 2015 wurden 72 % der mit Angabe einer Spezies übermittelten Fälle durch *C. jejuni*, 8 % durch *C. coli* und 20 % durch *C. coli/jejuni* (nicht differenziert) ausgelöst. Dem RKI wurden im Jahr 2015 insgesamt vier Fälle von Campylobacter-Enteritis übermittelt, bei denen die Patienten krankheitsbedingt verstorben waren. Dabei handelte es sich um Männer im Alter zwischen 73 und 86 Jahren<sup>78</sup>.

### 3.1.2.4 Yersiniosen

Die durch *Y. pseudotuberculosis* und *Y. enterocolitica* verursachten Krankheitsbilder beim Menschen werden als Yersiniosen bezeichnet und können ein weites Spektrum von klinischen Symptomen hervorrufen, die vom Alter und Immunstatus der Patienten abhängen. Yersiniosen treten nach Aufnahme kontaminierter Lebensmittel meist sporadisch auf<sup>33</sup>.

Kleinkinder haben nach einer Infektion in der Regel eine selbstlimitierende akute Gastroenteritis (Fieber, wässriger bis blutiger Durchfall, Erbrechen etc.), während sich bei Schulkindern und Jugendlichen meist eine mesenteriale Lymphadenitis mit Abdominalschmerzen manifestiert. Bei Erwachsenen können auch Symptome wie bei grippalen Infekten mit Pharyngitis vorkommen. Liegen bereits Grunderkrankungen (Diabetes mellitus, Leberzirrhose, Immunsuppression) vor, können extramesenteriale Erkrankungen wie Leberabszesse, Endokarditis, Perikarditis, Pleuritis etc. auftreten. Weitere Spätfolgen ohne den direkten Erregernachweis können reaktive Arthritis, persistente Ileitis (Pseudocrohn) und Erythema nodosum sein<sup>83</sup>.

Es liegen derzeit noch keine belastbaren Daten zu einer möglichen minimalen Infektionsdosis der Bakterien vor, welche eine Abschätzung der Dosis-Wirkungsbeziehung erlauben würden. Zwar benennt die kanadische Gesundheitsbehörde als Infektionsdosis  $10^6$  Erreger (Public Health Agency of Canada), doch eine derartige Angabe findet sich weder bei anderen Gesundheitsbehörden (z. B. Centers for Disease Control and Prevention der USA), noch lässt sie sich durch eine Quellenangabe überprüfen. Darüber hinaus ist zu vermuten, dass die minimale Infektionsdosis, ähnlich wie bei Salmonellen, abhängig ist von der Lebensmittelmatrix und vom Immunstatus der exponierten Verbrauchergruppen.

Daten über meldepflichtige Erkrankungen des RKI zeigen auf, dass *Y. enterocolitica*-Infektionen nach *Campylobacter*- und *Salmonella*-Infektionen an dritter Stelle der bakteriell verursachten gastrointestinalen Erkrankungen in Deutschland stehen. Die Zahl der an das RKI übermittelten *Y. enterocolitica*-Fälle ist im Jahr 2015 leicht angestiegen auf 2. 752. Die höchsten altersspezifischen Inzidenzen zeigten sich bei Kindern unter fünf Jahren mit einem Gipfel bei den Ein- und Zweijährigen. Männliche Personen waren etwas häufiger betroffen als weibliche. Im Jahr 2015 wurden 76 % der mit Angabe eines Serotyps übermittelten Fälle durch O:3-Stämme und 10 % durch O:9-Stämme ausgelöst. Im Jahr 2015 wurde dem RKI kein *Y. enterocolitica*-Fall als krankheitsbedingt verstorben übermittelt<sup>78</sup>.

### 3.1.2.5 Shigellose

Die Shigellose wird häufig auf Reisen erworben. Mit Keimzahlen von 10 bis 200 ist die Infektionsdosis sehr gering. Die Inkubationszeit ist nur selten länger als 12-96 Stunden. Die Krankheit variiert zwischen leichten Verlaufsformen mit geringem wässrigen Durchfall und schweren Erkrankungen mit Fieber, blutigem und eitrigem Durchfall. Abdominelle Krämpfe sind typisch für eine Shigellose. Im weiteren Verlauf kann es zu fokalen Ulzerationen, vorwiegend im distalen Kolon, im Extremfall bis hin zur Kolondilatation und Kolonperforation kommen. Weitere mögliche Folgen sind eine Dehydratation und Proteinverluste. In seltenen Fällen kann es zum HUS kommen. Weitere mögliche Komplikationen sind Infektarthritiden und das Reiter-Syndrom. Eine Ansteckungsfähigkeit besteht während der akuten Infektion und solange Shigellen mit dem Stuhl ausgeschieden werden. Dies kann bis zu vier Wochen nach der akuten Krankheitsphase der Fall sein, selten länger<sup>37</sup>.

In Deutschland wurden im Jahr 2015 insgesamt 570 Shigellosen an das RKI übermittelt. Kinder und junge Erwachsene waren besonders betroffen. In der Altersgruppe unter 10 Jahren traten Shigellosen relativ häufiger bei Mädchen und bei den Erwachsenen relativ häufiger bei Männern auf. 73 % der für das Jahr 2015 mit Angaben zur Spezies übermittelten Fälle wurden durch *Shigella sonnei*, 21 % durch *Shigella flexneri*, 4 % durch *Shigella boydii* und 2 % durch *Shigella dysenteriae* ausgelöst. Im Jahr 2015 wurde dem RKI kein Shigellose-Fall als krankheitsbedingt verstorben übermittelt<sup>78</sup>.

Nach dem Ergebnis epidemiologischer Studien soll der Verzehr von aus Spanien importiertem Eisbergsalat im Sommer 1994 in Norwegen und anderen europäischen Staaten zu Ausbrüchen von Infektionen mit *Shigella sonnei* geführt haben<sup>84</sup>. In Nordamerika löste als Garnierung verwendete Petersilie aus Mexiko im Jahr 1998 mehrere Ausbrüche von Infektionen mit *Shigella sonnei* aus<sup>85</sup>. Zu einem weiteren Ausbruch von Infektionen mit *Shigella sonnei* kam es in Norwegen im Jahr 2011 nach dem Verzehr von frischem Basilikum<sup>86</sup>. Gemäß Berichterstattung an die EFSA kam es außerdem im Jahr 2015 zu einem als hoch evident eingestuften Shigellen-Ausbruch nach dem Verzehr von Koriander<sup>79</sup>.

### 3.1.2.6 Listeriose

Die Listeriose zählt trotz ihrer geringen Inzidenz aufgrund der schwerwiegenden Symptomatik und hoher Letalitätsraten beim Menschen weltweit zu den wichtigsten bakteriellen Zoonosen. Ein erhöhtes Risiko, an einer Listeriose zu erkranken, haben Schwangere, Immungeschwächte und alte Menschen. Schwangere zeigen in der Regel nur grippeähnliche Symptome. Die vertikale Übertragung der Listeriose auf das ungeborene Kind führt aber bei diesem häufig zu Sepsis und multiplen Organmanifestationen, die eine Früh-, Fehl- oder Totgeburt zur Folge haben können. Neugeborene mit Listeriose weisen ein hohes Letalitätsrisiko durch multiples Organversagen und/oder mangelnde Lungenreife auf<sup>87</sup>. Der größte Anteil der nicht-schwangerschaftsassozierten Listeriosen geht mit Hospitalisation und schwerwiegenden klinischen Symptomen wie Sepsis, Meningitis, Enzephalitis und Organmanifestationen wie Endokarditis oder septischer Arthritis einher. Bei Menschen, die nicht einer der Risikogruppen angehören, kann eine Infektion mit Listerien zu einer febrilen Gastroenteritis führen, die in der Regel mild und selbstlimitierend verläuft.<sup>88</sup>

In Deutschland steigt die Zahl der Listerioseerkrankungen seit einigen Jahren kontinuierlich an. Im Jahr 2015 wurden 662 Listeriose-Fälle, die der Falldefinition entsprachen, an das RKI übermittelt. Darunter waren 535 Fälle von nicht-schwangerschaftsassoziierter invasiver Listeriose sowie 79 Fälle von Listeriose-Gastroenteritis, die im Rahmen eines Ausbruchs auftraten. Weiterhin wurden 22 Fälle von Schwangerschafts-Listeriose und 26 Neugeborenen-Listeriosen übermittelt (darunter 14 Mutter-Kind-Paare). Wie schon in den vergangenen Jahren stieg die Inzidenz der nicht-schwangerschaftsassozierten invasiven Listeriose mit dem Lebensalter deutlich an und Männer waren deutlich häufiger betroffen als Frauen. Dem RKI wurden im Jahr 2015 insgesamt 43 nicht-schwangerschaftsassozierte Listeriosen und drei Neugeborenen-Listeriosen übermittelt, bei denen die Patienten krankheitsbedingt verstorben waren. Damit lag die Letalität im Jahr 2015 bei 7 %<sup>78</sup>.

### 3.1.2.7 Erkrankungen durch *Bacillus cereus*

*B. cereus* werden hauptsächlich über Lebensmittel auf den Menschen übertragen. Beim Verzehr von mit *B. cereus* kontaminierten Speisen werden Toxine bzw. vegetative Bakterien oder Sporen aufgenommen, die zu Lebensmittelvergiftungen bzw. Magen-Darm-Infektionen beim Menschen führen können. Es wird in den meisten Fällen eine Vermehrung im Lebensmittel auf mindestens 10<sup>5</sup> KbE pro g benötigt, um klinisch relevante Toxinmengen zu generieren.

Die von *B. cereus* hervorgerufenen Magen-Darm-Erkrankungen sind nicht ansteckend und die Symptome dauern selten länger als 24 Stunden an. Es sind Menschen aller Altersklassen betroffen. In der Vergangenheit kam es nur in Einzelfällen zu tödlichen Krankheitsverläufen. Es werden zwei Erkrankungsformen unterschieden, eine emetische Intoxikation (Erbrechenstyp) und eine Durchfall-Erkrankung (Diarrhoetyp).

Bei der emetischen Intoxikation wird ein im Lebensmittel von vegetativen Zellen gebildetes präformiertes Säure-, Hitze und Proteolyse-stabiles Toxin (Cereulid) aufgenommen. Es verursacht bereits innerhalb von sechs Stunden nach Aufnahme Erbrechen, Übelkeit, Durchfall und manchmal Bauchschmerzen. An Affen durchgeführte Studien lassen vermuten, dass eine Aufnahme von 5-10 Mikrogramm ( $\mu\text{g}$ ) Cereulid pro Kilogramm (kg) Körpergewicht notwendig ist, um beim Menschen Erbrechen auszulösen. Anhand von Cereulid-Konzentrationen, die im Zusammenhang mit emetischen Erkrankungen in Lebensmitteln bestimmt wurden, wird geschlossen<sup>47</sup>, dass bereits 0,02-2  $\mu\text{g}$  Cereulid pro kg Körpergewicht ausreichen, um beim Menschen die oben beschriebenen klinischen Symptome hervorzurufen. Das Cereulid kann außerdem Leberschäden verursachen, welche in der Regel reversibel sind<sup>89</sup>. Eine Intoxikation durch präformiertes Toxin tritt nahezu ausschließlich beim Verzehr von stärkehaltigen Lebensmitteln wie Reis und Nudeln auf. Fleisch und Fleischprodukte spielen bei dem emetischen Typ eine untergeordnete Rolle.

Beim Diarrhoetyp werden vegetative Zellen oder Sporen von *B. cereus* über das Lebensmittel aufgenommen, die dann im Dünndarm Enterotoxine bilden. Hierfür ist allerdings eine sehr hohe initiale Keimzahl von *B. cereus* im Lebensmittel vonnöten. Das hitzelabile Diarrhoetoxin löst nach etwa 8-16 Stunden wässrigen Durchfall und Bauchschmerzen aus, wahrscheinlich durch Membranschädigungen an Darmepithelzellen. Bei der Magenpassage würde das Enterotoxin zerstört werden. Häufig sind proteinreiche Lebensmittel für diese Erkrankungen ursächlich, wie z. B. Fleischgerichte, Suppen, Pudding-Speisen, Saucen, Milch und Milcherzeugnisse<sup>50</sup>.

Zur Häufigkeit der Erkrankungen liegen in Deutschland keine verlässlichen Daten vor. Zwischen 2009 und 2015 wurden von den zuständigen Behörden der Länder und der Bundeswehr über BELA<sup>e</sup> jährlich zwei bis sechs lebensmittelbedingte Ausbrüche durch *B. cereus* gemeldet<sup>90,91</sup>. Im Sommer 2012 trat in Deutschland erstmals der Verdacht auf, dass ein kommerzieller *B. thuringiensis* Stamm einen Krankheitsausbruch verursacht haben könnte<sup>56</sup>. Bei diesem Ausbruchsgeschehen zeigten drei von fünf Familienmitgliedern Symptome wie Erbrechen und Durchfall, nachdem sie Käsespätzle mit Salat aßen. Nur die Familienmitglieder, die Salat aßen, erkrankten. In dem Salat bei der Familie und weiteren Proben desselben Herstellers wurde *B. thuringiensis* in einer Konzentration von  $10^4$ - $10^5$  KbE/g nachgewiesen. Der Hersteller des Salats wendete beim Anbau das *B. thuringiensis*-haltige Pflanzenschutzmittel XenTari<sup>®</sup> an. In dem Salat konnten keine anderen Krankheitserreger gefunden werden. Jedoch wurde in den Käsespätzle auch *B. cereus* in einer Konzentration von etwa  $6,0 \times 10^3$  KbE pro g nachgewiesen, so dass ein Beitrag von *B. cereus* zu dem Krankheitsgeschehen nicht ausgeschlossen werden kann.

### 3.1.2.8 Botulismus

*Clostridium botulinum* bildet Neurotoxine, deren Toxizität sehr hoch ist. Die durch diese Toxine hervorgerufene Vergiftung wird als Botulismus bezeichnet. Während die Botulinum-Neurotoxine (BoNT) A, B, E und F Botulismus beim Menschen hervorrufen, sind BoNT C und BoNT D häufig mit Botulismus bei Rindern und Geflügel assoziiert. Trotz seiner Toxizität wurde BoNT G bisher noch nicht mit natürlich vorkommendem Botulismus in Verbindung gebracht.

Die Toxine werden vom Menschen oral über den Verzehr von kontaminierten Lebensmitteln aufgenommen, eine Übertragung von Mensch zu Mensch findet nicht statt. Die klinischen

<sup>e</sup> Bundeseinheitliches System zur Erfassung von Daten zu Lebensmitteln, die bei Krankheitsausbrüchen beteiligt sind (BELA)

Symptome beginnen nach einer Inkubationszeit von 12 Stunden bis zu wenigen Tagen zunächst unspezifisch mit Übelkeit, Erbrechen und Magen-Darmstörungen. Dann zeigen sich die für den humanen Botulismus spezifischeren Symptome, wie Doppelsehen, Pupillenstarre, Sprachstörungen und später Atemlähmung und Erstickten bei vollem Bewusstsein. Der Tod kann innerhalb von 24 Stunden nach Erkrankungsbeginn eintreten<sup>92</sup>.

BoNT ist ein Neurotoxin, das die Freisetzung des gebundenen Neurotransmitters Acetylcholin im peripheren Nervensystem verhindert und zu Lähmungserscheinungen führt. Das Toxin vom Typ A verfügt über die höchste Toxizität beim Menschen. Es handelt sich um die giftigste bekannte Substanz. Die mittlere letale Dosis (LD<sub>50</sub>) des Gifts beim Menschen liegt bei oraler Aufnahme schätzungsweise bei 1 µg pro kg Körpergewicht<sup>92</sup>.

Darüber hinaus kommen bei Kleinkindern im Alter von bis zu 12 Monaten Fälle des Säuglingsbotulismus vor. Dabei keimen mit der Nahrung aufgenommene Sporen von *Clostridium botulinum* im Darm aus, vermehren sich aufgrund der noch unzureichend entwickelten Darmflora und bilden Toxine. Die Hauptinfektionsquelle ist Honig<sup>62</sup>. Auch in Deutschland wurden in den letzten Jahren einzelne Fälle von Säuglingsbotulismus gemeldet.

Eine weitere Erkrankungsform ist der Wundbotulismus. Dieser kann auftreten, wenn *Clostridium botulinum* über großflächige Wunden in den Körper gelangt und unter anaeroben Bedingungen Toxine bildet, die dann in den Blutkreislauf gelangen. Gelegentlich treten solche Erkrankungsformen bei drogenabhängigen Personen auf, wenn es durch kontaminierte Nadeln zu einer Übertragung der Bakterien kommt<sup>68</sup>.

In Deutschland sind in den Jahren 2013 bis 2015 insgesamt 15 Fälle von humanem Botulismus an das RKI übermittelt worden<sup>78</sup>.

### 3.1.2.9 Erkrankungen durch *Clostridium perfringens*

Auch *Clostridium perfringens* kann lebensmittelbedingte Erkrankungen auslösen. Voraussetzung für eine Erkrankung ist die Aufnahme einer großen Menge vegetativer Zellen im Bereich von 10<sup>6</sup>-10<sup>8</sup> KbE pro g Lebensmittel. Im Gegensatz zu *Clostridium botulinum* wird das Toxin nicht direkt aufgenommen. Vielmehr sporulieren die mit der Nahrung aufgenommenen Bakterienzellen im Dünndarm und bilden dabei das Enterotoxin, welches bei der Lyse der vegetativen Zellen freigesetzt wird.

Für die meisten durch *Clostridium perfringens* hervorgerufenen, lebensmittelassoziierten Erkrankungen ist *Clostridium perfringens* Toxintyp A verantwortlich; seltener wird Typ C bei lebensmittelbedingten Erkrankungen nachgewiesen<sup>93</sup>. Auch in Deutschland hat das Enterotoxin, das vom Toxintyp A gebildet wird und milde Diarrhöen auslöst, die größere Bedeutung.

Nach Aktivierung des Toxins (z. B. durch Trypsin) kann das Enterotoxin über spezifische Rezeptoren an die Oberfläche intestinaler Epithelzellen (Bürstensaummembran) binden und führt nach Aufnahme des Toxins in die Zellmembran zu vielfältigen Veränderungen der zellulären Mechanismen<sup>94</sup>. Folgen dieser Veränderungen äußern sich in einer Verkürzung der Darmzotten und in einer Ablösung (Desquamation) des Darmepithels, wodurch nach einer Inkubationszeit von 8-24 Stunden Durchfall auftritt, der etwa einen Tag lang anhält. Die Erkrankung verläuft in der Regel mild und ist selbstlimitierend.

Über die Häufigkeit dieser Erkrankung ist in Deutschland wenig bekannt. Im Zeitraum 2006 bis 2009 waren bei der Bundeswehr 20 % der lebensmittelbedingten Ausbrüche auf *Clostridium perfringens* zurückzuführen. Von den zuständigen Behörden der Länder und der Bun-

deswehr wurden zwischen 2009 und 2015 über BELA jährlich bis zu vier lebensmittelbedingte Ausbrüche durch *Clostridium perfringens* gemeldet<sup>90, 91</sup>. Lebensmittelbedingte Erkrankungen durch *Clostridium perfringens* treten vor allem dann auf, wenn Speisen, wie z. B. Braten, Soßen, Eintöpfe, Suppen, nach der Zubereitung längere Zeit vor der Ausgabe bei zu niedriger Temperatur „warmgehalten“ werden<sup>62</sup>. Daher werden Erkrankungsfälle gehäuft im Rahmen der Gemeinschaftsverpflegung registriert, wo große Essensportionen zubereitet und längere Zeit in Thermophoren aufbewahrt werden.

Im Jahr 2015 stand einer von 24 an die EFSA berichteten und als hoch evident eingestuften Ausbrüche durch *Clostridium perfringens* mit dem Verzehr von Gemüse bzw. Gemüseerzeugnissen einschließlich Säften in Zusammenhang<sup>79</sup>.

### 3.1.2.10 Staphylokokken-Intoxikation

Die Staphylokokken-Intoxikation wird durch Staphylokokken-Enterotoxine hervorgerufen, die bereits präformiert im Lebensmittel vorliegen. Diese Enterotoxine sind hitzestabil und resistent gegenüber proteolytischen Enzymen, sodass sie ihre Aktivität auch bei der Magen-Darm-Passage behalten. Damit es zur Bildung der Enterotoxine kommt, muss sich das Bakterium im Lebensmittel ausreichend vermehrt haben. Hierfür müssen günstige Bedingungen vorherrschen, die in erster Linie von den Eigenschaften des Bakteriums und der Beschaffenheit der Lebensmittelmatrix sowie von der Kombination aus Temperatur und Zeit abhängen. Zudem wird postuliert, dass sich der Erreger auf Keimkonzentrationen von  $10^5$ - $10^6$  KbE pro g vermehren muss, damit es zur Produktion von (nachweisbarem) Toxin kommt.

Die Zeitspanne von der Aufnahme der Enterotoxine mit der Nahrung und dem Auftreten der ersten Symptome ist insgesamt sehr kurz und reicht von wenigen Minuten bis maximal sieben Stunden. Dominierende Symptome einer Staphylokokken-Intoxikation sind Erbrechen, Übelkeit, Durchfall und Kreislaufsymptome. Bereits äußerst geringe Toxinmengen (20-100 Nanogramm (ng)) können hierfür ausreichen<sup>95</sup>. Da hinsichtlich der Intensität der Erkrankung Unterschiede zwischen jüngeren und älteren Kindern auftraten, ist damit zu rechnen, dass die minimale toxische Dosis bei Erwachsenen höher liegt<sup>77</sup>. Die Symptome klingen meistens folgenlos nach 24-48 Stunden ab; schwere Verlaufsformen, die zur Hospitalisierung führen und/oder Todesfälle, sind selten<sup>74</sup>.

Die toxische Wirkung der verschiedenen Staphylokokken-Enterotoxine und die Wahrscheinlichkeit des Auftretens einer Staphylokokken-Intoxikation sind differenziert zu betrachten. Der im Zusammenhang mit lebensmittelbedingten Erkrankungen am häufigsten nachgewiesene und auch am besten untersuchte Toxintyp ist Staphylokokken-Enterotoxin-A (SEA), gefolgt von Staphylokokken-Enterotoxin-C (SEC). Staphylokokken-Enterotoxin-B (SEB) hat zwar die größte toxische Wirkung und wird aufgrund des Grads der Gefährdung auch in die Kategorie B der von dem Centers for Disease Control and Prevention (CDC) der USA erstellten Liste möglicher bioterroristischer Agentien eingruppiert; bei lebensmittelbedingten Erkrankungen wird jedoch nur selten SEB im Lebensmittel nachgewiesen. Die Bedeutung weiterer Toxintypen, wie Staphylokokken-Enterotoxin-G, -H und/oder -I und deren minimale emetische Dosis lassen sich derzeit noch nicht abschätzen.

Zur Häufigkeit der Erkrankungen liegen in Deutschland keine verlässlichen Daten vor. Zwischen 2009 und 2015 wurden von den zuständigen Behörden der Länder und der Bundeswehr über BELA jährlich ein bis fünf lebensmittelbedingte Ausbrüche durch Staphylokokken-Enterotoxine gemeldet<sup>90, 91</sup>. In der EU-weiten Statistik über ursächliche Agentien lebensmittelbedingter Ausbrüche wurden im Jahr 2015 insgesamt 434 Ausbrüche durch Staphylokokken-Enterotoxine an die EFSA berichtet, wobei 91,7 % dieser Ausbrüche von Frankreich

gemeldet wurden und nur 39 als hoch evident eingestuft wurden. Drei der 39 an die EFSA berichteten und als hoch evident eingestuften Ausbrüche durch Staphylokokken-Enterotoxine standen mit dem Verzehr von Gemüse bzw. Gemüseerzeugnissen einschließlich Säften in Zusammenhang<sup>79</sup>.

### 3.1.3 Exposition

Im Rahmen der gesundheitlichen Bewertung muss auch der Einfluss unterschiedlicher Herstellungs- und Behandlungsverfahren auf das Verhalten von humanpathogenen Bakterien in Gras- und Blattprodukten abgeschätzt werden. Da experimentelle Daten zur Inaktivierung und zum Wachstum der Erreger in den betrachteten Lebensmittelmatrizes nicht in ausreichendem Maß vorliegen, musste im Sinn einer konservativen Abschätzung auf mathematische Prognosemodelle zurückgegriffen werden, die auf Wachstumsdaten in Nährlösung beruhen. Bei den im BfR durchgeführten Modellierungen wurden die matrixspezifischen Lagerungstemperaturen und Haltbarkeitsfristen berücksichtigt.

Auf Basis der vom BfR durchgeführten Modellrechnungen (siehe unten) wird abgeschätzt, dass sich die meisten humanpathogenen Bakterien bis zum Ablauf der üblichen Haltbarkeit bei Lagerungstemperaturen bis maximal 7 °C nicht signifikant vermehren. Allerdings ist der Keimanstieg u. a. abhängig von der Art des Produktes, der Verpackung und der Verfügbarkeit von Feuchtigkeit und Nährstoffen durch austretende Pflanzensäfte.

Es ist weiterhin zu erwarten, dass sich die Keimzahl von humanpathogenen Bakterien durch das Gefrieren, das Trocknen und die Gefriertrocknung von Blattprodukten nur geringfügig reduzieren lässt. Eine Vermehrung von humanpathogenen Bakterien ist in den gefrorenen oder getrockneten Gras- und Blattprodukten aber ausgeschlossen.

Das Einfrieren von Lebensmitteln führt zu einer Keimzahlreduktion, aber nicht zu einer gesicherten Abtötung der Bakterien. Das Ausmaß des Überlebens der Bakterien hängt u. a. von der Bakterienspezies und den Stammeigenschaften, den Gefriertemperaturen, den angewandten Gefrier- und Auftauprozessen und den Lebensmitteln selbst ab. Grundsätzlich gilt, dass Gram-negative Bakterien empfindlicher gegenüber Gefrierprozessen sind als Gram-positive Bakterien und dass Bakteriosporen extrem resistent sind<sup>96</sup>.

Die Datenbasis zur Abschätzung des Einflusses verschiedener Trocknungsverfahren auf das Überleben von Bakterien ist unzureichend<sup>97</sup>. Die öffentlich zugängliche Information eines Teeproduzenten<sup>f</sup> sowie experimentelle Daten zur Trocknung von Obst und Gemüse geben einen Hinweis darauf, dass bei einigen Trocknungsprozessen Keimzahlreduktionen um mehrere Zehnerpotenzen möglich sind<sup>97</sup>. Andererseits kann die Reduktion der Wasseraktivität während des Trocknungsprozesses auch eine Schutzfunktion auf humanpathogene Bakterien ausüben: im  $a_w$ -Wertebereich von 0,2 bis 0,4 sind sowohl Sporen als auch vegetative Zellen am hitzeresistentesten<sup>98</sup>. Durch den mit der Trocknung erreichten geringen Wassergehalt ist sichergestellt, dass bei anschließender trockener Lagerung keine bakterielle Vermehrung auftreten kann<sup>98</sup>.

Auch für die Abschätzung des Verhaltens von humanpathogenen Bakterien in grünen Smoothies wurden im Sinne einer konservativen Abschätzung mathematische Prognosemodelle (ComBase Predictor<sup>9</sup>) genutzt, die auf experimentellen Daten in Nährmedien beruhen. Ziel war es, die mittleren Wachstumsraten für einen neutralen pH-Wert (pH 7) zu ermitteln und zu prüfen, ob eine Ansäuerung des Lebensmittels eine Reduktion der mittleren Wachs-

<sup>f</sup> <http://www.tocklai.net/activities/tea-manufacture/factory-hygiene/>

<sup>9</sup> [www.combase.cc](http://www.combase.cc)



tumsrate bewirkt. Sofern aufgrund der den Modellen zugrunde liegenden Daten keine Wachstumsraten bei einem pH-Wert von 4 ermittelt werden konnten, wurde die mittlere Wachstumsrate für den niedrigst möglichen pH-Wert ermittelt (Tabelle 1). In Nährmedien können sich alle betrachteten humanpathogenen Bakterien mit Ausnahme von *Campylobacter* spp. bei Raumtemperatur (25 °C) und einem pH-Wert von 7 so stark vermehren, dass sich die Keimzahlen innerhalb von einer Stunde mehr als verdoppeln können. Die Absenkung des pH-Wertes und/oder der Lagerungstemperatur kann unter diesen Bedingungen die Keimvermehrung deutlich verlangsamen. Es ist daher wahrscheinlich, dass sich auch bei Smoothies durch Ansäuerung auf einen pH-Wert von 4 und eine Lagerung bei 7 °C eine Vermehrung von humanpathogenen Bakterien innerhalb von 24 Stunden verhindern ließe.

In Ergänzung zu den vorangestellten Abschätzungen liefert die Auswertung von Meldungen im Portal des Europäischen Schnellwarnsystems für Lebensmittel und Futtermittel (RASFF) einen Hinweis, in welchen Gras- und Blattprodukten bereits humanpathogene Bakterien nachgewiesen wurden. Die Meldungen im Zeitraum 1. Januar 2014 bis 5. Oktober 2016 zeigen, dass humanpathogene Bakterien regelmäßig in Blattprodukten und nur vereinzelt in Grasprodukten nachgewiesen wurden. 204 von 221 gefundenen Meldungen zu Blattprodukten waren aufgrund von Salmonellen-Nachweisen eingestellt worden. Salmonellen wurden dabei überwiegend in Betelblättern und Produkten daraus gefunden (Tabelle 2). Jeweils zwei Meldungen betrafen Nachweise von *Campylobacter* (Rucola und „baby leaves“) oder *Listeria monocytogenes* (Rucola und Thymian) sowie hohe Konzentrationen von präsumtivem *Bacillus cereus* (Thymian und Dill). Zehn Meldungen wurden aufgrund von erhöhten Gehalten an *E. coli* und eine Meldung anlässlich des Nachweises von STEC in Minze in das RASFF eingestellt.

Zu Grasprodukten wurden im RASFF für denselben Zeitraum nur drei Meldungen gefunden. Neben den beiden Meldungen anlässlich des Nachweises von STEC in Gersten- und Weizengrastabletten aus Deutschland wurde eine weitere wegen des Nachweises von Salmonellen in Zitronengras in das RASFF eingestellt.

**Tabelle 1: Modell-basierte Prognose der mittleren Wachstumsrate humanpathogener Bakterien bei verschiedenen Temperaturen und pH-Werten in Nährmedien ( $a_w$ -Wert: 0,997, keine Latenzphase (lag phase))**

Erreger	Temperatur (°C)	pH*	Mittlere Wachstumsrate [log <sub>10</sub> (KbE pro g) pro 24 Stunden (h)]
<i>Salmonella</i> spp.	7	7,0	0,4
	25	4,0	4,8
	25	7,0	>6,0
STEC	10	7,0	0,8
	25	4,5	3,6
	25	7,0	>6,0
<i>Listeria monocytogenes</i>	7	7,0	0,8
	25	4,4	1,4
	25	7,0	>6,0
Yersinien	7	7,0	1,4
	25	4,4	3,0
	25	7,0	>6,0
<i>Shigella</i> spp.	15	7,0	0,0
	25	5,5	4,1

	25	7,0	>5,0
<i>B. cereus</i>	7	7,0	0,9
	25	4,9	6,5
	25	7,0	>6,0
<i>Clostridium</i> spp.	7	7,0	0,9
	25	5,1	3,8 -5,0
	25	7,0	>6,0
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	7,0	0,3
	25	4,4	2,7
	25	7,0	>6,0

\* Falls aufgrund fehlender Daten keine mittleren Wachstumsraten bei einem pH-Wert von 4 ermittelt werden konnten, sind die mittleren Wachstumsraten für den niedrigsten möglichen pH-Wert angegeben.

**Tabelle 2: Anzahl von RASFF-Meldungen vom 1.1.2014 bis 5.10.2016 aufgrund von Salmonellen-Nachweisen in Blattprodukten\***

Matrix	Anzahl
Betelblätter, Paan	144
Minze	7
Basilikum	5
Koriander, Praew Blätter	6
Rucola	4
Moringa	6
Perilla	6
Brennnesselpulver	4
Curry	4
Thymian	1
Weinblätter	3
Bitter leaf	2
Oregano	2
Petersilie	2
Akazienblätter	1
Salbeiblätter	1
Bananenblätter	1
Ugu Blätter	1
Lorbeerblätter	1
Wasserspinat	1
Rosmarin	1
Sonstige	1
<b>Gesamt</b>	<b>204</b>

\* gefunden im RASFF-Portal, Stichwort „leaves“, ergänzt um Meldungen in den Kategorien „fruits and vegetables“, „herbs and spices“ und „dietetic foods, food supplements, fortified foods“

Nachfolgend werden verfügbare Daten zum Vorkommen, Überleben und zur möglichen Vermehrung von relevanten bakteriellen Krankheitserregern auf ausgewählten Gras- und Blattprodukten zusammenfassend dargestellt.

### 3.1.3.1 *Salmonella* spp.

Im nachfolgenden Abschnitt werden Daten und Informationen zum Vorkommen und Verhalten von Enteritis-Salmonellen auf/in Blattprodukten zusammenfassend dargestellt.

Die Kontamination von Blattsalaten mit Salmonellen ist des Öfteren nachgewiesen worden, jedoch wird die allgemeine Prävalenz seitens der EFSA als gering (< 1%) eingeschätzt<sup>99</sup>.

Der Grad der Besiedlung von Blattgemüsen durch Salmonellen scheint von verschiedenen Faktoren wie Gemüsesorte und Alter der Pflanzen beeinflusst zu sein. So zeigen Experimente mit artifizieller Kontamination von Blattgemüsen beispielsweise höhere Konzentrationen von Salmonellen auf Kopfsalat im Vergleich zu Spinat<sup>100</sup> oder höhere Konzentrationen auf reifen als auf jungen Salatpflanzen<sup>101</sup>. Brandl und Amundson (2008) zeigten hingegen, dass die Salmonellen-Konzentrationen auf Blättern von jüngeren Römersalat-Pflanzen höher waren als auf Blättern von älteren Pflanzen<sup>102</sup>.

Mehrere Studien wiesen nach, dass der Grad der Besiedlung von Blattgemüsen, wie Salat, Rucola und Spinat, auch aufgrund von stammspezifischen Adhärenz-Mechanismen, je nach Serovar unterschiedlich ausfallen kann. *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis* und *S. Senftenberg* zeigen eine häufigere Besiedlung von Blattgemüsen als andere *Salmonella*-Serovare wie z. B. *S. Arizona*, *S. Heidelberg* und *S. Agona*<sup>103-107</sup>.

Auch die Art der Besiedlung von Blattgemüsen durch Salmonellen kann unterschiedlich sein. Es ist bekannt, dass Salmonellen über die Blätter oder die Wurzel in das Gewebe von Blattgemüse aufgenommen werden<sup>100,108</sup>. *S. Typhimurium* wurde nach der Kultivierung von Salatpflanzen auf mit *S. Typhimurium* kontaminiertem Boden bzw. nach der Verwendung von kontaminiertem Bewässerungswasser im Pflanzengewebe nachgewiesen<sup>109-112</sup>. Die Effizienz der Aufnahme humanpathogener Bakterien in das Pflanzengewebe wird von unterschiedlichen Faktoren beeinflusst, zum Beispiel durch die Beschaffenheit des Bodens und der Hydrokulturlösung, durch die Art und das Entwicklungsstadium der Pflanzen sowie durch die Spezies und Kontaminationsdosis des Erregers<sup>113</sup>. Golberg et al. (2011) zeigten eine signifikant höhere Aufnahme von *S. Typhimurium* über die Blattepidermis in das Pflanzengewebe bei Eisbergsalat und Rucola im Gegensatz zu Römersalat und rotem Salat<sup>114</sup>.

Bei Studien zur Aufnahme von Salmonellen in das Pflanzengewebe über die Blätter oder die Wurzeln wurden jedoch sehr hohe Salmonellen-Konzentrationen verwendet<sup>115</sup>. Somit bleibt die Beurteilung einer Kontamination unter natürlichen Bedingungen schwierig. Golberg et al. (2011) kontaminierten Bewässerungswasser mit  $10^8$  KbE pro Milliliter (ml) *S. Typhimurium*, um die Aufnahme in Salatblätter zu studieren<sup>114</sup>. Franz et al. (2007) fügten  $10^9$  KbE pro ml *S. Typhimurium* zur Wachstumslösung bzw. zu der Erde hinzu, um die Aufnahme über die Wurzeln zu beobachten<sup>110</sup>. Ongeng et al., (2011) konnten die Aufnahme über die Salatwurzeln nur bei einer künstlichen Kontamination der Erde mit  $10^7$  KbE pro g *S. Typhimurium* nachweisen<sup>111</sup>. Der Nachweis bei einer geringeren Kontaminationsrate von  $10^4$  KbE pro g Erde gelang hingegen nicht.

Ebenso konnte die Aufnahme von *S. Newport* in Basilikumblätter bei einer Kontaminationsdosis von  $10^6$  pro g Erde nur nach einer vorherigen Anreicherung der Erreger beobachtet werden. Dies deutet auf eine niedrige Übertragungsrate von den Wurzeln zu den Blättern hin<sup>116</sup>.

Salmonellen sind in der Lage, in den Samen von Butterkopfsalat über zwei Jahre zu überleben und anschließend auf den entsprechenden Keimlingen zu wachsen<sup>117</sup>. Daten über eine natürliche *Salmonella*-Kontamination der Salate verursacht durch kontaminierte Samen gibt es derzeit jedoch nicht.

Salmonellen konnten nach einer künstlichen Kontamination bis zu 63 Tagen auf Salatblättern und bis zu 231 Tage auf Petersilie nachgewiesen werden<sup>118</sup>. Das Überleben von Salmonellen im Pflanzengewebe wurde bisher nur selten untersucht. In einer Studie von Gorbatsevich et al. (2013) gelang 22 Stunden nach der Inokulation von Basilikumblättern mit *S. Newport*

kein Erregernachweis mehr<sup>116</sup>. In der Salatwurzel konnte *S. Newport* zwei Tage nach der Inokulation der Wurzeln, jedoch nicht nach fünf Tagen nachgewiesen werden<sup>101</sup>.

Die Kompostierung von organischen Abfällen kann die Anzahl der anfangs vorhandenen Salmonellen um mehrere Zehnerpotenzen reduzieren, vorausgesetzt, dass eine ausreichende Kombination aus Temperaturerhöhung, Retentionszeit und relativer Feuchtigkeit erreicht wird<sup>119,120</sup>.

Salmonellenausbrüche verursacht durch Blattgemüse konnten bisher nicht auf die Verwendung von kontaminiertem Dünger zurückgeführt werden. Die Übertragung von Salmonellen aus Gülle oder organischen Abfällen auf den Boden bzw. Blattgemüse wurde bereits in einigen Studien untersucht. Beispielsweise wurden Salmonellen auf Rucola nachgewiesen, dessen Anzuchterde 17 Wochen zuvor mit Salmonellen kontaminiertem Kuhmist ( $10^5$  KbE pro g) gedüngt worden war<sup>121</sup>. In einer Studie von Ongeng et al. (2011) wurden 120 Tage nach der Düngung mit Salmonellen belastetem Düngemittel ( $10^7$  KbE pro g) Salmonellen auf Kohlblättern nachgewiesen<sup>111</sup>. Je länger die Zeit zwischen der Düngung und der Ernte beträgt, desto geringer scheint das Risiko, Salmonellen auf grünen Salatblättern zu finden, die auf mit Salmonellen verunreinigtem Boden gezüchtet wurden<sup>111,121,122</sup>.

Erhöhte Feuchtigkeit zwischen den inneren Salatblättern von Kopfsalat begünstigt die Überlebensfähigkeit von Salmonellen<sup>123</sup>. Niedrige, relative Luftfeuchtigkeit reduziert in einer Studie den Wassergehalt der Pflanze und führte zu einer verminderten Aufnahme von Salmonellen in das Pflanzengewebe im Vergleich zu hoher relativer Luftfeuchtigkeit. Die Beleuchtungsbedingungen hatten in einer Studie von Gil et al. (2013)<sup>124</sup> jedoch keinen Einfluss auf die Salmonellen-Aufnahme in das Pflanzengewebe.

Salmonellen können auf Blattgemüsen überleben und sich unter bestimmten Lagerungsbedingungen vermehren. Dies wurde insbesondere bei frisch geschnittenen Blattgemüsen beobachtet<sup>125-128</sup>.

Beschädigungen und Schnitte an frischen Blattprodukten fördern das Wachstum von Salmonellen, insbesondere bei Temperaturen von über 4 °C<sup>129,130</sup>. Die Zusammensetzung von Salat- und Spinatblättern zeigt einen typischen Wassergehalt von 93-96 %, einen Gesamtproteingehalt von 1,2-2,6 % und einen Zuckergehalt von 1,4-2,6 %<sup>131</sup>. Diese niedrigen Zucker- und Proteingehalte scheinen einen wachstumsfördernden Effekt auf Salmonellen zu haben. Sowohl die Motilität als auch die Bildung von Biofilmen wurden als wichtige Faktoren für die Kolonisation und Persistenz von Salmonellen an frischen Produkten beschrieben<sup>108,132</sup>.

Bereits kleine Schnitt- und Bruchstellen der Salatblätter setzen Spuren von Pflanzensäften frei. Eine aktuelle Studie von Koukkidis et. al (2017) beschreibt, dass austretender Salatsaft die Kolonisation und die Motilität von Salmonellen trotz Kühlung fördert<sup>133</sup>. Die Studie beschäftigte sich mit künstlich kontaminierten, verpackten und kühl gelagerten Salaten. In der Studie bewirkte der Salatsaft eine signifikante Erhöhung der Anzahl von Salmonellen auf den Blättern von Salat und Spinat bei Kühlschranktemperaturen. Bezüglich der Salatsorten wurde das höchste *Salmonella*-Wachstum auf Spinat beobachtet. Die Studie konnte ebenfalls nachweisen, dass der aus den Schnittstellen austretende Salatsaft verantwortlich ist für die Bildung eines *Salmonella*-Biofilms auf den Salatblättern und an der Innenwand des Aufbewahrungsbeutels. Der Biofilm bindet die Bakterien eng an die Blätter und ließ sich in der Studie nach wiederholten und intensiven Waschgängen nicht von den Blättern abwaschen.

Salatblätter (Salate und Spinat) sind aufgrund ihres hohen Wassergehaltes sehr anfällig für einen schnellen Verderb bedingt durch endogene und exogene Mikroben und erfordern demnach eine schnelle Verarbeitung und spezielle Verpackung<sup>130</sup>.

Zwischen dem 1. Januar 2016 und dem 23. Dezember 2016 erhielt das Nationale Referenzlabor zur Durchführung von Analysen und Tests auf Zoonosen (Salmonellen) (NRL-Salmonella) von Untersuchungseinrichtungen in Deutschland insgesamt 3. 791 Salmonella-Isolate zur Typisierung. Nur 14 dieser Isolate (0,36 %) stammten aus Lebensmitteln pflanzlichen Ursprungs. 2015 waren es 0,56 % (19 von 3. 390 Isolaten). Die Lebensmittelmatrizes, aus denen diese Salmonellen isoliert wurden, sind in der Tabelle 3 aufgelistet.

**Tabelle 3: Salmonella-Serovare bei Isolaten aus Lebensmitteln pflanzlichen Ursprungs, die an das NRL-Salmonella eingesandt wurden (1.1.2015-23.12.2016)**

2015		2016	
Matrix	Serovar	Matrix	Serovar
getrocknete Maulbeeren	S. Enteritidis	Kokosraspeln	S. Westhampton
Gewürz	S. Indiana	Gewürz	S. Montevideo
Hafermehl	S. Hadar	Hafermehl	S. Nottingham
2 x Mu-Err-Pilze	S. Weltevreden	Mu-Err-Pilze getrocknet	S. Virchow
	S. Mgulani	Petersilie	S. Kentucky
Kümmel, gemahlen	S. Anatum	2 x Radieschensprossen	S. Livingstone
Kräutertee	S. Subspez. I. 4,5,12:b:-		S. Subspez. II
2x Ringelblumenblätter	S. Kentucky	6 x Salat	S. Enteritidis
	S. Minnesota	Sesam	S. Newport
2 x Salat	S. Typhimurium		
	S. Subspez. IV. 38:z4,z23:-		
Sesam-Joghurtsauce	S. Anatum		
2 x Sesammus	S. Chicago		
	S. Give		
Wasserspinat	S. Weltevreden		
2 x Weizen	S. Indiana		
	S. Stourbridge		
Weizenkleie	S. Schleissheim		
Wurzelgemüse	S. Infantis		

Nur in einer (0,3 %) von 355 Teeproben, die im Jahr 2006 im Rahmen des Bundesweiten Überwachungsplans (BÜp) untersucht wurden, waren Salmonellen nachweisbar<sup>134</sup>.

Im Jahr 2012 ließen sich weder in 44 frisch gepressten Gemüsesäften aus Saftbars, die im Rahmen des BÜp untersucht wurden, noch in 787 Proben von Blatt- und Kopfsalaten, die im Rahmen des Zoonosen-Monitorings entnommen worden waren, Salmonellen nachweisen<sup>135,136</sup>.

Auch die Auswertung der am 25. November 2016 vom BVL zum Zweck der Erlassbeantwortung zur Verfügung gestellten Daten der Länder über durchgeführte amtliche mikrobiologische Untersuchungen von frischem Blattgemüse, Blattgemüseerzeugnissen bzw. -zubereitungen, Nahrungsergänzungsmitteln und Tee in den Jahren 2014 bis 2016 zeigt,

dass in Deutschland in diesen Lebensmitteln nur sehr selten Salmonellen gefunden wurden. Nach den Mitteilungen der Länder waren in drei (0,8 %) von 364 untersuchten Proben Tee (davon zwei Proben Kräutertee) und in zwei (0,2 %) von 1.009 untersuchten Proben von frischem Blattgemüse (Basilikum, Schnittsalat) Salmonellen nachweisbar. Salmonellen wurden außerdem in einem (0,2 %) von 408 untersuchten Blattgemüseerzeugnissen/-zubereitungen (getrocknetes Blattgemüse) sowie in einem von 17 untersuchten Nahrungsergänzungsmitteln gefunden.

Nach den Mitteilungen der Länder an das BfR über Salmonellen-Nachweise in Futtermitteln wurden in den Jahren 2011 bis 2015 in fünf (3,1 %) von 163 untersuchten Heuproben, die auf unterschiedlichen Stufen der Futtermittelkette entnommen worden waren, Salmonellen nachgewiesen.

### 3.1.3.2 Shigatoxin-bildende *Escherichia coli* (STEC)

Ackerböden können auch für die Kontamination mit STEC eine wichtige Quelle sein. Lebensfähige STEC ließen sich auch noch nach mehr als 100 Tagen aus den Böden reisolieren<sup>137</sup>. Die Bakterien können durch mechanische Verletzungen in das Innere der Pflanzen eindringen oder über die Wurzeln und Spaltöffnungen der Blätter<sup>138-140</sup>. Pflanzensäfte aus verletztem Blattgewebe dienen zudem als Nährstoffe für die Bakterien<sup>102,141</sup>. Während eine Internalisierung von *E. coli* O157:H7 aus kontaminierter Erde in verschiedene Salatsorten nachgewiesen werden konnte, misslang dessen Aufnahme in Basilikumpflanzen<sup>142</sup>. Andere Autoren konnten zeigen, dass STEC während des Keim- und Wachstumsprozesses von Weizensamen in die Pflanze aufgenommen wurden<sup>143</sup>. Eine Aufnahmetiefe von 10-200 Mikrometer ( $\mu\text{m}$ ) unter der Pflanzenoberfläche wurde beschrieben, wodurch eine Dekontamination (z. B. durch Waschverfahren) aber auch ggf. der Pathogennachweis deutlich erschwert werden<sup>144,145</sup>. Viele Studien deuten jedoch auch darauf hin, dass eine Internalisierung nicht oder nur unter extremen Bedingungen erzielt wird<sup>130</sup>.

Beeinträchtigt wird die Isolierung von STEC aus pflanzlichen Lebensmitteln auch durch die hohe Begleitmikrobiota von *Pseudomonas* spp. und *Enterobacteriaceae*, einschließlich nicht-pathogener *E. coli*, die sich zwischen  $10^6$  KbE pro g und  $10^9$  KbE pro g bewegen kann<sup>146</sup>. Die Begleitmikrobiota kann weiterhin das Wachstum von STEC auf Spinatblättern reduzieren<sup>147</sup>. Zudem gibt es Hinweise, dass humanpathogene Keime durch den Biofilm der pflanzeigenen Mikrobiota vor Umwelteinflüssen geschützt sind und dadurch eine erhöhte Umweltresistenz besitzen<sup>130,148</sup>. Solche Biofilme wurden für *E. coli* O157:H7 bereits nach 24 Stunden auf Petersilie oder Salat nachgewiesen<sup>149,150</sup>. Feldversuche zeigen, dass *E. coli* O157:H7 bis zu 177 Tage auf Petersilie und mindestens 25 Tage auf Salat überleben können<sup>139,151</sup>. Obwohl die meisten Studien *E. coli* O157:H7 als Modellorganismus nutzen, wurden auch weitere STEC-Serotypen in pflanzlichen Lebensmitteln nachgewiesen<sup>152</sup>. STEC wurden bereits aus diversen pflanzlichen Lebensmitteln isoliert, beispielsweise aus Kohl, Sellerie, Koriander und Kresse<sup>130</sup>.

Im Jahr 2012 ließen sich in 28 frisch gepressten Gemüsesäften aus Saftbars, die im Rahmen des Bundesweiten Überwachungsplans (BÜp) untersucht wurden, keine STEC nachweisen<sup>135</sup>.

Im Rahmen des Zoonosen-Monitorings wurden im Jahr 2012 in vier (1,3 %) von 312 untersuchten Proben von Blatt- und Kopfsalaten aus Erzeugerbetrieben STEC nachgewiesen. In 464 Proben, die in demselben Jahr auf der Ebene des Einzelhandels entnommen wurden, waren jedoch keine STEC nachweisbar<sup>136</sup>. In 426 Proben von frischen Kräutern (2014) sowie

383 Proben von vorgeschnittenen Blattsalaten (2015), die im Rahmen des Zoonosen-Monitorings entnommen worden waren, ließen sich ebenfalls keine STEC nachweisen<sup>153</sup>.

Die Auswertung der am 25. November 2016 vom BVL zum Zweck der Erlassbeantwortung zur Verfügung gestellten Daten der Länder über durchgeführte amtliche mikrobiologische Untersuchungen von frischem Blattgemüse, Blattgemüseerzeugnissen bzw. -zubereitungen, Nahrungsergänzungsmitteln und Tee in den Jahren 2014 bis 2016 unterstreicht, dass in Deutschland in diesen Lebensmitteln nur sehr selten STEC gefunden werden. Nach den Mitteilungen der Länder waren in drei (0,3 %) von 931 untersuchten Proben von frischem Blattgemüse (Rucola) STEC nachweisbar. STEC wurden außerdem in vier von elf untersuchten Proben von Nahrungsergänzungsmitteln aus Gersten- oder Weizengras gefunden. In 161 untersuchten Blattgemüseerzeugnissen/-zubereitungen waren hingegen keine STEC nachweisbar. Dass STEC in Deutschland vereinzelt auch aus Tee isoliert werden, zeigen Untersuchungen von Slanec et al. (2009)<sup>154</sup>. Im Rahmen amtlicher Kontrollen wurde Tee in den Jahren 2014 bis 2016 aber offenbar nicht auf das Vorkommen von STEC untersucht.

### 3.1.3.3 *Campylobacter* spp.

Die Auswertung verfügbarer Literatur macht deutlich, dass *Campylobacter* spp. nur sehr selten in pflanzlichen Lebensmitteln vorkommen. Mehrere Autoren konnten in untersuchten Salatproben keine *Campylobacter* spp. finden<sup>129,155-157</sup>. Hingegen detektierten Losio et al. (2015) thermotolerante *Campylobacter* spp. in 18 von 2. 532 Blattgemüse-Proben mittels Real-Time PCR. In vier (0,2 %) der 2. 532 Proben gelang außerdem der kulturelle Nachweis mittels ISO 10272-1:2006<sup>158</sup>. Auch Wijnands et al. (2014) fanden in nur drei von insgesamt 3. 725 Gemüseproben *Campylobacter* spp.<sup>159</sup>. Bei dieser Studie wurden die Proben entlang der Herstellungskette genommen: als Rohgemüse, bei den verarbeitenden Unternehmen und im Einzelhandel, wobei die drei positiven Proben (2 x Endivie, 1 x Eichenblattsalat) vom Rohgemüse stammten.

In Kanada wurden Gemüseproben von kanadischen Bauern- und Supermärkten untersucht. Während in ca. 3 % der auf Bauernmärkten entnommenen Proben Spinat (n=60), Salat (n=67) und Petersilie (n=42) *Campylobacter* spp. nachgewiesen wurden, waren die 441 Proben aus dem Supermarkt und alle Kohlproben (n=130) *Campylobacter*-negativ<sup>160</sup>. Als mögliche Ursachen wurden kontaminiertes Wasser, die Verwendung von Gülle und Klärschlamm zur Düngung, fäkale Verunreinigung durch Wildtiere und/oder eine *Campylobacter*-Infektion der Bauern genannt. Auch 2007 wurden in Kanada Märkte beprobt, wobei in 128 Salatproben und 59 Spinatproben keine *Campylobacter* spp. nachweisbar waren<sup>161</sup>.

Ceuppens et al. (2015) haben verschiedene Prävalenzstudien aus Belgien, Brasilien, Ägypten, Norwegen und Spanien ausgewertet<sup>162</sup>. Insgesamt wurden 241 Proben von grünem Blattgemüse untersucht, wovon acht Proben aus Belgien *Campylobacter*-positiv waren. Ursache der Kontamination könnte das Bewässerungswasser gewesen sein, denn bei einem positiven *Campylobacter*-Nachweis auf Blattgemüse waren ebenfalls die Wasserproben *Campylobacter*-positiv<sup>163</sup>.

Über das Vorkommen von *Campylobacter* spp. in Grasprodukten ist hingegen nichts bekannt.

Die Auswertung der am 25. November 2016 vom BVL zum Zweck der Erlassbeantwortung zur Verfügung gestellten Daten der Länder über durchgeführte amtliche mikrobiologische Untersuchungen von frischem Blattgemüse, Blattgemüseerzeugnissen bzw. -zubereitungen, Nahrungsergänzungsmitteln und Tee in den Jahren 2014 bis 2016 zeigen, dass diese Le-

bensmittel in Deutschland nur vereinzelt amtlich auf das Vorkommen von *Campylobacter* spp. untersucht werden. Nach den Mitteilungen der Länder waren in jeweils zwölf untersuchten Proben von frischem Blattgemüse bzw. Blattgemüseerzeugnisse/-zubereitungen keine *Campylobacter* spp. nachweisbar. Nahrungsergänzungsmittel und Tee wurden im oben genannten Zeitraum offenbar nicht auf das Vorkommen von *Campylobacter* spp. untersucht.

#### 3.1.3.4 *Yersinia* spp.

In Europa wurden umfangreiche Untersuchungen zum Vorkommen von Yersinien in Salaten und Gemüse durchgeführt. In Norwegen wurden 870 pflanzliche Lebensmittel, darunter 200 Kopfsalate und 100 geschnittene Salate auf *Y. enterocolitica* untersucht. Durch PCR war in 3 % der Kopfsalate das Virulenzgen *ail* als Marker für pathogene *Yersinia*-Stämme nachweisbar, ein kultureller Nachweis der Bakterien gelang jedoch nicht<sup>164</sup>. Sehr ähnliche Ergebnisse wurden in Finnland ermittelt<sup>165</sup>. In einer weiteren finnischen Studie wurden 100 Ready To Eat (RTE)-Blattsalate untersucht. Hier wurden aus 33 % der Proben apathogene Yersinien isoliert. In einer der Proben, die Spinat enthielt, war das *ail*-Gen nachweisbar, pathogene Yersinien wurden jedoch nicht isoliert<sup>166</sup>. Ebenfalls in Finnland wurden Karotten- und Waschwasser-Proben untersucht. In mehreren Proben wurde das *ail*-Gen nachgewiesen, kulturell gelang jedoch nur die Isolierung apathogener Yersinien<sup>167</sup>. Auch in Frankreich wurden Karotten untersucht. Hier waren 27 % der 58 untersuchten Proben *Yersinia*-positiv, 7 % der Proben enthielten potentiell pathogene Serotypen<sup>168</sup>. In einer italienischen Studie wurden 1.160 RTE-Salate und 1.372 Blattgemüse untersucht. Aus 0,3 % bzw. 0,6 % der Proben wurden apathogene Yersinien isoliert. Das *ail*-Gen war nicht nachweisbar<sup>158</sup>. In einer weiteren italienischen Studie wurden 125 Gemüse-Proben, davon 58 Blattgemüse analysiert. Aus einer Spinat-Probe wurde ein potentiell pathogener *Y. enterocolitica*-Stamm des Serotyps O:3 isoliert<sup>169</sup>. In Spanien wurden 300 pflanzliche Lebensmittel, darunter 237 RTE-Salate untersucht. Aus keiner der Proben wurden Yersinien isoliert<sup>129</sup>.

Die Ergebnisse dieser Prävalenzstudien deuten darauf hin, dass in Gemüse und Salaten insbesondere apathogene Yersinien zu finden sind, pathogene Stämme jedoch auch vorkommen können. Diese sind kulturell meist schwer nachweisbar. Daher überrascht es nicht, dass in Skandinavien (Finnland und Norwegen) in den letzten Jahren über mehrere Ausbrüche berichtet wurde, in denen Yersiniosen durch den Verzehr von Karotten und Salaten verursacht wurden<sup>170-175</sup>. Warum solche durch Yersinien verursachte Ausbrüche bis jetzt meist in nordischen Ländern zu verzeichnen sind, ist nicht bekannt. Ursachen hierfür könnten das Wachstum von Yersinien bei niedrigen Temperaturen oder die Verbreitung der Bakterien in der Umwelt (Wildtierpopulationen, Wasser) sein, durch die pflanzliche Lebensmittel kontaminiert werden können. Eine Vermehrung pathogener Yersinien in Gemüse und Blattsalaten ist nicht auszuschließen, da die Bakterien in einem breiten Temperaturbereich (ca. 0 bis 42 °C) und bei pH-Werten zwischen 4,2 und 9 wachsen können. Genauere Daten zum Überleben, einer möglichen Vermehrung oder dem Absterben von Yersinien in Blattgemüse oder Blattsalaten wurden bis jetzt jedoch noch nicht publiziert. Auch über das Vorkommen von Yersinien in Grasprodukten ist nichts bekannt.

Die Auswertung der am 25. November 2016 vom BVL zum Zweck der Erlassbeantwortung zur Verfügung gestellten Daten der Länder über durchgeführte amtliche mikrobiologische Untersuchungen von frischem Blattgemüse, Blattgemüseerzeugnissen bzw. -zubereitungen, Nahrungsergänzungsmitteln und Tee in den Jahren 2014 bis 2016 zeigen, dass diese Lebensmittel in Deutschland nur vereinzelt amtlich auf das Vorkommen von *Y. enterocolitica* untersucht werden. Nach den Mitteilungen aus zwei Ländern waren in 33 untersuchten Proben von frischem Blattgemüse keine *Y. enterocolitica* nachweisbar. Blattgemüseerzeugnisse



und -zubereitungen, Nahrungsergänzungsmittel sowie Tee wurden im oben genannten Zeitraum offenbar nicht auf das Vorkommen von *Y. enterocolitica* untersucht.

### 3.1.3.5 *Shigella* spp.

In den USA wurden anlässlich mehrerer Shigellen-Ausbrüche Studien zum Verhalten von *Shigella sonnei* auf künstlich kontaminierter Petersilie durchgeführt. Durch Lagerung bei Raumtemperatur (21 °C) stieg die Konzentration von *Shigella sonnei* innerhalb eines Tages um drei Zehnerpotenzen an. Hingegen nahm die Konzentration bei 4 °C innerhalb von 14 Tagen um 2,5-3,0 Zehnerpotenzen ab. Durch eine Behandlung mit Essig, der 5,2 % oder 7,6 % Essigsäure enthielt, sowie Chlorlösung mit 200-250 ppm freiem Chlor ließ sich die Belastung mit *Shigella sonnei* um mehrere Zehnerpotenzen reduzieren<sup>85</sup>.

Über das Vorkommen von *Shigella* spp. in Grasprodukten ist nichts bekannt.

Die Auswertung der am 25. November 2016 vom BVL zum Zweck der Erlassbeantwortung zur Verfügung gestellten Daten der Länder über durchgeführte amtliche mikrobiologische Untersuchungen von frischem Blattgemüse, Blattgemüseerzeugnissen bzw. -zubereitungen, Nahrungsergänzungsmitteln und Tee in den Jahren 2014 bis 2016 lassen den Schluss zu, dass diese Lebensmittel in Deutschland nur vereinzelt amtlich auf das Vorkommen von *Shigella* spp. untersucht werden. Nach den Mitteilungen eines Landes waren im Jahr 2015 in 56 untersuchten Proben von frischem Blattgemüse und in fünf Proben von Blattgemüseerzeugnissen/-zubereitungen keine Shigellen nachweisbar. Nahrungsergänzungsmittel und Tee wurden im oben genannten Zeitraum offenbar nicht auf das Vorkommen von *Shigella* spp. untersucht.

### 3.1.3.6 *Listeria monocytogenes*

Aufgrund seiner Fähigkeit zur saprophytischen Lebensweise kann *L. monocytogenes* sehr gut in Boden, Pflanzenresten und Abwässern auf landwirtschaftlich genutzten Flächen überleben. Der Eintrag erfolgt beispielsweise durch Fütterung von Nutztieren mit kontaminierter Silage und Ausbringung fäkaler Abfälle und Abwässer auf Felder und in die Umwelt oder durch Eintrag von Wildtieren<sup>176,177</sup>. Bei bodennah wachsendem Gemüse wie Salat, Spinat etc. können so durch Regen und Bewässerung vor allem die Blätter kontaminiert werden<sup>178</sup>. Eine Aufnahme von *L. monocytogenes* in die Pflanzen aus dem Boden oder anderen zur Anzucht genutzten Substraten wurde bisher lediglich durch eine Studie in Blattsalat gezeigt. Die Internalisierung war dabei abhängig von der Anzuchttemperatur<sup>142</sup>. Weitere Studien mit Blattsalat<sup>179</sup>, Weizengras<sup>180</sup> und Gerste<sup>180</sup> konnten lediglich eine Oberflächenkontamination der Pflanze, aber keine Aufnahme von *L. monocytogenes* in die Pflanzen nachweisen.

Neben der Kontamination von Blattsalaten und Blattgemüsen bei der Anzucht ist ein Eintrag von *L. monocytogenes* ebenso bei der Verarbeitung (z. B. Schneiden, Waschen) und Verpackung möglich. *L. monocytogenes* persistiert aufgrund seiner Anspruchslosigkeit gegenüber Umweltbedingungen wie Temperatur, Wasseraktivität und pH-Wert und der damit verbundenen sehr guten Adaptationsfähigkeit an die Produktionsumgebung in lebensmittelherstellenden Betrieben und führt hier zu kontinuierlichen Rekontaminationen entlang der Lebensmittelkette<sup>181-183</sup>.

Der Erreger ist in der Lage, sich auf Blattsalaten und Blattgemüsen zu vermehren und je nach Verarbeitungszustand, Lagertemperatur und Lagerdauer den Grenzwert von 100 KbE pro g nach der Verordnung (EG) Nr. 2073/2005 über mikrobiologische Kriterien für Lebensmittel zu überschreiten<sup>184,185</sup>. Das Waschen von Blattsalaten und Blattgemüse kann bei Ober-

flächenkontamination zur Reduktion von *L. monocytogenes* beitragen<sup>184,186</sup>. Die Effizienz des Waschens ist jedoch abhängig von der Pflanzenart und deren Oberflächenbeschaffenheit<sup>187</sup>.

Dennoch wird *L. monocytogenes* nur selten auf Blattsalaten und Blattgemüse nachgewiesen. Bei einer zwischen 1999 und 2001 in Norwegen durchgeführten Studie wurde in einer von 200 untersuchten Proben von minimal prozessierten Blattsalaten aus dem Einzelhandel *L. monocytogenes* in einer Menge von <10 KbE pro g nachgewiesen und in keiner der 100 untersuchten geschnittenen Salate<sup>164</sup>. In einer zeitgleich in den USA durchgeführten Studie wurden 414 Proben verschiedener Salate und Kräuter aus dem Einzelhandel untersucht und nur in einer Probe Spinat *L. monocytogenes* gefunden<sup>188</sup>. Eine im Jahr 2011 in Athen durchgeführte Studie ergab, dass sieben von 100 untersuchten Salaten aus dem Einzelhandel und von Straßenmärkten mit *L. monocytogenes* kontaminiert waren<sup>189</sup>. Demgegenüber konnten in vier weiteren Studien aus Spanien<sup>185,190</sup>, Kroatien<sup>191</sup> und den USA<sup>192</sup> weder in rohen noch in prozessierten Blattsalaten und Blattgemüsen *L. monocytogenes* nachgewiesen werden. In einer 2013 in Irland durchgeführten nationalen Studie zur quantitativen Bestimmung von *L. monocytogenes* in geschnittenen und verpackten Blattsalaten und Kräutern aus dem Einzelhandel wurde der Erreger in zwei von 1.000 Proben mit <100KbE pro g nachgewiesen (1 x Rucola, 1 x Mischung aus Spinat, Brunnenkresse und Rucola)<sup>193</sup>. Im Jahr 2014 wurden in den Niederlanden diverse Blattsalate in verschiedenen Verarbeitungsstufen (u. a. Eisbergsalat, Lollo rosso, Endivie, Eichblattsalat, Radicchio, Rucola) auf das Vorkommen von *L. monocytogenes* untersucht. Untersucht wurden Rohwaren (n=1 860), bei Herstellern entnommene minimal prozessierte Blattsalate (n=781) und Proben aus dem Einzelhandel (n=1 151). Der Erreger wurde nur in einer Probe (Endivie, roh) in einer Konzentration von 250 KbE pro g festgestellt<sup>159</sup>.

Die Mitteilungen der Länder über durchgeführte amtliche mikrobiologische Untersuchungen von Lebensmitteln ergeben bei Blattgemüse im Vergleich zu international verfügbaren Studien etwas höhere, aber immer noch geringe Kontaminationsraten. Im Jahr 2012 wurden in 11 (1,69 %) von 649 untersuchten Proben und im Jahr 2013 in drei (2,26 %) von 133 untersuchten Proben *L. monocytogenes* nachgewiesen.

Im Jahr 2012 wurden im Rahmen des Zoonosen-Monitorings Blatt- und Kopfsalate aus Erzeuger- und Einzelhandelsbetrieben auf das Vorkommen von *L. monocytogenes* untersucht. Dabei war der Erreger in jeweils 11 von 300 Proben aus Erzeugerbetrieben (3,7 %) bzw. 422 auf der Ebene des Einzelhandels entnommenen Proben (2,6 %) nachweisbar. Im Rahmen von quantitativen Untersuchungen wurde *L. monocytogenes* in zwei Proben aus dem Einzelhandel in einer Konzentration von 20 KbE pro g bestimmt<sup>136</sup>.

Die Auswertung der am 25. November 2016 vom BVL zum Zweck der Erlassbeantwortung zur Verfügung gestellten Daten der Länder für die Jahre 2014 bis 2016 ergab ähnliche Kontaminationsraten. Nach den Mitteilungen der Länder waren *L. monocytogenes* nach Anreicherung in 20 (4,5 %) von 446 Proben von frischem Blattgemüse sowie zwei (1,3 %) von 153 Blattgemüseerzeugnissen/-zubereitungen nachweisbar. Im Rahmen von quantitativen Untersuchungen wurde *L. monocytogenes* in einer Konzentration von 60 KbE pro g in zwei von 828 Proben von frischem Blattgemüse und Erzeugnissen oder Zubereitungen daraus (Schnittsalat, vor-/zubereiteter Blattsalat) bestimmt.

Im Rahmen des Zoonosen-Monitorings wurden im Jahr 2015 in 2 % der untersuchten vorge schnitten Blattsalate *L. monocytogenes* nachgewiesen. In 38 frisch gepressten Gemüsesäften aus Saftbars, die im Jahr 2012 im Rahmen des BÜp untersucht wurden, ließ sich der Erreger hingegen nicht nachweisen<sup>135</sup>.

In vorliegenden internationalen Studien konnte *L. monocytogenes* auf diversen frischen sowie getrockneten Kräutern, wie z. B. Melisse, Salbei, Malve, Kamille, Dill, Petersilie, Senf und Koriander, nicht nachgewiesen werden<sup>164,188,192-194</sup>. Hingegen wurden für viele ätherische Öle aus Kräutern antimikrobielle Wirkungen nachgewiesen, in Abstufung auch gegenüber *L. monocytogenes*<sup>195-198</sup>.

Laut Mitteilung im RASFF wurde im Jahr 2016 auf frischem Thymian zwei Tage vor Ablauf der Mindesthaltbarkeit *L. monocytogenes* in einer Konzentration von 90 KbE pro g festgestellt. In Deutschland gab es im selben Jahr im Rahmen der amtlichen Überwachung einen positiven qualitativen Nachweis von *L. monocytogenes* in geschnittener, tiefgekühlter Petersilie. Valide Daten zum Vorkommen von *L. monocytogenes* in Kräutern in Deutschland liegen jedoch nicht vor. Der Erreger war nicht Gegenstand des im Jahr 2014 in Deutschland durchgeführten Zoonosen-Monitorings zum Vorkommen von Zoonoseerregern in Kräutern.

Eine Kontamination von Grasprodukten mit *L. monocytogenes* ist grundsätzlich analog zu Blattsalaten, Blattgemüsen und Kräutern sowohl vor der Ernte als auch während der Verarbeitung und Verpackung möglich. Zur Prävalenz, Überlebens- oder Wachstumsfähigkeit von *L. monocytogenes* in Grasprodukten liegen bisher aber keine Studien vor. Studien zu *L. monocytogenes* in Grassilage sind aufgrund der unterschiedlichen intrinsischen Faktoren wie z. B. pH- und  $a_w$ -Wert nicht auf (getrocknete) Grasprodukte übertragbar. Nahrungsergänzungsmittel und Tee wurden in den Jahren 2014 bis 2016 in den Ländern nur vereinzelt amtlich auf das Vorkommen von *L. monocytogenes* untersucht. Der Erreger wurde in diesen Proben nicht gefunden. Internationale Studien haben einen inhibitorischen Effekt von grünem Tee auf das Wachstum von *L. monocytogenes* nachgewiesen<sup>199,200</sup>.

### 3.1.3.7 *Bacillus cereus*

Böden stellen das primäre Umweltreservoir dar, in dem sich *B. cereus* bei günstigen Bedingungen als vegetative Zelle vermehren oder bei ungünstigen Bedingungen in der Sporenform überdauern kann. In verschiedenen Studien wurde *B. cereus* in kultivierten Böden in Konzentrationen von  $10^4$ - $10^5$  KbE pro g bestimmt. Wichtige Faktoren für die Präsenz von *B. cereus* auf Pflanzen sind Kontaminationen mit Erde, die Besiedlung von Jungpflanzen (epi- und endophytisch) sowie die Übertragung von Sporen über Staub, Luft und Wasser<sup>56</sup>.

*B. cereus* wurde auch häufig auf bodennah wachsendem Gemüse und Blattsalaten nachgewiesen<sup>53,55,201-206</sup>. Die Konzentrationen lagen überwiegend im Bereich von  $10^2$  KbE pro g, in Einzelfällen jedoch auch bis zu  $10^5$  KbE pro g. Auf Spinat fanden sich Konzentrationen von  $10^2$ - $10^4$  KbE pro g<sup>205,207</sup>. Unter günstigen Bedingungen kann sich *B. cereus* in diesen Lebensmitteln während der Lagerung weiter vermehren. Koseki & Itoh (2001) ermittelten auf geschnittenem und abgepacktem Salat sowohl bei 5 °C als auch bei 10 °C innerhalb von 3-5 Tagen einen Anstieg der Keimzahlen von  $\sim 2,5 \log_{10}$  KbE pro g auf  $\sim 3,5 \log_{10}$  KbE pro g<sup>201</sup>. Bae et al. (2012) beschreiben das temperaturabhängige Wachstum von *B. cereus* in gekochtem Spinat um vier Zehnerpotenzen folgendermaßen: Bei 35 °C erfolgt der Anstieg innerhalb von 5,5 Stunden, bei 30 °C in 8,3 Stunden, bei 25 °C in 11,4 Stunden, bei 20 °C in 17,7 Stunden und bei 15 °C erst nach mehr als 24 Stunden<sup>208</sup>.

*B. cereus* werden außerdem häufig auf Kräutern gefunden<sup>54,204,209,210</sup>. Die Konzentrationen liegen selten oberhalb von  $10^3$  KbE pro g<sup>211-213</sup>. Auch in Teekräutern und anderen Pflanzen, die zur Teeherstellung verwendet werden, kommt *B. cereus* vor. In einer Studie von Martins et al. (2001) waren 96,8 % von abgepackten Proben von Kamille, Orangen-Blättern, Lindenblüten oder Salbei mit *B. cereus* kontaminiert<sup>214</sup>. In 19,2 % der Proben wurde *B. cereus* in einer Menge von  $>10^3$  KbE pro g bestimmt. Zhou et al. (2008) detektierten *B. cereus* und *B.*

*thuringiensis* in Konzentrationen von ca. 10 KbE pro 100 ml in einem Grüntee-Getränk<sup>215</sup>. In einer Studie von Messelhäusser et al. (2014) waren 30 von 39 untersuchten Teeproben mit *B. cereus* belastet und es wurden sogar drei emetische Stämme in den untersuchten Proben gefunden<sup>216</sup>.

Auch die Auswertung der am 25. November 2016 vom BVL zum Zweck der Erlassbeantwortung zur Verfügung gestellten Daten der Länder für die Jahre 2014 bis 2016 zeigt, dass frisches Blattgemüse, Blattgemüseerzeugnisse/-zubereitungen und Tees häufig mit höheren Gehalten an präsumtivem *B. cereus* kontaminiert sind. Nach den Mitteilungen der Länder wurden 329 Proben frisches Blattgemüse untersucht, wobei 29 (8,8 %) Proben präsumtive *B. cereus* in Mengen von  $10^2$ - $10^3$  KbE pro g und 45 (13,7 %) Proben diesen Erreger in Konzentrationen  $>10^3$  KbE pro g enthielten. Sehr hohe Konzentrationen ( $>10^5$  KbE pro g) fanden sich in vier Basilikumproben, zwei Proben Petersilienblättern und je einer Probe Rucola, Kresse, Schnitt- und Kopfsalat. Von 126 untersuchten Blattgemüseerzeugnissen/-zubereitungen waren acht (6,3 %) Proben mit präsumtivem *B. cereus* in Konzentrationen von  $10^2$ - $10^3$  KbE pro g und 12 (9,5 %) Proben mit *B. cereus* in Mengen  $>10^3$  KbE pro g kontaminiert. Eine sehr hohe Konzentration ( $>10^5$  KbE pro g) fand sich in einer Probe Blattgemüsemischung.

Die Untersuchung von 232 Teeproben ergab, dass 43 (18,5 %) Proben mit präsumtivem *B. cereus* in Konzentrationen von  $10^2$ - $10^3$  KbE pro g und 11 (4,7 %) Proben mit  $>10^3$  KbE pro g belastet waren. Eine sehr hohe Konzentration ( $>10^5$  KbE pro g) fand sich in einer Probe Kräutertee.

Präsumtive *B. cereus* fanden sich den Mitteilungen der Länder zufolge außerdem in Konzentrationen von bis zu  $10^3$  KbE pro g in drei von 15 untersuchten Nahrungsergänzungsmitteln.

### 3.1.3.8 *Clostridium botulinum*

Untersuchungen zum Vorkommen von *Clostridium botulinum* auf Salaten und Gemüsen wurden insbesondere im Rahmen von Lagerversuchen in modifizierter Atmosphäre (MAP) durchgeführt. So kontaminierten Austin et al. (1998) Zwiebeln, Kürbis, Steckrüben, gemischte Salate, Romana-Salate, amerikanischen Krautsalat und pfannengerührtes Gemüse (Brokkoli, Blumenkohl, Möhren, Sellerie) artifiziell mit *Clostridium botulinum* und verpackten die Lebensmittel handelsüblich mit einer modifizierten Atmosphäre (Modified Atmosphere Packaging, MAP)<sup>217</sup>. Unter diesen Bedingungen fällt der Sauerstoff-Gehalt innerhalb weniger Tage auf  $<2$  % ab und ermöglicht damit ein Auskeimen und das Wachstum von *Clostridium botulinum*. Die Toxinproduktion wurde ab einer Keimzahl von  $3,0 \times 10^4$  KbE pro g beobachtet. Der Nachweis von BoNT gelang nach sieben Tagen Lagerung bei 10 °C oder 21 Tagen bei 5 °C auf Kürbis sowie nach vier Tagen Lagerung bei 25 °C oder nach 14 Tagen bei 15 °C auf Salat. Eine Untersuchung von MAP-verpacktem Gemüse und Salat aus dem Einzelhandel ergab, dass vier (0,36 %) der 1.115 entnommenen Proben mit *Clostridium botulinum* kontaminiert waren<sup>218</sup>. Es handelte sich um zwei gemischte Salate, grüne Paprika und geschnittenen Kohl.

In Argentinien durchgeführte Untersuchungen von 200 Kamillen- bzw. 100 Lindenblütenproben ergaben, dass 7,5 % bzw. 3,0 % der Proben mit *Clostridium botulinum* verunreinigt waren. Die ermittelte Sporenzahl war jedoch sehr niedrig (0,3-0,4 Sporen pro g Tee)<sup>219,220</sup>. Die am 25. November 2016 vom BVL zum Zweck der Erlassbeantwortung zur Verfügung gestellten Daten der Länder für die Jahre 2014 bis 2016 enthielten keine Angaben über Untersu-

chungen von frischem Blattgemüse, Blattgemüseerzeugnissen/-zubereitungen, Nahrungsergänzungsmitteln oder Tees auf das Vorkommen von *Clostridium botulinum* bzw. BoNT.

### 3.1.3.9 *Clostridium perfringens*

Zum Vorkommen von *Clostridium perfringens* in Blattsalaten, Blattgemüse, Kräutern und Tee wurden bislang nur wenige Studien veröffentlicht.

Eisgruber und Reuter (1987) untersuchten in Deutschland 70 Gewürze aus dem Handel und fanden in 15 Proben (21,4 %) *Clostridium perfringens*<sup>221</sup>. Eine in Mexiko durchgeführte Studie ergab, dass 188 (52 %) der 380 Proben von gemischten Kräutern und Gewürzen mit niedrigen Konzentrationen von *Clostridium perfringens* (<100-500 KbE pro g) kontaminiert waren. Die höchste Prävalenz wurde in Knoblauchpulver beobachtet (45 % aller positiven Befunde), welches auch häufig in Form von Tabletten und Kapseln als Nahrungsergänzungsmittel eingesetzt wird. Acht Isolate (4,25 %) besaßen das *Clostridium perfringens*-Enterotoxin-Gen (*cpe*)<sup>222</sup>. Eine mit 12,2 % deutlich niedrigere Prävalenz beschrieben Aguilera et al. (2005) bei der Untersuchung von 115 Gewürz- und Kräuterproben aus Argentinien<sup>223</sup>. Auch hier waren die positiv getesteten Proben nur schwach kontaminiert (5-1 100 MPN pro g). Alle 14 Isolate gehörten zum Typ A, von denen jedoch nur vier Isolate (28,6 %) *cpe*-positiv waren.

In Großbritannien wurden 2.833 Kräuter und Gewürze aus dem Handel auf das Vorkommen von *Clostridium perfringens* untersucht. Es zeigte sich, dass 2,34 % der untersuchten Gewürze mit Konzentrationen von  $10^2$ - $10^3$  KbE pro g und 0,24 % Gewürze mit Mengen von  $>10^3$  KbE pro g kontaminiert waren. 5,65 % der untersuchten Kräuter enthielten *Clostridium perfringens* in Mengen von  $10^2$ - $10^3$  KbE pro g und 0,67 % Konzentrationen von  $>10^3$  KbE pro g<sup>212</sup>.

In einer in Wales in den Jahren 1995-2003 durchgeführten Langzeit-Surveillance-Studie wurden in 0,3 % der 1.260 frischen Obst- und Gemüseproben *Clostridium perfringens* mit einer Keimzahl  $>10^4$  KbE pro g bestimmt<sup>224</sup>.

Die Auswertung der am 25. November 2016 vom BVL zum Zweck der Erlassbeantwortung zur Verfügung gestellten Daten der Länder für die Jahre 2014 bis 2016 zeigt, dass frisches Blattgemüse, Blattgemüseerzeugnisse/-zubereitungen, Nahrungsergänzungsmittel und Tees in Deutschland sehr selten amtlich auf das Vorkommen von sulfitreduzierenden Clostridien bzw. *Clostridium perfringens* untersucht werden. Nach den Mitteilungen der Länder wurden im oben genannten Zeitraum 40 Proben von frischem Blattgemüse, 37 Blattgemüseerzeugnisse/-zubereitungen und jeweils zwölf Nahrungsergänzungsmittel und Tees auf diese Keimgruppe untersucht. *Clostridium perfringens* war nur in einer Probe Majoran ( $2,6 \times 10^3$  KbE pro g) und in einem Nahrungsergänzungsmittel ( $10^2$  KbE pro g) bestimmbar.

### 3.1.3.10 *Staphylococcus aureus*

In der wissenschaftlichen Literatur sind nur wenige Studien zum Vorkommen von *Staphylococcus aureus* in Blattgemüse einschließlich Blattsalaten und frischen Kräutern beschrieben. So wurden in einer Studie aus dem Vereinigten Königreich insgesamt 1.213 Proben von Gurken, Kohl, Kopfsalat, Zwiebeln und Tomaten untersucht, die als Zutat für Kebab verwendet wurden<sup>225</sup>. Bei Kohl, Gurken und (Kopf-)Salat ("lettuce") wurde in 1,6 %, 4,5 % und 0,7 % der Proben *Staphylococcus aureus* in Mengen von  $\geq 10^2$  KbE pro g bis  $<10^4$  KbE pro g bestimmt<sup>225</sup>. Eine Keimzahl von  $\geq 10^4$  KbE pro g von *Staphylococcus aureus* wurde lediglich in 0,4 % der Proben von (Kopf-)Salat ("lettuce") detektiert.

In einer zweiten Studie aus dem Vereinigten Königreich wurden 256 Proben von grünen Salaten, die in einer Krankenhausküche zubereitet wurden, u. a. quantitativ auf *Staphylococcus aureus* untersucht<sup>226</sup>. Dabei war *Staphylococcus aureus* in insgesamt 13 Proben in Konzentrationen im Bereich von  $10^1$ - $10^3$  KbE pro g bestimmbar.

In Petersilie, Rettich und Blattsalat aus dem Libanon (Bekaa Ebene) wurde *Staphylococcus aureus* in Konzentrationen von  $<0,7$ - $8,39 \log_{10}$  KbE pro g festgestellt<sup>227</sup>. Außerdem wurde eine Prävalenz von 45,5 % für *Staphylococcus aureus* in Proben von Petersilie, Rettich und Blattsalat, die aus dem Großhandel bezogen wurden, nachgewiesen<sup>227</sup>.

In Spanien konnte in einer (4 %) von 23 untersuchten Proben von Kräutern *Staphylococcus aureus* detektiert werden<sup>228</sup>.

Im Zeitraum von 2003 bis 2011 wurden 48 gemischte Salate untersucht, die in einer Universitätskantine in Italien zubereitet worden waren<sup>229</sup>. In vier Proben wurde *Staphylococcus aureus* mit Keimzahlen von  $3,1 \log_{10}$  bzw.  $2,2$ - $2,4 \log_{10}$  KbE pro g nachgewiesen.

In Indien wurde *Staphylococcus aureus* in 41 (56,9 %) von 72 untersuchten Blattsalaten gefunden, die im Straßenverkauf erhältlich waren<sup>230</sup>.

Die Untersuchung von blatthaltigem Gemüse („leafy vegetables“) aus Korea ergab Nachweisraten für *Staphylococcus aureus* von 6,34 % bzw. 3,64 % für biologisch bzw. konventionell angebauten Salat und 6,34 % bzw. 5,45 % für biologisch bzw. konventionell angebauten Spinat<sup>205</sup>.

Die Auswertung der am 25. November 2016 vom BVL zum Zweck der Erlassbeantwortung zur Verfügung gestellten Daten der Länder für die Jahre 2014 bis 2016 zeigt, dass in diesem Zeitraum 81 Proben von frischem Blattgemüse, 143 Blattgemüseerzeugnisse/-zubereitungen, neun Nahrungsergänzungsmittel und 207 Tees im Rahmen von amtlichen Kontrollen quantitativ auf diese Keimgruppe untersucht wurden. Koagulasepositive Staphylokokken waren nur in einer Probe Majoran ( $10^2$  KbE pro g) und in einer Probe tiefgefrorenem Wirsing ( $3,0 \times 10^2$  KbE pro g) bestimmbar.

### 3.1.3.11 Häufigkeiten des Verzehrs von Gras- und Blattprodukten in Deutschland

Um abschätzen zu können, wie häufig Gras- und Blattprodukte in Deutschland verzehrt werden, hat das BfR Daten der Nationalen Verzehrsstudie II (NVS II) ausgewertet. Sie ist die zurzeit aktuellste repräsentative Studie zum Verzehr der deutschen Bevölkerung, enthält aber keine belastbaren Verzehrsdaten zu Nahrungsergänzungsmitteln, Grasprodukten und grünen Smoothies. Die Studie, bei der etwa 20.000 Personen im Alter zwischen 14 und 80 Jahren mittels drei verschiedener Erhebungsmethoden (Dietary History, 24h-Recall und Wiegeprotokoll) zu ihrem Ernährungsverhalten befragt wurden, fand zwischen 2005 und 2006 in ganz Deutschland statt<sup>231,232</sup>.

Für die Verzehrshäufigkeiten wurden die „Dietary History“- Interviews ausgewertet, in denen 15.371 Personen mit Hilfe des Programms „DISHES 05“ retrospektiv nach dem üblichen Verzehr der letzten vier Wochen (ausgehend vom Befragungszeitpunkt) befragt wurden. Sie liefern, neben den üblichen Verzehrsmengen, zusätzlich Informationen über die durchschnittlichen Verzehrshäufigkeiten der Lebensmittel. Da für die Auswertung aufgeschlüsselte Rezepte verwendet wurden, beziehen sich die Angaben auf einzelne Lebensmittel und nicht

auf ganze Mahlzeiten, sodass bei dem Verzehr von einem Gericht (z. B. gemischter Salatteller) bereits mehrere dieser Lebensmittel in die Auswertung einfließen können.

Bei der Auswertung dieser Verzehrdaten (Berechnung des Medians und des 95. Perzents) wurde zwischen den verschiedenen Altersgruppen sowie zwischen den Geschlechtern der jeweiligen Altersgruppe differenziert. Weiterhin wurde die Gruppe der Schwangeren gesondert betrachtet. Für die Gruppe der Kinder liegen keine Daten zu Verzehrshäufigkeiten vor.

Die Auswertung der Verzehrshäufigkeiten für die Gesamtbevölkerung ergab, dass frische Blattkräuter (Küchenkräuter, Kräutermischung, Basilikum, Beifuß, Bohnenkraut, Borretsch, Dill, Estragon, Kerbel, Liebstöckel, Lorbeer, Majoran, Oregano, Petersilie, Pfefferminze, Rosmarin, Salbei, Schnittlauch, Sellerieblätter, Thymian, Wacholder, Zitronenmelisse) besonders häufig und von fast allen (99,6 %) Befragten verzehrt wurden. Weder zwischen den Geschlechtern noch zwischen den Altersgruppen ergaben sich deutliche Unterschiede (Median: 50-55 Lebensmittel pro Monat; 95. Perzentil: 121-140 Lebensmittel pro Monat).

Am zweithäufigsten und von 91 % der 15.371 befragten Personen wurden Salatgemüse (Chicoree, Endivien, Eisbergsalat, Kopfsalat, Radicchio, Romanasalat, Zuckerhutsalat) verzehrt. Auch bei dieser Lebensmittelgruppe sind weder zwischen den Geschlechtern noch zwischen den Altersgruppen deutliche Unterschiede in den Verzehrshäufigkeiten erkennbar (Median: 12-13 Lebensmittel pro Monat; 95. Perzentil: 32-41 Lebensmittel pro Monat). Pflücksalat (Feldsalat, Schnittsalat) wurde von 71 % der 15.371 befragten Personen verzehrt, etwas häufiger von Frauen zwischen 14 und 64 Jahren als von Männern derselben Altersgruppen (Median: 4-8 Lebensmittel pro Monat; 95. Perzentil: 27-28 Lebensmittel pro Monat).

76 % der 15.371 befragten Personen gaben an, gegartes Blattgemüse (Spinat, Mangold, Löwenzahn) verzehrt zu haben, junge Frauen zwischen 14 und 24 Jahren etwas häufiger als junge Männer derselben Altersgruppen (Median: 4-8 Lebensmittel pro Monat; 95. Perzentil: 28-32 Lebensmittel pro Monat).

Getrocknete Blattkräuter (Basilikum, Bohnenkraut, Dill, Lorbeerblatt, Majoran, Oregano, Petersilie, Rosmarin, Salbei, Schnittlauch, Thymian) wurden zwar auch von einem Großteil der Bevölkerung verzehrt (93 %), aber insgesamt deutlich seltener als frische Blattkräuter und etwas häufiger von der männlichen Bevölkerung (Median: 7-12 Lebensmittel pro Monat; 95. Perzentil: 24-30 Lebensmittel pro Monat).

Die Auswertung der Verzehrdaten ergab weiterhin, dass Tee in Deutschland nur von etwa der Hälfte der Bevölkerung und deutlich häufiger von Frauen konsumiert wurde als von Männern. Die männliche Bevölkerung bis 64 Jahre sowie junge Frauen zwischen 14 und 18 Jahren tranken im Mittel eher keinen Tee (Median: 0 Teegetränke pro Monat). Hingegen stieg der Teekonsum bei Frauen über 19 Jahren mit zunehmendem Alter an, im Median von vier auf 14 Teegetränke pro Monat. Auch die Verzehrdaten der Teekonsumenten zeigen, dass Frauen insgesamt betrachtet deutlich häufiger Tee konsumieren (95. Perzentil: 80 Lebensmittel pro Monat) als Männer (95. Perzentil: 68 Lebensmittel pro Monat).

Von den 15.371 befragten Personen des „Dietary History“-Interviews gaben 82 Frauen an, schwanger zu sein. Das Alter dieser Frauen lag zwischen 19 und 45 Jahren. In der Tabelle 4 sind die ermittelten Verzehrshäufigkeiten der Schwangeren dargestellt. Im Vergleich zu der gesamten weiblichen Bevölkerung zwischen 19 und 50 Jahren (alle Befragte) verzehrten schwangere Frauen die meisten der betrachteten Lebensmittel geringfügig häufiger, dies zeigt sich vor allem im 95. Perzentil. Ein deutlich häufigerer Verzehr zeigte sich für frische

Blattkräuter und Tee. So verzehrten Schwangere über alle Befragte fast doppelt so häufig Tee, wie die nicht schwangere Vergleichsgruppe.

Dieser Unterschied wird noch deutlicher unter der Betrachtung der schwangeren Verzehrer. Dies zeigt sich vor allem bei den Verzehrshäufigkeiten von Salatgemüse, gegartem Blattgemüse und frischen Blattkräutern. Als einzige Lebensmittelgruppe wurden getrocknete Blattkräuter im 95. Perzentil von schwangeren Frauen seltener verzehrt als von nicht schwangeren Frauen.

**Tabelle 4: Anteil Verzehrer und mittlere Verzehrshäufigkeiten (Lebensmittel pro Monat) verschiedener Blattprodukte bei schwangeren Frauen (19-45 Jahre) (Basis: NVS II)**

		Anteil Verzehrer	Alle Schwangeren	Nur schwangere Verzehrer
Salatgemüse	N		82	79
	Median	97%	15	17
	P95		57	57
Pflücksalat	N		82	66
	Median	81%	8	12
	P95		36	40
Blattgemüse, gegart	N		82	68
	Median	83%	11	14
	P95		40	40
Blattkräuter, frisch	N		82	80
	Median	97%	65	68
	P95		175	175
Blattkräuter, getrocknet	N		82	64
	Median	79%	8	10
	P95		22	22
Tee	N		82	49
	Median	60%	12	28
	P95		84	84

### 3.1.4 Risikocharakterisierung

Die Auswertung vorhandener Verzehrsdaten macht deutlich, dass Blattsalate und frische Kräuter in Deutschland fast von der gesamten Bevölkerung und von dieser auch sehr häufig verzehrt werden, insbesondere von schwangeren Frauen. Sie zeigt weiterhin, dass Tee häufiger von Frauen getrunken wird als von Männern und dass der Teekonsum mit zunehmendem Alter ansteigt.

Das Risiko, nach dem Verzehr von Gras- und Blattprodukten zu erkranken, ist u. a. abhängig von der vorhandenen Bakterienspezies und den Abwehrkräften der Verbraucherinnen und Verbraucher. Schwere Krankheitsverläufe sind vor allem bei Kleinkindern, Schwangeren und Personen zu erwarten, deren Abwehrkräfte durch hohes Alter, Vorerkrankungen oder Medikamenteneinnahme geschwächt sind. Der sprossenassoziierte Ausbruch von *E. coli* O104:H4 im Frühsommer 2011 hat jedoch gezeigt, dass bei sehr virulenten Erregern auch gesunde Erwachsene schwer erkranken können<sup>233</sup>. Insbesondere im Verlauf von Listeriosen und EHEC-Infektionen sind auch irreversible Schäden und Todesfälle möglich.



Anhand von drei verschiedenen Szenarien wird nachfolgend das Verbraucherrisiko charakterisiert, das in Deutschland mit dem Verzehr von unterschiedlichen Gras- und Blattprodukten verbunden sein kann. Unberücksichtigt bleibt dabei, dass die Lebensmittel aus dem Handel bei der Zubereitung im Haushalt oder in der Gemeinschaftsverpflegung durch direkten oder indirekten Kontakt mit vom Tier stammenden Lebensmitteln (Kreuzkontamination) mit humanpathogenen Bakterien verunreinigt werden können. Ebenfalls nicht betrachtet wird das Risiko, dass in Gras- und Blattprodukten vorkommende humanpathogene Bakterien durch Kreuzkontamination in weitere Lebensmittel gelangen und sich dort bis zu deren Verzehr vermehren können.

*Situation 1: In Deutschland werden frische Blattprodukte aus dem Handel (z. B. Blattsalate, Blattgemüse, frische Kräuter) verzehrt.*

Es ist möglich, dass frische Blattprodukte während des Anbaus oder nach der Ernte mit humanpathogenen Bakterien kontaminiert werden. Informationen aus der Literatur deuten darauf hin, dass einige Bakterienstämme in der Lage sind, in das Innere von Pflanzen einzudringen. Weiterhin ist zu erwarten, dass humanpathogene Bakterien auf den frischen Blattprodukten überleben, sich durch unsachgemäße Lagerung ggf. sogar vermehren und sich durch Waschen der Produkte oder andere oberflächliche Dekontaminationsverfahren vor dem Verzehr nicht sicher entfernen lassen.

Grundsätzlich ist es möglich, dass Verbraucherinnen und Verbraucher nach dem Rohverzehr frischer Blattprodukte an einer Salmonellose oder einer EHEC-Infektion erkranken, wie publizierte Berichte über lebensmittelbedingte Ausbrüche belegen. Das Risiko von Salmonellosen nach Verzehr frischer Blattprodukte wird in Deutschland als gering eingeschätzt. Die Gründe für diese Einschätzung sind, dass Salmonellen bisher, außer auf Betelblättern, nur selten in oder auf diesen Lebensmitteln gefunden wurden und sich während der Haltbarkeitsfrist dieser Produkte bei sachgemäßer Lagerung nicht signifikant vermehren können. Zwar werden auch STEC nur selten in frischen Blattprodukten nachgewiesen; dennoch ist das Risiko von EHEC-Infektionen nach Verzehr frischer Blattprodukte möglicherweise höher als das von Salmonellosen. Die Gründe sind eine mögliche Unterschätzung der Prävalenz durch falsch-negative Befunde beim Nachweis von STEC in diesen Lebensmitteln aufgrund methodischer Schwierigkeiten sowie die niedrige Infektionsdosis. Diese seltenen Ereignisse können trotzdem große Salmonellen- oder EHEC-Ausbrüche auslösen, weil frische Blattprodukte teilweise über weite Gebiete vertrieben werden und fast von der gesamten Bevölkerung sehr häufig roh verzehrt werden.

Möglich ist auch, dass Schwangere und Menschen, deren Abwehrkräfte durch ein hohes Alter oder durch Vorerkrankungen geschwächt sind, nach dem Verzehr von frischen Blattprodukten an einer Listeriose erkranken, denn dieses Bakterium wird vergleichsweise häufig auf diesen Produkten nachgewiesen. Außerdem kann es sich selbst bei Kühlschranktemperaturen weiter vermehren, insbesondere auf vorzerkleinerten Blattprodukten. Da Schwangere anscheinend sehr häufig Blattsalate und frische Kräuter verzehren, ist zu erwarten, dass sie besonders oft mit *Listeria monocytogenes* exponiert werden. Trotzdem wird das Risiko von Listeriosen nach Verzehr dieser Produkte als gering eingeschätzt, weil in Deutschland in diesen Produkten nur geringe Konzentrationen an *Listeria monocytogenes* bestimmt wurden und Listeriose-Ausbrüche nach dem Verzehr von Blattprodukten trotz dieser Nachweise bisher nicht beschrieben wurden.

FrISCHE Blattprodukte sind vergleichsweise häufig mit präsumtivem *B. cereus* kontaminiert, wie Daten der Lebensmittelüberwachung in Deutschland zeigen. Literatúrauswertungen deuten außerdem darauf hin, dass sich einige *B. cereus*-Stämme in solchen Produkten selbst

bei 5 °C signifikant vermehren können<sup>234</sup>. Dennoch wird das Erkrankungsrisiko als sehr gering eingeschätzt, weil bisher nur selten über lebensmittelbedingte Ausbrüche berichtet wurde, die nach dem Verzehr von Blattsalaten mit hohen Konzentrationen an präsumtivem *B. cereus* auftraten<sup>56</sup>.

Auch das Risiko, dass Verbraucherinnen und Verbraucher nach dem Rohverzehr von frischen Blattprodukten an einer Campylobacteriose erkranken, wird trotz der niedrigen Infektionsdosis als sehr gering eingeschätzt. Die Gründe für diese Annahme sind, dass der Erreger nur sehr selten auf diesen Lebensmitteln gefunden wird, sich in Lebensmitteln nicht vermehren kann, gegenüber Sauerstoff empfindlich ist und mit Blattprodukten assoziierte Campylobacter-Ausbrüche bisher nicht publiziert wurden.

Unwahrscheinlich sind außerdem Intoxikationen durch *Staphylococcus aureus* oder *Clostridium perfringens*, weil diese Bakterien bisher in Deutschland in diesen Lebensmitteln gar nicht oder nur in geringen Mengen vorkamen und davon auszugehen ist, dass sich die Erreger in diesen Lebensmittelmatrixen nicht signifikant vermehren können.

Das Risiko, nach dem Verzehr von frischen Blattprodukten an einer Yersiniose oder Shigellose zu erkranken, lässt sich aufgrund fehlender Daten nicht abschätzen.

Durch Erhitzung der Blattprodukte lässt sich das Risiko weiter minimieren. Sofern die Blattprodukte vor dem Verzehr im Inneren für mindestens zwei Minuten auf mindestens 72 °C erhitzt werden, kann davon ausgegangen werden, dass die vegetativen Zellen um mindestens fünf Zehnerpotenzen reduziert wurden. Um auch die Sporen von *B. cereus* sicher abzutöten, müssten die Blattprodukte jedoch für mindestens drei Minuten auf 121 °C erhitzt werden.

*Situation 2: In Deutschland werden getrocknete Gras- und Blattprodukte aus dem Handel (z. B. getrocknete Kräuter, Nahrungsergänzungsmittel) sowie daraus hergestellte Speisen und Getränke (z. B. Tee) verzehrt.*

Es ist möglich, dass Gras- und Blattprodukte während des Anbaus oder nach der Ernte, beispielsweise bei der Trocknung, mit humanpathogenen Bakterien kontaminiert werden. Es ist zu erwarten, dass die meisten Bakterienarten den Trocknungsprozess überleben, sich aber während der Lagerung dieser Produkte nicht vermehren können. Eine Vermehrung wäre jedoch möglich, wenn die kontaminierten Gras- und Blattprodukte als Zutat in ungekühlte Speisen und nährstoffreiche Getränke gelangen. Das Erkrankungsrisiko würde dadurch ansteigen.

Getrocknete Blattprodukte sind vergleichsweise häufig mit präsumtivem *B. cereus* kontaminiert, wie Daten der Lebensmittelüberwachung in Deutschland zeigen. Eine in Großbritannien durchgeführte Studie lässt den Schluss zu, dass getrocknete Kräuter außerdem häufig mit *Clostridium perfringens* kontaminiert sind. Es ist möglich, dass vorhandene Sporen auskeimen, sich in unzureichend gekühlten oder unsachgemäß heiß gehaltenen Speisen vermehren und durch Bildung von Toxinen Magen-Darm-Erkrankungen verursachen.

Intoxikationen durch *Staphylococcus aureus* wären nur möglich, wenn kontaminierte Gras- oder Blattprodukte Lebensmitteln zugegeben werden würden, in denen sich der Erreger signifikant vermehren und Enterotoxine bilden könnte.

Ob in Deutschland für Säuglinge ein Risiko besteht, nach dem Verzehr von Kräutertees an Säuglingsbotulismus zu erkranken, lässt sich aufgrund fehlender Daten nicht abschätzen.

Grundsätzlich besteht die Möglichkeit, dass Kräuter mit *Clostridium botulinum* kontaminiert sind, die Sporen das Aufbrühen mit kochendem Wasser überleben und durch Aufnahme des Tees in den Säuglingsdarm gelangen.

Das Risiko, durch kontaminierte getrocknete Kräuter oder Teeblätter an einer Salmonellose oder einer EHEC-Infektion zu erkranken, wird als gering eingeschätzt, weil diese Lebensmittel bei der Zubereitung von Speisen und Getränken üblicherweise erhitzt werden. Dabei ist aber zu beachten, dass die Hitzeresistenz von Bakterien durch den Trocknungsprozess zunehmen kann.

Das Risiko, in Deutschland nach Verzehr von Nahrungsergänzungsmitteln aus getrockneten Blättern und/oder Gräsern an einer Salmonellose oder einer EHEC-Infektion zu erkranken, lässt sich nicht abschätzen, weil Nahrungsergänzungsmittel bisher nur selten auf humanpathogene Bakterien untersucht wurden und keine belastbaren Verzehrdaten für diese Produktgruppe vorliegen. Das Erkrankungsrisiko ist aber vermutlich höher als bei getrockneten Kräutern und Teeblättern, weil Nahrungsergänzungsmittel in der Regel ohne weitere Erhitzung verzehrt werden.

Das Risiko, dass Schwangere und Menschen, deren Abwehrkräfte durch hohes Alter oder Vorerkrankungen geschwächt sind, nach dem Verzehr von getrockneten Blattprodukten an einer Listeriose erkranken, wird als gering eingeschätzt, weil *L. monocytogenes* selten und in geringer Anzahl in den Produkten vorkommt und sich darin nicht vermehren kann. Außerdem würde der Erreger bei der Erhitzung im Rahmen der Speisen- und Getränkeherstellung absterben.

Das Risiko, dass Schwangere und Menschen, deren Abwehrkräfte durch hohes Alter oder Vorerkrankungen geschwächt sind, nach dem Verzehr von getrockneten Grasprodukten an einer Listeriose erkranken, lässt sich aufgrund fehlender Daten nicht abschätzen.

Es ist unwahrscheinlich, dass Verbraucherinnen oder Verbraucher nach dem Verzehr von getrockneten Gras- und Blattprodukten an einer Campylobacteriose erkranken, weil die Erreger den Trocknungsprozess wahrscheinlich nicht überleben.

Das Risiko, nach dem Verzehr dieser Lebensmittel an einer Yersiniose oder Shigellose zu erkranken, lässt sich aufgrund fehlender Daten nicht abschätzen.

*Situation 3: In Deutschland werden frisch hergestellte grüne Smoothies verzehrt, die aus Gras- und Blattprodukten aus dem Handel hergestellt wurden.*

Es ist möglich, dass Gras- und Blattprodukte während des Anbaus oder nach der Ernte mit humanpathogenen Bakterien kontaminiert werden. Es ist zu erwarten, dass humanpathogene Bakterien in den Produkten überleben und sich unter bestimmten Umständen in den hergestellten Smoothies vermehren können. Die Vermehrung in den Smoothies kann das Infektionsrisiko erhöhen. Sie ist u. a. abhängig von den vorhandenen Bakterienstämmen, der Bakterienkonzentration, der vorhandenen Nährstoffe, dem pH-Wert und den Lagerungsbedingungen (insbesondere Temperatur und Dauer). Das Infektionsrisiko lässt sich durch Kühlung und Säuerung der Smoothies minimieren.

Grundsätzlich ist es möglich, dass Verbraucherinnen und Verbraucher nach dem Verzehr frisch hergestellter grüner Smoothies an einer Salmonellose, einer EHEC-Infektion oder durch Enterotoxin-bildende *B. cereus* erkranken. Möglich ist außerdem, dass sich Personen, deren Abwehrkräfte durch Schwangerschaft, hohes Alter oder Vorerkrankungen geschwächt

sind, durch den Verzehr solcher Smoothies mit *Listeria monocytogenes* infizieren. Das Erkrankungsrisiko lässt sich aufgrund der unzureichenden Datenlage jedoch nicht genauer abschätzen. Ob sich *Staphylococcus aureus* oder *Clostridium perfringens* in frisch gepressten grünen Smoothies vermehren können, hängt von deren Eiweißgehalt ab und lässt sich daher nicht allgemein vorhersagen.

Das Risiko, dass Verbraucherinnen und Verbraucher nach dem Verzehr frisch hergestellter grüner Smoothies an einer Campylobacteriose erkranken, wird trotz der niedrigen Infektionsdosis als sehr gering eingeschätzt, weil der Erreger nur sehr selten auf frischen Blattprodukten gefunden wird.

Das Risiko, nach dem Verzehr frisch hergestellter grüner Smoothies an einer Yersiniose oder Shigellose zu erkranken, lässt sich aufgrund fehlender Daten nicht abschätzen.

#### 3.1.4.1 Bewertung der Qualität der Daten

Der derzeitige Kenntnisstand zum Vorkommen und zum Verhalten von humanpathogenen Bakterien in Nahrungsergänzungsmitteln, Kräutertees, Smoothies und Grasprodukten ist als schlecht zu bewerten.

Unzureichend ist außerdem die Datenlage zum Vorkommen und Verhalten von pathogenen Yersinien und *Shigella* spp. auf/in frischen Blattprodukten.

Aufgrund methodischer Schwierigkeiten besteht weiterhin eine Unsicherheit hinsichtlich der Validität von Daten zum Vorkommen von STEC in pflanzlichen Lebensmitteln. Wegen der schlechten Wiederfindungsraten werden die nationalen und internationalen Methoden zum Nachweis und zur Isolierung von STEC aus pflanzlichen Lebensmitteln momentan überarbeitet.

Wegen fehlender Meldepflicht nach dem Infektionsschutzgesetz fehlen darüber hinaus valide Daten zur Häufigkeit von Intoxikationen des Menschen durch die von *Staphylococcus aureus*, präsumtiven *B. cereus* und *Clostridium perfringens* gebildeten Toxine. Eine weitere Schwierigkeit besteht darin, dass die Toxine von *Clostridium perfringens* und vielen *B. cereus*-Stämmen erst im menschlichen Darm gebildet werden und somit in implizierten Lebensmitteln nicht nachgewiesen werden können.

Die Herstellungsverfahren für Gras- und Blattprodukte können abhängig von Hersteller und Produkt sehr unterschiedlich sein und sind dem BfR im Einzelnen nicht bekannt. Auch sind die Vorgaben zur Lagerung und Mindesthaltbarkeit produkt- und herstellerepezifisch.

Die aufgeführten Unsicherheiten hinsichtlich des Vorkommens und des Verhaltens der ausgewählten humanpathogenen Bakterien wurden bei der Bewertung entsprechend berücksichtigt. Insbesondere ist aus diesen Gründen eine quantitative Risikoabschätzung nicht möglich.

Die Qualität der vorliegenden Verzehrdaten ist nur teilweise zufriedenstellend. Die Daten wurden in den Jahren 2005/2006 erhoben und werden auf den heutigen Verzehr übertragen, sodass etwaige Veränderungen im Verzehr in der vorliegenden Betrachtung nicht berücksichtigt sind. Trotz des zeitlichen Abstandes sind es jedoch die derzeit aktuellsten, repräsentativen Daten zu den Verzehrsgewohnheiten der deutschen Bevölkerung, welche eine gute Grundlage für die Bewertung liefern. Jedoch fehlen belastbare Verzehrdaten zu Nahrungsergänzungsmitteln, Grasprodukten und grünen Smoothies.

In die Auswertungen wurde die Gesamtbevölkerung zwischen 14 und 80 Jahren einbezogen. Da es bis zum Abschluss der KiESEL-Studie keine Datenlage zu langfristigen Verzehrshäufigkeiten bei Kindern gibt, konnte diese Bevölkerungsgruppe nicht berücksichtigt werden. Weiterhin sind Vegetarier bislang nicht gesondert in die Auswertungen eingeflossen, welche aufgrund des Bezugs auf ausschließlich pflanzliche Lebensmittel eine besonders exponierte Gruppe sein könnten.

Da die Bevölkerung stark differenziert betrachtet wurde (verschiedene Altersgruppen nach Geschlecht aufgetrennt) könnte der daraus resultierende kleinere Stichprobenumfang je Gruppe die Sicherheit der Aussage einschränken.

Um das Vorkommen und Verhalten der ausgewählten humanpathogenen Bakterien in Gras- und Blattprodukten zukünftig besser abschätzen zu können, ist weitere Forschung nötig. Nachfolgend wird der im Rahmen der Erlassbeantwortung zu diesem Zweck identifizierte Forschungsbedarf listenhaft skizziert:

- Experimentelle Studien zum Vermehrungsverhalten und der Toxinexprimierung von *Staphylococcus aureus* in Gras- und Blattprodukten, insbesondere in frisch hergestellten (grünen) Smoothies, einschließlich Lagerungs- und Inaktivierungsversuche
- Untersuchungen zur Prävalenz pathogener Yersinien in Gras- und Blattprodukten, die in Deutschland vermarktet werden; Untersuchungen zur Vermehrung pathogener Yersinien in diesen Produkten bei unterschiedlichen Lagerungstemperaturen
- Etablierung von Untersuchungsverfahren zur eindeutigen Identifizierung von kommerziell im Pflanzenschutz genutzten *B. thuringiensis*-Stämmen
- Studien zur Fähigkeit von *B. thuringiensis*, unter verschiedenen Kulturbedingungen Enterotoxine zu bilden, im Vergleich mit *B. cereus*-Stämmen, die Erkrankungen ausgelöst haben
- Untersuchungen zur Fähigkeit von *B. thuringiensis*-Sporen, an Schnitträndern von Frischgemüse auszukeimen und sich zu vermehren
- Feldstudien zum Verhalten/Abbau von kommerziell im Pflanzenschutz genutzten *B. thuringiensis*-Sporen nach deren Anwendung
- Studien zur Prävalenz von pathogenen Clostridien (insbesondere *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*) auf (Kräuter-)Tee, beispielsweise als potentielle Infektionsquelle für Säuglingsbotulismus
- Weitere Optimierung der STEC-Detektion und -Isolierung aus verschiedenen pflanzlichen Lebensmittelmatrizes, z. B. grünen Smoothies
- Experimentelle Studien zur Vermehrung und Tenazität von STEC in Smoothies und pflanzlichen Nahrungsergänzungsmitteln
- Ausbau der Daten- und Wissensbasis zu Herstellungs- und Verarbeitungsprozessparametern von Gras- und Blattprodukten
- Ausbau der verfügbaren mathematischen Modelle zur Abschätzung des Erregerwachstums und der Inaktivierung von humanpathogenen Bakterien unter relevanten Prozess-, Verarbeitungs- und Lagerbedingungen
- Ausbau der verfügbaren mathematischen Modelle zur Abschätzung der Verzehrsmengen und der Dosis-Wirkungsbeziehungen für die betrachteten Erreger

Um zukünftig außerdem robustere Aussagen zum Zusammenhang zwischen dem Verzehr belasteter Lebensmittel und sensiblen Bevölkerungsgruppen treffen zu können, werden aktuelle und vor allem spezifische Verzehrdaten zu den relevanten Lebensmittelgruppen benötigt. Bezüglich der vorliegenden Fragestellung betrifft dies vor allem den Verzehr von Nahrungsergänzungsmitteln, Grasprodukten und grünen Smoothies.

### 3.2 Weitere Aspekte

Vor dem Hintergrund des Nutzens für eine gesunde Ernährung sollte die Empfehlung, auf den Rohverzehr von Blattsalaten, Blattgemüse und frischen Kräutern vorsichtshalber zu verzichten, weiterhin nur für besonders immungeschwächte Personen gelten. Alle anderen Personen können das Risiko einer Lebensmittelinfektion durch Kühlen und gründliches Waschen dieser Lebensmittel vor dem Verzehr reduzieren.

### 3.3 Handlungsrahmen / Maßnahmen

Um lebensmittelbedingte Infektionen und Intoxikationen nach dem Verzehr von Gras- und Blattprodukten zu vermeiden, ist es notwendig, deren Kontamination mit humanpathogenen Bakterien vom Anbau bis zum Inverkehrbringen durch Gute Landwirtschaftliche Praxis (engl. Abkürzung: GAP) und Gute Herstellungspraxis (engl. Abkürzung: GMP) zu verhindern. Der Codex Alimentarius hat zu diesem Zweck Standards definiert. Darüber hinaus haben die WHO (World Health Organization) und die FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) im Jahr 2008 umfassende Maßnahmen empfohlen, durch die sich die Kontamination von frischen Blattprodukten reduzieren lässt<sup>2</sup>.

Ergänzend können keimreduzierende Verfahren das Risiko von Erkrankungen nach dem Rohverzehr von Gras- und Blattprodukten weiter minimieren. In den letzten Jahren wurden zahlreiche Studien veröffentlicht, die sich mit den Möglichkeiten der Reduzierung von humanpathogenen Bakterien auf frischem Obst und Gemüse durch chemische (z. B. essentielle Öle, Kalziumsalze, Säuren, Chlor, Peroxyessigsäure, N<sup>α</sup>-Lauroyl-L-Arginin-Ethylester), physikalische (z. B. Waschen, Temperatur, Hochdruck, kaltes Plasma, UV-Licht, Ozon) oder biologische Dekontaminationsverfahren (Bakteriophagen, Milchsäurebakterien, *Quillaja-saponaria*-Extrakt) beschäftigen<sup>130, 235-247</sup>.

Auch trockene Blattprodukte können mit keimreduzierenden Verfahren behandelt werden. Bekannte Verfahren für getrocknete Kräuter und Gewürze sind die Begasung mit Ethylen-Oxid, die Bestrahlung und die Dampf-Behandlung<sup>248, 249</sup>. Darüber hinaus sind eine Reihe von alternativen Dekontaminationsmethoden beschrieben (z. B. UV- und IR-Bestrahlung, Mikrowellen-, Hitze- und Druck-Behandlung), deren Einsatz bzw. Effektivität bei getrockneten Kräutern und Gewürzen aufgrund des niedrigen a<sub>w</sub>-Wertes oder einer starken Produktveränderung jedoch begrenzt ist<sup>248,250-252</sup>.

Die Begasung mit Ethylen-Oxid ist dazu geeignet, Keimzahlen auf trockenen Lebensmitteln deutlich zu reduzieren. Jedoch wird Ethylen-Oxid als karzinogen eingeschätzt. Daher ist die Begasung mit Ethylen-Oxid in der EU verboten.

Hingegen ist die Bestrahlung von getrockneten aromatischen Kräutern und Gewürzen in Deutschland gemäß §1, Abs.2, Nr.1 der Verordnung über die Behandlung von Lebensmitteln mit Elektronen-, Gamma- und Röntgenstrahlen, Neutronen oder ultravioletten Strahlen (Lebensmittelbestrahlungsverordnung - LMBestrv) bis zu der maximalen absorbierten Gesamtdosis von 10 Kilogray zugelassen. Ein solches Verfahren wäre dazu geeignet, sowohl vegetative Bakterien als auch Bakteriensporen zu reduzieren<sup>56</sup>. Aufgrund von Kennzeichnungspflicht und geringer Verbraucherakzeptanz von bestrahlten Lebensmitteln wird die Bestrahlung zur Dekontamination von Lebensmitteln jedoch kaum eingesetzt. Bei vorabgepackten Lebensmitteln könnte die Bestrahlung außerdem Reaktionsprodukte verursachen, die von dem Verpackungsmaterial stammen und auf das Lebensmittel übergehen. Letztlich kann die Bestrahlung auch (zumindest leichte) Veränderungen in der Produktbeschaffenheit von Kräutern hervorrufen.

Ein gängiges Verfahren zur Dekontamination von getrockneten Kräutern und Gewürzen ist die Dampfbehandlung. Dabei wird kurzzeitig heißer Dampf angewendet (z. B. 108-125 °C für 20-120 Sekunden), um vegetative Bakterienzellen zu reduzieren. Zur Inaktivierung von Sporen reicht die Behandlung jedoch nicht aus. Mit der Dampfbehandlung können auch Produktveränderungen einhergehen, vor allem im Hinblick auf Feuchtigkeitsgehalt, Farbe und Aroma.

Ob die Heißwasserdampfbehandlung auch für die Dekontamination pflanzlicher Nahrungsergänzungsmittel (z. B. Grastabletten) geeignet wäre, müsste im Einzelfall geprüft werden.

Bisher gibt es nur wenige Berichte, die belegen, dass der Verzehr von Gras- und Blattprodukten in Deutschland bakterielle Lebensmittelinfektionen und -intoxikationen ausgelöst hat. Dennoch spricht das BfR zum Schutz der Verbraucherinnen und Verbraucher die nachfolgenden allgemeinen Empfehlungen zur Risikominimierung aus. Vor dem Hintergrund der Fragestellung, der Diversität von Gras- und Blattprodukten sowie von deren Herstellungsverfahren ist es dem BfR nicht möglich, spezifischere Maßnahmen zu empfehlen.

- Bei Anbau, Lagerung, Behandlung, Transport und Analyse von Gras- und Blattprodukten sollten die Anforderungen des Codex Alimentarius (Code of Hygienic Practice for Fresh Fruits and Vegetables CAC/RCP 53/2003; Code of Hygienic Practice for Spices and Dried Aromatic Herbs CAC/RCP 42/1995) und die Empfehlungen der WHO/FAO aus dem Jahr 2008 für frische Blattprodukte und Kräuter beachtet werden, um das Risiko für eine Kontamination mit humanpathogenen Bakterien zu reduzieren<sup>2</sup>.
- Inverkehrbringer von Gras- und Blattprodukten sollten prüfen, ob die angewandten Herstellungs- und Dekontaminationsverfahren geeignet sind, das Vorkommen von humanpathogenen Bakterien soweit zu minimieren, dass von den Produkten für Menschen kein Erkrankungsrisiko ausgeht und dazu die HACCP-Prinzipien anwenden. Die Eignung der Verfahren sollte regelmäßig mittels mikrobiologischer Kontrollen verifiziert werden. Bei häufigerem Nachweis von humanpathogenen Bakterien in den Produkten ist eine regelmäßige mikrobiologische Chargenprüfung zu erwägen.

Frische Blattprodukte sollten vor dem Rohverzehr zur Risikominimierung gründlich gewaschen und möglichst schnell verbraucht werden. Die höhere Feuchtigkeit und Verfügbarkeit von Nährstoffen in zerkleinerten frischen Blattprodukten begünstigen das Wachstum von humanpathogenen Bakterien. Um eine Keimvermehrung zu reduzieren, sollten diese Produkte daher bis zum Verzehr möglichst bei maximal 7 °C gelagert und schnell verbraucht werden.

- Frisch hergestellte grüne Smoothies sollten zur Reduzierung einer Keimvermehrung bis zum Verzehr möglichst bei maximal 7 °C gelagert und am Tag der Herstellung verbraucht werden. Zusätzlich lässt sich die Vermehrung humanpathogener Bakterien durch Absenkung des pH-Wertes auf <4 (z. B. durch Zugabe saurer Lebensmittel/ Zutaten) verlangsamen bzw. ganz verhindern.
- Kräutertees sollten mit sprudelnd kochendem Wasser aufgegossen werden, um möglicherweise vorhandene humanpathogene Bakterien abzutöten.
- Schwangere und Personen, deren Abwehrkräfte durch <sup>h</sup>hohes Alter, Vorerkrankungen oder Medikamenteneinnahme geschwächt sind, sollten zum Schutz vor einer Listeriose

---

<sup>h</sup>

auf den Verzehr von vorgeschnittenen und verpackten Salaten verzichten und stattdessen Salate aus frischen und gründlich gewaschenen Zutaten kurz vor dem Verzehr zubereiten.

- Verbraucherinnen und Verbraucher sollten darüber informiert werden, dass auch Nahrungsergänzungsmittel aus getrockneten Blättern und/oder Gräsern humanpathogene Bakterien enthalten können, insbesondere wenn die Rohwaren nicht ausreichend dekontaminiert wurden. Personen, deren Abwehrkräfte durch Schwangerschaft, hohes Alter, Vorerkrankungen oder Medikamenteneinnahme geschwächt sind, sollten diese Produkte besser nur nach ärztlicher Rücksprache verzehren.

#### Weitere Informationen auf der BfR-Website zum Thema Gras- und Blattprodukte

[http://www.bfr.bund.de/de/bewertung\\_mikrobieller\\_risiken\\_von\\_lebensmitteln-674.html](http://www.bfr.bund.de/de/bewertung_mikrobieller_risiken_von_lebensmitteln-674.html)

[http://www.bfr.bund.de/de/presseinformation/2016/19/gewuerze\\_und\\_kraeuter\\_zutaten\\_die\\_ein\\_gesundheitliches\\_risiko\\_bergen\\_koennen-197600.html](http://www.bfr.bund.de/de/presseinformation/2016/19/gewuerze_und_kraeuter_zutaten_die_ein_gesundheitliches_risiko_bergen_koennen-197600.html)

<http://www.bfr.bund.de/cm/343/selbst-hergestellte-kraeuterroele-und-in-oel-eingelegte-gemuese-bergen-gesundheitliche-risiken.pdf>

[http://www.bfr.bund.de/cm/350/verbrauchertipps\\_schutz\\_vor\\_lebensmittelinfektionen\\_im\\_privathaushalt.pdf](http://www.bfr.bund.de/cm/350/verbrauchertipps_schutz_vor_lebensmittelinfektionen_im_privathaushalt.pdf)

[http://www.bfr.bund.de/cm/343/temperierte\\_heisswasserspender\\_fuer\\_kraeuterteeaufguesse\\_nicht\\_geeignet.pdf](http://www.bfr.bund.de/cm/343/temperierte_heisswasserspender_fuer_kraeuterteeaufguesse_nicht_geeignet.pdf)

#### 4 Referenzen

1. EFSA. Emerging Risks Exchange Network Report 2015. EFSA Journal 2016;13(7):1-36.
2. FAO/WHO. Microbiological hazards in fresh leafy vegetables and herbs: Meeting Report. Microbiological risk assessment series No 14. Rome, Italy, 2008.
3. Hackl E, Hölzl C, Konlechner C, Sessitsch A. Food of plant origin: production methods and microbiological hazards linked to food-borne disease. Reference: CFT/EFSA/BIOHAZ/2012/01 Lot 1 (Food of plant origin with high water content such as fruits, vegetables, juices and herbs). AIT Austrian Institute of Technology GmbH, Bioresources Unit 2013.
4. EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). Scientific Opinion on the risk posed by pathogens in food of non-animal origin. Part 1 (outbreak data analysis and risk ranking of food/pathogen combinations). EFSA Journal 2013;11(1).
5. Hartung M, Tenhagen B-A, Alt K, Käsbohrer A. Erreger von Zoonosen in Deutschland im Jahr 2014. Berlin, Germany: Bundesinstitut für Risikobewertung; 2016.
6. Miller BD, Rigdon CE, Ball J, et al. Use of traceback methods to confirm the source of a multistate Escherichia coli O157:H7 outbreak due to in-shell hazelnuts. Journal of food protection 2012;75(2):320-7.
7. Blessington T, Mitcham EJ, Harris LJ. Survival of Salmonella enterica, Escherichia coli O157:H7, and Listeria monocytogenes on inoculated walnut kernels during storage. Journal of food protection 2012;75(2):245-54.



8. Brackett RE, Hao YY, Doyle MP. Ineffectiveness of Hot Acid Sprays to Decontaminate Escherichia-Coli O157-H7 on Beef. *Journal of Food Protection* 1994;57(3):198-203.
9. Hiramatsu R, Matsumoto M, Sakae K, Miyazaki Y. Ability of Shiga toxin-producing Escherichia coli and Salmonella spp. to survive in a desiccation model system and in dry foods. *Appl Environ Microbiol* 2005;71(11):6657-63.
10. Basaran-Akgul N, Churey JJ, Basaran P, Worobo RW. Inactivation of different strains of Escherichia coli O157:H7 in various apple ciders treated with dimethyl dicarbonate (DMDC) and sulfur dioxide (SO<sub>2</sub>) as an alternative method. *Food Microbiol* 2009;26(1):8-15.
11. Efsa Panel on Biological Hazards. Scientific Opinion on Campylobacter in broiler meat production: control options and performance objectives and/or targets at different stages of the food chain. *EFSA Journal* 2011;9(4):2105.
12. Ahmed MF, Schulz J, Hartung J. Survival of Campylobacter jejuni in naturally and artificially contaminated laying hen feces. *Poult Sci* 2013;92:364-9.
13. Bui XT, Wolff A, Madsen M, Bang DD. Reverse transcriptase real-time PCR for detection and quantification of viable Campylobacter jejuni directly from poultry faecal samples. *Res Microbiol* 2012;163:64-72.
14. Bovill RA, Mackey BM. Resuscitation of 'non-culturable' cells from aged cultures of Campylobacter jejuni. *Microbiology (Reading, England)* 1997;143 ( Pt 5):1575-81.
15. Baffone W, Casaroli A, Citterio B, et al. Campylobacter jejuni loss of culturability in aqueous microcosms and ability to resuscitate in a mouse model. *International journal of food microbiology* 2006;107(1):83-91.
16. Cappelier JM, Minet J, Magras C, Colwell RR, Federighi M. Recovery in embryonated eggs of viable but nonculturable Campylobacter jejuni cells and maintenance of ability to adhere to HeLa cells after resuscitation. *Appl Environ Microbiol* 1999;65:5154-7.
17. Krüger N-J, Buhler C, Iwobi AN. "Limits of control"--crucial parameters for a reliable quantification of viable Campylobacter by real-time PCR. *PloS one* 2014;9:e88108.
18. Stern NJ, Jones DM, Wesley IV, Rollins DM. Colonization of chicks by non-culturable Campylobacter spp. *Letters in applied microbiology* 1994;18:333-6.
19. Oosterom J, Dewilde GJA, Deboer E, Deblaauw LH, Karman H. Survival of Campylobacter jejuni during poultry-processing and pig slaughtering. *Journal of Food Protection* 1983;46(8):702-&.
20. Blankenship LC, Craven SE. Campylobacter jejuni survival in chicken meat as a function of temperature. *Appl Environ Microbiol* 1982;44(1):88-92.
21. de Jong AE, van Asselt ED, Zwietering MH, Nauta MJ, de Jonge R. Extreme heat resistance of food borne pathogens Campylobacter jejuni, Escherichia coli, and Salmonella typhimurium on chicken breast fillet during cooking. *Int J Microbiol* 2012;2012:196841.
22. Alter T, Scherer K. Stress response of Campylobacter spp. and its role in food processing. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 2006;53(8):351-7.
23. Doyle MP, Roman DJ. Response of Campylobacter jejuni to sodium chloride. *Appl Environ Microb* 1982;43(3):561-5.
24. Silva J, Leite D, Fernandes M, Mena C, Gibbs PA, Teixeira P. Campylobacter spp. as a Foodborne Pathogen: A Review. *Frontiers in microbiology* 2011;2:200.
25. Kärenlampi R, Hänninen ML. Survival of Campylobacter jejuni on various fresh produce. *International journal of food microbiology* 2004;97(2):187-95.
26. Guevremont E, Lamoureux L, Ward P, Villeneuve S. Survival of Campylobacter jejuni on fresh spinach stored at 4 degrees C or 12 degrees C. *Food Control* 2015;50:736-9.
27. Drummond N, Murphy BP, Ringwood T, Prentice MB, Buckley JF, Fanning S. Yersinia enterocolitica: a brief review of the issues relating to the zoonotic pathogen, public health challenges, and the pork production chain. *Foodborne Pathog Dis* 2012;9(3):179-89.
28. Tauxe RV, Vandepitte J, Wauters G, et al. Yersinia enterocolitica infections and pork: the missing link. *Lancet* 1987;1(8542):1129-32.

29. Long C, Jones TF, Vugia DJ, et al. *Yersinia pseudotuberculosis* and *Y. enterocolitica* infections, FoodNet, 1996-2007. *Emerg Infect Dis* 2010;16(3):566-7.
30. Fredriksson-Ahomaa M, Stolle A, Korkeala H. Molecular epidemiology of *Yersinia enterocolitica* infections. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2006;47(3):315-29.
31. Virtanen S, Salonen L, Laukkanen-Ninios R, Fredriksson-Ahomaa M, Korkeala H. Piglets are a source of pathogenic *Yersinia enterocolitica* on fattening-pig farms. *Appl Environ Microbiol* 2012;78(8):3000-3.
32. Tennant SM, Grant TH, Robins-Browne RM. Pathogenicity of *Yersinia enterocolitica* biotype 1A. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2003;38(2):127-37.
33. EFSA. Monitoring and identification of human enteropathogenic *Yersinia* spp. Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards *EFSA Journal* 2007;5(12):1-30.
34. Cornelis G, Laroche Y, Balligand G, Sory MP, Wauters G. *Yersinia enterocolitica*, a primary model for bacterial invasiveness. *Rev Infect Dis* 1987;9(1):64-87.
35. Stern NJ, Pierson MD, Kotula AW. EFFECTS OF pH AND SODIUM CHLORIDE ON *Yersinia enterocolitica* GROWTH AT ROOM AND REFRIGERATION TEMPERATURES. *Journal of Food Science* 1980;45(1):64-7.
36. Brocklehurst TF, Lund BM. The influence of pH, temperature and organic acids on the initiation of growth of *Yersinia enterocolitica*. *The Journal of applied bacteriology* 1990;69(3):390-7.
37. Shigellose. Ratgeber für Ärzte. Aktualisierte Fassung von Mai 2012. Robert Koch-Institut, 2016 (Accessed 19.12.2016 at [www.rki.de](http://www.rki.de)).
38. Kleer J. *Shigella* spp. In: Sinell H-J (Hrsg.): Einführung in die Lebensmittelhygiene: Georg Thieme Verlag; 2004.
39. Fehlhäber K, Kleer J, Kley F. *Handbuch Lebensmittelhygiene*. Hamburg: Behr's Verlag; 2007.
40. Bagamboula CF, Uyttendaele M, Debevere J. Acid tolerance of *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri*. *J Appl Microbiol* 2002;93(3):479-86.
41. Nolan DA, Chamblin DC, Troller JA. Minimal water activity levels for growth and survival of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua*. *International journal of food microbiology* 1992;16(4):323-35.
42. Kenney SJ, Beuchat LR. Survival, growth, and thermal resistance of *Listeria monocytogenes* in products containing peanut and chocolate. *Journal of food protection* 2004;67(10):2205-11.
43. Kimber MA, Kaur H, Wang L, Danyluk MD, Harris LJ. Survival of *Salmonella*, *Escherichia coli* O157:H7, and *Listeria monocytogenes* on inoculated almonds and pistachios stored at -19, 4, and 24 degrees C. *Journal of food protection* 2012;75(8):1394-403.
44. Koseki S, Nakamura N, Shiina T. Comparison of desiccation tolerance among *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica*, and *Cronobacter sakazakii* in powdered infant formula. *Journal of food protection* 2015;78(1):104-10.
45. Brown KL. Control of bacterial spores. *Br Med Bull* 2000;56(1):158-71.
46. Krause NS. *Produktion von Bacillus cereus Enterotoxinen unter verschiedenen Wachstumsbedingungen*. München: Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität 2007.
47. Ceuppens S, Rajkovic A, Heyndrickx M, et al. Regulation of toxin production by *Bacillus cereus* and its food safety implications. *Critical Reviews in Microbiology* 2011;37(3):188-213.
48. Häggblom MM, Apetroaie C, Andersson MA, Salkinoja-Salonen MS. Quantitative analysis of cereulide, the emetic toxin of *Bacillus cereus*, produced under various conditions. *Appl Environ Microbiol* 2002;68(5):2479-83.
49. EFSA. Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp in foodstuffs. *EFSA Journal* 2005;175:1-48.

50. Stenfors Arnesen LP, Fagerlund A, Granum PE. From soil to gut: *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. *FEMS* 2008;32:579 - 606.
51. Wehrle E, Didier A, Moravek M, Dietrich R, Martlbauer E. Detection of *Bacillus cereus* with enteropathogenic potential by multiplex real-time PCR based on SYBR Green I. *Mol Cell Probes* 2010;24(3):124-30.
52. Erbslöh I. Vorkommen und Charakterisierung des Toxinbildungsvermögens von *Bacillus cereus*-Isolaten aus ausgewählten Lebensmitteln: Tierärztlichen Fakultät der Universität München; 2007.
53. Chon JW, Yim JH, Kim HS, et al. Quantitative Prevalence and Toxin Gene Profile of *Bacillus cereus* from Ready-to-Eat Vegetables in South Korea. *Foodborne Pathog Dis* 2015;12(9):795-9.
54. Hariram U, Labbe R. Spore Prevalence and Toxigenicity of *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* Isolates from US Retail Spices. *Journal of Food Protection* 2015;78(3):590-6.
55. Guinebretiere MH, Girardin H, Dargaingaratz C, Carlin F, Nguyen-The C. Contamination flows of *Bacillus cereus* and spore-forming aerobic bacteria in a cooked, pasteurized and chilled zucchini puree processing line. *International journal of food microbiology* 2003;82(3):223-32.
56. EFSA. Scientific opinion on the risks for public health related to the presence of *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp. including *Bacillus thuringiensis* in foodstuffs. . *EFSA Journal* 2016;14(7):93.
57. Samapundo S, Heyndrickx M, Xhaferi R, de Baenst I, Devlieghere F. The combined effect of pasteurization intensity, water activity, pH and incubation temperature on the survival and outgrowth of spores of *Bacillus cereus* and *Bacillus pumilus* in artificial media and food products. *International journal of food microbiology* 2014;181:10-8.
58. Valero M, Hernandez-Herrero LA, Fernandez PS, Salmeron MC. Characterization of *Bacillus cereus* isolates from fresh vegetables and refrigerated minimally processed foods by biochemical and physiological tests. *Food Microbiology* 2002;19(5):491-9.
59. Contzen M, Hailer M, Rau J. Isolation of *Bacillus cytotoxicus* from various commercial potato products. *International journal of food microbiology* 2014;174:19-22.
60. Thorsen L, Hansen BM, Nielsen KF, Hendriksen NB, Phipps RK, Budde BB. Characterization of emetic *Bacillus weihenstephanensis*, a new cereulide-producing bacterium. *Appl Environ Microbiol* 2006;72(7):5118-21.
61. Stenfors LP, Mayr R, Scherer S, Granum PE. Pathogenic potential of fifty *Bacillus weihenstephanensis* strains. *FEMS Microbiol Lett* 2002;215(1):47-51.
62. DGE. 12. Ernährungsbericht: DGE, Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V.; 2012.
63. Rings DM. Clostridial disease associated with neurologic signs: tetanus, botulism, and enterotoxemia. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2004;20(2):379-91, vii-viii.
64. Smart JL, Jones TO, Clegg FG, McMurtry MJ. Poultry waste associated type C botulism in cattle. *Epidemiol Infect* 1987;98(1):73-9.
65. Carlin F, Peck MW. Growth of and toxin production by nonproteolytic *Clostridium botulinum* in cooked pureed vegetables at refrigeration temperatures. *Appl Environ Microbiol* 1996;62(8):3069-72.
66. Barash JR, Arnon SS. A Novel Strain of *Clostridium botulinum* That Produces Type B and Type H Botulinum Toxins. *Journal of Infectious Diseases* 2014;209(2):183-91.
67. Hill KK, Smith TJ. Genetic diversity within *Clostridium botulinum* serotypes, botulinum neurotoxin gene clusters and toxin subtypes. *Curr Top Microbiol Immunol* 2013;364:1-20.
68. Schneider D. Entwicklung und Etablierung verschiedener Nachweisverfahren für *Clostridium botulinum* und aktiver Toxinnachweis mit ELISA-Verfahren in unterschiedlichen Lebensmittelmatrizes sowie Untersuchungen zur Stabilität der Toxine.: Freie Universität Berlin; 2013.

69. BfR. Kritischer als Gammelfleisch: Toxinbildende Bakterien und ihre Giftstoffe in Fleisch und Fleischerzeugnissen. 2005. Stellungnahme Nr. 004/2006 des BfR vom 21.12.2005.
70. Conboy MJ, Goss MJ. Identification of an assemblage of indicator organisms to assess timing and source of bacterial contamination in groundwater. *Water Air Soil Poll* 2001;129(1-4):101-18.
71. Hill RT, Straube WL, Palmisano AC, Gibson SL, Colwell RR. Distribution of sewage indicated by *Clostridium perfringens* at a deep-water disposal site after cessation of sewage disposal. *Appl Environ Microbiol* 1996;62(5):1741-6.
72. Reiche T. Praxishandbuch „Hygiene in Großküchen“ Ausgabe 5, III Grundlagen der Lebensmittelhygiene, 1.3.6 Clostridien. Hamburg: Behr's Verlag; 2013.
73. Weber H. Mikrobiologie der Lebensmittel - Grundlagen, 2.2.1 *Clostridium perfringens*. Hamburg: Behr's Verlag; 2009.
74. Hennekinne JA, De Buyser ML, Dragacci S. *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. *FEMS microbiology reviews* 2012;36(4):815-36.
75. Fetsch A, Contzen M, Hartelt K, et al. *Staphylococcus aureus* food-poisoning outbreak associated with the consumption of ice-cream. *International journal of food microbiology* 2014;187:1-6.
76. Fetsch A, Steege K, Leuser D, Krause G. Interlaboratory Proficiency Testing trial on the Detection of Staphylococcal Enterotoxins types SEA to SEE in food in Germany 2013 *Berliner und Muenchener Tieraerztliche Wochenschrift* 2016;129(7-8):290-5.
77. Becker H, Bürk C, Märtlbauer E. Staphylokokken-Enterotoxine: Bildung, Eigenschaften und Nachweis. *J Verbr Lebensm* 2007;2:171-89.
78. RKI. Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2015: Robert Koch-Institut; 2016.
79. EFSA, ECDC. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. *EFSA Journal* 2016;14(12):4634.
80. Dasti JI, Tareen AM, Lugert R, Zautner AE, Gross U. *Campylobacter jejuni*: a brief overview on pathogenicity-associated factors and disease-mediating mechanisms. *Int J Med Microbiol* 2010;300:205-11.
81. Black RE, Levine MM, Clements ML, Hughes TP, Blaser MJ. Experimental *Campylobacter jejuni* infection in humans. *The Journal of infectious diseases* 1988;157(3):472-9.
82. Robinson DA. Infective dose of *Campylobacter jejuni* in milk. *British Medical Journal (Clinical research ed)* 1981;282(6276):1584-.
83. Heesemann J. Die Gattung *Yersinia*, Yersiniosen. In: Brandis, Eggers, Köhler (Hrsg.): *Lehrbuch der medizinischen Mikrobiologie*. München: Urban & Fischer Verlag; 1998:315-29.
84. Kapperud G, Rørvik LM, Hasseltvedt V, et al. Outbreak of *Shigella sonnei* infection traced to imported iceberg lettuce. *Journal of Clinical Microbiology* 1995;33(3):609-14.
85. Wu FM, Doyle MP, Beuchat LR, Wells JG, Mintz ED, Swaminathan B. Fate of *Shigella sonnei* on parsley and methods of disinfection. *Journal of food protection* 2000;63(5):568-72.
86. Guzman-Herrador BR, Nilsen E, Cudjoe KS, et al. A *Shigella sonnei* outbreak traced to imported basil – the importance of good typing tools and produce traceability systems, Norway, 2011. *Euro Surveill* 2013;18(49):20650.
87. Lamont RF, Sobel J, Mazaki-Tovi S, et al. Listeriosis in human pregnancy: a systematic review. *J Perinat Med* 2011;39(3):227-36.
88. Maertens de Noordhout C, Devleeschauwer B, Angulo FJ, et al. The global burden of listeriosis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2014;14(11):1073-82.

89. Yokoyama K, Ito M, Agata N, et al. Pathological effect of synthetic cereulide, an emetic toxin of *Bacillus cereus*, is reversible in mice. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1999;24(1):115-20.
90. BfR. An Krankheitsausbrüchen beteiligte Lebensmittel in Deutschland im Jahr 2014. 2015. Information Nr. 039/2015 des BfR vom 15.10.2015.
91. Rosner B, Schewe T. Gemeinsamer nationaler Bericht des BVL und RKI zu lebensmittelbedingten Krankheitsausbrüchen in Deutschland, 2015. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit* 2016:1-11.
92. BMELV. Beitrag zur frühzeitigen Erkennung bioterroristischer Angriffe auf die Lebensmittelkette - Ein Handbuch: Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV); 2011.
93. Brynestad S, Granum PE. *Clostridium perfringens* and foodborne infections. *International journal of food microbiology* 2002;74(3):195-202.
94. Ziegler JS. Vergleichende Differenzierung von *Clostridium* spp. mittels biochemischer und molekularbiologischer Methoden sowie MALDI-TOF Massenspektrometrie. Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit, Dienststelle Oberschleißheim: Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München; 2013.
95. Asao T, Kumeda Y, Kawai T, et al. An extensive outbreak of staphylococcal food poisoning due to low-fat milk in Japan: Estimation of enterotoxin A in the incriminated milk and powdered skim milk. *Epidemiology and Infection* 2003;130(1):33-40.
96. Dimitraki P, Velonakis E. The survival of pathogens in frozen food as a health risk. *Archives of Hellenic Medicine* 2007;24(5):432-9.
97. Bourdoux S, Li D, Rajkovic A, Devlieghere F, Uyttendaele M. Performance of Drying Technologies to Ensure Microbial Safety of Dried Fruits and Vegetables. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 2016;15(6):1056-66.
98. Smelt JP, Brul S. Thermal inactivation of microorganisms. *Critical reviews in food science and nutrition* 2014;54(10):1371-85.
99. EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). Scientific Opinion on the risk posed by pathogens in food of non-animal origin. Part 2 (Salmonella and Norovirus in leafy greens eaten raw as salads). *EFSA Journal* 2014;12(3).
100. Park S, Szonyi B, Gautam R, Nightingale K, Anciso J, Ivanek R. Risk Factors for Microbial Contamination in Fruits and Vegetables at the Preharvest Level: A Systematic Review. *Journal of Food Protection* 2012;75(11):2055-81.
101. Bernstein N, Sela S, Neder-Lavon S. Assessment of contamination potential of lettuce by *Salmonella enterica* serovar Newport added to the plant growing medium. *Journal of food protection* 2007;70(7):1717-22.
102. Brandl MT, Amundson R. Leaf age as a risk factor in contamination of lettuce with *Escherichia coli* O157 : H7 and *Salmonella enterica*. *Appl Environ Microb* 2008;74(8):2298-306.
103. Barak JD, Gorski L, Naraghi-Arani P, Charkowski AO. *Salmonella enterica* virulence genes are required for bacterial attachment to plant tissue. *Appl Environ Microbiol* 2005;71(10):5685-91.
104. Gibson DL, White AP, Snyder SD, et al. *Salmonella* produces an O-antigen capsule regulated by AgfD and important for environmental persistence. *J Bacteriol* 2006;188(22):7722-30.
105. Barak JD, Jahn CE, Gibson DL, Charkowski AO. The role of cellulose and O-antigen capsule in the colonization of plants by *Salmonella enterica*. *Mol Plant Microbe Interact* 2007;20(9):1083-91.
106. Berger CN, Shaw RK, Brown DJ, et al. Interaction of *Salmonella enterica* with basil and other salad leaves. *ISME J* 2009;3(2):261-5.

107. Lapidot A, Yaron S. Transfer of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium from contaminated irrigation water to parsley is dependent on curli and cellulose, the biofilm matrix components. *Journal of food protection* 2009;72(3):618-23.
108. Kroupitski Y, Golberg D, Belausov E, et al. Internalization of *Salmonella enterica* in leaves is induced by light and involves chemotaxis and penetration through open stomata. *Appl Environ Microbiol* 2009;75(19):6076-86.
109. Bernstein N, Sela S, Neder-Lavon S. Effect of irrigation regimes on persistence of *Salmonella enterica* serovar Newport in small experimental pots designed for plant cultivation. *Irrigation Sci* 2007;26(1):1-8.
110. Franz E, Visser AA, Van Diepeningen AD, Klerks MM, Termorshuizen AJ, van Bruggen AH. Quantification of contamination of lettuce by GFP-expressing *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Food Microbiol* 2007;24(1):106-12.
111. Ongeng D, Vasquez GA, Muyanja C, Ryckeboer J, Geeraerd AH, Springael D. Transfer and internalisation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in cabbage cultivated on contaminated manure-amended soil under tropical field conditions in Sub-Saharan Africa. *International journal of food microbiology* 2011;145(1):301-10.
112. Pachepsky Y, Shelton DR, McLain JET, Patel J, Mandrell RE. Irrigation Waters as a Source of Pathogenic Microorganisms in Produce: A Review. *Adv Agron* 2011;113:73-138.
113. Hirneisen KA, Sharma M, Kniel KE. Human enteric pathogen internalization by root uptake into food crops. *Foodborne Pathog Dis* 2012;9(5):396-405.
114. Golberg D, Kroupitski Y, Belausov E, Pinto R, Sela S. *Salmonella* Typhimurium internalization is variable in leafy vegetables and fresh herbs. *International journal of food microbiology* 2011;145(1):250-7.
115. Warriner K, Namvar A. The tricks learnt by human enteric pathogens from phytopathogens to persist within the plant environment. *Curr Opin Biotech* 2010;21(2):131-6.
116. Gorbatshevich E, Sela Saldinger S, Pinto R, Bernstein N. Root internalization, transport and in-planta survival of *Salmonella enterica* serovar Newport in sweet basil. *Environ Microbiol Rep* 2013;5(1):151-9.
117. Van der Linden I, Cottyn B, Uyttendaele M, Vlaemynck G, Maes M, Heyndrickx M. Long-term survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* on butterhead lettuce seeds, and their subsequent survival and growth on the seedlings. *International journal of food microbiology* 2013;161(3):214-9.
118. Islam M, Morgan J, Doyle MP, Phatak SC, Millner P, Jiang X. Persistence of *Salmonella enterica* serovar typhimurium on lettuce and parsley and in soils on which they were grown in fields treated with contaminated manure composts or irrigation water. *Foodborne Pathog Dis* 2004;1(1):27-35.
119. Ceustermans A, De Clercq D, Aertsen A, et al. Inactivation of *Salmonella* Senftenberg strain W 775 during composting of biowastes and garden wastes. *J Appl Microbiol* 2007;103(1):53-64.
120. Lung AJ, Lin CM, Kim JM, et al. Destruction of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enteritidis* in cow manure composting. *Journal of food protection* 2001;64(9):1309-14.
121. Natvig EE, Ingham SC, Ingham BH, Cooperband LR, Roper TR. *Salmonella enterica* serovar Typhimurium and *Escherichia coli* contamination of root and leaf vegetables grown in soils with incorporated bovine manure. *Appl Environ Microbiol* 2002;68(6):2737-44.
122. Garcia R, Baelum J, Fredslund L, Santorum P, Jacobsen CS. Influence of temperature and predation on survival of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium and expression of *invA* in soil and manure-amended soil. *Appl Environ Microbiol* 2010;76(15):5025-31.

123. Van der Linden I, Cottyn B, Uyttendaele M, Vlaemynck G, Heyndrickx M, Maes M. Survival of Enteric Pathogens During Butterhead Lettuce Growth: Crop Stage, Leaf Age, and Irrigation. *Foodborne Pathog Dis* 2013;10(6):485-91.
124. Gil MI, Gomez-Lopez VM, Lannoo A-S, Allende A. Impact of extreme climatic events on microbial safety of leafy greens: flooding. 2013 IAFP Annual Meeting; 2013; Charlotte, North Carolina, USA.
125. Puerta-Gomez AF, Moreira RG, Kim J, Castell-Perez E. Modeling the growth rates of *Escherichia coli* spp. and *Salmonella* Typhimurium LT2 in baby spinach leaves under slow cooling. *Food Control* 2013;29(1):11-7.
126. Sant'Ana AS, Landgraf M, Destro MT, Franco BDGM. Growth Potential of *Salmonella* and *Listeria monocytogenes* in Ready-to-Eat Lettuce and Collard Greens Packaged under Modified Atmosphere and in Perforated Film. *Journal of Food Protection* 2013;76(5):888-91.
127. Franz E, Tromp SO, Rijgersberg H, van der Fels-Klerx HJ. Quantitative microbial risk assessment for *Escherichia coli* O157:H7, salmonella, and *Listeria monocytogenes* in leafy green vegetables consumed at salad bars. *Journal of food protection* 2010;73(2):274-85.
128. Sant'Ana AS, Barbosa MS, Destro MT, Landgraf M, Franco BDGM. Growth potential of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* in nine types of ready-to-eat vegetables stored at variable temperature conditions during shelf-life. *International journal of food microbiology* 2012;157(1):52-8.
129. Abadias M, Usall J, Anguera M, Solson C, Vinas I. Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. *International journal of food microbiology* 2008;123(1-2):121-9.
130. Olaimat AN, Holley RA. Factors influencing the microbial safety of fresh produce: a review. *Food Microbiol* 2012;32(1):1-19.
131. Roe M, Church S, Pinchen H, Finglas P. Nutrient analysis of fruit and vegetables., 2013.
132. Yaron S, Romling U. Biofilm formation by enteric pathogens and its role in plant colonization and persistence. *Microb Biotechnol* 2014;7(6):496-516.
133. Koukkidis G, Haigh R, Allcock N, Jordan S, Freestone P. Salad Leaf Juices Enhance *Salmonella* Growth, Colonization of Fresh Produce, and Virulence. *Appl Environ Microbiol* 2017;83(1).
134. BVL. Bundesweiter Überwachungsplan. Berichte zur Lebensmittelsicherheit 2006: BVL, 2008.
135. BVL. Bundesweiter Überwachungsplan 2012. Berichte zur Lebensmittelsicherheit: BVL, 2013.
136. BVL. Zoonosen-Monitoring 2012. Berichte zur Lebensmittelsicherheit: BVL, 2014.
137. Ma J, Ibekwe AM, Yi X, et al. Persistence of *Escherichia coli* O157:H7 and its mutants in soils. *PloS one* 2011;6(8):e23191.
138. Saldana Z, Sanchez E, Xicohtencatl-Cortes J, Puente JL, Giron JA. Surface structures involved in plant stomata and leaf colonization by shiga-toxigenic *Escherichia coli* o157:h7. *Frontiers in microbiology* 2011;2:119.
139. Zhang G, Ma L, Beuchat LR, Erickson MC, Phelan VH, Doyle MP. Lack of internalization of *Escherichia coli* O157:H7 in lettuce (*Lactuca sativa* L.) after leaf surface and soil inoculation. *Journal of food protection* 2009;72(10):2028-37.
140. Berger CN, Sodha SV, Shaw RK, et al. Fresh fruit and vegetables as vehicles for the transmission of human pathogens. *Environ Microbiol* 2010;12(9):2385-97.
141. Brandl MT. Plant lesions promote the rapid multiplication of *Escherichia coli* O157:H7 on postharvest lettuce. *Appl Environ Microbiol* 2008;74(17):5285-9.
142. Chitarra W, Decastelli L, Garibaldi A, Gullino ML. Potential uptake of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* from growth substrate into leaves of salad plants and basil grown in soil irrigated with contaminated water. *International Journal of Food Microbiology* 2014;189:139-45.

143. Martinez B, Stratton J, Bianchini A, Wegulo S, Weaver G. Transmission of *Escherichia coli* O157:H7 to internal tissues and its survival on flowering heads of wheat. *Journal of food protection* 2015;78(3):518-24.
144. Solomon EB, Yaron S, Matthews KR. Transmission of *Escherichia coli* O157:H7 from contaminated manure and irrigation water to lettuce plant tissue and its subsequent internalization. *Appl Environ Microbiol* 2002;68(1):397-400.
145. Beuchat LR, Ryu JH. Produce handling and processing practices. *Emerg Infect Dis* 1997;3(4):459-65.
146. Tzschoppe M, Martin A, Beutin L. A rapid procedure for the detection and isolation of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) serogroup O26, O103, O111, O118, O121, O145 and O157 strains and the aggregative EHEC O104:H4 strain from ready-to-eat vegetables. *International journal of food microbiology* 2012;152(1-2):19-30.
147. Huang LH. Mathematical modeling and numerical analysis of the growth of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in spinach leaves. *International journal of food microbiology* 2012;160(1):32-41.
148. Vogeleeer P, Tremblay YDN, Mafu AA, Jacques M, Harel J. Life on the outside: role of biofilms in environmental persistence of Shiga-toxin producing *Escherichia coli*. *Frontiers in microbiology* 2014;5.
149. Niemira BA, Cooke PH. *Escherichia coli* O157:H7 biofilm formation on Romaine lettuce and spinach leaf surfaces reduces efficacy of irradiation and sodium hypochlorite washes. *J Food Sci* 2010;75(5):M270-7.
150. Patel J, Sharma M, Ravishakar S. Effect of curli expression and hydrophobicity of *Escherichia coli* O157:H7 on attachment to fresh produce surfaces. *J Appl Microbiol* 2011;110(3):737-45.
151. Islam M, Morgan J, Doyle MP, Jiang X. Fate of *Escherichia coli* O157:H7 in manure compost-amended soil and on carrots and onions grown in an environmentally controlled growth chamber. *Journal of food protection* 2004;67(3):574-8.
152. Feng PC, Reddy S. Prevalences of Shiga toxin subtypes and selected other virulence factors among Shiga-toxigenic *Escherichia coli* strains isolated from fresh produce. *Appl Environ Microbiol* 2013;79(22):6917-23.
153. BVL. Zoonosen-Monitoring 2015. Berichte zur Lebensmittelsicherheit: BVL, 2016.
154. Slanec T, Fruth A, Creuzburg K, Schmidt H. Molecular analysis of virulence profiles and Shiga toxin genes in food-borne Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol* 2009;75(19):6187-97.
155. Little C, Roberts D, Youngs E, de Louvois J. Microbiological quality of retail imported unprepared whole lettuces: a PHLS Food Working Group Study. Public Health Laboratory Service. *Journal of food protection* 1999;62(4):325-8.
156. Thunberg RL, Tran TT, Bennett RW, Matthews RN, Belay N. Microbial evaluation of selected fresh produce obtained at retail markets. *Journal of food protection* 2002;65(4):677-82.
157. Sahoo SK, Little CL, Ward L, Gillespie IA, Mitchell RT. Microbiological study of ready-to-eat salad vegetables from retail establishments uncovers a national outbreak of salmonellosis. *Journal of food protection* 2003;66(3):403-9.
158. Losio MN, Pavoni E, Bilei S, et al. Microbiological survey of raw and ready-to-eat leafy green vegetables marketed in Italy. *International journal of food microbiology* 2015;210:88-91.
159. Wijnands LM, Delfgou-van Asch EH, Beerepoot-Mensink ME, et al. Prevalence and concentration of bacterial pathogens in raw produce and minimally processed packaged salads produced in and for the Netherlands. *Journal of food protection* 2014;77(3):388-94.
160. Park CE, Sanders GW. Occurrence of thermotolerant campylobacters in fresh vegetables sold at farmers' outdoor markets and supermarkets. *Can J Microbiol* 1992;38(4):313-6.



161. Bohaychuk VM, Bradbury RW, Dimock R, et al. A microbiological survey of selected Alberta-grown fresh produce from farmers' markets in Alberta, Canada. *Journal of food protection* 2009;72(2):415-20.
162. Ceuppens S, Johannessen GS, Allende A, et al. Risk Factors for Salmonella, Shiga Toxin-Producing Escherichia coli and Campylobacter Occurrence in Primary Production of Leafy Greens and Strawberries. *International journal of environmental research and public health* 2015;12(8):9809-31.
163. Holvoet K, Sampers I, Seynaeve M, Uyttendaele M. Relationships among hygiene indicators and enteric pathogens in irrigation water, soil and lettuce and the impact of climatic conditions on contamination in the lettuce primary production. *International journal of food microbiology* 2014;171:21-31.
164. Johannessen GS, Loncarevic S, Kruse H. Bacteriological analysis of fresh produce in Norway. *International journal of food microbiology* 2002;77(3):199-204.
165. Fredriksson-Ahomaa M, Lyhs U, Korte T, Korkeala H. Prevalence of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in food samples at retail level in Finland. *Archiv fuer Lebensmittelhygiene* 2001;52(3):66-8.
166. Nousiainen LL, Joutsen S, Lunden J, Hanninen ML, Fredriksson-Ahomaa M. Bacterial quality and safety of packaged fresh leafy vegetables at the retail level in Finland. *International journal of food microbiology* 2016;232:73-9.
167. Määttä J, Lehto M, Kuisma R, Kymäläinen HR, Mäki M. Microbiological quality of fresh-cut carrots and process waters. *Journal of food protection* 2013;76(7):1240-4.
168. Catteau M KC, Wauters G. *Yersinia enterocolitica* in raw vegetables. *Sci Aliments* 1985;5:103-6.
169. Cardamone C, Aleo A, Mammaia C, Oliveri G, Di Noto AM. Assessment of the microbiological quality of fresh produce on sale in Sicily, Italy: preliminary results. *Journal of biological research (Thessalonike, Greece)* 2015;22(1):3.
170. Nuorti JP, Niskanen T, Hallanvuo S, et al. A widespread outbreak of *Yersinia pseudotuberculosis* O:3 infection from iceberg lettuce. *The Journal of infectious diseases* 2004;189(5):766-74.
171. Jalava K, Hakkinen M, Valkonen M, et al. An outbreak of gastrointestinal illness and erythema nodosum from grated carrots contaminated with *Yersinia pseudotuberculosis*. *The Journal of infectious diseases* 2006;194(9):1209-16.
172. Kangas S, Takkinen J, Hakkinen M, et al. *Yersinia pseudotuberculosis* O:1 Traced to Raw Carrots, Finland. *Emerging Infectious Diseases* 2008;14(12):1959-61.
173. Rimhanen-Finne R, Niskanen T, Hallanvuo S, et al. *Yersinia pseudotuberculosis* causing a large outbreak associated with carrots in Finland, 2006. *Epidemiol Infect* 2009;137(3):342-7.
174. MacDonald E, Einoder-Moreno M, Borgen K, et al. National outbreak of *Yersinia enterocolitica* infections in military and civilian populations associated with consumption of mixed salad, Norway, 2014. *Euro Surveill* 2016;21(34).
175. MacDonald E, Heier BT, Nygard K, et al. *Yersinia enterocolitica* outbreak associated with ready-to-eat salad mix, Norway, 2011. *Emerg Infect Dis* 2012;18(9):1496-9.
176. Dowe MJJ, E. D.; Mori, J. G.; Bell, C. R. *Listeria monocytogenes* Survival in Soil and Incidence in Agricultural Soilst. *Journal of Food Protection* 1997;60(10).
177. Ivanek R, Grohn YT, Wiedmann M. *Listeria monocytogenes* in multiple habitats and host populations: review of available data for mathematical modeling. *Foodborne Pathog Dis* 2006;3(4):319-36.
178. Weller D, Wiedmann M, Strawn LK. Spatial and Temporal Factors Associated with an Increased Prevalence of *Listeria monocytogenes* in Spinach Fields in New York State. *Appl Environ Microbiol* 2015;81(17):6059-69.

179. Murphy S, Gaffney MT, Fanning S, Burgess CM. Potential for transfer of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* Senftenberg from contaminated food waste derived compost and anaerobic digestate liquid to lettuce plants. *Food Microbiol* 2016;59:7-13.
180. Kutter S, Hartmann A, Schmid M. Colonization of barley (*Hordeum vulgare*) with *Salmonella enterica* and *Listeria* spp. *FEMS Microbiol Ecol* 2006;56(2):262-71.
181. Hansen CH, Vogel BF, Gram L. Prevalence and survival of *Listeria monocytogenes* in Danish aquatic and fish-processing environments. *Journal of food protection* 2006;69(9):2113-22.
182. Strawn LK, Fortes ED, Bihn EA, et al. Landscape and meteorological factors affecting prevalence of three food-borne pathogens in fruit and vegetable farms. *Appl Environ Microbiol* 2013;79(2):588-600.
183. Wilks SA, Michels HT, Keevil CW. Survival of *Listeria monocytogenes* Scott A on metal surfaces: implications for cross-contamination. *International journal of food microbiology* 2006;111(2):93-8.
184. Hofmann A, Fischer D, Hartmann A, Schmid M. Colonization of plants by human pathogenic bacteria in the course of organic vegetable production. *Frontiers in microbiology* 2014;5:191.
185. Oliveira M, Usall J, Solsona C, Alegre I, Vinas I, Abadias M. Effects of packaging type and storage temperature on the growth of foodborne pathogens on shredded 'Romaine' lettuce. *Food Microbiol* 2010;27(3):375-80.
186. Pezzuto A, Belluco S, Losasso C, et al. Effectiveness of Washing Procedures in Reducing *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* on a Raw Leafy Green Vegetable (*Eruca vesicaria*). *Frontiers in microbiology* 2016;7:1663.
187. Nastou A, Rhoades J, Smirniotis P, Makri I, Kontominas M, Likotrafiti E. Efficacy of household washing treatments for the control of *Listeria monocytogenes* on salad vegetables. *International journal of food microbiology* 2012;159(3):247-53.
188. Korir RC, Parveen S, Hashem F, Bowers J. Microbiological quality of fresh produce obtained from retail stores on the Eastern Shore of Maryland, United States of America. *Food Microbiol* 2016;56:29-34.
189. Hadjlouka A, Mantzourani KS, Katsarou A, et al. Estimation of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 prevalence and levels in naturally contaminated rocket and cucumber samples by deterministic and stochastic approaches. *Journal of food protection* 2015;78(2):311-22.
190. Sospedra I, Rubert J, Soriano JM, Mañes J. Survey of microbial quality of plant-based foods served in restaurants. *Food Control* 2013;30(2):418-22.
191. Kovacevic M, Burazin J, Pavlovic H, Kopjar M, Pilizota V. Prevalence and level of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* sp. in ready-to-eat minimally processed and refrigerated vegetables. *World journal of microbiology & biotechnology* 2013;29(4):707-12.
192. Johnston LM, Jaykus LA, Moll D, et al. A field study of the microbiological quality of fresh produce. *Journal of food protection* 2005;68(9):1840-7.
193. Food Safety Authority of Ireland. Survey of the microbiological safety of ready-to-eat, pre-cut and pre-packaged fresh herbs and salad leaves from retail establishments in Ireland (13NS7). available online: <https://www.fsai.ie/content.aspx?id=12706> 2015:23.
194. Vitullo M, Ripabelli G, Fanelli I, Tamburro M, Delfino S, Sammarco ML. Microbiological and toxicological quality of dried herbs. *Letters in applied microbiology* 2011;52(6):573-80.
195. de Carvalho RJ, de Souza GT, Honorio VG, et al. Comparative inhibitory effects of *Thymus vulgaris* L. essential oil against *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* and mesophilic starter co-culture in cheese-mimicking models. *Food Microbiol* 2015;52:59-65.

196. Lopez P, Sanchez C, Batlle R, Nerin C. Solid- and vapor-phase antimicrobial activities of six essential oils: susceptibility of selected foodborne bacterial and fungal strains. *Journal of agricultural and food chemistry* 2005;53(17):6939-46.
197. Reyes-Jurado F, Lopez-Malo A, Palou E. Antimicrobial Activity of Individual and Combined Essential Oils against Foodborne Pathogenic Bacteria. *Journal of food protection* 2016;79(2):309-15.
198. Silva N, Alves S, Goncalves A, Amaral JS, Poeta P. Antimicrobial activity of essential oils from Mediterranean aromatic plants against several foodborne and spoilage bacteria. *Food Sci Technol Int* 2013;19(6):503-10.
199. Hong YH, Lim GO, Song KB. Physical properties of Gelidium corneum-gelatin blend films containing grapefruit seed extract or green tea extract and its application in the packaging of pork loins. *J Food Sci* 2009;74(1):C6-c10.
200. Lee SY, Gwon SY, Kim SJ, Moon BK. Inhibitory effect of commercial green tea and rosemary leaf powders on the growth of foodborne pathogens in laboratory media and oriental-style rice cakes. *Journal of food protection* 2009;72(5):1107-11.
201. Koseki S, Itoh K. Prediction of microbial growth in fresh-cut vegetables treated with acidic electrolyzed water during storage under various temperature conditions. *Journal of food protection* 2001;64(12):1935-42.
202. Rosenquist H, Smidt L, Andersen SR, Jensen GB, Wilcks A. Occurrence and significance of *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* in ready-to-eat food. *FEMS Microbiol Lett* 2005;250(1):129-36.
203. Altayar M, Sutherland AD. *Bacillus cereus* is common in the environment but emetic toxin producing isolates are rare. *J Appl Microbiol* 2006;100(1):7-14.
204. Flores-Urban KA, Natividad-Bonifacio I, Vazquez-Quinones CR, Vazquez-Salinas C, Quinones-Ramirez EI. Detection of Toxigenic *Bacillus cereus* Strains Isolated from Vegetables in Mexico City. *Journal of Food Protection* 2014;77(12):2144-7.
205. Tango CN, Choi NJ, Chung MS, Oh DH. Bacteriological quality of vegetables from organic and conventional production in different areas of Korea. *Journal of food protection* 2014;77(8):1411-7.
206. Carlin F, Guinebretiere MH, Choma C, Pasqualini R, Braconnier A, Nguyen-the C. Spore-forming bacteria in commercial cooked, pasteurised and chilled vegetable purees. *Food Microbiology* 2000;17(2):153-65.
207. Santos MI, Cavaco A, Gouveia J, et al. Evaluation of minimally processed salads commercialized in Portugal. *Food Control* 2012;23(1):275-81.
208. Bae YM, Kim BR, Lee SY, et al. Growth and predictive model of *Bacillus cereus* on blanched spinach with or without seasoning at various temperatures. *Food Sci Biotechnol* 2012;21(2):503-8.
209. Powers EM, Latt TG, Brown T. INCIDENCE AND LEVELS OF *BACILLUS-CEREUS* IN PROCESSED SPICES. *Journal of Milk and Food Technology* 1976;39(10):668-70.
210. Frentzel H, Kraushaar B, Krause G, et al. Phylogenetic and toxinogenic characteristics of *Bacillus cereus* group members isolated from spices and herbs. *Food Control*.
211. Pafumi J. ASSESSMENT OF THE MICROBIOLOGICAL QUALITY OF SPICES AND HERBS. *Journal of Food Protection* 1986;49(12):958-63.
212. Sagoo SK, Little CL, Greenwood M, et al. Assessment of the microbiological safety of dried spices and herbs from production and retail premises in the United Kingdom. *Food Microbiology* 2009;26(1):39-43.
213. Baxter R, Holzapfel WH. A microbial investigation of selected spices, herbs, and additives in South-Africa. *Journal of Food Science* 1982;47(2):570-&.
214. Martins HM, Martins ML, Dias MI, Bernardo F. Evaluation of microbiological quality of medicinal plants used in natural infusions. *International journal of food microbiology* 2001;68(1-2):149-53.

215. Zhou GP, Yan JP, Zheng DS, Zhou XH, Yuan ZM. The residual occurrences of *Bacillus thuringiensis* biopesticides in food and beverages. *International journal of food microbiology* 2008;127(1-2):68-72.
216. Messelhauser U, Frenzel E, Blochinger C, Zucker R, Kampf P, Ehling-Schulz A. Emetic *Bacillus cereus* Are More Volatile Than Thought: Recent Foodborne Outbreaks and Prevalence Studies in Bavaria (2007-2013). *Biomed Research International* 2014.
217. Austin JW, Dodds KL, Blanchfield B, Farber JM. Growth and toxin production by *Clostridium botulinum* on inoculated fresh-cut packaged vegetables. *Journal of food protection* 1998;61(3):324-8.
218. Lilly T, Solomon HM, Rhodehamel EJ. Incidence of *Clostridium botulinum* in Vegetables Packaged under Vacuum or Modified Atmosphere. *Journal of Food Protection* 1996;59(1):59-61.
219. Bianco MI, Luquez C, de Jong LI, Fernandez RA. Presence of *Clostridium botulinum* spores in *Matricaria chamomilla* (chamomile) and its relationship with infant botulism. *International journal of food microbiology* 2008;121(3):357-60.
220. Bianco MI, Luquez C, De Jong LI, Fernandez RA. Linden flower (*Tilia* spp.) as potential vehicle of *Clostridium botulinum* spores in the transmission of infant botulism. *Revista Argentina de microbiologia* 2009;41(4):232-6.
221. Eisgruber H, Reuter G. [Anaerobic spore formers in commercial spices and ingredients for infant food]. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung* 1987;185(4):281-7.
222. Rodriguez-Romo LA, Heredia NL, Labbe RG, Garcia-Alvarado JS. Detection of enterotoxigenic *Clostridium perfringens* in spices used in Mexico by dot blotting using a DNA probe. *Journal of food protection* 1998;61(2):201-4.
223. Aguilera MO, Stagnitta PV, Micalizzi B, de Guzman AM. Prevalence and characterization of *Clostridium perfringens* from spices in Argentina. *Anaerobe* 2005;11(6):327-34.
224. Meldrum RJ, Ribeiro CD, Smith RM, et al. Microbiological quality of ready-to-eat foods: results from a long-term surveillance program (1995 through 2003). *Journal of food protection* 2005;68(8):1654-8.
225. Meldrum RJ, Little CL, Sagoo S, Mithani V, McLauchlin J, de Pinna E. Assessment of the microbiological safety of salad vegetables and sauces from kebab take-away restaurants in the United Kingdom. *Food Microbiol* 2009;26(6):573-7.
226. Houang E, Bodnaruk P, Ahmet Z. Hospital green salads and the effects of washing them. *J Hosp Infect* 1991;17(2):125-31.
227. Faour-Klingbeil D, Murtada M, Kuri V, Todd ECD. Understanding the routes of contamination of ready-to-eat vegetables in the Middle East. *Food Control* 2016;62:125-33.
228. Sospedra I, Soriano JM, Manes J. Assessment of the microbiological safety of dried spices and herbs commercialized in Spain. *Plant Foods Hum Nutr* 2010;65(4):364-8.
229. Osimani A, Aquilanti L, Clementi F. Evaluation of HACCP system implementation on the quality of mixed fresh-cut salad prepared in a university canteen: a case study. *J Environ Health* 2015;77(6):78-84.
230. Viswanathan P, Kaur R. Prevalence and growth of pathogens on salad vegetables, fruits and sprouts. *International journal of hygiene and environmental health* 2001;203(3):205-13.
231. MRI. Nationale Verzehrsstudie II - Ergebnisbericht, Teil 1. Karlsruhe, Germany: Max Rubner-Institut, 2008.
232. MRI. Nationale Verzehrsstudie II - Ergebnisbericht, Teil 2. Karlsruhe, Germany: Max Rubner-Institut, 2008.
233. Rissland J, Kielstein JT, Stark K, Wichmann-Schauer H, Stümpel F, Pulz M. Der EHEC O104:H4 Ausbruch 2011 in Deutschland – Lektion gelernt?! *Gesundheitswesen* 2013;75(04):184-9.

234. Koseki S, Itoh K. Effect of nitrogen gas packaging on the quality and microbial growth of fresh-cut vegetables under low temperatures. *Journal of Food Protection* 2002;65(2):326-32.
235. Dikici A, Koluman A, Calicioglu M. Comparison of effects of mild heat combined with lactic acid on Shiga toxin producing *Escherichia coli* O157:H7, O103, O111, O145 and O26 inoculated to spinach and soybean sprout. *Food Control* 2015;50:184-9.
236. Usaga J, Churey JJ, Padilla-Zakour OI, Worobo RW. Determination of the validation frequency for commercial UV juice processing units. *Journal of food protection* 2014;77(12):2076-80.
237. Usaga J, Worobo RW, Padilla-Zakour OI. Effect of acid adaptation and acid shock on thermal tolerance and survival of *Escherichia coli* O157:H7 and O111 in apple juice. *Journal of food protection* 2014;77(10):1656-63.
238. Usaga J, Worobo RW, Padilla-Zakour OI. Thermal resistance parameters of acid-adapted and unadapted *Escherichia coli* O157:H7 in apple-carrot juice blends: effect of organic acids and pH. *Journal of food protection* 2014;77(4):567-73.
239. Doering HJ, Harrison MA, Morrow RA, Hurst WC, Kerr WL. Use of the systems approach to determine the fate of *Escherichia coli* O157:H7 on fresh lettuce and spinach. *Journal of food protection* 2009;72(7):1560-8.
240. Keskinen LA, Annous BA. Efficacy of adding detergents to sanitizer solutions for inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 on Romaine lettuce. *International journal of food microbiology* 2011;147(3):157-61.
241. Kim NH, Lee NY, Kim SH, et al. Optimization of low-temperature blanching combined with calcium treatment to inactivate *Escherichia coli* O157:H7 on fresh-cut spinach. *J Appl Microbiol* 2015;119(1):139-48.
242. Alvarez MV, Ponce AG, Mazzucotelli CA, Moreira MR. The impact of biopreservatives and storage temperature in the quality and safety of minimally processed mixed vegetables for soup. *J Sci Food Agric* 2015;95(5):962-71.
243. Ziuzina D, Han L, Cullen PJ, Bourke P. Cold plasma inactivation of internalised bacteria and biofilms for *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli*. *International journal of food microbiology* 2015;210:53-61.
244. Yaun BR, Sumner SS, Eifert JD, Marcy JE. Inhibition of pathogens on fresh produce by ultraviolet energy. *International journal of food microbiology* 2004;90(1):1-8.
245. Selma MV, Beltran D, Allende A, Chacon-Vera E, Gil MI. Elimination by ozone of *Shigella sonnei* in shredded lettuce and water. *Food Microbiol* 2007;24:492-9.
246. Hägele F, Nübling S, Schweiggert RM, et al. Quality Improvement of Fresh-Cut Endive (*Cichorium endivia* L.) and Recycling of Washing Water by Low-Dose UV-C Irradiation. *Food and Bioprocess Technology* 2016;9(12):1979-90.
247. Nübling S, Hägele F, Wohlt D, et al. Effects of Quillaja saponaria extract and N $\alpha$ -lauroyl-L-arginine ethyl ester on reducing selected foodborne pathogens in vitro and maintaining quality of fresh-cut endive (*Cichorium endivia* L.) at pilot plant scale. *Food Control* 2017;73, Part B:393-400.
248. Schweiggert U, Carle R, Schieber A. Conventional and alternative processes for spice production - a review. *Trends in food science & technology* 2007;18(5):260-8.
249. Waje CK, Kim HK, Kim KS, Todoriki S, Kwon JH. Physicochemical and microbiological qualities of steamed and irradiated ground black pepper (*Piper nigrum* L.). *Journal of agricultural and food chemistry* 2008;56(12):4592-6.
250. Brodowska A, Śmigielski K, Nowak A. Comparison of methods of herbs and spices decontamination. *CHEMIK* 2014;68(2):97-102.
251. Eliasson L, Libander P, Lovenklev M, Isaksson S, Ahrne L. Infrared Decontamination of Oregano: Effects on *Bacillus cereus* Spores, Water Activity, Color, and Volatile Compounds. *Journal of Food Science* 2014;79(12):E2447-E55.

252. Erdogdu SB, Ekiz HI. Effect of Ultraviolet and Far Infrared Radiation on Microbial Decontamination and Quality of Cumin Seeds. Journal of Food Science 2011;76(5):M284-M92.

### **Über das BfR**

Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) ist eine wissenschaftlich unabhängige Einrichtung im Geschäftsbereich des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL). Es berät die Bundesregierung und die Bundesländer zu Fragen der Lebensmittel-, Chemikalien- und Produktsicherheit. Das BfR betreibt eigene Forschung zu Themen, die in engem Zusammenhang mit seinen Bewertungsaufgaben stehen.