

DOI 10.17590/20200421-115529

## **Aufbereitete Abwässer: Bakterielle Krankheitserreger auf frischem Obst und Gemüse vermeiden**

Stellungnahme Nr. 021/2020 des BfR vom 21. April 2020

Es ist zu erwarten, dass klimatische Veränderungen in Deutschland und Europa dazu führen, dass auch Pflanzen zum Rohverzehr zunehmend mit aufbereitetem Abwasser bewässert werden. Daher werden auf europäischer Ebene angemessene Anforderungen an das Bewässerungswasser abgestimmt. Vor diesem Hintergrund hat das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) zusammen mit dem Julius Kühn-Institut (JKI) und dem Max Rubner-Institut (MRI) aktuelle Forschungsergebnisse zum Vorkommen von bestimmten bakteriellen Krankheitserregern in aufbereiteten Abwässern sowie Obst und Gemüse ausgewertet. Denn Obst und Gemüse werden wegen ihrer gesunden Inhaltsstoffe von den meisten Menschen gern roh gegessen oder zuvor nur geringfügig verarbeitet - auch von Personen, die für Lebensmittelinfektionen besonders empfänglich sind.

Die wichtigsten bakteriellen Krankheitserreger, die im Abwasser vorkommen und die Menschen durch das Essen von Obst oder Gemüse aufnehmen können, sind Salmonellen, Shigatoxin-bildende *Escherichia coli* (STEC) und *Listeria monocytogenes*. STEC sind krankmachende *E. coli*-Typen, deren gebildetes Shigatoxin im menschlichen Darm wirkt. Wenn sie bei Menschen zu Erkrankungen führen, werden sie als enterohämorrhagische *E. coli* (EHEC) bezeichnet. *Listeria monocytogenes* können bei Schwangeren und Menschen mit geschwächter Immunabwehr schwere Erkrankungen verursachen.

Trotz vergleichsweise seltener Nachweise auf pflanzlichen Lebensmitteln gibt es immer wieder große lebensmittelbedingte Krankheitsausbrüche durch mit Krankheitserregern verunreinigtes Obst und Gemüse. Da die Lebensmittel oft weiträumig vertrieben werden und vergleichsweise schnell verderben, sind sie oft schon verzehrt, bevor die Ausbrüche erkannt und verdächtige Lebensmittel untersucht werden können.

Das Risiko der Allgemeinbevölkerung, nach dem Rohverzehr von frischem Obst oder Gemüse in Deutschland an einer Salmonellose oder STEC-Infektion zu erkranken, wird bisher als gering eingeschätzt. Auch das Risiko, dass Schwangere und Menschen mit geschwächter Immunabwehr in Deutschland nach dem Rohverzehr von Obst und Gemüse an einer Listeriose erkranken, wird trotz der Schwere der Erkrankungen weiterhin als gering eingestuft. Werden Pflanzen zur Produktion von Obst oder Gemüse mit aufbereitetem Abwasser bewässert und später im Ganzen oder in Teilen roh verzehrt, könnten diese Risiken aber ansteigen.

Verbraucherinnen und Verbrauchern wird zum Schutz vor lebensmittelbedingten Infektionen empfohlen, frisches Obst und Gemüse vor dem Verzehr gründlich mit Trinkwasser zu waschen, um den oberflächlichen Keimgehalt zu verringern. Eine vollständige Entfernung von möglicherweise vorhandenen Krankheitserregern ist damit aber nicht möglich. Deshalb kann es sinnvoll sein, bodennah wachsendes Gemüse zu schälen oder zu blanchieren, um das Infektionsrisiko weiter zu senken.

Insbesondere Schwangeren und Personen, deren Abwehrkräfte durch hohes Alter, Vorerkrankungen oder Medikamenteneinnahme geschwächt sind, wird empfohlen, Sprossen vor dem Verzehr ausreichend zu erhitzen und Salate aus frischen und gründlich mit Trinkwasser

gewaschenen Zutaten kurz vor dem Verzehr selbst zuzubereiten. Auf den Verzehr von vorgeschnittenen und verpackten Salaten sollten die genannten Personengruppen besser verzichten.

|  <b>BfR-Risikoprofil:</b><br>Erkrankung durch Salmonellen, STEC oder <i>Listeria monocytogenes</i> nach Verzehr von rohem Obst oder Gemüse<br>Stellungnahme Nr. 021/2020 |   |
|---|---|
| <b>A Betroffen sind</b>   | <b>Allgemeinbevölkerung</b><br>  |
| <b>B Wahrscheinlichkeit einer gesundheitlichen Beeinträchtigung durch Verzehren von rohem Obst oder Gemüse [1]</b>  | Praktisch ausgeschlossen    Unwahrscheinlich <b>Möglich</b> Wahrscheinlich    Gesichert   |
| <b>C Schwere der gesundheitlichen Beeinträchtigung bei Verzehren von rohem Obst oder Gemüse [2]</b>   | Keine Beeinträchtigung    Leichte Beeinträchtigung [reversibel/irreversibel] <b>Mittelschwere Beeinträchtigung [reversibel/irreversibel]</b> Schwere Beeinträchtigung [reversibel/irreversibel]           |
| <b>D Aussagekraft der vorliegenden Daten</b>  | Hoch: Die wichtigsten Daten liegen vor und sind widerspruchsfrei <b>Mittel: Einige wichtige Daten fehlen oder sind widersprüchlich</b> Gering: Zahlreiche wichtige Daten fehlen oder sind widersprüchlich |
| <b>E Kontrollierbarkeit durch Verbraucher [3]</b>   | Kontrolle nicht notwendig <b>Kontrollierbar durch Vorsichtsmaßnahmen</b> Kontrollierbar durch Verzicht    Nicht kontrollierbar  |

|  <b>BfR-Risikoprofil:</b><br>Erkrankung durch Salmonellen, STEC oder <i>Listeria monocytogenes</i> nach Verzehr von rohem Obst oder Gemüse<br>Stellungnahme Nr. 021/2020 |   |
|---|---|
| <b>A Betroffen sind</b>   | <b>Schwangere, Senioren, chronisch Kranke, kleine Kinder</b><br>   |
| <b>B Wahrscheinlichkeit einer gesundheitlichen Beeinträchtigung durch Verzehren von rohem Obst oder Gemüse [1]</b>  | Praktisch ausgeschlossen    Unwahrscheinlich <b>Möglich</b> Wahrscheinlich    Gesichert   |
| <b>C Schwere der gesundheitlichen Beeinträchtigung bei Verzehren von rohem Obst oder Gemüse [2]</b>   | Keine Beeinträchtigung    Leichte Beeinträchtigung [reversibel/irreversibel] <b>Mittelschwere Beeinträchtigung [reversibel/irreversibel]</b> Schwere Beeinträchtigung [reversibel/irreversibel]           |
| <b>D Aussagekraft der vorliegenden Daten</b>  | Hoch: Die wichtigsten Daten liegen vor und sind widerspruchsfrei <b>Mittel: Einige wichtige Daten fehlen oder sind widersprüchlich</b> Gering: Zahlreiche wichtige Daten fehlen oder sind widersprüchlich |
| <b>E Kontrollierbarkeit durch Verbraucher [3]</b>   | Kontrolle nicht notwendig <b>Kontrollierbar durch Vorsichtsmaßnahmen</b> Kontrollierbar durch Verzicht    Nicht kontrollierbar  |

**Erläuterungen**

Die Risikoprofile sollen das in der Stellungnahme beschriebene Risiko visualisieren. Es ist nicht dazu gedacht, Risikovergleiche anzustellen. Die Risikoprofile sollten nur im Zusammenhang mit der Stellungnahme gelesen werden.

**[1] Zeile B – Wahrscheinlichkeit einer gesundheitlichen Beeinträchtigung**

Die Wahrscheinlichkeit einer gesundheitlichen Beeinträchtigung hängt vor allem ab von der Art und Menge der aufgenommenen Krankheitserreger sowie von individuellen Faktoren der Konsumenten, beispielsweise dem Zustand des Immunsystems.

**[2] Zeile C – Schwere der gesundheitlichen Beeinträchtigung:**

Die Schwere der Beeinträchtigung kann abhängig von der Art und Aufnahmemenge möglicher Krankheitserreger variieren. Insbesondere während der Schwangerschaft, bei Säuglingen und kleinen Kindern bis 5 Jahren, Senioren und immungeschwächten Personen sind auch schwerere gesundheitliche Beeinträchtigungen möglich.

**[3] Zeile E - Kontrollierbarkeit durch Verbraucher**

Handlungsempfehlungen werden am Ende der Stellungnahme abgegeben. Sie sind in gekürzter Form auch nachzulesen im grauen Kasten auf den vorigen Seiten, letzter Absatz.

## 1 Gegenstand der Bewertung

Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR), das Julius Kühn-Institut (JKI) und das Max Rubner-Institut (MRI) haben gemeinsam bewertet, inwieweit Menschen durch den Rohverzehr von Obst und Gemüse, welches mit aufbereiteten Abwässern bewässert wurde, mit Krankheitserregern infiziert werden könnten. Thematisiert wurde dabei die Überlebensfähigkeit von Humanpathogenen in Pflanzen. Hintergrund ist ein Vorschlag der Europäischen Kommission für eine Verordnung des Europäischen Parlaments und des Rates über Mindestanforderungen für die Wasserwiederverwendung (Stand 17.06.2019 und neu zu bewertende aktuelle Forschungsergebnisse).

Mit dem vorliegenden Verordnungsvorschlag sollen Mindestanforderungen an aufbereitetes kommunales Abwasser aufgestellt werden, welches zur Bewässerung landwirtschaftlicher Flächen eingesetzt wird. Kommunales Abwasser ist in der Richtlinie 91/271/EWG definiert als häusliches Abwasser oder Gemisch aus häuslichem und industriellem Abwasser und/oder Niederschlagswasser. Demnach handelt es sich bei aufbereiteten kommunalen Abwässern um den Ausfluss aus einer Kläranlage, in der häusliche Abwässer oder Mischwässer geklärt wurden.

Die Mitgliedstaaten können auf Basis der vorgeschlagenen Verordnung zulassen, das Pflanzen mit aufbereitetem kommunalem Abwasser gewässert werden. Die Mitgliedstaaten können jedoch auch für ihr Hoheitsgebiet eine solche Wassernutzung (ganz oder teilweise) verbieten.

Bevor die Nutzung zugelassen wird, muss eine Risikobewertung hinsichtlich Umweltrisiken sowie Risiken für die menschliche und tierische Gesundheit vorgenommen werden. Bei der Risikobewertung, ob eine Nutzung von aufbereitetem kommunalem Abwasser zugelassen wird, sollen neben der EU-Lebensmittelhygieneverordnung auch die bestehenden Regelungen u. a. zu Oberflächen-, Grund- und Trinkwasser (RL 2000/60/EG, 2006/118, 2008/105/EG, 98/83/EG), die Kontaminanten-Verordnung (Nr. 1881/2006) und die MRL-Verordnung (Nr. 396/2005) berücksichtigt werden.

Abhängig vom Ergebnis der Risikobewertung, können auch weitere Qualitätsanforderungen an das Bewässerungswasser gestellt werden, beispielsweise hinsichtlich Schwermetallen, Pestiziden, Desinfektionsmitteln, Arzneimitteln, anderen Substanzen von steigender Besorgnis oder Mikroorganismen mit antimikrobiellen Resistenzen.

Der Verordnungsvorschlag mit Stand vom 17.06.2019 enthält Angaben zur möglichen Verwendung des aufbereiteten Abwassers, Anforderungen an dessen Beschaffenheit, Angaben zu den Untersuchungshäufigkeiten sowie Anforderungen an die Validierung des Aufbereitungsverfahrens. In Tabelle 1 sind Angaben aus diesem Verordnungsvorschlag mit Bedeutung für die quantitative Bestimmung von *Escherichia coli*, als Indikator für das Vorkommen von Darmbakterien, zur besseren Übersicht zusammenfassend dargestellt.

Die vorliegende Stellungnahme thematisiert die mögliche direkte Übertragung von Salmonellen, Shigatoxin-bildenden *Escherichia coli* (STEC) und *Listeria monocytogenes* aus dem aufbereiteten Abwasser und indirekt über den bewässerten Boden in die Pflanzen. Pflanzliche Lebensmittel können über diese Wege aber auch mit weiteren humanpathogenen oder antibiotikaresistenten Bakterien, Viren, Parasiten und chemischen Stoffen kontaminiert werden.

**Tabelle 1: Auszug aus dem Vorschlag der Europäischen Kommission für eine Verordnung des Europäischen Parlaments und des Rates über Mindestanforderungen für die Wasserwiederverwendung (Stand 17.06.2019)**

| Güteklasse des aufbereiteten Wassers | Zielvorgabe für die Technologie              | <i>E. coli</i> (Anzahl/100ml) >90 % der Proben | <i>E. coli</i> (Anzahl/100ml) <10 % der Proben | Mindesthäufigkeit der Überwachung | Kategorie der Kulturpflanzen  | Bewässerungsmethode   |
|--------------------------------------|--|--|--|-----------------------------------|---|---|
| A                                    | Zweitbehandlung, Filtration und Desinfektion | ≤10  | ≤100   | Einmal pro Woche                  | <b>Alle roh verzehrten Nutzpflanzen, einschließlich Hackfrüchten</b> und Nutzpflanzen, deren essbarer Teil unmittelbar mit dem aufbereiteten Wasser in Kontakt kommt  | Alle Bewässerungsmethoden   |
| B                                    | Zweitbehandlung und Desinfektion             | ≤100   | ≤1.000   | Einmal pro Woche                  | <b>Roh verzehrte Nutzpflanzen</b> , deren essbarer Teil über dem Boden erzeugt wird und nicht unmittelbar mit dem aufbereiteten Wasser in Kontakt kommt, verarbeitete Nutzpflanzen und Non-Food-Kulturen, einschließlich Futterkulturen für milch- oder fleischerzeugende Tiere | Alle Bewässerungsmethoden   |
| C                                    | Zweitbehandlung und Desinfektion             | ≤1.000   | ≤10.000  | Zweimal pro Monat                 | <b>Roh verzehrte Nutzpflanzen</b> , deren essbarer Teil über dem Boden erzeugt wird und nicht unmittelbar mit dem aufbereiteten Wasser in Kontakt kommt, verarbeitete Nutzpflanzen und Non-Food-Kulturen, einschließlich Futterkulturen für milch- oder fleischerzeugende Tiere | Tropfbewässerung oder eine andere Bewässerungsmethode, bei der ein unmittelbarer Kontakt mit dem essbaren Teil der Pflanze vermieden wird |
| D                                    | Zweitbehandlung und Desinfektion             | ≤10.000  | ≤100.000                                       | Zweimal pro Monat                 | Industrie- und Energiepflanzen sowie aus Saatgut gewonnene Pflanzen   | Alle Bewässerungsmethoden   |

## 2 Ergebnis

Nach Auswertung von Publikationen und eigenen Forschungsergebnissen kommen das BfR, das JKI und das MRI zu dem Schluss, dass ein Vorkommen von Salmonellen, STEC und *Listeria monocytogenes* auch in aufbereitetem Abwasser möglich ist. Die Wahrscheinlichkeit ist umso größer, je höher der Gehalt an fäkalen Indikatorbakterien (fäkale Coliforme oder *Escherichia coli*) ist. Die Konzentrationen an pathogenen Bakterien im Bewässerungswasser könnten weiter ansteigen, wenn diese sich in Biofilmen vermehren, die sich aufgrund des höheren Nährstoffgehalts des aufbereiteten Abwassers in den nachgeschalteten Rohr- und Schlauchleitungen der Bewässerungssysteme bilden können.

Die Wahrscheinlichkeit einer direkten Übertragung dieser pathogenen Bakterien aus dem aufbereiteten Abwasser, oder indirekt über den bewässerten Boden auf bzw. in zum Rohverzehr bestimmtes Obst und Gemüse, hängt von zahlreichen Faktoren ab: den Umgebungsbedingungen (z. B. Temperatur, Feuchte) und vorhandenen Nährstoffen, den Eigenschaften und Mengen der Bakterien im Bewässerungswasser und im Boden, der Bodenbeschaffenheit, der Pflanzenart sowie den konkurrierenden Mikroorganismen im Boden und auf den Pflanzen. Einen großen Einfluss haben erwartungsgemäß auch die Bewässerungsmethoden, mit denen das aufbereitete Abwasser beim Anbau der Pflanzen verteilt wird. Auf Basis der ausgewerteten Literatur wird abgeschätzt, dass die Wahrscheinlichkeiten einer Übertragung von Humanpathogenen aus dem aufbereiteten Abwasser bei unterirdischer Tropfbewässerung am geringsten und bei Beregnungssystemen und hydroponischer Kultur<sup>1</sup> am höchsten sind.

Es ist möglich, dass Salmonellen, STEC und *Listeria monocytogenes* auf frischem Obst und Gemüse überleben und sich auf den Pflanzen bzw. in den daraus gewonnenen Lebensmitteln bei unzureichender Kühlung und ausreichendem Nährstoffangebot (z. B. durch austretende Pflanzensäfte) vermehren. Die Erreger können darüber hinaus in seltenen Fällen auch in das Innere der Pflanzen eindringen.

Auch wenn die bisher vorliegenden Lebensmittelüberwachungsdaten der Länder und Forschungsdaten des MRI keine valide Aussage zum Vorkommen von Salmonellen, STEC und *Listeria monocytogenes* auf bzw. in frischem Obst und Gemüse erlauben, zeigen sie dennoch auf, dass diese Erreger in diesen Lebensmitteln in Deutschland bisher nur selten und nur in geringen Mengen nachweisbar waren. Außerdem wurden bisher in Deutschland nur wenige lebensmittelbedingte Ausbrüche durch diese Lebensmittel berichtet. Deshalb wird das Risiko der Allgemeinbevölkerung, nach dem Rohverzehr dieser Lebensmittel an einer Salmonellose oder EHEC-Infektion zu erkranken, bisher als gering eingeschätzt.

Für kleine Kinder besteht in Deutschland grundsätzlich ein höheres Risiko, an einer EHEC-Infektion zu erkranken. Aufgrund des seltenen Vorkommens von STEC in frischem Obst und Gemüse war das Risiko, nach dem Verzehr dieser Lebensmittel zu erkranken, auch für diese Personengruppe bisher gering. Es könnte aber ansteigen, wenn STEC mit dem aufbereiteten Abwasser auf Böden und direkt auf essbare Pflanzenteile gelangen.

Listeriose-Fälle durch Rohverzehr dieser Lebensmittel sind nur bei Schwangeren und Menschen mit geschwächter Immunabwehr möglich. Allerdings wird auch dieses Risiko wegen der geringen Prävalenz von *Listeria monocytogenes* in diesen Lebensmittelgruppen in Deutschland trotz der Schwere der Erkrankungen als gering eingeschätzt. Das Risiko könnte aber durch eine Bewässerung mit aufbereitetem Abwasser ansteigen.

---

<sup>1</sup> Anbau von Kulturpflanzen in Wasser, welches mit Nährstoffen angereichert ist.

Anders als die DIN 19650 (Hygienische Belange von Bewässerungswasser) sehen die in Anhang I des vorliegenden Verordnungsvorschlags mit Stand vom 17.06.2019 aufgeführten mikrobiologischen Kriterien (Tabelle 1) keine regelmäßige Kontrolle auf das Vorkommen von Salmonellen oder Enterokokken (in der DIN 19650 als Fäkalstreptokokken bezeichnet) vor. Außerdem empfiehlt die DIN weitere Verwendungsbeschränkungen, wenn das Bewässerungswasser mehr als 100 Enterokokken oder 200 *E. coli*/100 Milliliter (ml) enthält. Jedoch sind die in Tabelle 1 aufgeführten mikrobiologischen Kriterien mit den Empfehlungen in der Bekanntmachung der Kommission 2017/C 163/01 (Amtsblatt der Europäischen Union, 2017) und mit den Anforderungen der ISO 16075-2:2015 (Beuth Verlag, 2015) vergleichbar. Sie liegen aber deutlich oberhalb der Grenzwerte für fäkale Coliforme, welche von der U.S. Environmental Protection Agency (EPA) in einem Leitfaden zur Wasserwiederverwendung (EPA, 2004) empfohlen werden. Außerdem empfiehlt die EPA eine tägliche mikrobiologische Kontrolle des aufbereiteten Abwassers.

Die in der gültigen Fassung der Verordnung (EG) Nr. 2073/2005 zum Schutz der Verbraucherinnen und Verbraucher festgelegten mikrobiologischen Kriterien gelten nur für ausgewählte Lebensmittelkategorien und nicht generell für frisches Obst und Gemüse. Deshalb ist es möglich, dass Kontaminationen unerkannt bleiben und große Salmonellose- oder EHEC-Ausbrüche auslösen, weil Obst und Gemüse teilweise über weite Gebiete vertrieben wird und fast von der gesamten Bevölkerung sehr häufig roh verzehrt wird. Vor diesem Hintergrund ist es besonders wichtig, dass es zu keinem Eintrag von Humanpathogenen aus aufbereitetem Abwasser in die Lebensmittelkette kommt.

Deshalb empfehlen das BfR, das JKI und das MRI zum Schutz vor lebensmittelbedingten Erkrankungen durch pathogene Bakterien, Viren und Parasiten durch Rohverzehr von frischem Obst und Gemüse,

1. für hydroponische Kulturen von roh verzehrten Nahrungsmittelpflanzen nur Bewässerungswasser mit Trinkwasserqualität zu verwenden, da Forschungsergebnisse darauf hindeuten, dass pathogene Bakterien besonders leicht die Wurzeln besiedeln und über die Wurzeln in derart kultivierte Pflanzen eindringen können; Krankheitserreger dürfen im Bewässerungswasser nicht nachweisbar sein
2. das aufbereitete Abwasser der Qualitätskategorie B auf die Verteilung mittels überirdischer oder unterirdischer Tropfbewässerung zu beschränken, weil bei diesen Bewässerungsmethoden ein unmittelbarer Kontakt mit dem essbaren Teil der Pflanze vermieden wird
3. das aufbereitete Abwasser der Qualitätskategorie C auf die Bewässerung von Obstbäumen, Weinbergen, Futterpflanzen und pflanzlichen Lebensmitteln, die nicht roh verzehrt werden, zu beschränken.

Außerdem wird Verbraucherinnen und Verbrauchern zum Schutz vor lebensmittelbedingten Infektionen empfohlen, frisches Obst und Gemüse vor dem Verzehr gründlich mit Trinkwasser zu waschen, um den oberflächlichen Keimgehalt zu reduzieren. Eine sichere Eliminierung von möglicherweise vorhandenen Krankheitserregern ist damit aber nicht möglich. Deshalb kann es sinnvoll sein, bodennah wachsendes Gemüse zu schälen oder zu blanchieren, um das Infektionsrisiko zu senken.

Darüber hinaus wird insbesondere Personen, deren Abwehrkräfte durch Schwangerschaft, hohes Alter, Vorerkrankungen oder Medikamenteneinnahme geschwächt sind, zum Schutz vor lebensmittelbedingten Infektionen geraten, Sprossen vor dem Verzehr ausreichend zu erhitzen und Salate aus frischen und gründlich gewaschenen Zutaten kurz vor dem Verzehr

selbst zuzubereiten. Auf den Verzehr von vorgeschnittenen und verpackten Salaten sollten diese Personengruppen besser verzichten.

### 3 Begründung

#### 3.1 Risikobewertung

##### 3.1.2 Mögliche Gefahrenquellen

###### 3.1.1.1 Salmonellen

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

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

Die Wachstumsansprüche der Salmonellen sind, verglichen mit anderen Bakterien, gering. Salmonellen wachsen generell im Temperaturbereich von 10–47 Grad Celsius (°C) und bei pH-Werten zwischen etwa 4 und 9 (das pH-Optimum liegt zwischen 6,5 und 7,5). Einige Salmonellen-Stämme zeigen bei erhöhten Temperaturen (bis 54 °C) Wachstum, andere weisen eine besondere Kältetoleranz (psychrotrophe Eigenschaften) auf und wachsen auch in Lebensmitteln, die bei 2–4 °C gelagert werden. Der minimale  $a_w$ -Wert<sup>2</sup>, bei dem ein Wachstum stattfindet, liegt je nach Substrat und Temperatur zwischen 0,92 und 0,95. In getrockneten Lebensmitteln können Salmonellen bei  $a_w$ -Werten bis zu 0,43 lange Zeit vermehrungsfähig bleiben.

Durch Einfrieren werden Salmonellen zwar in ihrer Anzahl reduziert aber nicht vollständig abgetötet. Die Überlebensfähigkeit bei der Tiefkühlagerung von Lebensmitteln kann hierbei von verschiedenen Faktoren beeinflusst werden. So können die Zusammensetzung der Matrix, die Kinetik des Gefrierprozesses, der physiologische Zustand der Salmonellen und Serovar-spezifische Eigenschaften eine Rolle spielen. Studien beschreiben das Überleben von Salmonellen bei -20 °C über 180 Tage an Früchten und über ein Jahr in Hackfleisch (Bardsley et al., 2019, Knudsen et al., 2001, Müller et al., 2012, Strawn and Danyluk, 2010).

In Temperaturbereichen oberhalb von 58 °C beginnen Salmonellen abzusterben, wobei die Hitzeresistenz von vielen Faktoren beeinflusst werden kann. Insbesondere nimmt die Hitzeresistenz mit abnehmender Wasseraktivität ( $a_w$ -Wert<sup>2</sup>) der Matrix zu. Das Trocknen von Lebensmitteln bei höheren Temperaturen (50 °C und 61 °C) oder die Lagerung bei erhöhter

<sup>2</sup>  $a_w$ -Wert: activity of water; Maß für die Verfügbarkeit von Wasser in Lebensmitteln und/oder Speisen. Je größer der  $a_w$ -Wert, desto mehr Wasser steht dem Wachstum/Stoffwechsel von Bakterien zur Verfügung.



Temperatur und Luftfeuchtigkeit (45 °C und 76 Prozent (%) relativer Luftfeuchtigkeit) führt ebenfalls zur Reduktion der Anzahl von Salmonellen. Inwiefern die Bakterien dabei vollständig abgetötet werden, ist ebenfalls von den oben beschriebenen Faktoren abhängig.

Bei der Vorhersage des Erfolges einer thermischen Inaktivierung von Salmonellen in Lebensmitteln müssen die Faktoren, wie Temperatur,  $a_w$ -Wert<sup>2</sup>, Fett- oder Eiweißgehalt des Lebensmittels, gemeinsam berücksichtigt werden (Jin et al., 2018, Keller et al., 2018). Kochsalz hat eine bakteriostatische Wirkung vor allem durch Bindung des frei verfügbaren Wassers und somit durch Herabsetzung der Wasseraktivität. Steigende Kochsalzmengen bewirken ein langsames Absinken der Wachstumsraten, aber eine vollständige Inaktivierung der Salmonellen ist durch das Salzen von Lebensmitteln nicht zu erreichen.

### 3.1.1.2 STEC

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

Im Rahmen der amtlichen Überwachung werden STEC am häufigsten in Wildwiederkäuerfleisch festgestellt (Hartung et al., 2016). Sie wurden aber auch auf pflanzlichen Lebensmitteln und bei Lebensmitteln mit niedrigem  $a_w$ -Wert<sup>2</sup>, wie z. B. Mehl oder Haselnüssen, nachgewiesen (Made et al., 2017, Miller et al., 2012). Eine Studie mit künstlich kontaminierten Walnusskernen zeigte die Überlebensfähigkeit von *E. coli* O157 auf dieser Matrix über mehrere Monate (Blessington et al., 2012).

STEC können sich im Temperaturbereich von 8–45 °C vermehren. Sie sind widerstandsfähig gegenüber Austrocknen und Einfrieren, sodass sie in der Umwelt (Boden, Wasser, Fäkalien) über Wochen und Monate überleben können. Versuche zur Dekontamination von mit *E. coli* O157:H7 kontaminierten Lebensmitteln mit 0,5, 1,0 und 1,5 %-igen organischen Säuren haben sich als ineffektiv gezeigt und unterstreichen die Säuretoleranz dieses Erregers (Brackett et al., 1994). Auch gegenüber Salz können STEC unempfindlich sein (Dupree et al., 2019). Bei Temperaturen oberhalb von 60 °C beginnen STEC abzusterben. Für *E. coli* O157:H7 sind D-Werte<sup>3</sup> für Lebensmittel, wie Fleisch und Milch, bekannt. Diese liegen ähnlich wie bei anderen *E. coli*-Typen im Temperaturbereich von 57–64 °C bei Erhitzungszeiten zwischen 270 und 9,6 Sekunden. Der Fettgehalt und das Trocknen von Lebensmitteln können allerdings den D-Wert erhöhen. Eine Studie zur Überlebensfähigkeit von STEC der Serogruppen O26, O103, O111 und O157 in Mehl bei Temperaturen von 55, 60, 65, und 70 °C zeigte, dass alle getesteten Stämme bis zu 60 Minuten (min) (Versuchsende) bei 70 °C in

<sup>3</sup> Der D-Wert ist die Zeitspanne, die bei einer gegebenen Temperatur zur Reduktion einer Mikroorganismenpopulation auf 10 % erforderlich ist.

Weizenmehl überlebten (Forghani et al., 2018). Im Labor wurde außerdem die erhöhte Überlebensfähigkeit nach Trocknung und Lagerung auf Papier gezeigt, wobei *E. coli* O157:H7 70 °C für fünf Stunden überstanden (Hiramatsu et al., 2005).

Auch mit Hilfe von Schwefeldioxid (SO<sub>2</sub>), welches als Konservierungs- und Antioxidationsmittel für verschiedene Lebensmittel zugelassen ist (E220), lässt sich die Konzentration von STEC auf Lebensmitteln reduzieren. Zum Einsatz kommt SO<sub>2</sub> unter anderem für Trockenfrüchte, aber auch z. B. bei getrockneten Kartoffelerzeugnissen oder getrockneten oder tiefgefrorenen weißen Gemüsesorten, wobei produktspezifische Höchstmengen zugelassen sind. Eine Keimreduzierung von *E. coli* O157:H7 um bis zu fünf Logstufen konnte beispielsweise in verschiedenen sauren Apfelsaftprodukten durch einen Einsatz von 50 ppm SO<sub>2</sub> erzielt werden (Basaran-Akgul et al., 2009).

### 3.1.1.3 *Listeria monocytogenes*

Listerien sind grampositive, stäbchenförmige, fakultativ anaerobe, nicht sporenbildende Bakterien der Familie *Listeriaceae*. Sie sind peritrich begeißelt<sup>4</sup> und bei 20-25 °C beweglich. Listerien sind aufgrund ihrer geringen Wachstumsansprüche in der Umwelt weit verbreitet und kommen beispielsweise im Erdboden, in Oberflächengewässern, Abwässern, auf Pflanzenresten und im Darm von Tieren vor (Ivanek et al., 2006, Lyautey et al., 2007, Paillard et al., 2005, Vivant et al., 2013). Wirksame Anpassungsmechanismen geben Listerien eine hohe Toleranz gegenüber Austrocknen (Vogel et al., 2010) und Einfrieren, so dass sie in der Umwelt (Boden, Wasser, Fäkalien) in jeder Jahreszeit überleben können (Strawn et al., 2013). Aufgrund seiner weiten Verbreitung in der Umwelt kann *Listeria monocytogenes* in einer Vielzahl unterschiedlicher Lebensmittel vorkommen. Die höchsten Nachweisraten finden sich in Hackfleisch, rohen Fleischzubereitungen, geräuchertem Fisch, Käse und Feinkostsalaten. Aber auch zahlreiche andere, v. a. verzehrfertige Lebensmittel, die nach der Verarbeitung nicht noch einmal einer keimabtötenden Behandlung unterzogen werden, können mit *Listeria monocytogenes* kontaminiert sein (EFSA and ECDC, 2017, Hartung et al., 2019).

Optimale Wachstumsbedingungen findet *Listeria monocytogenes* bei Temperaturen von 30-37 °C und einem neutralen bis leicht alkalischen pH-Wert. Der Erreger kann sich bei Temperaturen zwischen -1,5 °C und 45 °C und pH-Werten von 4,5–9 vermehren. Die Verdopplungszeit ist in starkem Maße von der Temperatur, dem a<sub>w</sub>-Wert<sup>2</sup> sowie dem pH-Wert abhängig (Azizoglu et al., 2009, Hill et al., 1995, Liu et al., 2005, Wagner and McLauchlin, 2008). *Listeria monocytogenes* ist relativ resistent gegenüber osmotischem Stress und bleibt bei hohen Salzkonzentrationen von bis zu 10 % bzw. a<sub>w</sub>-Werten von >0,92 wachstumsfähig (Nolan et al., 1992, Wagner and McLauchlin, 2008). In Abhängigkeit von der Art der Säure, der Lagertemperatur und vorheriger Adaptationsmöglichkeiten an niedrige pH-Werte kann *Listeria monocytogenes* pH-Wertabsenkungen auf bis zu 3,0 überleben (Liu et al., 2005). Der Erreger bleibt bei Salzkonzentrationen von bis zu 20 % überlebensfähig und kann in getrockneten Lebensmitteln in Abhängigkeit von der Lagertemperatur lange Zeit überdauern (Kenney and Beuchat, 2004, Kimber et al., 2012, Koseki et al., 2015, Ryser and Marth, 2007). Durch Tiefgefrieren von Lebensmitteln bei -20 °C wird der Erreger in seiner Anzahl nicht signifikant reduziert (Ryser and Marth, 2007).

Einige Stressfaktoren, z. B. Desinfektionsmittel, toxische Metallionen, Nährstoffmangel oder ungünstige Temperaturen, können dazu führen, dass *Listeria monocytogenes* in einen nicht kultivierbaren Zustand (VBNC) übergehen (Besnard et al., 2000, Highmore et al., 2018, Li et

<sup>4</sup> auf der ganzen Oberfläche mit Geißeln besetzt

al., 2014, Robben et al., 2018). Im VBNC-Zustand wachsen die Bakterien nicht mehr, sondern betreiben nur noch Erhaltungsstoffwechsel. Dann kann es bei Verwendung von kulturellen Nachweisverfahren zu falsch negativen Ergebnissen kommen, weil die Bakterien nicht tot, sondern nur inaktiv sind. Je nach induzierendem Stressfaktor können VBNC-Erreger avirulent sein (Cappelier et al., 2005, Lindbäck et al., 2010), oder genauso virulent wie ihre kultivierbare Form (Highmore et al., 2018). Weiterhin können die Bakterien unter den richtigen Bedingungen wieder in den kultivierbaren und auch infektiösen Zustand zurückkehren (Li et al., 2014).

*Listeria monocytogenes* kann durch Erhitzung von Lebensmitteln auf 70 °C im Kern für mindestens 2 Minuten zuverlässig abgetötet werden. Die D<sup>3</sup>- und z-Werte<sup>5</sup> als Kennzahlen der Hitzeinaktivierung variieren in Abhängigkeit von der Lebensmittelmatrix. Einen wesentlichen Einfluss haben dabei der Salzgehalt und die Wasseraktivität, aber auch die Stammvariabilität (Aryani et al., 2015, van Asselt and Zwietering, 2006). Der mittlere D-Wert<sup>3</sup> für verschiedenste Matrices (untersucht wurden vor allem Fleisch- und Milchprodukte) bei 70 °C liegt bei 0,09 min, der mittlere z-Wert bei 7,0 °C (van Asselt and Zwietering, 2006).

Verschiedene lebensmitteltechnologische Verfahren sind geeignet, die Anzahl von *Listeria monocytogenes* in oder auf dem Lebensmittel zu reduzieren, dazu zählen z. B. die Hochdruckbehandlung (Balamurugan et al., 2018, Garriga et al., 2004), der Einsatz von Bakteriophagen (Moye et al., 2018) oder antimikrobielle Wirkstoffkombinationen (Batpho et al., 2017), die UVC-Desinfektion (Montgomery and Banerjee, 2015) und die Ozonbegasung (Nicholas et al., 2013). Nicht jedes Verfahren ist jedoch für alle Lebensmittel gleichermaßen anwendbar und die Wirksamkeit hinsichtlich der Reduktion des Erregers hängt stark von den Eigenschaften des Lebensmittels sowie von Verpackung und Lagerbedingungen ab. Soweit bekannt, ist kein Verfahren geeignet, *Listeria monocytogenes* vollständig zu eliminieren, der Erreger kann lediglich auf ein geringeres Maß reduziert werden. Nicht abgetötete bzw. dem Verfahren gegenüber unempfindliche Bakterienzellen bleiben vermehrungsfähig und können bei entsprechenden Bedingungen in verzehrfertigen Lebensmitteln wachsen und zu Grenzwertüberschreitungen gemäß Verordnung (EG) Nr. 2073/2005 führen.

### 3.1.2 Gefährdungspotenzial

#### 3.1.2.1 Salmonellose

Salmonellosen sind durch Bakterien der Gattung *Salmonella* spp. hervorgerufene Erkrankungen. Die typhöse Form (Typhus und typhusähnliche Erkrankungen) wird vorwiegend durch die Serovare *S. Typhi*, *S. Paratyphi* A, B und C ausgelöst. Die Übertragung kann von Mensch zu Mensch erfolgen. Die Erreger werden oral aufgenommen und über das Blut verbreitet. Die Infektionsdosis ist gering und nach kurzer Inkubationszeit<sup>6</sup> (wenige Tage bis drei Wochen) kommt es zu einer schweren, zyklisch verlaufenden Allgemeininfektion mit Durchfall und hohem Fieber. Es kann zu Organschäden an Darm, Herz, Leber, Niere und Galle kommen. Speziell bei Patienten mit Gallensteinen können die Erreger über lange Zeiträume ausgeschieden werden.

Die meisten anderen *Salmonella*-Serovare lösen beim Menschen die sogenannte enteritische Verlaufsform aus (Enteritis = "Darm-Entzündung"). Die Infektionsdosis für den erwachsenen Menschen liegt bei 10<sup>4</sup> bis 10<sup>6</sup> Salmonellen. Wenn sich Salmonellen in stark fetthalti-

<sup>5</sup> Der z-Wert gibt die benötigte Temperaturerhöhung an, um den D-Wert auf ein Zehntel zu verringern.

<sup>6</sup> Als Inkubationszeit wird bei lebensmittelbedingten Erkrankungen die Zeit zwischen dem Verzehr des kontaminierten Lebensmittels und dem Erscheinen erster Krankheitssymptome bezeichnet.

gen Lebensmitteln, wie Käse, Hamburger, Schokolade oder Salami, befinden oder bei besonderer Disposition sind jedoch Erkrankungen bereits bei Infektionsdosen unter 100 Salmonellen beobachtet worden. Möglicherweise bewirkt auch die Anpassung der Salmonellen an die ungünstigen Lebensbedingungen auf und in Pflanzen (z. B. Anpassung an niedrige pH-Werte), dass geringere Erregermengen ausreichen, um beim Menschen eine Infektion auszulösen (Brandl, 2006).

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

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

Die Salmonellose ist in Deutschland eine meldepflichtige Erkrankung. Die Zahl der gemeldeten Fälle hat sich im Zeitraum 2009–2016 mehr als halbiert, während sich 2017 wieder ein Anstieg der Fallzahlen verzeichnen ließ. Im Jahr 2018 sank die Zahl der gemeldeten Erkrankungen wieder um 5,2 %, liegt aber mit 13.529 gemeldeten Salmonellose-Fällen noch immer über der Anzahl der in 2016 übermittelten Salmonellosen. Auch in 2018 stellt die Salmonellose die zweithäufigste meldepflichtige bakterielle gastrointestinale Krankheit in Deutschland dar. Wie in den Vorjahren zeigten sich die höchsten altersspezifischen Inzidenzen bei Kindern unter fünf Jahren mit einem Maximum bei Kleinkindern. Beide Geschlechter waren nahezu gleichermaßen betroffen (RKI, 2019).

Im Jahr 2018 wurden 45 % der mit Angabe eines Serovars übermittelten Fälle durch *S. Enteritidis* und 33 % durch *S. Typhimurium* ausgelöst. In weitem Abstand folgten *S. Infantis* (2,7 %), *S. Derby* (1,5 %) und *S. Kentucky* (0,9 %). Alle anderen übermittelten Serovare machten zusammen 17 % aus. Dem RKI wurden im Jahr 2018 insgesamt 14 bestätigte Todesfälle im Zusammenhang mit Salmonellosen übermittelt (2017: 20). Darunter waren acht Männer und sechs Frauen im Alter zwischen 42 und 92 Jahren (Median insgesamt: 75 Jahre). Sechs der Todesfälle konnten mit dem Serovar *S. Enteritidis* in Zusammenhang gebracht werden, drei mit *S. Typhimurium* und ein Fall mit *S. Agona*. Vier Todesfälle wurden ohne genaue Angaben zum Serovar übermittelt (RKI, 2019).

Gemäß Richtlinie 2003/99/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 17. November 2003 wurden von den europäischen Staaten für 2017 insgesamt drei Salmonellose-Ausbrüche an die EU berichtet, die mit hoher Evidenz durch den Verzehr von Gemüse und Säften und ähnlichen Produkten, einer durch Kräuter und Gewürze und einer durch Getreideprodukte ausgelöst worden waren (EFSA and ECDC, 2018a). Eine hohe Evidenz liegt vor,

wenn aufgrund der Ergebnisse mikrobiologischer und/oder epidemiologischer Untersuchungen mit hoher Wahrscheinlichkeit ein Zusammenhang zwischen dem identifizierten Lebensmittel und der diagnostizierten Erkrankung festgestellt wurde.

Nach Angaben des Robert Koch-Instituts sind im Jahr 2018 in Deutschland 125 der 274 durch Salmonellen verursachten Ausbrüche explizit als lebensmittelbedingt erfasst worden. Davon wurde keiner als durch Gemüse/ Gemüseprodukte, Obst/ Obstprodukte oder Getreide/ Getreideprodukte verursacht gemeldet (RKI, 2019).

Nach einem Bericht der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) steht der Großteil der humanen Salmonellose-Ausbrüche mit dem Verzehr von Eiern und Eierprodukten, Backwaren sowie Fleisch und Fleischprodukten in Verbindung. Der Verzehr von Gemüse und Fruchtsäften bzw. deren Produkten war hingegen nur für 1,1 % der gemeldeten lebensmittelbedingten Ausbrüche mit hoher Evidenz verantwortlich (EFSA and ECDC, 2017).

Tabelle 2 gibt einen Überblick über lebensmittelbedingte Salmonellose-Ausbrüche, die mit dem Verzehr von pflanzlichen Frischeprodukten in Verbindung stehen.

Tabelle 2: Salmonellose-Ausbrüche durch den Verzehr von Obst und Gemüse in USA und Europa.

| Land  | Jahr(e)   | Lebensmittel                          | Anzahl der Fälle         | <i>Salmonella</i> enterica Serotyp (Ausbrüche)  | Literatur                        |
|---|-----------|---------------------------------------|--------------------------|---|----------------------------------|
| USA   | 2010      | Alfalfa Sprossen (Luzerne Sprossen)   | 140                      | <i>Salmonella</i> I   | Harvey et al. (2016)             |
| USA   | 1990-2010 | Tomaten                               | 1959 (mehrere Ausbrüche) | S. Newport (6), S. Braenderup (2), S. Baildon (1), S. Enteritidis (1), S. Javiana (1), S. Montevideo (1), S. Thompson (1), S. Typhimurium (1)   | Bennett et al. (2015)            |
| USA   | 1998-2010 | Versch. Sprossen-Arten                | 2-256                    | S. Enteritidis (4), S. Typhimurium (3), S. Saintpaul (3), S. Mbandaka (3) S. Braenderup (2), S. Newport (2), S. Cuba (2), S. Bovismorbificans (1), S. Muenchen (1), S. Kottbus (1), S. Chester (1), S. Oranienburg (1), S. Montevideo (1) | Dechet et al. (2014)             |
| USA   | 2011      | Strauchtomaten                        | 33                       | <i>Salmonella</i> spp.  | Harvey et al. (2016)             |
| USA   | 2014      | Gurken                                | 275                      | S. Newport  | Angelo et al. (2015)             |
| <b>Europa</b>                                       |           |                                       |                          |   |                                  |
| Dänemark, Deutschland, Österreich, Italien, Belgien | 2011      | Datteltomaten                         | 71                       | S. Strathcona   | Müller et al. (2016)             |
| Deutschland, Niederlande                            | 2011      | Mungobohnensprossen                   | 106                      | S. Newport  | Bayer et al. (2014)              |
| 6 Europäische Staaten                               | 2011-2012 | Wassermelonen                         | 63                       | S. Newport  | Byrne et al. (2014)              |
| Norwegen  | 2013      | Gebrauchsfertige Mischsalate in Tüten | 26                       | S. Coeln  | Vestrheim et al. (2016)          |
| Schweiz   | 2013      | Vermutlich Sprossen                   | 13                       | S. Szentes  | Nuesch-Inderbinnen et al. (2015) |
| Schweiz & Deutschland                               | 2014      | Sprossen                              | 74                       | S. Bovismorbificans   | Knoblauch et al. (2015)          |

### 3.1.2.2 EHEC-Infektionen

Erkrankungen durch EHEC können bei Menschen leichte bis schwere Durchfallerkrankungen auslösen. Vor allem bei kleinen Kindern droht als Folge einer Infektion das hämolytisch-urämische Syndrom (HUS). Hierbei handelt es sich um eine Krankheit, die sich in akutem Nierenversagen äußert und zum Tod führen kann. Die nachfolgenden Angaben zu Infektionsdosis, Inkubationszeit und Ausscheidungsdauer beziehen sich im Wesentlichen auf Erkenntnisse zu EHEC des Serotyps O157:H7. Mit Keimzahlen von unter 100 Kolonie-bildenden Einheiten (KbE) ist die Infektionsdosis sehr gering (Paton et al., 1996, Teunis et al., 2004, Tilden et al., 1996). Die Inkubationszeit beträgt üblicherweise ca. 2–10 Tage (durchschnittlich 3–4 Tage). Eine Ansteckungsfähigkeit besteht solange EHEC-Bakterien im Stuhl nachgewiesen werden. Die Angaben zur Dauer der Keimausscheidung variieren deutlich, von einigen Tagen bis zu mehreren Wochen bzw. Monaten (Bai et al., 2018, Matussek et al., 2016). Im Rahmen einer schwedischen Studie wurde eine mittlere Ausscheidungsdauer von 17 Tagen ermittelt (Bai et al., 2018).

In Deutschland wurden im Jahr 2017 insgesamt 2020 EHEC-Erkrankungen und 95 HUS-Fälle an das RKI übermittelt. Wie in den Vorjahren waren Kinder unter fünf Jahren besonders betroffen (29 % der EHEC-Fälle und 48 % der HUS-Fälle). EHEC-Erkrankungen traten bei weiblichen Personen häufiger auf als bei männlichen. 15 % der für das Jahr 2017 mit Angabe der Serogruppe übermittelten EHEC-Fälle wurden durch O91-Stämme, 13 % durch O103-Stämme und 11 % durch O157-Stämme ausgelöst. Vereinzelt kam es zu tödlichen Krankheitsverläufen. Dem RKI wurden im Jahr 2017 acht bestätigte Todesfälle im Zusammenhang mit HUS-Erkrankungen und zwei Todesfälle auf Grund einer EHEC-Erkrankung übermittelt (RKI, 2018).

Eine aktuelle Metastudie gibt Obst und Gemüse als Grund für ca. 30 % der zurückzufolgenden EHEC-Ausbrüche zwischen 1998 und 2017 in Europa an (Pires et al., 2019). In Nord- und Süd-Amerika bzw. im Westpazifik wurden ca. 35 % bzw. ca. 42 % der zurückzufolgenden EHEC-Ausbrüche auf Obst und Gemüse zurückgeführt. Damit haben Obst und Gemüse eine deutlich größere Bedeutung als Milchprodukte und Fleisch von Wildwiederkäuern (Pires et al., 2019). Tabelle 3 gibt einen Überblick über gemüsebedingte EHEC-Ausbrüche der letzten fünf Jahre in Europa.

**Tabelle 3: Ausgewählte STEC/EHEC-Ausbrüche durch den Verzehr von Obst und Gemüse in Europa (Auswahl ab 2013)**

| Land     | Jahr | Lebensmittel                               | Anzahl der Fälle | Serogruppe / Serotyp          | Literatur              |
|----------|------|--|------------------|-------------------------------|------------------------|
| Finnland | 2016 | Rucola                                     | 237              | ONT:H11 (STEC) O111:H8 (EPEC) | Kinnula et al. (2018)  |
| UK       | 2015 | Salatmischung (kontaminiert mit Schafkot)  | 47               | O157:H7                       | Mikhail et al. (2018)  |
| UK       | 2014 | Krautsalat                                 | 20               | O157                          | Byrne et al. (2016)    |
| UK       | 2014 | vermutlich rohes Gemüse/Salat              | 102              | O157                          | Sinclair et al. (2017) |
| UK       | 2013 | Brunnenkresse                              | 22               | O157                          | Jenkins et al. (2015)  |
| UK       | 2013 | Brunnenkresse (kontaminiert mit Rinderkot) | 6                | O157                          | Jenkins et al. (2015)  |

### 3.1.2.3 Listeriose

Nicht alle Listerien verursachen Erkrankungen. Von den 20 beschriebenen Spezies der Gattung *Listeria* ist nur *Listeria monocytogenes* als Infektionsursache für den Menschen von Bedeutung. Die Listeriose ist eine bakterielle Infektionskrankheit, die in der Regel durch Lebensmittel, die mit dem Bakterium *Listeria monocytogenes* verunreinigt sind, auf den Menschen übertragen wird. Grundsätzlich ist auch eine Infektion des Menschen durch den direkten Kontakt zu infizierten Tieren oder Menschen möglich. Hieraus resultierende Infektionen des Menschen sind aber sehr selten beschrieben worden.

Die Fallzahl ist im Vergleich zu anderen lebensmittelbedingten Infektionen gering. Jedoch kann die Listeriose bei Personen bestimmter Risikogruppen einen besonders schweren Verlauf nehmen und tödlich enden. Ein erhöhtes Risiko, an einer Listeriose zu erkranken, haben Schwangere, Immungeschwächte und alte Menschen. Schwangere zeigen in der Regel nur grippeähnliche Symptome. Die vertikale Übertragung der Listeriose auf das ungeborene Kind führt aber bei diesem häufig zu Sepsis und multiplen Organmanifestationen, die eine Früh-, Fehl- oder Totgeburt zur Folge haben können. Neugeborene mit Listeriose weisen ein hohes Letalitätsrisiko durch multiples Organversagen und/oder mangelnde Lungenreife auf (Lamont et al., 2011). Der größte Anteil der nicht-schwangerschaftsassozierten Listeriosen geht mit Hospitalisation und schwerwiegenden klinischen Symptomen, wie Blutvergiftung, Gehirn- und/oder Hirnhautentzündung, und Organmanifestationen, wie z. B. eine Entzündung der Herzinnenhaut oder septischen Gelenkentzündungen, einher. Bei gesunden Menschen, die nicht einer der Risikogruppen angehören, kann eine Infektion mit *Listeria monocytogenes* zu einer fieberhaften Magen-Darm-Entzündung führen, die in der Regel mild und selbstlimitierend verläuft (Maertens de Noordhout et al., 2014).

Die Inkubationszeit der invasiven Listeriose beträgt im Schnitt acht Tage und variiert je nach klinischer Form zwischen 1 und 67 Tagen. Während bei Schwangerschafts-assoziierten Listeriosen lange Inkubationszeiten von 17–67 Tagen (Mittel 27,5 Tage) auftreten, zeigen sich deutlich kürzere Inkubationszeiten von 1–14 Tagen (Mittel neun Tage) bei Beteiligung des Zentralen Nervensystems und von 1–12 Tagen (Mittel zwei Tage) bei Bakteriämien. Die nicht-invasive Listeriose führt innerhalb von sechs Stunden bis vier Tagen (Mittel 24 Stunden) zu Erkrankungssymptomen (Goulet et al., 2013).

Die genaue Infektionsdosis für die Listeriose ist nicht bekannt. Es liegen derzeit keine belastbaren Daten zu einer möglichen minimalen Infektionsdosis der invasiven Form der Listeriose vor, welche eine Abschätzung der Dosis-Wirkungsbeziehung erlauben würde. Die Infektionsdosis hängt entscheidend vom Immunstatus der Person, von der Virulenz des *Listeria monocytogenes*-Stammes und auch von der Lebensmittelmatrix ab. Die Art des Lebensmittels nimmt unter anderem darauf Einfluss, wie gut der Erreger die Magenpassage überstehen kann (Buchanan et al., 2017, Hoelzer et al., 2013).

In Deutschland war die Zahl der gemeldeten Listeriose-Fälle in 2018 nach Jahren ansteigender Fallzahlen erstmals rückläufig. Es wurden 701 Listeriose-Fälle, die der Falldefinition entsprachen, an das RKI übermittelt (gegenüber 769 Fällen in 2017) (RKI, 2019). Darunter waren 659 Fälle von nicht-schwangerschaftsassoziierter, invasiver Listeriose, 20 Fälle von Schwangerschafts-Listeriose und 18 Neugeborenen-Listeriosen (darunter 12 Mutter-Kind-Paare). Wie schon in den vergangenen Jahren war die Inzidenz der nicht-schwangerschaftsassozierten invasiven Listeriose im hohen Lebensalter deutlich höher. Männer waren deutlich häufiger betroffen als Frauen. Insgesamt wurden 32 Todesfälle übermittelt, bei denen die



Listeriose als Todesursache angegeben wurde (29 nicht-schwangerschaftsassozierte Listeriosen, 3 Neugeborenen-Listeriosen). Damit betrug die Letalität im Jahr 2018 5 % (RKI, 2019).

Es wurden einige Listeriose-Ausbrüche beschrieben, bei denen rohe pflanzliche Lebensmittel als Infektionsquelle identifiziert wurden, darunter Gemüse, wie z. B. Blattsalate, Sprossen, Krautsalat oder Sellerie, und auch Obst, wie z. B. Steinfrüchte und Melonen. Einen Überblick gibt Tabelle 4. Meistens wurde eine Kontamination der pflanzlichen Lebensmittel während der Verarbeitung gezeigt oder mindestens vermutet. Eine Rolle spielt hierbei, dass der Erreger in der Produktionsumgebung persistieren kann. Nach den Eintragsquellen in die Lebensmittel verarbeitenden Betriebe wird jedoch selten gesucht. Es ist deshalb meist unklar, ob der Erreger über das pflanzliche Rohprodukt oder andere Eintragsquellen in die Betriebe gelangt.

Der bisher größte beschriebene Listeriose-Ausbruch durch pflanzliche Lebensmittel mit 147 Erkrankungsfällen in den USA im Jahr 2011 wurde auf mit *Listeria monocytogenes* kontaminierte Cantaloupe-Melonen zurückgeführt. Der Ausbruchsstamm wurde aber nicht auf frischen Melonen und in Umweltproben direkt vom Feld nachgewiesen, sondern nur auf bereits prozessierten Cantaloupe-Melonen und in der Produktionsumgebung des landwirtschaftlichen Betriebes, welcher die Melonen anbaute. Neben einem Fahrzeug, mit dem faule Melonen zu einem Rinderviehbetrieb gefahren worden waren, wurden als mögliche Eintragsquellen auch eine geringe Kontamination von Ernteprodukten und eine Persistenz des Erregers im Betrieb genannt (McCollum et al., 2013).

Ein weiterer Listeriose-Ausbruch mit 35 Erkrankungsfällen in den USA in den Jahren 2015 und 2016 wurde durch mit *Listeria monocytogenes*-kontaminierte Karamelläpfel verursacht. Der Ausbruchsstamm konnte im Anbaubetrieb im Reinigungsbereich für das Obst (Glanzbürste, Trocknungsbürsten, Transportband, Holzbehälter) nachgewiesen werden (Angelo et al., 2017).

In den Jahren 2015 bis 2018 erkrankten in fünf EU-Staaten 32 Personen an Listeriose mutmaßlich durch den Verzehr von tiefgekühltem Mais und anderen tiefgekühlten Gemüse-mischungen. Das tiefgekühlte Gemüse wurde vor dem Verzehr nicht immer erhitzt, sondern lediglich aufgetaut und zum Beispiel als Zutat in frischen Salaten verwendet. Die Infektionsquelle konnte auf einen Hersteller von Tiefkühlgemüse in Ungarn zurückgeführt werden. Es wird auch hier vermutet, dass das Gemüse während der Verarbeitung kontaminiert wurde, die Kontaminationsquelle in der Produktionsumgebung des Herstellerbetriebes konnte jedoch nicht identifiziert werden (EFSA and ECDC, 2018b).

Die genannten Beispiele von Listeriose-Ausbrüchen zeigen, dass pflanzliche Lebensmittel, die mit *Listeria monocytogenes* kontaminiert sind, eine Gefahr für sensible Personen darstellen, welche ein erhöhtes Risiko haben, an einer Listeriose zu erkranken. Dies gilt insbesondere für den Verzehr von kontaminierten rohen pflanzlichen Lebensmitteln. Darüber hinaus kann der Erreger durch Kreuzkontamination auf andere, verzehrfertige Lebensmittel übertragen werden, z. B. bei offener Lagerung kontaminierter pflanzlicher Lebensmittel im Kühlschrank. Auch nicht zum Rohverzehr bestimmte pflanzliche Lebensmittel können Ursache von Listeriosen sein, wenn sie entgegen der Empfehlungen roh verzehrt oder als Zutat für Mahlzeiten verwendet werden, die im Anschluss und vor dem Verzehr nicht ausreichend erhitzt werden.

Tabelle 4: Listeriose-Ausbrüche durch den Verzehr von Obst und Gemüse in Nordamerika und Europa

| Jahr      | Lebensmittel   | Land   | Erkrankungs-fälle           | Kontamination Lebensmittel durch                             | Literatur   |
|-----------|--|--|-----------------------------|--|---|
| 1981      | Krautsalat   | Kanada   | 41                          | möglicherweise Düngung                                       | Schlech et al. (1983)                                   |
| 2008      | Sprossen   | USA  | 20                          | nicht berichtet/unbekannt                                    | Cartwright et al. (2013)                                |
| 2010      | Sellerie, geschnitten                                  | USA  | 10                          | Produktionsumgebung, nur geschnittener Sellerie kontaminiert | Gaul et al. (2013)                                      |
| 2011      | Cantaloupe-Melonen                                     | USA  | 147                         | Produktionsumgebung  | McCollum et al. (2013)                                  |
| 2013/14   | Salat, gewaschen und geschnitten                       | Schweiz  | 32                          | Produktionsumgebung (Transportband)                          | Tasara et al. (2015)                                    |
| 2014      | Mungobohnensprossen                                    | USA  | 5                           | Produktionsumgebung  | CDC (Centers for Disease Control and Prevention) (2015) |
| 2014      | Steinfrüchte (Pfirsiche, Nektarinen, Pflaumen, Pluots) | USA  | 2                           | nicht berichtet/unbekannt                                    | Jackson et al. (2015)<br>Chen et al. (2017)             |
| 2014/15   | Karamelläpfel  | USA  | 35                          | Äpfel, Produktionsumgebung                                   | Angelo et al. (2017)                                    |
| 2015/16   | Blattsalate, verpackt                                  | USA<br>Kanada  | 28<br>(19 USA,<br>9 Kanada) | Produktionsumgebung  | Self et al. (2019)                                      |
| 2015-2018 | Tiefkühlgemüse (Mais, Gemüse-mischungen)               | Dänemark<br>Finnland<br>Österreich<br>Schweden<br>UK | 32                          | Produktionsumgebung  | EFSA and ECDC (2018b)                                   |
| 2017      | Karamelläpfel  | USA  | 3                           | nicht berichtet/unbekannt                                    | Marus et al. (2019)                                     |

### 3.1.3 Exposition

#### 3.1.3.1 Eintragsquellen, Vorkommen, Überleben und Vermehrung von Salmonellen, STEC und *Listeria monocytogenes* im Boden

Die wahrscheinlichsten Eintragsquellen von humanpathogenen Bakterien in landwirtschaftliche Produktionssysteme, wie Böden oder hydroponische Anlagen, sind organische Düngemittel (z. B. Gülle, Gärreste aus Biogasanlagen, Klärschlamm), aber auch Bewässerungswasser (Allende and Monaghan, 2015, Barak and Liang, 2008, Beuchat, 2002, Jacobsen and Bech, 2012, Li et al., 2015, Miles et al., 2009, Olaimat and Holley, 2012). Unter den landwirtschaftlichen Nutztieren sind Schweine und Geflügel bedeutende Quellen für Salmonellen und Rinder für STEC (EFSA, 2008, EFSA and ECDC, 2017). Über die Ausbringung organischer Dünger aus der Tierhaltung werden Humanpathogene so in die Böden eingebracht. Daneben kann auch Bewässerungswasser mit Humanpathogenen kontaminiert sein, insbesondere wenn dieses aus Teichen oder Vorflutern aus unmittelbarer Nähe von mit organischen Düngern behandelten Flächen stammt (Jacobsen and Bech, 2012), oder es sich um aufbereitetes Abwasser handelt.

Kommunales Abwasser kann viele unterschiedliche Bakterien in verschiedenen Konzentrationen enthalten, darunter auch solche, die für den Menschen pathogen sind. Art und Mengen der vorhandenen Bakterien richten sich nach den Häufigkeiten des Vorkommens in den Ausscheidungen der Menschen und Tiere, von denen das Abwasser stammt. Durch verschiedene Aufbereitungsverfahren lassen sich die Bakterienkonzentrationen im Abwasser reduzieren. Dazu gehören die physikalische Separation (z. B. durch Sedimentation, Filtration) und die Inaktivierung (z. B. durch Desinfektionsmittel, UV-Licht, Ozon).

Um die mikrobiologische Beschaffenheit des Abwassers kontrollieren zu können, werden Proben üblicherweise auf das Vorkommen von sogenannten Indikatorbakterien (Gesamtcoliforme, fäkale Coliforme, *E. coli*) untersucht, die im Darm des Menschen und warmblütiger Tiere in höheren Konzentrationen vorkommen und deren Mengen im Abwasser den Erfolg der Desinfektion aufzeigen können (U.S. EPA, 2004). Koivunen et al. (2003) stellten bei der Leistungskontrolle verschiedener Abwasseraufbereitungsanlagen in Finnland fest, dass fäkale Coliforme ein guter Indikator für das Vorkommen von Salmonellen in kommunalem Abwasser sind.

Niedrige Konzentrationen von fäkalen Coliformen bzw. *E. coli* im aufbereiteten Abwasser garantieren aber nicht notwendigerweise die Abwesenheit von Humanpathogenen. Eine in Saudi-Arabien durchgeführte mikrobiologische Untersuchung von aufbereitetem Abwasser zeigte, dass auch bei niedrigen Konzentrationen von fäkalen Coliformen (240 KbE pro 100 ml) bzw. *E. coli* (60 KbE pro 100 ml) geringe Anzahlen von pathogenen Bakterien (Salmonellen, Vibrionen, Listerien) und Nematodeneiern nachweisbar waren (Balkhair, 2016). Eine in Süditalien durchgeführte Studie zeigte, dass die mikrobiologische Beschaffenheit der zur Bewässerung verwendeten Abwässer vom Aufbereitungsverfahren abhängt. Die Konzentrationen an *E. coli* lagen nach Aufbereitung mittels Ultrafiltration im Bereich von 10 KbE pro 100 ml, während das Abwasser nach anderen Aufbereitungsverfahren bis etwa 1.400 *E. coli* pro 100 ml enthielt. Salmonellen wurden in den aufbereiteten Abwasserproben nicht gefunden (Lonigro et al., 2015).

Während der Eintrag von Humanpathogenen in den Boden über organische Dünger oder Bewässerungswasser durch Kontrollmaßnahmen reduziert werden kann, sind andere Eintragsquellen kaum oder gar nicht kontrollierbar. Dazu gehören Fäkalien von Wildtieren, Insekten oder kontaminierte Bodenpartikel, die über den Wind auf benachbarte Felder verbracht werden können (Kumar et al., 2017). So wurden bei Wildtieren *Salmonella*-Serovare unter anderem in den Ausscheidungen von Elstern, Rotfüchsen, Igel und Krähen gefunden (Rubini et al., 2016).

Das Überleben von *Salmonellen*, STEC und *Listeria monocytogenes* im Boden und anderen Umwelthabitaten ist Voraussetzung, um neue Wirtsorganismen, wie z. B. Pflanzen, kolonisieren zu können (Winfield and Groisman, 2003). Wie jüngste Ergebnisse belegen, können sich Salmonellen und vermutlich auch andere humanpathogene Bakterien, an die Umweltbedingungen im Boden bzw. in der Pflanze anpassen (Fornfeld et al., 2017, Hruby et al., 2018, Jechalke et al., 2019, Pornsukarom and Thakur, 2016). Wie diese Anpassung jedoch im Detail erfolgt, ist weitgehend unbekannt. Hier besteht erheblicher Forschungsbedarf.

Verschiedene Studienergebnisse zeigen, dass sich Humanpathogene im Boden in geringer Abundanz etablieren und dort über einen längeren Zeitraum verbleiben können (Barak and Liang, 2008, Brennan et al., 2014, Hruby et al., 2018, Jechalke et al., 2019). Lebensfähige STEC ließen sich auch noch nach mehr als 100 Tagen aus den kontaminierten Böden reisolieren (Ma et al., 2011). In Laborstudien wurde das Überleben von *Listeria monocytogenes* in kalkreichen, kühlen Bodenproben bis zu 1.500 Tage nachgewiesen (Picard-Bonnaud et al.,

1989b). Eine Überdauerung in Bodenproben hatte kaum negative Auswirkungen auf die Virulenz des Erregers (McLaughlin et al., 2011, Picard-Bonnaud et al., 1989a).

Der Verbleib von Humanpathogenen im Boden selbst hängt von einer Vielzahl abiotischer und biotischer Faktoren ab. Wichtige abiotische Faktoren, die die Persistenz von Humanpathogenen in landwirtschaftlich genutzten Böden fördern, sind Nährstoffverfügbarkeit und Bodenfeuchte (Alden et al., 2001, Lesk et al., 2016). Versuche auf einer Farm in Israel ergaben, dass fäkale Coliforme und Coliphagen im Boden umso besser überleben konnten, je feuchter der Boden war (Campos et al., 2000, Oron et al., 2001). Deshalb führt die überirdische Bewässerung in den obersten Bodenschichten zu höheren Konzentrationen an Fäkalindikatorbakterien, beim Tropfverfahren vor allem nah an den Tropfstellen (Hidri et al., 2013, Malkawi and Mohammad, 2003, Palese et al., 2009, Sacks and Bernstein, 2011).

Bei Feldversuchen in Spanien fielen die Konzentrationen an fäkalen Coliformen im Boden nach der letzten Ausbringung von aufbereitetem Abwasser innerhalb von 25 Tagen langsam um etwa zwei Logstufen ab (von  $3,6 \times 10^4$  KbE pro 100ml auf  $1,4 \times 10^2$  KbE pro 100ml). Wurden die Felder hingegen im Anschluss mit Trinkwasser bewässert, sanken die Konzentrationen an fäkalen Coliformen aufgrund der Feuchtigkeit innerhalb der ersten Tage nur geringfügig und blieben dann im Bereich von ca.  $10^3$  KbE/g stabil (Manas et al., 2009). Hingegen ergaben Laborversuche von Kouznetsov et al. (2004), dass fäkale Coliforme bei überirdischer Bewässerung innerhalb von 72 Stunden auf 7 % des Ausgangswertes reduziert wurden. Noch schneller und noch größer war die Reduktion dieser Fäkalkeime nach unterirdischer Bewässerung. Somatische Coliphagen zeigten in den Experimenten die größte Stabilität.

Aber auch pH-Wert, Temperatur oder Sonneneinstrahlung können die Persistenz von Humanpathogenen im Boden beeinflussen (Callahan et al., 2017, Santamaria and Toranzos, 2003, Semenov et al., 2011). Lonigro et al. (2015) gehen davon aus, dass die intensive Sonneneinstrahlung während der Sommermonate in Süditalien dazu geführt hat, dass trotz Verwendung von aufbereitetem Abwasser mit bis zu 1.400 *E. coli* pro 100 ml nach der Ernte weder im bewässerten Boden noch in dem beprobten Gemüse *E. coli* oder Salmonellen nachweisbar waren. Auch in Marokko enthielten die obersten Bodenschichten (0–5 cm) je nach Qualität des oberirdisch aufgebrauchten Bewässerungswassers im Sommer etwas weniger fäkale Coliforme (5–30 KbE/g) als im Winter (8–116 KbE/g). In tieferen Bodenschichten (>25 cm) waren auch nach Bewässerung mit Abwasser keine fäkalen Coliforme mehr nachweisbar (El Hamouri et al., 1996).

Um die Bedeutung von Humanpathogenen in landwirtschaftlichen Böden abschätzen und bewerten zu können, ist es wichtig, auch die Einflüsse landwirtschaftlicher Bewirtschaftungspraktiken, wie die Ausbringung von organischem Dünger und die Anbaufolge, entsprechend zu berücksichtigen (Jechalke et al., 2019). So stehen aktuell Untersuchungen zur Persistenz von Salmonellen im von Gülle beeinflussten Boden-Pflanzen Ökosystem und deren Einflussfaktoren im Fokus der Forschung (Übersichtsartikel dazu von Ongeng et al. (2015)). Ergebnisse des BLE Projektes *plantinfect* (Justus-Liebig-Universität Gießen, 2018) zeigen, dass *S. Typhimurium*-Stamm 14028s, *S. Typhimurium*-Stamm LT2 und *S. Senftenberg* mehrere Wochen im Boden überleben können.

Weiterhin konnte gezeigt werden, dass die Persistenz der untersuchten *Salmonella*-Stämme im lehmigen Boden höher war als im sandigen Boden. Die gemeinsame Inokulation von *Salmonella* mit organischen Düngern erhöhte deren Überlebensrate (Jechalke et al., 2019). Eine mögliche Erklärung für die erhöhte Persistenz von *Salmonella* im lehmigen Boden könnten die zugrundeliegenden höheren Gehalte an Stickstoff und organischem Kohlenstoff

sowie der höhere Tongehalt sein (Rühlmann and Ruppel, 2005). Abweichend hierzu zeigte eine frühere Studie, dass die Anzahl der kultivierbaren *S. Typhimurium* LT2 in mit Klärschlamm behandelten Böden schneller abnahm als in unbehandelten Böden (Fornefeld et al., 2018). Die Autoren erklären ihre Ergebnisse damit, dass der durch Klärschlamm verursachte Stress die Salmonellen möglicherweise dazu brachte, in einen VBNC-Zustand (lebensfähig, aber nicht kultivierbar) zu wechseln, so dass sie sich der Kultivierung entzogen haben.

Nach bisherigen Ergebnissen ist davon auszugehen, dass die Persistenz von Humanpathogenen im Boden von der Verfügbarkeit und Zusammensetzung der Nährstoffe sowie dem Bodentyp abhängt. So könnte zukünftig möglicherweise über die Verwendung von Düngern mit einem hohen Gehalt an organischer Substanz und geringem Gehalt an leicht verfügbaren Nährstoffen die Persistenz von Salmonellen im Boden verringert werden, wie dies bereits für *E. coli* O157:H7 gezeigt wurde (Franz and van Bruggen, 2008).

Neben den abiotischen Faktoren beeinflussen auch biotische Faktoren die Persistenz von Humanpathogenen im Boden. Bedeutende biotische Faktoren sind u. a. die genetische Ausstattung der Humanpathogenen, die autochthone Mikrobiota und die pflanzenspezifischen Wurzelexsudate. Letztere beeinflussen beispielsweise die mikrobielle Gemeinschaft im Boden (Berg and Smalla, 2009, Jechalke et al., 2019, Locatelli et al., 2013, Schlaeppli et al., 2014), und diese wiederum beeinflusst die Persistenz der Humanpathogenen im Boden. Insbesondere die Struktur und Funktion der autochthonen mikrobiellen Bodengemeinschaft ist für die Persistenz von Humanpathogenen in Böden entscheidend. Mit zunehmender Vielfalt und metabolischer Aktivität der autochthonen Bodenmikroorganismen nimmt die Persistenz verschiedener humanpathogener Erreger, wie *Listeria monocytogenes*, *E. coli* O157:H7 (Locatelli et al., 2013, van Elsas et al., 2012, Westphal et al., 2011) und Salmonellen im Boden ab (Schierstaedt et al., 2019). Auf die Bedeutung biotischer Faktoren für die Persistenz von Humanpathogenen im Boden verweisen auch (Moynihan et al., 2015). Die Persistenz von *S. Dublin* in Böden mit unterschiedlichem Bodentyp und verschiedenartiger Bewirtschaftungsweise korrelierte eher mit Unterschieden in den mikrobiellen Gemeinschaften als mit Unterschieden in den physikochemischen Eigenschaften (Moynihan et al., 2015).

Bisher ist völlig unklar, wie sich biotische Vielfalt und biotische Resistenz (Resilienz) gegenüber neu eindringenden Humanpathogenen verhalten. Es scheint, dass Ökosysteme mit hoher biologischer Vielfalt engere Nischen haben und/oder eine höhere Chance bieten, natürliche Antagonisten und Konkurrenten zu beherbergen (Chapin Iii et al., 2000, Li and Uyttendaele, 2018, Loreau and Hector, 2001, Mallon et al., 2015), die Humanpathogene möglicherweise unterdrücken können. So konnte umgekehrt gezeigt werden, dass die Persistenz von *E. coli* O157:H7 im Boden stark mit einer geringen mikrobiellen Vielfalt und einer hohen Menge an verfügbaren Nährstoffen korrelierte (van Elsas et al., 2012, Westphal et al., 2011). Auch für *Salmonella* wurden bessere Überlebensraten in Böden mit geringerer mikrobieller Diversität beobachtet (Schierstaedt et al., 2019). *Listeria monocytogenes* kann gut in Böden überleben, wird jedoch ebenfalls durch die autochthone Bodenmikrobiota inhibiert (McLaughlin et al., 2011). Andererseits kann es auch bei erfolgloser Etablierung von Humanpathogenen zu Verschiebungen von mikrobiellen Gemeinschaften kommen, wie für *E. coli* beobachtet (Mallon et al., 2018). Dieses Phänomen wurde von Mallon et al. (2018) mit dem Begriff "Legacy-Effekt" beschrieben. Im Fall von Humanpathogenen würde dies bedeuten, dass es z. B. bei Bewässerung mit kontaminiertem Wasser zunächst zu einer Veränderung der mikrobiellen Gemeinschaft kommt und dann im zweiten Schritt bei wiederholter Applikation von Bewässerungswasser zu einer erfolgreichen Kolonisierung durch die Humanpathogenen.

Insgesamt ist das Zusammenwirken biotischer und abiotischer Faktoren im Boden sehr komplex. Dieses Zusammenwirken wird zudem von verschiedenen landwirtschaftlichen Maßnahmen unterschiedlich beeinflusst. Daher ist es überaus schwierig, die Persistenz von Humanpathogenen in landwirtschaftlichen Böden abzuschätzen und Vorhersagen zu treffen. Grundsätzlich reichen bereits wenige Humanpathogene im Boden aus, um Pflanzen erfolgreich zu besiedeln und so als mögliche Infektionsquelle für den Menschen zu fungieren.

### 3.1.3.2 Aufnahme, Überleben und Vermehrung von Salmonellen, STEC und *Listeria monocytogenes* in Pflanzen

Pflanzen sind ein natürliches Habitat für Humanpathogene, wie z. B. *Salmonella* (Brandl et al., 2013, Fletcher et al., 2013). Grundsätzlich sorgt das natürliche Mikrobiom von Pflanzen und im Boden dafür, dass sich Humanpathogene gar nicht erst etablieren können. Humanpathogene besiedeln unsere Kulturpflanzen oberflächlich oder dringen in die Pflanze ein und breiten sich systemisch in ihnen aus (Brandl et al., 2013, Hernandez-Reyes and Schikora, 2013, Schikora et al., 2012b, Schikora et al., 2012a), sofern sie sich in Konkurrenz mit der autochthonen mikrobiellen Gemeinschaft erfolgreich durchsetzen. Die Begleitmikrobiota kann beispielsweise das Wachstum von STEC auf Spinatblättern reduzieren (Huang, 2012). Zudem gibt es aber auch Hinweise, dass Humanpathogene durch den Biofilm der pflanzeneigenen Mikrobiota vor Umwelteinflüssen geschützt sind und dadurch eine erhöhte Umweltresistenz besitzen (Olaïmat and Holley, 2012, Vogeleeer et al., 2014). Solche Biofilme wurden für *E. coli* O157:H7 bereits nach 24 Stunden auf Petersilie oder Salat nachgewiesen (Niemira and Cooke, 2010, Patel et al., 2011). Feldversuche zeigen, dass *E. coli* O157:H7 bis zu 177 Tage auf Petersilie und mindestens 25 Tage auf Salat überleben können (Islam et al., 2004, Solomon et al., 2003, Zhang et al., 2009a).

Hingegen können Pflanzenpathogene die Kolonisierung von Humanpathogenen in und auf Pflanzen wegen der größeren Verfügbarkeit von Nährstoffen aus infizierten Pflanzenzellen fördern. Schimmelpilze können darüber hinaus das Eindringen von Humanpathogenen in die Pflanze und deren Wachstum durch pH-Verschiebungen unterstützen (Brandl, 2006). Während einige Pflanzenarten anfällig z. B. für eine Besiedlung mit Salmonellen sind und sogar den Eintritt und die Translokation des Erregers in die Pflanze ermöglichen, sind andere resistent (Golberg et al., 2011, Guo et al., 2001, Klerks et al., 2007). Grundsätzlich gelten Pflanzen in hydroponischer Kultur als anfälliger für die Besiedlung mit Humanpathogenen als Pflanzen in Bodenkultur (Hirneisen et al., 2012, Riggio et al., 2019, Warriner et al., 2003).

#### 3.1.3.2.1 Besiedlung

Humanpathogene sind in der Lage, auf Pflanzenoberflächen zu haften oder das Innere der Pflanze aktiv zu besiedeln (Garcia et al., 2014, Schikora et al., 2011, Schikora et al., 2012a, Shirron and Yaron, 2011). Bei externer Besiedlung konnten auf Pflanzen aufgebraute Humanpathogene über Wochen und Monate nachgewiesen werden, wenn auch meist nur in sehr geringer Anzahl.

Die Besiedlung von Pflanzen mit Humanpathogenen hängt von zahlreichen Faktoren ab, wie z. B. Pflanzenart (Darlison et al., 2019), Bodenart (Jechalke et al., 2019), Temperatur und Feuchtigkeit. Salmonellen können auch gut auf trockenen Pflanzenoberflächen überleben und sich dann bei warmen und feuchten Bedingungen wieder vermehren (Brandl, 2006). Aber auch die Art der Bewässerungsmethode hat einen Einfluss auf die Möglichkeit der Besiedlung. Bei der unterirdischen Bewässerung von weißen Rettichsprossen mit aufbereitetem Abwasser fiel der Anstieg an Fäkalindikatorkeimen (fäkale Coliforme bzw. *E. coli*) in den

Pflanzen geringer aus als bei der überirdischen Bewässerung (Balkhair, 2016). Bei der überirdischen Bewässerung mit aufbereitetem Abwasser kommt es darüber hinaus auch auf die Wuchsform der Pflanzen an, wie in Marokko durchgeführte Studien zeigen. Gemüse, welches mit dem Wasser oder Boden direkten Kontakt hatte (z. B. Gurken, Alfalfa), enthielt deutlich größere Mengen an fäkalen Coliformen (El Hamouri et al., 1996) und war häufiger mit Salmonellen kontaminiert als Tomaten (Melloul et al., 2001).

Doch selbst bei Einsatz des überirdischen Tropfverfahrens besteht die Möglichkeit, dass Humanpathogene bei starken Regenfällen aus dem Boden auf Freilandgemüse übertragen werden. In Portugal wurden Salatpflanzen mit aufbereitetem Abwasser bewässert, welches ca.  $10^3$  *E. coli* und eine Salmonelle pro 100 ml enthielt. Nach Regenfällen stieg die Konzentration von *E. coli* im Salat um mehr als zwei Logstufen auf über  $6,5 \times 10^4$  KbE/g an und auf den Salatblättern waren dann auch Salmonellen nachweisbar (Bastos and Mara, 1995).

Außerdem kann der verwendete Dünger die Besiedlung der Kulturpflanzen durch Humanpathogene beeinflussen. Beispielsweise führten Hühner-Pellets zu einer höheren Besiedlungsrate von Spinat-Pflanzen (Shah et al., 2017), während für Hühnermist und Schweinegülle kein Einfluss auf die Besiedlungsrate der Pflanzen beobachtet werden konnte (Jechalke et al., 2019). Interessanterweise überlebte *E. coli* O157:H7 auf Pflanzen deutlich besser, wenn diese zuvor durch eine Passage im Verdauungstrakt von Kühen an harsche Umweltbedingungen angepasst waren (Semenov et al., 2010). Dies könnte bedeuten, dass mit frischem Kuhmist ausgebrachte *E. coli* besser und länger auf Kulturpflanzen überleben als in Verbindung mit anderem organischen Dünger. Vergleichbar überlebte *Salmonella* beim Anbau von Kopfsalat und Feldsalat länger im Boden, wenn der Erreger zuvor mit Hühnermist oder Schweinegülle in den Boden inokuliert wurde, was zu einer höheren Kolonisierungsrate der Kulturpflanzen führte (Jechalke et al., 2019, Justus-Liebig-Universität Gießen, 2018).

Im Vergleich zur externen Besiedlung kommt es bei der internen Besiedlung zu einem Eindringen der Bakterien über Stomata, Trichome, Wurzeln und Wunden in die Pflanze (Berger et al., 2010, Lapidot and Yaron, 2009, Saldana et al., 2011, Wiedemann et al., 2015, Zhang et al., 2009a, Zhang et al., 2009b). Wie im Projekt *plantinfect* (Justus-Liebig-Universität Gießen, 2018) gezeigt werden konnte, besiedelten alle drei getesteten *Salmonella*-Stämme (*S. Typhimurium*-Stamm 14028s, *S. Typhimurium*-Stamm LT2 und *S. Senftenberg*) sowohl Kopfsalat als auch Feldsalat. Es wird vermutet, dass die *Salmonella*-Stämme über die Wurzeln eindringen und sich dann innerhalb der Pflanze über das Gefäßsystem ausbreiteten. Nach Dong et al. (2003) scheinen Salmonellen vorzugsweise Sekundärwurzeln inklusive der Wurzelhaare zu besiedeln, da diese eine gute Nährstoffquelle und Eintrittsstelle darstellen.

Während eine Internalisierung von *E. coli* O157:H7 aus kontaminiertem Boden in verschiedene Salatsorten nachgewiesen werden konnte, misslang dessen Aufnahme in Basilikumpflanzen (Chitarra et al., 2014). Andere Autoren konnten zeigen, dass STEC während des Keim- und Wachstumsprozesses von Weizensamen in die Pflanze aufgenommen wurden (Martinez et al., 2015). Eine Aufnahmetiefe von 10–200 µm unter der Pflanzenoberfläche wurde beschrieben, wodurch eine Dekontamination (z. B. durch Waschverfahren) aber ggf. auch der Pathogen-Nachweis deutlich erschwert werden (Beuchat and Ryu, 1997, Solomon et al., 2002).

Warriner et al. (2003) untersuchten die Aufnahme von *E. coli* in junge Spinatpflanzen. Bei hydroponischer Kultur mit ca. 100 *E. coli* pro ml wurde der Stamm bereits am 16. Tag im Innern der Wurzeln festgestellt. Hingegen war der Stamm bei Anzucht in kontaminiertem Boden erst am 32. Tag im Wurzelinnern nachweisbar, als die Konzentration von *E. coli* von etwa 100 KbE/g um etwa drei Logstufen angestiegen war. Möglicherweise verhindern kon-

kurrierende Bodenbakterien die Aufnahme von *E. coli* in die Wurzeln. Nachweise in den Proben von Spinatblättern gelangen nur vereinzelt und könnten durch Kreuzkontamination verursacht worden sein. Deshalb schätzen die Autoren die Wahrscheinlichkeit, dass *E. coli* im Innern des essbaren Anteils der Spinatblätter vorkommt, als gering ein.

Eine andere Forschergruppe konnte zeigen, dass Salmonellen bereits nach einem Tag im unteren Teil hydroponisch angebaute Tomatenpflanzen und ab dem dritten Tag in deren Blättern in ansteigenden Mengen nachweisbar waren, nachdem diese mit verdünnten Salmonellen-Kulturen (ca.  $\log_{10}$  4,5 KbE pro ml) bewässert wurden. Am 9. Tag waren in allen Pflanzenteilen Salmonellen quantitativ bestimmbar ( $\geq \log_{10}$  3,38 KbE/g), wobei *S. Montevideo* dominierte (Guo et al., 2002).

Eine Aufnahme von *Listeria monocytogenes* in die Pflanzen aus dem Boden oder anderen zur Anzucht genutzten Substraten wurde in einer Studie mit Blattsalaten gezeigt. Die Internalisierung war dabei abhängig von der Anzuchttemperatur. Der Erreger wurde auch noch nach 80 Tagen bei 24 °C, nicht aber bei 30 °C, in den Blättern nachgewiesen. In dieser Studie wurde mit  $10^7$  KbE pro ml jedoch ein vergleichsweise hohes Inokulum eingesetzt. Die gleiche Studie zeigte, dass *Listeria monocytogenes* nicht durch Basilikumpflanzen aufgenommen wurde (Chitarra et al., 2014). Weitere Studien mit Blattsalaten (Murphy et al., 2016) sowie mit Weizengras und Gerste (Kutter et al., 2006) konnten lediglich eine Oberflächenkontamination der Pflanze, aber keine Aufnahme von *Listeria monocytogenes* in die Pflanzen nachweisen. Auch weitere Studien mit Kopfsalat haben auf die Möglichkeit einer Internalisierung aufmerksam gemacht. In einem Gewächshaus-Experiment wurden *Listeria monocytogenes* in den inneren Gewebeschichten gefunden, wenn die Samen 20 Tage zuvor inokuliert worden waren (Shenoy et al., 2017).

Die hydroponische Kultivierung von Gemüsepflanzen scheint die Aufnahme von *Listeria monocytogenes* wesentlich zu erleichtern. So zeigten Hofmann et al. (2014), dass neben *Salmonella* auch *Listeria monocytogenes* in der Lage ist, die Wurzeln von Spinat und Feldsalat zu kolonisieren. Der Erreger konnte dabei bei Spinat hauptsächlich im Zellzwischenraum der Wurzelhaarzone und nicht an den Wurzelhaaren oder Wurzelspitzen nachgewiesen werden. Bei Feldsalat wurde *Listeria monocytogenes* kurz hinter der Wurzelspitze sowie seltener und in geringer Anzahl im Zellzwischenraum älterer Wurzelteile detektiert. Im Gegensatz dazu war *Listeria monocytogenes* in der gleichen Studie nur in wenigen Fällen in der Lage, die Pflanzen über kontaminierten Boden zu kolonisieren. Sehr ähnliche Ergebnisse wurden in hydroponischen Systemen bei Kopfsalat beobachtet (Standing et al., 2013). In dieser Studie konnten die Autoren die Besiedlung mit *Listeria monocytogenes* aber auch mit *S. enterica* serovar Typhimurium bis 28 Tage in dem hydroponischen System nachweisen.

Ferner zeigten Koseki et al. (2011), dass Spinatwurzeln in hydroponischen Kulturen bei hohen Inokula ( $10^6$  KbE pro ml) besser von *Listeria monocytogenes* kolonisiert werden als bei niedrigen Inokula ( $10^3$  KbE pro ml). Im Vergleich zu *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis* und *E. coli* O157:H7 wies *Listeria monocytogenes* aber eine wesentlich geringere Kolonisationsrate auf (0,3fach). Das Kolonisationsvermögen über die Wurzel war 7-fach höher als über die Blätter.

Die Fähigkeit von Humanpathogenen zur internen Besiedlung von Pflanzen hängt stark von der jeweiligen Art bzw. dem Isolat ab. So unterscheiden sich verschiedene *S. enterica* Serovare deutlich in ihrer Fähigkeit, Pflanzen zu besiedeln. Ursache hierfür sind vermutlich Unterschiede in dem von Salmonellen gebildeten Protein Flagellin, die zu unterschiedlichen pflanzlichen Abwehrreaktionen führen. Allerdings haben *S. enterica* Serovare Varianten entwickelt, die von der Pflanze nicht mehr erkannt werden und damit eine endophytische Kolonisierung erleichtern.



Lapidot and Yaron (2009) konnten zeigen, dass *Salmonella* Typhimurium-Stämme ohne Fähigkeit zur Biofilmbildung in geringerem Umfang aus dem kontaminierten Boden in Petersilienpflanzen eingedrungen sind. Die Experimente ergaben eine um zwei Logstufen höhere Erreger-Konzentration im Boden und etwas niedrigere Erregergehalte in den Stängeln und Blättern der Petersilienpflanzen. Verschiedene Studien deuten auch bei STEC bzw. *E. coli* auf Stammunterschiede in der Fähigkeit zur Internalisierung hin (Erickson et al., 2019, Wright et al., 2013). Bei *E. coli* O157:H7 sind für die Besiedlung bestimmte Adhärenzfaktoren Voraussetzung (Eißenberger et al., 2018), teils auch Flagellen und Pili (Saldana et al. (2011).

Ähnlich wie für pflanzenpathogene Bakterien scheint auch für Humanpathogene das Typ-III-Sekretionssystem (T3SS) für eine erfolgreiche Kolonisierung der Stomata und Blätter notwendig zu sein. Die Transformation eines *E. coli*-Stamms mit einem Plasmid-kodierten T3SS befähigte den Stamm zur Kolonisierung und Internalisierung (Saldana et al., 2011).

Auch für *Listeria monocytogenes* wird vermutet, dass die Kolonisierung von Pflanzen stamm-spezifische Unterschiede aufweist. Kljujev et al. (2018) untersuchten im hydroponischen System eine mögliche Kolonisierung von Wurzeln verschiedener Gemüsepflanzen (Kopfsalat, Spinat, Karotten, Sellerie, Tomate, Zuckermais) und von Petersilie durch die Stämme EGD-e (Serotyp 1/2a) und SV4B (Serotyp 4b). Sie konnten zeigen, dass der EGD-e-Stamm vor allem die Wurzeln von Karotten, Petersilie, Sellerie und Zuckermais oberflächlich und endophytisch (Zwischenzellraum) besiedelte. Der Stamm SV4B kolonisierte vor allem Blattgemüse, wie Kopfsalat und Spinat, jedoch nur in geringem Maße Tomaten, Karotten, Petersilie und Sellerie. Die genauen Mechanismen der Kolonisierung sind bisher nicht untersucht.

Die interne Besiedlungsrate unterliegt starken Schwankungen, je nach Wirtspflanze, Art des Humanpathogens, Art der Inokulation und zahlreichen weiteren Faktoren. Viele Studien deuten darauf hin, dass eine Internalisierung ein seltenes Ereignis ist oder nur unter extremen Bedingungen stattfindet (Erickson et al., 2019, Olaimat and Holley, 2012, Wright et al., 2013). Im Projekt *plantinfect* (Justus-Liebig-Universität Gießen, 2018) lag die interne Besiedlungsrate der verschiedenen Salmonellen bei 0,7-1,4 % für Kopfsalat und 0,3–0,4 % für Feldsalat (Jechalke et al., 2019). Honjoh et al. (2014) fanden Salmonellen in 2,9 % der oberflächensterilisierten Salatblätter. Allerdings wurden auch deutlich höhere interne Besiedlungsraten berichtet. So lag die interne Besiedlungsrate von Römersalat 22 Tage nach Bodenapplikation von  $10^8$  KbE pro Pflanze bei 94 % für *Salmonella* und 68 % für STEC (Nicholson et al., 2015). Gu et al. (2018) erzielten nach Bewässerung von Tomaten mit *Salmonella*-kontaminiertem Wasser ( $10^4$  KbE pro ml) eine interne Besiedlungsrate von 50 % in den Pflanzen und 1 % in den Früchten.

Bei der internen Besiedlung von Pflanzen scheinen Humanpathogene ähnliche Infektionsstrategien zu nutzen wie bei Tieren, zumindest lässt dies die hohe Übereinstimmung des *Salmonella*-Transkriptoms nach Besiedelung von Salat- und Korianderpflanzen mit dem *Salmonella*-Transkriptom nach Infektion von Tieren vermuten (Goudeau et al., 2013).

### 3.1.3.2.2 Vermehrung und Ausbreitung in Pflanzen

In der Pflanze angekommen, verhalten sich die Humanpathogenen sehr unterschiedlich hinsichtlich Vermehrung und Verbreitung. Das Überleben von Humanpathogenen in Pflanzen wird durch eine Vielzahl genetischer Faktoren beeinflusst. Wie Wong et al. (2019) berichten, unterschieden sich 43 getestete *Salmonella*-Stämme deutlich in ihrer Überdauerung an Salat- und Tomatenkeimlingen. Eine mögliche Erklärung für die Unterschiede innerhalb der *S. enterica*-Art könnte die Plasmid-vermittelte Virulenz bei *Salmonella* (*spv*-Region) sein (Boyd and Hartl, 1998) oder aber die diverse Ausstattung mit Adhesinen (Hansmeier et al., 2017).

Außerdem ist die Vermehrung von Humanpathogenen stark abhängig von der jeweiligen Pflanzenart. Während in Salat- und Spinatblättern nach Infiltration mit *E. coli* O157:H7 Isolat Sakai über die Zeit keine Zunahme der Anzahl Bakterien feststellbar war, kam es nach entsprechender Infiltration der Blätter von *Nicotiana benthamiana* zu einer >400-fachen Vermehrung des Bakteriums (Wright et al., 2017). Ursache hierfür sind vermutlich unterschiedliche Wirtspflanzenpräferenzen bzw. Unterschiede im Pflanzenabwehrsystem. Brandl (2008) sowie Brandl and Amundson (2008) zeigten, dass sich *E. coli* O157:H7 und Salmonellen auf Salatblättern vermehren können, wobei das Alter der Salatblätter das Ausmaß der Besiedlung wesentlich beeinflusst.

Die Verbreitung der Humanpathogenen in der Pflanze ist sehr heterogen. Neben intensiv besiedelten Regionen findet man häufig Regionen ohne jegliche Besiedlung. Die räumliche Besiedlung von Wurzeln verschiedener Pflanzen, einschließlich Salat, lässt sich u. a. sehr anschaulich mit Hilfe der FISH-CLSM-Analyse (fluorescent in situ hybridization-confocal laser scanning microscopy) verfolgen, wie von Klijujev et al. (2018) für *S. Typhimurium* LT2, *S. Typhimurium* 14028s und *S. Typhimurium* S1 gezeigt wurden.

### 3.1.3.2.3 Vermehrung in pflanzlichen Lebensmitteln

*Listeria monocytogenes* ist in der Lage, sich insbesondere auf solchen pflanzlichen Lebensmitteln zu vermehren, die keine antimikrobiellen Inhaltsstoffe enthalten und je nach Verarbeitungszustand, Lagertemperatur und Lagerdauer dem Erreger gute Wachstumsbedingungen hinsichtlich der Nährstoffe, Wasserverfügbarkeit und pH-Werte bieten. Dies trifft beispielsweise auf Blattsalate und Blattgemüse zu (Hofmann et al., 2014, Oliveira et al., 2010). In einer Studie konnte demonstriert werden, dass *Listeria monocytogenes* besser in den untersuchten pflanzlichen Produkten wuchs als Salmonellen (Sant'Ana et al., 2012). Dieses Ergebnis ist aufgrund des bekannten, kältetoleranten Verhaltens von *Listeria monocytogenes* sehr gut erklärbar (Gandhi and Chikindas, 2007). Zusammenfassend zeigte die Studie von Sant'Ana et al. (2012), dass sowohl *Listeria monocytogenes* als auch Salmonellen in den untersuchten pflanzlichen Produkten wachsen konnten, insbesondere bei einer bereits moderat erhöhten Lagertemperatur von 15 °C. Wie bereits von Delaquis et al. (2007) zusammengefasst, hat sich in vorangegangenen Studien die Lagertemperatur als der hauptsächlichste Einflussfaktor auf die Entwicklung von *E. coli* O157:H7 in verpacktem, verzehrfertigem Salat herausgestellt. *E. coli* O157:H7 scheint in allen Variationen von verpacktem Blattgemüse bei Lagertemperaturen von  $\geq 8$  °C überlebens- und wachstumsfähig zu sein (Delaquis et al., 2007).

Bei all den hier dargestellten Forschungsergebnissen ist zu beachten, dass die meisten Untersuchungen zum Nachweis von Humanpathogenen auf oder in Pflanzen mit traditionellen Kultivierungsverfahren durchgeführt wurden. Diese Verfahren berücksichtigen nicht das Auftreten von VBNC-Zellen, also lebensfähigen, aber nicht kultivierbaren Zellen. Das solche VBNC-Zellen von Bedeutung sind, zeigte der Ausbruch von EHEC/EAEC O104:H4 im Jahr 2011 (Aurass et al., 2011).

Die geringe Abundanz von Humanpathogenen auf oder in Pflanzen aber auch das Auftreten von VBNC-Zellen stellt eine Herausforderung an die Diagnostik dar. So sind die molekularen kultivierungsunabhängigen Methoden nicht empfindlich genug (Blau et al., 2018). Häufig sind Anreicherungsverfahren notwendig, um Humanpathogene an Frischeprodukten nachzuweisen. Dennoch können sich auch wenige Zellen unter geeigneten Umständen (Nährstoffe, Temperatur) schnell vermehren, wie die nicht selektiven Anreicherungen von Koriander, Rucola und gemischtem Salat in Peptonwasser ergaben (Blau et al., 2018).

Beeinträchtigt wird die Isolierung von STEC aus pflanzlichen Lebensmitteln außerdem durch die hohe Begleitmikrobiota von *Pseudomonas* spp. und anderen *Enterobacteriaceae*, einschließlich nicht-pathogener *E. coli*, die sich zwischen  $10^6$  KbE/g und  $10^9$  KbE/g bewegen kann (Tzschoppe et al., 2012). Außerdem können Pflanzenlysate die Kulturfähigkeit von STEC beeinflussen (Thao et al., 2019) und somit die Isolierung erschweren.

### 3.1.3.3 Vorkommen von Salmonellen in pflanzlichen Lebensmitteln

Untersuchungen im Rahmen der amtlichen Lebensmittelüberwachung in Deutschland deuten darauf hin, dass pflanzliche Lebensmittel in Deutschland nur selten mit Salmonellen kontaminiert sind. So ergab die Auswertung des BVL von in den Bundesländern durchgeführten amtlichen mikrobiologischen Untersuchungen von frischem Blattgemüse und Blattgemüseerzeugnissen bzw. -zubereitungen in den Jahren 2014-2016, dass in zwei (0,2 %) von 1.009 untersuchten Proben von frischem Blattgemüse (Basilikum, Schnittsalat) und in einer (0,2 %) von 408 untersuchten Proben Blattgemüseerzeugnisse/-zubereitungen (getrocknetes Blattgemüse) Salmonellen nachweisbar waren.

Im Jahr 2016 wurden im Rahmen des Zoonosen-Monitorings 367 Proben von frischen Sprossen untersucht, von denen drei Proben (0,8 %) *Salmonella*-positiv waren, während in 480 untersuchten Tomatenproben keine Salmonellen gefunden wurden (Hartung et al., 2019).

Im Rahmen des Bundesweiten Überwachungsplans (BÜp) 2017 waren weder in 304 untersuchten Proben von Desserts oder Milchkischaerzeugnissen mit frischen oder aufgetauten Früchten noch in 138 untersuchten Proben gemüsehaltiger und/oder obsthaltiger, nicht pasteurisierter Smoothies Salmonellen nachweisbar (BVL, 2018).

In zwei Forschungsprojekten des MRI wurden in den vergangenen Jahren insgesamt 884 verschiedene pflanzliche Produkte untersucht. Hierzu zählten 600 Proben aus konventionellem und biologischem Anbau, die in den Jahren 2015 und 2016 aus dem Lebensmitteleinzelhandel in Nord- und Süddeutschland bezogen wurden (115 Küchenkräuter, 40 Gurkenproben, 79 Karottenproben, 80 Kopf-/Blatt-/Pflücksalate, 116 verzehrfertige Salate, 81 Proben Speisepilze und 89 Sprossenproben) (Becker et al., 2019). Dabei konnten in der Produktgruppe „Verzehrfertige Mischsalate“ bei drei von 116 untersuchten Proben Salmonellen (2 x *S. Enteritidis*, 1 x *S. Szentes*) nachgewiesen werden, was einer Prävalenz von 2,8 % entspricht. Bei der Untersuchung von Kopf-, Blatt- und Pflücksalaten (N=80) wurde in einer Probe Kopfsalat *S. Enteritidis* (1,3 %) detektiert.

Weiterhin wurden in den Jahren 2016 und 2017 insgesamt 244 Produktproben (Kopf-/Blatt-/Pflücksalate, Endivie, Zichorie, Möhren, Gurken, etc.) direkt in einem verarbeitenden Betrieb im süddeutschen Raum entnommen sowie weitere 40 Handelsproben untersucht. In diesen Proben konnten keine Salmonellen nachgewiesen werden (Kabisch et al., 2017).

Im Jahr 2018 erhielt das Nationale Referenzlabor für *Salmonella* am BfR von Untersuchungseinrichtungen in Deutschland insgesamt 4.807 *Salmonella*-Isolate zur Typisierung. Nur 17 dieser Isolate (0,35 %) stammten aus Lebensmitteln pflanzlichen Ursprungs. In 2017 waren es acht (0,20 %) von 3.873 Isolaten. Die Lebensmittelmatrizes, aus denen diese Salmonellen isoliert wurden, sind in der Tabelle 5 aufgelistet.

**Tabelle 5: Salmonella-Serovare der an das NRL-Salmonella eingesandten Isolate aus Lebensmitteln pflanzlichen Ursprungs (2017-2018)**

| 2017                          |                       | 2018                      |                           |
|-------------------------------|-----------------------|---------------------------|---------------------------|
| Serovar                       | Matrix                | Serovar                   | Matrix                    |
| S. Bracknell                  | Hafermehl             | S. Agona                  | Gemüse (Karottensalat)    |
| S. Coeln                      | Roggenmehl (2x)       | S. Typhimurium            | Gemüsechips<br>Mischsalat |
| S. Infantis                   | Kräuter               | S. Douala                 | Sesam                     |
| S. Oranienburg                | Fruchtsaft            | S. Mbandaka               | Sesam                     |
| S. Subspez. I. 11:z41:e,n,z15 | Sesamsaat             | S. Mishmarhaemek          | Sesam                     |
| S. Subspez. II. 55:k:z39      | Vegane Dinkel-Spätzle | S. Plymouth               | Sesam                     |
| S. Subspez. IV. 43:z4, z23    | Basilikum             | S. Subspez. I. 1,3,19:z:- | Gewürze                   |
|                               |                       | S. Oranienburg            | Gewürze                   |
|                               |                       | S. Weltevreden            | Pilze                     |
|                               |                       | S. Louisiana              | Bananenblätter            |
|                               |                       | S. Faji                   | Bananenblätter            |

Im nationalen Prüfplan der Niederlande wurden im Jahr 2016 mehr als 3.457 Produkte (pflanzliche Rohware) untersucht. Es konnte nur in einer Probe (0,02 %) Salmonellen nachgewiesen werden. Im gleichen Zusammenhang wurden auch Salate/Blattgemüse und frische Kräuter analysiert. Salmonellen konnten nicht in den 300 Salat- bzw. Blattgemüseproben, dafür aber in 4,6 % der frischen Kräuterproben nachgewiesen werden (Heythuyzen, 2016). Das Niederländische Staatliche Institut für Volksgesundheit und Umwelt (RIVM) wies nur in einer (0,38 %) von 1.860 untersuchten Salat- bzw. Gemüseproben sowie in einer (0,17 %) von 1.151 untersuchten Proben von verzehrfertigen Mischsalaten, die im Zeitraum 2006–2007 in den Betrieben zweier Hersteller entnommen wurden, Salmonellen nach. Daten aus dem dänischen Zoonosenbericht für das Jahr 2017 zeigen, dass Salmonellen in Salat-, Spinat-, Sprossen- und Kräuterproben (N = 94) nicht nachweisbar waren (Anonymus, 2018).

Vergleicht man die nationalen/europäischen Daten mit Daten aus Nordamerika, so kann festgestellt werden, dass die Nachweisraten von Salmonellen in pflanzlichen Frischeprodukten in ähnlichen Prozentbereichen von meist unter 1 % liegen (Tabelle 6).

Tabelle 6: Nachweise von Salmonellen in Gemüse in Nordamerika

| Land        | Jahr          | Lebensmittel   | Positivbefunde/ Gesamtanzahl Proben | Anteil positiver Proben in % (95 % Konfidenzintervall) | Literatur                              |
|-------------|---------------|--|-------------------------------------|--|--|
| Nordamerika |               |  |                                     |  |  |
| Kanada      | 2009 bis 2013 | Kräuter (Petersilie, Koriander, Basilikum, Dill, Minze etc.) | 5/6.027                             | 0,08 (0,04-0,19)                                       | Denis et al., 2016, Reddy et al., 2016 |
|             |               | Blattgemüse (Blattsalate, Kopfsalate, Spinat etc.)           | 2/11.400                            | 0,02 (0-0,06)  |  |
|             |               | Grüne Zwiebeln   | 1/2.963                             | 0,03 (0,01-0,19)                                       |  |
|             |               | Tomaten  | 0/4.416                             | 0 (0-0,09)   |  |
| USA         | 2002 bis 2012 | Koriander  | 31/9.245                            | 0,34   | Reddy et al. (2016)                    |
|             |               | Petersilie   | 5/1.700                             | 0,29   |  |
|             |               | Sprossen   | 32/12.976                           | 0,25   |  |
|             |               | Spinat   | 22/11.030                           | 0,20   |  |
|             |               | Grüne Zwiebeln   | 6/7.332                             | 0,08   |  |
|             |               | Kopfsalate   | 7/10.816                            | 0,06   |  |
|             |               | Salate in Beuteln  | 3/7.269                             | 0,04   |  |
|             |               | Tomaten  | 5/24.669                            | 0,02   |  |

Quantitative Daten zum Vorkommen von Salmonellen in verschiedenen pflanzlichen Lebensmitteln sind kaum vorhanden. Pielaat et al. (2008) berichteten jedoch Keimzahlen von 0,0019 und >0,281 Salmonellen pro Gramm in Salat-/Gemüseproben bzw. vorgeschnittenen abgepackten Salaten.

Da Silva Felicio et al. (2015) entwickelten ein semiquantitatives Modell, um die Interaktion von bestimmten Pathogenen mit spezifischen Lebensmitteln nicht-tierischen Ursprungs in der EU zu bestimmen und einzustufen. Die am höchsten eingestufteten Kombinationen waren Salmonellen/Blattgemüse bzw. Salmonellen/Zwiebel- und Stängelgemüse, gefolgt von Salmonellen/Tomaten und Salmonellen/Melonen. In ihren Untersuchungen zum Vorkommen von Salmonellen in pflanzlichen Frischeprodukten konnten Reddy et al. (2016) zeigen, dass die höchsten *Salmonella*-Prävalenzen in Koriander (0,34 %), gefolgt von Petersilie und Spinat (0,29 %), Peperoni (0,26 %) und Sprossen (0,25 %) vorkamen. Reddy et al. (2016) argumentierten, dass Dünger, Gülle, Boden, Bewässerungswasser oder Tiere mögliche Quellen für die Salmonellen-Kontamination sein könnten. Demnach könnten Boden oder Wasser bei Kontakt mit den Blattunterseiten mögliche Risikofaktoren sein und somit müssten Gemüse, die näher am Boden wachsen, mehr für Kontaminationen empfänglich sein. Die Autoren argumentierten, dass die von ihnen gezeigten Daten zur Prävalenz von Salmonellen in Koriander, Spinat und Petersilie dies bekräftigen würden (Reddy et al., 2016).

### 3.1.3.4 Vorkommen von STEC in pflanzlichen Lebensmitteln

STEC wurden bereits aus diversen pflanzlichen Lebensmitteln isoliert, beispielsweise aus Kohl, Sellerie, Koriander und Kresse (Olaimat and Holley, 2012).

Die Untersuchungen im Rahmen der amtlichen Lebensmittelüberwachung in Deutschland deuten darauf hin, dass Obst und Gemüse nur sehr selten mit STEC kontaminiert ist. So ergab die Auswertung des BVL von in den Bundesländern durchgeführten amtlichen mikrobiologischen Untersuchungen von frischem Blattgemüse und Blattgemüseerzeugnissen bzw. -zubereitungen in den Jahren 2014-2016, dass STEC in drei (0,3 %) von 931 untersuchten Proben von frischem Blattgemüse (Rucola) nachweisbar waren. In 161 untersuchten Blattgemüseerzeugnissen/-zubereitungen wurden keine STEC gefunden.

Im Rahmen des Zoonosen-Monitorings wurden im Jahr 2012 in vier (1,3 %) von 312 untersuchten Proben von Blatt- und Kopfsalaten aus Erzeugerbetrieben STEC nachgewiesen. In 464 Proben, die in demselben Jahr auf der Ebene des Einzelhandels entnommen wurden, waren jedoch keine STEC nachweisbar (BVL, 2014). In den Folgejahren wurden in den im Rahmen des Zoonosen-Monitorings untersuchten Proben von Obst und Gemüse keine STEC detektiert (Tabelle 7).

**Tabelle 7: STEC in Obst und Gemüse, in Deutschland, 2012-2016, Zoonosen-Monitoring**

| Jahr | Lebensmittel                              | Anzahl untersuchter Proben (N) | positive Proben (n) | Anteil positiver Proben in % |
|------|---|--------------------------------|---------------------|------------------------------|
| 2012 | Blatt- und Kopfsalate aus Erzeugerbetrieb | 312                            | 4                   | 1,3                          |
|      | Blatt- und Kopfsalate aus Einzelhandel    | 464                            | 0                   | 0,0                          |
| 2013 | Frische Erdbeeren aus Erzeugerbetrieb     | 336                            | 0                   | 0,0                          |
|      | Frische Erdbeeren aus Einzelhandel        | 424                            | 0                   | 0,0                          |
| 2014 | Frische Kräuter                           | 426                            | 0                   | 0,0                          |
| 2015 | Vorgeschnittene Blattsalate               | 383                            | 0                   | 0,0                          |
| 2016 | Tomaten (Cocktail, Cherry)                | 475                            | 0                   | 0,0                          |
|      | Sprossen (frisch)                         | 368                            | 0                   | 0,0                          |

Im Jahr 2017 gelang der Nachweis von STEC in einer von 155 untersuchten BÜp-Proben von Smoothies aus Obst bzw. Obst und Gemüse (BVL, 2018). Hingegen wurden im Jahr 2012 in 28 frisch gepressten Gemüsesäften aus Saftbars keine STEC gefunden (BVL, 2013).

Im Rahmen zweier Forschungsprojekte wurden in den Jahren 2015–2017 am MRI Erhebungen zum Vorkommen von pathogenen Mikroorganismen in Frischeprodukten durchgeführt. Bei den im Jahr 2015 durchgeführten Untersuchungen von Handelsproben (N=200) wurde in einer Probe von schnittfertigem Mischsalat *E. coli* O26:H11 detektiert, welcher die drei Genmarker *stx1*, *stx2* und *eae* besitzt (Fiedler et al., 2017). In 2016 wurden weitere 115 Proben (frische Pilze, Möhren, Sprossen) untersucht und dabei aus einer Probe (Möhre) *E. coli* O146:H28 mit dem Pathogenmarker-Gen *stx2* isoliert.

In den Jahren 2016 und 2017 wurden im Rahmen des zweiten Projekts direkt in einem verarbeitenden Betrieb im süddeutschen Raum 244 Produktproben (Kopf-/Blatt-/Pflücksalate, Endivie, Zichorie, Möhren, Gurken, etc.) entnommen und anschließend analysiert. Aus einer Probe konnte *E. coli* O146:H28 (*stx2* positiv) isoliert werden (Kabisch et al., 2017). Weitere 40 Handelsproben von Salaten und Mischsalaten aus dem Jahr 2017 waren STEC negativ.

Insgesamt wurden bei den Untersuchungen von 599 Frischeprodukten STEC mit einer Prävalenz von 0,5 % nachgewiesen.

In einer niederländischen Erhebung waren 0,11 % der untersuchten, pflanzlichen Rohprodukte mit *E. coli* O157 kontaminiert (Wijnands et al., 2014). Im Zeitraum von August 2013 bis März 2016 wurde in den Niederlanden im Rahmen des Monitorings „Food-Compass“ bei Rohwarenkontrollen (N=3.013) eine STEC-Prävalenz von 0,2 % festgestellt (Heythuyzen, 2016).

Bei einer in Belgien durchgeführten Untersuchung von frischen Kräutern (Basilikum und Koriander) war die Detektion von STEC per PCR, definiert als das Vorkommen der Gene *stx* und *eae*, in 11 von 592 Proben positiv, wobei ein kultureller Nachweis nicht gelang (Delbeke et al., 2015).

Aufgrund des seltenen Nachweises von STEC in frischem Obst und Gemüse kommt es auch nur selten zu Meldungen im Europäischen Schnellwarnsystem für Lebensmittel und Futtermittel „RASFF“ (Rapid Alert System for Food and Feed), wie Tabelle 8 zu entnehmen ist.

**Tabelle 8: Meldungen im Europäischen Schnellwarnsystem (RASFF) aufgrund von STEC/EHEC-Nachweisen in Obst und Gemüse (11/2014-5/2019)**

Quelle: <https://webgate.ec.europa.eu/rasff-window/portal/>: 1.1.2014-21.8.2019)

| Datum      | Meldendes Land    | Thema (Originaltext)  |
|------------|-------------------|---|
| 24/05/2019 | Deutschland       | shigatoxin-producing <i>Escherichia coli</i> (stx1+ stx2+ eae+) in organic baby spinach from Italy  |
| 22/10/2018 | Deutschland       | shigatoxin-producing <i>Escherichia coli</i> (stx2+ /25g) in sprouts from Germany, with raw material from Italy                                       |
| 09/10/2018 | Niederlande       | shigatoxin-producing <i>Escherichia coli</i> (stx2f+ /25g) in chilled chopped endive from the Netherlands   |
| 22/09/2017 | Finnland          | shigatoxin-producing <i>Escherichia coli</i> (stx2+) in lamb's lettuce ( <i>Valerianella locusta</i> ) from Italy                                     |
| 03/08/2017 | Deutschland       | shigatoxin-producing <i>Escherichia coli</i> (stx2+ /25g) in beetroot sprouts from the Netherlands  |
| 28/04/2016 | Niederlande       | shigatoxin-producing <i>Escherichia coli</i> (stx1+ /25g) in fresh bean sprouts (tauge) from the Netherlands  |
| 07/09/2016 | Finnland          | foodborne outbreak suspected to be caused by shigatoxin-producing <i>Escherichia coli</i> (stx+, eae+, 3100 CFU/g) in rucola from Denmark, via Sweden |
| 28/07/2015 | Finnland          | shigatoxin-producing <i>Escherichia coli</i> (stx1-/stx2+/eae- /25g) in lentil sprouts with raw material from Canada, packaged in Sweden              |
| 07/07/2015 | Niederlande       | shigatoxin-producing <i>Escherichia coli</i> (VTEC: stx1) in sprouted beans from the Netherlands  |
| 27/05/2014 | Tschech. Republik | shigatoxin-producing <i>Escherichia coli</i> (presence /25g) in cherry tomatoes from Morocco, via France  |
| 25/11/2014 | Dänemark          | shigatoxin-producing <i>Escherichia coli</i> (vtx+ and eae+) in dates from Iran, via Sweden   |

In den USA untersuchten Zhang et al. (2019) im Zeitraum 2009–2014 den mikrobiologischen Status von Blattgemüse (Eisbergsalat, Romanasalat, Spinat) und Sprossen. Dabei wurden bei Blattgemüse (N=14.183) Prävalenzen von *E. coli* O157:H7 und non-O157 STEC von 0,01 % und 0,07 % detektiert. Während *E. coli* O157:H7 auf Sprossen nicht nachgewiesen wurde, waren 0,04 % der untersuchten Sprossen (N=2.652) positiv für non-O157 STEC. Korir et al. (2016) untersuchten in den USA insgesamt 414 Frischeerzeugnisse und konnten aus einer Probe von frischem Spinat *E. coli* O157:H7 isolieren.

In einer weiteren Studie wurden in den USA in den Jahren 2002–2012 insgesamt 132 STEC-Stämme aus Proben von pflanzlichen Frischeprodukten isoliert. Dies entsprach einer Prävalenz von 0,5 %. Die meisten (52 %) dieser STEC-Stämme kamen in Proben von frischem Spinat vor, gefolgt von Blattsalaten (21 %) und Koriander (14 %). Neben *E. coli* O157:H7 wurden in diesen Proben auch weitere krankheitsassoziierte Serotypen (O121: H19, O26:H11 und O165:H25) nachgewiesen. 56 dieser 132 STEC-Stämme waren nur partiell bzw. nicht serotypisierbar (Feng and Reddy, 2013).

### 3.1.3.5 Vorkommen von *Listeria monocytogenes* in pflanzlichen Lebensmitteln

Aufgrund seiner Fähigkeit zur saprophytischen Lebensweise kann *Listeria monocytogenes* sehr gut in Boden, Pflanzenresten und Abwässern auf landwirtschaftlich genutzten Flächen überleben. Der Eintrag des Erregers in Boden und Oberflächengewässer erfolgt beispielsweise über die organische Düngung in der Landwirtschaft (Gülle, Mist), durch landwirtschaftliche Abwässer oder durch Wildtiere (Dowe et al., 1997, Ivanek et al., 2006). Im Boden oder bodennah wachsende Pflanzen können so durch direktes Anhaften von Bodenpartikeln oder durch Regen oder Bewässerung mit *Listeria monocytogenes* kontaminiert werden. Sehr häufig wird der Erreger auch erst während der Verarbeitung durch mangelnde Betriebshygiene in das Lebensmittel eingetragen. Eine Kontamination von pflanzlichen Lebensmitteln mit *Listeria monocytogenes* ist deshalb grundsätzlich sowohl vor der Ernte als auch während der Verarbeitung und Verpackung möglich. Das Waschen von pflanzlichen Lebensmitteln kann bei Oberflächenkontamination zur Reduktion von *Listeria monocytogenes* beitragen (Hofmann et al., 2014, Pezzuto et al., 2016), die Effizienz des Waschens ist jedoch abhängig von der Pflanzenart und deren Oberflächenbeschaffenheit (Nastou et al., 2012).

Für das Vorkommen von *Listeria monocytogenes* in pflanzlichen Lebensmitteln in Deutschland liegen nur wenige Daten vor, welche keine valide und umfassende Einschätzung erlauben. Jedoch zeigen sie, dass der Erreger in und auf verschiedensten pflanzlichen Lebensmitteln vorkommt, wie Berichte zum Zoonosen-Monitoring in Deutschland und Erhebungen des BfR zeigen (BVL, 2013, BVL, 2014, BVL, 2015, BVL, 2016, BVL, 2016, BVL, 2017, BVL, 2018, Hartung, 2010, Hartung and Käsbohrer, 2011, Hartung and Käsbohrer, 2012, Hartung and Käsbohrer, 2013, Hartung et al., 2018, Hartung et al., 2014, Hartung et al., 2015, Hartung et al., 2016).

Tabelle 9 zeigt die berichteten qualitativen Nachweise in Planproben von Gemüse und Salaten für die Kategorien „Salate, Blattgemüse, Sprossgemüse, Frischgemüse zum Rohverzehr (ohne Blatt-, Schnitt- und Sprossgemüse)“, „Frischgemüse ohne Rhabarber“ und „vorzerkleinertes Gemüse und Salate (pre-cut)“ in den Jahren 2008-2016. Der Erreger wurde regelmäßig in wenigen Proben nachgewiesen. Aufgrund der geringen und stark schwankenden jährlichen Stichprobenumfänge lassen sich jedoch keine validen Aussagen zur Prävalenz ableiten.

Im Rahmen des Zoonosen-Monitorings wurden im Jahr 2012 Blatt- und Kopfsalate aus Erzeugerbetrieben (N=300) und im Einzelhandel (N=422) beprobt und im Jahr 2015 wurden vorgeschnittene Blattsalate im Einzelhandel (N=344) untersucht. Die Nachweisraten lagen hier bei 3,7 %, 2,6 % bzw. 2,0 % (Tabelle 10). Keine Probe wies eine Konzentration von *Listeria monocytogenes* von über 100 KbE/g auf (Tabelle 11). In 2016 wurden zudem frische Cocktail- und Cherry-Tomaten sowie frische Sprossen qualitativ auf das Vorkommen von *Listeria monocytogenes* untersucht. Während der Erreger in Tomaten nicht nachgewiesen wurde, waren 1,8 % der untersuchten Proben von frischen Sprossen mit *Listeria monocytogenes* kontaminiert. In keiner quantitativ untersuchten Probe von Sprossen wurde *Listeria monocytogenes* nachgewiesen (Nachweisgrenze <10 KbE/g).



Auch für Obst liegen für die vergangenen Jahre in Deutschland nur wenige Daten zum Nachweis von *Listeria monocytogenes* vor. Im Zeitraum 2011–2016 wurden vereinzelt positive Nachweise sowohl für Frischobst als auch für Obstsalate (pre-cut) berichtet (Tabelle 9). Eine Abschätzung der Prävalenz des Erregers erlauben diese erhobenen Daten jedoch nicht.

Im Rahmen des Zoonosen-Monitorings wurden bisher lediglich in 2013 frische Erdbeeren aus Erzeugerbetrieben (N=300) und dem Einzelhandel (N=463) auf das Vorkommen von *Listeria monocytogenes* untersucht. Für beide Herkunftsarten wurden mit 1,3 % und 1,1 % ähnliche Nachweisraten übermittelt (Tabelle 10).

Offen angebotene, frisch gepresste Frucht- und Gemüsesäfte aus Saftbars sowie gemüsehaltige und/oder obsthaltige, nicht pasteurisierte Smoothies wurden in Rahmen des BÜp in 2012 bzw. 2017 auf *Listeria monocytogenes* untersucht. Lediglich in einer Probe aus 2012 wurde der Erreger molekularbiologisch detektiert (BVL, 2013, BVL, 2018).

Valide Daten zum Vorkommen von *Listeria monocytogenes* in Kräutern in Deutschland liegen nicht vor. In internationalen Studien konnte *Listeria monocytogenes* auf diversen frischen sowie getrockneten Kräutern, wie z. B. Melisse, Salbei, Malve, Kamille, Dill, Petersilie, Senf und Koriander, nicht nachgewiesen werden (FSAI 2015, Johannessen et al., 2002, Johnston et al., 2005, Korir et al., 2016, Vitullo et al., 2011). Hingegen wurden für viele ätherische Öle aus Kräutern antimikrobielle Wirkungen nachgewiesen, in Abstufung auch gegenüber *Listeria monocytogenes* (de Carvalho et al., 2015, Lopez et al., 2005). Laut Mitteilung im RASFF wurde im Jahr 2016 auf frischem Thymian zwei Tage vor Ablauf der Mindesthaltbarkeit *Listeria monocytogenes* in einer Konzentration von 90 KbE/g festgestellt. In Deutschland gab es in demselben Jahr im Rahmen der amtlichen Überwachung einen positiven qualitativen Nachweis von *Listeria monocytogenes* in geschnittener, tiefgekühlter Petersilie.

In zwei Forschungsprojekten des MRI wurden in den vergangenen Jahren insgesamt 884 verschiedene pflanzliche Produkte untersucht. Hierzu zählten 600 Proben aus konventionellem und biologischem Anbau, die in den Jahren 2015 und 2016 aus dem Lebensmitteleinzelhandel in Nord- und Süddeutschland bezogen wurden (115 Küchenkräuter, 40 Gurkenproben, 79 Karottenproben, 80 Kopf-/Blatt-/Pflücksalate, 116 verzehrfertige Salate, 81 Proben Speisepilze und 89 Sprossenproben) (Becker et al., 2019). Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind auszugsweise in Tabelle 12 dargestellt. Der Anteil positiver Proben lag hier zwischen 0 % und 2,6 %.

Im zweiten Forschungsprojekt des MRI wurden 244 Produktproben (Kopf-/Blatt-/Pflücksalate, Endivie, Zichorie, Möhren, Gurken, etc.) direkt in einem verarbeitenden Betrieb im süddeutschen Raum entnommen und auf das Vorkommen von *Listeria monocytogenes* untersucht. Dabei wurde *Listeria monocytogenes* in einer von 10 untersuchten Proben von Eissalat, drei von 15 untersuchten Proben von Pflücksalat der Sorte Lollo Rosso und einer von 14 untersuchten Proben von Pflücksalat der Sorte Lollo Bionda nachgewiesen. In weiteren 40 Handelsproben von Salaten und Mischsalaten aus dem Jahr 2017 war *Listeria monocytogenes* nicht nachweisbar.

**Tabelle 9: *Listeria monocytogenes* in Obst und Gemüse in Deutschland, 2008-2016, qualitative Untersuchungen – Planproben**

| Lebensmittel   | Jahr | untersuchte Proben (N) | positive Proben (n) | Anteil positiver Proben in % | 95 %-Konfidenzintervall |
|--|------|------------------------|---------------------|------------------------------|-------------------------|
| Salate   | 2011 | 34                     | 2                   | 5,88                         | 0,00-13,79              |
|  | 2012 | 157                    | 3                   | 1,91                         | 0,00-4,05               |
|  | 2013 | 49                     | 1                   | 2,04                         | 0,00-6,00               |
|  | 2014 | 36                     | 1                   | 2,78                         | 0,00-8,15               |
|  | 2015 | 78                     | 0                   |                              | 0,00-1,12               |
|  | 2016 | 170                    | 5                   | 2,94                         | 0,40-5,48               |
| Blattgemüse  | 2011 | 37                     | 0                   |                              |                         |
|  | 2012 | 649                    | 11                  | 1,69                         | 0,70-2,69               |
|  | 2013 | 133                    | 3                   | 2,26                         | 0,00-4,78               |
|  | 2014 | 210                    | 4                   | 1,90                         | 0,06-3,75               |
|  | 2015 | 264                    | 1                   | 0,38                         | 0,00-13,95              |
|  | 2016 | 20                     | 1                   | 5,00                         | 0,00-14,55              |
| Sprossgemüse   | 2011 | 110                    | 3                   | 2,73                         | 0,00-5,77               |
|  | 2012 | 109                    | 6                   | 5,50                         | 1,22-9,79               |
|  | 2013 | 53                     | 0                   |                              |                         |
|  | 2014 | 35                     | 0                   |                              |                         |
|  | 2015 | 105                    | 1                   | 0,95                         | 0,00-2,81               |
|  | 2016 | 238                    | 2                   | 0,84                         | 0,00-2,00               |
| Frischgemüse zum Rohverzehr (ohne Blatt-, Schnitt- und Sprossgemüse) | 2011 | 97                     | 1                   | 1,03                         | 0,00-3,04               |
|  | 2012 | 121                    | 2                   | 1,65                         | 0,00-3,92               |
|  | 2013 | 59                     | 1                   | 1,69                         | 0,00-4,99               |
|  | 2014 | 79                     | 2                   | 2,53                         | 0,00-6,00               |
|  | 2015 | 45                     | 3                   | 6,67                         | 0,00-13,95              |
|  | 2016 | 252                    | 0                   |                              |                         |
| Frischgemüse ausgenommen Rhabarber                                   | 2011 | 7                      | 0                   |                              |                         |
|  | 2012 | 181                    | 3                   | 1,66                         | 0,00-3,52               |
|  | 2013 | 38                     | 0                   |                              |                         |
|  | 2014 | 104                    | 1                   | 0,96                         | 0,00-2,84               |
|  | 2015 | 177                    | 0                   |                              |                         |
|  | 2016 | 156                    | 0                   |                              |                         |
| vorzerkleinertes Gemüse und Salate (pre-cut)                         | 2008 | 24                     | 2                   | 8,33                         | 0,00-19,39              |
|  | 2009 | 38                     | 1                   | 2,63                         | 0,00-7,72               |
|  | 2010 | 7                      | 1                   | 14,29                        | 0,00-40,21              |
|  | 2013 | 3                      | 0                   |                              |                         |
|  | 2015 | 37                     | 1                   | 2,70                         | 0,00-7,93               |
| Frischobst einschließlich Rhabarber                                  | 2011 | 61                     | 1                   | 1,64                         | 0,00-4,83               |
|  | 2012 | 142                    | 0                   |                              |                         |
|  | 2013 | 337                    | 1                   | 0,30                         | 0,00-0,88               |
|  | 2014 | 67                     | 0                   |                              |                         |
|  | 2015 | 96                     | 1                   | 1,04                         | 0,00-3,07               |
|  | 2016 | 21                     | 0                   |                              |                         |
| Obstsalate (pre-cut)   | 2011 | 56                     | 0                   |                              |                         |
|  | 2012 | 94                     | 0                   |                              |                         |
|  | 2013 | 49                     | 0                   |                              |                         |
|  | 2014 | 65                     | 0                   |                              |                         |
|  | 2015 | 70                     | 1                   | 1,43                         | 0,00-4,21               |
|  | 2016 | 36                     | 0                   |                              |                         |

**Tabelle 10: *Listeria monocytogenes* in Obst und Gemüse in Deutschland, 2012-2016, Zoonosen-Monitoring - qualitative Untersuchungen**

| Jahr | Lebensmittel                              | Anzahl untersuchter Proben (N) | positive Proben (n) | Anteil positiver Proben in % (95 %-Konfidenzintervall) |
|------|---|--------------------------------|---------------------|--|
| 2012 | Blatt- und Kopfsalate aus Erzeugerbetrieb | 300                            | 11                  | 3,7 (2,0-6,5)  |
|      | Blatt- und Kopfsalate aus Einzelhandel    | 422                            | 11                  | 2,6 (1,4-4,7)  |
| 2013 | Frische Erdbeeren aus Erzeugerbetrieb     | 300                            | 4                   | 1,3 (0,4-3,5)  |
|      | Frische Erdbeeren aus Einzelhandel        | 463                            | 5                   | 1,1 (0,4-2,6)  |
| 2015 | Vorgeschnittene Blattsalate               | 344                            | 7                   | 2,0 (0,9-4,2)  |
| 2016 | Tomaten (Cocktail, Cherry)                | 478                            | 0                   | 0,0 (0,0-1,0)  |
|      | Sprossen (frisch)                         | 271                            | 5                   | 1,8 (0,7-4,4)  |

**Tabelle 11: *Listeria monocytogenes* in Obst und Gemüse in Deutschland, 2012-2016, Zoonosen-Monitoring - quantitative Untersuchungen**

| Jahr | Lebensmittel                                | Anzahl quantitativ untersuchter Proben (N) | Anzahl und Anteil (%) positiver Proben 10-100 KbE/g | Anzahl und Anteil (%) positiver Proben >100 KbE/g | Ermittelte Keimgehalte von Proben > 100 KbE/g |
|------|---|--|---|---|---|
| 2012 | Blatt- und Kopfsalate aus Erzeugerbetrieben | 292  | 0   | 0   |   |
|      | Blatt- und Kopfsalate im Einzelhandel       | 427  | 2 (0,5)   | 0   |   |
| 2015 | Vorgeschnittene Blattsalate                 | 320  | 1 (0,3)   | 0   |   |
| 2016 | Sprossen (frisch)                           | 321  | 0   | 0   |   |

**Tabelle 12: *Listeria monocytogenes* in verschiedenen pflanzlichen Frischeprodukten, die in Deutschland auf Handelsebene untersucht wurden nach Becker et al. (2019)**

| Lebensmittel                   | Anzahl untersuchter Proben (N) | positive Proben (n) | Anteil positiver Proben in % | Produktbezeichnung                         | Molekulare Serogruppe |
|--------------------------------|--------------------------------|---------------------|------------------------------|--|-----------------------|
| Verzehrfertige Mischsalate     | 116                            | 3                   | 2,6                          | Feldsalat Mix<br>Mischsalat<br>Gartensalat | IIa<br>IIb<br>IVb     |
| Kopf-, Blatt- und Pflücksalate | 80                             | 1                   | 1,3                          | Salatherzen bicolor                        | IIa                   |
| Sprossen                       | 89                             | 1                   | 1,1                          | Pfannentrio                                | IIa                   |
| Speisepilze                    | 81                             | 1                   | 1,2                          | Enoki-Pilze                                | IIb                   |
| Kräuter                        | 115                            | 0                   | 0                            | -  |                       |
| Karotten                       | 79                             | 0                   | 0                            | -  | -                     |
| Gurken                         | 40                             | 0                   | 0                            | -  | -                     |

In den Niederlanden wurden im Jahr 2016 mehr als 3.000 Produkte (pflanzliche Rohware) auf die Anwesenheit von *Listeria monocytogenes* überprüft. Ein Nachweis war hier in 1,1 % der Proben qualitativ möglich. Im gleichen Zusammenhang wurden auch Salate/Blattgemüse (N=157/300) analysiert und in 4,8 % der qualitativ untersuchten Proben wurde *Listeria monocytogenes* gefunden (Heythuyzen, 2016).

Zhu et al. (2017) haben internationale Studien zum Vorkommen von *Listeria monocytogenes* in pflanzlichen Frischeprodukten zusammengefasst. Darin sind Prävalenzen von *Listeria monocytogenes* in Höhe von 0,9 % für Sprossen aus Korea (Anzahl untersuchter Proben = 112) bis hin zu 25 % für Petersilie aus Malaysia (Anzahl untersuchter Proben = 16) beschrieben. Es ist jedoch zu beachten, dass insbesondere bei Studien mit hohen Nachweisraten meist nur geringe Probenzahlen untersucht wurden.

### 3.1.3.6 Verzehr von frischem Obst und Gemüse in Deutschland

Der regelmäßige Verzehr von frischem Obst und Gemüse ist ein wichtiger Bestandteil einer gesundheitsförderlichen Ernährung.

Zur Abschätzung des Konsums von frischem Obst und Gemüse in Deutschland wurden Daten aus dem Haushalts- und Frischepanel der GfK (Gesellschaft für Konsumforschung) herangezogen. Die Auswertung erfolgte für den Zeitraum September 2017 bis August 2018, um auch saisonale Schwankungen über das Jahr mit zu berücksichtigen.

Für folgende pflanzliche Lebensmittel stehen dem BfR Konsumdaten (Absatz in Tonnen) zur Verfügung:

- (1) Salate und Gemüse mit den Kategorien Salate, Blattgemüse, anderes Frischgemüse, welches auch roh verzehrt werden kann (z. B. Tomaten, Gurken, Paprika), frisches Sprossgemüse (Sprossen und Keimlinge) sowie vorzerkleinerte Gemüse und Salate (pre-cut)
- (2) Obst mit den Kategorien Frischobst einschließlich Rhabarber und Obstsalat gemischt/pre-cut Obst

Im ausgewählten Erfassungszeitraum wurden 2.320.519 Tonnen (t) Salate und Gemüse sowie 3.616.843 t Obst erworben (Tabelle 13). In der Gruppe Salate und Gemüse entfällt der größte Anteil auf die Kategorie anderes Frischgemüse (87,6 %), gefolgt von Salaten (9,7 %). Nur einen geringen Anteil nehmen Blattgemüse (1,4 %), vorzerkleinerte Gemüse und Salate (1,3 %) und frisches Sprossgemüse (0,04 %) ein. Obst wurde zum größten Teil als nicht zerkleinertes Frischobst konsumiert (99,6 %).

**Tabelle 13: Absatzmengen von frischem Obst und Gemüse in Deutschland in Tonnen (t) im Erfassungszeitraum 2017/18 (Datenquelle: GfK SE, Consumer Panels & Services)**

| Lebensmittel                                   | Absatz (t)       |
|--|------------------|
| <b>Salate und Gemüse</b>                       | <b>2.320.519</b> |
| Vorzerkleinertes Gemüse und Salate (pre-cut)   | 30.075           |
| Salate   | 225.376          |
| Blattgemüse                                    | 31.771           |
| Anderes Frischgemüse ausgenommen Rhabarber     | 2.032.327        |
| Sprossgemüse - Sprossen und Keimlinge (frisch) | 970              |
| <b>Obst</b>                                    | <b>3.616.834</b> |
| Frischobst einschließlich Rhabarber            | 3.603.722        |
| Obstsalat gemischt/pre-cut Obst                | 13.112           |

Bei den vorliegenden Daten handelt es sich jedoch um Marktdaten auf Haushaltsebene. Diese Daten lassen keinen Schluss über die tatsächliche Verzehrsmenge oder -häufigkeit zu, da keine Informationen über die weitere Verwendung der Lebensmittel und dabei anfallenden Abfälle vorliegen.

Um die Relevanz des Verzehrs von roh verzehrtem Obst und Gemüse zu beurteilen, wurden deshalb außerdem Daten für verschiedene Altersgruppen der deutschen Bevölkerung hinsichtlich der Verzehreranteile ausgewertet.

Die Auswertung für Erwachsene zwischen 14 und 80 Jahren beruhen auf den Daten der „Dietary History“-Interviews der Nationalen Verzehrstudie II (NVSII). Sie wurde zwischen 2005 und 2006 in ganz Deutschland durchgeführt und ist die zurzeit aktuelle repräsentative Studie zum Verzehr der deutschen erwachsenen Bevölkerung (Krems et al., 2006, MRI, 2008).

Für die „Dietary History“-Interviews wurden mithilfe des Programms „DISHES 05“ insgesamt 15.371 Personen retrospektiv über ihren Verzehr der letzten vier Wochen befragt. Die Daten eignen sich besonders zur Erfassung der üblichen Verzehrsgewohnheiten.

Um auch die sensible Gruppe der Kinder zu berücksichtigen, wurden Verzehrdaten aus der VELS-Studie herangezogen (Banasiak et al., 2005, Hesecker et al., 2003). Die Studie wurde zwischen 2001 und 2002 an 816 Säuglingen und Kleinkindern im Alter zwischen sechs Monaten bis unter fünf Jahren in ganz Deutschland durchgeführt. Berücksichtigt wurden nur Kinder, die nicht mehr gestillt wurden (N=732). Die Eltern haben für jedes Kind zweimal 3-Tage-Ernährungsprotokolle über alle verzehrten Lebensmittel geführt. Aufgrund der Abdeckung von insgesamt sechs Verzehrstagen sind diese Daten geeignet, um einen gewohnheitsmäßigen Verzehr abzubilden.

Bei der Auswertung wurde der Verzehr von roh verzehrtem Obst und Gemüse betrachtet. Ausgeschlossen wurden dabei Angaben zu erhitzten oder getrockneten Zubereitungen (inkl. Konserven und Pulvern) sowie der Verzehr von Lebensmitteln, die ausschließlich gegart verspeist werden (z. B. Auberginen, Rosenkohl, Bohnen). Einbezogen wurden Verzehrpositionen mit der Angabe „roh, unverarbeitet“. Im Sinne einer konservativen Herangehensweise wurden auch nicht näher spezifizierte Zubereitungen einbezogen sowie Garmethoden, die keine hinreichende Keimreduktion sicherstellen (z. B. Erwärmen oder Pochieren). Auch Tiefkühlprodukte gehen in die Auswertung für rohes Obst und Gemüse ein, da diese nur teilweise vor dem Einfrieren blanchiert werden. Auch wenn Angaben zur Zubereitung der Lebensmittel in Verzehrerhebungen mit Unsicherheiten behaftet sind, führt dieses Vorgehen demnach insgesamt eher zu einer Überschätzung als zu einer Unterschätzung der Verzehreranteile.

Die Auswertungen wurden mittels SPSS Version 21 durchgeführt.

Tabelle 14 zeigt den Verzehreranteil von roh verzehrtem Obst und Gemüse für Kinder sowie Erwachsene. 98,1 % bzw. 99,8 % der Erwachsenen im Alter zwischen 14 und 80 Jahren verzehren Obst bzw. Gemüse roh<sup>7</sup>. Der Verzehreranteil bei Kindern zwischen 0,5 und <5 Jahren liegt etwas geringer bei 97,5 % für Obst und 86,2 % für Gemüse<sup>8</sup>. Eine differenzierte Betrachtung wurde für Säuglinge im Alter von 0,5 bis <1 Jahr und für die ältere Bevölkerung ab 65 Jahre durchgeführt, da diese Gruppen als besonders empfänglich für Lebensmittelinfektionen gelten. Es zeigt sich, dass der Verzehreranteil von rohem Obst bei Kindern unter einem Jahr bei fast 100 % liegt. Frisches Gemüse wurde nur von ca. 55 % der Befragten verzehrt<sup>8</sup>, was durch die bessere Verträglichkeit von gegartem Gemüse im Säuglingsalter erklärt werden kann. In der Altersgruppe ab 65 Jahren gaben nahezu 100 % der Befragten an, Obst und Gemüse roh verzehrt zu haben<sup>7</sup>.

<sup>7</sup> bezogen auf mindestens 1x im Bezugszeitraum von vier Wochen

<sup>8</sup> bezogen auf mindestens 1x im Bezugszeitraum von sechs Tagen

Tabelle 14: Anteil der Verzehrer von rohem Obst und Gemüse in der deutschen Bevölkerung (Datenbasis: NVSII (Krems et al., 2006, MRI, 2008); VELS-Studie (Banasiak et al., 2005, Hesecker et al., 2003))

|                            | Kinder<br>gesamt <sup>a,b</sup> | Erwachsene<br>gesamt <sup>c</sup> | Kinder <sup>a,b</sup> |                 | Erwachsene <sup>c</sup> |               |
|----------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|-----------------------|-----------------|-------------------------|---------------|
|                            | 0,5 - <5<br>Jahre               | 14 - 80 Jahre                     | 0.5 - <1 Jahr         | 1 - <5<br>Jahre | 14-64<br>Jahre          | ≥ 65<br>Jahre |
| roh verzehrtes Obst        | 97.5 %                          | 98.1 %                            | 98.9 %                | 97.3 %          | 97.8 %                  | 99.5 %        |
| roh verzehrtes Ge-<br>müse | 86.2 %                          | 99.8 %                            | 54.7 %                | 90.9 %          | 99.9 %                  | 99.8 %        |

<sup>a</sup> bezogen auf mindestens 1x im Bezugszeitraum von sechs Tagen <sup>b</sup> nicht gestillt <sup>c</sup> bezogen auf mindestens 1x im Bezugszeitraum von vier Wochen

### 3.1.4 Risikocharakterisierung

Auch wenn die in der vorliegenden Bewertung aufgeführten Daten keine valide Aussage zum Vorkommen von Salmonellen, STEC und *Listeria monocytogenes* auf bzw. in frischem Obst und Gemüse erlauben, zeigen sie dennoch auf, dass diese Erreger in diesen Lebensmitteln in Deutschland und in europäischen Nachbarländern bisher nur selten und nur in geringen Mengen nachweisbar waren. Allerdings können auch der VBNC-Status der Bakterien und unzureichende Analysemethoden zu den geringen Nachweisraten beigetragen haben. Die Krankheitserreger können auf und in diesen pflanzlichen Lebensmitteln lange überleben, sich dort unter bestimmten Bedingungen vermehren und nach Verzehr ggf. Infektionen auslösen. Deshalb kam es trotz der vergleichsweise seltenen Nachweise in der Vergangenheit immer wieder zu großen lebensmittelbedingten Krankheitsausbrüchen durch kontaminiertes Obst und Gemüse. Denn diese Lebensmittel werden häufig weiträumig vertrieben, vor dem Verzehr nur minimal prozessiert und von einem Großteil der Bevölkerung, auch den besonders empfindlichen Personengruppen, aufgrund ihrer gesunden Inhaltsstoffe häufig roh verzehrt. Außerdem haben diese Lebensmittel nur eine kurze Haltbarkeit, so dass sie in der Regel schon verzehrt wurden, bevor die Ausbrüche erkannt und zurückverfolgt werden können.

Frisches Obst und Gemüse kann beim Anbau und der Ernte, während des Transports und der Verarbeitung sowie bei der Verpackung und Lagerung mit Humanpathogenen kontaminiert werden. Auf dem Feld können die Pflanzen vor allem durch den Boden, das Bewässerungswasser, Bewirtschaftungsmaßnahmen und Wildtiere kontaminiert werden. Wichtige Eintragsquellen in den Boden sind tierische Ausscheidungen in organischen Düngemitteln und von Wildtieren, kontaminiertes Oberflächenwasser und das Bewässerungswasser.

Die mikrobiologische Beschaffenheit kommunaler Abwässer ist abhängig vom Infektionsstatus der Bevölkerung bzw. der Tierbestände im Einzugsbereich der Abwassergewinnung. Es kann viele verschiedene Bakterien, Viren und Parasitenstadien in unterschiedlichen Konzentrationen enthalten, welche durch die Aufbereitungsverfahren je nach Eignung der Verfahren in ihrer Menge reduziert werden. Die Konzentrationen an Indikatorbakterien können einen Hinweis darauf geben, wie erfolgreich die Reduktionsverfahren waren. Es ist davon auszugehen, dass das Vorkommen von pathogenen Darmbakterien im aufbereiteten Abwasser umso wahrscheinlicher ist, je mehr Indikatorbakterien in den Proben gefunden werden. Dennoch muss auch bei geringen Konzentrationen an fäkalen Coliformen bzw. *E. coli* mit dem Vorkommen von pathogenen Bakterien, Viren und Parasitenstadien gerechnet werden. Wird

kontaminiertes Abwasser aufgrund stetig schrumpfender Wasservorräte und seines hohen Nährstoffgehalts für die Bewässerung von roh verzehrten Nutzpflanzen verwendet, besteht die Gefahr, dass die Krankheitserreger direkt oder indirekt über den Boden auf die Pflanzenoberflächen übertragen werden oder aktiv in die Pflanzen eindringen. Das Gesundheitsrisiko für die Konsumenten von frischem Obst und Gemüse könnte ansteigen, wenn sich pathogene und antibiotikaresistente Bakterien in Biofilmen vermehren, die sich aufgrund des höheren Nährstoffgehalts in den nachgeschalteten Rohr- und Schlauchleitungen der Bewässerungssysteme bilden. Dort vorhandene Biofilme könnten außerdem temporär zu hohen Keimzahlen im Bewässerungswasser führen.

Die Persistenz von Humanpathogenen in landwirtschaftlichen Böden lässt sich aufgrund verschiedener biotischer und abiotischer Einflussfaktoren im Boden, die noch dazu von landwirtschaftlichen Maßnahmen unterschiedlich beeinflusst werden, nicht genau abschätzen. Allerdings ist zu erwarten, dass Salmonellen, STEC und *Listeria monocytogenes* in feuchten und durch das Abwasser nährstoffreichen Bodenpartien gut überleben und sich vermutlich auch vermehren können. Hingegen hat eine starke Sonneneinstrahlung in den obersten Bodenschichten wahrscheinlich einen keimreduzierenden Effekt.

Die Wahrscheinlichkeit einer Aufnahme von Salmonellen, STEC und *Listeria monocytogenes* über die Wurzeln in das Innere der Pflanzen und die dortige Ausbreitung ist nach bisherigen Studienergebnissen offenbar eher gering, kann aber bei hohen Konzentrationen der Erreger im Boden ansteigen. Sie ist darüber hinaus abhängig von im Boden vorhandenen konkurrierenden Mikroorganismen, den Eigenschaften des Bakterienstamms im Boden und der Pflanzenart.

Falls Salmonellen, STEC oder *Listeria monocytogenes* mit dem aufbereiteten Abwasser oder mit kontaminierten Bodenpartikeln auf die Pflanzenoberfläche gelangen, können sie in Abhängigkeit von den Eigenschaften des Bakterienstamms, der Begleitmikrobiota und der Pflanzenart dort längere Zeit haften. Salmonellen und STEC können in seltenen Fällen über Stomata oder Wunden auch in die Pflanze, insbesondere in die Wurzeln, eindringen. Starke Sonneneinstrahlung kann offenbar auch den Bakteriengehalt auf Pflanzenoberflächen reduzieren.

Zur Ausbreitung von Salmonellen und STEC innerhalb der Pflanzen existieren bislang nur wenige Daten. Bisherige Studienergebnisse deuten aber darauf hin, dass die Wahrscheinlichkeit größer ist, dass Wurzeln, bodennahe Pflanzenteile oder Blätter diese Erreger enthalten als beispielsweise die Früchte. Zur Ausbreitung von *Listeria monocytogenes* innerhalb der Pflanzen liegen bislang keine Daten vor, welche eine Abschätzung des Vorkommens in einzelnen Pflanzenteilen zulassen. Lediglich eine mögliche Aufnahme in die Wurzel ist bisher belegt.

Anhand verschiedener Szenarien wird nachfolgend der Einfluss von verschiedenen Bewässerungssystemen auf das mögliche Vorkommen von Salmonellen, STEC und *Listeria monocytogenes* auf und in zum Rohverzehr bestimmtem Obst und Gemüse abgeschätzt, wenn die Pflanzen beim Anbau mit aufbereitetem Abwasser gewässert werden.

**Szenario 1:** Beim Anbau von Obst und Gemüse zum Rohverzehr werden die Pflanzen mittels unterirdischer Tropfbewässerung (oder unter Folie) mit aufbereitetem Abwasser bewässert:

Es ist möglich, dass mit dem aufbereiteten Abwasser Salmonellen, STEC oder *Listeria monocytogenes* in tiefere Bodenschichten gelangen. Vermutlich können sie dort vor allem dicht an den Tropfstellen auch in geringer Abundanz eine Zeit lang überleben. Ge-

nauere Vorhersagen zur Persistenz in den tieferen Bodenschichten sind aufgrund fehlender Daten jedoch nicht möglich. Die Wahrscheinlichkeit einer Aufnahme von Salmonellen, STEC und *Listeria monocytogenes* über die Wurzeln in die Pflanzen ist von vielen Faktoren abhängig. Nach bisherigen Erkenntnissen ist sie als eher gering einzuschätzen, sie scheint aber auch mit der Menge der im Boden vorhandenen Erreger anzusteigen.

Von einer Kontamination oder auch einer Besiedlung der im Boden wachsenden Pflanzenteile, die zum Verzehr (auch roh) vorgesehen sind (z. B. Wurzelgemüse), ist grundsätzlich auszugehen. Die Übertragung der Humanpathogenen und die anschließende externe Besiedlung der oberirdisch wachsenden, verzehrbaren Pflanzenteile durch direkten Kontakt der Wurzeln mit dem aufbereiteten Abwasser, über kontaminierte Bodenpartikel oder auch Aufnahme über die Wurzel und Transport in oberirdische Pflanzenteile sind beim Einsatz einer unterirdischen Tropfbewässerung jedoch sehr unwahrscheinlich.

**Szenario 2:** Beim Anbau von Obst und Gemüse zum Rohverzehr werden die Pflanzen mittels überirdischer Tropfbewässerung mit aufbereitetem Abwasser bewässert:

Es ist möglich, dass mit dem aufbereiteten Abwasser Salmonellen, STEC oder *Listeria monocytogenes* punktuell in obere Bodenschichten gelangen. Es ist davon auszugehen, dass die Bakterien vor allem an den feuchten und nährstoffreichen Tropfstellen viele Wochen überleben, sich unter Umständen sogar vermehren. Eine Besiedlung der Wurzel ist in dem Fall sehr wahrscheinlich. In seltenen Fällen können Humanpathogene über die Wurzeln in das Innere von Pflanzen eindringen. Die restliche Bodenoberfläche bleibt trocken, wodurch vorhandene Bakterien schlechter überleben können.

Bei starken Regenfällen oder während der Ernte ist es insbesondere bei Wurzelgemüse möglich, dass Humanpathogene mit Bodenpartikeln auf verzehrbare Pflanzenteile übertragen werden, dort haften und ggf. auch in die Pflanzen eindringen. Da erwartet wird, dass die Humanpathogenen nur in der näheren Umgebung der Tropfstellen überleben können, ist diese Übertragung jedoch weniger wahrscheinlich als bei anderen überirdischen Bewässerungsmethoden.

Die Wahrscheinlichkeit einer direkten Übertragung von im aufbereiteten Abwasser vorhandenen Krankheitserregern auf die Pflanzen ist bei dieser Bewässerungsmethode sehr gering.

**Szenario 3:** Beim Anbau von Obst und Gemüse zum Rohverzehr werden die Pflanzen mittels wasserführender Gräben mit aufbereitetem Abwasser bewässert:

Es ist möglich, dass mit dem aufbereiteten Abwasser Salmonellen, STEC oder *Listeria monocytogenes* flächig auf die oberen Bodenschichten gelangen. Es ist davon auszugehen, dass die Bakterien vor allem in den feuchten und nährstoffreichen Gräben viele Wochen überleben und sich unter Umständen sogar vermehren. Eine Besiedlung der Wurzel ist in dem Fall sehr wahrscheinlich. In seltenen Fällen können Humanpathogene über die Wurzeln in das Innere von Pflanzen eindringen.

Bei starken Regenfällen (infolge von Abschwemmung) oder während der Ernte ist es insbesondere bei Wurzelgemüse möglich, dass Humanpathogene mit Bodenpartikeln auf verzehrbare Pflanzenteile übertragen werden, dort haften und ggf. auch in die Pflanzen eindringen.

Bei bodennah wachsendem Obst und Gemüse ist außerdem eine externe Besiedlung der Pflanzen durch direkten Kontakt mit dem aufbereiteten Abwasser möglich. Dies ist jedoch weniger wahrscheinlich als bei Beregnungssystemen.



**Szenario 4:** Beim Anbau von Obst und Gemüse zum Rohverzehr werden die Pflanzen mittels Beregnungssystem mit aufbereitetem Abwasser bewässert:

Es ist möglich, dass mit dem aufbereiteten Abwasser Salmonellen, STEC oder *Listeria monocytogenes* flächig auf die oberen Bodenschichten gelangen, dort viele Wochen überleben, sich in feuchten Bodenpartien sogar vermehren und in seltenen Fällen über die Wurzeln in das Innere von Pflanzen eindringen können.

Durch den direkten Kontakt mit dem Bewässerungswasser ist auch eine externe Besiedlung möglich. Bei bodennah wachsendem Obst und Gemüse ist es möglich, dass Humanpathogene mit Bodenpartikeln auf verzehrbare überirdische Pflanzenteile übertragen werden, dort haften und ggf. auch in die Pflanzen eindringen.

**Szenario 5:** Obst und Gemüse zum Rohverzehr wird in hydroponischer Kultur mit aufbereitetem Abwasser angebaut:

Es ist möglich, dass Salmonellen, STEC oder *Listeria monocytogenes* mit dem aufbereiteten Abwasser über die Wurzeln in das Innere von Pflanzen gelangen. Die Wahrscheinlichkeit ist nach bisherigen Erkenntnissen höher als bei Bodenkulturen, vermutlich weil die Erreger sich nicht an Bodenpartikel binden und die im Boden vorhandenen konkurrierenden Mikroorganismen fehlen.

Bei der Ernte ist auch eine Übertragung der Humanpathogenen und anschließende externe Besiedlung der verzehrbaren Pflanzenteile durch direkten Kontakt mit dem Bewässerungswasser möglich.

Das Verbraucherrisiko, nach dem Verzehr von frischem Obst und Gemüse zu erkranken, welches beim Anbau mit aufbereitetem Abwasser bewässert wurde, ist außerdem abhängig von der Pflanzenart, der verwendeten Pflanzenteile (Wurzel, Stengel, Blatt, Früchte), der Zubereitung und der verzehrten Menge (z. B. große Menge bei Salat oder kleine Menge bei Gewürzkräutern), der Art und Menge der aufgenommenen pathogenen Bakterien und der Empfindlichkeit der Konsumenten gegenüber diesen Erregern.

Es könnte sein, dass der Rohverzehr von Wurzelgemüse und bodennah wachsenden Obst- und Gemüsearten aufgrund der höheren Wahrscheinlichkeit einer Kontamination oder auch internen Besiedlung der Wurzel sowie einer externen Kontamination mit Humanpathogenen ein höheres Infektionsrisiko bergen als der Konsum anderer Obst- und Gemüsearten. Noch höher erscheint das Infektionsrisiko, wenn die Wurzel mitverzehrt wird, beispielsweise bei Wurzelgemüse (z. B. Möhren) oder auch Sprossen. Durch das Schälen ließe sich das Risiko einer Lebensmittelinfektion minimieren.

Da STEC in und auf pflanzlichen Lebensmitteln gut überleben kann und die Infektionsdosis sehr gering ist, besteht das Infektionsrisiko unabhängig von einer weiteren Vermehrung im Lebensmittel. Bei gesunden Erwachsenen würden die Infektionen wahrscheinlich überwiegend leichte bis schwere Durchfallerkrankungen auslösen. Insbesondere bei kleinen Kindern kann es aber in Folge der Infektion zu einem hämolytisch-urämischem Syndrom (HUS) kommen, welches mit blutigem Durchfall und Nierenversagen einhergeht und zur dauerhaften Dialysepflicht und in Einzelfällen zum Tod führen kann.

Die Eintrittswahrscheinlichkeit für Listeriose-Fälle würde weiter ansteigen, wenn sich die Erreger nach der Ernte in diesen Lebensmitteln beispielsweise durch austretende Pflanzensäfte und unzureichende Kühlung weiter vermehren. Dennoch wäre es unwahrscheinlich, dass gesunde Erwachsene in Deutschland nach Konsum von Obst und Gemüse, das beim Anbau mit aufbereitetem Abwasser bewässert wurde, an einer Listeriose erkranken. Aber

bestimmte Personengruppen sind aufgrund ihrer unzureichend entwickelten oder geschwächten Immunabwehr für diese Erkrankung besonders gefährdet. Die gesundheitlichen Beeinträchtigungen sind als sehr schwer zu beurteilen, es treten häufig Todesfälle auf. Zu den besonders empfänglichen Personengruppen gehören alte Menschen, Personen mit schweren Grunderkrankungen (wie z. B. Tumorerkrankungen oder durch eine längerfristige Einnahme immunsuppressiver Medikamente) sowie Schwangere und Neugeborene.

Die bei gesunden Menschen durch Salmonellen hervorgerufenen Magen-Darm-Erkrankungen heilen in der Regel innerhalb von wenigen Wochen vollständig aus. Schwere Krankheitsverläufe sind selten. Falls sich Salmonellen aber bei feucht-warmen Bedingungen auf den Pflanzen oder in den pflanzlichen Lebensmitteln vermehren können, würde nicht nur die Eintrittswahrscheinlichkeit für Salmonellose-Fälle steigen, sondern die Erkrankungen könnten auch schwerer verlaufen. Nur vereinzelt treten Todesfälle auf, insbesondere bei sehr alten Personen und Menschen mit schweren Grunderkrankungen.

Das Waschen von Obst und Gemüse mit sauberem Trinkwasser ist geeignet, die Konzentration von äußerlich anhaftenden Bakterien zu reduzieren. Eine sichere Eliminierung von möglicherweise vorhandenen Krankheitserregern auf und in Pflanzen ist damit aber nicht möglich. In den Pflanzen vorkommende pathogene Bakterien ließen sich nur durch Hitze, Hochdruckbehandlung oder Bestrahlung inaktivieren.

#### 3.1.4.1 Bewertung der Qualität der Daten

Das BfR, das JKI und das MRI haben die vorliegende gesundheitliche Bewertung zur möglichen Infektion des Menschen durch den Verzehr von Obst und Gemüse, das beim Anbau mit aufbereiteten Abwässern bewässert wurde, auf der Grundlage verfügbarer Daten aus der Lebensmittelüberwachung in Deutschland, der wissenschaftlichen Literatur und eigener Forschungsergebnisse verfasst. Die Qualität der vorhandenen Daten und Informationen bezogen auf die Eigenschaften von Salmonellen, STEC und *Listeria monocytogenes*, deren Verhalten in Lebensmitteln, deren Übertragung auf den Menschen sowie die von diesen Erregern ausgelösten Erkrankungen ist als zufriedenstellend einzuschätzen. Auch die Datenqualität zur Aufnahme von Salmonellen und STEC in die Pflanzen wird als zufriedenstellend beurteilt. Daten zur Aufnahme von *Listeria monocytogenes* in die Pflanze liegen in geringerem Umfang vor, lassen aber eine Abschätzung der Wahrscheinlichkeit zu. Unzureichend sind jedoch die Daten zum Vorkommen der Erreger in unterschiedlich aufbereiteten Abwässern, in Böden und in frischem Obst und Gemüse sowie zur Ausbreitung und zum Verhalten der pathogenen Bakterien in den Pflanzen.

#### 3.1.4.2 Weiterer Forschungsbedarf

Um das Risiko einer Infektion des Menschen durch den Verzehr von frischem Obst und Gemüse, welches mit aufbereiteten Abwässern bewässert wurde, zukünftig besser abschätzen zu können, ist weitere Forschung nötig. Es sollten valide Daten zum Vorkommen und Überleben von Humanpathogenen in aufbereiteten Abwässern und der Effizienz der Methoden zur Abwasserbehandlung hinsichtlich der Eliminierung bzw. Reduktion von Humanpathogenen erhoben werden. Weiterhin besteht Forschungsbedarf hinsichtlich der Mechanismen der Aufnahme, des Verhaltens und der Verbreitung von Humanpathogenen in Pflanzen. Das Auftreten von VBNC-Zellen von Humanpathogenen auf oder in Pflanzen stellt dabei eine Herausforderung an die Diagnostik dar. Daher sind Forschungen zur Revitalisierung und/oder Detektion dieser Zellstadien anzustreben.

Forschungsbedarf besteht außerdem zu einer möglichen Akkumulation von Humanpathogenen im Boden sowie auf und in den Pflanzen durch wiederholtes Bewässern mit aufbereitetem Abwässern. Betrachtet werden sollten dabei mögliche Auswirkungen auf das Aufnahmeverhalten in die Pflanzen und die Einhaltung hygienisch-mikrobiologischer Anforderungen. Auch indirekte Auswirkungen durch Veränderung der Zusammensetzung der vorhandenen Bodenmikrobiota durch wiederholtes Bewässern gilt es zu berücksichtigen, da ein Einfluss der Bodenmikrobiota auf das Überleben und die Internalisierung pathogener Bakterien gezeigt werden konnte.

Da das Mikrobiom von hydroponisch gewachsenen Kulturen, insbesondere wenn dabei aufbereitetes Abwasser benutzt wird, möglicherweise ein erhöhtes Potential für die Etablierung von potentiell Humanpathogenen aber auch von Bakterien mit übertragbaren Antibiotikaresistenzen bietet, besteht hier ebenfalls Forschungsbedarf.

Außerdem werden valide Daten zum Vorkommen von Humanpathogenen und Bakterien mit übertragbaren Antibiotikaresistenzen von klinischer Bedeutung in pflanzlichen Lebensmitteln in Deutschland benötigt. Diese sollten möglichst nach Herkunftsland der Lebensmittel aufgeschlüsselt sein. Eine Betrachtung von Lebensmitteln aus dem asiatischen und nordafrikanischen Raum ist in diesem Zusammenhang von besonderem Interesse.

Um die Bedeutung des Konsums von frischem Obst und Gemüse für die Häufigkeit von Listeriose-Fällen abschätzen zu können, werden außerdem Verzehrdaten sensibler Personengruppen benötigt.

## 3.2 Weitere Aspekte

### 3.2.1 Nationale und internationale Anforderungen an das Bewässerungswasser

Nachfolgend sind einige nationale und internationale Normen, Leitfäden und Empfehlungen aufgeführt, welche Anforderungen an die Qualität von Bewässerungswasser für den Anbau von Obst und Gemüse beschreiben.

#### 3.2.1.1 DIN 19650:1999-02 - Bewässerung - Hygienische Belange von Bewässerungswasser

Wie auch entsprechende Regelwerke anderer Länder, unterscheidet die DIN 19650 Eignungsklassen entsprechend der vorgesehenen Anwendung und definiert für jede Eignungsklasse die hygienisch-mikrobiologischen Anforderungen. Bewässerungswasser für Freiland- und Gewächshauskulturen, die zum Rohverzehr bestimmt sind, darf in 100 ml maximal 100 Enterokokken und 200 *E. coli* enthalten. Salmonellen dürfen in 1.000 ml nicht nachweisbar sein. Bewässerungswasser mit höheren Gehalten an Indikatorbakterien darf bis zwei Wochen vor der Ernte im Freilandanbau von Gemüse, das zum Rohverzehr bestimmt ist, eingesetzt werden.

#### 3.2.1.2 2017/C 163/01 - Bekanntmachung der Kommission mit dem Leitfaden zur Eindämmung mikrobiologischer Risiken durch gute Hygiene bei der Primärproduktion von frischem Obst und Gemüse

Als Hilfestellung zur Umsetzung des Lebensmittelrechts in der Europäischen Union wurde ein Leitfaden zur Eindämmung mikrobiologischer Risiken durch gute Hygiene bei der Primärproduktion von frischem Obst und Gemüse veröffentlicht (2017/C 163/01). Für die Bewässerung mit aufbereitetem Abwasser von frischem Obst und Gemüse, das wahrscheinlich ungeschält verzehrt wird, definiert der Leitfaden „behandeltes Abwasser“ als Abwasser, das so behandelt wurde, dass seine Qualität für die vorgesehene Verwendung ausreichend ist. Des

Weiteren muss die Qualität des Abwassers die in den nationalen Rechtsvorschriften der Mitgliedstaaten festgelegten Anforderungen bzw. - wenn keine nationalen Rechtsvorschriften bestehen - die Anforderungen der von der Weltgesundheitsorganisation (WHO) veröffentlichten Leitlinien zur sicheren Verwendung von Abwasser und von Exkrementen in der Landwirtschaft erfüllen. Somit empfiehlt der Leitfaden für die Bewässerung von frischem Obst und Gemüse zum Rohverzehr einen Höchstgehalt von 100 *E. coli* pro 100 ml im aufbereiteten Abwasser, wenn dieses unmittelbar mit den essbaren Teilen von frischem Obst und Gemüse in Berührung kommt. Der Höchstgehalt liegt bei 1.000 *E. coli* pro 100 ml, wenn das Bewässerungswasser nicht unmittelbar mit den essbaren Teilen von frischen Obst und Gemüse zum Rohverzehr in Berührung kommt. Außerdem wird im Abschnitt 7.3 des Leitfadens empfohlen, zusätzlich die Informationen in folgenden Dokumenten zu berücksichtigen: die ISO 16075-2:2015, die WHO-Leitlinien zur sicheren Verwendung von Abwasser und zu Ausscheidungen in der Landwirtschaft und in Aquakulturen (2006) und die Empfehlungen der Ernährungs- und Landwirtschaftsorganisation der Vereinten Nationen (FAO) für die Qualität von Bewässerungswasser (1985).

### 3.2.1.3 ISO 16075-2:2015 - Guidelines for treated wastewater use for irrigation projects -- Part 2: Development of the project

Im Verordnungsvorschlag mit Stand vom 17.06.2019 wird mehrfach auf die ISO 16075 Bezug genommen. Die Norm kann z. B. in folgenden Fällen herangezogen werden:

- zur Entwicklung von Risikomanagementplänen
- zur systematischen Ermittlung von Gefahren sowie zur Risikobewertung und -bewältigung
- als Grundlage für geeignete zusätzliche Barrieren

Die Tabelle 1 der ISO 16075-2:2015-08 beschreibt die Mindestanforderungen an die Qualität von aufbereitetem Wasser für die landwirtschaftliche Bewässerung. Die mikrobiologischen Grenzwerte für thermotolerante Coliforme sind vergleichbar mit den Anforderungen im Anhang I des Ratsdokuments. Im Gegensatz zum Ratsdokument empfiehlt die ISO 16075-2:2015-08 jedoch die Bewässerung von roh verzehrten Nahrungsmittelpflanzen ohne zusätzliche Barriere grundsätzlich mit aufbereitetem Wasser der besten Kategorie A.

### 3.2.1.4 WHO-Leitlinien zur sicheren Verwendung von Abwasser und zu Ausscheidungen in der Landwirtschaft und in Aquakulturen (2006)

Die WHO-Leitlinien enthalten Höchstwerte für den Indikatorkeim *E. coli* pro 100 ml aufbereitetem Abwasser für die verschiedenen Ebenen der Abwasserbehandlung in Kombination mit unterschiedlichen Szenarien bzw. Gesundheitsschutzmaßnahmen. Sie enthalten aber keine konkreten mikrobiologischen Kriterien für bestimmte Eignungsklassen wie im Leitfaden 2017/C 163/01 oder in der DIN 19650.

### 3.2.1.5 FAO-Empfehlungen für die Qualität von Bewässerungswasser (1985)

Die FAO-Empfehlungen enthalten keine mikrobiologischen Kriterien für Bewässerungswasser.

### 3.2.1.6 Leitlinien der U.S. Environmental Protection Agency (EPA) zur Wasserwiederverwendung (2004)

Neben einer Beschreibung der mit der Wasserwiederverwendung verbundenen Gefahren und der unterschiedlichen Regelungen der verschiedenen Staaten enthält der Leitfaden auch

Empfehlungen für konkrete Grenzwerte in Abhängigkeit von der Verwendung des aufbereiteten Abwassers. Demnach sollten in dem aufbereiteten Abwasser, das für die Bewässerung der landwirtschaftlich angebauten und zum Rohverzehr bestimmten Pflanzen verwendet wird, bei täglicher Kontrolle im Mittel in 100 ml keine fäkale Coliforme enthalten sein. Der Grenzwert von 14 fäkale Coliformen pro 100 ml sollte von keiner Probe überschritten werden. Das aufbereitete Abwasser für die Bewässerung von Obstbäumen, Weinbergen und beim Anbau pflanzlicher Lebensmittel, die nicht roh verzehrt werden, sollte bei täglicher Kontrolle im Mittel weniger als 200 fäkale Coliforme pro 100 ml sowie in keiner Probe mehr als 800 fäkale Coliforme pro 100 ml enthalten.

### 3.2.2 Mikrobiologische Kriterien für frisches Obst und Gemüse und daraus hergestellte Erzeugnisse in der EU

Die Verordnung (EG) Nr. 2073/2005 in der jeweils gültigen Fassung gibt zum Schutz der Verbraucherinnen und Verbraucher in der EU für bestimmte Lebensmittel mikrobiologische Kriterien für Lebensmittel vor, deren Einhaltung die Lebensmittelunternehmer auf bestimmten Prozessstufen zu überwachen haben.

Gemäß Lebensmittelsicherheitskriterium in Anhang 1, Kapitel 1, Nr. 1.2 und 1.3 dürfen andere als für Säuglinge oder für besondere medizinische Zwecke bestimmte verzehrfertige Lebensmittel nach Inverkehrbringen einen Grenzwert von 100 KbE/g während der Haltbarkeitsdauer nicht überschreiten. Für verzehrfertige Lebensmittel, die die Vermehrung von *Listeria monocytogenes* begünstigen können (Kategorie 1.2), darf zusätzlich *Listeria monocytogenes* in 25 g nicht nachweisbar sein, wenn das Lebensmittel die unmittelbare Kontrolle des Lebensmittelunternehmers, der es hergestellt hat, noch nicht verlassen hat und wenn nicht zur Zufriedenheit der zuständigen Behörde nachgewiesen werden kann, dass der Grenzwert von 100 KbE/g während der gesamten Haltbarkeit eingehalten wird. Verzehrfertige Lebensmittel mit einer Haltbarkeit von weniger als fünf Tagen werden automatisch der Kategorie 1.3 (verzehrfertige Lebensmittel, die die Vermehrung von *Listeria monocytogenes* nicht begünstigen können) zugeordnet. Keimlinge werden gemäß der Verordnung (EU) 2019/229 zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 2073/2005 der Kategorie 1.2 zugeordnet.

Außerdem dürfen gemäß Lebensmittelsicherheitskriterien in Anhang 1, Kapitel 1, Nr. 1.18 bis 1.20 folgende in den Verkehr gebrachte verzehrfertige pflanzliche Lebensmittel während der Haltbarkeit in 5 x 25 Gramm keine Salmonellen enthalten: Keimlinge, vorzerkleinertes Obst und Gemüse und nicht pasteurisierte Obst- und Gemüsesäfte<sup>9</sup>. Darüber hinaus dürfen Sprossen in 5 x 25 Gramm bestimmte STEC-Serotypen nicht enthalten (Nr. 1.29).

Für verzehrfertiges vorzerkleinertes Obst und Gemüse und nicht pasteurisierte verzehrfertige Obst- und Gemüsesäfte<sup>9</sup> gelten darüber hinaus gemäß Anhang 1, Kapitel 2, Nummern 2.5.1 und 2.5.2 dieser Verordnung bestimmte Prozesshygienekriterien mit Grenzwerten für *E. coli*. Überschreitungen dieser Grenzwerte sollten die Lebensmittelunternehmer dazu veranlassen, ihre Herstellungshygiene zu verbessern und die Rohstoffauswahl zu überprüfen.

## 4 Handlungsrahmen/Maßnahmen

Anders als die DIN 19650 (Hygienische Belange von Bewässerungswasser) sehen die in Anhang I des vorliegenden Verordnungsvorschlags mit Stand vom 17.06.2019 aufgeführten

<sup>9</sup> Gemäß der Verordnung (EU) 2019/229 zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 2073/2005 sind verzehrfertige Obst- und Gemüsesäfte davon ausgenommen, wenn sie einem bakteriziden Verfahren unterzogen wurden, dessen Wirkung in Bezug auf *E. coli* und *Salmonella* mit derjenigen der Pasteurisierung vergleichbar ist.

mikrobiologischen Kriterien keine regelmäßige Kontrolle auf das Vorkommen von Salmonellen oder Enterokokken vor. Außerdem empfiehlt die DIN weitere Verwendungsbeschränkungen, wenn das Bewässerungswasser mehr als 100 Enterokokken oder 200 *E. coli*/100 ml enthält. Hingegen sind die in Anhang I des vorliegenden Verordnungsvorschlags aufgeführten Grenzwerte für *E. coli* mit den Empfehlungen in der Bekanntmachung der Kommission 2017/C 163/01 sowie mit den Anforderungen der ISO 16075-2:2015 vergleichbar. Sie liegen aber deutlich oberhalb der Höchstwerte für fäkale Coliforme, welche von der U.S. Environmental Protection Agency (EPA) in einem Leitfaden zur Wasserwiederverwendung (EPA, 2004) für die tägliche Kontrolle von aufbereitetem Abwasser empfohlen wurden, das für die Bewässerung der landwirtschaftlich angebauten und zum Rohverzehr bestimmten Pflanzen verwendet werden soll.

Die in der gültigen Fassung der Verordnung (EG) Nr. 2073/2005 zum Schutz der Verbraucherinnen und Verbraucher festgelegten mikrobiologischen Kriterien gelten nur für ausgewählte Lebensmittelkategorien und nicht generell für frisches Obst und Gemüse. Deshalb ist es möglich, dass Kontaminationen unerkannt bleiben und große Salmonellose- oder EHEC-Ausbrüche auslösen, weil Obst und Gemüse teilweise über weite Gebiete vertrieben wird und fast von der gesamten Bevölkerung sehr häufig roh verzehrt wird. Vor diesem Hintergrund ist es besonders wichtig, dass es zu keinem Eintrag von Humanpathogenen aus aufbereitetem Abwasser in die Lebensmittelkette kommt.

Deshalb empfehlen das BfR, das JKI und das MRI zum Schutz vor lebensmittelbedingten Erkrankungen durch pathogene Bakterien, Viren und Parasiten nach Rohverzehr von frischem Obst und Gemüse,

1. für hydroponische Kulturen von roh verzehrten Nahrungsmittelpflanzen nur Bewässerungswasser mit Trinkwasserqualität zu verwenden, da Forschungsergebnisse darauf hindeuten, dass pathogene Bakterien besonders leicht die Wurzeln besiedeln und über die Wurzeln in derart kultivierte Pflanzen eindringen können; Krankheitserreger dürfen im Bewässerungswasser nicht nachweisbar sein
2. das aufbereitete Abwasser der Qualitätskategorie B auf die Verteilung mittels überirdischer oder unterirdischer Tropfbewässerung zu beschränken, weil bei diesen Bewässerungsmethoden ein unmittelbarer Kontakt mit dem essbaren Teil der Pflanze vermieden wird
3. das aufbereitete Abwasser der Qualitätskategorie C auf die Bewässerung von Obstbäumen, Weinbergen, Futterpflanzen und pflanzlichen Lebensmitteln, die nicht roh verzehrt werden, zu beschränken.

Außerdem wird Verbraucherinnen und Verbrauchern zum Schutz vor lebensmittelbedingten Infektionen empfohlen, frisches Obst und Gemüse vor dem Verzehr gründlich mit Trinkwasser zu waschen, um den oberflächlichen Keimgehalt zu reduzieren. Eine sichere Eliminierung von möglicherweise vorhandenen Krankheitserregern ist damit aber nicht möglich. Deshalb kann es sinnvoll sein, bodennah wachsendes Gemüse zu schälen oder zu blanchieren, um das Infektionsrisiko zu senken.

Darüber hinaus wird insbesondere Personen, deren Abwehrkräfte durch Schwangerschaft, hohes Alter, Vorerkrankungen oder Medikamenteneinnahme geschwächt sind, zum Schutz vor lebensmittelbedingten Infektionen geraten, Sprossen vor dem Verzehr ausreichend zu erhitzen und Salate aus frischen und gründlich gewaschenen Zutaten kurz vor dem Verzehr selbst zuzubereiten. Auf den Verzehr von vorgeschnittenen und verpackten Salaten sollten diese Personengruppen besser verzichten.

### Weitere Informationen auf der BfR-Website

Verbrauchertipps: Schutz vor Lebensmittelinfektionen mit Listerien

<https://www.bfr.bund.de/cm/350/verbrauchertipps-schutz-vor-lebensmittelinfektionen-mit-listerien.pdf>

Verbrauchertipps: Schutz vor Infektionen mit Enterohämorrhagischen *Escherichia coli* (EHEC)

<https://www.bfr.bund.de/cm/350/verbrauchertipps-schutz-vor-infektionen-mit-enterohaemorrhagischen-e-coli-ehec.pdf>

Stellungnahme Nr. 013/2019 des BfR vom 12. April 2019: Resistente Keime: Rohkost und Salat gut waschen und frisch selbst zubereiten

<https://www.bfr.bund.de/cm/343/resistente-keime-rohkost-und-salat-gut-waschen-und-frisch-selbst-zubereiten.pdf>



„Stellungnahmen-App“ des BfR

## 5 Referenzen

- Alden L, Demoling F, Baath E.** Rapid method of determining factors limiting bacterial growth in soil. *Appl Environ Microbiol* 2001;67:1830-8.
- Allende A, Monaghan J.** Irrigation Water Quality for Leafy Crops: A Perspective of Risks and Potential Solutions. *Int J Environ Res Public Health* 2015;12:7457-77.
- Amtsblatt der Europäischen Union.** 2017/C 163/01 - Bekanntmachung der Kommission mit dem Leitfaden zur Eindämmung mikrobiologischer Risiken durch gute Hygiene bei der Primärproduktion von frischem Obst und Gemüse. *Amtsblatt* 2017.
- Angelo KM, Chu A, Anand M, et al.** Outbreak of Salmonella Newport infections linked to cucumbers--United States, 2014. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2015;64:144-7.
- Angelo KM, Conrad AR, Saupe A, et al.** Multistate outbreak of *Listeria monocytogenes* infections linked to whole apples used in commercially produced, prepackaged caramel apples: United States, 2014-2015. *Epidemiol Infect* 2017;145:848-56.
- Anonymus.** Annual Report on Zoonoses in Denmark 2017, National Food Institute, Technical University of Denmark. 2018.
- Aryani DC, den Besten HM, Hazeleger WC, Zwietering MH.** Quantifying variability on thermal resistance of *Listeria monocytogenes*. *Int J Food Microbiol* 2015;193:130-8.
- Aurass P, Prager R, Flieger A.** EHEC/EAEC O104:H4 strain linked with the 2011 German outbreak of haemolytic uremic syndrome enters into the viable but non-culturable state in response to various stresses and resuscitates upon stress relief. *Environmental Microbiology* 2011;13:3139-48.
- Azizoglu RO, Osborne J, Wilson S, Kathariou S.** Role of growth temperature in freeze-thaw tolerance of *Listeria* spp. *Appl Environ Microbiol* 2009;75:5315-20.
- Bai X, Mernelius S, Jernberg C, et al.** Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Infection in Jonköping County, Sweden: Occurrence and Molecular Characteristics in Correlation

- With Clinical Symptoms and Duration of stx Shedding. *Front Cell Infect Microbiol* 2018;8:125.
- Balamurugan S, Inmanee P, Souza J, Strange P, Pirak T, Barbut S.** Effects of High Pressure Processing and Hot Water Pasteurization of Cooked Sausages on Inactivation of Inoculated *Listeria monocytogenes*, Natural Populations of Lactic Acid Bacteria, *Pseudomonas* spp., and Coliforms and Their Recovery during Storage at 4 and 10 degrees C. *J Food Prot* 2018;81:1245-51.
- Balkhair KS.** Microbial contamination of vegetable crop and soil profile in arid regions under controlled application of domestic wastewater. *Saudi J Biol Sci* 2016;23:S83-92.
- Banasiak U, Hesecker H, Sieke C, Sommerfeld C, Vohmann C.** Abschätzung der Aufnahme von Pflanzenschutzmittel-Rückständen in der Nahrung mit euen Verzehrsmengen für Kinder. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforsch Gesundheitsschutz* 2005;48:84-98.
- Barak JD, Liang AS.** Role of soil, crop debris, and a plant pathogen in *Salmonella enterica* contamination of tomato plants. *PLoS One* 2008;3:e1657.
- Bardsley CA, Truitt LN, Pfuntner RC, Danyluk MD, Rideout SL, Strawn LK.** Growth and Survival of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* on Whole and Sliced Cucumbers. *J Food Prot* 2019;82:301-9.
- Basaran-Akgul N, Churey JJ, Basaran P, Worobo RW.** Inactivation of different strains of *Escherichia coli* O157:H7 in various apple ciders treated with dimethyl dicarbonate (DMDC) and sulfur dioxide (SO<sub>2</sub>) as an alternative method. *Food Microbiol* 2009;26:8-15.
- Bastos RKX, Mara DD.** The Bacterial Quality of Salad Crops Drip and Furrow-Irrigated with Waste Stabilization Pond Effluent - an Evaluation of the Who Guidelines. *Water Sci Technol* 1995;31:425-30.
- Batpho K, Boonsupthip W, Rachtanapun C.** Antimicrobial activity of collagen casing impregnated with nisin against foodborne microorganisms associated with ready-to-eat sausage. *Food Control* 2017;73:1342-52.
- Bayer C, Bernard H, Prager R, et al.** An outbreak of *Salmonella* Newport associated with mung bean sprouts in Germany and the Netherlands, October to November 2011. *Euro surveillance : bulletin europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin* 2014;19.
- Becker B, Huch M, Stoll D, et al.** Abschlussbericht - "Humanpathogene in der pflanzlichen Erzeugung: Status quo, Dekontamination, Eintragswege und Einfluss der Lagerungsbedingungen". MRI. 2019.
- Bennett SD, Littrell KW, Hill TA, Mahovic M, Behravesh CB.** Multistate foodborne disease outbreaks associated with raw tomatoes, United States, 1990-2010: a recurring public health problem. *Epidemiol Infect* 2015;143:1352-9.
- Berg G, Smalla K.** Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere. *FEMS Microbiol Ecol* 2009;68:1-13.
- Berger CN, Sodha SV, Shaw RK, et al.** Fresh fruit and vegetables as vehicles for the transmission of human pathogens. *Environmental Microbiology* 2010;12:2385-97.
- Besnard V, Federighi M, Cappelier JM.** Evidence of viable but non-culturable state in *Listeria monocytogenes* by direct viable count and CTC-DAPI double staining. *Food Microbiol* 2000;17:697-704.
- Beuchat LR.** Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables. *Microbes Infect* 2002;4:413-23.
- Beuchat LR, Ryu JH.** Produce handling and processing practices. *Emerg Infect Dis* 1997;3:459-65.
- Beuth Verlag.** ISO 16075-2:2015-08 - Leitfaden für die Verwendung von behandeltem Abwasser für Bewässerungsprojekte - Teil 2: Entwicklung des Projektes: Beuth Verlag; 2015.



- Blau K, Bettermann A, Jechalke S, et al.** The Transferable Resistome of Produce. *mBio* 2018;9:e01300-18.
- Blessington T, Mitcham EJ, Harris LJ.** Survival of *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* O157:H7, and *Listeria monocytogenes* on inoculated walnut kernels during storage. *J Food Prot* 2012;75:245-54.
- Boyd EF, Hartl DL.** *Salmonella* virulence plasmid. Modular acquisition of the *spv* virulence region by an F-plasmid in *Salmonella enterica* subspecies I and insertion into the chromosome of subspecies II, IIIa, IV and VII isolates. *Genetics* 1998;149:1183-90.
- Brackett RE, Hao YY, Doyle MP.** Ineffectiveness of Hot Acid Sprays to Decontaminate *Escherichia coli* O157:H7 on Beef. *J Food Prot* 1994;57:198-203.
- Brandl MT.** Fitness of human enteric pathogens on plants and implications for food safety. *Annu Rev Phytopathol* 2006;44:367-92.
- Brandl MT.** Plant lesions promote the rapid multiplication of *Escherichia coli* O157:H7 on postharvest lettuce. *Appl Environ Microbiol* 2008;74:5285-9.
- Brandl MT, Amundson R.** Leaf age as a risk factor in contamination of lettuce with *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica*. *Applied and Environmental Microbiology* 2008;74:2298-306.
- Brandl MT, Cox CE, Teplitski M.** *Salmonella* interactions with plants and their associated microbiota. *Phytopathology* 2013;103:316-25.
- Brennan FP, Moynihan E, Griffiths BS, et al.** Clay mineral type effect on bacterial enteropathogen survival in soil. *Sci Total Environ* 2014;468-469:302-5.
- Buchanan RL, Gorris LGM, Hayman MM, Jackson TC, Whiting RC.** A review of *Listeria monocytogenes*: An update on outbreaks, virulence, dose-response, ecology, and risk assessments. *Food Control* 2017;75:1-13.
- BVL.** (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit). Berichte zur Lebensmittelsicherheit - Bundesweiter Überwachungsplan 2012 - Gemeinsamer Bericht des Bundes und der Länder. BVL. 2013.
- BVL.** (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit). Berichte zur Lebensmittelsicherheit: Zoonosen-Monitoring 2011. BVL. 2013.
- BVL.** (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit). BVL-Report 8.5 - Berichte zur Lebensmittelsicherheit - Zoonosen-Monitoring 2012. BVL. 2014.
- BVL.** (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit). BVL-Report 9.4 - Berichte zur Lebensmittelsicherheit - Zoonosen-Monitoring 2013. BVL. 2015.
- BVL.** (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit). BVL-Report 10.4 - Berichte zur Lebensmittelsicherheit - Zoonosen-Monitoring 2014. BVL. 2016.
- BVL.** (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit). BVL-Report 11.2 - Berichte zur Lebensmittelsicherheit - Zoonosen-Monitoring 2015. BVL. 2016.
- BVL.** (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit). BVL-Report 12.2 - Berichte zur Lebensmittelsicherheit - Zoonosen-Monitoring 2016. BVL. 2017.
- BVL.** (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit). BVL-Report 13.2 - Berichte zur Lebensmittelsicherheit - Zoonosen-Monitoring 2017. BVL. 2018.
- BVL.** (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit). BVL-Report 13.3 - Berichte zur Lebensmittelsicherheit - Bundesweiter Überwachungsplan 2017. BVL. 2018.
- Byrne L, Adams N, Glen K, et al.** Epidemiological and Microbiological Investigation of an Outbreak of Severe Disease from Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* O157 Infection Associated with Consumption of a Slaw Garnish. *J Food Prot* 2016;79:1161-8.
- Byrne L, Fisher I, Peters T, et al.** A multi-country outbreak of *Salmonella* Newport gastroenteritis in Europe associated with watermelon from Brazil, confirmed by whole genome sequencing: October 2011 to January 2012. *Euro surveillance : bulletin*

- european sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin 2014;19:6-13.
- Callahan MT, Micallef SA, Buchanan RL.** Soil Type, Soil Moisture, and Field Slope Influence the Horizontal Movement of Salmonella enterica and Citrobacter freundii from Floodwater through Soil. *J Food Protect* 2017;80:189-97.
- Campos C, Oron G, Salgot M, Gillerman L.** Behaviour of the fecal pollution indicators in a soil irrigated with treated wastewater under on surface and subsurface drip irrigation. *Water Sci Technol* 2000;42:75-9.
- Cappelier JM, Besnard V, Roche S, et al.** Avirulence of viable but non-culturable Listeria monocytogenes cells demonstrated by in vitro and in vivo models. *Vet Res* 2005;36:589-99.
- Cartwright EJ, Jackson KA, Johnson SD, Graves LM, Silk BJ, Mahon BE.** Listeriosis outbreaks and associated food vehicles, United States, 1998-2008. *Emerg Infect Dis* 2013;19:1-9; quiz 184.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention).** Wholesome Soy Products, Inc. sprouts and investigation of human listeriosis cases (final update). 2015.
- Chapin Iii FS, Zavaleta ES, Eviner VT, et al.** Consequences of changing biodiversity. *Nature* 2000;405:234-42.
- Chen Y, Luo Y, Pettengill J, et al.** Singleton Sequence Type 382, an Emerging Clonal Group of Listeria monocytogenes Associated with Three Multistate Outbreaks Linked to Contaminated Stone Fruit, Caramel Apples, and Leafy Green Salad. *J Clin Microbiol* 2017;55:931-41.
- Chitarra W, Decastelli L, Garibaldi A, Gullino ML.** Potential uptake of Escherichia coli O157:H7 and Listeria monocytogenes from growth substrate into leaves of salad plants and basil grown in soil irrigated with contaminated water. *Int J Food Microbiol* 2014;189:139-45.
- Da Silva Felicio MT, Hald T, Liebana E, et al.** Risk ranking of pathogens in ready-to-eat unprocessed foods of non-animal origin (FoNAO) in the EU: initial evaluation using outbreak data (2007-2011). *Int J Food Microbiol* 2015;195:9-19.
- Darlison J, Mieli M, Bengtsson T, et al.** Plant species affects establishment of Escherichia coli O157:H7 gfp+ on leafy vegetables. *J Appl Microbiol* 2019;127:292-305.
- de Carvalho RJ, de Souza GT, Honorio VG, et al.** Comparative inhibitory effects of Thymus vulgaris L. essential oil against Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes and mesophilic starter co-culture in cheese-mimicking models. *Food Microbiol* 2015;52:59-65.
- Dechet AM, Herman KM, Parker CC, et al.** Outbreaks Caused by Sprouts, United States, 1998-2010: Lessons Learned and Solutions Needed. *Foodborne Pathogens and Disease* 2014;11:635-44.
- Delaquis P, Bach S, Dinu LD.** Behavior of Escherichia coli O157:H7 in leafy vegetables. *J Food Prot* 2007;70:1966-74.
- Delbeke S, Ceuppens S, Jacxsens L, Uyttendaele M.** Microbiological analysis of pre-packed sweet basil (Ocimum basilicum) and coriander (Coriandrum sativum) leaves for the presence of Salmonella spp. and Shiga toxin-producing E. coli. *Int J Food Microbiol* 2015;208:11-8.
- Denis N, Zhang H, Leroux A, Trudel R, Bietlot H.** Prevalence and trends of bacterial contamination in fresh fruits and vegetables sold at retail in Canada. *Food Control* 2016;67:225-34.
- Dong Y, Iniguez AL, Ahmer BM, Triplett EW.** Kinetics and strain specificity of rhizosphere and endophytic colonization by enteric bacteria on seedlings of Medicago sativa and Medicago truncatula. *Appl Environ Microbiol* 2003;69:1783-90.
- Dowe MJ, Jackson ED, Mori JG, Bell CR.** Listeria monocytogenes Survival in Soil and Incidence in Agricultural Soils (dagger). *J Food Prot* 1997;60:1201-7.

- Dupree DE, Price RE, Burgess BA, Andress EL, Breidt F.** Effects of Sodium Chloride or Calcium Chloride Concentration on the Growth and Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in Model Vegetable Fermentations. *J Food Prot* 2019;82:570-8.
- EFSA.** Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Salmonella* in slaughter pigs, in the EU, 2006-2007. *EFSA Journal* 2008;6.
- EFSA, ECDC.** The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016. *EFSA Journal* 2017;15.
- EFSA, ECDC.** The European summary report on trend and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. *EFSA Journal* 2018a;16.
- EFSA, ECDC.** Multi-Country Outbreak of *Listeria Monocytogenes* Serogroup I/b, Multi-Locus Sequence Type 6, Infections Linked to Frozen Corn and Possibly to Other Frozen Vegetables - First Update. *EFSA Journal* 2018b;15.
- Eißenberger K, Moench D, Drissner D, Weiss A, Schmidt H.** Adherence factors of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 strain Sakai influence its uptake into the roots of *Valerianella locusta* grown in soil. *Food Microbiol* 2018;76:245-56.
- El Hamouri B, Handouf A, Mekrane M, et al.** Use of wastewater for crop production under arid and saline conditions: Yield and hygienic quality of the crop and soil contaminations. *Water Sci Technol* 1996;33:327-34.
- EPA.** Environmental Protection Agency, 2004 - Guidelines for Water Reuse. 2004.
- Erickson MC, Liao JY, Payton AS, et al.** Pre-harvest internalization and surface survival of *Salmonella* and *Escherichia coli* O157:H7 sprayed onto different lettuce cultivars under field and growth chamber conditions. *Int J Food Microbiol* 2019;291:197-204.
- Feng PCH, Reddy S.** Prevalences of Shiga Toxin Subtypes and Selected Other Virulence Factors among Shiga-Toxigenic *Escherichia coli* Strains Isolated from Fresh Produce. *Applied and Environmental Microbiology* 2013;79:6917-23.
- Fiedler G, Kabisch J, Bohnlein C, et al.** Presence of Human Pathogens in Produce from Retail Markets in Northern Germany. *Foodborne Pathog Dis* 2017;14:502-9.
- Fletcher J, Leach JE, Eversole K, Tauxe R.** Human pathogens on plants: designing a multidisciplinary strategy for research. *Phytopathology* 2013;103:306-15.
- Forghani F, den Bakker M, Futral AN, Diez-Gonzalez F.** Long-Term Survival and Thermal Death Kinetics of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Serogroups O26, O103, O111, and O157 in Wheat Flour. *Applied and environmental microbiology* 2018;84:e00283-18.
- Fornefeld E, Baklawa M, Hallmann J, Schikora A, Smalla K.** Sewage sludge amendment and inoculation with plant-parasitic nematodes do not facilitate the internalization of *Salmonella* Typhimurium LT2 in lettuce plants. *Food Microbiol* 2018;71:111-9.
- Fornefeld E, Schierstaedt J, Jechalke S, Grosch R, Schikora A, Smalla K.** Persistence of *Salmonella* Typhimurium LT2 in Soil Enhanced after Growth in Lettuce Medium. *Front Microbiol* 2017;8:757.
- Franz E, van Bruggen AH.** Ecology of *E. coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* in the primary vegetable production chain. *Crit Rev Microbiol* 2008;34:143-61.
- FSAI** (Food Safety Authority of Ireland), Survey of the microbiological safety of ready-to-eat, pre-cut and pre-packaged fresh herbs and leaves from retail establishments in Ireland. <http://hdl.handle.net/10147/561315>. FSAI. 2015.
- Gandhi M, Chikindas ML.** *Listeria*: A foodborne pathogen that knows how to survive. *Int J Food Microbiol* 2007;113:1-15.
- Garcia AV, Charrier A, Schikora A, et al.** *Salmonella enterica* Flagellin Is Recognized via FLS2 and Activates PAMP-Triggered Immunity in *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Plant* 2014;7:657-74.
- Garriga M, Grèbol N, Aymerich MT, Monfort JM, Hugas M.** Microbial inactivation after high-pressure processing at 600 MPa in commercial meat products over its shelf life. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 2004;5:451-7.

- Gaul LK, Farag NH, Shim T, Kingsley MA, Silk BJ, Hyytia-Trees E.** Hospital-Acquired Listeriosis Outbreak Caused by Contaminated Diced Celery—Texas, 2010. *Clinical Infectious Diseases* 2013;56:20-6.
- Golberg D, Kroupitski Y, Belausov E, Pinto R, Sela S.** Salmonella Typhimurium internalization is variable in leafy vegetables and fresh herbs. *Int J Food Microbiol* 2011;145:250-7.
- Goudeau DM, Parker CT, Zhou Y, Sela S, Kroupitski Y, Brandl MT.** The salmonella transcriptome in lettuce and cilantro soft rot reveals a niche overlap with the animal host intestine. *Appl Environ Microbiol* 2013;79:250-62.
- Goulet V, King LA, Vaillant V, de Valk H.** What is the incubation period for listeriosis? *BMC Infect Dis* 2013;13:11.
- Gu G, Strawn LK, Oryang DO, et al.** Agricultural Practices Influence Salmonella Contamination and Survival in Pre-harvest Tomato Production. *Front Microbiol* 2018;9:2451.
- Guo X, Chen J, Brackett RE, Beuchat LR.** Survival of Salmonellae on and in Tomato Plants from the Time of Inoculation at Flowering and Early Stages of Fruit Development through Fruit Ripening. *Applied and Environmental Microbiology* 2001;67:4760.
- Guo X, van Iersel MW, Chen J, Brackett RE, Beuchat LR.** Evidence of association of salmonellae with tomato plants grown hydroponically in inoculated nutrient solution. *Appl Environ Microbiol* 2002;68:3639-43.
- Hansmeier N, Miskiewicz K, Elpers L, Liss V, Hensel M, Sterzenbach T.** Functional expression of the entire adhesiome of Salmonella enterica serotype Typhimurium. *Sci Rep* 2017;7:10326.
- Hartung M.** Erreger von Zoonosen in Deutschland im Jahr 2008 - Mitteilungen der Länder zu Lebensmitteln, Tieren, Futtermitteln und Umweltproben. BfR. 2010.
- Hartung M, Alt K, Käsbohrer A, Tenhagen B-A.** Erreger von Zoonosen in Deutschland im Jahr 2016. BfR. 2019.
- Hartung M, Käsbohrer A.** Erreger von Zoonosen in Deutschland im Jahr 2009. BfR. 2011.
- Hartung M, Käsbohrer A.** Erreger von Zoonosen in Deutschland im Jahr 2010. BfR. 2012.
- Hartung M, Käsbohrer A.** Erreger von Zoonosen in Deutschland im Jahr 2011. BfR. 2013.
- Hartung M, Tenhagen B-A, Alt K, Käsbohrer A.** Erreger von Zoonosen in Deutschland im Jahr 2015. BfR. 2018.
- Hartung M, Tenhagen B-A, Käsbohrer A.** Erreger von Zoonosen in Deutschland im Jahr 2012. BfR. 2014.
- Hartung M, Tenhagen B-A, Käsbohrer A.** Erreger von Zoonosen in Deutschland im Jahr 2013. BfR. 2015.
- Hartung M, Tenhagen B-A, Käsbohrer A.** Erreger von Zoonosen in Deutschland im Jahr 2014. BfR. 2016.
- Harvey RR, Zakhour CM, Gould LH.** Foodborne Disease Outbreaks Associated with Organic Foods in the United States. *J Food Prot* 2016;79:1953-8.
- Hernandez-Reyes C, Schikora A.** *Salmonella*, a cross-kingdom pathogen infecting humans and plants. *FEMS Microbiol Lett* 2013;343:1-7.
- Heseker H, Oeppining A, Vohmann C.** Verzehrstudie zur Ermittlung der Lebensmittelaufnahme von Säuglingen und Kleinkindern für die Abschätzung eines akuten Toxizitätsrisikos durch Rückstände von Pflanzenschutzmitteln (VELS) - Forschungsbericht im Auftrag des Bundesministeriums für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft, Universität Paderborn. 2003.
- Heythuizen M.** Mikrobielle Risiken Fresh Cut Convenience Produkte aus Sicht der niederländischen Industrie - Mikrobiologische Richt- und Warnwerte der DGHM, Lemgo 2016-07-26. Wissenschaft und Praxis 2016.

- Hidri Y, Fourti O, Jedidi N, Hassen A.** Effects of ten years treated wastewater drip irrigation on soil microbiological properties under Mediterranean conditions. *African J of Biotech* 2013;12:5761 - 70.
- Highmore CJ, Warner JC, Rothwell SD, Wilks SA, Keevil CW.** Viable-but-Nonculturable *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* Serovar Thompson Induced by Chlorine Stress Remain Infectious. *MBio* 2018;9.
- Hill C, O'Driscoll B, Booth I.** Acid adaptation and food poisoning microorganisms. *Int J Food Microbiol* 1995;28:245-54.
- Hiramatsu R, Matsumoto M, Sakae K, Miyazaki Y.** Ability of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. to survive in a desiccation model system and in dry foods. *Appl Environ Microbiol* 2005;71:6657-63.
- Hirneisen KA, Sharma M Fau - Kniel KE, Kniel KE.** Human enteric pathogen internalization by root uptake into food crops. *Foodborne Pathog Dis* 2012;9:396-405.
- Hoelzer K, Chen Y, Dennis S, et al.** New data, strategies, and insights for *Listeria monocytogenes* dose-response models: summary of an interagency workshop, 2011. *Risk Anal* 2013;33:1568-81.
- Hofmann A, Fischer D, Hartmann A, Schmid M.** Colonization of plants by human pathogenic bacteria in the course of organic vegetable production. *Front Microbiol* 2014;5:191.
- Honjoh K-i, Mishima T, Kido N, Shimamoto M, Miyamoto T.** Investigation of Routes of *Salmonella* Contamination Via Soils and the Use of Mulch for Contamination Control during Lettuce Cultivation. *Food Science and Technology Research* 2014;20:961-9.
- Hruby CE, Soupier ML, Moorman TB, Pederson C, Kanwar R.** *Salmonella* and Fecal Indicator Bacteria Survival in Soils Amended with Poultry Manure. *Water, Air, & Soil Pollution* 2018;229:32.
- Huang L.** Mathematical modeling and numerical analysis of the growth of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in spinach leaves. *Int J Food Microbiol* 2012;160:32-41.
- Islam M, Doyle MP, Phatak SC, Millner P, Jiang X.** Persistence of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in soil and on leaf lettuce and parsley grown in fields treated with contaminated manure composts or irrigation water. *J Food Prot* 2004;67:1365-70.
- Ivanek R, Grohn YT, Wiedmann M.** *Listeria monocytogenes* in multiple habitats and host populations: review of available data for mathematical modeling. *Foodborne Pathog Dis* 2006;3:319-36.
- Jackson BR, Salter M, Tarr C, et al.** Listeriosis Associated with Stone Fruit - United States, 2014. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2015;64:282-3.
- Jacobsen CS, Bech TB.** Soil survival of *Salmonella* and transfer to freshwater and fresh produce. *Food Res Int* 2012;45:557-66.
- Jechalke S, Schierstaedt J, Becker M, et al.** *Salmonella* Establishment in Agricultural Soil and Colonization of Crop Plants Depend on Soil Type and Plant Species. *Front Microbiol* 2019;10:967.
- Jenkins C, Dallman TJ, Launders N, et al.** Public Health Investigation of Two Outbreaks of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* O157 Associated with Consumption of Watercress. *Appl Environ Microbiol* 2015;81:3946-52.
- Jin Y, Pickens SR, Hildebrandt IM, et al.** Thermal Inactivation of *Salmonella Agona* in Low-Water Activity Foods: Predictive Models for the Combined Effect of Temperature, Water Activity, and Food Component. *J Food Prot* 2018;81:1411-7.
- Johannessen GS, Loncarevic S, Kruse H.** Bacteriological analysis of fresh produce in Norway. *Int J Food Microbiol* 2002;77:199-204.
- Johnston LM, Jaykus LA, Moll D, et al.** A field study of the microbiological quality of fresh produce. *J Food Prot* 2005;68:1840-7.
- Justus-Liebig-Universität Gießen.** Universität Osnabrück, Universität Hohenheim, IGZ Großbeeren, Abschlussbericht Plantinfect. 2018.

- Kabisch J, Fiedler G, Böhnlein C, Franz C.** QS-Abschlussbericht - "Humanpathogene in der Lebensmittelkette Salat: Vorkommen, Eintragswege und Möglichkeiten der Kontrolle mittels Bakteriophagen". MRI. 2017.
- Keller SE, Anderson NM, Wang C, et al.** Survival of Salmonella during Production of Partially Sprouted Pumpkin, Sunflower, and Chia Seeds Dried for Direct Consumption. *J Food Prot* 2018;81:520-7.
- Kenney SJ, Beuchat LR.** Survival, growth, and thermal resistance of *Listeria monocytogenes* in products containing peanut and chocolate. *J Food Prot* 2004;67:2205-11.
- Kimber M, Kaur H, Wang L, Danyluk M, Harris L.** Survival of Salmonella, *Escherichia coli* O157:H7, and *Listeria monocytogenes* on inoculated almonds and pistachios stored at -19, 4, and 24 °C. *J Food Prot* 2012;75:1394-403.
- Kinnula S, Hemminki K, Kotilainen H, et al.** Outbreak of multiple strains of non-O157 Shiga toxin-producing and enteropathogenic *Escherichia coli* associated with rocket salad, Finland, autumn 2016. *Euro surveillance : bulletin europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin* 2018;23.
- Klerks MM, Franz E, van Gent-Pelzer M, Zijlstra C, van Bruggen AH.** Differential interaction of *Salmonella enterica* serovars with lettuce cultivars and plant-microbe factors influencing the colonization efficiency. *ISME J* 2007;1:620-31.
- Kljujev I, Raicevic V, Jovicic-Petrovic J, Vujovic B, Mirkovic M, Rothballer M.** *Listeria monocytogenes* - Danger for health safety vegetable production. *Microb Pathog* 2018;120:23-31.
- Kljujev I, Raicevic V, Vujovic B, Rothballer M, Schmid M.** Salmonella as an endophytic colonizer of plants - A risk for health safety vegetable production. *Microbial Pathogenesis* 2018;115:199-207.
- Knoblauch AM, Bratschi MW, Zuske MK, et al.** Cross-border outbreak of *Salmonella enterica* ssp. *enterica* serovar *Bovismorbificans*: multiple approaches for an outbreak investigation in Germany and Switzerland. *Swiss Med Wkly* 2015;145:w14182.
- Knudsen DM, Yamamoto SA, Harris LJ.** Survival of *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* O157:H7 on fresh and frozen strawberries. *J Food Prot* 2001;64:1483-8.
- Koivunen J, Siitonen A, Heinonen-Tanski H.** Elimination of enteric bacteria in biological-chemical wastewater treatment and tertiary filtration units. *Water Res* 2003;37:690-8.
- Korir RC, Parveen S, Hashem F, Bowers J.** Microbiological quality of fresh produce obtained from retail stores on the Eastern Shore of Maryland, United States of America. *Food Microbiol* 2016;56:29-34.
- Koseki S, Mizuno Y, Fau - Yamamoto K, Yamamoto K.** Comparison of two possible routes of pathogen contamination of spinach leaves in a hydroponic cultivation system. *J Food Prot* 2011;74:1536-42.
- Koseki S, Nakamura N, Shiina T.** Comparison of desiccation tolerance among *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica*, and *Cronobacter sakazakii* in powdered infant formula. *J Food Prot* 2015;78:104-10. .
- Kouznetsov MY, Pachepsky Y, Gillerman L, Gantzer C, Oron G.** Microbial transport in soil caused by surface and subsurface drip irrigation with treated wastewater. *International Agrophysics* 2004;18.
- Krems C, Bauch A, Götz A, et al.** Methoden der Nationalen Verzehrsstudie II. *Ernährungs-Umschau* 2006;53.
- Kumar GD, Williams RC, Al Qublan HM, Sriranganathan N, Boyer RR, Eifert JD.** Airborne soil particulates as vehicles for *Salmonella* contamination of tomatoes. *Int J Food Microbiol* 2017;243:90-5.
- Kutter S, Hartmann A, Schmid M.** Colonization of barley (*Hordeum vulgare*) with *Salmonella enterica* and *Listeria* spp. *FEMS Microbiol Ecol* 2006;56:262-71.
- Lamont RF, Sobel J, Mazaki-Tovi S, et al.** Listeriosis in human pregnancy: a systematic review. *J Perinat Med* 2011;39:227-36.

- Lapidot A, Yaron S.** Transfer of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium from contaminated irrigation water to parsley is dependent on curli and cellulose, the biofilm matrix components. *J Food Prot* 2009;72:618-23.
- Lesk C, Rowhani P, Ramankutty N.** Influence of extreme weather disasters on global crop production. *Nature* 2016;529:84-7.
- Li B, Jackson SA, Gangiredla J, et al.** Genomic evidence reveals numerous *Salmonella enterica* serovar Newport reintroduction events in Suwannee watershed irrigation ponds. *Appl Environ Microbiol* 2015;81:8243-53.
- Li D, Uyttendaele M.** Potential of Human Norovirus Surrogates and *Salmonella enterica* Contamination of Pre-harvest Basil (*Ocimum basilicum*) via Leaf Surface and Plant Substrate. *Front Microbiol* 2018;9:1728.
- Li L, Mendis N, Trigui H, Oliver JD, Faucher SP.** The importance of the viable but non-culturable state in human bacterial pathogens. *Front Microbiol* 2014;5:258.
- Lindbäck T, Rottenberg ME, Roche SM, Rørvik LM.** The ability to enter into an avirulent viable but non-culturable (VBNC) form is widespread among *Listeria monocytogenes* isolates from salmon, patients and environment. *Veterinary research* 2010;41:8.
- Liu D, Lawrence ML, Ainsworth AJ, Austin FW.** Comparative assessment of acid, alkali and salt tolerance in *Listeria monocytogenes* virulent and avirulent strains. *FEMS Microbiol Lett* 2005;243:373-8.
- Locatelli A, Spor A, Jolivet C, Piveteau P, Hartmann A.** Biotic and abiotic soil properties influence survival of *Listeria monocytogenes* in soil. *PLoS One* 2013;8:e75969.
- Lonigro A, Montemurro N, Rubino P, Vergine P, Pollice A.** Reuse of Treated Municipal Wastewater for Irrigation in Apulia Region: The "In.Terra" Project. *Environ Eng Manag J* 2015;14:1665-74.
- Lopez P, Sanchez C, Batlle R, Nerin C.** Solid- and vapor-phase antimicrobial activities of six essential oils: susceptibility of selected foodborne bacterial and fungal strains. *J Agric Food Chem* 2005;53:6939-46.
- Loreau M, Hector A.** Partitioning selection and complementarity in biodiversity experiments. *Nature* 2001;412:72-6.
- Lyautey E, Lapen DR, Wilkes G, et al.** Distribution and characteristics of *Listeria monocytogenes* isolates from surface waters of the South Nation River watershed, Ontario, Canada. *Appl Environ Microbiol* 2007;73:5401-10.
- Ma J, Ibekwe AM, Yi X, et al.** Persistence of *Escherichia coli* O157:H7 and its mutants in soils. *PLoS One* 2011;6:e23191.
- Made D, Geuthner AC, Imming R, Wicke A.** Detection and isolation of Shiga-Toxin producing *Escherichia coli* in flour in Germany between 2014 and 2017. *J Consum Prot Food S* 2017;12:245-53.
- Maertens de Noordhout C, Devleeschauwer B, Angulo FJ, et al.** The global burden of listeriosis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2014;14:1073-82.
- Malkawi HI, Mohammad MJ.** Survival and accumulation of microorganisms in soils irrigated with secondary treated wastewater. *J Basic Microb* 2003;43:47-55.
- Mallon CA, Elsas JDV, Salles JF.** Microbial invasions: the process, patterns, and mechanisms. *Trends Microbiol* 2015;23:719-29.
- Mallon CA, Le Roux X, van Doorn GS, Dini-Andreote F, Poly F, Salles JF.** The impact of failure: unsuccessful bacterial invasions steer the soil microbial community away from the invader's niche. *ISME J* 2018;12:728-41.
- Manas P, Castro E, de las Heras J.** Irrigation with treated wastewater: Effects on soil, lettuce (*Lactuca sativa* L.) crop and dynamics of microorganisms. *J Environ Sci Heal A* 2009;44:1261-73.
- Martinez B, Stratton J, Bianchini A, Wegulo S, Weaver G.** Transmission of *Escherichia coli* O157:H7 to internal tissues and its survival on flowering heads of wheat. *J Food Prot* 2015;78:518-24.

- Marus JR, Bidol S, Altman SM, et al.** Notes from the Field: Outbreak of Listeriosis Likely Associated with Prepackaged Caramel Apples - United States, 2017. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2019;68:76-7.
- Matussek A, Einemo IM, Jogenfors A, Lofdahl S, Lofgren S.** Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* in Diarrheal Stool of Swedish Children: Evaluation of Polymerase Chain Reaction Screening and Duration of Shiga Toxin Shedding. *J Pediatric Infect Dis Soc* 2016;5:147-51.
- McCollum JT, Cronquist AB, Silk BJ, et al.** Multistate outbreak of listeriosis associated with cantaloupe. *N Engl J Med* 2013;369:944-53.
- McLaughlin HP, Casey PG, Cotter J, Gahan CG, Hill C.** Factors affecting survival of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* in soil samples. *Arch Microbiol* 2011;193:775-85.
- Melloul AA, Hassani L, Rafouk L.** Salmonella contamination of vegetables irrigated with untreated wastewater. *World J Microb Biot* 2001;17:207-9.
- Mikhail AFW, Jenkins C, Dallman TJ, et al.** An outbreak of Shiga Toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 associated with contaminated salad leaves: epidemiological, genomic and food trace back investigations - CORRIGENDUM. *Epidemiol Infect* 2018;146:1879.
- Miles JM, Sumner SS, Boyer RR, Williams RC, Latimer JG, McKinney JM.** Internalization of *Salmonella enterica* serovar montevideo into greenhouse tomato plants through contaminated irrigation water or seed stock. *J Food Prot* 2009;4:696-914.
- Miller BD, Rigdon CE, Ball J, et al.** Use of Traceback methods to confirm the source of a multistate *Escherichia coli* O157:H7 outbreak due to in-shell hazelnuts. *J Food Protect* 2012;75:320-7.
- Montgomery NL, Banerjee P.** Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in biofilms by pulsed ultraviolet light. *BMC Res Notes* 2015;8:235.
- Moye ZD, Woolston J, Sulakvelidze A.** Bacteriophage applications for food production and processing. *Viruses* 2018;10.
- Moynihan EL, Richards KG, Brennan FP, Tyrrel SF, Ritz K.** Enteropathogen survival in soil from different land-uses is predominantly regulated by microbial community composition. *Applied Soil Ecology* 2015;89:76-84.
- MRI, Max-Rubner-Institut.** Nationale Verzehrstudie II (NVS II), Ergebnisbericht 1, 2. <https://www.mri.bund.de/de/institute/ernaehrungsverhalten/forschungsprojekte/nvsii/2008>.
- Müller K, Aabo S, Birk T, Mordhorst H, Bjarnadottir B, Agero Y.** Survival and growth of epidemically successful and nonsuccessful *Salmonella enterica* clones after freezing and dehydration. *J Food Prot* 2012;75:456-64.
- Müller L, Kjelso C, Frank C, et al.** Outbreak of *Salmonella* Strathcona caused by datterino tomatoes, Denmark, 2011. *Epidemiol Infect* 2016;144:2802-11.
- Murphy S, Gaffney MT, Fanning S, Burgess CM.** Potential for transfer of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* Senftenberg from contaminated food waste derived compost and anaerobic digestate liquid to lettuce plants. *Food Microbiol* 2016;59:7-13.
- Nastou A, Rhoades J, Smirniotis P, Makri I, Kontominas M, Likotrafiti E.** Efficacy of household washing treatments for the control of *Listeria monocytogenes* on salad vegetables. *Int J Food Microbiol* 2012;159:247-53.
- Nicholas R, Dunton P, Tatham A, Fielding L.** The effect of ozone and open air factor on surface-attached and biofilm environmental *Listeria monocytogenes*. *J Appl Microbiol* 2013;115:555-64.
- Nicholson AM, Gurtler JB, Bailey RB, Niemira BA, Douds DD.** Influence of mycorrhizal fungi on fate of *E. coli* O157:H7 and *Salmonella* in soil and internalization into Romaine lettuce plants. *Int J Food Microbiol* 2015;192:95-102.



- Niemira BA, Cooke PH.** Escherichia coli O157:H7 biofilm formation on Romaine lettuce and spinach leaf surfaces reduces efficacy of irradiation and sodium hypochlorite washes. *J Food Sci* 2010;75:M270-7.
- Nolan DA, Chamblin DC, Troller JA.** Minimal water activity levels for growth and survival of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua*. *Int J Food Microbiol* 1992;16:323-35.
- Nuesch-Inderbinnen M, Cernela N, Althaus D, Hachler H, Stephan R.** Salmonella enterica Serovar Szentés, a Rare Serotype Causing a 9-Month Outbreak in 2013 and 2014 in Switzerland. *Foodborne Pathog Dis* 2015;12:887-90.
- Olaimat AN, Holley RA.** Factors influencing the microbial safety of fresh produce: a review. *Food Microbiol* 2012;32:1-19.
- Oliveira M, Usall J, Solsona C, Alegre I, Vinas I, Abadias M.** Effects of packaging type and storage temperature on the growth of foodborne pathogens on shredded 'Romaine' lettuce. *Food Microbiol* 2010;27:375-80.
- Ongeng D, Geeraerd AH, Springael D, Ryckeboer J, Muyanja C, Mauriello G.** Fate of Escherichia coli O157:H7 and Salmonella enterica in the manure-amended soil-plant ecosystem of fresh vegetable crops: a review. *Crit Rev Microbiol* 2015;41:273-94.
- Oron G, Armon R, Mandelbaum R, et al.** Secondary wastewater disposal for crop irrigation with minimal risks. *Water Sci Technol* 2001;43:139-46.
- Paillard D, Dubois V, Thiebaut R, et al.** Occurrence of *Listeria* spp. in effluents of French urban wastewater treatment plants. *Appl Environ Microbiol* 2005;71:7562-6.
- Palese AM, Pasquale V, Celano G, Figliuolo G, Masi S, Xiloyannis C.** Irrigation of olive groves in Southern Italy with treated municipal wastewater: Effects on microbiological quality of soil and fruits. *Agr Ecosyst Environ* 2009;129:43-51.
- Patel J, Sharma M, Ravishakar S.** Effect of curli expression and hydrophobicity of Escherichia coli O157:H7 on attachment to fresh produce surfaces. *J Appl Microbiol* 2011;110:737-45.
- Paton AW, Ratcliff RM, Doyle RM, et al.** Molecular microbiological investigation of an outbreak of hemolytic-uremic syndrome caused by dry fermented sausage contaminated with Shiga-like toxin-producing Escherichia coli. *J Clin Microbiol* 1996;34:1622-7.
- Pezzuto A, Belluco S, Losasso C, et al.** Effectiveness of Washing Procedures in Reducing Salmonella enterica and Listeria monocytogenes on a Raw Leafy Green Vegetable (*Eruca vesicaria*). *Front Microbiol* 2016;7:1663.
- Picard-Bonnaud F, Cottin J, Carbonnelle B.** Preservation of the virulence of *Listeria monocytogenes* in different sorts of soil. *Acta Microbiol Hung* 1989a;36:269-72.
- Picard-Bonnaud F, Cottin J, Carbonnelle B.** Persistence of *Listeria monocytogenes* in three sorts of soil. *Acta Microbiol Hung* 1989b;36:263-7.
- Pielaat A, Wijnands LM, Fitz-James I, van Leusden FM.** Survey on the analysis of microbial contamination of fresh produce and ready-to-eat salads, and the associated risk to consumers in the Netherlands. RIVM Report 330371002/2008. 2008.
- Pires SM, Majowicz S, Gill A, Devleeschauwer B.** Global and regional source attribution of Shiga toxin-producing Escherichia coli infections using analysis of outbreak surveillance data. *Epidemiol Infect* 2019;147:e236.
- Pornsukarom S, Thakur S.** Assessing the Impact of Manure Application in Commercial Swine Farms on the Transmission of Antimicrobial Resistant Salmonella in the Environment. *PLoS One* 2016;11:e0164621.
- Reddy SP, Wang H, Adams JK, Feng PC.** Prevalence and Characteristics of Salmonella Serotypes Isolated from Fresh Produce Marketed in the United States. *J Food Prot* 2016;79:6-16.
- Riggio G, Jones S, Gibson K.** Risk of Human Pathogen Internalization in Leafy Vegetables During Lab-Scale Hydroponic Cultivation. *Horticulturae* 2019;5:25.

- RKI.** (Robert Koch-Institut), Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2017: RKI; 2018.
- RKI.** (Robert Koch-Institut), Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2018: RKI; 2019.
- Robben C, Fister S, Witte AK, Schoder D, Rossmann P, Mester P.** Induction of the viable but non-culturable state in bacterial pathogens by household cleaners and inorganic salts. *Sci Rep* 2018;8:15132.
- Rubini S, Ravaioli C, Previato S, et al.** Prevalence of Salmonella strains in wild animals from a highly populated area of north-eastern Italy. *Ann Ist Super Sanita* 2016;52:277-80.
- Rühlmann J, Ruppel S.** Effects of organic amendments on soil carbon content and microbial biomass – results of the long-term box plot experiment in Grossbeeren. *Archives of Agronomy and Soil Science* 2005;51:163-70.
- Ryser ET, Marth EH.** Listeria, Listeriosis, and Food Safety: CRC press; 2007.
- Sacks M, Bernstein N.** Utilization of reclaimed wastewater for irrigation of field-grown melons by surface and subsurface drip irrigation. *Isr J Plant Sci* 2011;59:159-69.
- Saldana Z, Sanchez E, Xicohtencatl-Cortes J, Puente JL, Giron JA.** Surface structures involved in plant stomata and leaf colonization by shiga-toxigenic *Escherichia coli* O157:H7. *Front Microbiol* 2011;2:119.
- Sant'Ana AS, Barbosa MS, Destro MT, Landgraf M, Franco BD.** Growth potential of Salmonella spp. and Listeria monocytogenes in nine types of ready-to-eat vegetables stored at variable temperature conditions during shelf-life. *Int J Food Microbiol* 2012;157:52-8.
- Santamaria J, Toranzos GA.** Enteric pathogens and soil: a short review. *Int Microbiol* 2003;6:5-9.
- Schierstaedt J, Jechalke S, Nesme J, et al.** Salmonella persistence in soil depends on reciprocal interactions with indigenous microorganisms *Environ Ecology* 2019;submitted.
- Schikora A, Garcia AV, Hirt H.** Plants as alternative hosts for Salmonella. *Trends in Plant Science* 2012b;17:245-9.
- Schikora A, Virlogeux-Payant I, Bueso E, et al.** Conservation of Salmonella infection mechanisms in plants and animals. *PLoS One* 2011;6:e24112.
- Schikora M, Neupane B, Madhogaria S, et al.** An image classification approach to analyze the suppression of plant immunity by the human pathogen Salmonella Typhimurium. *BMC Bioinformatics* 2012a;13:171.
- Schlaeppli K, Dombrowski N, Oter RG, Ver Loren van Themaat E, Schulze-Lefert P.** Quantitative divergence of the bacterial root microbiota in Arabidopsis thaliana relatives. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014;111:585-92.
- Schlech WF, 3rd, Lavigne PM, Bortolussi RA, et al.** Epidemic listeriosis--evidence for transmission by food. *N Engl J Med* 1983;308:203-6.
- Self JL, Conrad A, Stroika S, et al.** Multistate Outbreak of Listeriosis Associated with Packaged Leafy Green Salads, United States and Canada, 2015-2016. *Emerg Infect Dis* 2019;25:1461-8.
- Semenov AM, Kuprianov AA, van Bruggen AH.** Transfer of enteric pathogens to successive habitats as part of microbial cycles. *Microbial ecology* 2010;60:239-49.
- Semenov AV, van Overbeek L, Termorshuizen AJ, van Bruggen AH.** Influence of aerobic and anaerobic conditions on survival of Escherichia coli O157:H7 and Salmonella enterica serovar Typhimurium in Luria-Bertani broth, farm-yard manure and slurry. *J Environ Manage* 2011;92:780-7.
- Shah DH, Paul NC, Sisco WC, Crespo R, Guard J.** Population dynamics and antimicrobial resistance of the most prevalent poultry-associated Salmonella serotypes. *Poultry Science* 2017;96:687-702.

- Shenoy AG, Oliver HF, Deering AJ.** *Listeria monocytogenes* Internalizes in Romaine Lettuce Grown in Greenhouse Conditions. *J Food Protect* 2017;80:573-81.
- Shirron N, Yaron S.** Active suppression of early immune response in tobacco by the human pathogen *Salmonella* Typhimurium. *PLoS One* 2011;6:e18855.
- Sinclair C, Jenkins C, Warburton F, Adak GK, Harris JP.** Investigation of a national outbreak of STEC *Escherichia coli* O157 using online consumer panel control methods: Great Britain, October 2014. *Epidemiol Infect* 2017;145:864-71.
- Solomon EB, Pang HJ, Matthews KR.** Persistence of *Escherichia coli* O157:H7 on lettuce plants following spray irrigation with contaminated water. *J Food Prot* 2003;66:2198-202.
- Solomon EB, Yaron S, Matthews KR.** Transmission of *Escherichia coli* O157:H7 from contaminated manure and irrigation water to lettuce plant tissue and its subsequent internalization. *Appl Environ Microbiol* 2002;68:397-400.
- Standing TA, du Plessis E, Duvenage S, Korsten L.** Internalisation potential of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium and *Staphylococcus aureus* in lettuce seedlings and mature plants. *J Water Health* 2013;11:210-23.
- Strawn LK, Danyluk MD.** Fate of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* on fresh and frozen cut pineapples. *J Food Prot* 2010;73:418-24.
- Strawn LK, Fortes ED, Bihn EA, et al.** Landscape and meteorological factors affecting prevalence of three food-borne pathogens in fruit and vegetable farms. *Appl Environ Microbiol* 2013;79:588-600.
- Tasara T, Ebner R, Klumpp J, Stephan R.** Complete Genome Sequence of *Listeria monocytogenes* N2306, a Strain Associated with the 2013-2014 Listeriosis Outbreak in Switzerland. *Genome Announc* 2015;3.
- Teunis P, Takumi K, Shinagawa K.** Dose response for infection by *Escherichia coli* O157:H7 from outbreak data. *Risk Anal* 2004;24:401-7.
- Thao S, Brandl MT, Carter MQ.** Enhanced formation of shiga toxin-producing *Escherichia coli* persisters in environments relevant to leafy greens production. *Food Microbiol* 2019;84:103241.
- Tilden J, Jr., Young W, McNamara AM, et al.** A new route of transmission for *Escherichia coli*: infection from dry fermented salami. *Am J Public Health* 1996;86:1142-5.
- Tzschoppe M, Martin A, Beutin L.** A rapid procedure for the detection and isolation of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) serogroup O26, O103, O111, O118, O121, O145 and O157 strains and the aggregative EHEC O104:H4 strain from ready-to-eat vegetables. *Int J Food Microbiol* 2012;152:19-30.
- van Asselt ED, Zwietering MH.** A systematic approach to determine global thermal inactivation parameters for various food pathogens. *Int J Food Microbiol* 2006;107:73-82.
- van Elsas JD, Chiurazzi M, Mallon CA, Elhottova D, Kristufek V, Salles JF.** Microbial diversity determines the invasion of soil by a bacterial pathogen. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012;109:1159-64.
- Vestheim DF, Lange H, Nygard K, et al.** Are ready-to-eat salads ready to eat? An outbreak of *Salmonella* Coeln linked to imported, mixed, pre-washed and bagged salad, Norway, November 2013. *Epidemiol Infect* 2016;144:1756-60.
- Vitullo M, Ripabelli G, Fanelli I, Tamburro M, Delfino S, Sammarco ML.** Microbiological and toxicological quality of dried herbs. *Lett Appl Microbiol* 2011;52:573-80.
- Vivant AL, Garmyn D, Piveteau P.** *Listeria monocytogenes*, a down-to-earth pathogen. *Front Cell Infect Microbiol* 2013;3:87.
- Vogel BF, Hansen LT, Mordhorst H, Gram L.** The survival of *Listeria monocytogenes* during long term desiccation is facilitated by sodium chloride and organic material. *Int J Food Microbiol* 2010;140:192-200.

- Vogeleer P, Tremblay YD, Mafu AA, Jacques M, Harel J.** Life on the outside: role of biofilms in environmental persistence of Shiga-toxin producing *Escherichia coli*. *Front Microbiol* 2014;5:317.
- Wagner M, McLauchlin J.** *Biology. Handbook of Listeria Monocytogenes* 2008:3-97.
- Warriner K, Ibrahim F, Dickinson M, Wright C, Waites WM.** Interaction of *Escherichia coli* with growing salad spinach plants. *J Food Protect* 2003;66:1790-7.
- Westphal A, Williams ML, Baysal-Gurel F, LeJeune JT, McSpadden Gardener BB.** General suppression of *Escherichia coli* O157:H7 in sand-based dairy livestock bedding. *Appl Environ Microbiol* 2011;77:2113-21.
- Wiedemann A, Virlogeux-Payant I, Chausse AM, Schikora A, Velge P.** Interactions of *Salmonella* with animals and plants. *Front Microbiol* 2015;5:791.
- Wijnands LM, Delfgou-van Asch EH, Beerepoot-Mensink ME, et al.** Prevalence and concentration of bacterial pathogens in raw produce and minimally processed packaged salads produced in and for the Netherlands. *J Food Prot* 2014;77:388-94.
- Winfield MD, Groisman EA.** Role of nonhost environments in the lifestyles of *Salmonella* and *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol* 2003;69:3687-94.
- Wong CWY, Wang S, Lévesque RC, Goodridge L, Delaquis P.** Fate of 43 *Salmonella* strains on lettuce and tomato seedlings. *J Food Protect* 2019;82:1045-51.
- Wright KM, Chapman S, McGeachy K, et al.** The endophytic lifestyle of *Escherichia coli* O157:H7: quantification and internal localization in roots. *Phytopathology* 2013;103:333-40.
- Wright KM, Crozier L, Marshall J, Merget B, Holmes A, Holden NJ.** Differences in internalization and growth of *Escherichia coli* O157:H7 within the apoplast of edible plants, spinach and lettuce, compared with the model species *Nicotiana benthamiana*. *Microb Biotechnol* 2017;10:555-69.
- Zhang G, Chen Y, Hu L, et al.** Survey of Foodborne Pathogens, Aerobic Plate Counts, Total Coliform Counts, and *Escherichia coli* Counts in Leafy Greens, Sprouts, and Melons Marketed in the United States. *J Food Prot* 2019;81:400-11.
- Zhang G, Ma L, Beuchat LR, Erickson MC, Phelan VH, Doyle MP.** Lack of internalization of *Escherichia coli* O157:H7 in lettuce (*Lactuca sativa* L.) after leaf surface and soil inoculation. *J Food Prot* 2009a;72:2028-37.
- Zhang G, Ma L, Beuchat LR, Erickson MC, Phelan VH, Doyle MP.** Heat and drought stress during growth of lettuce (*Lactuca sativa* L.) does not promote internalization of *Escherichia coli* O157:H7. *J Food Prot* 2009b;72:2471-5.
- Zhu Q, Gooneratne R, Hussain MA.** *Listeria monocytogenes* in Fresh Produce: Outbreaks, Prevalence and Contamination Levels. *Foods* 2017;6:21.

## 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.