

<https://doi.org/10.17590/20220727-111138>

Aufbereitete Abwässer: Protozoen auf pflanzlichen Lebensmitteln vermeiden

Abschätzung des Risikos einer Übertragung von *Cryptosporidium* spp., *Giardia duodenalis* und *Toxoplasma gondii* auf den Menschen

Stellungnahme Nr. 021/2022 des BfR vom 27. Juli 2022

Klimatische Veränderungen erhöhen den Druck auf die Wasserressourcen in Deutschland und Europa. Um dem zu begegnen, wurden auf europäischer Ebene einheitliche Mindestanforderungen an die Nutzung von aufbereitetem Abwasser zur landwirtschaftlichen Bewässerung festgelegt. Sie sollen die Gesundheit von Mensch und Tier sowie den Schutz der Umwelt bei der Wasserwiederverwendung sicherstellen. Für die Aufbereitung der kommunalen Abwässer stehen unterschiedliche Methoden der Abwasserbehandlung zur Verfügung.



Neben krankmachenden Bakterien und Viren können auch Protozoen in aufbereitetem Abwasser vorhanden sein. Protozoen sind einzellige Parasiten, die beim Menschen zu Erkrankungen führen können. Vor diesem Hintergrund hat das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) wissenschaftliche Literatur zum gesundheitlichen Risiko der Nutzung von aufbereitetem Abwasser für die Bewässerung von Pflanzen, die als Lebensmittel genutzt werden, mit Blick auf ausgewählte Protozoen ausgewertet.

Folgende Protozoen wurden betrachtet: *Cryptosporidium* spp., *Giardia (G.) duodenalis* und *Toxoplasma (T.) gondii*. Infektionen mit Kryptosporidien und Giardien können ohne Symptome bzw. mild verlaufen, aber auch Magen-Darm-Erkrankungen auslösen. Neben Durchfall treten unter anderem Bauchschmerzen oder Krämpfe, Übelkeit und Erbrechen auf. Abhängig von Alter und Vorerkrankungen kann die Ausprägung der Symptome variieren, mitunter sind auch schwere Verläufe möglich. Infektionen mit Toxoplasmen verlaufen bei einem überwiegenden Teil der Menschen mit einem intakten Immunsystem symptomfrei. Bei Betroffenen von HIV/AIDS, Transplantationen und Chemotherapien kann es jedoch zu Entzündungen des Gehirns und der Lunge kommen, die mitunter tödlich verlaufen. Kommt es im Verlauf einer Schwangerschaft zu einer Erstinfektion mit Toxoplasmen, kann dies zu schweren Missbildungen des Ungeborenen und Fehlgeburten führen.

Die Datenlage zu Infektionen mit *Cryptosporidium* spp., *G. duodenalis* und *T. gondii*, die auf den Verzehr pflanzlicher Lebensmittel zurückzuführen sind, ist derzeit sehr begrenzt. Eine abschließende Risikocharakterisierung zur Nutzung von aufbereitetem Abwasser für die Bewässerung von Pflanzen, die für den Verzehr vorgesehen sind, mit Blick auf die genannten Protozoen ist daher nur eingeschränkt möglich. Die vorliegenden Daten zeigen jedoch, dass die Erreger gegenüber gängigen Mitteln und Verfahren zur Dekontamination, wie sie auch bei der Behandlung von Abwasser eingesetzt werden, stabil sind. Das deutet darauf hin, dass sie in aufbereitetem Abwasser vorkommen und über die Bewässerung auf Pflanzen gelangen können. Dort weisen sie eine hohe Umweltstabilität auf. Es ist davon auszugehen, dass die beschriebenen Protozoen auf pflanzlichen Lebensmitteln über einen längeren Zeitraum infektiös sind und nach deren Rohverzehr Erkrankungen auslösen können. Hierfür reichen bereits geringe Infektionsdosen aus. Dem gegenüber werden von infizierten Personen sehr große Mengen an *Cryptosporidium* spp. und *G. duodenalis* mit dem Stuhl ausgeschieden, was wiederum die Möglichkeit einer Abwasserbelastung nahelegt. *T. gondii* kann über Katzenkot in der

Umwelt, die Entsorgung über die Toilette oder durch die Reinigung von Gegenständen und pflanzlichen Lebensmitteln ins kommunale Abwasser gelangen.

Auch wenn die gegenwärtige Datenlage noch begrenzt ist, empfiehlt das BfR im Sinne des gesundheitlichen Verbraucherschutzes für Pflanzen, die üblicherweise roh verzehrt werden, nur Bewässerungswasser mit einer mit Trinkwasser vergleichbaren Qualität zu verwenden. In diesem Fall ist davon auszugehen, dass die krankheitserregenden Protozoen darin bestmöglich reduziert wurden. Die beschriebenen Protozoen reagieren sensibel auf Hitze. Daher sind bei Pflanzen, die nicht roh verzehrt werden, gesundheitliche Beeinträchtigungen durch die Bewässerung mit aufbereitetem Abwasser nicht zu erwarten, solange sie vor dem Verzehr ausreichend erhitzt werden.

 BfR-Risikoprofil: Infektion mit <i>Cryptosporidium spp.</i>, <i>Giardia duodenalis</i> und <i>Toxoplasma gondii</i> nach Verzehr von rohem Obst und Gemüse, das mit aufbereitetem Abwasser bewässert wurde (Stellungnahme 021/2022)					
A Betroffen sind	Allgemeinbevölkerung, Schwangere, Immungeschwächte, chronisch Kranke, kleine Kinder 				
B Wahrscheinlichkeit einer gesundheitlichen Beeinträchtigung bei Verzehr von rohem Obst und Gemüse, das mit aufbereitetem Abwasser bewässert wurde	Praktisch ausgeschlossen Unwahrscheinlich Möglich Wahrscheinlich Gesichert				
C Schwere der gesundheitlichen Beeinträchtigung bei Verzehr von rohem Obst und Gemüse, das mit aufbereitetem Abwasser bewässert wurde	<table border="1"> <tr> <td>Keine Beeinträchtigung (nur Allgemeinbevölkerung)</td> <td>Leichte Beeinträchtigung [reversibel] (nur Allgemeinbevölkerung)</td> <td>Mittelschwere Beeinträchtigung [reversibel] (nur Schwangere, Immungeschwächte, chronisch Kranke, kleine Kinder)</td> <td>Schwere Beeinträchtigung [irreversibel] (nur Schwangere, Immungeschwächte, chronisch Kranke, kleine Kinder)</td> </tr> </table>	Keine Beeinträchtigung (nur Allgemeinbevölkerung)	Leichte Beeinträchtigung [reversibel] (nur Allgemeinbevölkerung)	Mittelschwere Beeinträchtigung [reversibel] (nur Schwangere, Immungeschwächte, chronisch Kranke, kleine Kinder)	Schwere Beeinträchtigung [irreversibel] (nur Schwangere, Immungeschwächte, chronisch Kranke, kleine Kinder)
Keine Beeinträchtigung (nur Allgemeinbevölkerung)	Leichte Beeinträchtigung [reversibel] (nur Allgemeinbevölkerung)	Mittelschwere Beeinträchtigung [reversibel] (nur Schwangere, Immungeschwächte, chronisch Kranke, kleine Kinder)	Schwere Beeinträchtigung [irreversibel] (nur Schwangere, Immungeschwächte, chronisch Kranke, kleine Kinder)		
D Aussagekraft der vorliegenden Daten	<table border="1"> <tr> <td>Hoch: Die wichtigsten Daten liegen vor und sind widerspruchsfrei</td> <td>Mittel: Einige wichtige Daten fehlen oder sind widersprüchlich</td> <td>Gering: Zahlreiche wichtige Daten fehlen oder sind widersprüchlich</td> </tr> </table>	Hoch: Die wichtigsten Daten liegen vor und sind widerspruchsfrei	Mittel: Einige wichtige Daten fehlen oder sind widersprüchlich	Gering: Zahlreiche wichtige Daten fehlen oder sind widersprüchlich	
Hoch: Die wichtigsten Daten liegen vor und sind widerspruchsfrei	Mittel: Einige wichtige Daten fehlen oder sind widersprüchlich	Gering: Zahlreiche wichtige Daten fehlen oder sind widersprüchlich			
E Kontrollierbarkeit durch Verbraucher	Kontrolle nicht notwendig Kontrollierbar durch Vorsichtsmaßnahmen Kontrollierbar durch Verzicht Nicht kontrollierbar				

Erläuterungen

Das Risikoprofil soll das in der BfR-Stellungnahme beschriebene Risiko visualisieren. Es ist nicht dazu gedacht, Risikovergleiche anzustellen. Das Risikoprofil sollte nur im Zusammenhang mit der Stellungnahme gelesen werden.

[1] Zeile B – Wahrscheinlichkeit einer gesundheitlichen Beeinträchtigung

Die Wahrscheinlichkeit einer gesundheitlichen Beeinträchtigung wird unter anderem beeinflusst von der Menge der im Bewässerungswasser vorkommenden Krankheitserreger, der Art der bewässerten Pflanzen und von der Bewässerungstechnik. Das BfR erwartet einen Anstieg dieser Wahrscheinlichkeit, wenn in Deutschland Pflanzen, deren bodennah oder im Boden wachsende Teile für den Rohverzehr vorgesehen sind, mit aufbereitetem Abwasser bewässert werden.

[2] Zeile C – Schwere der gesundheitlichen Beeinträchtigung

Die Schwere der Beeinträchtigung kann abhängig vom Immunstatus, Alter und Vorerkrankungen variieren. Mit Blick auf Kryptosporidien sind Personen mit stark geschwächtem Immunsystem, vor allem HIV-Infizierte, sowie Krebs- und Transplantationspatientinnen und -patienten besonders gefährdet. Bei diesen Risikogruppen kann es auch zu Komplikationen bis hin zum Tod kommen. Mit Blick auf Giardien sind die Symptome bei kleinen Kindern und immungeschwächten Personen meist länger anhaltend und können einen schwerwiegenderen Verlauf aufweisen, wobei auch schwere chronische Verläufe möglich sind. Todesfälle sind selten, können aber bei Säuglingen und älteren Menschen auftreten. Mit Blick auf Toxoplasmen kann es bei Immunsupprimierten (wie z. B. durch HIV/AIDS, Chemotherapie oder nach Transplantationen) zu schweren klinischen Manifestationen kommen, die mitunter tödlich verlaufen. Kommt es während der Schwangerschaft zu einer Erstinfektion mit Toxoplasmen, kann dies zu schweren Missbildungen des Ungeborenen bis hin zu Fehlgeburten führen.

[3] Zeile D – Aussagekraft der vorliegenden Daten

Eine unzureichende Datenlage und das Fehlen routinetechnischer Nachweismethoden für Protozoen in aufbereitetem Abwasser erschweren eine abschließende Risikobewertung der Nutzung von aufbereitetem Abwasser für die Bewässerung von Obst und Gemüse mit Blick auf humanpathogene Protozoen.

[4] Zeile E – Kontrollierbarkeit durch Verbraucher

Wegen der geringen Infektionsdosis haben Verbraucherinnen und Verbraucher bis auf das vollständige Durcherhitzen von Obst und Gemüse keine Möglichkeiten, das Risiko zu kontrollieren. Deshalb ist es umso wichtiger, dass im Bewässerungswasser von pflanzlichen Lebensmitteln, die roh verzehrt werden, keine humanpathogenen Protozoen enthalten sind.

BUNDESINSTITUT FÜR RISIKOBEWERTUNG (BfR)

1 Gegenstand der Bewertung

Die Verordnung (EU) 2020/741 über Mindestanforderungen für die Wasserwiederverwendung trat am 26. Juni 2020 in Kraft und wird am 26. Juni 2023 Gültigkeit erlangen. Zur landwirtschaftlichen Bewässerung mit aufbereitetem Abwasser existieren in Deutschland nur sehr wenige Erfahrungen. Eine sichere Anwendung von aufbereitetem Abwasser in der landwirtschaftlichen Bewässerung setzt unter anderem voraus, dass gesundheitliche Beeinträchtigungen der Verbraucherinnen und Verbraucher nicht zu erwarten sind. Daher hat das BfR das gesundheitliche Risiko der Verwendung aufbereitetes Abwassers zum Zwecke der Bewässerung von Pflanzen, die als Lebensmittel oder Futtermittel genutzt werden sollen, abgeschätzt. Der Fokus der vorliegenden Stellungnahme liegt auf krankmachenden Protozoen (humanpathogene Parasiten), die in Deutschland mit aufbereitetem Abwasser assoziiert sein können. Folgende Protozoen werden betrachtet: *Cryptosporidium* spp., *Giardia duodenalis* und *Toxoplasma gondii*. Dabei wird abgeschätzt und wo möglich bewertet, ob diese Erreger über aufbereitetes Abwasser in für die Verbraucherinnen und Verbraucher bedenklichen Konzentrationen auf die zu bewässernden Pflanzen gelangen können. Es wurde weiterhin geprüft, ob im Sinne des Verbraucherschutzes Einschränkungen für die Verwendung aufbereitetes Abwassers, zusätzliche Validierungsparameter für die Abwasseraufbereitung oder zusätzliche Kontrollen des aufbereitetes Abwassers im Hinblick auf Gefahren durch humanpathogene Protozoen erforderlich sind.

2 Ergebnis

Nach Auswertung der vorliegenden Daten, Berichte und Publikationen zum Vorkommen humanpathogener Protozoen in bedenklichen Konzentrationen in aufbereitetem Abwasser kommt das BfR zu dem Schluss, dass eine Risikobewertung für die Nutzung dieses Bewässerungswassers von Pflanzen aufgrund gegenwärtig fehlender Daten nicht abschließend möglich ist. Es besteht im Allgemeinen Forschungsbedarf zur Thematik. Ergebnisse und Handlungsempfehlungen beruhen auf bekannten Eigenschaften der Erreger und veröffentlichten Studien, die sich jedoch nicht konkret auf behandeltes oder aufbereitetes Abwasser beziehen

oder deren Aussagekraft aufgrund geringer Stichprobengrößen überprüft oder mindestens verifiziert werden muss.

Bei den hier betrachteten Erregern handelt es sich um stabile einzellige Parasiten, die in der Umwelt weit verbreitet sind und über verschiedene Wege auf Lebensmittel gelangen können. Dadurch kann die Unbedenklichkeit des verwendeten Bewässerungswassers lediglich einen Teil zur Risikominimierung beitragen. Die derzeit verfügbaren Daten zeigen jedoch, dass eine Kontamination von allen bekannten Bewässerungswässern möglich ist. Die Wahrscheinlichkeit des Vorkommens der betrachteten Protozoen in Abwasser ist durch den Entwicklungszyklus insbesondere von Kryptosporidien und Giardien und durch das natürliche Infektionsgeschehen dieser Erreger bei Menschen und Tieren als höher anzusehen. Daher ist die mögliche Belastung mit Protozoen im Abwasser im Vergleich zum Trinkwasser als höher einzuschätzen. Darüber hinaus deuten die beschriebenen Stabilitäten der hier betrachteten Protozoen gegenüber gängigen Dekontaminationsmitteln und Dekontaminationsverfahren, wie sie auch bei der Behandlung und Aufbereitung von Abwasser eingesetzt werden, darauf hin, dass humanpathogene Protozoen in aufbereitetem Abwasser vorkommen und die Erreger über die Bewässerung auf Pflanzen gelangen können. Sie zeichnen sich dann dort wieder durch eine hohe Umweltstabilität aus. Eine sehr hohe Beständigkeit weisen dabei Kryptosporidien auf. Sie eignen sich daher auch als Referenzpathogen für die Bewertung von aufbereitetem Abwasser in Bezug auf das Vorhandensein von humanpathogenen Protozoen und möglicherweise wegen ihrer Stabilität auch als prinzipielle Indikatoren für die mikrobielle Beschaffenheit. Allerdings müsste hierfür zunächst eine geeignete Methode entwickelt und standardisiert werden. Eine standardisierte Methode stellt die ISO 15553 „Water Quality – Isolation and Identification of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts from Water“ dar, die sich als Filtermethode jedoch nur für Wasser mit wenig vorhandenen Fest- bzw. Schwebeteilchen eignet (z. B. Trinkwasser, Wasser aus Schwimmbecken).

Darüber hinaus zeichnen sich die beschriebenen Protozoen durch geringe Infektionsdosen aus, die bis hin zu einer Oozyste bzw. Zyste beschrieben wurden. Außerdem kommt das BfR beim Vergleich der verschiedenen Bewässerungssysteme zu dem Schluss, dass eine Kontamination bei jeder der betrachteten Bewässerungsmethoden möglich ist.

Im Sinne des gesundheitlichen Verbraucherschutzes empfiehlt das BfR deshalb für Pflanzen, die für den Rohverzehr vorgesehen sind, nur Bewässerungswasser mit einer mit Trinkwasser vergleichbaren Qualität zu verwenden, weil davon auszugehen ist, dass die Konzentration humanpathogener Protozoen darin bestmöglich reduziert wurde. Die Leitlinie (Guidance) der World Health Organization (WHO) on Potable Reuse empfiehlt als Standardleistungsziel (Default Performance Target) für eine sichere Aufbereitung von Abwasser für die Nutzung als Trinkwasser eine Reduktion von 8,5 \log_{10} -Stufen enterischer Protozoen (*Cryptosporidium*) (WHO, 2017). Auch wenn dies kein direkter Richtwert für die konkrete Validierung von Abwasseraufbereitungsanlagen darstellt, weist diese Empfehlung der WHO dennoch darauf hin, dass sehr hohe Anforderungen nötig sind, um humanpathogene Protozoen im aufbereiteten Abwasser weitestgehend zu reduzieren.

Darüber hinaus besteht nicht nur ein Infektionsrisiko durch den Rohverzehr derartig bewässerter Produkte, sondern auch durch den Kontakt mit kontaminiertem aufbereitetem Abwasser über die Bewässerungsanlagen und mit verbleibendem aufbereitetem Abwasser auf Oberflächen, wie beispielsweise den Pflanzenteilen, und anschließender Tröpfchen- / Schmierinfektion.

Die bewerteten Protozoen zeichnen sich zudem durch einen hohen Wirtstropismus aus und sind auch in der Lage, leichte bis schwerwiegende Erkrankungen bei Nutztieren hervorzurufen.

Die beschriebenen Protozoen reagieren allerdings sensibel auf Hitze. Eine sichere Abtötung der Erreger ist bei Erhitzen des Lebensmittels auf eine Produkttemperatur von mindestens 70 °C für eine Dauer von 2 Minuten gewährleistet. Daraus folgt, dass bei Pflanzen, die nicht roh verzehrt werden, gesundheitliche Beeinträchtigungen durch die Bewässerung mit aufbereitetem Abwasser nicht zu erwarten sind, solange sichergestellt werden kann, dass eine ausreichende Erhitzung der Lebensmittel vor dem Verzehr erfolgt.

Bei der Bewässerung mit aufbereitetem Abwasser sind gesundheitliche Beeinträchtigungen mit Blick auf humanpathogene Protozoen auch dann nicht zu erwarten, wenn sichergestellt werden kann, dass die essbaren Teile einer Pflanze nicht mit dem Bewässerungswasser in Berührung kommen. Eine indirekte Übertragung von den hier betrachteten humanpathogenen Protozoen, beispielsweise über die Aufnahme über das Wurzelsystem bis hin zu den Früchten, ist wegen der Größe und der Lebenszyklen der Erreger nach dem derzeitigen Wissensstand auszuschließen.

3 Begründung

3.1 Risikobewertung

3.1.1 Mögliche Gefahrenquellen

3.1.1.1 *Cryptosporidium* spp.

Klassifizierung (Taxonomie)

Kryptosporidien sind eine Gattung einzelliger Parasiten, welche zu den Apicomplexa gehören. Bisher sind mehr als 40 verschiedene Spezies beschrieben, von denen mindestens 20 mit Humaninfektionen in Verbindung gebracht wurden. Von besonderer Bedeutung sind die Spezies *Cryptosporidium* (*C.*) *parvum* und *C. hominis*, welche für den größten Anteil der humanen Infektionen verantwortlich gemacht werden (O'Leary et al., 2021). In dieser Stellungnahme wird daher nur auf *C. hominis* und *C. parvum* eingegangen.

Widerstandsfähigkeit (Tenazität) in der Umwelt

Aufgrund ihrer stabilen Oozystenwand zeichnen sich Kryptosporidien durch eine große Widerstandsfähigkeit gegenüber vielen chemischen Desinfektionsmitteln, wie z. B. solchen auf Basis von Kaliumbichromat, Glutaraldehyden oder Peressigsäure, aus. Laut der bei der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft gelisteten Desinfektionsmittel werden einzellige Parasiten zuverlässig durch Mittel abgetötet, die als Basis Chlor-Kresole verwenden (DVG, 2021).

Studien belegen die monatelange Infektionsfähigkeit der Oozysten in der Umwelt. Das Überleben der Oozysten ist jedoch abhängig von zahlreichen Umweltfaktoren, die sowohl ihren Abbau als auch die Infektiosität beeinflussen (Hamilton et al., 2018).

Diagnostik

Die derzeit am besten standardisierte Methode ist die DIN EN ISO 18744 zum Nachweis von *Cryptosporidium* und *Giardia* auf Blattgemüse und Beeren. Dieses Verfahren ist allerdings teuer, arbeitsaufwendig und nicht für den Einsatz in Hochdurchsatzlaboren geeignet, weswegen die Methode sowohl in amtlichen als auch kommerziellen Laboratorien nur zögerlich implementiert wird.

Ferner sind eine Vielzahl verschiedener sensitiver Methoden zum Antigennachweis und zur Typisierung beschrieben, welche allerdings häufig nicht ausreichend validiert sind und auch nicht standardisiert wurden. All diesen Methoden ist gemein, dass sie die Infektiosität der gefundenen Oozysten nicht bestimmen können.

Eine weitere Problematik ist, dass die Konzentrationen von *Cryptosporidium*-Oozysten in Trinkwasser-, Oberflächenwasser- und Abwasserproben sehr niedrig sein können. Es müssen langwierige Verfahren durchgeführt werden, um die große Menge Wasserprobe (im Maßstab von 100 l) für die Konzentration der Protozoen zu verarbeiten (Connell et al., 2001).

Indikator zur Beurteilung des Vorhandenseins von Protozoen in Trinkwasser

Die Weltgesundheitsorganisation hat Kryptosporidien als einen Indikator für die Beurteilung der Trinkwasser-Qualität eingeordnet (WHO, 2008). Dies liegt daran, dass 1) die Oozysten eine ausgeprägte Beständigkeit gegen chemische Desinfektion (inklusive Chlor) und Umweltbedingungen aufweisen, 2) die Erreger ohne teure und langwierige Filtration aufgrund ihrer geringen Größe (4–6µm) nur schwer aus dem Trinkwasser zu entfernen sind, 3) sie eine geringe Infektionsdosis aufweisen (je nach Spezies 10–1000 Oozysten), 4) sie aufgrund ihrer weiten Verbreitung in Tierbeständen und deren hochgradiger Ausscheidung verbreitet in Gewässern vorkommen und 5) nach der Ausscheidung (Exkretion), ohne vorherige Reifung, infektiös sind (WHO, 2008).

3.1.1.2 *Giardia duodenalis*

Taxonomie

Die Erreger der Erkrankung Giardiasis gehören der Spezies *Giardia (G.) duodenalis* (Synonym: *G. lamblia*, *G. intestinalis*) an. Es handelt sich um begeißelte, einzellige Darmparasiten der Gattung *Giardia* innerhalb der Ordnung *Diplomonadina*.

Aufgrund morphologischer Unterschiede wird die Gattung *Giardia* derzeit in insgesamt acht Spezies eingeteilt (Ryan et al., 2019). Giardien sind weltweit verbreitet und weisen ein sehr breites Wirtsspektrum auf. Sie wurden sowohl beim Menschen als auch bei zahlreichen Haus- und Wildtieren nachgewiesen (Feng and Xiao, 2011a; Bechlars et al., 2014; Heyworth, 2016). Die einzige Spezies jedoch, die neben zahlreichen Säugetierarten auch den Menschen infizieren kann und somit Zoonoseerreger ist, ist die Spezies *G. duodenalis* (Feng and Xiao, 2011b). Diese Spezies wird aufgrund genotypischer Unterschiede in die Assemblagen A-H unterteilt, wobei hauptsächlich die Assemblagen A und B als humanpathogen gelten (Plutzer et al., 2010; Leung et al., 2019). Es gibt auch vereinzelte Berichte über humane Erkrankungen, die durch die Assemblagen C, D und F hervorgerufen wurden (Ryan et al., 2019).

Bei dem Erreger werden die beiden Stadien „Zysten“ und „Trophozoiten“ unterschieden. Zysten stellen die infektiöse Form des Erregers dar. Es handelt sich um unbewegliche, umweltresistente Stadien, die eine feste Wand besitzen, vier Kerne enthalten und eine ovale Form von 8-12 µm Länge aufweisen. Trophozoiten stellen die vegetative und zugleich krankheitsassoziierte Form des Parasiten dar. Sie besitzen vier Geißelpaare, zwei Zellkerne, eine sogenannte Haftscheibe und weisen eine birnenähnliche Form auf.

Tenazität in der Umwelt

Giardia-Zysten weisen eine sehr hohe Stabilität gegenüber Umwelteinflüssen auf (Utaaker et al., 2017). Studien haben gezeigt, dass Zysten in kühlen, feuchten Gebieten monatelang infektiös bleiben können (Feng and Xiao, 2011b).

Zysten sind unempfindlich gegenüber Desinfektionsmitteln in den Konzentrationen, die üblicherweise in Kläranlagen zur Verringerung der bakteriellen Kontamination verwendet werden (Caccio et al., 2003). Adeyemo et al. (2019) stellten fest, dass *Giardia*-Zysten auf Chlorierung und UV-Behandlung ansprechen, wobei *Giardia*-Zysten eine geringere Resistenz aufwiesen als *Cryptosporidium*-Oozysten (Adeyemo et al., 2019). Bei einer Chlorkonzentration von 2 ppm waren nach einer Einwirkdauer von 30 Minuten keine lebensfähigen Zysten mehr nachweisbar. Auch wurden bei einer 60-minütigen niedrig dosierten Behandlung mit UV-C-Strahlen (20,8 mJ/cm²) laut dieser Studie alle Zysten abgetötet.

Stabilität von Giardien im Wasser

Im Rahmen eines Projekts zur Flusshygiene, bei dem punktuelle Messungen und Analysen in deutschen Fließgewässern durchgeführt wurden, ließen sich bisher nur geringe Konzentrationen an *Giardia*-Zysten nachweisen, so dass Giardien hier nicht als dominante Krankheitserreger auftraten (UBA, 2020). Je nach Einzugsgebiet konnten aber auch höhere Konzentrationen an *Giardia*-Zysten nachgewiesen werden. Außerdem wurde belegt, dass Zysten im Sediment lange überleben und bei Aufwirbelung in die Wasserphase gelangen können.

Die Stabilität von Zysten im Wasser ist temperaturabhängig und bei kühleren Temperaturen erhöht. Studien, die in einem Review von Erickson und Ortega (2006) zusammengefasst wurden, zeigten, dass Zysten in Leitungswasser bei einer Temperatur von 0–4 °C über einen Zeitraum von 56 Tagen infektiös sein können, während bei Temperaturen von 20–28 °C die Zysten bis zu 14 Tage infektiös waren. Diese Temperaturabhängigkeit zeigt sich auch in Wasser aus Süßwasserseen. Hier wurden bei einer Wassertemperatur von 0–4 °C über 56 Tage und bei einer Temperatur von 17–20 °C über 28 Tage infektiöse Zysten nachgewiesen. In Flusswasser wurden überlebensfähige Zysten bei 0–4 °C sogar bis zu 84 Tage lang nachgewiesen, bei einer Wassertemperatur von 20–28 °C bis zu 28 Tage. In Meerwasser können *Giardia*-Zysten bei 4 °C mehr als 65 Tage überleben (Erickson and Ortega, 2006).

Stabilität von Giardien im Boden

In einem Review von Erickson und Ortega (2006) beschriebene Studien konnten zeigen, dass die Infektiosität von Zysten im Erdboden ebenfalls temperaturabhängig ist. So reduzierte sich nach 49 Tagen die Anzahl infektiöser Zysten bei einer Temperatur von 4 °C lediglich um 11 %, während bei einer Temperatur von 25 °C bereits nach sieben Tagen keine infektiösen Zysten mehr nachgewiesen werden konnten.

Stabilität von Giardien auf pflanzlichen Lebensmitteln

Obwohl verschiedene Studien das Überleben dieser Parasiten in Wasser und anderen Umweltmatrices untersucht haben, ist die Datenlage hinsichtlich der Stabilität von *Giardia*-Zysten auf Lebensmitteln derzeit sehr spärlich. Ob die Zysten, die sich auf den Lebensmitteln befinden, tatsächlich so lange infektiös bleiben, dass sie eine Erkrankung beim Menschen hervorrufen können, ist bislang noch nicht ausreichend untersucht worden (Buret et al., 2020).

In einer Studie von Utaaker *et al.* (2017) wurden die Parameter Temperatur und Luftfeuchtigkeit insbesondere in Bezug auf frische Lebensmittel, wie z. B. Salate und rohes Gemüse, als die kritischen Faktoren für das Überleben von *Giardia*-Zysten angesehen. Es wurde nachgewiesen, dass *Giardia*-Zysten auf Salaten in feuchtem und kühlem Milieu (Kühlschranktemperatur) sehr gut überleben können. Bei einer Lagerung der Salate in einem geschlossenen Behälter bei Zimmertemperatur hingegen starben fast 50 % der Zysten innerhalb der ersten 24 h ab. Bei Lagerung in einem offenen Behälter bei Zimmertemperatur in einem geschlossenen Raum waren nach 20 Stunden keine infektiösen *Giardia*-Zysten mehr nachweisbar. Daher kamen die Autoren der Studie zu dem Schluss, dass unter den allgemein üblichen Lagerbedingungen im Produktionsbetrieb, im Handel oder im Privathaushalt *Giardia*-Zysten auf Salaten wahrscheinlich nicht lange überleben können. Allerdings wurden in diese Studie abgepackte Produkte wie „ready-to-eat“-Salate, die z. B. in Deutschland im Handel kühl gelagert werden, nicht einbezogen. Wenn jedoch eine Kühlung erfolgt, so können *Giardia*-Zysten länger lebensfähig bleiben und bei Verzehr des kontaminierten Lebensmittels eine Gefahr für Verbraucherinnen und Verbraucher darstellen (Utaaker et al., 2017).

Diagnostik

Die DIN EN ISO 18744:2016 legt ein Verfahren fest, das für den Nachweis und die Auszählung von *Cryptosporidium*-Oozysten und *Giardia*-Zysten auf oder in Lebensmitteln anwendbar ist, allerdings erlaubt diese Methode nicht die Bestimmung der Lebensfähigkeit oder Infektiosität von möglicherweise vorhandenen *Cryptosporidium*-Oozysten und *Giardia*-Zysten. Des Weiteren ist diese arbeitsintensive Methode mit einem hohen Kostenaufwand verbunden und wird daher bislang nicht häufig eingesetzt. Zum Nachweis von *Giardia*-Zysten auf Lebensmitteln sind alternativ auch andere Methoden verfügbar. Bei den weltweit zahlreichen Studien zum Vorkommen von *G. duodenalis* in Frischeprodukten wurden verschiedene Elutionsverfahren und Nachweismethoden auf Grundlage von Immunfluoreszenz (Robertson and Gjerde, 2001; Amoros et al., 2010; Bechlars et al., 2014; Utaaker et al., 2017), Schnellfärbungen (z. B. Jodfärbung (Alemu et al., 2019)) und Molekularbiologie (Utaaker et al., 2017) angewandt.

3.1.1.3 *Toxoplasma gondii*

Taxonomie

Bei *Toxoplasma (T.) gondii* handelt es sich um einen einzelligen obligat intrazellulär lebenden Parasiten, der innerhalb des Stammes Apicomplexa in die Unterklasse der Kokzidien und die Familie der Sarcocystidae eingeordnet wird. *T. gondii* ist die einzige Art der Gattung *Toxoplasma*¹.

In Europa und Nordamerika zeigt sich eine klonale Populationsstruktur, und der überwiegende Teil der *T. gondii* Isolate kann drei Genotypen (Typ I, II, III) zugeordnet werden, die alle infektiös für den Menschen sind (Howe and Sibley, 1995). Die Mehrheit der Infektionen in Mensch und Tier in Europa wird dabei auf den Genotyp II und in geringerem Ausmaß auf Genotyp III zurückgeführt (Schlüter et al., 2014; Galal et al., 2019).

T. gondii-Oozysten weisen einen größeren Durchmesser als *Cryptosporidium*-Oozysten auf. Unsporulierte *T. gondii*-Oozysten haben eine kugelartige bis kugelförmige Form mit einer Größe von 10x12 µm, während sporulierte Oozysten eine kugelartige bis elipsenförmige Form mit einer Größe von 11x13 µm aufweisen (Dubey et al., 1998).

Tenazität in der Umwelt

Oozysten sporulieren in der Außenwelt nach wenigen Tagen und stellen eine hochresistente Dauerform dar, die Frost überstehen und im Erdboden bis zu 18 Monate lebensfähig und infektiös bleiben können (Frenkel et al., 1975). Untersuchungen zum Überleben bei unterschiedlichen Temperaturen zeigten, dass sporulierte Oozysten bei Lagerung bei -20 °C über mind. 28 Tage, bei 10–25°C über mind. 200 Tage, bei 0 °C über mind. 13 Monate und bei 4 °C sogar über mind. 54 Monate infektiös blieben. Sie wurden jedoch bei 60 °C innerhalb von einer Minute abgetötet (Dubey, 1998).

¹ <http://taxonomicon.taxonomy.nl/TaxonTree.aspx?id=1309&src=0>

Sporulierte Oozysten weisen darüber hinaus eine hohe Toleranz gegenüber starken Säuren, Detergenzien, Desinfektionsmitteln, Natriumhypochlorit, Chlor, Kaliumdichromat und Chloramin auf und werden durch gängige Behandlungs- und Aufbereitungsverfahren für Abwasser, wie z. B. Chlorierung, Ozonbehandlung und Behandlung mit UV-C-Strahlen, nicht zuverlässig abgetötet (Dumètre and Dardé, 2003; Wainwright et al., 2007a; Wainwright et al., 2007b; Dumetre et al., 2008; Jones and Dubey, 2010; Bahia-Oliveira et al., 2017; Shapiro et al., 2019).

Sporulierte Oozysten verblieben auch nach Einwirkzeiten von bis zu 12 min gegenüber 6 mg/L Ozon (Ct 69.96 mg x min/L) und bis zu 24 h gegenüber 100 mg/L Chlor oder 5,25 % Natriumhypochlorit noch infektiös (Wainwright et al., 2007b).

Eine Behandlung mit UV-C-Strahlen hat eine abtötende Wirkung gegenüber Oozysten, kann jedoch große Mengen an Oozysten nicht zuverlässig inaktivieren. In Untersuchungen von Wainwright *et al.* (2007) konnte eine abtötende Wirkung von 40 mJ/cm² gepulster und 45 mJ/cm² kontinuierlicher Behandlung mit UV-C-Strahlen nachgewiesen werden, jedoch verblieben vereinzelt Oozysten auch nach hohen Dosen von bis zu 755 mJ/cm² infektiös (Wainwright et al., 2007a). Ebenso konnte bei UV-C-Bestrahlung mit 40 mJ/cm² zwar eine Reduktion der Infektiosität über 4,5 log-Stufen, jedoch keine komplette Abtötung großer Oozystenzahlen erreicht werden (Dumetre et al., 2008). Ware *et al.* (2010) wiesen eine Reduzierung der Infektiosität um 1, 3 und 3,58 log-Stufen bei Behandlung mit UV-C-Strahlen mit jeweils 4 mJ/cm², 10 mJ/cm² und ≥ 15 mJ/cm² im Tierversuch nach; bei hohen Ausgangszahlen von >5000 Oozysten wurden dennoch einzelne Tiere infiziert (Ware et al., 2010).

Diagnostik

Zum Nachweis von *T. gondii*-Oozysten in Wasser, Erde oder pflanzlichen Lebensmitteln stehen keine standardisierten oder amtlichen Methoden zur Verfügung. Verschiedene Ansätze und Verfahren zum Nachweis in diesen Matrices sind in der Literatur beschrieben, jedoch nicht ausreichend validiert. Die wenigen Studien, in denen Validierungsexperimente durchgeführt wurden, sind aufgrund der Diversität der genutzten Techniken in den Einzelschritten nicht vergleichbar. Einen Überblick geben die Übersichtsartikel von Slana *et al.* (2021), Dumètre und Darde (2003), VanWormer *et al.* (2013) und Bahia-Oliveira (2017).

Grundsätzlich können die Konzentrationen an Oozysten in Erde und Wasser sehr gering ausfallen, daher kann durch Untersuchung größerer Probenvolumina die Wiederfindungsrate erhöht werden. Bei der Untersuchung von Wasser werden die Oozysten i.d.R. in einem ersten Schritt aufkonzentriert, wie z. B. durch Filtration (Kapsel-, Ultra-, Membranfiltration), Flokkulation, Flotation oder Zentrifugation (Shapiro et al., 2019). Beim Nachweis in Erde oder pflanzlichen Lebensmitteln werden die Oozysten in einem ersten Schritt zunächst mithilfe eines geeigneten Waschpuffers von der Probe abgelöst und im Anschluss aus dem Waschpuffer durch eine der oben genannten Methoden aufkonzentriert (Slana et al., 2021). Für eine immunomagnetische Separation, ähnlich der Nachweismethoden von Kryptosporidien und Giardien, stehen keine kommerziell erhältlichen monoklonalen Antikörper zur Verfügung. Die konzentrierte Probe kann mikroskopisch auf Anwesenheit von Oozysten untersucht werden, jedoch ist keine Unterscheidung zu morphologisch ähnlichen Parasiten (wie z. B. der Gattungen *Hammondia*, *Besnoitia* und *Neospora*) möglich. Zur eindeutigen Identifizierung stehen molekularbiologische

Methoden zur Verfügung (z. B. qPCR, nested PCR). Bei Verwendung einer molekularbiologischen Nachweismethode sollte eine interne Amplifikationskontrolle verwendet werden, da es durch Rückstände von Erde oder organischem Material häufig zu PCR-Inhibitionen kommen kann (Slana et al., 2021).

In der Literatur wurde zum Nachweis von *T. gondii* bisher häufig eine LAMP (loop-mediated isothermal amplification) verwendet. Hierbei handelt es sich um eine sehr sensitive Methode, die jedoch eine große Wahrscheinlichkeit für Kreuzkontaminationen (z. B. der Kontrollen oder zwischen den Proben) mit sich bringt. Zusätzlich kann hier im Falle positiver Reaktionen keine Sequenzierung der amplifizierten Produkte zur Bestätigung erfolgen, was zu einer geringeren Spezifität im Vergleich zu einer PCR oder qPCR führen kann.

Alternativ kann zum Nachweis und zur Beurteilung der Infektösität die aufkonzentrierte Probe im Bioassay (z. B. Katze, Maus, Schwein) untersucht werden, was jedoch sehr zeit-, arbeits- und kostenintensiv ist und aus ethischen Gründen vermieden werden sollte. Als Ausblick und Alternative zum Tierversuch könnten zum Nachweis infektiöser Oozysten ggf. Techniken wie Reverse-Transkriptions-qPCR, Lebendfärbung mit Propidiumiodid oder der Einsatz von Propidiummonoazid in Kombination mit qPCR verwendet werden (Travaillé et al., 2016; Kim et al., 2021).

Innerhalb des derzeit laufenden EJP-Projektes TOXOSOURCES² (H2020 One Health European Joint Programme) wurde eine Methode zum Nachweis von *T. gondii* in verzehrfertigen grünen Blattsalaten entwickelt und in zehn europäischen Ländern etabliert. Die zusätzlich in einem EU-weiten Ringversuch validierte Methode stellt eine erste Basis für die Entwicklung einer standardisierten Methode dar.

3.1.2 Gefahrencharakterisierung

3.1.2.1 *Cryptosporidium* spp.

Entwicklungszyklus / Übertragung auf den Menschen

Die Übertragung erfolgt über die Aufnahme von Oozysten, welche die infektiöse Form der Kryptosporidien darstellen. Diese enthalten vier Sporozysten, die sich durch den Einfluss von Pankreasenzymen, Gallensalzen und Temperatur im Dünndarm abspalten und an der Oberfläche der Mikrovilli der Darmepithelzellen haften (adhärieren). Nach dem Durchleben mehrerer Entwicklungsstadien kommt es zu einer sehr starken Vermehrung, wobei sowohl männliche Mikrogamonten als auch weibliche Makrogamonten entstehen. Anschließend kommt es zu einer Verschmelzung beider, was zu der Entstehung zweier verschiedener Arten Oozysten führt. Während die Dünnwandigen (ca. 20 %) nur von einer Membran umgeben sind, im Darm verbleiben und zur erneuten Infektion führen können, werden die Dickwandigen (ca. 80 %) mit

² <https://onehealthjep.eu/jrp-toxosources/>

dem Kot ausgeschieden. Ca. 5–21 Tage nach der oralen Aufnahme beginnt die Ausscheidung der dickwandigen Oozysten mit dem Stuhl/Kot, dabei können pro Ausscheidung bis zu 100 Mio. Oozysten ausgeschieden werden. Die Oozysten sind bei der Ausscheidung infektiös und ermöglichen somit eine direkte und sofortige fäkal-orale Übertragung. Neuere Erkenntnisse zeigen, dass Kryptosporidien keine ausschließlich obligat intrazellulären Parasiten sind, die sich nur innerhalb eines Wirtes vermehren, sondern auch extrazelluläre Stadien besitzen, deren Bedeutung für den Lebenszyklus allerdings noch nicht geklärt ist (RKI, 2004).

Kryptosporidien sind überall (ubiquitär) verbreitet und können, da sie nicht wirtsspezifisch vorkommen, eine Vielzahl verschiedener Tierarten infizieren. Während *C. hominis* fast ausschließlich beim Menschen vorkommt, gelten vor allem Rinder, Pferde, Ziegen und Schafe, aber auch Hunde, Katzen und Vögel als Wirte für *C. parvum* (Bouzid et al., 2013).

Es werden direkte und indirekte Übertragungswege von Kryptosporidium beschrieben. Die direkte Übertragung erfolgt über den fäkal-oralen Weg von infizierten Wirten, einschließlich Übertragungen von Tier zu Tier, Tier zu Mensch (zoonotisch), Mensch zu Tier (anthropozoonotisch) und Mensch zu Mensch (anthroponotisch) (Davies and Chalmers, 2009).

Die indirekte Übertragung erfolgt durch den Kontakt mit fäkal kontaminiertem Material und Gegenständen. Kryptosporidien sind eine der häufigsten Darmerkrankungen, die mit verunreinigtem Wasser in Verbindung gebracht werden, z. B. aus Schwimmbädern oder Wasserquellen, die vorher nicht oder nur unzureichend erhitzt oder filtriert wurden, wie z. B. Fluss-, See- oder Quellwasser. Weitere Gefahrenquellen resultieren aus der Bewässerung von Lebensmitteln wie Salaten, Gemüse und Früchten mit potenziell verunreinigtem Wasser. Diese werden häufig roh verzehrt, sodass Pathogene nicht abgetötet werden (RKI, 2004; Bouzid et al., 2013).

Beschreibung der Erkrankung beim Menschen

Die Infektionsdosis bei Kryptosporidien ist gering und liegt, je nach Spezies, zwischen 10 und 1000 Oozysten (RKI-Ratgeber, 2004). Obwohl die niedrigste Infektionsdosis für *C. hominis* mit 10 Oozysten berechnet wurde, wird davon ausgegangen, dass eine Oozyste ausreichen könnte, um eine Infektion beim Menschen auf direktem oder indirektem Weg zu verursachen (Hamilton et al., 2018).

Die Inkubationszeit liegt zwischen einem und 14 Tagen. Eine Infektion kann asymptomatisch oder symptomatisch ablaufen. Letzteres ist geprägt durch langanhaltenden wässrigen Durchfall, der zu Dehydrierung und starkem Gewichtsverlust führen kann. Weitere Symptome können starke Bauchschmerzen oder Krämpfe, Übelkeit, Erbrechen und Kopfschmerzen sein (Carter et al., 2020). Die Symptome dauern in der Regel ein bis zwei Wochen an, können jedoch bis zu vier Wochen fortbestehen (RKI, 2004).

Zu den Menschen mit erhöhtem Infektionsrisiko zählen vor allem Kleinkinder im Alter zwischen ein und zwei Jahren, Reisende in Entwicklungsländer und solche, die unbehandeltes Wasser

trinken. Besonders gefährdet sind Personen mit stark geschwächtem Immunsystem, vor allem HIV-Infizierte sowie Krebs- und Transplantationspatientinnen und -patienten. Zusätzlich ergibt sich eine gesteigerte Infektionsgefahr bei Menschen, die einen erhöhten Kontakt zu den beschriebenen Risikogruppen sowie infizierten Tieren haben. Bei immunkompetenten Personen ist die Infektion selbst-limitierend. Allerdings werden auch viele Wochen nach Rückgang der Symptome infektiöse Oozysten ausgeschieden. Bei den beschriebenen Risikogruppen kann es nach der Infektion auch zu Komplikationen bis hin zum Tod kommen. Vor allem bei AIDS-Patientinnen und -Patienten und möglicherweise bei Personen mit generell starker Immunsuppression können extraintestinale Manifestationen auftreten. Häufig erfolgt eine Beteiligung des Gallengangsystems, seltener kann eine Infektion auch zu Entzündungen der Bauchspeicheldrüse (Pankreatitis), des Blinddarmes (Appendizitis), der Ohren (Otitis) oder einem Befall der Lunge mit respiratorischen Symptomen führen (RKI, 2004; Bouzid et al., 2013).

Therapie

Eine wirksame Therapie der Kryptosporidiose ist zurzeit nicht verfügbar. Oftmals werden nur die Symptome, in Form einer Gabe von Flüssigkeit und Elektrolyten, behandelt. Bei AIDS-Patientinnen und -Patienten werden intensiviertere antivirale Therapien zur Stärkung des Immunsystems durchgeführt (RKI, 2004).

Geographische und saisonale Besonderheiten

Daten des ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control) zeigen, dass die Kryptosporidiose in Europa einen saisonalen Anstieg im späten Frühjahr und im Spätsommer bis Frühherbst aufweist (Caccio and Chalmers, 2016). In Studien wurden die Frühjahrsfälle häufiger auf *C. parvum* zurückgeführt. Sie sind wahrscheinlich das Ergebnis einer erhöhten Exposition gegenüber Oozysten, die von Jungtieren ausgeschieden werden, da dies mit der Kalbungs- und Lammsaison zusammenfällt (McLauchlin et al., 2000). Andererseits wurde der Spätsommer-Frühherbst-Peak hauptsächlich auf *C. hominis* zurückgeführt und ist wahrscheinlich mit einer erhöhten Reisetätigkeit und der Exposition in Freizeitgewässern verbunden (Davies and Chalmers, 2009).

Betrachtet man die jährliche Verteilung der gemeldeten Krankheitsfälle in Deutschland, dann sind auch hier ausgeprägte saisonale Schwankungen erkennbar, mit einem Maximum an Fällen in der zweiten Jahreshälfte (Ende Juli bis Mitte November) (RKI, 2004).

Vorkommen in Europa und Deutschland

In den EU/EEA Ländern werden jährlich 8000–14000 Fälle gemeldet, die Inzidenz der verschiedenen Länder variiert zwischen 0,01 und 12 Fällen/100.000 Einwohnerinnen und Einwohner (ECDC, 2019).

In Deutschland besteht seit der Einführung des Infektionsschutzgesetzes (2001) eine Meldepflicht über den direkten oder indirekten Nachweis von Kryptosporidien, sobald er auf eine

akute Infektion hinweist. Aktuelle Meldezahlen sind über SurvStat@RKI³ zugänglich. Allein in Deutschland werden laut Robert Koch-Institut (RKI) jährlich zwischen ca. 900 und 2.000 Fällen gemeldet (Inzidenz ca. 2 Fälle/ 100.000 Einwohnerinnen und Einwohner). Doch die Zahl der unentdeckt gebliebenen Erkrankungen ist vermutlich weitaus höher, da nur bei einem konkreten Verdacht auf Kryptosporidiose eine labordiagnostische Untersuchung eingeleitet wird und keine harmonisierten Methoden zur Detektion zur Verfügung stehen. Caccio und Chalmers (2016) gehen in Deutschland von einer hundertfach höheren jährlichen Inzidenz aus.

2013 wurde ein größerer Ausbruch in Halle gemeldet (167 bestätigte Fälle), der auf eine Verschmutzung eines Überschwemmungsgebiets nach einem Starkregenereignis zurückgeführt wurde (Gertler et al., 2015).

Ausbrüche verursacht durch den Verzehr von Wasser oder pflanzlicher Lebensmittel

Kryptosporidien und andere Protozoen können bei der Zubereitung, der Verarbeitung, aber auch schon auf dem Feld durch infizierte Tiere oder Überschwemmungsereignisse auf das Lebensmittel gelangen. Immer wieder werden Krankheitsausbrüche registriert; für eine ausführliche Darstellung verweisen wir auf Caccio und Chalmers (2016). In Tabelle 1 sind ausgewählte Ausbrüche in Europa, ausschließlich verursacht durch den Verzehr von pflanzlichen Lebensmitteln oder Wasser, dargestellt.

Tabelle 1: Beispiele für Kryptosporidien-Ausbrüche über pflanzliche Lebensmittel und Trinkwasser

Land	Jahr	Ausbruchsursache	Spezies	Angenommene Fallzahl	Referenz
Finnland	2012	Frisée Salat	<i>C. parvum</i>	>250	Åberg et al., 2016
England und Schottland	2012	Fertige Salatmischung	<i>C. parvum</i>	k.A.	McKerr et al., 2015
Schweden	2011	Trinkwasser	<i>C. hominis</i>	~20.000	Rehn et al., 2015
Schweden	2010	Trinkwasser	<i>C. hominis</i>	~27.000	Rehn et al., 2015
England	2008	Trinkwasser	<i>C. cuniculus</i>	422	Puleston et al., 2014

k. A. = keine Angabe

3.1.2.2 *Giardia duodenalis*

Entwicklungszyklus / Übertragung auf den Menschen

Giardien haben einen direkten Lebenszyklus. Die Infektion des Wirtes findet über die orale Aufnahme von Zysten durch kontaminiertes Wasser, durch direkten fäkal-oralen Kontakt oder

³ www.rki.de/survstat

seltener mit der Nahrung statt. Nach Kontakt mit dem sauren Milieu des Magens exzystieren die Zysten im proximalen Dünndarmbereich. Hierbei werden aus jeder Zyste zwei bewegliche, vegetative Wachstumsformen, die Trophozoiten, freigesetzt. Die Trophozoiten vermehren sich nach der Freisetzung auf ungeschlechtliche Weise durch binäre Längsteilung und heften sich an die Enterozyten des Dünndarms. Sie dringen jedoch nicht in das Darmepithel ein. In Gegenwart von Gallenflüssigkeit in Verbindung mit einem alkalischen Milieu im Jejunum (Leerdarm) erfolgt die sogenannte Enzystierung; d.h., dass einige Trophozoiten wieder zu Zysten umgebildet werden (Adam, 2001). Sowohl Zysten als auch Trophozoiten werden mit dem Stuhl ausgeschieden, wobei letztere in der Umgebung außerhalb des Körpers nicht überleben (Burnett, 2018). Zysten werden in großer Anzahl mit dem Stuhl/Kot des Wirtes ausgeschieden (Feng and Xiao, 2011b; Utaaker et al., 2017). Ein infizierter Mensch kann täglich 1–10 Milliarden Zysten ausscheiden (Burnett, 2018). Sobald die Zysten ausgeschieden sind, sind sie infektiös. Bei oraler Aufnahme von Zysten durch den Wirt schließt sich der Entwicklungs- und Infektionszyklus.

Die Spezies *Giardia duodenalis* ist ubiquitär verbreitet, und der Mensch gilt als Hauptreservoir. Aber auch Katzen, Hunde, Biber, Rinder und eine Vielzahl anderer Tierarten können eine Infektionsquelle für den Menschen darstellen. Der Mensch infiziert sich durch die orale Aufnahme von kontaminiertem Leitungswasser oder unbehandeltem Süßwasser aus Seen oder Bächen. Giardiasis kann aber auch durch den Verzehr kontaminierter Lebensmittel, durch engen Kontakt mit infizierten Personen/Tieren oder durch sexuellen Kontakt übertragen werden (Burnett, 2018). Das Infektionsrisiko steigt bei Reisenden in Entwicklungsländern, in denen die Infektion häufig vorkommt und ein unzureichender Hygienestandard diese begünstigt. Schätzungen zufolge hat sich bis zu einem Drittel der Menschen, die in Entwicklungsländern leben, mindestens einmal mit Giardien infiziert (Burnett, 2018).

Beschreibung der Erkrankung beim Menschen

Für Giardien wird angenommen, dass bereits eine Menge von unter 10 Zysten für eine Infektion ausreichend ist (Rendtorff, 1954). Neuere Infektionsmodelle bestätigen dies und vermuten, dass bereits die orale Aufnahme einer Zyste für eine Infektion ausreichend ist (Caccio, 2004).

Die Giardiasis ist weltweit eine der häufigsten Darmparasitosen beim Menschen, wobei schätzungsweise 200 Millionen Menschen infiziert sind (Certad et al., 2017). Die Prävalenzraten liegen zwischen 2 und 7 % in Industrieländern und zwischen 20 und 30 % in Entwicklungsländern (Dixon, 2021). Säuglinge und Kleinkinder, ältere Menschen, Reisende und immungeschwächte Personen gehören zu den Hochrisikogruppen, wobei Kinder allgemein häufiger symptomatische Infektionen zeigen als Erwachsene (Leung et al., 2019).

Die Besiedlung der Epithelzellen führt zu funktionalen Störungen und kann auch Entzündungen hervorrufen. Nach einer Inkubationszeit von ein bis drei Wochen (Kucik et al., 2004; Dawson, 2005) treten erste Symptome auf, die im Regelfall nach zwei bis vier Wochen abklin-

gen (Lebwohl et al., 2003). In Abhängigkeit von verschiedenen Faktoren, wie z. B. das Patientenalter, evtl. vorangegangenen Expositionen, die Parasitenbelastung und -virulenz, der Immunstatus sowie der Ernährungszustand der betroffenen Person treten unterschiedliche Krankheitssymptome auf. Typisch sind u. a. akute, meist milde und selbstlimitierende Diarrhöe, mit anfänglich oftmals reichlichem und wässrigem Stuhl, der im weiteren Verlauf fettig und übelriechend wird (Naz et al., 2018). Als weitere Symptome sind Unwohlsein, Appetitlosigkeit, Übelkeit, Erbrechen, Blähungen, Müdigkeit, Asthenie, Bauchschmerzen oder Krämpfe bis hin zu Gewichtsverlust beschrieben (Adam, 2001; Pietrzak et al., 2005; Naz et al., 2018). Zu den weniger häufigen Symptomen gehören leichtes Fieber, Schüttelfrost und Kopfschmerzen (Leung et al., 2019).

Auch wenn bei ca. 50 bis 75 % der infizierten Personen die Infektion asymptomatisch verläuft (Lebwohl et al., 2003), können asymptomatische Personen über mehrere Monate oder sogar länger Zysten ausscheiden (Pickering et al., 1984; Lopez-Romero et al., 2015). Auch Re-Infektionen sind möglich. Allgemein führen wiederholte Infektionen zu einer mildereren Symptomatik (Kohli et al., 2008; Halliez and Buret, 2013; Bechlars et al., 2014). Bei kleinen Kindern und immungeschwächten Personen sind die Symptome meist länger anhaltend und können einen schwerwiegenderen Verlauf aufweisen (LoGalbo et al., 1982; Halliez and Buret, 2013; Bechlars et al., 2014). Hier sind auch schwere chronische Verläufe möglich. Todesfälle sind selten, können aber bei Säuglingen und älteren Menschen auftreten (Rumsey and Waseem, 2021).

Bezüglich der Hospitalisierung bei Erkrankungsfällen sind nur wenige Studien verfügbar. Da die Krankheit in der Regel milde verläuft, existieren vor allem in Industrieländern derzeit kaum Daten zur Hospitalisierung. Laut der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit (European Food Safety Authority, EFSA) lag die Hospitalisierungsrate im Rahmen von Ausbruchserkrankungen im Jahr 2019 bei 0,9 % (EFSA, 2021, EU One Health Zoonoses Report 2019). In einer anderen Studie, bei der mit Durchfallerkrankung hospitalisierte Kinder in Griechenland erfasst wurden, ließen sich nur bei einem von 294 Kindern Giardien als Krankheitsursache nachweisen, was einer Hospitalisierungsrate von 0,5 % entspricht (Kafetzis et al., 2001). Im Gegensatz dazu wird in einer polnischen Studie für das Jahr 2017 eine Hospitalisierungsrate von 24,5 % beschrieben (Kitowska et al., 2019).

Therapie

In der Regel ist die Giardiasis gut zu behandeln. Neben einer symptomatischen Behandlung des Flüssigkeitsverlustes stehen zur Behandlung Nitroimidazolpräparate, wie z. B. Metronidazol, Tinidazol oder Nitazoxanid, zur Verfügung, wobei Metronidazol das Mittel der Wahl darstellt. Jedoch kann es bei Monotherapie-Ansätzen mit Nitroimidazolpräparaten aufgrund von Resistenzen zu Therapieversagen kommen, sodass eine Kombinationstherapie notwendig wird. Hier wird die Kombination von Nitroimidazolpräparaten zusammen mit Paromomycin oder mit Albendazol oder mit Mepacrin/Quinacrin als wirksam angesehen. Diesbezüglich fehlen jedoch bislang gut konzipierte, randomisierte und kontrollierte Studien, und eine optimale Kombinationstherapie ist bisher nicht etabliert (Escobedo et al., 2016; Carter et al., 2018).

Vorkommen in Europa und Deutschland

Gemäß § 7 Infektionsschutzgesetz (IfSG) ist in Deutschland der direkte oder indirekte Nachweis des Erregers meldepflichtig. In den Jahren 2018 wurden dem RKI insgesamt 4.283 bestätigte Erkrankungsfälle, 2019 insgesamt 4.154 Fälle, 2020 insgesamt 2.408 Fälle, 2021 insgesamt 1.854 Fälle und 2022 bis Anfang Juli bislang 1.033 Fälle gemeldet (SurvStat@RKI 2.0, <https://survstat.rki.de>, Stand 04.07.2022). Größtenteils wird hierzulande die Infektion mit Auslandsreisen in Verbindung gebracht. So wurden beispielsweise im Jahr 2019 dem RKI 3.296 reiseassoziierte Erkrankungsfälle übermittelt. Das hierbei am häufigsten genannte Infektionsland war Indien (222 Nennungen, 18 %), gefolgt von Spanien, Kolumbien, Ägypten, Italien und der Türkei. Die Häufigkeit der importierten Erkrankungsfälle wies einen deutlichen saisonalen Verlauf auf mit einem markanten Erkrankungsgipfel im Januar und zwei kleineren Erkrankungsgipfeln im April und Oktober (RKI, 2020).

Ausbrüche verursacht durch den Verzehr von Wasser oder pflanzlicher Lebensmittel

Die Giardiasis wird in den meisten EU-/EWR-Ländern in der gesamten Bevölkerung überwacht und gehört hier zu den häufigsten durch Lebensmittel und Wasser übertragenen gemeldeten parasitären Erkrankungen. Allein im Jahr 2020 wurden in der EU 6.249 Erkrankungsfälle, davon 1.661 in Deutschland, gemeldet⁴, jedoch muss vor allem im osteuropäischen Raum mit einer Dunkelziffer gerechnet werden. Ein Viertel der EU-Mitgliedstaaten verfügt über keine Überwachungssysteme für Giardiasis und meldet keine Fälle (ECDC, 2019).

Trotz ihrer Bedeutung für die öffentliche Gesundheit fehlen derzeit epidemiologische Daten über lebensmittelbedingte Erkrankungen, die durch *G. duodenalis* hervorgerufen wurden. Schätzungen zufolge verursacht der Erreger weltweit 28,2 Millionen Fälle von Durchfallerkrankungen pro Jahr, die auf eine Kontamination von Lebensmitteln zurückzuführen sind (Ryan et al., 2019).

Bislang sind nur sehr wenige lebensmittelbedingte Ausbrüche durch *Giardia* dokumentiert worden, da die Überwachungssysteme in vielen Ländern unzureichend sind und zudem die verfügbaren Nachweismethoden nicht standardisiert sind (Ryan et al., 2019). Angaben zu lebensmittelbedingten Ausbrüchen in Deutschland liegen bislang nicht vor.

Die EFSA hat für das Jahr 2019 in Europa 14 lebensmittelbedingte Ausbrüche durch *Giardia* dokumentiert, fünf weniger als im Jahr 2018. Der Bericht geht allerdings nicht auf das jeweilige ausbruchsverursachende Lebensmittel ein. Drei weitere Ausbrüche sind auf den Konsum von jeweils Wasser, Tafelwasser bzw. „Brunnenwasser“ zurückzuführen. Im Jahr 2019 erkrankten dabei insgesamt 233 Menschen, wobei im Zusammenhang mit einem Ausbruch in Italien allein 199 Menschen erkrankten (EFSA, 2021, EU One Health Zoonoses Report 2019).

⁴ <http://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx?Dataset=27&HealthTopic=20>

Wie Untersuchungen von lebensmittelassoziierten Ausbrüchen zwischen den Jahren 1971 und 2011 in den USA zeigten, stellen frische pflanzliche Produkte, insbesondere solche, die roh verzehrt werden, eine Infektionsquelle für den Menschen dar (Adam et al., 2016). Bei den wenigen beschriebenen lebensmittelassoziierten Ausbrüchen ist jedoch nicht geklärt, ob die Kontamination bereits auf dem Feld, bei der Ernte oder bei der Zubereitung erfolgte. Die Bewässerung mit zystenhaltigem Abwasser wurde in diesem Zusammenhang als mögliche Kontaminationsursache von Lebensmitteln identifiziert (Chalmers et al., 2020). Die Übertragung durch Wasser stellt einen sehr bedeutenden Infektionsweg dar, und es wurden weltweit Ausbrüche mit einer großen Anzahl an Erkrankten dokumentiert (Nygard et al., 2006; Guzman-Herrador et al., 2015).

In der folgenden Tabelle sind hierzu einige der dokumentierten Giardien-Ausbrüche über pflanzliche Lebensmittel und Trinkwasser beispielhaft dargestellt:

Tabelle 2: Beispiele für Giardien-Ausbrüche über pflanzliche Lebensmittel und Trinkwasser

Land	Jahr	Infektionsquelle	Bestätigte Erkrankungsfälle	Referenz
USA	2016	gemischter grüner Salat	25	CDC NORS (beschrieben in (Ryan et al., 2019) https://www.cdc.gov/foodborneoutbreaks/Default.aspx)
USA	2005	frisches Obst und Gemüse	50	New York State Dept of Health (Ryan et al., 2019) https://www.health.ny.gov/statistics/diseases/foodborne/outbreaks/2005/docs/report.pdf)
USA	1986	Obstsalat	9	(Porter et al., 1990)
Norwegen	2004	verunreinigtes Trinkwasser	1300	(Nygard et al., 2006)
Italien	2018-2019	vermutlich verunreinigtes Trinkwasser	238	(Resi et al., 2021)

3.1.2.3 *Toxoplasma gondii*

Entwicklungszyklus / Übertragung auf den Menschen

Aufgrund der starken Verbreitung und diversen Infektionswegen gilt *T. gondii* als einer der bedeutendsten parasitären zoonotischen Erreger weltweit. Der Parasit ist in der Lage, nahezu alle wamblütigen Wirbeltiere, einschließlich der Vögel, zu infizieren, wobei nur Katzen und andere Feliden als Endwirte dienen (Tenter et al., 2000).

Der Entwicklungszyklus von *T. gondii* unterteilt sich in eine geschlechtliche und eine ungeschlechtliche Vermehrungsphase. Dabei kann man drei verschiedene Entwicklungsstadien unterscheiden (Oozysten, Tachyzoiten, Bradyzoiten), die alle sowohl für den Zwischen- als auch

für den Endwirt infektiös sind. Eine Übertragung des Parasiten ist nicht nur zwischen Zwischen- und Endwirten möglich, sondern kann auch zwischen zwei verschiedenen Zwischen- oder Endwirten erfolgen (Tenter et al., 2000).

Ausschließlich im Darmepithel des Endwirtes kommt es zur geschlechtlichen Vermehrung des Parasiten, bei der mehrere Millionen Oozysten entstehen und mit dem Kot ausgeschieden werden (Dubey and Frenkel, 1972). In der Umwelt kommt es abhängig von den vorherrschenden Bedingungen innerhalb von 1–21 Tagen (11–25 °C) zur Sporulation der Oozysten, die erst durch diesen Reifungsprozess ihre Infektiosität erlangen (Dubey et al., 1970). Durch orale Aufnahme sporulierter Oozysten aus der Umwelt können sich neue End- oder Zwischenwirte infizieren. Dabei wird die Oozystenwand während der Magen-Darm-Passage lysiert, wodurch die enthaltenen Sporozoiten freigesetzt werden. Nach Infektion des Darmepithels kommt es zu einer starken ungeschlechtlichen Vermehrung und Verbreitung des Erregers im Körper in Form von sich schnell teilenden Tachyzoiten. Mit dem Einsetzen der Immunantwort geht dieses akute Stadium in eine chronische Phase der Infektion über. Dabei verlangsamt sich die Teilungsrate der Tachyzoiten, und sie differenzieren sich zu Bradyzoiten, die zu Hunderten geschützt innerhalb von Gewebezysten in verschiedenen Organen und der Muskulatur jahre- oder sogar lebenslang im Wirt persistieren (Robert-Gangneux and Darde, 2012). Durch Verzehr von rohem, gewebezystenhaltigem Fleisch kommt es schließlich zur Infektion des Endwirtes oder auch anderer Zwischenwirte. Dabei werden die Bradyzoiten während der Magen-Darm-Passage freigesetzt, infizieren das Darmepithel, und eine neue ungeschlechtliche (Zwischenwirt) oder geschlechtliche Vermehrungsphase (Endwirt) wird eingeleitet.

Aufgrund der starken Verbreitung und des großen Wirtsspektrums können generell alle infizierten warmblütigen Nutz-, Schlacht- und Wildtiere als Reservoir angesehen werden. Die wichtigsten horizontalen Übertragungswege für den Menschen sind: 1) die orale Aufnahme infektiöser Gewebezysten durch Verzehr von rohem oder unzureichend erhitztem Fleisch oder daraus hergestellten unzureichend erhitzten Fleischprodukten, 2) die orale Aufnahme sporulierter Oozysten aus der Umwelt über Schmierinfektionen (z. B. durch direkten Kontakt zu Katzenkot oder damit kontaminierter Erde) oder durch Verzehr kontaminierter pflanzlicher Lebensmittel und Wasser. Bei einer Erstinfektion in der Schwangerschaft kann der Erreger auch vertikal (Tachyzoiten) auf das ungeborene Kind übertragen werden (Tenter et al., 2000).

Beschreibung der Erkrankung beim Menschen

Mit einer geschätzten Durchseuchungsrate von 30 % zählt die Toxoplasmose weltweit zu einer der häufigsten parasitären Zoonoseerkrankungen des Menschen.

Bei immunkompetenten Personen verlaufen 80–90 % der postnatal erworbenen Infektionen asymptomatisch und bleiben daher unerkannt. In 10–20 % der Fälle kann es in der akuten Phase der Infektion zu milden unspezifischen grippeähnlichen Symptomen mit Fieber, Kopfschmerzen, Muskelschmerzen, Halsschmerzen, Abgeschlagenheit und Lymphknotenschwellung (vorwiegend im Kopf- und Halsbereich, seltener generalisiert) kommen (Hill and Dubey, 2002; Robert-Gangneux and Darde, 2012; RKI, 2018). Erste klinische Symptome treten 10–14

Tage nach der Infektion auf (EFSA, 2007). Auch eine Entzündung der Netz- und Aderhaut des Auges (okuläre Toxoplasmose) mit Sehstörungen bis hin zur Erblindung kann bei immunkompetenten Kindern und Erwachsenen auftreten. Schwere Erkrankungen, wie z. B. Entzündungen des Herzmuskels, der Lunge, des Gehirns und der Leber, wurden bereits bei immunkompetenten Personen beschrieben, treten jedoch sehr selten auf (EFSA, 2007; Schlüter et al., 2014). Dabei gibt es Hinweise darauf, dass besonders schwere Erkrankungen mit hochvirulenten atypischen Genotypen assoziiert sind (EFSA, 2007; Schlüter et al., 2014).

Bei Immunsupprimierten (wie z. B. durch HIV/AIDS, Chemotherapie oder nach Transplantationen) kann es häufig, meist durch Reaktivierung latenter Infektionen, zu schweren klinischen Manifestationen kommen, die mitunter tödlich verlaufen können. Am häufigsten kommt es dabei zu einer Entzündung des Gehirns, aber auch zu Lungenentzündungen. Außerdem können die okuläre Toxoplasmose und die disseminierte Form der Toxoplasmose unter Beteiligung verschiedener Organe auftreten (EFSA, 2007; RKI, 2018). Ohne prophylaktische Therapie kann es in 47 % der chronisch mit *T. gondii* infizierten AIDS-Patientinnen und -Patienten zu einer Reaktivierung und Entwicklung einer Enzephalitis kommen (Zangerle et al., 1991).

Kommt es während der Schwangerschaft zu einer Erstinfektion, kann der Erreger transplazentar auf das ungeborene Kind übertragen werden (pränatale oder konnatale Infektion) und zu schweren körperlichen und neurologischen Missbildungen, wie z. B. Entzündung der Netz- und Aderhaut des Auges, Hydrozephalus und zerebrale Verkalkungen bis hin zu Fehlgeburten, führen (Mylonas et al., 2013). Dabei kommt es in bis zu 20 % der Fälle zu einer Übertragung des Erregers auf den Fetus (Li et al., 2014). Spezifische Symptome zeigen jedoch nur 27 % der infizierten Neugeborenen (Dunn et al., 1999). Allerdings können sich Spätschäden erst mehrere Jahre nach der Geburt des Kindes manifestieren, die hauptsächlich die Augen, das Zentralnervensystem und das Gehör betreffen (Tenter and Fehlhauer, 2002).

In tierexperimentellen Studien führte die Infektion mit *Toxoplasma*-Oozysten im Vergleich zu einer Infektion mit Gewebezysten zu einer schwereren Erkrankung (Dubey, 2021). Obwohl in der Literatur bereits häufiger diskutiert (Hill and Dubey, 2002; VanWormer et al., 2013), konnte dies bei humanen Infektionen jedoch noch nicht eindeutig belegt werden (Meireles et al., 2015; Dubey, 2021).

Über die minimale Infektionsdosis ist beim Menschen nichts bekannt (EFSA, 2007). In experimentell infizierten Schweinen wurde eine Infektionsdosis von 1–10 Oozysten ermittelt. Dabei konnten nach Verabreichung von einer Oozyste, Tachyzoiten bereits in 60 % (17/28) der experimentell infizierten Schweine nachgewiesen werden; bei Verabreichung von 10 Oozysten war dies bei 92 % (13/14) der Tiere möglich (Dubey et al., 1996). Ein großer Trinkwasser-assoziiertes Ausbruch mit 176 Fällen in Brasilien, bei dem vermutlich verhältnismäßig wenige durch Katzen eingebrachte Oozysten Millionen Liter an Trinkwasser kontaminierten, lässt ebenfalls eine geringe Infektionsdosis beim Menschen vermuten (de Moura et al., 2006; Dubey, 2021).

Therapie

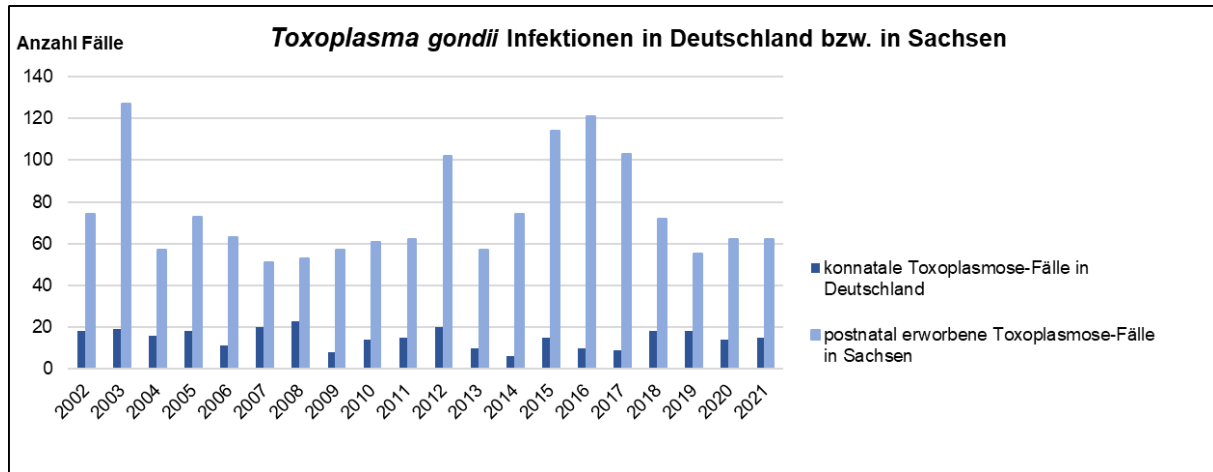
Die Behandlung der Toxoplasmose unterscheidet sich in Abhängigkeit der Erkrankungsart. Behandelt werden beispielsweise aktive *Toxoplasma*-Infektionen bei immunsupprimierten Patienten oder die okuläre Toxoplasmose. Ebenso wird im Falle einer Erstinfektion während der Schwangerschaft eine Therapie empfohlen, und auch infizierte Neugeborene werden behandelt. Zur Behandlung stehen verschiedene Medikamente wie Spiramycin, Pyrimethamin, Sulfadiazin, Clindamycin und ggf. Atovaquone zur Verfügung. Ziel der Behandlung ist eine Unterbrechung der Proteinbiosynthese und der Folsäuresynthese der Toxoplasmen. Anzumerken ist jedoch, dass sich die medikamentöse Wirkung auf *Toxoplasma*-Tachyzoiten beschränkt, wohingegen die Arzneistoffe gegenüber *Toxoplasma*-Bradyzoiten nahezu unwirksam sind (RKI, 2018).

Vorkommen in Europa und Deutschland

Der direkte oder indirekte Nachweis von *T. gondii* bei konnatalen Infektionen des Menschen ist nach Infektionsschutzgesetz meldepflichtig (RKI, 2018). Zwischen 2002 und 2021 wurden jährlich 6–23 Fälle konnataler Toxoplasmose direkt an das RKI gemeldet (Abb. 1). Jedoch wird hier von einer starken Untererfassung ausgegangen, da in Deutschland kein routinemäßiges Screening von Schwangeren durchgeführt wird und in der Regel nur die zum Zeitpunkt der Geburt klinisch oder serologisch auffälligen Fälle gemeldet werden (RKI, 2018). In Sachsen besteht darüber hinaus eine Meldepflicht der postnatal erworbenen Toxoplasmose. Hier wurden zwischen 2002 und 2021 jährlich 51–127 Fälle postnataler Toxoplasmose direkt an das RKI gemeldet (Abb. 1).

In 2016 wurde in einer erstmalig durchgeführten bundesweiten repräsentativen Studie des RKI eine Seroprävalenz von 55 % in der gesamten erwachsenen deutschen Bevölkerung ermittelt (Wilking et al., 2016). Die Seroprävalenz stieg dabei von 20 % in der Altersgruppe der jungen Erwachsenen (18-29 Jahre) auf 76,8 % bei den Seniorinnen und Senioren (70-79 Jahre) an. Im Osten Deutschlands wurden höhere Seroprävalenzen in der Bevölkerung nachgewiesen als im Westen, was durch den vermehrten Verzehr von rohem Schweinehackfleisch im Osten bedingt sein könnte (Wilking et al., 2016). Aus den ermittelten Seroprävalenzen wurde eine Inzidenz postnatal erworbener Infektionen von 1.099 auf 100.000 Einwohnerinnen und Einwohner geschätzt. Weiterhin wurde anhand dieser Daten berechnet, dass in Deutschland 74,1 % aller Schwangerschaften gefährdet sind und es pro Jahr in ca. 6.400 Schwangerschaften zu einer Erstinfektion kommt. Dies könnte jährlich zu ca. 1.300 pränatalen Infektionen und 345 Neugeborenen mit apparenter klinischer Symptomatik führen (Wilking et al., 2016).

Abbildung 1: Anzahl der seit 2002 nichtnamentlich an das RKI gemeldeten Fälle konnataler Toxoplasmose in Deutschland sowie gemeldete Fälle postnataler Toxoplasmose in Sachsen (Quelle: Robert Koch-Institut: SurvStat@RKI 2.0, <https://survstat.rki.de>, Abfragedatum: 09.11.2021).



Oozysten-assoziierte Toxoplasmose Ausbrüche:

In Deutschland wurden bislang noch keine Ausbrüche durch *T. gondii* beschrieben. In Europa wurde bisher nur ein Oozysten-assoziiertes Ausbruch unter 171 Schülern in der Türkei bekannt, bei dem eine Übertragung über Erde/Staub und deren Kontamination durch streunende Katzen vermutet wird (Doganci et al., 2006).

Einen Überblick über *T. gondii*-assoziierte Ausbrüche weltweit geben zwei systematische Reviews aus den Jahren 2015 (n=38) und 2019 (n=34) (Meireles et al., 2015; Pinto-Ferreira et al., 2019) sowie ein aktuelles Review aus dem Jahr 2021 (Dubey, 2021). Dabei wurden 44–52 % der analysierten und weltweit zwischen den Jahren 1965 und 2013 aufgetretenen *T. gondii* assoziierten Ausbrüche auf Oozysten zurückgeführt, wobei mit Oozysten kontaminiertes Wasser in 20–21 %, kontaminierte Erde/Sand in 18–26 % (10/38) und kontaminiertes rohes Gemüse in 3–6 % der Ausbrüche als Infektionsquellen identifiziert wurden (Meireles et al., 2015; Pinto-Ferreira et al., 2019). Die Ermittlung der Infektionsquelle (Matrix sowie Parasitenstadium) erfolgte in den meisten Ausbruchsgeschehen über epidemiologische Zusammenhänge und konnte bisher nur selten durch direkten Nachweis von *T. gondii* erbracht werden (de Moura et al., 2006).

Im Vergleich zu Gewebezysten-assoziierten Ausbrüchen, bei denen meist nur kleinere Gruppen/Cluster betroffen sind, kommt es bei Oozysten-assoziierten Ausbrüchen, insbesondere bei kontaminiertem Trinkwasser, zu höheren Fallzahlen (Meireles et al., 2015; Pinto-Ferreira et al., 2019).

Im ersten Wasser-assoziierten Ausbruch in Panama (1979) erkrankten 31 Soldaten an Toxoplasmose durch Trinken von mit Jodtabletten behandeltem Flusswasser, wobei diese Art der Behandlung generell als effektiv zur Abtötung von Bakterien und *G. lamblia* gelten soll (Benenson et al., 1982; Dubey, 2021). In mehreren Trinkwasser-assoziierten Ausbrüchen, z. B. in Kanada und Brasilien mit jeweils 100 und 178 Fällen, wurde der Zugang von *T. gondii* positiven-Katzen zur Trinkwasserversorgung oder der unmittelbaren Umgebung nachgewiesen (Bowie et al., 1997; de Moura et al., 2006). Im bisher größten beschriebenen Ausbruch mit 248 Fällen okulärer Toxoplasmose in Indien konnte keine Infektionsquelle ermittelt werden.

Jedoch wird aufgrund der geografischen Häufung der Fälle in der Stadt Coimbatore und den zugehörigen Vororten ebenfalls eine Kontamination kommunalen Trinkwassers angenommen (Balasundaram et al., 2010).

Tabelle 3: Ausgewählte Oozysten-assoziierte Toxoplasmose Ausbrüche

Land	Jahr	Ausbruchsursache	Angenommene Fallzahl	Symptomatische Fälle	Referenz
Panama	1979	jodiertes Flusswasser	31	91 %	(Benenson et al., 1982)
Kanada	1995	kommunales Trinkwasser	100	82 %	(Bowie et al., 1997)
Brasilien	2001	kommunales Trinkwasser	176	88 %	(de Moura et al., 2006)
Türkei	2002	Erde/Staub (Schule)	171	100 %	(Doganci et al., 2006)
Indien	2004	unklar; ggf. kommunales Trinkwasser	248	100 %	(Balasundaram et al., 2010)
Brasilien	2009	Salat (Eskariol)	11	72 %	(Ekman et al., 2012)
Brasilien	2013	Saft (Açaí Beeren)	73	100 %	(Morais et al., 2016)

Zu Oozysten-assoziierten Ausbrüchen über pflanzliche Lebensmittel liegen dem BfR nur zwei Publikationen vor, in denen aber genaue Hinweise zum Ursprung der Oozysten-Kontamination fehlen. In Brasilien kam es im Jahr 1993 zu einem Ausbruch unter 11 Mitarbeitern einer Industrieanlage, bei dem Salat (Eskariol) als wahrscheinliche Infektionsquelle ermittelt wurde (Ekman et al., 2012). Ein weiterer Ausbruch in Brasilien mit 73 bestätigten Fällen wurde durch Saft aus Açaí-Beeren verursacht (Morais et al., 2016).

3.1.3 Expositionsschätzung und -bewertung

3.1.3.3 *Cryptosporidium* spp.

Roh- und Abwasser

Insgesamt wurden *Cryptosporidium* spp. verbreitet in Rohwasser- und Abwasserproben nachgewiesen; für eine ausgiebige Auflistung weltweiter Untersuchungen wird auf Kerry *et al.* (Hamilton et al., 2018) verwiesen. Hier wird nur auf Studien aus Deutschland eingegangen.

Die Studie von Karanis *et al.* (1998) wurde durchgeführt, um die Verbreitung von *Cryptosporidium* spp. in deutschen Wasserversorgungen und die Effizienz von Oberflächenwasseraufbereitungsanlagen zur Entfernung von *Cryptosporidium* spp. durch konventionelle Behandlung abzuschätzen. Wasserproben aus sechs Oberflächenwasseraufbereitungsanlagen in verschiedenen Teilen Deutschlands wurden auf das Vorkommen der Erreger untersucht. In 76,2 % der untersuchten Rohwasserquellen wurden *Giardia* spp. oder *Cryptosporidium* spp.

oder beide gefunden. Die durchschnittliche Anzahl der nachgewiesenen *Cryptosporidium*-Oozysten betrug 116 pro 100 Liter (max. 1081/100 L). In den Klärungszwischenschritten (einschließlich Flockung und mehreren Filtrationsschritten) wurden in 33,3 % (50/150) der Proben *Giardia* spp. oder *Cryptosporidium* spp. oder beide gefunden. 29,8 % (14/47) der Trinkwasserproben waren positiv für *Cryptosporidium* spp. (max. 20,8/100 L).

In einer weiteren deutschen Studie wurde das Vorkommen von *Cryptosporidium* spp. in Abwasserproben und die Entfernungseffizienz bewertet (Ajonina et al., 2012). Behandelte Abwasser und unbehandelte Zuflussabwasserproben wurden saisonal über einen Zeitraum von zwei Jahren gesammelt. Oozysten wurden in Zu- und Abwasserproben aus der Kläranlage mit einer mittleren Konzentration von 782 Oozysten pro Liter (50-1280) wiederholt nachgewiesen.

In einer weiteren Studie im Rheingebiet waren von 206 Abwasserproben 64 (31,1 %) positiv für *Cryptosporidium*-Oozysten, wobei bis zu 1745 Oozysten pro Liter gefunden wurden (Gallas-Lindemann et al., 2013b).

Pflanzliche Lebensmittel

Es sind wenige Studien zum Vorkommen von Kryptosporidien auf pflanzlichen Lebensmitteln verfügbar.

In der Studie von Rzezutka *et al.* (2010) wurden zwischen den Jahren 2006 und 2007 auf Bauernmärkten in der Region Lublin in Polen diverse Proben von frischem Gemüse und Beerenobst entnommen; *C. parvum*-Oozysten wurden in sechs von 128 Gemüseproben (Spannweite 1–47 Oozysten) nachgewiesen, jedoch in keiner der 35 Obstproben.

In einer ähnlichen Studie in Norwegen zwischen August 1999 und Januar 2001 waren 19 von 475 Obst- und Gemüseproben *Cryptosporidium* spp. positiv. Die Nachweise gelangten in fünf Salatproben (26 %) und 14 (74 %) Mungobohnensprossen-Proben, wobei die nachgewiesenen Oozysten-Konzentrationen im Mittel bei etwa drei Oozysten pro 100 g Produkt lagen (Robertson and Gjerde, 2001).

Auch in Griechenland wurden insgesamt 72 Obst- und Gemüseproben aus Supermärkten und offenen Märkten untersucht. In zwei von 72 (2,8 %) Proben waren *Cryptosporidium*-Oozysten nachweisbar (Sakkas et al., 2020).

Bei der Untersuchung von „ready to eat“-Salaten, welche zum sofortigen Verzehr ohne vorheriges Waschen gedacht sind, wurden in Italien in 0,9 % der 648 Proben *Cryptosporidium* spp. nachgewiesen (Caradonna et al., 2017).

In einer kleinen Studie wurden in 12 (10) von 19 untersuchten spanischen Salatprodukten *Cryptosporidium* spp. bzw. *Giardia* spp. detektiert (Amoros et al., 2010).

3.1.3.2 *Giardia duodenalis*

Roh- und Abwasser

Insgesamt gibt es weltweit mehrere Studien, die sich mit Giardien in Oberflächen- und Abwasser beschäftigen (Details zu diesen Studien siehe Review von Hamilton et al., 2018).

An dieser Stelle wird beispielhaft auf zwei europäische Studien (Deutschland, Italien) und eine Studie aus Brasilien eingegangen, die sich mit der Reduktion der Erreger durch Behandlung von Abwasser befassen. Karanis *et al.* (1998) beprobten in Deutschland über einen Zeitraum von etwas mehr als zwei Jahren sechs Aufbereitungsanlagen für Oberflächenwasser. Ziel der Studie war es u.a., die Verbreitung von Giardien in der Wasserversorgung und die Effizienz der Erregereliminierung durch die konventionelle Behandlung zu erfassen. In 76,2 % der untersuchten Rohwasserquellen wurden *Giardia* spp. oder *Cryptosporidium* spp. oder beide Erregerarten gefunden. Im Durchschnitt wurden 88,2 *Giardia*-Zysten pro 100 Liter Wasser (max. 1314/100 L) nachgewiesen. Bei den nachfolgenden Aufbereitungsschritten wurde zwar eine Reduktion der Erreger erzielt, aber eine gänzliche Eliminierung konnte nicht erreicht werden. So wurden nach den Klärungszwischenschritten (einschließlich Flockung und mehreren Filtrationsschritten) in 33,3 % (50/150) der Proben *Giardia* spp. oder *Cryptosporidium* spp. oder beide Erregerarten gefunden. In 14,9 % (7/47) der Trinkwasserproben konnten *Giardia*-Zysten nachgewiesen werden (max. 16,8/100 L). Es wurde festgestellt, dass sich eine Kombination aus langsamer Sandfiltration, Infiltration, Desinfektion, Sand- und Aktivkohlefiltration als die wirksamste Wasseraufbereitungstechnologie erweist, um eine effektive Erregerreduktion zu erreichen (Karanis et al., 1998).

Bei einer Studie, die in Italien in vier Wasseraufbereitungsanlagen auf jeder Stufe des Aufbereitungsprozesses über einen Zeitraum von einem Jahr durchgeführt wurde, ließen sich *Giardia*-Zysten in den Zuflüssen aller Wasseraufbereitungsanlagen das ganze Jahr über nachweisen. Im Durchschnitt lag die Anzahl der Zysten zwischen 2,1 und 4,2 pro Liter. In allen Wasseraufbereitungsanlagen wurde die höchste Zystenanzahl im Herbst und Winter detektiert. Nach allen Abwasserbehandlungsschritten wurde je nach Art der Behandlung eine Eliminierung der Zysten zwischen 87 % und 98,4 % erreicht (Caccio et al., 2003).

In einer weiteren Studie einer brasilianischen Arbeitsgruppe wurden bei der Untersuchung von behandeltem Abwasser aus zwei Wiederaufbereitungsanlagen in 35,8 % der untersuchten Proben (n=53) *Giardia*-Zysten nachgewiesen. Die Anzahl der Zysten lag im Bereich von <0,03 bis 16 Zysten pro Liter (Razzolini et al., 2020).

Pflanzliche Lebensmittel

Im Rahmen einer Untersuchung bezüglich der weltweiten Prävalenz von Humanpathogenen auf frischen Lebensmitteln in Produktionsbetrieben bzw. in Verpackungsanlagen wiesen Giardien bei den untersuchten Parasiten die höchste mittlere Prävalenz auf (Van Pelt et al., 2018). Die Kontamination von Gemüse und Obst mit *Giardia*-Zysten wurde in vielen Ländern berichtet, und die durchschnittliche Prävalenz wird auf 4,8 % geschätzt (276/5739; 95 % CI: 4,2-5,4 %) (Li et al., 2020).

In verschiedenen Studien, die in mehreren europäischen Ländern durchgeführt wurden, ließen sich *G. duodenalis*-Zysten auf frischen pflanzlichen Lebensmitteln mit unterschiedlicher Prävalenz nachweisen: Norwegen: 2,1 % (Robertson and Gjerde, 2001), Türkei: 20 % (Erdog̃rul and Şener, 2005), Spanien: 52,6 % (Amoros et al., 2010), Italien: 0,6 % (Caradonna et al., 2017).

Laut Angaben der Ernährungs- und Landwirtschaftsorganisation der Vereinten Nationen (FAO, 2011) werden weltweit ca. 70 % des Wasserverbrauchs dem landwirtschaftlichen Bereich zugeschrieben. Wasser, das zur Bewässerung oder zum Waschen von Lebensmitteln verwendet wird, kann durch Kontamination mit tierischen oder menschlichen Fäkalien mit *Giardia*-Zysten belastet sein und somit die Lebensmittel mit dem Erreger kontaminieren (Budu-Amoako et al., 2011).

Es wurden z. B. bei Untersuchungen, die im Rahmen einer norwegischen Studie von Robertson and Gjerde (2001) zum Parasitenbefall verschiedener Obst- und Gemüsesorten durchgeführt wurden, bei 10 von 475 Proben *Giardia*-Zysten nachgewiesen. Die betroffenen Lebensmittel waren Dill und Kopfsalat (jeweils 2 positive Proben), Mungobohnensprossen (3 positive Proben), Rettichsprossen (eine positive Probe) und Erdbeeren (2 positive Proben). Die hierbei festgestellten Erreger-Konzentrationen waren gering und lagen durchschnittlich bei 3,3 Zysten pro 100 g Obst und Gemüse. *Giardia*-Zysten wurden in dieser Studie auch im Wasser nachgewiesen, das für die Bewässerung von Feldern und die Produktion von Bohnensprossen in Norwegen verwendet wurde (Robertson and Gjerde, 2001).

Amoros et al. (2010) konnten bei einer Studie in Spanien an Salaten und dem verwendeten Bewässerungswasser ebenfalls Zysten sowohl in den Lebensmittel- als auch in den Wasserproben nachweisen. Hier wurden in 52,6 % der Lebensmittelproben und in 100 % der Wasserproben *Giardia*-Zysten detektiert. In den Wasserproben wurden durchschnittlich 40 Zysten pro Liter Wasser ermittelt (Amoros et al., 2010).

3.1.3.3 *Toxoplasma gondii*

Vorkommen von *Toxoplasma gondii* Oozysten in Wasser:

T. gondii-Oozysten entstehen ausschließlich im Darmepithel von Katzen und anderen Feliden (Dubey and Frenkel, 1972) und gelangen nur über deren Kot in die Umwelt, wo sie über Erde, Luft und Wasser weiterverbreitet werden und so auch auf pflanzliche Lebensmittel gelangen können. Durch Niederschlagswasser werden sie aus Erde und Kot gelöst und gelangen so auch in Bewässerungssysteme, Flüsse, Seen, Meerwasser und die Kanalisation. Da sie im Gegensatz zu *Cryptosporidium*-Oozysten und Giardien-Zysten jedoch nicht über menschliche Fäkalien ausgeschieden werden, sind im Schmutzwasser vergleichsweise geringere Konzentrationen an *T. gondii*-Oozysten zu erwarten. Dennoch können sie z. B. durch die Entsorgung von Katzenkot über die Toilette oder durch die Reinigung von Gegenständen und pflanzlichen Lebensmitteln ins städtische und industrielle Abwasser gelangen (Bahia-Oliveira et al., 2017).

Zum Vorkommen von *T. gondii*-Oozysten in Wasser liegen dem BfR nur zwei Studien aus Deutschland vor. In einer kleineren Studie von Ajonina *et al.* (2018) wurde innerhalb einer Abwasserbehandlungsanlage in Hamburg über einen Zeitraum von acht Monaten Abwasser vor (n=16) und nach der Behandlung (n=9) auf Anwesenheit von *T. gondii*-DNA untersucht. In keiner der 25 Proben konnte *T. gondii* nachgewiesen werden, jedoch ist die Probenzahl zu gering, um eine verlässliche Aussage zu treffen (Ajonina *et al.*, 2018). In einer etwas umfangreicheren Studie von Gallas-Lindemann *et al.* (2013a) wurde Abwasser über einen Zeitraum von neun Monaten innerhalb von acht Abwasserbehandlungsanlagen entlang des Rheins in Nordrhein-Westfalen beprobt. *T. gondii* war in 8,9 % (4/45) der Proben vor und in 10,5 % (4/38) der Proben nach der Abwasserbehandlung nachweisbar, wobei ein Eintrag von Oozysten nach der Abwasserbehandlung durch Zugang von Katzen nicht auszuschließen war. Hingegen konnte kein *T. gondii*-Nachweis in den entnommenen Leitungswasser- (n=1), Rohwasser- (n=1), Grundwasser- (n=4) und Oberflächenwasser-Proben (n=6) erbracht werden, jedoch lassen auch hier die geringen Probenzahlen keine valide Aussage zu (Gallas-Lindemann *et al.*, 2013a).

In weiteren europäischen Studien konnte *T. gondii* in 43 % der Abwasserproben in Bulgarien nachgewiesen werden (Sotiriadou and Karanis, 2008), jedoch nicht in Abwasseruntersuchungen aus Frankreich und Italien (Moulin *et al.*, 2010; Marangi *et al.*, 2015). Darüber hinaus wurde *T. gondii* bisher auch in Oberflächen-, Grund- und Leitungswasser sowie in Flüssen und Seen in Europa und weltweit nachgewiesen (Sotiriadou and Karanis, 2008; Bahia-Oliveira *et al.*, 2017).

Vorkommen von *Toxoplasma gondii* Oozysten auf pflanzlichen Lebensmitteln:

In Deutschland wurden bisher keine Studien zum Vorkommen von *T. gondii*-Oozysten in Proben von pflanzlichen Lebensmitteln durchgeführt. Hier besteht also erheblicher Forschungsbedarf. In Europa wurden bisher nur fünf Studien veröffentlicht, deren Ergebnisse der Tabelle 4 zu entnehmen sind. Der überwiegende Teil der Studien zeigt Prävalenzen zwischen 5 und 20 %. Die mit Abstand höchsten Prävalenzen wurden in Spanien und Portugal auf Beeren und verschiedenem Gemüse beobachtet, wobei in dieser Studie nur wenige Proben mit überdurchschnittlicher Probenmenge von mehreren hundert Gramm untersucht wurden (Marques *et al.*, 2020). Dies impliziert, dass auch eine Erregerübertragung durch Verzehr von pflanzlichen Lebensmitteln in Betracht gezogen werden muss. Besonders Gemüse oder Obst, welches in direkter Bodennähe angebaut wird, könnte durch Erdkontakt stärker mit Oozysten belastet sein, wie z. B. Wurzelgemüse, Salate oder Erdbeeren. Oozysten können jedoch auch durch Verwendung von kontaminiertem Wasser zur Bewässerung und weiteren Behandlung auf pflanzliche Lebensmittel gelangen.

Tabelle 4: Vorkommen von *Toxoplasma gondii* auf pflanzlichen Lebensmitteln in Europa

Land	Jahr	Matrix	Prävalenz	Referenz
Tschechien	k. A.	Gurken	11,9 % (13/109)	(Slany et al., 2019)
Tschechien	k. A.	Karotten	7,5 % (7/93)	(Slany et al., 2019)
Tschechien	k. A.	Salat (Kopfsalat, Eisbergsalat, little gem, Lollo Salat)	8,9 % (8/90)	(Slany et al., 2019)
Polen	2006-2008	Erdbeeren	0 % (0/60)	(Lass et al., 2012)
Polen	2006-2008	Rettich	5 % (3/60)	(Lass et al., 2012)
Polen	2006-2008	Karotten	19,5 % (9/46)	(Lass et al., 2012)
Polen	2006-2008	Salat	18 % (9/50)	(Lass et al., 2012)
Italien	2015-2016	RTE-Mischsalate (krauser und Eskariolsalat, Radieschen, Karotten, Rucola)	0,8 % bzw. 6,9 % (5/72 Poolproben aus insg. 648 Einzelproben)	(Caradonna et al., 2017)
Spanien, Portugal	2018-2019	Gemüse (Bulkware, RTE, verpackte Produkte: Salat, Karotten, Petersilie, Wasserkresse, Koriander, RTE-Mischsalate, Rucola)	42,9 % (12/28)	(Marques et al., 2020)
Spanien, Portugal	2018-2019	Beeren (Erdbeeren, Himbeeren, Blaubeeren)	42,9 % (3/7)	(Marques et al., 2020)
Schweiz	2019	Salat	6 % (6/100)	(Guggisberg et al., 2020)

k. A.: Keine Angabe

Innerhalb des EJP-Projektes TOXOSOURCES wurde ein umfassender Übersichtsartikel zum Vorkommen und der Diagnostik von *T. gondii*-Oozysten in Erde, Wasser, pflanzlichen Lebensmitteln und zweischaligen Weichtieren veröffentlicht (López-Ureña et al., 2022) sowie eine multizentrische Studie zum Vorkommen von *T. gondii*-Oozysten in verzehrfertigen grünen Blattsalaten in zehn europäischen Ländern durchgeführt.

3.1.3.4 Verzehr von frischem Obst und Gemüse in Deutschland

Frisches Obst und Gemüse ist ein wichtiger Bestandteil einer gesundheitsförderlichen Ernährung. Diese Lebensmittel werden daher in Deutschland von fast allen Verbrauchergruppen regelmäßig in bedeutsamen Mengen konsumiert. Eine Abschätzung des Konsums von frischem Obst und Gemüse in Deutschland kann einer vom BfR im Jahr 2020 veröffentlichten Stellungnahme entnommen werden (Stellungnahme Nr. 021/2020 des BfR vom 21. April 2020: „Aufbereitete Abwässer: Bakterielle Krankheitserreger auf frischem Obst und Gemüse vermeiden“).

3.1.4 Risikocharakterisierung

3.1.4.2 Möglichkeiten und Grenzen der Risikocharakterisierung

Aufgrund der derzeit sehr begrenzten Datenlage hinsichtlich dokumentierter Krankheitsausbrüche, bei denen die Infektionen nachweislich auf den Verzehr pflanzlicher Lebensmittel zurückzuführen sind, ist eine abschließende Risikocharakterisierung zur Nutzung von aufbereitetem Abwasser für die Bewässerung von Pflanzen, die für den Verzehr vorgesehen sind, im Hinblick auf die Protozoen *Cryptosporidium* spp., *G. duodenalis* und *T. gondii* nur eingeschränkt möglich. Auch die in der vorliegenden Stellungnahme aufgeführten Daten zur Prävalenz und Stabilität von Kryptosporidien, Giardien und Toxoplasmen auf frischem Obst und Gemüse erlauben keine valide Aussage. Sie zeigen dennoch auf, dass diese Protozoen auf solchen Lebensmitteln in Europa vorkommen. Konkrete Daten für Deutschland sind diesbezüglich gegenwärtig nicht verfügbar. Die in den europäischen Studien ermittelten, unterschiedlich hohen Nachweisraten auf pflanzlichen Lebensmitteln können in der Anwendung verschiedener Nachweismethoden begründet sein.

Alle hier bewerteten Protozoen weisen eine hohe Stabilität in der Umwelt auf. Zwar ist die Datenlage hinsichtlich der Stabilität auf frischem Obst und Gemüse derzeit unzureichend. Es ist aber davon auszugehen, dass die hier beschriebenen Protozoen auf pflanzlichen Lebensmitteln über einen längeren Zeitraum infektiös sind und nach deren Rohverzehr Erkrankungen auslösen können. Hierfür reicht die Aufnahme einer sehr geringen Anzahl an Oozysten/Zysten aus. Dem gegenüber werden von infizierten Individuen jedoch sehr große Mengen an *Cryptosporidium*-Oozysten und *Giardia*-Zysten mit dem Stuhl/Kot ausgeschieden, was die Möglichkeit einer Abwasserbelastung impliziert.

Pflanzliche Lebensmittel können nachweislich durch das Bewässerungswasser mit *Cryptosporidium*-Oozysten bzw. *Giardia*-Zysten kontaminiert werden. Das Vorkommen in kommunalen Abwässern ist abhängig vom Infektionsstatus der Bevölkerung bzw. der Tierbestände im Einzugsbereich der Abwassergewinnung. Wie in Kapitel [3.1.1](#), bereits beschrieben, weisen alle hier diskutierten Protozoen eine moderate bis gute Resistenz gegenüber Desinfektionsmaßnahmen und Desinfektionsmitteln in den zur Abwasserbehandlung üblichen Dosierungen bzw. Konzentrationen auf. Zwar kann bei der Aufbereitung von Abwässern durch die verschiedenen Prozessierungsschritte eine Reduktion erzielt werden, eine vollständige Eliminierung ist nach dem derzeitigen Wissensstand jedoch nicht möglich.

T. gondii-Oozysten entstehen ausschließlich im Darmepithel von Katzen und anderen Feliden (Dubey and Frenkel, 1972) und gelangen nur über deren Kot in die Umwelt, wo sie über Erde, Luft und Wasser weiterverbreitet werden und so auch auf pflanzliche Lebensmittel gelangen können. Durch Niederschlagswasser werden sie aus Erde und Kot gelöst und gelangen so auch in Wassergräben, Flüsse, Seen, Meerwasser und die Kanalisation. Da sie im Gegensatz zu *Cryptosporidium*-Oozysten und Giardien-Zysten jedoch nicht in menschlichen Fäkalien vorkommen, werden vergleichsweise geringere Konzentrationen an *T. gondii*-Oozysten im Schmutzwasser erwartet. Dennoch können sie z. B. durch Entsorgung von Katzenkot in die

Toilette oder durch die Reinigung von Gegenständen und pflanzlichen Lebensmitteln ins kommunale Abwasser gelangen.

In Anbetracht der bisher erbrachten positiven Nachweise der hier betrachteten Protozoen im Abwasser sowie deren hoher Stabilität und Umweltresistenz besteht in Abhängigkeit von den angewandten Aufbereitungs- und Bewässerungsverfahren eine hohe Wahrscheinlichkeit der Kontamination von pflanzlichen Lebensmitteln nach deren Bewässerung mit aufbereitetem Abwasser. Es ist möglich, dass es in Deutschland zu einem Anstieg von Fällen von Kryptosporidiose, Giardiasis oder Toxoplasmose kommt, falls das aufbereitete Abwasser direkt auf roh zu verzehrende Pflanzenteile gelangt oder Protozoen mit kontaminierten Bodenpartikeln auf diese Pflanzenteile übertragen werden. Durch ein ausreichendes Erhitzen der Lebensmittel (mindestens zwei Minuten bei 70 °C an allen Stellen des Produkts) lassen sich die hier betrachteten Protozoen jedoch abtöten.

Eine vollständige Entfernung dieser Erreger ist vermutlich auch im Trinkwasser nicht gegeben, wie die hier beschriebenen Krankheitsausbrüche durch kontaminiertes Trinkwasser zeigen. Es ist jedoch zu vermuten, dass sich allein wegen der beschriebenen Lebens- und Infektionszyklen dieser Erreger im Abwasser höhere Konzentrationen als im Trinkwasser befinden. Es ist zu prüfen, inwieweit durch eine weitere Aufbereitung eine wirksame Reduktion der Erreger möglich ist.

3.1.4.2 Risikocharakterisierung anhand denkbarer Szenarien

Bei den in dieser einschätzenden Stellungnahme genannten Protozoen ist die Datenlage in unterschiedlichen Bereichen für eine abschließende Risikocharakterisierung derzeit unzureichend. Daher wird der weiteren Risikocharakterisierung bei verschiedenen Bewässerungsformen ein Szenario zugrunde gelegt, in dem angenommen wird, dass durch eine Abwasseraufbereitung Toxoplasmen, Giardien und Kryptosporidien nicht vollständig eliminiert bzw. inaktiviert werden.

3.1.4.2.1 Unterirdische Tropfbewässerung

Es ist möglich, dass mit dem aufbereiteten Abwasser infektiöse humanpathogene Protozoen wie Toxoplasmen, Giardien und Kryptosporidien sowohl in den Boden selbst als auch auf im Boden wachsende Pflanzenteile gelangen und dort über längere Zeiträume infektiös bleiben. Eine Kontamination oberirdisch wachsender Pflanzenteile ist möglich, insbesondere durch den Übertrag aus kontaminierten Bereichen auf die essbaren Pflanzenteile. Dies kann beispielsweise bei der Ernte geschehen. Eine Aufnahme der Erreger über das Wurzelsystem der Pflanze ist unwahrscheinlich.

In diesem Szenario ist die Wahrscheinlichkeit der Kontamination von im Boden wachsenden Pflanzenteilen, die zum Verzehr vorgesehen sind, als hoch einzuschätzen. Die Wahrscheinlichkeit der Kontamination von oberirdisch wachsenden Pflanzenteilen wird dagegen geringer eingeschätzt.

3.1.4.2.2 Oberirdische Tropfbewässerung

Es ist möglich, dass mit dem aufbereiteten Abwasser infektiöse humanpathogene Protozoen wie Toxoplasmen, Giardien und Kryptosporidien sowohl in den Boden selbst als auch auf im Boden wachsende Pflanzenteile gelangen und dort über längere Zeiträume infektiös bleiben. Weiterhin ist eine Kontamination oberirdisch wachsender Pflanzenteile möglich, wenn bodennahe Pflanzenteile direkt mit aufbereitetem Abwasser in Kontakt kommen oder erregerbefahete Bodenpartikel auf die Pflanze gelangen.

In diesem Szenario ist die Wahrscheinlichkeit der Kontamination von im Boden wachsenden Pflanzenteilen, die zum Verzehr vorgesehen sind, als hoch einzuschätzen. Die Wahrscheinlichkeit der Kontamination oberirdisch wachsender Pflanzenteile ist durch die Möglichkeit der Verbringung von kontaminierten Bodenpartikeln, beispielsweise während der Ernte, auf essbare Pflanzenteile als mäßig einzuschätzen.

3.1.4.2.3 Wasserführende Gräben

Es ist möglich, dass mit dem aufbereiteten Abwasser infektiöse humanpathogene Protozoen wie Toxoplasmen, Giardien und Kryptosporidien sowohl in den Boden selbst als auch auf im Boden wachsende Pflanzenteile gelangen und dort über längere Zeiträume infektiös bleiben. Von einer Kontamination der im Boden wachsenden Pflanzenteile ist auszugehen. Eine Kontamination oberirdisch wachsender Pflanzenteile mit Protozoen ist ebenfalls möglich, wenn Pflanzenteile mit dem aufbereiteten Abwasser direkt in Kontakt kommen (z. B. bei überlaufenden Wassergräben, Wasserspritzer aus den Wassergräben oder das Verbringen erregerbefaheter Bodenpartikel durch Wasser).

In diesem Szenario ist die Wahrscheinlichkeit der Kontamination von im Boden wachsenden Pflanzenteilen, die zum Verzehr vorgesehen sind, als hoch einzuschätzen. Die Wahrscheinlichkeit der Kontamination von oberirdisch wachsenden Pflanzenteilen, die zum Verzehr vorgesehen sind, wird als mäßig bis hoch eingeschätzt.

3.1.4.2.4 Beregnungssystem

Es ist möglich, dass mit dem aufbereiteten Abwasser infektiöse humanpathogene Protozoen wie Toxoplasmen, Giardien und Kryptosporidien sowohl in den Boden selbst als auch auf im Boden wachsende Pflanzenteile gelangen und dort über längere Zeiträume infektiös bleiben. Aus diesem Grund ist bei dieser Art von Bewässerung von einer Kontamination sowohl von oberirdisch als auch von im Boden wachsenden Pflanzenteilen auszugehen.

In diesem Szenario ist die Wahrscheinlichkeit der Kontamination von oberirdisch oder im Boden wachsenden Pflanzenteilen, die zum Verzehr vorgesehen sind, als hoch einzuschätzen.

3.1.4.2.5 Hydroponische Kultur

Es ist möglich, dass sich in dem aufbereiteten Abwasser infektiöse humanpathogene Protozoen, wie Toxoplasmen, Giardien und Kryptosporidien, befinden, welche über längere Zeiträume infektiös bleiben. Von einer Kontamination der im Wasser wachsenden Pflanzenteile ist

auszugehen. Eine Kontamination anderer Pflanzenteile ist möglich, wenn diese in direkten Kontakt mit dem Bewässerungswasser kommen.

In diesem Szenario ist das Risiko der Kontamination von im Wasser wachsenden Pflanzenteilen, die zum Verzehr vorgesehen sind, als hoch einzuschätzen. Das Risiko der Kontamination von anderen Pflanzenteilen, die zum Verzehr vorgesehen sind, wird als gering eingeschätzt, wenngleich solche Kontaminationen nicht ausgeschlossen werden können.

3.1.4.3 Bewertung der Qualität der Daten

Grundlage der vorliegenden einschätzenden Stellungnahme zur möglichen Infektion des Menschen durch den Verzehr von Obst und Gemüse, das beim Anbau mit aufbereiteten Abwässern bewässert wurde, waren verfügbare Daten aus dem öffentlichen Gesundheitswesen in Deutschland, der EFSA und der wissenschaftlichen Literatur. Die Qualität der vorhandenen Daten und Informationen bezogen auf die Eigenschaften der Protozoen, deren Übertragung auf den Menschen sowie die von diesen Erregern ausgelösten Erkrankungen ist als zufriedenstellend einzuschätzen.

Kryptosporidien

Daten zum Vorkommen von Kryptosporidien auf frischen pflanzlichen Lebensmitteln, in Böden und aufbereiteten Abwässern sind vorhanden, allerdings gibt es derzeit aufgrund fehlender Infektiositäts-Assays kaum Aussagen zu der Infektiosität der gefundenen Oozysten.

Giardien

Auch die Datenqualität zum Vorkommen von Giardien in Wasser und auf frischen pflanzlichen Lebensmitteln wird als zufriedenstellend angesehen. Die Qualität der Daten hinsichtlich der Stabilität von Giardien im Boden und in Wasser sowie die Datenqualität bezüglich der Reduktion von Giardien im Rahmen der Behandlung bzw. der Aufbereitung von Abwasser wird ebenfalls als zufriedenstellend beurteilt. Daten zur Stabilität von Giardien auf frischem Obst und Gemüse liegen derzeit nur in sehr geringem Umfang vor. In Kombination jedoch mit den Daten zur Stabilität in Boden und Wasser lassen sie eine tendenzielle Abschätzung hinsichtlich der Stabilität auf diesen Lebensmitteln zu. Unzureichend sind gegenwärtig jedoch die Daten zu lebensmittelbedingten Krankheitsausbrüchen durch Giardien.

Toxoplasmen

Die Datenlage zum Vorkommen von *T. gondii* in Abwasser in Deutschland und Europa ist derzeit sehr begrenzt. In Deutschland gibt es bislang nur wenige kleine, jedoch keine repräsentativen Studien zum Vorkommen von *T. gondii* in Abwasser generell oder in verschiedenen Abschnitten von Abwasserbehandlungsanlagen, die verlässliche Daten zum Vorkommen und der Wirksamkeit verschiedener Behandlungs- oder Aufbereitungstechniken zuließen. Darüber hinaus werden standardisierte Methoden für den sensitiven Nachweis in der Matrix Wasser – die anfällig für die PCR Inhibition ist – benötigt, um verlässliche Aussagen treffen zu können.

3.1.4.4 Forschungsbedarf

Um Daten zur weitergehenden Bewertung der Risiken durch Protozoen bei der Verwendung von aufbereitetem Abwasser zu generieren, wäre Forschung in folgenden Bereichen notwendig:

- Entwicklung von standardisierten Methoden zum Nachweis von infektiösen Protozoen auf Lebensmitteln (bisher nur zum Teil vorhanden und nicht ubiquitär anwendbar)
- weitere Studien zur Verbesserung der Datenlage hinsichtlich der Stabilität von Protozoen auf frischen pflanzlichen Lebensmitteln unter Berücksichtigung der jeweiligen Anbau- und Lagerbedingungen
- Entwicklung weiterer Methoden zur chemischen/physikalischen Inaktivierung/ Eliminierung von Protozoen bei der Aufbereitung von Abwässern. Hierbei könnten z. B. *Cryptosporidium*-Oozysten als Referenzpathogen eingesetzt werden, da sie eine höhere Resistenz aufweisen als *Giardia*-Zysten oder *T. gondii*-Oozysten
- Prüfung wirksamer Inaktivierungsmethoden von Kryptosporidien, Giardien und Toxoplasmen bei der Wasseraufbereitung hinsichtlich der Pflanzen- und Umweltverträglichkeit, der Rückstandsproblematik und möglicher negativer Auswirkungen auf die menschliche Gesundheit
- Vergleich der zur Verfügung stehenden und üblicherweise angewandten Inaktivierungsmethoden bei Trinkwasser und Abwasser und deren Auswirkungen auf die mikrobiologische Beschaffenheit des behandelten Wassers insbesondere im Hinblick auf widerstandsfähige humanpathogene Protozoen – „best practices“

4 Handlungsrahmen, Empfehlungen von Maßnahmen

4.1 Begrenzung der Nutzung von aufbereitetem Abwasser für die Bewässerung

Aufgrund des Ergebnisses der Risikocharakterisierung (Kapitel 3.1.4) ist generell zu empfehlen, für Pflanzen, die für den Rohverzehr vorgesehen sind, nur Bewässerungswasser mit einer mit Trinkwasser vergleichbaren Qualität zu verwenden. Es wird davon ausgegangen, dass Bewässerungswasser mit Trinkwasser-Qualität aus Sicht der hier beschriebenen Protozoen die geringste Belastung aufweist. Die WHO Guidance on Potable Reuse empfiehlt als Standardleistungsziel (Default Performance Target) für eine sichere Aufbereitung von Abwasser für die Nutzung als Trinkwasser eine Reduktion von 8,5 log₁₀-Stufen enterischer Protozoen (*Cryptosporidium*) (WHO, 2017). Auch wenn dies kein direkter Richtwert für die konkrete Validierung von Abwasseraufbereitungsanlagen darstellt, weist diese Empfehlung der WHO dennoch darauf hin, dass sehr hohe Anforderungen nötig sind, um humanpathogene Protozoen im aufbereiteten Abwasser weitestgehend zu reduzieren.

Bei Pflanzen, die nicht roh verzehrt werden, sind gesundheitliche Beeinträchtigungen durch die Bewässerung mit aufbereitetem Abwasser nicht zu erwarten, solange sichergestellt werden kann, dass eine ausreichende Erhitzung der Lebensmittel vor dem Verzehr erfolgt.

Eine Sonderstellung nehmen mitunter die Pflanzen ein, bei denen der essbare Teil nicht der direkten Bewässerung ausgesetzt ist. Ein Beispiel hierfür ist die Bewässerung von Obstbäumen. Bei der Bewässerung dieser Pflanzen mit aufbereitetem Abwasser sind gesundheitliche Beeinträchtigungen nicht zu erwarten, wenn sichergestellt werden kann, dass beispielsweise tragende Früchte als essbarer Teil nicht mit dem Bewässerungswasser in Berührung kommen. Fallobst wäre in diesem Fall dann jedoch nicht mehr für den Rohverzehr geeignet. Zusätzlich muss erwähnt werden, dass ein Eintrag der Erreger auf die zu bewässernden Lebensmittel auch aus der Umwelt erfolgen kann. Ein zusätzlicher Eintrag über das Bewässerungswasser erhöht damit das Risiko für Verbraucherinnen und Verbraucher, sich mit diesen Erregern zu infizieren und sollte daher vermieden werden.

4.2 Prüfung auf Protozoen bei der Validierung von Abwasser-Aufbereitungsverfahren

Insgesamt werden die in der Verordnung (EU) 2020/741 genannten Regelungen und Parameter zur Validierung von neuen und bestehenden Aufbereitungseinrichtungen als nicht ausreichend betrachtet, um in jedem Fall eine sichere Entfernung von humanpathogenen Protozoen aus dem Abwasser zu gewährleisten. Denn die im Anhang 1, Abschnitt 2, Tabelle 4 der Verordnung (EU) 2020/741 genannten Parameter (*Clostridium perfringens*-Sporen/ sporenbildende sulfatreduzierende Bakterien) für die Validierung einer neuen Aufbereitungseinrichtung müssen im Hinblick auf die Eignung als Indikatorkeime kritisch gesehen werden.

Bei den hier beschriebenen Indikatoren handelt es sich nicht um Protozoen, sondern um bakterielle Sporen. Zwar kann von einer hohen Stabilität der Sporen ausgegangen werden, dennoch ist eine Deckungsgleichheit der Reduktionsbewertungen zu den angegebenen log-Reduktionen fraglich, insbesondere weil für die hier betrachteten Protozoen sehr geringe Infektionsdosen zu Erkrankungen führen können, wie in Kapitel [3.1.1](#) bereits dargestellt. Zudem bedeutet ein Fehlen dieses Indikatorkeims, wie in der Verordnung beschrieben, nach Einschätzung des BfR nicht automatisch auch eine tatsächliche Abwesenheit von Protozoen. Nach Ansicht des BfR wäre es daher sinnvoll, die in der Verordnung (EU) 2020/741 formulierte Alternative zu verfolgen, dass auch Kryptosporidien als ein Referenzpathogen für Protozoen herangezogen werden können und hierfür nach Möglichkeit eine geeignete Nachweismethode zu entwickeln.

Weitere Informationen auf der BfR-Website zum Thema:

BfR-Stellungnahme Nr. 021/2020 „Aufbereitete Abwässer: Bakterielle Krankheitserreger auf frischem Obst und Gemüse vermeiden“:

<https://www.bfr.bund.de/cm/343/aufbereitete-abwaesser-bakterielle-krankheitserreger-auf-frischem-obst-und-gemuese-vermeiden.pdf>

BfR-Stellungnahme 019/2022 „Aufbereitete Abwässer: Virale Krankheitserreger auf pflanzlichen Lebensmitteln vermeiden“:

<https://www.bfr.bund.de/cm/343/aufbereitete-abwaesser-virale-krankheitserreger-auf-pflanzlichen-lebensmitteln-vermeiden.pdf>

5 Referenzen

- Aberg, R., Sjomán, M., Hemminki, K., Pirnes, A., Rasanen, S., Kalanti, A., Pohjanvirta, T., Caccio, S.M., Pihlajasaari, A., Toikkanen, S., Huusko, S., and Rimhanen-Finne, R. (2015). *Cryptosporidium parvum* Caused a Large Outbreak Linked to Frisée Salad in Finland, 2012. *Zoonoses Public Health* 62, 618-624.
- Adam, E.A., Yoder, J.S., Gould, L.H., Hlavsa, M.C., and Gargano, J.W. (2016). Giardiasis outbreaks in the United States, 1971-2011. *Epidemiol Infect* 144, 2790-2801.
- Adam, R.D. (2001). Biology of *Giardia lamblia*. *Clin Microbiol Rev* 14, 447-475.
- Adeyemo, F.E., Singh, G., Reddy, P., Bux, F., and Stenstrom, T.A. (2019). Efficiency of chlorine and UV in the inactivation of *Cryptosporidium* and *Giardia* in wastewater. *PLoS One* 14, e0216040.
- Ajonina, C., Buzie, C., Ajonina, I.U., Basner, A., Reinhardt, H., Gulyas, H., Liebau, E., and Otterpohl, R. (2012). Occurrence of *Cryptosporidium* in a wastewater treatment plant in North Germany. *J Toxicol Environ Health A* 75, 1351-1358.
- Ajonina, C., Buzie, C., Möller, J., and Otterpohl, R. (2018). The detection of *Entamoeba histolytica* and *Toxoplasma gondii* in wastewater. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A* 81, 1-5.
- Alemu, G., Mama, M., Misker, D., and Haftu, D. (2019). Parasitic contamination of vegetables marketed in Arba Minch town, southern Ethiopia. *BMC Infect Dis* 19, 410.
- Amoros, I., Alonso, J.L., and Cuesta, G. (2010). *Cryptosporidium* oocysts and giardia cysts on salad products irrigated with contaminated water. *J Food Prot* 73, 1138-1140.
- Bahia-Oliveira, L., Gomez-Marin, J., and Shapiro, K. (2017). "Toxoplasma gondii," in *Water and Sanitation for the 21st Century: Health and Microbiological Aspects of Excreta and Wastewater Management (Global Water Pathogen Project)*. (R. Fayer and W. Jakubowski (eds), Part 3: Specific Excreted Pathogens: Environmental and Epidemiology Aspects - Section 3: Protists), eds. J.B. Rose & B. Jimenez-Cisneros. (Michigan State University: E. Lansing, MI, UNESCO).

- Balasundaram, M.B., Andavar, R., Palaniswamy, M., and Venkatapathy, N. (2010). Outbreak of acquired ocular toxoplasmosis involving 248 patients. *Arch Ophthalmol* 128, 28-32.
- Bechlars, S., Bier, N., Strauch, E., and Dieckmann, R. (2014). "Analysis of potential virulence factors of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from German coastal waters", in: *Conference VIBRIO 2014*. (Edinburgh, UK Abstract book).
- Benenson, M.W., Takafuji, E.T., Lemon, S.M., Greenup, R.L., and Sulzer, A.J. (1982). Oocyst-transmitted toxoplasmosis associated with ingestion of contaminated water. *N Engl J Med* 307, 666-669.
- BfR (2018). "Wildfleisch: Gesundheitliche Bewertung von humanpathogenen Parasiten".).
- BfR (2020). "Aufbereitete Abwässer: Bakterielle Krankheitserreger auf frischem Obst und Gemüse vermeiden".).
- Bouzid, M., Hunter, P.R., Chalmers, R.M., and Tyler, K.M. (2013). *Cryptosporidium* pathogenicity and virulence. *Clin Microbiol Rev* 26, 115-134.
- Bowie, W.R., King, A.S., Werker, D.H., Isaac-Renton, J.L., Bell, A., Eng, S.B., and Marion, S.A. (1997). Outbreak of toxoplasmosis associated with municipal drinking water. The BC Toxoplasma Investigation Team. *Lancet* 350, 173-177.
- Budu-Amoako, E., Greenwood, S.J., Dixon, B.R., Barkema, H.W., and McClure, J.T. (2011). Foodborne illness associated with *Cryptosporidium* and *Giardia* from livestock. *J Food Prot* 74, 1944-1955.
- Buret, A.G., Caccio, S.M., Favennec, L., and Svard, S. (2020). Update on *Giardia*: Highlights from the seventh International *Giardia* and *Cryptosporidium* Conference. *Parasite* 27, 49.
- Burnett, M.W. (2018). *Giardiasis*. *J Spec Oper Med* 18, 106-107.
- Caccio, S.M. (2004). [New methods for the diagnosis of *Cryptosporidium* and *Giardia*]. *Parassitologia* 46, 151-155.
- Caccio, S.M., and Chalmers, R.M. (2016). Human cryptosporidiosis in Europe. *Clin Microbiol Infect* 22, 471-480.
- Caccio, S.M., De Giacomo, M., Aulicino, F.A., and Pozio, E. (2003). *Giardia* cysts in wastewater treatment plants in Italy. *Appl Environ Microbiol* 69, 3393-3398.
- Caradonna, T., Marangi, M., Del Chierico, F., Ferrari, N., Reddel, S., Bracaglia, G., Normanno, G., Putignani, L., and Giangaspero, A. (2017). Detection and prevalence of protozoan parasites in ready-to-eat packaged salads on sale in Italy. *Food Microbiol* 67, 67-75.
- Carter, B.L., Chalmers, R.M., and Davies, A.P. (2020). Health sequelae of human cryptosporidiosis in industrialised countries: a systematic review. *Parasit Vectors* 13, 443.

- Carter, E.R., Nabarro, L.E., Hedley, L., and Chiodini, P.L. (2018). Nitroimidazole-refractory giardiasis: a growing problem requiring rational solutions. *Clin Microbiol Infect* 24, 37-42.
- Certad, G., Viscogliosi, E., Chabe, M., and Caccio, S.M. (2017). Pathogenic Mechanisms of Cryptosporidium and Giardia. *Trends Parasitol* 33, 561-576.
- Chalmers, R.M., Robertson, L.J., Dorny, P., Jordan, S., Kärssin, A., Katzer, F., La Carbona, S., Lalle, M., Lassen, B., Mladineo, I., Rozycki, M., Bilaska-Zajac, E., Schares, G., Mayer-Scholl, A., Trevisan, C., Tysnes, K., Vasilev, S., and Klotz, C. (2020). Parasite detection in food: Current status and future needs for validation. *Trends in Food Science & Technology* 99, 337-350.
- Connell, K., Clancy, J., Reglo, S., Messner, M., Rodgers, C., Fricker, C., and Telliard, W.A. (2001). Discussion of: 'Evaluation of USEPA Method 1622 for Detection of Cryptosporidium Oocysts in Stream Waters'. *American Water Works Association* 93, 106-109.
- Davies, A.P., and Chalmers, R.M. (2009). Cryptosporidiosis. *BMJ* 339, b4168.
- Dawson, D. (2005). Foodborne protozoan parasites. *Int J Food Microbiol* 103, 207-227.
- De Moura, L., Bahia-Oliveira, L.M., Wada, M.Y., Jones, J.L., Tuboi, S.H., Carmo, E.H., Ramalho, W.M., Camargo, N.J., Trevisan, R., Graça, R.M., Da Silva, A.J., Moura, I., Dubey, J.P., and Garrett, D.O. (2006). Waterborne toxoplasmosis, Brazil, from field to gene. *Emerg Infect Dis* 12, 326-329.
- Dixon, B.R. (2021). Giardia duodenalis in humans and animals - Transmission and disease. *Res Vet Sci* 135, 283-289.
- Doganci, L., Tanyuksel, M., Araz, E.R., Besirbellioglu, B.A., Erdem, U., Ozoguz, C.A., Yucel, N., and Ciftcioglu, A. (2006). A probable outbreak of toxoplasmosis among boarding school students in Turkey. *Clin Microbiol Infect* 12, 672-674.
- Dubey, J.P. (1998). Toxoplasma gondii oocyst survival under defined temperatures. *J Parasitol* 84, 862-865.
- Dubey, J.P. (2021). Outbreaks of clinical toxoplasmosis in humans: five decades of personal experience, perspectives and lessons learned. *Parasites & Vectors* 14, 263.
- Dubey, J.P., and Frenkel, J.K. (1972). Cyst-induced toxoplasmosis in cats. *J Protozool* 19, 155-177.
- Dubey, J.P., Lindsay, D.S., and Speer, C.A. (1998). Structures of Toxoplasma gondii Tachyzoites, Bradyzoites, and Sporozoites and Biology and Development of Tissue Cysts. *Clinical Microbiology Reviews* 11, 267-299.
- Dubey, J.P., Lunney, J.K., Shen, S.K., Kwok, O.C., Ashford, D.A., and Thulliez, P. (1996). Infectivity of low numbers of Toxoplasma gondii oocysts to pigs. *J. Parasitol.* 82, 438-443.

- Dubey, J.P., Miller, N.L., and Frenkel, J.K. (1970). The *Toxoplasma gondii* oocyst from cat feces. *The Journal of experimental medicine* 132, 636-662.
- Dumètre, A., and Dardé, M.-L. (2003). How to detect *Toxoplasma gondii* oocysts in environmental samples? *FEMS Microbiology Reviews* 27, 651-661.
- Dumetre, A., Le Bras, C., Baffet, M., Meneceur, P., Dubey, J.P., Derouin, F., Duguet, J.P., Joyeux, M., and Moulin, L. (2008). Effects of ozone and ultraviolet radiation treatments on the infectivity of *Toxoplasma gondii* oocysts. *Vet Parasitol* 153, 209-213.
- Dunn, D., Wallon, M., Peyron, F., Petersen, E., Peckham, C., and Gilbert, R. (1999). Mother-to-child transmission of toxoplasmosis: risk estimates for clinical counselling. *The Lancet* 353, 1829-1833.
- DVG (2021). *Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft : DVG gelistete Desinfektionsmittel* [Online]. Available: <https://www.desinfektion-dvg.de/index.php?id=2150> [Accessed November 2021].
- ECDC (2019). "European Centre for Disease Prevention and Control: Cryptosporidiosis - Annual Epidemiological Report for 2017", in: *Annual Epidemiological Report on Communicable Diseases in Europe*. (Stockholm: ECDC).
- EFSA (2007). Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards on a request from EFSA on Surveillance and monitoring of *Toxoplasma* in humans, foods and animals. *The EFSA Journal* 583, 1-64.
- Ekman, C.C., Chiossi, M.F., Meireles, L.R., Andrade Junior, H.F., Figueiredo, W.M., Marciano, M.A., and Luna, E.J. (2012). Case-control study of an outbreak of acute toxoplasmosis in an industrial plant in the state of Sao Paulo, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 54, 239-244.
- Erdog̃Rul, Ö., and Şener, H. (2005). The contamination of various fruit and vegetable with *Enterobius vermicularis*, *Ascaris* eggs, *Entamoeba histolyca* cysts and *Giardia* cysts. *Food Control* 16, 557-560.
- Erickson, M.C., and Ortega, Y.R. (2006). Inactivation of protozoan parasites in food, water, and environmental systems. *J Food Prot* 69, 2786-2808.
- Escobedo, A.A., Lalle, M., Hrastnik, N.I., Rodríguez-Morales, A.J., Castro-Sánchez, E., Cimerman, S., Almirall, P., and Jones, J. (2016). Combination therapy in the management of giardiasis: What laboratory and clinical studies tell us, so far. *Acta Trop* 162, 196-205.
- Feng, Y., and Xiao, L. (2011a). Zoonotic potential and molecular epidemiology of *Giardia* species and giardiasis. *Clin Microbiol Rev* 24, 110-140.
- Feng, Y., and Xiao, L. (2011b). Zoonotic Potential and Molecular Epidemiology of *Giardia* Species and Giardiasis. *Clinical Microbiology Reviews* 24, 110-140.
- Frenkel, J.K., Ruiz, A., and Chinchilla, M. (1975). Soil survival of *Toxoplasma* oocysts in Kansas and Costa Rica. *Am J Trop Med Hyg* 24, 439-443.

- Galal, L., Hamidović, A., Dardé, M.L., and Mercier, M. (2019). Diversity of *Toxoplasma gondii* strains at the global level and its determinants. *Food and Waterborne Parasitology* 15, e00052.
- Gallas-Lindemann, C., Sotiriadou, I., Mahmoodi, M.R., and Karanis, P. (2013a). Detection of *Toxoplasma gondii* oocysts in different water resources by Loop Mediated Isothermal Amplification (LAMP). *Acta Trop* 125, 231-236.
- Gallas-Lindemann, C., Sotiriadou, I., Plutzer, J., and Karanis, P. (2013b). Prevalence and distribution of *Cryptosporidium* and *Giardia* in wastewater and the surface, drinking and ground waters in the Lower Rhine, Germany. *Epidemiol Infect* 141, 9-21.
- Gertler, M., Durr, M., Renner, P., Poppert, S., Askar, M., Breidenbach, J., Frank, C., Preussel, K., Schielke, A., Werber, D., Chalmers, R., Robinson, G., Feuerpfeil, I., Tannich, E., Groger, C., Stark, K., and Wilking, H. (2015). Outbreak of *Cryptosporidium hominis* following river flooding in the city of Halle (Saale), Germany, August 2013. *BMC Infect Dis* 15, 88.
- Guggisberg, A.R., Alvarez Rojas, C.A., Kronenberg, P.A., Miranda, N., and Deplazes, P. (2020). A Sensitive, One-Way Sequential Sieving Method to Isolate Helminths' Eggs and Protozoal Oocysts from Lettuce for Genetic Identification. *Pathogens* 9.
- Guzman-Herrador, B., Carlander, A., Ethelberg, S., Freiesleben De Blasio, B., Kuusi, M., Lund, V., Löfdahl, M., Macdonald, E., Nichols, G., Schönning, C., Sudre, B., Trönberg, L., Vold, L., Semenza, J.C., and Nygård, K. (2015). Waterborne outbreaks in the Nordic countries, 1998 to 2012. *Euro Surveill* 20.
- Halliez, M.C., and Buret, A.G. (2013). Extra-intestinal and long term consequences of *Giardia duodenalis* infections. *World J Gastroenterol* 19, 8974-8985.
- Hamilton, K.A., Waso, M., Reyneke, B., Saeidi, N., Levine, A., Lalancette, C., Besner, M.C., Khan, W., and Ahmed, W. (2018). *Cryptosporidium* and *Giardia* in Wastewater and Surface Water Environments. *J Environ Qual* 47, 1006-1023.
- Heyworth, M.F. (2016). *Giardia duodenalis* genetic assemblages and hosts. *Parasite* 23, 13.
- Hill, D., and Dubey, J.P. (2002). *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. *Clinical Microbiology and Infection* 8, 634-640.
- Howe, D.K., and Sibley, L.D. (1995). *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease. *J Infect Dis* 172, 1561-1566.
- Jones, J.L., and Dubey, J.P. (2010). Waterborne toxoplasmosis – Recent developments. *Experimental Parasitology* 124, 10-25.
- Kafetzis, D.A., Maltezou, H.C., Zafeiropoulou, A., Attilakos, A., Stavrinadis, C., and Foustoukou, M. (2001). Epidemiology, clinical course and impact on hospitalization costs of acute diarrhea among hospitalized children in Athens, Greece. *Scand J Infect Dis* 33, 681-685.

- Karanis, P., Schoenen, D., and Seitz, H.M. (1998). Distribution and removal of Giardia and Cryptosporidium in water supplies in Germany. *Water Treatment-Microorganisms and Particles* 37, 9-18.
- Kim, M., Shapiro, K., Rajal, V.B., Packham, A., Aguilar, B., Rueda, L., and Wuertz, S. (2021). Quantification of viable protozoan parasites on leafy greens using molecular methods. *Food Microbiol* 99, 103816.
- Kitowska, W., Milczarek, M., and Sadkowska-Todys, M. (2019). Giardiasis (lambliasis) in Poland in 2017. *Przegl Epidemiol* 73, 499-509.
- Kohli, A., Bushen, O.Y., Pinkerton, R.C., Houpt, E., Newman, R.D., Sears, C.L., Lima, A.A., and Guerrant, R.L. (2008). Giardia duodenalis assemblage, clinical presentation and markers of intestinal inflammation in Brazilian children. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 102, 718-725.
- Kucik, C.J., Martin, G.L., and Sortor, B.V. (2004). Common intestinal parasites. *Am Fam Physician* 69, 1161-1168.
- Lass, A., Pietkiewicz, H., Szostakowska, B., and Myjak, P. (2012). The first detection of Toxoplasma gondii DNA in environmental fruits and vegetables samples. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 31, 1101-1108.
- Lebwohl, B., Deckelbaum, R.J., and Green, P.H. (2003). Giardiasis. *Gastrointest Endosc* 57, 906-913.
- Leung, A.K.C., Leung, A.a.M., Wong, A.H.C., Sergi, C.M., and Kam, J.K.M. (2019). Giardiasis: An Overview. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov* 13, 134-143.
- Li, J., Wang, Z., Karim, M.R., and Zhang, L. (2020). Detection of human intestinal protozoan parasites in vegetables and fruits: a review. *Parasit Vectors* 13, 380.
- Li, X.L., Wei, H.X., Zhang, H., Peng, H.J., and Lindsay, D.S. (2014). A meta analysis on risks of adverse pregnancy outcomes in Toxoplasma gondii infection. *PLoS One* 9, e97775.
- Logalbo, P.R., Sampson, H.A., and Buckley, R.H. (1982). Symptomatic giardiasis in three patients with X-linked agammaglobulinemia. *J Pediatr* 101, 78-80.
- Lopez-Romero, G., Quintero, J., Astiazarán-García, H., and Velazquez, C. (2015). Host defences against Giardia lamblia. *Parasite Immunol* 37, 394-406.
- López Ureña, N. M., Chaudhry, U., Calero Bernal, R., Cano Alsua, S., Messina, D., Evangelista, F., Betson, M., Lalle, M., Jokelainen, P., Ortega Mora, L. M., Álvarez García, G. (2022). Contamination of Soil, Water, Fresh Produce, and Bivalve Mollusks with Toxoplasma gondii Oocysts: A Systematic Review. *Microorganisms* 10, 1-38.
- Marangi, M., Giangaspero, A., Lacasella, V., Lonigro, A., and Gasser, R.B. (2015). Multiplex PCR for the detection and quantification of zoonotic taxa of Giardia, Cryptosporidium and Toxoplasma in wastewater and mussels. *Mol Cell Probes* 29, 122-125.
- Marques, C.S., Sousa, S., Castro, A., and Da Costa, J.M.C. (2020). Detection of Toxoplasma gondii oocysts in fresh vegetables and berry fruits. *Parasites & Vectors* 13, 180.

- Mclauchlin, J., Amar, C., Pedraza-Díaz, S., and Nichols, G.L. (2000). Molecular epidemiological analysis of *Cryptosporidium* spp. in the United Kingdom: results of genotyping *Cryptosporidium* spp. in 1,705 fecal samples from humans and 105 fecal samples from livestock animals. *J Clin Microbiol* 38, 3984-3990.
- Meireles, L.R., Ekman, C.C.J., De Andrade, H.F., and Luna, E.J.D.A. (2015). Human toxoplasmosis outbreaks and the agent infecting form. Findings from a systematic review. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 57, 369-376.
- Morais, R.D.a.P.B., Freire, A.B.C., Barbosa, D.R.L., Silva, L.D.C.T.D., Pinheiro, A.F., Costa, S.S.D., Ramos, F.L.D.P., Bichara, C.N.C., Lima, L.J.B., Silva, A.V.D., Souza, S.R.P.D., Piqueira Neto, L.P., Gonçalves, N.V., Póvoa, M.M., and Carmo, E.L.D. (2016). Surto de toxoplasmose aguda no Município de Ponta de Pedras, Arquipélago do Marajó, Estado do Pará, Brasil: características clínicas, laboratoriais e epidemiológicas. *Revista Pan-Amazônica de Saúde* 7, 143-152.
- Moulin, L., Richard, F., Stefania, S., Goulet, M., Gosselin, S., Gonçalves, A., Rocher, V., Paffoni, C., and Dumètre, A. (2010). Contribution of treated wastewater to the microbiological quality of Seine River in Paris. *Water Res* 44, 5222-5231.
- Mylonas, I., Groß, U., Hlobil, H., Friese, K., and Wintergerst, U. (2013). "Toxoplasmose," in *Infektionskrankheiten der Schwangeren und des Neugeborenen*, eds. K. Friese, I. Mylonas & A. Schulze. Springer Verlag).
- Naz, A., Nawaz, Z., Rasool, M.H., and Zahoor, M.A. (2018). Cross-sectional epidemiological investigations of *Giardia lamblia* in children in Pakistan. *Sao Paulo Med J* 136, 449-453.
- Nygaard, K., Schimmer, B., Sobstad, O., Walde, A., Tveit, I., Langeland, N., Hausken, T., and Aavitsland, P. (2006). A large community outbreak of waterborne giardiasis-delayed detection in a non-endemic urban area. *BMC Public Health* 6, 141.
- O'leary, J.K., Blake, L., Corcoran, G.D., Sleator, R.D., and Lucey, B. (2021). Development of a novel, high resolution melting analysis based genotyping method for *Cryptosporidium parvum*. *Eur J Protistol* 79, 125799.
- Pickering, L.K., Woodward, W.E., Dupont, H.L., and Sullivan, P. (1984). Occurrence of *Giardia lamblia* in children in day care centers. *J Pediatr* 104, 522-526.
- Pietrzak, A., Chodorowska, G., Urban, J., Bogucka, V., and Dybiec, E. (2005). Cutaneous manifestation of giardiasis - case report. *Ann Agric Environ Med* 12, 299-303.
- Pinto-Ferreira, F., Caldart, E.T., Pasquali, A.K.S., Mitsuka-Breganó, R., Freire, R.L., and Navarro, I.T. (2019). Patterns of Transmission and Sources of Infection in Outbreaks of Human Toxoplasmosis. *Emerg Infect Dis* 25, 2177-2182.
- Plutzer, J., Ongerth, J., and Karanis, P. (2010). *Giardia* taxonomy, phylogeny and epidemiology: Facts and open questions. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 213, 321-333.

- Porter, J.D., Gaffney, C., Heymann, D., and Parkin, W. (1990). Food-borne outbreak of *Giardia lamblia*. *Am J Public Health* 80, 1259-1260.
- Razzolini, M.T.P., Breternitz, B.S., Kuchkarian, B., and Bastos, V.K. (2020). Cryptosporidium and *Giardia* in urban wastewater: A challenge to overcome. *Environ Pollut* 257, 113545.
- Rendtorff, R.C. (1954). The experimental transmission of human intestinal protozoan parasites. II. *Giardia lamblia* cysts given in capsules. *Am J Hyg* 59, 209-220.
- Resi, D., Varani, S., Sannella, A.R., De Pascali, A.M., Ortalli, M., Liguori, G., Benvenuti, M., Re, M.C., Pirani, R., Prete, L., Mazzetti, C., Musti, M., Pizzi, L., Sanna, T., and Caccio, S.M. (2021). A large outbreak of giardiasis in a municipality of the Bologna province, north-eastern Italy, November 2018 to April 2019. *Euro Surveill* 26.
- RKI (2004). Robert Koch Institut: Kryptosporidiose - RKI-Ratgeber *Epidemiologisches Bulletin* 34, 279-283.
- RKI (2018). Robert Koch-Institut: RKI-Ratgeber Toxoplasmose. *Epidemiologischen Bulletin* 42, 451-457.
- RKI (2020). Robert Koch Institut: Aktuelle Daten und Informationen zu Infektionskrankheiten und Public Health - Epidemiologisches Bulletin. *Epidemiologisches Bulletin* 50, 13-14.
- Robert-Gangneux, F., and Darde, M.L. (2012). Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. *Clinical Microbiology Reviews* 25, 264-296.
- Robertson, L.J., and Gjerde, B. (2001). Occurrence of parasites on fruits and vegetables in Norway. *J Food Prot* 64, 1793-1798.
- Rumsey, P., and Waseem, M. (2021). "Giardia Lamblia Enteritis," in *StatPearls*. (Treasure Island (FL): StatPearls Publishing
- Copyright © 2021, StatPearls Publishing LLC.).
- Ryan, U., Hijjawi, N., Feng, Y., and Xiao, L. (2019). *Giardia*: an under-reported foodborne parasite. *Int J Parasitol* 49, 1-11.
- Rzezutka, A., Nichols, R.A., Connelly, L., Kaupke, A., Kozyra, I., Cook, N., Birrell, S., and Smith, H.V. (2010). Cryptosporidium oocysts on fresh produce from areas of high livestock production in Poland. *Int J Food Microbiol* 139, 96-101.
- Sakkas, H., Economou, V., Bozidis, P., Gousia, P., Papadopoulou, C., and Karanis, P. (2020). Detection of Cryptosporidium and *Giardia* in foods of plant origin in North-Western Greece. *J Water Health* 18, 574-578.
- Schlüter, D., Daubener, W., Schares, G., Gross, U., Pleyer, U., and Luder, C. (2014). Animals are key to human toxoplasmosis. *Int J Med Microbiol* 304, 917-929.
- Shapiro, K., Bahia-Oliveira, L., Dixon, B., Dumètre, A., De Wit, L.A., Vanwormer, E., and Villena, I. (2019). Environmental transmission of *Toxoplasma gondii*: Oocysts in water, soil and food. *Food and Waterborne Parasitology* 15, e00049.

- Slana, I., Bier, N., Bartosova, B., Marucci, G., Possenti, A., Mayer-Scholl, A., Jokelainen, P., and Lalle, M. (2021). Molecular Methods for the Detection of *Toxoplasma gondii* Oocysts in Fresh Produce: An Extensive Review. *Microorganisms* 9, 167.
- Slany, M., Dzedzinska, R., Babak, V., Kralik, P., Moravkova, M., and Slana, I. (2019). *Toxoplasma gondii* in vegetables from fields and farm storage facilities in the Czech Republic. *FEMS Microbiol Lett* 366.
- Sotiriadou, I., and Karanis, P. (2008). Evaluation of loop-mediated isothermal amplification for detection of *Toxoplasma gondii* in water samples and comparative findings by polymerase chain reaction and immunofluorescence test (IFT). *Diagn Microbiol Infect Dis* 62, 357-365.
- Tenter, A.M., and Fehlhauer, K. (2002). Toxoplasmose: Eine lebensmittelübertragene Parasitose. *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz* 45, 549-555.
- Tenter, A.M., Heckerath, A.R., and Weiss, L.M. (2000). *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *Int J Parasitol* 30, 1217-1258.
- Travaillé, E., La Carbona, S., Gargala, G., Aubert, D., Guyot, K., Dumètre, A., Villena, I., and Houssin, M. (2016). Development of a qRT-PCR method to assess the viability of *Giardia intestinalis* cysts, *Cryptosporidium* spp. and *Toxoplasma gondii* oocysts. *Food Control* 59, 359-365.
- UBA (2020). "Viren und Parasiten in Abwasser und Flüssen sowie Handlungsempfehlungen für Flüsse mit kurzzeitigen Verschmutzungen; Abschlussbericht Umweltbundesamt (FKZ 02WRM1364B)".
- Utaaker, K.S., Skjerve, E., and Robertson, L.J. (2017). Keeping it cool: Survival of *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts on lettuce leaves. *Int J Food Microbiol* 255, 51-57.
- Van Pelt, A.E., Quinones, B., Lofgren, H.L., Bartz, F.E., Newman, K.L., and Leon, J.S. (2018). Low Prevalence of Human Pathogens on Fresh Produce on Farms and in Packing Facilities: A Systematic Review. *Front Public Health* 6, 40.
- Vanwormer, E., Fritz, H., Shapiro, K., Mazet, J.A., and Conrad, P.A. (2013). Molecules to modeling: *Toxoplasma gondii* oocysts at the human-animal-environment interface. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 36, 217-231.
- Wainwright, K.E., Lagunas-Solar, M., Miller, M.A., Barr, B.C., Gardner, I.A., Pina, C., Melli, A.C., Packham, A.E., Zeng, N., Truong, T., and Conrad, P.A. (2007a). Physical inactivation of *Toxoplasma gondii* oocysts in water. *Applied and environmental microbiology* 73, 5663-5666.
- Wainwright, K.E., Miller, M.A., Barr, B.C., Gardner, I.A., Melli, A.C., Essert, T., Packham, A.E., Truong, T., Lagunas-Solar, M., and Conrad, P.A. (2007b). Chemical inactivation of *Toxoplasma gondii* oocysts in water. *Journal of Parasitology* 93, 925-931.
- Ware, M.W., Augustine, S.a.J., Erisman, D.O., See, M.J., Wymer, L., Hayes, S.L., Dubey, J.P., and Villegas, E.N. (2010). Determining UV inactivation of *Toxoplasma gondii* oocysts

by using cell culture and a mouse bioassay. *Applied and environmental microbiology* 76, 5140-5147.

WHO (2017). Potable reuse: guidance for producing safe drinking-water. ISBN 9789241512770.

WHO (2008). World Health Organization: Guidelines for Drinking-water Quality- Third Edition Incorporating the first and second addenda- Volume 1 Recommendations.

Wilking, H., Thamm, M., Stark, K., Aebischer, T., and Seeber, F. (2016). Prevalence, incidence estimations, and risk factors of *Toxoplasma gondii* infection in Germany: a representative, cross-sectional, serological study. *Scientific Reports* 6, 22551.

Zangerle, R., Allerberger, F., Pohl, P., Fritsch, P., and Dierich, M.P. (1991). High risk of developing toxoplasmic encephalitis in AIDS patients seropositive to *Toxoplasma gondii*. *Med Microbiol Immunol* 180, 59-66.

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.