

<https://doi.org/10.17590/20220413-083752>

## **Bakterielle Lebensmittelinfektionen durch Vibrionen: Gesundheitliche Bewertung zum Vorkommen von *Vibrio* spp. (Nicht-Cholera-Vibrionen) in Lebensmitteln**

Stellungnahme Nr. 011/2022 des BfR vom 13. April 2022

Vibrionen sind weltweit verbreitete Umweltkeime, die hauptsächlich in salzhaltigen Gewässern, Feuchtgebieten und Brackwasser vorkommen. Sie sind häufig die Ursache bakterieller Verunreinigungen von Meerestieren, Fischen und Fischprodukten („Seafood“). Werden diese Lebensmittel roh verzehrt oder vor dem Verzehr unzureichend erhitzt, können die darin enthaltenen Vibrionen Durchfallerkrankungen beim Menschen auslösen. Aufgrund weltweit steigender Meerwassertemperaturen können sich auch Vibrionen verstärkt ausbreiten. Somit kann es aus Sicht des Bundesinstituts für Risikobewertung (BfR) durch den Verzehr von Seafood auch in Deutschland perspektivisch zu einer Zunahme derartiger Lebensmittelinfektionen kommen.

Insbesondere Muscheln und Austern, die aufgrund ihrer Lebensweise durch Filtrierung des Meerwassers Nahrung aufnehmen, können höhere *Vibrio*-Konzentrationen enthalten. Üblicherweise sind die meisten Handelsprodukte entweder erhitzt oder durch andere Verfahren (z. B. Marinieren, Räuchern, Trocknen, Einsalzen) behandelt und sollten dadurch eine geringe Anzahl von Bakterien enthalten. Der Verzehr von lebenden Austern kann besonders für Personen mit geschwächtem Immunsystem oder Vorerkrankungen wie chronischen Lebererkrankungen ein gesundheitliches Risiko in Form einer durch Vibrionen verursachten Lebensmittelinfektion darstellen. Das gilt insbesondere dann, wenn diese Lebensmittel mit toxinogenen (*trh/tdh*-positive) *Vibrio parahaemolyticus* Isolaten oder *Vibrio vulnificus* verunreinigt sind.

Eine Meldepflicht an das Robert Koch-Institut (RKI) und eine damit einhergehende systematische Erfassung von vibrionenbedingten Erkrankungen gibt es in Deutschland erst seit dem Jahr 2020. Daher sind Erkrankungen durch Vibrionen nach dem Verzehr von Seafood-Lebensmitteln in Deutschland vor diesem Zeitpunkt nicht statistisch erfasst. Es kann derzeit keine zuverlässige Aussage über deren Häufigkeit getroffen werden. Das Risiko einer gesundheitlichen Beeinträchtigung ist jedoch aufgrund der geringen Exposition momentan als niedrig einzustufen. Abhängig von sich verändernden klimatischen Bedingungen in den nächsten Jahren und einer verbesserten Datenlage kann sich jedoch diese Einschätzung künftig ändern.

Verbraucherinnen und Verbrauchern rät das BfR, bei der Zubereitung von Seafood-Speisen auf ausreichendes Erhitzen zu achten. Die Vibrionen werden beim Erhitzen auf mindestens 70 °C für zwei Minuten im Inneren des Lebensmittels sicher abgetötet. Zudem kann das Befolgen der allgemeinen Hygieneregeln bei Lagerung und Zubereitung der Lebensmittel („Küchenhygiene“) einen wichtigen Beitrag zum Schutz vor Lebensmittelinfektionen leisten.

BfR-Risikoprofil: Gesundheitliche Bewertung zum Vorkommen von <i>Vibrio</i> spp. in Lebensmitteln (Stellungnahme Nummer 011/2022)				
<b>A</b> Betroffen sind [1]	Allgemeinbevölkerung Chronisch Kranke			
<b>B</b> Wahrscheinlichkeit einer gesundheitlichen Beeinträchtigung bei Verzehr von belasteten Meerestieren, die unzureichend erhitzt wurden	Sehr niedrig	Niedrig	Mittel[1]	Hoch Sehr hoch
<b>C</b> Schwere der gesundheitlichen Beeinträchtigung bei Verzehr von belasteten Meerestieren, die unzureichend erhitzt wurden	Keine Beeinträchtigung	Leichte Beeinträchtigung [reversibel/irreversibel]	Mittelschwere Beeinträchtigung [reversibel/irreversibel] [2]	Schwere Beeinträchtigung [reversibel/irreversibel]
<b>D</b> Aussagekraft der vorliegenden Daten	Hoch: Die wichtigsten Daten liegen vor und sind widerspruchsfrei	Mittel: Einige wichtige Daten fehlen oder sind widersprüchlich [3]	Gering: Zahlreiche wichtige Daten fehlen oder sind widersprüchlich	
<b>E</b> Kontrollierbarkeit durch Verbraucher	Kontrolle nicht notwendig	Kontrollierbar durch Vorsichtsmaßnahmen [4]	Kontrollierbar durch Verzicht	Nicht kontrollierbar

Dunkelblau hinterlegte Felder kennzeichnen die Eigenschaften des in dieser Stellungnahme bewerteten Risikos (nähere Angaben dazu im Text der Stellungnahme Nummer 011/2022 des BfR vom 13. April 2022).

**Erläuterungen**

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

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

Über die quantitative Belastung von Seafood in Deutschland mit den drei enteropathogenen *Vibrio*-Spezies, die am häufigsten gastrointestinale Infektionen beim Menschen auslösen (*Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae non-O1, non-O139* und *Vibrio vulnificus*), liegen keine Daten vor. Es ist daher nicht bekannt, wie hoch eine Exposition durch Vibrionen in Lebensmittelprodukten für deutsche Verbraucherinnen und Verbraucher ist.

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

Die Infektionen sind selbstlimitierend und von mittlerer Schwere. Die Symptome umfassen Durchfall mit Bauchkrämpfen, Übelkeit, Erbrechen, Kopfschmerzen und leichtes Fieber und dauern bei immunkompetenten Patienten durchschnittlich drei Tage (Nair et al., 2007).

**[3] Zeile D – Aussagekraft der vorliegenden Daten**

Über die quantitative Belastung von Seafood in Deutschland mit den drei enteropathogenen *Vibrio*-Spezies liegen derzeit keine Daten vor. Es ist daher nicht bekannt, wie hoch eine Exposition durch Vibrionen in Lebensmittelprodukten für deutsche Verbraucherinnen und Verbraucher ist

**[4] Zeile E – Kontrollierbarkeit durch Verbraucher**

Ein gesundheitliches Risiko für Verbraucherinnen und Verbraucher durch Lebensmittel geht vorwiegend von rohen und ungenügend erhitzten Produkten aus. Allgemein werden die Erreger beim Erhitzen auf mindestens 70 °C und des Beibehaltens dieser Temperatur für zwei Minuten im Inneren des Lebensmittels sicher abgetötet.

## 1 Gegenstand der Bewertung

Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) hat eine Risikobewertung zum Vorkommen von *Vibrio* spp. (Nicht-Cholera-Vibrionen) in Lebensmitteln in Deutschland angefertigt. *Vibrio* spp. sind weltweit verbreitete Umweltkeime, die weitestgehend in salinen (salzhaltigen) Gewässern, Brackwasser und Feuchtgebieten vorkommen. Sie sind somit häufig die Ursache bakterieller Kontaminationen von Meeresfrüchten, Fischen und Fischprodukten (Seafood-Lebensmittel), die bei Verzehr Durchfallerkrankungen auslösen können. Aufgrund weltweit steigender Meerwassertemperaturen ist auch eine Zunahme derartiger Infektionen in Deutschland möglich. In diesem Zusammenhang wurden folgende Fragestellungen betrachtet:



1. Welche Spezies des Bakteriengenus *Vibrio* (Nicht-Cholera-Vibrionen) sind im Rahmen von lebensmittelbedingten Erkrankungen als humane Krankheitserreger von herausragender Bedeutung für die Untersuchung von möglicherweise mit pathogenen Vibrionen (Nicht-Cholera-Vibrionen) kontaminierten Nahrungsmitteln?
2. Welche Erkenntnisse liegen dem BfR zur Prävalenz und zur Bedeutung von pathogenen Vibrionen (Nicht-Cholera-Vibrionen) in Seafood-Lebensmitteln des Einzelhandels und von in Deutschland erzeugten Muscheln und Austern vor?
3. Welche Trends lassen sich aus den Zahlen zum Vorkommen lebensmittelbedingter Erkrankungen durch das Vorkommen von pathogenen Vibrionen (Nicht-Cholera-Vibrionen) in Lebensmitteln aufzeigen?
4. Welche Parameter fördern das Auftreten, die Vermehrung und die Übertragung von pathogenen Vibrionen (Nicht-Cholera-Vibrionen) in Lebensmitteln?
5. Welche Minimierungsstrategien für das Vorkommen von pathogenen Vibrionen (Nicht-Cholera-Vibrionen) in Lebensmitteln, die sich z. B. auf die Kühlkette, Konservierungs- und Dekontaminierungsverfahren im Rahmen der Erzeugung (einschließlich Verarbeitung, Transport und der Lagerung) beziehen und die die Belastung von Lebensmitteln mit pathogenen Vibrionen (Nicht-Cholera-Vibrionen) beeinflussen, gelten als effizient?
6. Welche standardisierten kulturellen und molekularen Verfahren eignen sich zum Nachweis und zur Bewertung des gesundheitlichen Risikos pathogener *Vibrio* spp. (Nicht-Cholera-Vibrionen) in Lebensmitteln?
7. Welche Marker/Indikatoren (z. B. Gene oder Proteine) sind geeignet, z. B. als Virulenzfaktoren bei pathogenen Stämmen eine (schnelle) Detektion pathogener Vibrionen in der Lebensmittelproduktion zu ermöglichen? Mit welcher Sicherheit zeigen diese Marker ein mit dem Verzehr von mit Vibrionen (Nicht-Cholera-Vibrionen) verbundenes gesundheitliches Risiko an?

Bei der vorliegenden gesundheitlichen Bewertung wurde der Fokus auf sogenannte Nicht-Cholera-Vibrionen gelegt, da bisher ausschließlich diese Typen als bakterielle Kontaminanten in Seafood in Deutschland nachgewiesen wurden. Die Antworten zu den gestellten Fragen finden sich gesammelt unter Punkt 3.3 dieser gesundheitlichen Bewertung.

## 2 Ergebnis

Eine Gefährdung von Verbraucherinnen und Verbrauchern durch Lebensmittel geht vorwiegend von rohen und ungenügend erhitzten Produkten aus. Insbesondere Muscheln und Austern, die aufgrund ihrer Lebensweise durch Filtrierung des Meerwassers Nahrung aufnehmen, können höhere Bakterien-Konzentrationen enthalten. In salzhaltigen Gewässern sind Vibrionen als natürlicher Bestandteil der Bakterienflora zu erwarten. Daher sind diese in Fischen und zweischaligen Weichtieren vorhanden oder im letzteren Fall sogar angereichert. Die Umweltbedingungen spielen hierbei eine wichtige Rolle. Allgemein lässt sich feststellen, dass mit steigenden Wassertemperaturen und sinkendem Salzgehalt auch die Belastung der Gewässer mit Vibrionen zunehmen kann. Der Verzehr von lebenden Muscheln/Austern kann daher besonders für Personen mit geschwächtem Immunsystem oder Vorerkrankungen wie chronischen Lebererkrankungen ein Risiko für eine durch Vibrionen verursachte Infektion darstellen, insbesondere, wenn diese Lebensmittel mit der Spezies *Vibrio vulnificus* kontaminiert sind.

Seafood wird von allen Bevölkerungsgruppen, einschließlich der oben beschriebenen empfindlichen Bevölkerungsgruppen verzehrt. Üblicherweise sind die meisten Produkte entweder

erhitzt oder durch andere Verfahren (Marinieren, Räuchern, Trocknen, Einsalzen, u. a.) behandelt und sollten dadurch wenige Bakterien enthalten. Allgemein werden die Erreger beim Erhitzen auf mindestens 70 °C und dem Beibehalten dieser Temperatur für zwei Minuten im Inneren des Lebensmittels sicher abgetötet. Fälle von Erkrankungen durch Vibrionen nach dem Verzehr von Seafood-Lebensmitteln sind in Deutschland bislang nicht bekannt. Eine Meldepflicht von vibrienenbedingten Erkrankungen gibt es in Deutschland erst seit dem Jahr 2020. Das zuständige Robert Koch-Institut erwähnt auf seiner Webseite, dass gastrointestinale Infektionen durch Nicht-Cholera-Vibrionen dem Institut seit dem Jahr 2000 nur als Einzelfälle zur Kenntnis gebracht wurden.

Im Einzelnen:

1) Über die quantitative Belastung von Seafood in Deutschland mit den drei enteropathogenen *Vibrio*-Spezies, die am häufigsten gastrointestinale Infektionen beim Menschen auslösen (*Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae* und *Vibrio vulnificus*), liegen derzeit keine Daten vor. Es ist daher nicht bekannt, wie hoch eine Exposition durch Vibrionen in Lebensmittelprodukten für deutsche Verbraucherinnen und Verbraucher ist.

2) Es ist davon auszugehen, dass eine ausreichende Erhitzung eine Inaktivierung aller pathogenen Vibrionen (70 °C für zwei Minuten im Inneren des Lebensmittels) bewirkt. Die Unsicherheit über eine Gefährdung durch zu hohe Vibrionenbelastung betrifft daher weitgehend solche Produkte, die roh oder wenig gegart verzehrt werden. Solche Lebensmittel sind vor allem Austern und einige weitere Muscheln, aber auch roh verzehrter Fisch wie er beim Sushi oder Sashimi eingesetzt wird. Da nur Einzelfälle von gastrointestinalen Infekten durch kontaminierte Austern und andere Muscheln in Deutschland bekannt geworden sind und die Verzehrsmengen pro Kopf vergleichsweise gering sind, ist gegenwärtig anzunehmen, dass auch bei diesen Lebensmitteln die Exposition gegenüber diesen Bakterien so gering ist, dass die Eintrittswahrscheinlichkeit gesundheitlicher Beeinträchtigungen durch Verzehr dieser Produkte als niedrig eingestuft werden kann.

3) Die Unsicherheit über fehlende Aussagen zur quantitativen Belastung von Austern und Muscheln durch Vibrionen ist angesichts der niedrigen Infektionszahlen als gering zu bewerten. Es sollte jedoch berücksichtigt werden, dass es in Deutschland bis zum Jahr 2020 keine Meldepflicht für Infektionen durch Vibrionen gab. Die fehlende Meldepflicht bedeutet auch, dass kaum Untersuchungen auf enteropathogene Vibrionen bei Patientinnen und Patienten mit Durchfallerkrankungen in Deutschland erfolgten. Eventuelle Fälle von Vibrioneninfektionen konnten daher nicht oder nur sehr selten erfasst werden, zumal die Kultivierungsmethoden zum Nachweis dieser Bakterien sehr spezifisch sind. Möglicherweise wurden daher Fälle gastrointestinaler Vibrioneninfektionen nicht erfasst.

4) Eine quantitative Bestimmung von enteropathogenen Vibrionen in Austern/Muscheln wäre eine geeignete Möglichkeit, die Unsicherheit in Bezug auf eine Gefährdung zu ermitteln. Für solche Bestimmungen könnten zum Beispiel Kulturmethoden (MPN-Verfahren) oder Real-Time PCR-Verfahren zur Detektion von enteropathogenen Vibrionen angewendet werden.

### 3 Begründung

#### 3.1 Risikobewertung

##### 3.1.1 Gefahrenidentifizierung

###### 3.1.1.1 Vibrionen als natürliche Bewohner in der aquatischen Umwelt

Die Familie der Vibrionaceae umfasst Gram-negative, nicht Sporenbildende bewegliche Bakterien, die weltweit natürlicherweise in aquatischen Ökosystemen, wie Meeren, Ästuaren und Aquakulturen, vorkommen. Die Familie Vibrionaceae besteht aus mehreren Gattungen, von denen die bedeutendsten humanpathogenen Spezies in der Gattung *Vibrio* (*V.*) vertreten sind. Sie umfasst mehr als 100 beschriebene Arten (Spezies), von denen etwa ein Dutzend Erkrankungen beim Menschen hervorrufen können. Diese Erreger können sowohl intestinale als auch extraintestinale Infektionen (z. B. Wund- und Ohrinfektionen) hervorrufen (Baker-Austin et al., 2018; Ceccarelli et al., 2019).

Aufgrund des Klimawandels und dem damit verbundenen Anstieg der Meerwassertemperatur wird eine Zunahme von *Vibrio*-Bakterien in ihren natürlichen Habitaten erwartet und als Folge davon ein Anstieg von *Vibrio*-Infektionen prognostiziert (Baker-Austin et al., 2012; Baker-Austin et al., 2017).

Der Anstieg von Vibrionen im aquatischen Ökosystem bedeutet, dass Infektionen durch direkten Kontakt mit kontaminiertem Wasser eine bedeutende Rolle spielen. Solche Infektionen kommen insbesondere in wärmeren Jahreszeiten durch Freizeitaktivitäten, wie Baden oder Wandern im flachen küstennahen Meerwasser, zustande. Daher werden in Deutschland regelmäßig extraintestinale Infektionen, wie Wund- und Ohrinfektionen, durch humanpathogene *Vibrio*-Spezies in der wärmeren Jahreszeit berichtet (RKI, 2020). Im Rahmen dieser Risikobewertung werden extraintestinale Infektionen nicht ausführlicher behandelt, da sie in der Regel nicht im Zusammenhang mit dem Verzehr von Lebensmitteln stehen. Über einige wenige Fälle von Wundinfektionen, die bei Beschäftigten in der Lebensmittelproduktion durch den Umgang mit rohen Meeresprodukten entstanden sind, ist in der Literatur berichtet worden (Bisharat et al., 2005).

Der Schwerpunkt der hier vorliegenden Risikobewertung liegt auf gastrointestinalen *Vibrio*-Infektionen, die durch den Verzehr von Fischen, Fischereiprodukten und Meeresfrüchten, wie Weichtiere und Krustentiere, ausgelöst werden. Lebensmittel marinen Ursprungs werden im Folgenden unter dem Begriff Seafood zusammengefasst. Infektionen erfolgen, wenn diese Lebensmittel vor dem Verzehr nicht ausreichend erhitzt oder roh verzehrt werden. Die *Vibrio*-Spezies, die am häufigsten gastrointestinale Infektionen durch Seafood beim Menschen auslösen, sind *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae* und *V. vulnificus*. Nach Einschätzung von Expertengremien der Weltgesundheitsorganisation (WHO) und der Ernährungs- und Landwirtschaftsorganisation der Vereinten Nationen (FAO) haben diese drei Erreger die größte Bedeutung für das öffentliche Gesundheitswesen. Für diese drei Spezies wurden deshalb bereits Risikobewertungen von der FAO und WHO in Bezug auf den weltweiten Handel mit Seafood-Produkten durchgeführt (FAO/WHO, 2010a; 2020).

Im Rahmen dieser Risikobewertung sollen zwei weitere *Vibrio*-Spezies betrachtet werden, die häufig von offiziellen Lebensmittel-Untersuchungslaboren in Seafood-Proben in Deutschland nachgewiesen und dem Konsiliarlabor für Vibrionen des BfR zu Bestätigungsanalysen gesendet wurden. Zusätzlich zu den drei oben genannten *Vibrio*-Spezies sollen daher auch *V. alginolyticus* und *V. metschnikovii* betrachtet werden.

In Tabelle 1 sind die Einsendungen von *Vibrio*-Isolaten an das Konsiliarlabor für Vibrionen aus Lebensmitteln im Zeitraum der Jahre 2017 bis 2020 aufgelistet.

**Tabelle 1:** Einsendungen von *Vibrio*-Isolaten aus Lebensmitteln an das Konsiliarlabor für Vibrionen in Lebensmitteln der Jahre 2017 bis 2020 und Nachweis verschiedener *Vibrio*-Spezies

Matrix	Summe	<i>V. para-haemolyticus</i>	<i>V. cholerae</i>	<i>V. vulnificus</i>	<i>V. alginolyticus</i> *	<i>V. metschnikovii</i>	<i>V. fluvialis</i>	<i>V. furnissii</i>	<i>V. mimicus</i>	<i>V. Harveyi</i>	<i>V. campbellii</i>	Vibrio sonstige	Kein Vibrio	Herkunft (Land)
Austern	54	48 (10 trh)	-	-	4	-	1	-	-	-	-	-	1	D (Nordsee)
Miesmuscheln	402	303 (5 trh)	24	1	45	10	1	2	-	-	-	12	4	Nordsee D, NL, Nordatlantik
Weitere Muscheln	16	12	2	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	D (Nordsee) (12)
Nordseekrabben	125	33	-	1	70	5	1	-	-	4	1	5	5	D (Nordsee)
Garnelen Shrimps u.Ä.	244	133 (6 trh)	26	3	24	11	1	-	1	6	12	13	14	BD (45), EC (61), HN (15), IND (32), T (21), VN (38)
Weitere Krebstiere	14	9	2	-	-	2	-	-	-	-	-	1	-	BD (1), EC (2), F (1), IND (2), VN (2)
Fische, Fischprodukte	43	4	5	1	-	27	2	1	2	-	-	-	1	VN (9), N (1), D (2), IND (3), GR (1), ind. Ozean (1)
Tintenfisch, -produkte u.Ä.	2	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	Keine Angabe
Sonstige	2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	EC (1)
<b>Gesamtsumme</b>	<b>902</b>	<b>543</b>	<b>60</b>	<b>6</b>	<b>146</b>	<b>55</b>	<b>6</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>10</b>	<b>13</b>	<b>32</b>	<b>25</b>	

\**V. alginolyticus*-Isolate werden nur teilweise an das Konsiliarlabor für Vibrionen eingeschickt und entsprechen daher nicht den tatsächlichen Nachweiszahlen. Abkürzungen: trh, TDH-verwandtes Hämolyisin; tdh, thermostabiles direktes Hämolyisin; D, Deutschland; NL, Niederlande; BD, Bangladesch; EC, Ecuador; HN, Honduras; IND, Indien; T, Thailand; VN, Vietnam; F, Frankreich; N, Norwegen; GR, Griechenland. Die Zahl in Klammern hinter dem Länderkennzeichen gibt die Anzahl der Proben aus dem entsprechenden Land an.

Grundsätzlich gilt, dass das Vorkommen von *Vibrio* spp. in Seafood-Produkten darauf zurückzuführen ist, dass die Bakterien in der aquatischen Umwelt natürlicherweise vorkommen. In den meisten Fällen besteht keine Korrelation zwischen fäkalcoliformen Keimen, die durch anthropogene Einflüsse in Gewässer eingebracht werden und den *Vibrio*-Titern in der aquatischen Umwelt. Eine positive Korrelation zwischen der Wassertemperatur und der Anzahl von Vibrionen ist hingegen in verschiedenen Teilen der Welt nachgewiesen worden. Weitere Umweltfaktoren, wie z. B. Salinität der Gewässer, können sich sowohl positiv als auch negativ auf das Vorkommen und die Abundanz von Vibrionen in Abhängigkeit von der betrachteten *Vibrio*-Spezies auswirken. Für viele *Vibrio*-Spezies ist beschrieben worden, dass sie sich unter verschiedenen Bedingungen (Nährstoffmangel, niedrige Temperaturen, veränderte osmotische Konzentrationen etc.) in einen Ruhezustand begeben können, der eine direkte Rekultivierung auf geeigneten Wachstumsmedien erschwert. Dieser Ruhezustand wird auch als Viable-But-Non-Culturable (VBNC) bezeichnet (Oliver, 2010). Eine effektive Wiederbelebung solcher Bakterien kann in der Regel durch geeignete Medien und eine Temperatur-Erhöhung (Temperature-Upshift) erreicht werden (Oliver, 2010). Solche Bedingungen sollten bei der Verwendung der horizontalen ISO-Methode 21872-1 zum Nachweis der enteropathogenen Vibrionen in Lebensmitteln durch die vorgeschriebene zweistufige Anreicherung gegeben sein.

### 3.1.2 Gefahrencharakterisierung

#### 3.1.2.1 Vibrionen als Krankheitserreger in Lebensmitteln

##### *V. parahaemolyticus*

*V. parahaemolyticus* ist als eine Hauptursache für durch Seafood-Lebensmittel übertragene Gastroenteritis im Zusammenhang mit dem Verzehr von rohen oder nicht durchgekochten Produkten bekannt (FAO/WHO, 2011;2020). Die Infektionen sind selbstlimitierend und von mittlerer Schwere. Die Symptome umfassen Durchfall mit Bauchkrämpfen, Übelkeit, Erbrechen, Kopfschmerzen und leichtes Fieber und dauern bei immunkompetenten Patientinnen und Patienten durchschnittlich drei Tage an (Nair et al., 2007). Pathogene *V. parahaemolyticus*-Stämme sind für die Mehrzahl der Seafood-assoziierten Infektionen in den Vereinigten Staaten, vielen asiatischen Ländern (FAO/WHO, 2011) und Südamerika (Velazquez-Roman et al., 2014) verantwortlich.

Zwei pandemische Klone von *V. parahaemolyticus* haben auf mehreren Kontinenten Krankheitsausbrüche verursacht. Der O3:K6-Klon mit dem Sequenztyp ST3 wurde zuerst in Indien gefunden und verbreitete sich zwischen den Jahren 1995 und 2005 in Südostasien, Amerika und Afrika bis nach Europa (Spanien und Frankreich). Ein weiterer pandemischer Klon mit dem Sequenztyp ST36 (sog. Nordwest-Pazifik-Klon) verursachte in Amerika (Nord- und Südamerika) und in Spanien zwischen den Jahren 2012 bis 2016 Ausbrüche (Martinez-Urtaza and Baker-Austin, 2020).

Im Vergleich zum asiatischen Kontinent und den USA werden *V. parahaemolyticus*-Infektionen in Europa bislang nur selten gemeldet. Dies kann auf eine geringe Krankheitsinzidenz zurückzuführen sein oder auf dem Fehlen von epidemiologischen Surveillance-Programmen zu *Vibrio*-assoziierten Erkrankungen beruhen. Die Pathogenität von *V. parahaemolyticus* ist hauptsächlich mit dem Besitz von Genen korreliert, die für Hämolysine kodieren (TDH = thermostabiles direktes Hämolysin und/oder TRH = TDH-verwandtes Hämolysin) (Nishibuchi and Kaper, 1995;Park et al., 2000). Sowohl epidemiologische als auch tierexperimentelle Studien weisen darauf hin, dass zusätzlich mindestens ein Typ-3-Sekretionssystem (T3SS2) eine wichtige Rolle bei der Pathogenität von *V. parahaemolyticus* spielt (Park et al., 2004). Dieses T3SS2 ist stark mit dem Vorhandensein von *tdh*- und/oder *trh*-Genen korreliert und wird weiter unterteilt in T3SS2 $\alpha$ , das mit dem *tdh*-Gen auf einer Pathogenitätsinsel assoziiert ist, und

T3SS2 $\beta$ , das sich in der Nähe des *trh*-Gens auf einer anderen Pathogenitätsinsel befindet (Park et al., 2004). Zusätzlich ist das *trh*-Gen genetisch mit einem Urease-Gencluster assoziiert. Die Mehrzahl der *V. parahaemolyticus*-Stämme besitzt jedoch nicht die *tdh*- und/oder *trh*-Gene, sie werden als Umweltstämme angesehen. Die Ergebnisse epidemiologischer Untersuchungen in Japan weisen darauf hin, dass *tdh*-tragende Stämme mehr zu gastrointestinalen Infektionen beitragen als *trh*-positive Stämme (Saito et al., 2015). Ca. 90 % aller *V. parahaemolyticus*-Infektionen im Untersuchungszeitraum wurden durch *tdh*-tragende Stämme verursacht, die kein *trh*-Gen besaßen, obwohl *trh*-positive Stämme häufiger in Austern und Muscheln nachgewiesen wurden.

In Deutschland wurden *tdh*-positive *V. parahaemolyticus*-Stämme bisher nur sehr selten in importiertem Seafood gefunden (Untersuchungen des Konsiliarlabors für Vibrionen, BfR). Ein Vorkommen solcher Stämme in deutschen Küstengewässern wurde bisher noch nicht berichtet (Huehn et al., 2014). Im Gegensatz dazu kommen *trh*-positive *V. parahaemolyticus* Isolate mit geringer Häufigkeit dort vor (Bechlars et al., 2015). Generell werden *trh*-tragende Stämme in einem Bereich von etwa 3 bis 5 % an den Küsten Nordeuropas nachgewiesen (Hervio-Heath et al., 2002; Ellingsen et al., 2008), mit einer Tendenz zum Anstieg in den Küstengebieten Frankreichs (Robert-Pillot et al., 2004; Bechlars et al., 2015). Trotz des Vorkommens solcher Stämme in deutschen Gewässern und deren Nachweis in Austern und Miesmuscheln aus deutschen Produktionsgebieten sind bislang keine intestinalen Infektionen durch *V. parahaemolyticus*-Stämme in Deutschland dokumentiert.

*V. parahaemolyticus* ist säureempfindlich gegenüber Magensaft (Yeung and Boor, 2004a), und aus älteren Quellen wird berichtet, dass die Infektionsdosis bei  $10^7$  bis  $10^8$  Keimen liegt (Yeung and Boor, 2004b). Dieser Wert wird aktuell auch von der kanadischen Gesundheitsbehörde angegeben (Government of Canada, 2011). Es ist jedoch nicht klar, ob die Infektionsdosis für die virulenteren pandemischen Klone geringer ist (Yeung and Boor, 2004b).

### *V. cholerae*

Das gramnegative Bakterium *V. cholerae* ist als Spezies Teil der normalen Flora der aquatischen Ökosysteme weltweit. Da *V. cholerae*-Bakterien auch ohne Natriumchlorid (NaCl) in Nährmedien wachsen, können sie nicht nur in salzhaltigen marinen Gewässern, sondern auch in inländischen Gewässern, wie Flüssen und Seen mit sehr geringer Salinität, vorkommen (Kirschner et al., 2018; Vezzulli et al., 2020). Die Spezies kann aufgrund ihrer unterschiedlichen Oberflächenantigene in mehr als 200 Serogruppen eingeteilt werden (Vezzulli et al., 2020). Stämme von *V. cholerae*, die zu den Serogruppen O1 und O139 gehören, sind die Erreger der Cholera, einer epidemischen Durchfallerkrankung. Cholera-Epidemien sind im Wesentlichen auf Länder mit unzureichenden öffentlichen Hygienesystemen beschränkt und treten bei mangelhaften öffentlichen Sanitärsystemen, zum Teil nach Naturkatastrophen oder infolge politischer Krisen, auf. Die Ausscheidungen erkrankter Menschen enthalten hohe Mengen von *V. cholerae*-Bakterien, die in Gewässer gelangen und diese kontaminieren. In Epidemiegebieten erfolgt die Ansteckung in der Regel durch verunreinigtes Trinkwasser oder kontaminierte Lebensmittel, die mit verunreinigtem Wasser in Kontakt gekommen sind (Harris et al., 2012). Cholera ist eine akute Darminfektion mit einer kurzen Inkubationszeit von weniger als einem Tag bis zu fünf Tagen. Die toxischen *V. cholerae*-Stämme O1 und O139 produzieren das Cholera-Toxin, das eine ausgedehnte wässrige Diarrhöe verursacht. *V. cholerae*-Bakterien besiedeln die Darmschleimhaut und vermehren sich dort. Dies führt zu permanentem Erbrechen und Durchfall. Der ständige Wasserverlust führt zu einer Dehydrierung des Körpers und zum Verlust lebenswichtiger Mineralien. Ohne Behandlung sterben 30 bis 50 % aller schwerkranken Menschen innerhalb von ein bis sechs Tagen. Als die beiden wichtigsten Virulenzfaktoren der toxischen *V. cholerae* gelten das Cholera-toxin (CT) und ein Typ IV-Pilus (Zuckerman et al., 2007). Die Cholera-Bakterien der Serogruppen

O1/O139 haben ausschließlich den Menschen als Wirt. In Europa sind Cholera-Infektionen nur selten. Erkrankte Personen reisten in der Vergangenheit aus Ländern ein, in denen die Krankheit endemisch ist.

Die über 200 weiteren Serogruppen von *V. cholerae* sind weltweit in der aquatischen Umwelt verbreitet. Einige Stämme dieser Serogruppen, die zusammen auch als *V. cholerae* non-O1, non-O139 bezeichnet werden, können Durchfallerkrankungen verursachen (Schirmeister et al., 2014), besitzen aber nicht die Fähigkeit, epidemische Ausbrüche zu verursachen (Vezzulli et al., 2020). Da die meisten non-O1, non-O139 Stämme nicht über die Hauptvirulenzfaktoren der toxischen *V. cholerae* verfügen, können sie durch PCR-Nachweise, die auf das Cholera-toxin-Gen abzielen, von diesen unterschieden werden. Eine Reihe akzessorischer Virulenzfaktoren, die auch in toxischen Stämmen vorhanden sind, finden sich in einigen non-O1, non-O139-Stämmen. So können diese Stämme Toxine wie z. B. Hämolyse, RTX-Toxine, Typ 3 Sekretionssysteme und Cholix-Toxine produzieren und verursachen im Allgemeinen nur eine selbstlimitierende Gastroenteritis (Awasthi et al., 2013; Schwartz et al., 2019). Es gibt einige Cholera-toxin-bildende Serogruppen (O141, O75, O37, O10, O12, O6 und O14) ohne pandemisches Potential. Diese wurden auch mit choleraähnlichen Erkrankungen in Verbindung gebracht, die jedoch weniger schwerwiegend waren als Cholera-Erkrankungen (Tobin-D'Angelo et al., 2008; Vezzulli et al., 2020). Da noch nicht ausreichend erforscht ist, welche Virulenzfaktoren dieser Bakterien für humane Infektionen verantwortlich gemacht werden können, fehlt es derzeit an diagnostischen Möglichkeiten, zuverlässig pathogene Stämme von echten Umweltstämmen zu unterscheiden.

In Deutschland sind gastrointestinale Infektionen durch *V. cholerae* non-O1, non-O139 im Zusammenhang mit Reiseerkrankungen beschrieben worden. Bei Patientinnen und Patienten aus Cholera-Endemiegebieten, die nach Rückkehr über Durchfallerkrankungen klagten und laboridiagnostisch untersucht wurden, wurde in manchen Fällen *V. cholerae* non-O1, non-O139 nachgewiesen (Schirmeister et al., 2014).

### *V. vulnificus*

*V. vulnificus* ist ein gefährlicher bakterieller Erreger, der weltweit in Küstengewässern vorkommt und bevorzugt in Gewässern mit mäßigem Salzgehalt zu finden ist. Er kann schwere Wundinfektionen mit tödlichem Ausgang verursachen (Blake et al., 1979; Lee et al., 2014; Huang et al., 2016; Dupont et al., 2020) und ist auch für Todesfälle verantwortlich, die durch den Verzehr von kontaminiertem Seafood verursacht werden. In den USA sind vor allem mit *V. vulnificus* kontaminierte Austern für tödliche Infektionen verantwortlich gemacht worden (FAO/WHO, 2004; Haq and Dayal, 2005; Daniels, 2011). Die Schwere der Erkrankung wird wesentlich durch den Gesundheitszustand der exponierten Personen beeinflusst. Besonders gefährdet sind immungeschwächte Personen und Personen mit Grunderkrankungen, insbesondere chronischen Lebererkrankungen (Bross et al., 2007). Im Falle einer primären Septikämie nach dem Verzehr von kontaminiertem Seafood liegt die Sterblichkeitsrate bei über 50 % (Jones and Oliver, 2009). Für Menschen mit Vorerkrankungen wird eine niedrige Infektionsdosis in der Größenordnung von ca.  $10^3$  Keimen vermutet (Jackson et al., 1997; Stavric and Buchanan, 1997; Cruz et al., 2016). Es ist bekannt, dass Umweltfaktoren wie warmes Wasser und mäßiger Salzgehalt die Vermehrung des Erregers begünstigen. Daher hat die Erwärmung der Meerwassertemperaturen durch den Klimawandel die Besorgnis erhöht, dass durch *V. vulnificus* verursachte Infektionen zahlenmäßig zunehmen werden (Baker-Austin et al., 2013). Trotz des häufigen Vorkommens des Erregers ist die Zahl der gemeldeten Fälle relativ gering, was darauf hindeutet, dass nicht alle Stämme dieser Spezies gleich virulent sind. *V. vulnificus* weist einen hohen Grad an genetischer Diversität auf und umfasst Stämme mit unterschiedlichem Virulenzpotenzial (Jones and Oliver, 2009). Obwohl die meisten Stämme in Tiermodellen virulent sind (Thiaville et al., 2011), zeigten mehrere

Untersuchungen eine genetische Divergenz zwischen Stämmen klinischen Ursprungs und Stämmen aus der Umwelt. In mehreren Studien wurden Methoden entwickelt, um klinische Stämme (C-Typ) von Umweltstämmen (E-Typ) zu unterscheiden. Die potenziellen Virulenzmarker basieren auf Variationen in der Sequenz der kleinen Untereinheit des 16S rRNA-Gens, des virulenzkorrelierten Gens (*vcg*) (Sanjuan et al., 2009) und des *pilF*-Gens, das für ein Protein kodiert, das für die Pilus-Typ IV-Assemblierung benötigt wird (Baker-Austin et al., 2012). Bis jetzt gibt es jedoch keine zuverlässigen genetischen Marker, um einzelne Stämme als Umweltstämme ohne Pathogenität zu definieren. In Deutschland wurden vorwiegend E-Typ-Stämme gefunden, die schwere und tödliche Wundinfektionen verursachten (Bier et al., 2013).

In Deutschland sind in salzarmen marinen Ökosystemen wie der Ostsee oder Mündungsgebieten großer Flüsse, die in die Nordsee münden, *V. vulnificus*- Bakterien zu finden (Boer et al., 2013; Huehn et al., 2014). Da diese marine Umwelt eine erhöhte Erwärmungsrate der Oberflächenwassertemperaturen, insbesondere im Sommer, aufweist, steigt die Zahl von humanen *V. vulnificus*-Wundinfektionen in Jahren mit langen warmen Wetterperioden nach Kontakt mit Meerwasser. Lokal erworbene lebensmittelbedingte Infektionen sind in Deutschland bisher nicht gemeldet worden. Untersuchungen von importiertem Seafood haben gezeigt, dass *V. vulnificus* in geringer Häufigkeit vorhanden ist (s. Tabelle 1).

#### *V. alginolyticus*

Die Spezies *V. alginolyticus* wird sehr oft in Seafood nachgewiesen (Lhafi and Kühne, 2007; Huehn et al., 2014; Vu et al., 2018b), da diese Spezies häufig im Meer vorkommt und hohe Salzkonzentrationen toleriert (Boer et al., 2013). Jedoch sind gastrointestinale Infektionen äußerst selten, während Wund- und Ohr-Infektionen durch *V. alginolyticus* nach Kontakt mit Seewasser häufiger beschrieben wurden (Baker-Austin et al., 2020). In den USA ist diese Spezies die häufigste *Vibrio*-Spezies, die mit Wund- und Ohrinfektionen assoziiert ist (Morris, 2019).

#### *V. metschnikovii*

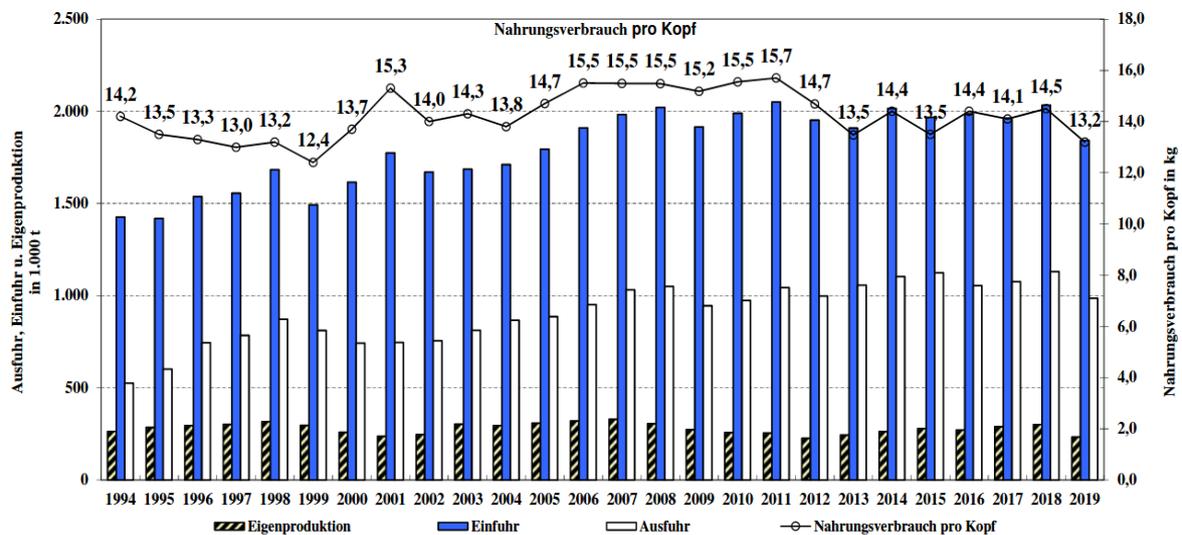
Die Spezies *V. metschnikovii* ist ebenfalls häufig in Seafood-Proben nachgewiesen worden (Tabelle 1). Eine Untersuchung aus Norwegen an Fischen und Muscheln ergab, dass *V. metschnikovii* nach *V. alginolyticus* die zweithäufigste *Vibrio*-Spezies in dieser Untersuchung war (Hakonsholm et al., 2020). Taxonomisch wurde *V. metschnikovii* als eine neue Art der Gattung *Vibrio* in den 1970er Jahren definiert. Die Spezies unterscheidet sich von anderen *Vibrio*-Arten durch ihre Unfähigkeit, Cytochrom-Oxidase zu bilden und Nitrat zu reduzieren (Farmer III and Janda, 2004). *V. metschnikovii* ist ein natürlicher Bewohner der aquatischen Umwelt und wurde aus Meerwasser, Flussmündungen und Abwässern sowie aus Fischen, Krebsen, Austern und erkrankten Vögeln isoliert (Ceccarelli et al., 2019). Ein häufiges Vorkommen der Spezies wurde in ländlichen Gemeinden in Peru, Brasilien, Südafrika und Nigeria dokumentiert. Die Spezies ist bisher nicht gut charakterisiert. Es wurden *V. metschnikovii*-Bakterien in Zusammenhang mit extraintestinalen Erkrankungen, Wundinfektionen, Pneumonien, Herz-Kreislauf-Erkrankungen, aber auch in Zusammenhang mit Diarrhöen nachgewiesen (Dalsgaard et al., 1996). Insgesamt ist aber die Rolle von *V. metschnikovii* als potentiell humanpathogenem Keim nach wie vor unklar, da Erkrankungen nur als „case studies“ mit sehr unterschiedlicher Symptomatik beschrieben wurden (Morris, 2019).

### Weitere *Vibrio*-Spezies

In Tabelle 1 sind weitere *Vibrio*-Spezies genannt (*V. mimicus*, *V. fluvialis*, *V. furnissii*, *V. harveyi*), die in Zusammenhang mit gastrointestinalen Infektionen beschrieben wurden. Im Vergleich zu den drei potentiell enteropathogenen Spezies *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* und *V. cholerae* werden diese nur gelegentlich in Lebensmittelprodukten in Deutschland nachgewiesen, so dass auf eine Gefahrenabschätzung im Rahmen dieser Risikobewertung verzichtet wird.

### 3.1.3 Expositionsschätzung und -bewertung

Fisch und Meeresfrüchte gelten aufgrund ihres hohen Protein-, Vitamin- und Mineralstoffgehalts als wichtiges Lebensmittel mit hohem Nährstoffgehalt (Institute of Medicine of the National Academic, 2007). Der Bedarf hat in den letzten Dekaden europa- und auch weltweit zugenommen. Der Konsum von Speisefisch erreichte laut FAO im Jahr 2019 einen Wert von 156,2 Millionen Tonnen. Das entspricht einer jährlichen Pro-Kopf-Verzehrmenge von etwa 20 kg. Für Deutschland liegen diese Werte etwas niedriger. Die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) gibt für das Jahr 2019 einen Pro-Kopf-Verbrauch von 13,2 kg an (Abb. 1: Diagramm Pro-Kopf-Verbrauch). Neben den wild gefangenen Fischereierzeugnissen aus Flüssen, Seen und Meeren steigt die Bedeutung der Aquakultur stark an, sodass im Jahr 2014 der Beitrag des Aquakultursektors für den menschlichen Verzehr erstmals den der wild gefangenen Fischereierzeugnisse überstieg. Die deutsche Eigenproduktion trägt derzeit jedoch mit 21 % nur zu einem geringeren Teil zu den in Deutschland konsumierten Produkten bei.



**Abbildung 1:** Versorgung der Bundesrepublik Deutschland mit Fischereierzeugnissen (einschließlich Krebs- und Weichtieren) in den Jahren 1994-2019 (Quelle: BLE -532- (2019 vorläufig))

Gastrointestinale *Vibrio*-Infektionen können häufig auf den Konsum roher oder unzureichend gegarter Muscheln und Krebstiere zurückgeführt werden (Daniels and Shafaie, 2000; Bisha et al., 2012). In den USA sind Infektionen mit *V. vulnificus* die führende Ursache lebensmittelbedingter Todesfälle (Daniels, 2011). In Deutschland sind in den letzten Jahren nur wenige *Vibrio*-Infektionen gemeldet worden. Durch eine klimabedingte Erhöhung der Oberflächentemperatur des Wassers könnte es jedoch zu einem vermehrten Vorkommen von Vibrionen

im Wasser und damit auch zu einer Anreicherung dieser in den im Wasser lebenden Organismen kommen (Martinez-Urtaza et al., 2010; Vezzulli et al., 2012). Für die Ostsee ist dieses Phänomen bereits beschrieben (Frank et al., 2006; Baker-Austin et al., 2010).

### 3.1.3.1 Vibrionen in Muscheln

In Deutschland werden jährlich 2.000 - 3.000 t Muscheln vermarktet. Die heimische Produktion erfolgt größtenteils an den Küsten Niedersachsens und Schleswig-Holsteins sowie auf der Insel Sylt als einzigem innerdeutschen Standort für die Austernzucht. Seit dem Jahr 2014 werden auch in der Ostsee (Kieler Förde) mit wachsendem Erfolg wieder Miesmuscheln kultiviert (Landwirtschaftskammer Schleswig-Holstein, 2020). Es gibt nur wenige Untersuchungen zur Belastung von Muscheln mit Vibrionen aus deutschen Fanggebieten. Eine detaillierte Studie wurde im Jahr 2007 von Lhafi und Kühne (Lhafi and Kühne, 2007) veröffentlicht. Untersucht wurden innerhalb eines Jahres Miesmuscheln aus verschiedenen Aufzuchtgebieten des deutschen Wattenmeers (Niedersachsen). In 74,4 % der analysierten Muscheln wurden Vibrionen nachgewiesen. 51,2 % davon wurden der Spezies *V. alginolyticus* zugeordnet. Bei 39,5 % der identifizierten Vibrionen handelte es sich um *V. parahaemolyticus*, jedoch wurden die Virulenzfaktoren TDH und TRH nicht nachgewiesen. Zusätzlich wurde festgestellt, dass die Anzahl der mit *V. parahaemolyticus* belasteten Muscheln mit sinkender Wassertemperatur abnahm. Ähnliches wurde für das Vorkommen von *V. vulnificus* beobachtet, die 3,5 % der *Vibrio*-Isolate ausmachten. Diese wurden nur bei Wassertemperaturen zwischen 15 und 20 °C detektiert. 4,7 % der untersuchten Isolate wurden außerdem der Spezies *V. cholerae* zugeordnet. Jedoch wurden auch hier keine Virulenz-assoziierten Gene oder Serogruppen mit pandemischem Potenzial (O1, O139) nachgewiesen (Lhafi and Kühne, 2007). Im Rahmen einer Übersichtsarbeit zum Vorkommen von potentiell pathogenen Vibrionen in Deutschland (Huehn et al., 2014) wurden auch Forschungsergebnisse des Niedersächsischen Landesamtes für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (LAVES), das für die Überwachung der Primärproduktion von Miesmuscheln im niedersächsischen Wattenmeer verantwortlich ist, dargestellt. Die am häufigsten in Miesmuscheln identifizierte Spezies war *V. alginolyticus*, gefolgt von *V. parahaemolyticus*. Non-O1, non-O139 *V. cholerae*-Stämme wurden in einigen Proben nachgewiesen, während *V. vulnificus* selten vorkam. Im Jahr 2013 wurden *Vibrio* spp. in allen analysierten Muscheln (100 %), im Jahr 2012 in 87 % der analysierten Miesmuscheln nachgewiesen. Darüber hinaus wurde oft mehr als eine *Vibrio*-Spezies aus einer einzigen Probe isoliert, und es wurde eine Saisonalität des Auftretens beobachtet. Während *V. alginolyticus* ganzjährig vorhanden war, wurden die anderen drei Arten nur im Sommer und Herbst nachgewiesen (Huehn et al., 2014). Die meisten der *V. parahaemolyticus*-Isolate, die in ca. 40 % der Muscheln nachgewiesen wurden, waren wahrscheinlich nicht-pathogene Umweltstämme, da nur ca. 1 % der Isolate ein *trh*-Gen trugen, das als Hauptvirulenzmarker gilt (Nair et al., 2007). Für die Ostsee gibt es keine vergleichbaren Daten, da dort bisher kaum kommerzielle Muschelproduktion erfolgte.

Der Großteil der in Deutschland produzierten frischen Muscheln wird über die Muschelauktion in Yerseke (Niederlande) an Großhändler vertrieben, sodass die Möglichkeit besteht, dass niedersächsische Muscheln über die Niederlande zurück nach Deutschland importiert werden. Eine Ausnahme bilden zum einen Muscheln, die aufgrund eines zu geringen Fleischgehalts zur Weiterverarbeitung in schleswig-holsteinische oder niederländische Muschelkochereien gebracht werden. Zum anderen werden die auf Sylt produzierten Austern direkt durch den Erzeuger vermarktet (Erzeugerorganisation Schleswig-Holsteinischer Muschelzüchter e.V., 2012). Wie stark die dort produzierten Austern mit Vibrionen belastet sind, ist in der Literatur bislang nicht beschrieben. Jährlich werden jedoch 10 bis 20 Isolate an das Konsiliarlabor für Vibrionen übermittelt, die aus dieser Produktgruppe isoliert wurden

(siehe Tabelle 1). Größtenteils handelt es sich hierbei um Stämme der Spezies *V. parahaemolyticus*. In den Jahren 2017, 2019 und 2020 wurde in diesen Isolaten z. T. das Virulenz-assoziierte Gen *trh* nachgewiesen.

Die Versorgung der EU mit Muscheln wird zu 80 % durch europäische Produkte gewährleistet. Neben Deutschland werden auch in Dänemark, den Niederlanden, Großbritannien und Irland Miesmuscheln gezüchtet. Weitere europäische Muschelerzeuger sind Spanien, Italien und Frankreich. Letztere beliefern hauptsächlich den europäischen Markt. Auch im Seafood dieser Länder wurden pathogene Vibrionen nachgewiesen. Robert-Pillot et al. zeigten im Jahr 2014, dass in 25 % der untersuchten Fische und Meeresfrüchte pathogene *V. parahaemolyticus* (*tdh* oder *trh*-positiv) detektiert wurden (Robert-Pillot et al., 2014). Auch in italienischen und spanischen Muscheln, Fischen und Austern wurden Prävalenzen von teilweise mehr als 10 % ermittelt (Roque et al., 2009; Serracca et al., 2011).

### 3.1.3.2 Vibrionen in Nordseegarnelen

Ein wichtiger Zweig der deutschen Eigenproduktion ist die Krabbenfischerei. Die Nordseegarnele (umgangssprachlich Nordseekrabbe) ist eine der wenigen Kaltwassergarnelen, die wirtschaftlich von Bedeutung sind. Sie ist zwar in einem breiten Streifen vom Weißen bis zum Schwarzen Meer beheimatet, wird aber nur in der Nordsee (Wattenmeer) nennenswert befischt (Landwirtschaftskammer-Schleswig-Holstein, 2020). Für den Erhalt der Qualität wird der Fang direkt nach dem Einholen auf dem Schiff verarbeitet. Die Krabben werden im Meerwasser gekocht, gekühlt gelagert, nach spätestens 72 Stunden angelandet und an die Siebstellen verteilt. Im Jahr 2018 hat die Krabbenfischerei ein Ergebnis von 6.937 t eingefahren. Untersuchungen zum Vorkommen von Vibrionen in deutschen Nordseekrabben stehen bis zu diesem Zeitpunkt jedoch nicht zur Verfügung. Auch aus dieser Produktgruppe werden dem Konsiliarlabor für Vibrionen jährlich zwischen 6 (2019) und 64 (2018) Isolate von den Landesuntersuchungsämtern übermittelt (siehe Tabelle 1). In 21 % bis 36 % der Fälle wurde *V. parahaemolyticus* identifiziert, jedoch ohne die Virulenz-assoziierten Gene *trh* oder *tdh*. Im Jahr 2017 wurde zusätzlich in einem Fall *V. vulnificus* nachgewiesen.

### 3.1.3.3 Vibrionen in importiertem Seafood

Der Großteil des in Deutschland konsumierten Seafoods wird aus Ländern importiert, in denen pathogene Vibrionen endemisch sind. Diese Länder zeichnen sich häufig durch stabile warme Wassertemperaturen aus. Damit bieten sie optimale Bedingungen für die Vermehrung von Vibrionen. Mit steigenden Wassertemperaturen nimmt nicht nur die Anzahl der Vibrionen zu, es verändert sich auch die Zusammensetzung der auftretenden Spezies (Huehn et al., 2014). Während das Vorkommen pathogener Vibrionen mit entsprechenden Virulenzfaktoren in der Ost- und Nordsee momentan relativ gering ist, werden in Gebieten mit gleichbleibend warmen Wassertemperaturen vermehrt Vibrionen mit virulenten Eigenschaften nachgewiesen (DePaola et al., 2003; Flynn et al., 2019). Das spiegelt sich auch im Vorkommen dieser Bakterien im Lebensmittel wider (Elhadi et al., 2004; Ottaviani et al., 2013). Stöppelmann und Fieseler (Stöppelmann and Fieseler, 2020) verglichen in ihrer Studie Literaturdaten zum Vorkommen von *V. parahaemolyticus* und *V. vulnificus* in verschiedenen Seafood-Kategorien weltweiter Herkunft. Auffällig war, dass *V. parahaemolyticus* Isolate im Allgemeinen, aber auch solche mit humanpathogenem Potenzial (*tdh*, *trh*) besonders häufig im Seafood aus den wärmeren Meeresbereichen Nord-, Mittel- und Südamerikas sowie Asiens (besonders in China und Indien) nachgewiesen wurden. Im Vergleich dazu ist die Prävalenz von *V. vulnificus* in europäischen Lebensmitteln marinen Ursprungs deutlich geringer. In ihrer Literaturstudie gaben Stöppelmann und Fieseler eine durchschnittliche Prävalenz von 17 % der untersuchten Fische und Meeresfrüchte an (Stöppelmann and Fieseler, 2020). Jedoch

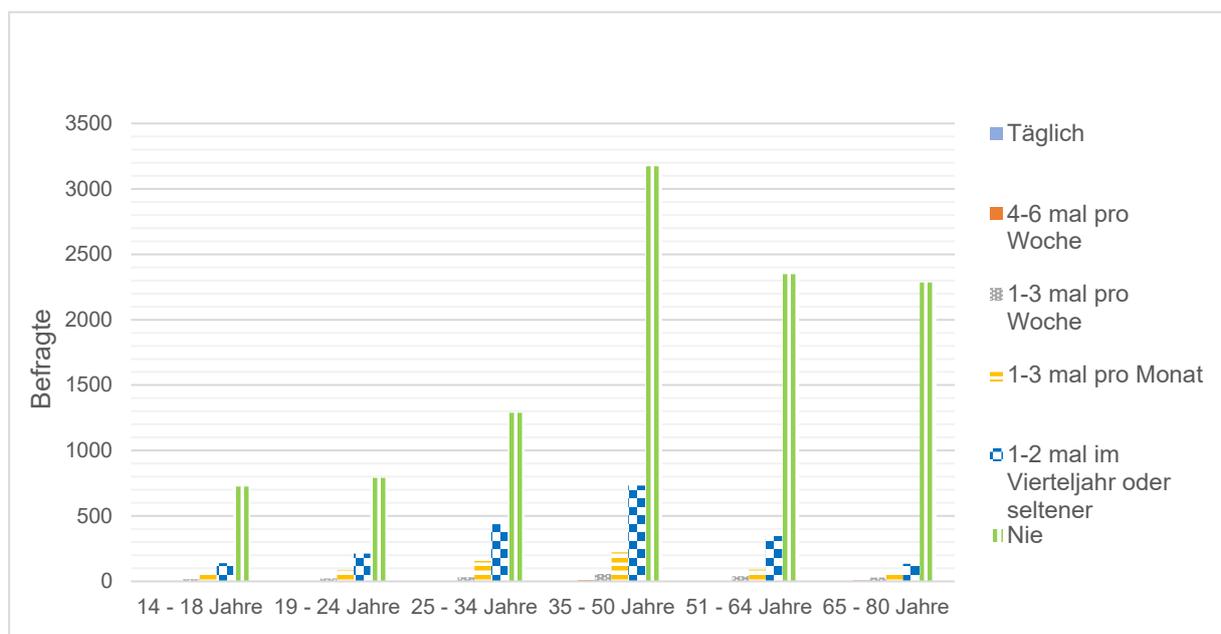
war die Anzahl der einbezogenen Studien deutlich geringer. Besonders häufig wurde *V. vulnificus* aus Austern (34,2 %), Garnelen und Krabben (14,9 %) sowie aus Fischen (14,1 %) und Muscheln (2,5 %) isoliert. Auch hier besteht die Tendenz, dass die Prävalenz von *V. vulnificus* in Europa (<20 %) geringer zu sein scheint als in China und den USA, wo dieser Erreger z. T. in mehr als 50 % des untersuchten Seafoods nachgewiesen wurde (Cook et al., 2002; Chen et al., 2010; Ji et al., 2011; Johnson et al., 2012). Unter diesen Studien gibt es auch einige wenige in Deutschland durchgeführte Untersuchungen, die sich mit Lebensmitteln befassen, die im heimischen Einzelhandel verfügbar sind (Lehmacher and Hansen, 2007; Mitzscherling and Kühne, 2008; Messelhäusser et al., 2010; Vu et al., 2018b). Diese Lebensmittel werden oftmals aus europäischen Nachbarländern wie Italien, Frankreich, Spanien, Norwegen, Dänemark, den Niederlanden oder Irland importiert, können ihren Ursprung aber auch weltweit haben. Wichtige Länder, aus denen Seafood importiert wird, sind sowohl in Amerika (USA, Chile, Ecuador, Peru, Honduras) als auch in Asien (China, Bangladesch, Indien, Indonesien, Thailand, Vietnam, Philippinen) und Ozeanien (Neuseeland) lokalisiert. Untersucht wurden, soweit bekannt, Proben aus dem Einzelhandel Berlins und Bayerns. In allen deutschen Studien wurde die Verteilung der detektierten Spezies, wie sie in anderen Ländern nachgewiesen wurde, bestätigt. Neben *V. alginolyticus* wurden die höchsten Prävalenzen bei *V. parahaemolyticus* (5,21 % (Lehmacher and Hansen, 2007) bis 27,5 % (Vu et al., 2018b)) nachgewiesen, gefolgt von *V. cholerae* (6,3 %) (Vu et al., 2018b) und *V. vulnificus* (0,6 %) (Vu et al., 2018b). Bis auf ein Isolat (*V. parahaemolyticus* mit *trh2*) wurden bei den untersuchten Lebensmittelproben keine Virulenz-assoziierten Gene nachgewiesen. Die Analysen zeigten außerdem, dass keine pathogenen Vibrionen aus vorher gekochten Proben isoliert wurden (Messelhäusser et al., 2010) sowie dass ungeschälte Proben (ganz mit Schale: 96,6 %) deutlich häufiger mit Vibrionen belastet waren als geschälte (ohne Kopf: 60 %) (Mitzscherling and Kühne, 2008).

#### 3.1.3.4 Verzehrsgewohnheiten in Deutschland

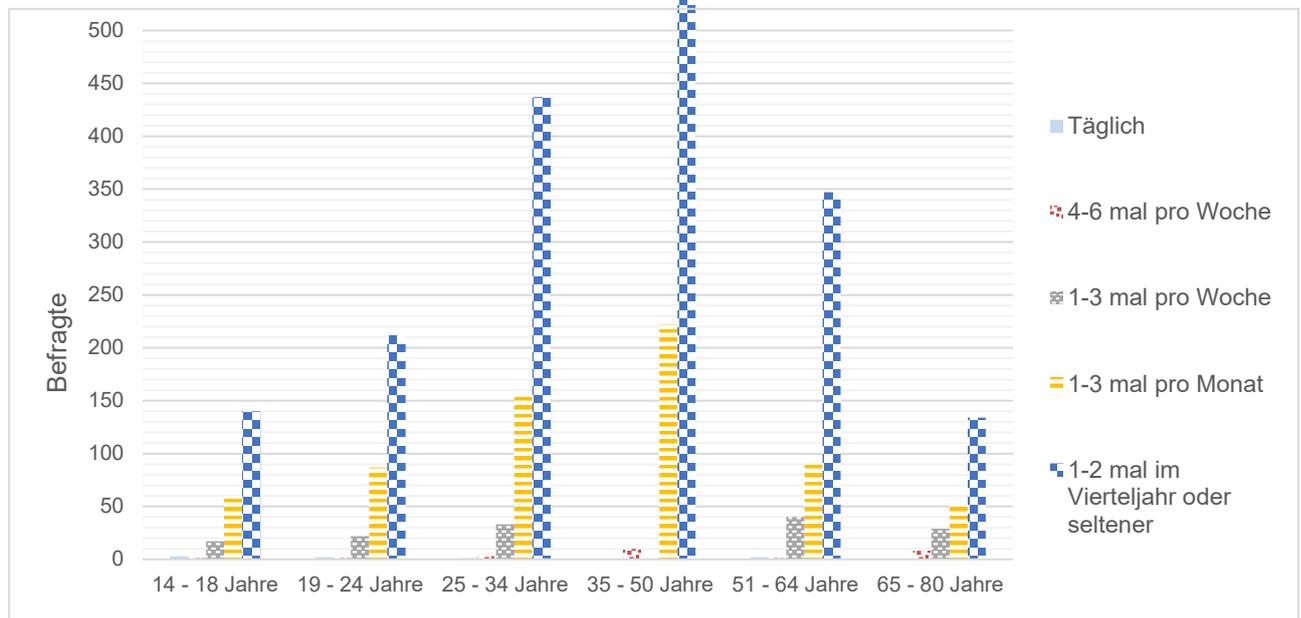
In den Jahren 2005 und 2006 wurde die derzeit aktuelle repräsentative Studie zu Verzehrsgewohnheiten der deutschen Bevölkerung durchgeführt (Nationale Verzehrsstudie II (NVS II)). Diese enthält auch Daten zum Verzehr von Salz- und Süßwasserfischen sowie Weich- und Krustentieren. Unter Einbeziehung dreier verschiedener Erhebungsmethoden (Dietary History, 24 h-Recall, Wiegeprotokoll) wurden deutschlandweit Daten zum Ernährungsverhalten von 13.926 Personen im Alter zwischen 14 und 80 Jahren zusammengetragen (Krems et al., 2006; MRI, 2008). Insgesamt gaben 19 % der Befragten an, im Untersuchungszeitraum Salzwasserfisch verzehrt zu haben. Der Anteil des Verzehrs von Süßwasserfischen, Weichtieren und Krustentieren lag zwischen 0,4 % und 1,8 %. Die erwarteten regionalen Unterschiede im Verzehr mit einem Maximum der Menge an den Küsten wurden nicht bestätigt. Zwar konsumierten die Menschen in Hamburg am meisten Fisch, jedoch ergaben sich für Frauen aus Mecklenburg-Vorpommern die geringsten Verzehrsmengen an Fisch und Meeresfrüchten. Zusätzlich belegten Männer und Frauen aus Bayern hinsichtlich der konsumierten Menge an Fisch und Fischereiprodukten trotz ihrer deutschlandweit am weitesten vom Meer entfernten Lage mittlere Plätze. Die Aufweichung des Nord-Süd-Gefälles weist auf zunehmend homogenere Warenströme innerhalb Deutschlands hin. Die Verzehrsdaten wurden zusätzlich hinsichtlich kurzfristiger und langfristiger Aufnahme analysiert. Der kurzfristige Verzehr bezogen auf das Körpergewicht (KG) liegt für Salz- und Süßwasserfische sowie Weichtiere bei ähnlichen Größenordnungen (3,9 bis 4,7 g/kg KG/Tag), während Konsumenten von Krustentieren täglich 2,6 g/kg KG zu sich nehmen. Im Vergleich zwischen den Geschlechtern verzehren Männer und Frauen etwa gleiche Mengen an Salzwasserfisch. Frauen verzehren hingegen ca. doppelt so viel Süßwasserfisch.

Für Weichtiere und Krustentiere ergibt sich ein umgekehrtes Bild. Langfristig gesehen werden Salz- und Süßwasserfische von Frauen und Männern in den gleichen Größenordnungen aufgenommen (0,8 bzw. 1,0 g/kg KG/Tag), während Weich- und Krustentiere von beiden Geschlechtern in geringeren Mengen verzehrt werden (0,4 und 0,2 g/kg KG/Tag). Im durchschnittlichen Verzehr unterscheiden sich Männer und Frauen in keiner der betrachteten Gruppen. Unter Betrachtung der Vielverzehrerinnen und -verzehrer zeigt sich jedoch ein analoges Bild zum kurzfristigen Verzehr. Frauen verzehren deutlich mehr Süßwasserfisch, während Männer größere Mengen an Weich- und Krustentieren verzehren.

Aufgrund der allgemein erhöhten mikrobiellen Belastung roher Fisch- und Meeresfrüchteleprodukte wurden die Verzehrdaten zusätzlich hinsichtlich dieses Merkmals analysiert (Abbildung 2). Es zeigte sich, dass ein Großteil (75 %) aller Befragten Produkte dieser Kategorie nie konsumiert. Im Vergleich dazu sinkt die Anzahl der Personen, die rohen Fisch oder Meeresfrüchte konsumieren mit steigender Häufigkeit des Verzehrs stark (Abbildung 3) (ein- bis zweimal /Monat: 5 %; täglich: 0,1 %). Abbildung 3 zeigt zusätzlich einen altersabhängigen Trend mit steigender Verzehrshäufigkeit mit zunehmendem Alter und einem Maximum bei Personen zwischen 35 und 50 Jahren. Bei Personen mit höherem Alter sinkt die Menge an roh verzehrtem Fisch und Meeresfrüchten wieder.



**Abbildung 2:** Verzehrshäufigkeiten von rohem Fisch/rohen Muscheln nach Altersgruppen (Basis: NVS II, Fragebogen)



**Abbildung 3:** Auszug aus Abbildung 2 Verzehrshäufigkeiten von rohem Fisch/rohen Muscheln nach Altersgruppen ohne die Angabe „nie“ (Basis: NVS II, Fragebogen)

Die der Verzehrsstudie zugrundeliegenden Daten weisen einige Unsicherheiten auf. Sie entstammen einer Studie, die vor 15 Jahren durchgeführt wurde und deren Aktualität verifiziert werden sollte. Zudem ist die Datenlage bei der Aufschlüsselung nach Altersgruppen zu gering, um repräsentative Schlüsse ziehen zu können. Sie gibt jedoch einen Hinweis auf deutsche Verzehrsgewohnheiten. Auch wenn das Risiko einer Infektion mit Vibrionen durch geringe Exposition und ausreichendes Erhitzen (zwei Minuten lang eine Kerntemperatur von 70 °C) als gering eingestuft werden kann, besteht eine Gefahr durch Kreuzkontaminationen während der Handhabung oder durch den Verzehr roher Lebensmittel.

### 3.1.4 Risikocharakterisierung

#### 3.1.4.1. Betroffene Bevölkerung oder Bevölkerungsgruppe

Eine Gefährdung durch Lebensmittel geht vorwiegend von rohen und ungenügend erhitzten Produkten aus. Insbesondere Muscheln und Austern, die aufgrund ihrer Lebensweise durch Filtrierung des Meerwassers Nahrung aufnehmen, können höhere Bakterien-Konzentrationen enthalten. In salzhaltigen Gewässern sind Vibrionen als natürlicher Bestandteil der Bakterienflora zu erwarten und daher in zweisechalen Weichtieren vorhanden und eventuell sogar angereichert. Der Verzehr von lebenden Muscheln/Austern kann daher besonders für Personen mit Immunsuppression oder Vorerkrankungen wie etwa chronischen Lebererkrankungen eine Gefährdung sein, insbesondere, wenn diese mit *V. vulnificus* kontaminiert sind. Seafood wird von allen Bevölkerungsgruppen, einschließlich empfindlicher Bevölkerungsgruppen, verzehrt. Üblicherweise sind die meisten Produkte entweder erhitzt oder durch andere Verfahren (Marinieren, Räuchern, Trocknen, Einsalzen, u. a.) behandelt und sollten dadurch wenige Bakterien enthalten. Erkrankungen durch Vibrionen nach Verzehr von Seafood sind in Deutschland bislang nicht bekannt. Das zuständige Robert Koch-Institut erwähnt auf seiner Web-Seite, dass gastrointestinale Infektionen durch Nicht-Cholera-Vibrionen dem Institut seit dem Jahr 2000 nur als Einzelfälle zur Kenntnis gebracht wurden.

#### 3.1.4.2 Pfad und Wahrscheinlichkeit einer Exposition

Eine Transmission pathogener Vibrionen erfolgt über den Verzehr belasteter Nahrungsmittel (alimentäre Übertragung), die nicht oder ungenügend erhitzt wurden. Natürlich belastete Nahrungsmittel können Seafood-Lebensmittel sein, in denen die Umweltkeime persistieren. Eine Exposition kann des Weiteren durch den Verzehr von Lebensmitteln und Speisen erfolgen, die über Kreuzkontaminationen mit belasteten Seafood-Lebensmitteln in Kontakt gekommen sind und danach direkt verzehrt werden. Ein weiterer Expositionspfad sind offene Wunden, die mit pathogenen Vibrionen in Kontakt geraten. Eine für den Menschen infektiöse Dosis wurde für *V. parahaemolyticus* mit circa  $10^7$  bis  $10^8$  koloniebildenden Einheiten (KbE) angegeben. Bei den oben angegebenen vulnerablen Bevölkerungsgruppen kann die Dosis auch niedriger liegen.

#### 3.1.4.3 Eintrittswahrscheinlichkeit gesundheitlicher Beeinträchtigungen bei gegebener Exposition

Zur Eintrittswahrscheinlichkeit einer gesundheitlichen Beeinträchtigung nach Exposition liegen keine belastbaren Daten vor. Grundsätzlich kann davon ausgegangen werden, dass das Risiko einer gesundheitlichen Beeinträchtigung mit der aufgenommenen Menge an pathogenen Vibrionen korreliert und auch abhängig von der aufgenommenen Spezies ist. Darüber hinaus ist die Wahrscheinlichkeit des Auftretens einer gesundheitlichen Beeinträchtigung bei vulnerablen Personengruppen ebenfalls als erhöht anzusehen. Zu diesen Personengruppen zählen beispielsweise Menschen mit noch nicht vollständig ausgeprägtem Immunsystem (Kleinkinder), immungeschwächte Personen und Personen mit chronischen Organerkrankungen. Auch Schwangere stellen diesbezüglich eine vulnerable Personengruppe dar.

#### 3.1.4.4 Häufigkeit gesundheitlicher Beeinträchtigungen

Vibrionen sind speziell in Lebensmitteln aus dem aquatischen Bereich weit verbreitet. Die Häufigkeit einer gesundheitlichen Beeinträchtigung durch den Verzehr dieser Produkte ist jedoch abhängig von der aufgenommenen Spezies. Neben *V. alginolyticus*, der bisher kaum im Zusammenhang mit gastrointestinalen Erkrankungen in Erscheinung trat, ist *V. parahaemolyticus* eine häufig isolierte Spezies. Die Pathogenität dieser Spezies wird mit dem Vorhandensein zweier potentieller Virulenzfaktoren (TDH, TRH) in Zusammenhang gebracht. Die dafür kodierenden Gene sind jedoch nur selten in den in Deutschland nachgewiesenen Isolaten detektiert worden. Auch Bakterien der Spezies *V. cholerae* können in heimischen Lebensmitteln nachgewiesen werden, jedoch gehören sie nicht den Serogruppen an, die die klassische Cholera-Erkrankung hervorrufen. Zudem wurden gastrointestinale Infektionen mit anderen Serogruppen (non-O1/non-O139) bisher weitgehend in Zusammenhang mit Reiseerkrankungen beschrieben. Im Gegensatz dazu wurde die Spezies *V. vulnificus* bisher nur zu einem geringen Prozentsatz aus Lebensmitteln des deutschen Einzelhandels isoliert. Auch ist noch nicht abschließend geklärt, welche Faktoren die Pathogenität eines Isolates beeinflussen. Dieser Erreger hat jedoch das Potenzial, die Gesundheit von Patientinnen und Patienten aus der entsprechenden Risikogruppe in erheblichem Maße zu beeinträchtigen. Lebensmittelbedingte Infektionen durch Vibrionen wurden in Deutschland bisher nicht dokumentiert. Allerdings muss hierbei beachtet werden, dass die bestehende Meldepflicht erst im Jahr 2020 eingeführt wurde, sodass mögliche Erkrankungen vor diesem Zeitraum nicht erfasst worden sein könnten und die Dunkelziffer auch aus diesem Grund womöglich höher liegt. Die Eintrittswahrscheinlichkeit einer gesundheitlichen Beeinträchtigung ist jedoch aufgrund der geringen Exposition momentan als niedrig einzustufen. Eine Veränderung dieser Einstufung aufgrund sich verändernder klimatischer Bedingungen in den nächsten Jahrzehnten ist jedoch nicht auszuschließen.

#### 3.1.4.5 Art, Dauer, Reversibilität und Schwere der gesundheitlichen Beeinträchtigung

Die Art und Ausprägung der gesundheitlichen Beeinträchtigung durch eine Infektion mit Vibrien sind ebenfalls abhängig von der Spezies. Erkrankungen, hervorgerufen durch *V. parahaemolyticus* sind gekennzeichnet durch Durchfall mit Bauchkrämpfen, Übelkeit, Erbrechen, Kopfschmerzen und leichtem Fieber und dauern bei immunkompetenten Patientinnen und Patienten durchschnittlich drei Tage. Die Infektionen sind selbstlimitierend und von mittlerer Schwere.

Bei Erkrankungen mit *V. cholerae* muss zwischen Infektionen mit den Serogruppen O1/O139 und anderen Serogruppen (non-O1/non-O139) unterschieden werden. Erstere sind als Auslöser der Cholera bekannt, einer akuten Darminfektion mit kurzer Inkubationszeit von weniger als einem bis zu fünf Tagen, die mit wässriger Diarrhöe und permanentem Erbrechen verbunden ist. Der ständige Wasserverlust führt zu einer Dehydrierung des Körpers und zum Verlust lebenswichtiger Mineralien. Ohne Behandlung sterben 30 bis 50 % aller schwerkranken Menschen innerhalb von ein bis sechs Tagen. Infektionen mit non-O1/non-O139 Serogruppen verursachen im Allgemeinen nur eine selbstlimitierende Gastroenteritis, können jedoch beim Vorhandensein des Cholera-toxins auch Cholera-ähnliche Erkrankungen verursachen, allerdings ohne pandemisches Potential und weniger schwerwiegend.

Lebensmittelbedingte Infektionen mit *V. vulnificus* können ebenfalls mit auftretenden Gastroenteritiden verbunden sein. Bei Personen mit Vorerkrankungen, vor allem Menschen mit chronischen Lebererkrankungen, können auch primäre Septikämien ausgebildet werden. Die Sterblichkeitsrate im Falle einer primären Septikämie nach dem Verzehr kontaminierten Seafoods liegt bei über 50 %.

#### 3.1.4.6 Evidenz eines Kausalzusammenhangs

Der Zusammenhang zwischen dem Verzehr von mit humanpathogenen Vibrionen belasteten Seafood-Lebensmitteln und gastrointestinalen Infektionen ist belegt und in der Wissenschaft allgemein akzeptiert (CDC, 2019;RKI, 2020).

#### 3.1.4.7 Unsicherheiten und Variabilitäten

1) Über die quantitative Belastung von Seafood in Deutschland mit den drei enteropathogenen *Vibrio*-Spezies liegen derzeit keine Daten vor. Es ist daher nicht bekannt, wie hoch eine Exposition durch Vibrionen in Lebensmittelprodukten für deutsche Verbraucherinnen und Verbraucher ist.

2) Es ist davon auszugehen, dass eine ausreichende Erhitzung eine Inaktivierung aller pathogenen Vibrionen bewirkt. Die Unsicherheit über eine Gefährdung durch zu hohe Vibrienbelastung betrifft daher weitgehend solche Produkte, die roh oder wenig gegart verzehrt werden. Solche Lebensmittel sind vor allem Austern und einige Muscheln sowie rohverzehrter Fisch, wie bspw. Sashimi oder rohe Seafoodbestandteile im Sushi. Da nur Einzelfälle von gastrointestinalen Infekten durch kontaminierte Austern/Muscheln in Deutschland bekannt geworden sind, ist gegenwärtig anzunehmen, dass auch bei diesen Lebensmitteln die *Vibrio*-Exposition so gering ist, dass die Eintrittswahrscheinlichkeit gesundheitlicher Beeinträchtigungen durch den Verzehr dieser Produkte niedrig ist.

3) Die Unsicherheit über fehlende Aussagen zu quantitativen Belastungen von Austern und Muscheln durch Vibrionen ist angesichts der niedrigen Infektionszahlen als gering zu bewerten. Es sollte jedoch berücksichtigt werden, dass es bis zum Jahr 2020 keine Meldepflicht für

Infektionen durch Vibrionen gab. Die fehlende Meldepflicht bedeutet auch, dass kaum Untersuchungen auf enteropathogene Vibrionen bei Patientinnen und Patienten mit Durchfallerkrankungen in Deutschland erfolgten. Eventuelle Fälle von *Vibrio*-Infektionen wurden daher nicht erfasst, zumal die Kultivierungsmethoden zum Nachweis dieser Bakterien sehr spezifisch sind. Möglicherweise wurden daher Fälle von gastrointestinalen *Vibrio*-Infektionen nicht erfasst.

4) Eine quantitative Bestimmung von enteropathogenen Vibrionen in Austern/Muscheln wäre eine geeignete Möglichkeit, die Unsicherheit über eine Gefährdung zu ermitteln. Für solche Bestimmungen könnten zum Beispiel Kulturmethoden (MPN-Verfahren) oder Real-Time PCR-Verfahren zur Detektion von enteropathogenen Vibrionen angewendet werden.

#### 3.1.4.8 Forschungsbedarf

Forschungsbedarf besteht zu folgenden Fragestellungen:

- Optimierung und Standardisierung von Methoden zur Quantifizierung von Vibrionen in Lebensmitteln

Eine Standardisierung von quantitativen Nachweisverfahren für Vibrionen ist notwendig, um Prävalenzen vergleichen zu können. Hier sollten vor allem Real-Time PCR-Verfahren im Hinblick auf ihre Eignung validiert werden. Kulturelle Verfahren, z. B. mittels MPN, sind sehr zeitaufwendig und erfordern in der Regel weitere Analysen zur Identifizierung der Spezies.

- Prävalenzen von Vibrionen in lebenden Muscheln/Austern

Wie hoch ist der *Vibrio*-Titer in deutschen Muscheln/Austern bei der Ernte, und wie verändert er sich bei Einhaltung der Kühlkette? Kommt es zur Abnahme des Titers bei verlängerter Kühlung?

- Prävalenzen von Vibrionen in verzehrfertigen Lebensmitteln wie Sushi oder Algen/Algenprodukten

Sind *Vibrio*-Kontaminationen in diesen Lebensmitteln vorhanden, und besteht eine eventuelle gesundheitliche Bedenklichkeit?

- Überprüfung der Effektivität von Technologien zur Reduktion von Vibrionen-Kontaminationen in Lebensmitteln

Experimentelle Studien zeigen, dass die Behandlung von Lebensmitteln mit physikalischen Verfahren wie leichter Hitzebehandlung (bis 50 °C) oder Druckverfahren die *Vibrio*-Konzentrationen reduzieren kann. Diese Verfahren könnten zusätzlich bei Lebensmitteln, bei denen höhere Vibrionen-Konzentrationen ermittelt werden, Anwendung finden.

- Forschung zu den Virulenzfaktoren der drei enteropathogenen *Vibrio*-Spezies, die zur Auslösung gastrointestinaler Infektionen beitragen

Im Fall von *V. vulnificus* fehlen eindeutige Marker, die eine Unterscheidung von pathogenen und Umweltsisolaten ermöglichen. Bei *V. parahaemolyticus* ist die Rolle vom Typ 3 Sekretionssystem in gastrointestinalen Infektionen zu klären sowie die Bedeutung von TRH-Hämolysinen bei solchen Erkrankungen zu ermitteln. Im Fall der *V. cholerae* non-O1, non-O139 Isolate ist ebenfalls Forschung zu den relevanten Virulenzfaktoren für gastrointestinale Infektionen notwendig, um geeignete Marker zur Detektion pathogener Isolate in der Lebensmittelproduktion zu identifizieren.

### 3.1.4.9 Kontrollierbarkeit des Risikos

Zum Schutz vor Lebensmittelinfektionen durch Vibrionen empfiehlt das BfR Verbraucherinnen und Verbrauchern:

- Strikte Beachtung der allgemeinen Hygiene-Regeln zur Handhabung von Lebensmitteln, insbesondere Kühlung, separate Lagerung und Verarbeitung der Lebensmittel, um Kreuzkontaminationen mit anderen Lebensmitteln zu vermeiden.
- Beachtung von Produkthinweisen zur ausreichenden Erhitzung von Lebensmitteln vor dem Verzehr (mindestens 70 °C für zwei Minuten im Inneren des Lebensmittels). Entsprechende deutliche Hinweise sollten auf den Verpackungen und auch bei loser Handelsware gegeben werden.
- Sofortiger Verzehr oder Verarbeitung von Lebensmitteln nach Entnahme aus dem Kühlschrank. Verbraucherinnen und Verbraucher sollten Seafood-Lebensmittel nach Entnahme aus dem Kühlschrank innerhalb von zwei Stunden verzehren, um die Zeit für ein Wachstum eventuell vorhandener Vibrionen zu minimieren. Dieser Hinweis gilt insbesondere für verzehrfertige (sog. „ready-to-eat“) Lebensmittel.
- Reduktion des Kontakts mit der Haut durch Tragen von Handschuhen. Es sollten Hinweise gegeben werden, dass Vibrionen beim Pülen oder Säubern/Entdarmen von Garnelen und anderen rohen, unprozessierten Seafood-Lebensmitteln über kleine, unbemerkte Verletzungen in der Haut bzw. über generell nicht-intakte Haut in den menschlichen Körper eindringen und dort Wundinfektionen mit unter Umständen schweren Verläufen hervorrufen können.

## 3.2 Handlungsrahmen, Empfehlungen von Maßnahmen

In der Rohprodukt-verarbeitenden Seafood-Lebensmittelindustrie sollten beim Umgang mit Rohware Handschuhe getragen werden.

Zur besseren Verständlichkeit der Maßnahme sollte darauf hingewiesen werden, dass Vibrionen über kleine, unbemerkte Verletzungen in der Haut bzw. generell nicht-intakte Haut in diese eindringen und dort Wundinfektionen mit unter Umständen schweren Verläufen hervorrufen können.

Da es zurzeit keine EU-Regelungen in Bezug auf mikrobiologische Grenzwerte für Vibrionen in Seafood gibt, sollte für Lebensmittel, die roh und verzehrfertig sind, folgende Empfehlungen gelten:

- Abwesenheit von pandemischen O1, O139 *V. cholerae*-Stämmen mit Cholera-toxin (*ctx*) und von *ctx*-positiven Stämmen anderer Serogruppen
- Abwesenheit von *V. vulnificus*
- Abwesenheit von toxinbildenden *V. parahaemolyticus*-Stämmen (*tdh+*, *trh+*)

Es sollten Kreuzkontaminationen von Lebensmitteln im Handel verhindert werden. Die Präsentation von Seafood-Lebensmittelprodukten auf Eis in Verkaufstheken sollte so erfolgen, dass eine Vermischung von Eis und Eiswasser von verschiedenen Produkten verhindert wird. Dafür sollten die Lagerung und die Präsentation verschiedener Seafood-Lebensmittel in getrennten Behältnissen stattfinden.

Bei der Zubereitung von Seafood-Lebensmitteln führt das Erhitzen auf 70 °C im Inneren des zum Verzehr vorgesehenen Lebensmittels für zwei Minuten zu einer sicheren Inaktivierung der Erreger.

### 3.3 Weitere Aspekte

An dieser Stelle werden die unter Punkt 1 beschriebenen Fragen in Reihenfolge beantwortet:

1. Welche Spezies des Bakteriengenus *Vibrio* (Nicht-Cholera-Vibrionen) sind im Rahmen von lebensmittelbedingten Erkrankungen als humane Krankheitserreger von herausragender Bedeutung für die Untersuchung von möglicherweise mit pathogenen Vibrionen (Nicht-Cholera-Vibrionen) kontaminierten Nahrungsmitteln?

Die Untersuchung von Lebensmitteln auf mögliche pathogene *Vibrio*-Spezies sollte sich auf die drei potentiell enteropathogenen Spezies *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus* und *Vibrio cholerae* konzentrieren. Diese drei *Vibrio*-Spezies sind weltweit in aquatischen Ökosystemen verbreitet und können sowohl in internationaler Handelsware als auch in deutschen Lebensmitteln, die in Küstengewässern erzeugt werden, enthalten sein. Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) und die Ernährungs- und Landwirtschaftsorganisation der Vereinten Nationen (FAO) haben im Laufe der letzten 20 Jahre mehrere Risikobewertungen herausgegeben, die sich mit dem Vorkommen dieser drei Spezies in bestimmten Lebensmitteln und Gefährdungen durch den Verzehr kontaminierter Produkte beschäftigen (u.a.: (FAO/WHO, 2010b;2020)). Folgend dieser WHO/FAO-Studien wurde eine internationale Norm entwickelt, die ein standardisiertes Verfahren zum Nachweis dieser drei Erreger in Lebensmitteln enthält (International Standard ISO-21871: Microbiology of the food chain — Horizontal method for the determination of *Vibrio* spp. — Part 1: Detection of potentially enteropathogenic *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae* and *Vibrio vulnificus*).

*Vibrio parahaemolyticus* ist ein häufiger Durchfallerreger in vielen Teilen der Erde, insbesondere in Südostasien und Amerika, und ist sehr häufig in Lebensmitteln marinen Ursprungs enthalten. *Vibrio vulnificus* verursacht relativ selten Erkrankungen. Für abwehrgeschwächte Personen wie etwa ältere Menschen mit Vorerkrankungen können Infektionen mit *Vibrio vulnificus* sehr schwer verlaufen und mit Todesfolge enden. *Vibrio cholerae* ist eine globale Spezies, die in meeresnahen wie auch inländischen Gewässern vorkommen kann. Im Rahmen der Untersuchung von Lebensmitteln muss das Vorkommen von Cholera verursachenden Isolaten der *Vibrio cholerae*-Serogruppen O1 und O139 ausgeschlossen werden. Die Cholera-toxin-tragenden Stämme können in internationalen Handelsprodukten enthalten sein, die von Ländern, in denen toxische Stämme endemisch sind, exportiert werden (z. B. Shrimps aus Entwicklungsländern). *Vibrio cholerae*-Isolate, die nicht den toxischen Serogruppen angehören (bezeichnet als *Vibrio cholerae* non-O1, non-O139), können auch milde Durchfälle hervorrufen, besitzen aber kein pandemisches Potential und sind bisher noch nicht hinreichend auf Virulenzfaktoren untersucht.

Eine Reihe weiterer *Vibrio*-Spezies sind auch als Verursacher gastrointestinaler Infektionen beschrieben worden. Von diesen waren die häufigsten Isolate, die in Lebensmitteln in Deutschland nachgewiesen und von Untersuchungsämtern an das BfR geschickt wurden, Stämme der Spezies *Vibrio alginolyticus* und *Vibrio metschnikovii*. Isolate von *Vibrio alginolyticus* wurden nur äußerst selten in Zusammenhang mit intestinalen Erkrankungen nachgewiesen und spielen vor allem für Weichteil- und Ohrinfektionen bei Kontakt mit Meerwasser eine Rolle (Baker-Austin et al., 2018), jedoch nicht als Lebensmittelkeim. Sie sind in Meerewässern eine der häufigsten *Vibrio*-Bakterien, was ihr häufiges Vorkommen in Untersuchungen von Lebensmitteln aus dieser Umgebung begründet. Auch *Vibrio metschnikovii* ist ein häufiger Bestandteil der autochthonen Flora von Gewässern, aber Infektionen sind selten (Baker-Austin et al., 2018).

2. Welche Erkenntnisse liegen dem BfR zur Prävalenz und zur Bedeutung von pathogenen Vibrionen (Nicht-Cholera-Vibrionen) in Seafood-Lebensmitteln des Einzelhandels und von in Deutschland erzeugten Muscheln und Austern vor?

Fisch und Meeresfrüchte gelten aufgrund ihres hohen Protein-, Vitamin- und Mineralstoffgehalts als wichtiges Lebensmittel mit hohem Nährstoffgehalt (Institute of Medicine of the National Academic, 2007). Der Konsum hat in den letzten Dekaden europa- und auch weltweit zugenommen. Für Deutschland gibt die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) für das Jahr 2019 einen Pro-Kopf-Verbrauch von 13,2 kg an. Neben den wild gefangenen Fischereiprodukten aus Flüssen, Seen und Meeren steigt die Bedeutung der Aquakultur stark an, sodass im Jahr 2014 der Beitrag dieses Sektors für den menschlichen Verzehr erstmals den der wild gefangenen Fischereiprodukte überstieg. Die deutsche Eigenproduktion trägt jedoch mit 21 % nur zu einem geringeren Teil zu den in Deutschland konsumierten Produkten bei.

Gastrointestinale *Vibrio*-Infektionen können häufig auf den Konsum roher oder unzureichend gegarter Muscheln und Krebstiere zurückgeführt werden (Daniels and Shafaie, 2000; Bisha et al., 2012). In den USA sind Infektionen mit *V. vulnificus* die führende Ursache lebensmittelbedingter Todesfälle (Daniels, 2011). In Deutschland sind in den letzten Jahren nur wenige *Vibrio*-Infektionen gemeldet worden. Durch eine klimabedingte Erhöhung der Oberflächentemperatur des Wassers könnte es jedoch zu einem vermehrten Vorkommen von Vibrionen im Wasser und damit auch zu einer Anreicherung dieser in den im Wasser lebenden Organismen kommen (Martinez-Urtaza et al., 2010; Vezzulli et al., 2012). Für die Ostsee ist dieses Phänomen bereits beschrieben (Frank et al., 2006; Baker-Austin et al., 2010).

Ein wichtiger Zweig der deutschen Seafood-Produktion ist die Muschelfischerei. Die heimische Produktion erfolgt größtenteils an den Küsten Niedersachsens und Schleswig-Holsteins sowie auf der Insel Sylt als einzigem innerdeutschen Standort für die Austernzucht. Seit dem Jahr 2014 werden auch in der Ostsee (Kieler Förde) mit wachsendem Erfolg wieder Miesmuscheln angebaut (Landwirtschaftskammer Schleswig-Holstein, 2020). Es gibt nur wenige Untersuchungen zur Belastung von Muscheln mit Vibrionen aus deutschen Fanggebieten. Eine detaillierte Studie über das Vorkommen von Vibrionen in verschiedenen niedersächsischen Muschelaufzuchtgebieten wurde im Jahr 2007 von Lhafi und Kühne (Lhafi and Kühne, 2007) veröffentlicht. Zusätzlich wurden im Rahmen einer Übersichtsarbeit zum Vorkommen potentiell pathogener Vibrionen in Deutschland (Huehn et al., 2014) Forschungsergebnisse des Niedersächsischen Landesamtes für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (LAVES), das für die Überwachung der Primärproduktion von Miesmuscheln im niedersächsischen Wattenmeer verantwortlich ist, veröffentlicht. In beiden Studien wurde gezeigt, dass die dominanteste Spezies *V. alginolyticus* war, gefolgt von *V. parahaemolyticus*. Auch non-O1, non-O139 *V. cholerae*-Stämme wurden in einigen Proben nachgewiesen, während *V. vulnificus* eher selten detektiert wurde. Laut LAVES wurden im Jahr 2013 in allen analysierten Muscheln (100 %), im Jahr 2012 in 87 % der analysierten Miesmuscheln Vibrionen gefunden. Darüber hinaus wurde oft mehr als eine *Vibrio*-Spezies aus einer einzigen Probe isoliert. Außerdem wurde eine Saisonalität des Auftretens von Vibrionen beobachtet. Während *V. alginolyticus* ganzjährig vorhanden war, wurden die anderen drei Spezies nur im Sommer und Herbst nachgewiesen (Huehn et al., 2014). Die meisten der *V. parahaemolyticus*-Isolate, die in ca. 40 % der Muscheln nachgewiesen wurden, waren wahrscheinlich nicht-pathogene Umweltstämme, da nur ca. 1 % der Isolate ein *trh*-Gen trugen, das als Virulenzmarker gilt (Nair et al., 2007). Lhafi und Kühne identifizierten in ihren Untersuchungen keine *trh*-tragenden Isolate (Lhafi and Kühne, 2007). Für die Ostsee gibt es keine vergleichbaren Daten, da dort bisher kaum kommerzielle Muschelproduktion erfolgte.

Der Großteil der in Deutschland produzierten frischen Muscheln wird über die Muschelauktion in Yerseke (Niederlande) an Großhändler vertrieben, sodass die Möglichkeit besteht,

dass niedersächsische Muscheln über die Niederlande zurück nach Deutschland importiert werden. Eine Ausnahme bilden Muscheln, die aufgrund eines zu geringen Fleischgehalts zur Weiterverarbeitung in schleswig-holsteinische oder niederländische Muschelkochereien gebracht werden. Zum anderen werden die auf Sylt produzierten Austern direkt durch den Erzeuger vermarktet (Erzeugerorganisation Schleswig-Holsteinischer Muschelzüchter\_e.V., 2012). Wie stark die dort produzierten Austern mit Vibrionen belastet sind, ist in der Literatur nicht beschrieben. Jährlich werden jedoch 10 bis 20 Isolate an das Konsiliarlabor für Vibrionen in Lebensmitteln übermittelt, die aus dieser Produktgruppe isoliert wurden (siehe Tabelle 1). Größtenteils handelt es sich hierbei um Stämme der Spezies *V. parahaemolyticus*, bei denen vereinzelt auch das Virulenz-assoziierte Gen *trh* nachgewiesen wurde.

Die Versorgung der EU mit Muscheln wird zu 80 % durch europäische Produkte gewährleistet. Neben Deutschland werden auch in Dänemark, den Niederlanden, Großbritannien und Irland Miesmuscheln gezüchtet. Weitere europäische Muschelerzeuger sind Spanien, Italien und Frankreich. Letztere beliefern hauptsächlich den europäischen Markt. Auch im Seafood dieser Länder wurden pathogene Vibrionen nachgewiesen. Robert-Pillot et al. zeigten im Jahr 2014, dass in 25 % der untersuchten Fische und Meeresfrüchte pathogene *V. parahaemolyticus* (*tdh* oder *trh*-positiv) detektiert wurden (Robert-Pillot et al., 2014). Auch in italienischen und spanischen Muscheln, Fischen und Austern wurden Prävalenzen von teilweise mehr als 10 % ermittelt (Roque et al., 2009; Serracca et al., 2011).

Der Großteil des in Deutschland konsumierten Seafoods wird aus Ländern importiert, in denen pathogene Vibrionen endemisch sind. Diese Länder zeichnen sich häufig durch stabile warme Wassertemperaturen aus. Damit bieten sie optimale Bedingungen für die Vermehrung von Vibrionen. Mit steigenden Wassertemperaturen nimmt nicht nur die Anzahl der Vibrionen zu, es verändert sich auch die Zusammensetzung der auftretenden Spezies (Huehn et al., 2014). Während das Vorkommen pathogener Vibrionen mit entsprechenden Virulenzfaktoren in heimischen Gewässern momentan relativ gering ist, können in Gebieten mit gleichbleibend warmen Wassertemperaturen vermehrt Vibrionen mit virulenten Eigenschaften nachgewiesen werden (DePaola et al., 2003; Flynn et al., 2019); das spiegelt sich auch im Vorkommen dieser im Lebensmittel wider (Elhadi et al., 2004; Ottaviani et al., 2013). Stöppelmann und Fieseler (Stöppelmann and Fieseler, 2020) verglichen in ihrer Studie Literaturdaten zum Vorkommen von *V. parahaemolyticus* und *V. vulnificus* in verschiedenen Seafood-Kategorien weltweiter Herkunft. Auffällig war, dass *V. parahaemolyticus*-Isolate im Allgemeinen, aber auch solche mit humanpathogenem Potenzial (*tdh*, *trh*) besonders häufig im Seafood aus den wärmeren Meeresbereichen Nord-, Mittel- und Südamerikas sowie Asiens (besonders in China und Indien) nachgewiesen wurden. Im Vergleich dazu ist die Prävalenz von *V. vulnificus* in Lebensmitteln marinen Ursprungs deutlich geringer. In ihrer Literaturstudie gaben Stöppelmann und Fieseler eine durchschnittliche Prävalenz von 17 % der untersuchten Fische und Meeresfrüchte an (Stöppelmann and Fieseler, 2020). Jedoch war die Anzahl der einbezogenen Studien deutlich geringer. Besonders häufig wurde *V. vulnificus* aus Austern (34,2 %), Garnelen und Krabben (14,9 %) sowie aus Fischen (14,1 %) und Muscheln (2,5 %) isoliert. Auch hier besteht die Tendenz, dass die Prävalenz von *V. vulnificus* in Europa (<20 %) geringer zu sein scheint als in China und den USA, wo dieser Erreger z. T. in mehr als 50 % des untersuchten Seafoods nachgewiesen wurde (Cook et al., 2002; Chen et al., 2010; Ji et al., 2011; Johnson et al., 2012). Unter diesen Studien gibt es auch einige wenige in Deutschland durchgeführte Untersuchungen, die sich mit Lebensmitteln befassen, die im heimischen Einzelhandel verfügbar sind (Lehmacher and Hansen, 2007; Mitzscherling and Kühne, 2008; Messelhäusser et al., 2010; Vu et al., 2018b). Diese Lebensmittel werden oftmals aus europäischen Nachbarländern wie Italien, Frankreich, Spanien, Norwegen, Dänemark, den Niederlanden oder Irland importiert, können ihren Ursprung aber auch weltweit haben. Wichtige Länder, aus denen Seafood importiert wird, sind sowohl in Amerika (USA, Chile, Ecuador, Peru, Honduras) als auch in Asien (China, Bangladesch,

Indien, Indonesien, Thailand, Vietnam, Philippinen) und Ozeanien (Neuseeland) lokalisiert. Untersucht wurden, soweit bekannt, Proben aus dem Einzelhandel Berlins und Bayerns. In allen deutschen Studien wurde die Verteilung der detektierten Spezies, wie sie in anderen Ländern gefunden wurde, bestätigt. Neben *V. alginolyticus* wurden die höchsten Prävalenzen bei *V. parahaemolyticus* (5,21 % (Lehmacher and Hansen, 2007) bis 27,5 % (Vu et al., 2018b) nachgewiesen, gefolgt von *V. cholerae* (6,3 %) (Vu et al., 2018b) und *V. vulnificus* (0,6 %) (Vu et al., 2018b). Bis auf ein Isolat (*V. parahaemolyticus* mit *trh2*) wurden bei den untersuchten Lebensmittelproben keine Virulenz-assoziierten Gene nachgewiesen. Die Analysen zeigten außerdem, dass keine pathogenen Vibrionen aus vorher gekochten Proben isoliert wurden (Messelhäusser et al., 2010) sowie dass ungeschälte Proben (ganz mit Schale: 96,6 %) deutlich häufiger mit Vibrionen belastet waren als geschälte (ohne Kopf: 60 %) (Mitzscherling and Kühne, 2008).

Eine genauere Ausführung zur Bedeutung pathogener Vibrionen von in Deutschland zur Verfügung stehenden Lebensmitteln ist in Abschnitt 3.1.3. (Expositionsschätzung und -bewertung) zu finden.

3. Welche Trends lassen sich aus den Zahlen zum Vorkommen lebensmittelbedingter Erkrankungen durch das Vorkommen von pathogenen Vibrionen (Nicht-Cholera-Vibrionen) in Lebensmitteln aufzeigen?

Infektionen mit Nicht-Cholera-Vibrionen in Deutschland sind selten. Die meisten Daten zu solchen Infektionen stammen aus Erkrankungen, die durch den direkten Kontakt mit Seewasser an der Küste zustande gekommen sind. Nach Angaben des Robert Koch-Instituts (RKI) wurden in den Jahren 2002 bis 2019 jährlich zwischen 0 bis 20 Fälle an deutschen Küsten bekannt, wobei die Infektionen vor allem in den wärmeren Sommern der Jahre 2003, 2006, 2010, 2018 und 2019 auftraten (RKI, 2020).

Bei den Erkrankungen handelt es sich weitgehend um Wund- und Ohrinfektionen. Gastrointestinale Erkrankungen wurden dem Robert Koch-Institut nur vereinzelt gemeldet.

Es wird vom RKI vermutet, dass *Vibrio*-Infektionen aufgrund fehlender Meldepflicht unterdiagnostiziert waren und es belastbare Surveillance-Daten nicht gibt. Seit dem 01.03.2020 besteht in Deutschland nach dem Infektionsschutzgesetz (IfSG) eine namentliche Meldepflicht für alle Infektionen mit humanpathogenen *Vibrio* spp., sofern der Nachweis auf eine akute Infektion hinweist. Im ersten Jahr (2020) nach Einführung der Meldepflicht wurden dem RKI 13 Erkrankungen gemeldet. Aus den Daten ist anhand der angegebenen Krankheitssymptomatik anzunehmen, dass es sich um extraintestinale Erkrankungen und nicht um gastrointestinale Infektionen handelt. Aktuell wird beim Meldeverfahren noch nicht zwischen Wundinfektionen und gastrointestinalen Infektionen unterschieden. Es wäre jedoch sinnvoll, diese Unterscheidung in Zukunft in die Meldedaten einzubeziehen.

Aufgrund der geringen Anzahl an Daten ist für Deutschland derzeit noch keine Vorhersage für eine Entwicklung von lebensmittelbedingten Erkrankungen durch Vibrionen möglich. Im Gegensatz zu anderen Regionen der Welt sind *Vibrio*-Infektionen durch Lebensmittel in Europa bislang sehr selten. Eine retrospektive Studie über gastrointestinale Infektionen durch *V. parahaemolyticus* in Großbritannien für den Zeitraum der Jahre 2008 bis 2018 ergab, dass die meisten Infektionen reiseassoziiert waren (Baker-Austin et al., 2020). Eine Studie aus dem BfR zu *V. cholerae* non-O1, non-O139 Isolaten aus dem Jahr 2014 zeigte ebenfalls, dass die meisten Isolate aus gastrointestinalen Infekten (sieben von acht) von Reiserückkehrerinnen und -rückkehrern stammten (Schirmeister et al., 2014). Insgesamt ist die Zahl der gastrointestinalen Infektionen durch *Vibrio* spp. äußerst gering, und es ist zu prüfen, ob die Meldepflicht zu einer Erfassung von solchen Erkrankungen beiträgt.

4. Welche Parameter fördern das Auftreten, die Vermehrung und die Übertragung von pathogenen Vibrionen (Nicht-Cholera-Vibrionen) in Lebensmitteln?

Vibrionen sind weltweit verbreitete Umweltkeime, die weitgehend in salinen Gewässern und Feuchtgebieten vorzufinden sind. Sie stellen daher eine mögliche Kontaminationsquelle von Seafood im Lebensmittelbereich dar. Dazu zählen auch die sogenannten „Nicht-Cholera Vibrionen“ und hier insbesondere die im Zusammenhang mit Nicht-Cholera Vibrioinfektionen beschriebenen Stämme *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* und vereinzelt auch *V. cholerae* non-O1, non-O139.

In der Natur wirken sich v. a. die Wassertemperatur und der Salzgehalt positiv auf das Wachstum aus und können als wichtigste natürliche Parameter angesehen werden (Martinez-Urtaza et al., 2008). Das Wachstum bestimmter Vibrionenspezies nimmt bereits bei Wassertemperaturen über 12 °C zu (Martinez-Urtaza et al., 2008). Darunter befinden sich auch die hier bewerteten Spezies, die pathogen für den Menschen sein können. Gleichermassen trägt ein geringer bis moderater Salzgehalt von 1 bis 25 ppt zu einer erhöhten Bakterienvermehrung bei (Martinez-Urtaza et al., 2008; FAO/WHO, 2020). Konzertiert sind daher im Umweltbereich Wassertemperatur und Salzgehalt die beiden treibenden Faktoren der Häufigkeit des Vorkommens von Vibrionen in der Umwelt (Martinez-Urtaza et al., 2008). Ein für das Wachstum optimales Verhältnis wird beispielsweise häufig im Golf von Mexiko oder an der europäischen Atlantikküste mit wechselndem Salzgehalt und den europäischen Binnenmeeren, hier v. a. in den Sommermonaten, erreicht. Es ist basierend auf diesen Feststellungen davon auszugehen, dass mit durch den Klimawandel verursachten steigenden Wassertemperaturen v. a. in den Fang- bzw. Erntegebieten der europäischen Atlantikküste, eingeschlossen der wenigen deutschen Zuchtgebiete, mit einer höheren Belastung der Gewässer durch pathogene Vibrionen gerechnet werden kann. Anders verhält es sich in tropischen Regionen, in denen i.d.R. weder große Wassertemperaturschwankungen noch Schwankungen im Salzgehalt festgestellt werden. Hier wird eine gleichbleibende Vibrionenkonzentration beobachtet, auch wenn es kurzzeitig zu witterungsbedingten Wassertemperaturschwankungen oder Schwankungen im Salzgehalt kommt (Parvathi et al., 2004; Deepanjali et al., 2005). Darüber hinaus wurde gezeigt, dass gleiche Vibrionenspezies aus unterschiedlichen Regionen auch eine unterschiedliche Virulenz zeigen können und somit auch die Herkunft des Seafoods ein Vulnerabilitätsfaktor im Hinblick auf eine Infektion mit Vibrionen für Verbraucherinnen und Verbraucher darstellen kann (FAO/WHO, 2020). Des Weiteren gibt es Hinweise in Studien zu weiteren Parametern, die zu einem vermehrten Aufkommen von Vibrionen führen können. Dazu zählen der Chlorophyllgehalt des Wassers durch sich im Ökosystem befindliche Algen (Martinez-Urtaza et al., 2008; Deter et al., 2010). Auch der Trübungsgrad des Wassers wurde als ein solcher Einflussfaktor genannt. Warum genau es hierbei zu einer Steigerung der Vermehrung von Vibrionen kommt, wurde noch nicht eindeutig gezeigt (Zimmerman et al., 2007; Johnson et al., 2010). Außerdem scheint auch die An- bzw. Abwesenheit bestimmter vibrionenspezifischer Bakteriophagen einen Einfluss auf deren Vorkommen zu haben (Zabala et al., 2009; Bastías et al., 2010). Während Bakteriophagen im Allgemeinen bakterizide Eigenschaften besitzen, wurde wiederholt gezeigt, dass es bei Anwesenheit bestimmter Bakteriophagen zu einer Begünstigung des Bakterienwachstums kommen kann. Im Bereich der pathogenen Vibrionen wurde dieses ungewöhnliche Verhalten für den lytischen Bakteriophagen VP93 berichtet, der aus Vibrionen chilenischer Gewässer isoliert wurde (Bastías et al., 2010; García et al., 2013).

Je nach Vibrionenkonzentration im Wasser reichern sich die Bakterien unterschiedlich stark im Gastrointestinaltrakt filtrierender zweischaliger Weichtiere, aber auch in Crustaceen und Fischen an, in denen sie sich dann lebenslang vermehren können und persistieren (Gooch et al., 2002; Fernandez-Piquer et al., 2011).

Während die oben beschriebenen Freiwasserbedingungen (Temperatur, Salzgehalt) eine wichtige Rolle bei der Bestimmung der Fangmonate spielen, sind sie bei Zuchtbedingungen teilweise regulierbar. In jedem Fall können sie aber überwacht werden. Gleichmaßen stellen die Art und Weise der Kulturbedingungen und der Fang- bzw. Erntemethoden wichtige Parameter dar, die das Auftreten von pathogenen Vibrionen in Lebensmitteln zum einen fördern, zum anderen aber auch durch Kontrollmaßnahmen (z. B. GMP, GHP, HACCP-Konzepte) entlang der Lebensmittelkette Seafood verringern können.

Da Vibrionen temperaturempfindliche Erreger sind, ist einer der wichtigsten Faktoren für die Übertragung pathogener Vibrionen auf den Menschen der Rohverzehr bzw. der Verzehr in ungenügend gegartem Zustand. Auch der Kontakt von gegarten Lebensmitteln zu rohem Seafood kann zur Erregerübertragung auf den Menschen führen. Unsaubere Erntemethoden und der Mangel an Kühl- bzw. Gefriermöglichkeiten unmittelbar nach dem Fang oder der Ernte können zu einer erheblich höheren Belastung des Lebensmittels Seafood mit pathogenen Vibrionen führen.

5. Welche Minimierungsstrategien für das Vorkommen von pathogenen Vibrionen (Nicht-Cholera-Vibrionen) in Lebensmitteln, die sich z. B. auf die Kühlkette, Konservierungs- und Dekontaminierungsverfahren im Rahmen der Erzeugung (einschließlich Verarbeitung, Transport und der Lagerung) beziehen und die die Belastung von Lebensmitteln mit pathogenen Vibrionen (Nicht-Cholera-Vibrionen) beeinflussen, gelten als effizient?

Minimierungsstrategien zur Reduktion oder Inaktivierung von mit Vibrionen belasteten Lebensmitteln sind zum größten Teil physikalischer Natur. Eine besondere Bedeutung kommt im Bereich der Minimierungsstrategien bei Vibrionen im Lebensmittelcluster Seafood der Einhaltung der Kühlkette vom Fang bzw. von der Ernte bis zum Einzelhandel zu. Dies gilt prinzipiell für jegliches Seafood, jedoch insbesondere für Varianten, die für den Rohverzehr bestimmt sind. Durch Einhaltung der Kühlkette kann eine Vermehrung möglicherweise vorhandener Vibrionen effektiv gesenkt oder sogar verhindert werden. Umweltbedingte natürliche Kontaminationen wurden bspw. für den Keim *V. parahaemolyticus* mit  $10^2$  bis  $10^3$  koloniebildenden Einheiten (KbE) angegeben (Alter et al., 2011). Eine für den Menschen infektiöse Dosis dieses Erregers liegt bei circa  $10^7$  bis  $10^8$  KbE (Yeung and Boor, 2004b). Höhere Werte wie diese können nach dem Fang oder der Ernte durch Vermehrung des Erregers bei Lagertemperaturen von 20 bis 35 °C bereits nach zwei bis drei Stunden erreicht werden (Alter et al., 2011). Bei Einhaltung der Kühlkette und damit Temperaturen von circa 4 bis 10 °C ist es möglich, das Erreichen dieser infektiösen Dosis effektiv zu verhindern (Limthammahisorn et al., 2009; Alter et al., 2011). Im Allgemeinen ist also die Adhärenz zu Good Manufacturing Practice (GMP), Good Hygiene Practice (GHP) und Hazard Analysis Critical Control Points (HACCP) Praktiken eine Voraussetzung für sichere Lebensmittel auch im Seafood-Bereich (FAO/WHO, 2007). Im Gegensatz zur Kühlung der Produkte kann durch Tiefgefrieren (-20 °C) unmittelbar nach dem Fang oder der Ernte eine Vermehrung der Vibrionen ganz verhindert werden (Food and Drug Administration, 2005b). Darüber hinaus kann das Tiefgefrieren auch zu einer Keimreduktion beitragen, wobei leichte Keimreduktionen auch schon bei einer Temperatur von 4 °C beobachtet werden konnten. Mit weiter fallenden Temperaturen und der Lagerdauer erhöht sich auch die Keimreduktion. Bei einer Temperatur von -20 °C und einer Lagerdauer von 35 Tagen wurde eine Keimreduktion bei *V. parahaemolyticus* von zwei bis drei Logstufen beobachtet (Food and Drug Administration, 2005b). Muntada-Garriga et al. stellten fest, dass unter Laborbedingungen eine weitere Lagerung von mit *V. vulnificus* beimpften Austern ( $10^5$  bis  $10^7$  cfu/g) bei -18 °C bzw. -24 °C für 28 bzw. 15 Wochen zu einer Reduktion bis unter die Nachweisgrenze führte, was von den Autoren

als vollständige Inaktivierung beschrieben wurde (Muntada-Garriga et al., 1995). Eine weitere Studie von Andrews et al. bestätigte dieses Verfahren bei tiefkühlüblichen Temperaturen von  $-20\text{ °C}$  (Andrews, 2004). Allerdings wurde diese Studie mit einer geringeren Ausgangskeimbelastung ( $10^3$  cfu/g) und längeren Lagerzeiten von 28 bis 42 Wochen durchgeführt (Andrews, 2004). Parker et al. zeigten, dass die Keimreduktion durch Gefrieren bei  $-20\text{ °C}$  durch zusätzliches Vakuumverpacken noch beschleunigt wird. Nach sieben Tagen wurde bei diesen Proben eine Logstufenreduktion von drei bis vier beobachtet. Die Konzentrationen fielen weiter kontinuierlich und schneller als bei der konventionell verpackten Gruppe bis zum Ende der Studie nach 70 Tagen (Parker et al., 1994).

Eine weitere effektive Methode zur Keimminimierung ist die Hochdruckprozessierung von Seafood. Versuche an verschiedenen Vibrionenspezies zeigten, dass diese bei Raumtemperatur sensitiv auf hohen hydrostatischen Druck reagierten. In Austern konnte die Belastung mit *V. vulnificus* bei einem hydrostatischen Druck von 250 MPa für zwei Minuten um fünf Logstufen gesenkt werden (Koo et al., 2006). 300 MPa und drei Minuten waren notwendig, um gleiche Ergebnisse bei mit *V. parahaemolyticus* belasteten Austern zu erreichen (Cook, 2003). Eine aktuellere Studie aus dem Jahr 2018 von Vu et al. erzielte ähnliche Ergebnisse (Vu et al., 2018a). In dieser Studie erwies sich *V. vulnificus* als am sensitivsten gegenüber der Anwendung hoher hydrostatischer Drücke zur Keimminimierung (Vu et al., 2018a). Um eine Keimreduktion um jeweils fünf Logstufen zu erzielen, waren pro *Vibrio*-Spezies folgende Werte und Einwirkzeiten bei einer Temperatur von  $25\text{ °C}$  erforderlich: i) *V. alginolyticus* und *V. cholerae*, 350 bis 450 MPa für mindestens eine Minute; ii) *V. vulnificus*, 250 MPa für mindestens 3 min oder 350 bis 450 MPa für mindestens eine Minute; iii) *V. parahaemolyticus* 350 MPa für mindestens drei Minuten oder 450 MPa für mindestens eine Minute (Vu et al., 2018a).

Ein weiteres physikalisches Verfahren, das vor allem bei zweischaligen Weichtieren Anwendung findet, ist die sogenannte Depuration. Bei der Depuration handelt es sich um einen Spülvorgang unter kontrollierten Bedingungen mit klarem Meerwasser, das natürlich oder künstlich hergestellt sein kann. Sie findet unmittelbar nach dem Fang oder der Ernte Anwendung. Das Depurationswasser wird entweder klar bei definierter Temperatur angewendet, vor der Anwendung mit ultraviolettem Licht bestrahlt oder mit Dekontaminationsmitteln wie Chlor, Jod oder Ozon (EO) behandelt (Lee et al., 2008). Diese Methode hat sich bei der Entfernung humaner Enterobakterien als effektiv erwiesen, jedoch sind die Studien in Bezug auf die Reduktion von in den Weichtieren autochthon vorhandenen Vibrionen inkonsistent, was eine gesicherte Aussage zur wirksamen Reduzierung von Vibrionen in diesen Lebensmitteln nicht zulässt (Colwell and Liston, 1960; Vasconcelos and Lee, 1972; Eyles and Davey, 1984; Tamplin and Capers, 1992; Nordstrom et al., 2004; Ren and Su, 2006; Chae et al., 2009; Su et al., 2010).

Auch die Niedrigtemperatur-Pasteurisierung ist eine Keimminimierungsmethode, die bei zum Rohverzehr vorgesehenem Seafood und insbesondere bei Austern Anwendung findet. Hierbei werden die Weichtiere nach dem Fang oder der Ernte und ggf. anschließender Depuration in auf  $55\text{ °C}$  erhitztes klares Meerwasser (natürlich oder künstlich) gegeben und für fünf Minuten belassen (Andrews et al., 2000). Dadurch werden im Inneren der zweischaligen Weichtiere Temperaturen von  $48$  bis  $50\text{ °C}$  erreicht (Andrews et al., 2000). In dieser Studie von Park und Chen wurde eine Ausgangskeimbelastung von  $10^5$  cfu/g *V. parahaemolyticus* auf einen Wert unter der Nachweisgrenze vermindert (Andrews et al., 2000).

Die U.S. Food and Drug Administration (FDA) lässt zur Keimreduktion auch die Bestrahlung von Seafood zu (Food and Drug Administration, 2005a). Hierbei sind sowohl die Bestrahlung mit Gamma- als auch Röntgenstrahlen zulässig. Eine Reduktion der Keimbelastung mit *V. parahaemolyticus* um sechs Logstufen wurde mit einer Bestrahlungsintensität von  $3,0$  Ki-

logray (kGy) sowohl bei Verwendung von Gamma- als auch Röntgenbestrahlung von Shrimps (Mahmoud, 2009a) und Austern erzielt (Jakabi et al., 2003). Ähnliche Ergebnisse wurden bei der Bestrahlung von mit *V. vulnificus* belasteten Austern erreicht (Mahmoud, 2009b). Darüber hinaus führt das Erhitzen auf 70 °C im Inneren des zum Verzehr vorgesehenen Lebensmittels für zwei Minuten zu einer sicheren Inaktivierung der Erreger.

6. Welche standardisierten kulturellen und molekularen Verfahren eignen sich zum Nachweis und zur Bewertung des gesundheitlichen Risikos pathogener *Vibrio* spp. (Nicht-Cholera-Vibrionen) in Lebensmitteln?

Der Nachweis der drei bedeutendsten humanpathogenen Vibrionen (*V. parahaemolyticus*, *V. cholerae* und *V. vulnificus*) ist sowohl von der FDA (Kaysner et al., 2004) als auch von der Internationalen Organisation für Normung (ISO) beschrieben.

Die ISO 21872-1:2017 (Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Horizontales Verfahren zur Bestimmung von *Vibrio* spp. - Teil 1: Nachweis von potentiell enteropathogenen *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae* und *Vibrio vulnificus*) beschreibt eine horizontale Methode für den Nachweis dieser drei Spezies. Sie ist anwendbar auf Produkte, die für den menschlichen Verzehr und die Fütterung von Tieren bestimmt sind. Zusätzlich können Umweltproben, die in Zusammenhang mit der Produktion oder dem Umgang mit Lebensmitteln stehen, mit dieser Methode analysiert werden. Die Norm ist unterteilt in vier wesentliche Schritte: erste und zweite Anreicherung im flüssigen Selektivmedium, Isolierung & Identifizierung und Bestätigung. Die Isolierung von Vibrionen aus Lebensmitteln kann durch den Einsatz verschiedener Inkubationstemperaturen in Abhängigkeit von der Zielspezies und dem Zustand der zu untersuchenden Lebensmittelmatrix verbessert werden. Zum Beispiel wird die Wiederfindung der Spezies *V. parahaemolyticus* und *V. cholerae* in frischen Produkten durch eine Anreicherung bei 41,5 °C begünstigt, während *V. vulnificus* sowie *V. parahaemolyticus* und *V. cholerae* in tiefgefrorenen, gesalzenen oder getrockneten Produkten erfolgreicher bei 37 °C angereichert werden. Proben enthalten oft nur eine geringe Anzahl an Vibrionen und werden häufig von einer großen Anzahl anderer Mikroorganismen aus der Familie der Vibrionaceae oder anderer Bakterien begleitet. Daher wird für ihre Vermehrung eine zweistufige selektive Anreicherung in alkalischem salinen Peptonwasser (ASPW) durchgeführt. Für die Unterdrückung der Begleitflora werden die halo- und alkalitoleranten Eigenschaften der Vibrionen genutzt. Zur Isolierung und Bestätigung einzelner Kolonien als Vibrionen werden anschließend aus beiden Anreicherungen zwei feste Selektivmedien beimpft. Zur Unterdrückung grampositiver Bakterien und gramnegativer Enterobacteriaceae (Kobayashi et al., 1963; Monsur, 1963) wird ein Thiosulfat-Zitratgalle-Saccharose-Agar (TCBS) genutzt, der gleichzeitig eine Differenzierung der Saccharose-verwertenden (*V. cholerae*, *V. metschnikovii*, *V. fluvialis*, *V. furnissii* und *V. alginolyticus*) und -nicht verwertenden *Vibrio*-Spezies (*V. mimicus*, *V. parahaemolyticus* und *V. vulnificus*) ermöglicht (Ceccarelli et al., 2019). Als zweites festes Medium wird ein zum TCBS komplementäres Medium genutzt. Häufig eingesetzt wird hier der Vibrio-Chromagar (CVA) (Hara-Kudo et al., 2001), der eine unbekannte Mischung farbgebender Substanzen enthält. Diese dient als Substrat für die  $\beta$ -Galaktosidase von *V. parahaemolyticus* (Farbe: mauve) und unterscheidet sich farblich deutlich von *V. cholerae* und *V. vulnificus* (türkis) sowie anderen *Vibrio*-Spezies (farblos bis cremefarben, *V. alginolyticus*). Das ermöglicht eine Identifizierung/Abgrenzung der Spezies *V. parahaemolyticus*, die auf TCBS die gleiche Morphologie aufweist wie *V. mimicus* und *V. vulnificus*. Andere Medien können zur Identifizierung anderer Spezies eingesetzt werden. So ermöglicht zum Beispiel der Einsatz von Cellobiose-Polymyxin B-Colistin (CPC) die Identifizierung von *V. vulnificus* (Høi et al., 1998).

Im Anschluss erfolgt die Bestätigung der potentiellen Vibrionen durch geeignete biochemische und/oder molekulare Methoden (Polymerase-Kettenreaktion (PCR), Realtime PCR). Biochemisch getestet werden zum einen Medien, die bestätigen, dass es sich um Vibrionen handelt (Arginin-Dihydrolase Salz Medium (ADH), L-Lysin-Decarboxylase Salz Medium (LDC), Indol), zum anderen kann durch die Kombination bestimmter Medien die Spezies ermittelt werden (Bsp.: Fähigkeit zur Hydrolyse von ONPG, Reaktionen in Saccharose, Laktose, Wachstum in verschiedenen Salzkonzentrationen). Auch kommerziell erhältliche Tests sind für die Analyse der biochemischen Eigenschaften geeignet.

Für den molekularen Nachweis der wichtigsten humanpathogenen Vibrionen stehen verschiedene, gut etablierte PCR-basierte Systeme zur Verfügung (Hill et al., 1991; Bej et al., 1999; Chun et al., 1999). Für die Bestätigung von *V. vulnificus* wird das Gen *vvh*, für *V. parahaemolyticus* *toxR* oder *tlh* und für *V. cholerae* *sodB* genutzt. Während zur Einschätzung des humanpathogenen Potenzials der Spezies *V. parahaemolyticus* (*tdh*, *trh*) und *V. cholerae* (*ctxA*, O1, O139) zusätzlich spezifische Gene molekular abgefragt werden können, gibt es bei *V. vulnificus* momentan keine eindeutige Korrelation zwischen Pathogenität und Vorhandensein eines spezifischen Gens, da diese Spezies genetisch sehr divers ist.

Im Gegensatz zur ISO-Norm wird der Nachweis der drei enteropathogenen Vibrionen im Bacteriological Analytical Manual (BAM) (Kapitel 9) der FDA entsprechend der zu untersuchenden Spezies unterteilt (Kaysner et al., 2004). Der Anwendungsbereich wird hier auf Lebensmittel und Kosmetika eingegrenzt. Während der Nachweis von *V. cholerae* und *V. vulnificus* im Wesentlichen mit der in der ISO beschriebenen Methode verglichen werden kann, werden bei *V. parahaemolyticus* zwei zusätzliche Detektions-Möglichkeiten beschrieben. Unter Verwendung eines hydrophoben Gittermembranfilters (HGMF) kann die Probe bei der ersten Methode konzentriert und anschließend auf verschiedene feste Selektivmedien aufgebracht werden. Bei der zweiten Methode handelt es sich um eine Plattierungsmethode, bei der mit Hilfe von DNA-Sonden die gesamte *V. parahaemolyticus*-Population sowie pathogene *tdh*-positive Kolonien identifiziert werden können. Letztere Methode ist in abgewandelter Form auch in einer weiteren ISO-Methode beschrieben (ISO/TS 21872-2:2020: Microbiology of the food chain - Horizontal method for the determination of *Vibrio* spp. - Part 2: Enumeration of total and potentially enteropathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in seafood using nucleic acid hybridization). Beide finden jedoch für den Routineeinsatz kaum Anwendung, da sie sehr zeitaufwändig sind.

Trotz der Möglichkeit einer schnellen und zuverlässigen Spezies-Identifizierung sind neue Technologien wie die Matrix-assistierte Laser-Desorption/Ionisations-Flugzeit-Massenspektrometrie (MALDI TOF MS) in der ISO 21872 zur Spezies-Bestätigung nicht berücksichtigt (Dieckmann et al., 2010). Es ist davon auszugehen, dass die MALDI TOF MS-Technik in zukünftigen Revisionen des Standards (ISO 21872) berücksichtigt wird.

7. Welche Marker/Indikatoren (z. B. Gene oder Proteine) sind geeignet, z. B. als Virulenzfaktoren bei pathogenen Stämmen eine (schnelle) Detektion pathogener Vibrionen in der Lebensmittelproduktion zu ermöglichen? Mit welcher Sicherheit zeigen diese Marker ein mögliches mit dem Verzehr von mit Vibrionen (Nicht-Cholera-Vibrionen) verbundenes gesundheitliches Risiko an?

Für die drei enteropathogenen *Vibrio*-Spezies sind Marker oder Indikatoren für Virulenz nur im Fall von *V. parahaemolyticus* und *V. cholerae* vorhanden.

*V. parahaemolyticus*-Stämme, die Gene besitzen, die über die Hämolysine TDH (thermostabiles direktes Hämolysin) und/oder TRH (TDH-verwandtes Hämolysin) verfügen, werden als mögliche enteropathogene Keime angesehen (Nishibuchi and Kaper, 1995; Park et al., 2000). Lebensmittel, die Stämme mit diesen Virulenzmarkern enthalten, müssen einer Behandlung unterzogen werden, die diese Keime inaktiviert. Das TDH-Hämolysin kann kulturell

auf einem speziellen Blutagar (Wagatsuma-Agar) direkt durch einen Lysehof um die *V. parahaemolyticus*-Kolonien nachgewiesen werden (sog. Kanagawa-Phänomen) (Miyamoto et al., 1969). Das gilt allerdings nicht für den Nachweis von TRH-Hämolysinen, denn Kolonien mit diesem Hämolysin sind auf dem Wagatsuma-Agar negativ (Honda et al., 1990). Der kulturelle Nachweis wird mittlerweile durch PCR-Nachweise ersetzt, die zuverlässig die An- oder Abwesenheit der Hämolysingene *trh* oder *tdh* in *V. parahaemolyticus*-Stämmen anzeigen. Einige dieser PCR-Nachweise sind auch in der ISO-Norm 21872-1 gezeigt.

Im Falle vom *V. cholerae*-Nachweis in einem Lebensmittel ist zu klären, ob es sich um mögliche toxische Stämme der Serogruppen O1 oder O139 handelt. Während früher die Agglutination mit kommerziellen O1- und O139-Seren durchgeführt wurden, wird heute der Nachweis des Choleratoxingens (in der Regel der A-Untereinheit, das *ctxA*-Gen) mittels PCR geführt. Weitere ergänzende PCR-Verfahren sind der Nachweis von Genen aus der Biosynthese des O1- oder O139-Antigens in einem Multiplex-Ansatz (Schirmeister et al., 2014). Negative PCR-Reaktionen für das Choleratoxingen zeigen, dass es sich um nicht toxische Stämme handelt. In der Multiplex-PCR werden zuverlässig *V. cholerae* non-O1-, non-O139-Stämme über ein Spezies-spezifisches Gen detektiert, hingegen gibt es keine allgemein anerkannten Virulenzfaktoren, die enteropathogene Isolate aus der non-O1-, non-O139-Gruppe identifizieren können.

Im Fall von *V. vulnificus* ist kein eindeutiger Nachweis von Virulenzmarkern möglich. Zwar ist die Zahl der Infektionen mit *V. vulnificus* gering, jedoch hat die Analyse von klinischen Stämmen gezeigt, dass eine große genetische Divergenz zwischen den Stämmen vorhanden ist (Jones and Oliver, 2009). In der ISO-Norm 21872-1 sind deshalb nur PCR-Nachweise gezeigt, die eine eindeutige Identifizierung der Spezies ermöglichen. Der PCR-Nachweis erfolgt durch Primer, die das *V. vulnificus* Hämolysin (VVH) detektieren. Dieses Gen ist in allen Isolaten der Spezies vorhanden.

#### Weitere Informationen auf der BfR-Website zum Thema Vibrionen

Fragen und Antworten zu Vibrionen: [https://www.bfr.bund.de/de/fragen\\_und\\_antworten\\_zu\\_vibrionen-250184.html](https://www.bfr.bund.de/de/fragen_und_antworten_zu_vibrionen-250184.html)

Fragen und Antworten zum Schutz vor Lebensmittelinfektionen im Privathaushalt: [https://www.bfr.bund.de/de/fragen\\_und\\_antworten\\_zum\\_schutz\\_vor\\_lebensmittelinfektionen\\_im\\_privathaushalt-193687.html](https://www.bfr.bund.de/de/fragen_und_antworten_zum_schutz_vor_lebensmittelinfektionen_im_privathaushalt-193687.html)



„Stellungnahmen-App“ des BfR

#### 4 Referenzen

- Alter, T., Appel, B., Bartelt, E., Dieckmann, R., Eichhorn, C., Erler, R., Frank, C., Gerds, G., Gunzer, F., Hühn, S., Neifer, J., Oberheitmann, B., and Strauch, E. (2011). *Vibrio*-Infektionen durch Lebensmittel und Meerwasser. *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz* 54, 1235.
- Andrews, L.S. (2004). Strategies to control *Vibrios* in molluscan shellfish. *Food Protection Trends* 24, 8.

- Andrews, L.S., Park, D.L., and Chen, Y.P. (2000). Low temperature pasteurization to reduce the risk of vibrio infections from raw shell-stock oysters. *Food Addit Contam* 17, 787-791.
- Awasthi, S.P., Asakura, M., Chowdhury, N., Neogi, S.B., Hinenoya, A., Golbar, H.M., Yamate, J., Arakawa, E., Tada, T., Ramamurthy, T., and Yamasaki, S. (2013). Novel cholix toxin variants, ADP-ribosylating toxins in *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 strains, and their pathogenicity. *Infect. Immun.* 81, 531-541.
- Baker-Austin, C., Jenkins, C., Dadzie, J., Mestanza, O., Delgado, E., Powell, A., Bean, T., and Martinez-Urtaza, J. (2020). Genomic epidemiology of domestic and travel-associated *Vibrio parahaemolyticus* infections in the UK, 2008–2018. *Food Control* 115, 107244.
- Baker-Austin, C., Lemm, E., Hartnell, R., Lowther, J., Onley, R., Amaro, C., Oliver, J.D., and Lees, D. (2012). Pif polymorphism-based real-time PCR to distinguish *Vibrio vulnificus* strains of human health relevance. *Food Microbiology* 30, 17-23.
- Baker-Austin, C., Oliver, J.D., Alam, M., Ali, A., Waldor, M.K., Qadri, F., and Martinez-Urtaza, J. (2018). *Vibrio* spp. infections. *Nat Rev Dis Primers* 4, 8.
- Baker-Austin, C., Stockley, L., Rangdale, R., and Martinez-Urtaza, J. (2010). Environmental occurrence and clinical impact of *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus*: a European perspective. *Environ Microbiol Rep* 2, 7-18.
- Baker-Austin, C., Trinanes, J., Gonzalez-Escalona, N., and Martinez-Urtaza, J. (2017). Non-Cholera Vibrios: The Microbial Barometer of Climate Change. *Trends Microbiol* 25, 76-84.
- Baker-Austin, C., Trinanes, J.A., Taylor, N.G.H., Hartnell, R., Siitonen, A., and Martinez-Urtaza, J. (2013). Emerging *Vibrio* risk at high latitudes in response to ocean warming. *Nature Climate Change* 3, 73-77.
- Bastías, R., Higuera, G., Sierralta, W., and Espejo, R.T. (2010). A new group of cosmopolitan bacteriophages induce a carrier state in the pandemic strain of *Vibrio parahaemolyticus*. *Environ Microbiol* 12, 990-1000.
- Bechlars, S., Jäckel, C., Diescher, S., Wustenhagen, D.A., Kubick, S., Dieckmann, R., and Strauch, E. (2015). Characterization of *trh2* harbouring *Vibrio parahaemolyticus* strains isolated in Germany. *PLoS One* 10, e0118559.
- Bej, A.K., Patterson, D.P., Brasher, C.W., Vickery, M.C., Jones, D.D., and Kaysner, C.A. (1999). Detection of total and hemolysin-producing *Vibrio parahaemolyticus* in shellfish using multiplex PCR amplification of *tl*, *tdh* and *trh*. *J Microbiol Methods* 36, 215-225.
- Bier, N., Bechlars, S., Diescher, S., Klein, F., Hauk, G., Duty, O., Strauch, E., and Dieckmann, R. (2013). Genotypic diversity and virulence characteristics of clinical and environmental *Vibrio vulnificus* isolates from the baltic sea region. *Applied and Environmental Microbiology* 79, 3570-3581.
- Bisha, B., Simonson, J., Janes, M., Bauman, K., and Goodridge, L.D. (2012). A review of the current status of cultural and rapid detection of *Vibrio parahaemolyticus*. *International Journal of Food Science & Technology* 47, 885-899.
- Bisharat, N., Cohen, D.I., Harding, R.M., Falush, D., Crook, D.W., Peto, T., and Maiden, M.C. (2005). Hybrid *Vibrio vulnificus*. *Emerging Infectious Diseases* 11, 30-35.
- Blake, P.A., Merson, M.H., Weaver, R.E., Hollis, D.G., and Heublein, P.C. (1979). Disease Caused by a Marine *Vibrio*. *New England Journal of Medicine* 300, 1-5.
- Boer, S.I., Heinemeyer, E.A., Luden, K., Erler, R., Gerdt, G., Janssen, F., and Brennholt, N. (2013). Temporal and spatial distribution patterns of potentially pathogenic *Vibrio* spp. at recreational beaches of the German north sea. *Microb Ecol* 65, 1052-1067.

- Bross, M.H., Soch K Fau - Morales, R., Morales R Fau - Mitchell, R.B., and Mitchell, R.B. (2007). *Vibrio vulnificus* infection: diagnosis and treatment. *American family physician* 76, 6.
- Cdc (2019). *Vibrio and Food* [Online]. Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases (NCEZID), Division of Foodborne, Waterborne and Environmental Diseases. Available: <https://www.cdc.gov/vibrio/food.html> [Accessed].
- Ceccarelli, D., Amaro, C., Romalde, J.L., Suffredini, E., and Vezzulli, L. (2019). "Vibrio Species," in *Foodborne Pathogenic Bacteria*, eds. M.P. Doyle, F. Diez-Gonzalez & C. Hill. ASM Press, Washington, DC), 347-388.
- Chae, M.J., Cheney, D., and Su, Y.C. (2009). Temperature effects on the depuration of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* from the American oyster (*Crassostrea virginica*). *J Food Sci* 74, M62-66.
- Chen, Y., Liu, X.M., Yan, J.W., Li, X.G., Mei, L.L., Mao, Q.F., and Ma, Y. (2010). Foodborne pathogens in retail oysters in south China. *Biomed Environ Sci* 23, 32-36.
- Chun, J., Huq, A., and Colwell, R.R. (1999). Analysis of 16S-23S rRNA intergenic spacer regions of *Vibrio cholerae* and *Vibrio mimicus*. *Appl Environ Microbiol* 65, 2202-2208.
- Colwell, R.R., and Liston, J. (1960). Microbiology of shellfish. Bacteriological study of the natural flora of Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). *Appl Microbiol* 8, 104-109.
- Cook, D.W. (2003). Sensitivity of *Vibrio* species in phosphate-buffered saline and in oysters to high-pressure processing. *J Food Prot* 66, 2276-2282.
- Cook, D.W., O'Leary, P., Hunsucker, J.C., Sloan, E.M., Bowers, J.C., Blodgett, R.J., and Depaola, A. (2002). *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus* in U.S. retail shell oysters: a national survey from June 1998 to July 1999. *J Food Prot* 65, 79-87.
- Cruz, C.D., Chycka, M., Hedderley, D., and Fletcher, G.C. (2016). Prevalence, characteristics and ecology of *Vibrio vulnificus* found in New Zealand shellfish. *J Appl Microbiol* 120, 1100-1107.
- Dalsgaard, A., Alarcon, A., Lanata, C.F., Jensen, T., Hansen, H.J., Delgado, F., Gil, A.I., Penny, M.E., and Taylor, D. (1996). Clinical manifestations and molecular epidemiology of five cases of diarrhoea in children associated with *Vibrio metschnikovii* in Arequipa, Peru. *J Med Microbiol* 45, 494-500.
- Daniels, N.A. (2011). *Vibrio vulnificus* oysters: pearls and perils. *Clin Infect Dis* 52, 788-792.
- Daniels, N.A., and Shafaie, A. (2000). A review of pathogenic *Vibrio* infections for clinicians. *Infections in Medicine* 17, 665-685.
- Deepanjali, A., Kumar, H.S., Karunasagar, I., and Karunasagar, I. (2005). Seasonal Variation in Abundance of Total and Pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* Bacteria in Oysters along the Southwest Coast of India. *Applied and Environmental Microbiology* 71, 3575-3580.
- Depaola, A., Nordstrom, J.L., Bowers, J.C., Wells, J.G., and Cook, D.W. (2003). Seasonal abundance of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in Alabama oysters. *Appl Environ Microbiol* 69, 1521-1526.
- Deter, J., Lozach, S., Derrien, A., Véron, A., Chollet, J., and Hervio-Heath, D. (2010). Chlorophyll a might structure a community of potentially pathogenic culturable *Vibrionaceae*. Insights from a one-year study of water and mussels surveyed on the French Atlantic coast. *Environ Microbiol Rep* 2, 185-191.
- Dieckmann, R., Strauch, E., and Alter, T. (2010). Rapid identification and characterization of *Vibrio* species using whole-cell MALDI-TOF mass spectrometry. *Journal of Applied Microbiology* 109, 199-211.
- Dupont, L., González Guzmán, A.L., Guarda, N.H., Albarello, L., and Martins Souza, P.R. (2020). *Vibrio vulnificus*: report of a potentially fatal skin infection. *International Journal of Dermatology* 59, e317-e318.

- Elhadi, N., Radu, S., Chen, C.H., and Nishibuchi, M. (2004). Prevalence of potentially pathogenic *Vibrio* species in the seafood marketed in Malaysia. *J Food Prot* 67, 1469-1475.
- Ellingsen, A.B., Jørgensen, H., Wagley, S., Monshaugen, M., and Rørvik, L.M. (2008). Genetic diversity among Norwegian *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of Applied Microbiology* 105, 2195-2202.
- Erzeugerorganisation\_Schleswig-Holsteinischer\_Muschelzüchter\_E.V. (2012). "e.V.".
- Eyles, M.J., and Davey, G.R. (1984). Microbiology of Commercial Depuration of the Sydney Rock Oyster, *Crassostrea commercialis*. *J Food Prot* 47, 703-706.
- FAO/WHO (2004). "Hazard identification, exposure assessment and hazard characterization of *Vibrio* spp. in seafood". ).
- FAO/WHO (2007). *Codex Alimentarius - Cereals, Pulses, Legumes and Vegetable Proteins*. Rome: Chief, Electronic Publishing Policy and Support Branch  
Communication Division - FAO.
- FAO/WHO (2010a). *Guidelines on the Application of General Principles of Food Hygiene to the Control of Pathogenic Vibrio Species in Seafood* [Online]. Available: <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/guidelines/en/> [Accessed 2010].
- FAO/WHO (2010b). Risk Assessment of Choleraenic *Vibrio cholerae* 01 and 0139 in Warm-water Shrimp in International Trade. *International Journal of Food Science and Technology - INT J FOOD SCI TECHNOL* 45, 415-415.
- FAO/WHO (2011). "Risk assessment of *Vibrio parahaemolyticus* in seafood: Interpretative summary and Technical report. ").
- FAO/WHO (2020). *Risk assessment tools for Vibrio parahaemolyticus and Vibrio vulnificus associated with seafood*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Farmer Iii, J.J., and Janda, J.M. (2004). "Family I. *Vibrionaceae*," in *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, ed. G.M. Garrity. 2nd ed: Springer), 491-546.
- Fernandez-Piquer, J., Bowman, J.P., Ross, T., and Tamplin, M.L. (2011). Predictive Models for the Effect of Storage Temperature on *Vibrio parahaemolyticus* Viability and Counts of Total Viable Bacteria in Pacific Oysters (*Crassostrea gigas*). *Applied and Environmental Microbiology* 77, 8687-8695.
- Flynn, A., Davis, B.J.K., Atherly, E., Olson, G., Bowers, J.C., Depaola, A., and Curriero, F.C. (2019). Associations of Environmental Conditions and *Vibrio parahaemolyticus* Genetic Markers in Washington State Pacific Oysters. *Front Microbiol* 10, 2797.
- Food and Drug Administration, H. (2005a). Irradiation in the production, processing, and handling of food. Final rule. *Fed Regist* 70, 48057-48073.
- Food and Drug Administration, H. (2005b). "Quantitative Risk Assessment on the Public Health Impact of Pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in Raw Oysters". (Silver Spring, MD 20993: Center for Food Safety and Applied Nutrition Food and Drug Administration U.S. Department of Health and Human Services).
- Frank, C., Littman, M., Alpers, K., and Hallauer, J. (2006). *Vibrio vulnificus* wound infections after contact with the Baltic Sea, Germany. *Euro Surveill* 11, E060817 060811.
- García, K., Bastías, R., Higuera, G., Torres, R., Mellado, A., Uribe, P., and Espejo, R.T. (2013). Rise and fall of pandemic *Vibrio parahaemolyticus* serotype O3:K6 in southern Chile. *Environ Microbiol* 15, 527-534.
- Gooch, J.A., Depaola, A., Bowers, J., and Marshall, D.L. (2002). Growth and Survival of *Vibrio parahaemolyticus* in Postharvest American Oysters. *Journal of Food Protection* 65, 970-974.
- Government\_of\_Canada (2011). "Pathogen Safety Data Sheets: Infectious Substances – *Vibrio parahaemolyticus*". Public Health Agency of Canada).

- Hakonsholm, F., Lunestad, B.T., Aguirre Sanchez, J.R., Martinez-Urtaza, J., Marathe, N.P., and Svanevik, C.S. (2020). Vibrios from the Norwegian marine environment: Characterization of associated antibiotic resistance and virulence genes. *Microbiologyopen* 9, e1093.
- Haq, S.M., and Dayal, H.H. (2005). Chronic liver disease and consumption of raw oysters: A potentially lethal combination - A review of *Vibrio vulnificus* septicemia. *American Journal of Gastroenterology* 100, 1195-1199.
- Hara-Kudo, Y., Nishina, T., Nakagawa, H., Konuma, H., Hasegawa, J., and Kumagai, S. (2001). Improved method for detection of *Vibrio parahaemolyticus* in seafood. *Appl Environ Microbiol* 67, 5819-5823.
- Harris, J.B., Larocque, R.C., Qadri, F., Ryan, E.T., and Calderwood, S.B. (2012). Cholera. *Lancet* 379, 2466-2476.
- Hervio-Heath, D., Colwell, R.R., Derrien, A., Robert-Pillot, A., Fournier, J.M., and Pommepuy, M. (2002). Occurrence of pathogenic vibrios in coastal areas of France. *J Appl Microbiol* 92, 1123-1135.
- Hill, W.E., Keasler, S.P., Trucksess, M.W., Feng, P., Kaysner, C.A., and Lampel, K.A. (1991). Polymerase chain reaction identification of *Vibrio vulnificus* in artificially contaminated oysters. *Appl Environ Microbiol* 57, 707-711.
- Høi, L., Dalsgaard, I., and Dalsgaard, A. (1998). Improved isolation of *Vibrio vulnificus* from seawater and sediment with cellobiose-colistin agar. *Appl Environ Microbiol* 64, 1721-1724.
- Honda, T., Ni, Y.X., Hata, A., Yoh, M.S., Miwatani, T., Okamoto, T., Goshima, K., Takakura, H., Tsunasawa, S., and Sakiyama, F. (1990). Properties of a hemolysin related to the thermostable direct hemolysin produced by Kanagawa phenomenon negative, clinical isolate of *Vibrio parahemolyticus*. *Canadian Journal of Microbiology* 36, 395-399.
- Huang, K.-C., Weng, H.-H., Yang, T.-Y., Chang, T.-S., Huang, T.-W., and Lee, M.S. (2016). Distribution of Fatal *Vibrio Vulnificus* Necrotizing Skin and Soft-Tissue Infections: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Medicine* 95, e2627.
- Huehn, S., Eichhorn, C., Urmersbach, S., Breidenbach, J., Bechlars, S., Bier, N., Alter, T., Bartelt, E., Frank, C., Oberheitmann, B., Gunzer, F., Brennholt, N., Böer, S., Appel, B., Dieckmann, R., and Strauch, E. (2014). Pathogenic vibrios in environmental, seafood and clinical sources in Germany. *Int J Med Microbiol* 304, 843-850.
- Institute of Medicine of the National Academic (2007). *Seafood Choices: Balancing Benefits and Risks*. Washington, DC: The National Academies Press.
- Jackson, J.K., Murphree, R.L., and Tamplin, M.L. (1997). Evidence that mortality from *Vibrio vulnificus* infection results from single strains among heterogeneous populations in shellfish. *J Clin Microbiol* 35, 2098-2101.
- Jakabi, M., Gelli, D.S., Torre, J.C., Rodas, M.A., Franco, B.D., Destro, M.T., and Landgrafi, M. (2003). Inactivation by ionizing radiation of *Salmonella enteritidis*, *Salmonella infantis*, and *Vibrio parahaemolyticus* in oysters (*Crassostrea brasiliana*). *J Food Prot* 66, 1025-1029.
- Ji, H., Chen, Y., Guo, Y., Liu, X., Wen, J., and Liu, H. (2011). Occurrence and characteristics of *Vibrio vulnificus* in retail marine shrimp in China. *Food Control* 22, 1935-1940.
- Johnson, C.N., Bowers, J.C., Griffith, K.J., Molina, V., Clostio, R.W., Pei, S., Laws, E., Paranjpye, R.N., Strom, M.S., Chen, A., Hasan, N.A., Huq, A., Noriega, N.F., 3rd, Grimes, D.J., and Colwell, R.R. (2012). Ecology of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* in the coastal and estuarine waters of Louisiana, Maryland, Mississippi, and Washington (United States). *Appl Environ Microbiol* 78, 7249-7257.
- Johnson, C.N., Flowers, A.R., Noriega, N.F., 3rd, Zimmerman, A.M., Bowers, J.C., Depaola, A., and Grimes, D.J. (2010). Relationships between environmental factors and

- pathogenic Vibrios in the Northern Gulf of Mexico. *Appl Environ Microbiol* 76, 7076-7084.
- Jones, M.K., and Oliver, J.D. (2009). *Vibrio vulnificus*: disease and pathogenesis. *Infect Immun.* 77, 1723-1733.
- Kaysner, C.A., Depaola, A., and Jones, J. (2004). *Bacteriological Analytical Manual (BAM) Chapter 9: Vibrio* [Online]. FDA. Available: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-9-vibrio> [Accessed].
- Kirschner, A.K.T., Pleininger, S., Jakwerth, S., Rehak, S., Farnleitner, A.H., Huhulescu, S., and Indra, A. (2018). Application of three different methods to determine the prevalence, the abundance and the environmental drivers of culturable *Vibrio cholerae* in fresh and brackish bathing waters. *J Appl Microbiol* 125, 1186-1198.
- Kobayashi, T., Enomoto, S., Sakazaki, R., and Kuwahara, S. (1963). A New Selective Isolation Medium for the Vibrio Group; on a Modified Nakanishi's Medium (TCBS Agar Medium). *Nihon Saikingaku Zasshi* 18, 387-392.
- Koo, J., Jahncke, M.L., Reno, P.W., Hu, X., and Mallikarjunan, P. (2006). Inactivation of *vibrio parahaemolyticus* and *vibrio vulnificus* in phosphate-buffered saline and in inoculated whole oysters by high-pressure processing. *J Food Prot* 69, 596-601.
- Krems, C., Bauch, A., Götz, A., Heuer, T., Hild, A., Möseneder, J., and Brombach, C. (2006). Methoden der Nationalen Verzehrsstudie II. *Ernährungs-Umschau* 53 Heft 2, 44-50.
- Landwirtschaftskammer Schleswig-Holstein (2020)
- Lee, R., Lovatelli, A., and Ababouch, L. (2008). *Bivalve depuration: fundamental and practical aspects*. FAO Fisheries Technical Paper, No. 511.
- Lee, Y.-C., Hor, L.-I., Chiu, H.-Y., Lee, J.-W., and Shieh, S.-J. (2014). Prognostic factor of mortality and its clinical implications in patients with necrotizing fasciitis caused by *Vibrio vulnificus*. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 33, 1011-1018.
- Lehmacher, A., and Hansen, B. (2007). Real-time PCR of virulent *Vibrio parahaemolyticus* in fish and crustacean products. *Journal Fur Verbraucherschutz Und Lebensmittelsicherheit-Journal of Consumer Protection and Food Safety* 2, 213-217.
- Lhafi, S.K., and Kühne, M. (2007). Occurrence of *Vibrio* spp. in blue mussels (*Mytilus edulis*) from the German Wadden Sea. *Int J Food Microbiol* 116, 297-300.
- Limthammahisorn, S., Brady, Y.J., and Arias, C.R. (2009). In vivo gene expression of cold shock and other stress-related genes in *Vibrio vulnificus* during shellstock temperature control conditions in oysters. *J Appl Microbiol* 106, 642-650.
- Mahmoud, B.S. (2009a). Effect of X-ray treatments on inoculated *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* and *Vibrio parahaemolyticus* in ready-to-eat shrimp. *Food Microbiol* 26, 860-864.
- Mahmoud, B.S. (2009b). Reduction of *Vibrio vulnificus* in pure culture, half shell and whole shell oysters (*Crassostrea virginica*) by X-ray. *Int J Food Microbiol* 130, 135-139.
- Martinez-Urtaza, J., and Baker-Austin, C. (2020). *Vibrio parahaemolyticus*. *Trends Microbiol* 28, 867-868.
- Martinez-Urtaza, J., Bowers, J.C., Trinanes, J., and Depaola, A. (2010). Climate anomalies and the increasing risk of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* illnesses. *Food Research International* 43, 1780-1790.
- Martinez-Urtaza, J., Lozano-Leon, A., Varela-Pet, J., Trinanes, J., Pazos, Y., and Garcia-Martin, O. (2008). Environmental determinants of the occurrence and distribution of *Vibrio parahaemolyticus* in the rias of Galicia, Spain. *Appl Environ Microbiol* 74, 265-274.
- Messelhäusser, U., Colditz, J., Tharigen, D., Kleih, W., Holler, C., and Busch, U. (2010). Detection and differentiation of *Vibrio* spp. in seafood and fish samples with cultural and molecular methods. *International Journal of Food Microbiology* 142, 360-364.

- Mitzscherling, A., and Kühne, M. (2008). Studies on the microbial and viral contamination status of prawns from aqua-culture. *Journal Fur Verbraucherschutz Und Lebensmittelsicherheit-Journal of Consumer Protection and Food Safety* 3, 54-60.
- Miyamoto, Y., Kato, T., Obara, Y., Akiyama, S., Takizawa, K., and Yamai, S. (1969). In vitro hemolytic characteristic of *Vibrio parahaemolyticus*: its close correlation with human pathogenicity. *Journal of Bacteriology* 100, 1147-1149.
- Monsur, K.A. (1963). Bacteriological diagnosis of cholera under field conditions. *Bull World Health Organ* 28, 387-389.
- Morris, J.G. (2019). *Minor Vibrio and Vibrio-like species associated with human disease*. [Online]. WoltersKluwer Available: <https://www.uptodate.com/contents/minor-vibrio-and-vibrio-like-species-associated-with-human-disease?search=vibrio->
- Mri (2008). *Nationale Verzehrsstudie II (NVS II)* [Online]. Max Rubner-Institut. Available: <https://www.mri.bund.de/de/institute/ernaehrungsverhalten/forschungsprojekte/nvsii/>
- Muntada-Garriga, J.M., Rodriguez-Jerez, J.J., Lopez-Sabater, E.I., and Mora-Ventura, M.T. (1995). Effect of chill and freezing temperatures on survival of *Vibrio parahaemolyticus* inoculated in homogenates of oyster meat. *Lett Appl Microbiol* 20, 225-227.
- Nair, G.B., Ramamurthy, T., Bhattacharya, S.K., Dutta, B., Takeda, Y., and Sack, D.A. (2007). Global dissemination of *Vibrio parahaemolyticus* serotype O3:K6 and its serovariants. *Clin Microbiol Rev* 20, 39-48.
- Nishibuchi, M., and Kaper, J.B. (1995). Thermostable direct hemolysin gene of *Vibrio parahaemolyticus*: a virulence gene acquired by a marine bacterium. *Infect Immun* 63, 2093-2099.
- Nordstrom, J.L., Kaysner, C.A., Blackstone, G.M., Vickery, M.C., Bowers, J.C., and Depaola, A. (2004). Effect of intertidal exposure on *Vibrio parahaemolyticus* levels in Pacific Northwest oysters. *J Food Prot* 67, 2178-2182.
- Oliver, J.D. (2010). Recent findings on the viable but nonculturable state in pathogenic bacteria. *FEMS Microbiology Reviews* 34, 415-425.
- Ottaviani, D., Leoni, F., Rocchegiani, E., Mioni, R., Costa, A., Virgilio, S., Serracca, L., Bove, D., Canonico, C., Di Cesare, A., Masini, L., Potenziani, S., Caburlotto, G., Ghidini, V., and Lleo, M.M. (2013). An extensive investigation into the prevalence and the genetic and serological diversity of toxigenic *Vibrio parahaemolyticus* in Italian marine coastal waters. *Environ Microbiol* 15, 1377-1386.
- Park, K.S., Iida, T., Yamaichi, Y., Oyagi, T., Yamamoto, K., and Honda, T. (2000). Genetic characterization of DNA region containing the trh and ure genes of *Vibrio parahaemolyticus*. *Infection and Immunity* 68, 5742-5748.
- Park, K.S., Ono, T., Rokuda, M., Jang, M.H., Okada, K., Iida, T., and Honda, T. (2004). Functional characterization of two type III secretion systems of *Vibrio parahaemolyticus*. *Infection and Immunity* 72, 6659-6665.
- Parker, R.W., Maurer, E.M., Childers, A.B., and Lewisi, D.H. (1994). Effect of Frozen Storage and Vacuum-Packaging on Survival of *Vibrio Vulnificus* in Gulf Coast Oysters ( *Crassostrea virginica* ). *J Food Prot* 57, 604-606.
- Parvathi, A., Kumar, H.S., Karunasagar, I., and Karunasagar, I. (2004). Detection and Enumeration of *Vibrio vulnificus* in Oysters from Two Estuaries along the Southwest Coast of India, Using Molecular Methods. *Applied and Environmental Microbiology* 70, 6909-6913.
- Ren, T., and Su, Y.C. (2006). Effects of electrolyzed oxidizing water treatment on reducing *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* in raw oysters. *J Food Prot* 69, 1829-1834.
- RKI (2020). "Antworten auf häufig gestellte Fragen zu Nicht-Cholera-Vibrionen". Robert Koch-Institut, <https://www.rki.de/SharedDocs/FAQ/Vibrionen/FAQ-Liste.html>

- Robert-Pillot, A., Copin, S., Himber, C., Gay, M., and Quilici, M.L. (2014). Occurrence of the three major *Vibrio* species pathogenic for human in seafood products consumed in France using real-time PCR. *Int J Food Microbiol* 189, 75-81.
- Robert-Pillot, A., Guenole, A., Lesne, J., Delesmont, R., Fournier, J.M., and Quilici, M.L. (2004). Occurrence of the *tdh* and *trh* genes in *Vibrio parahaemolyticus* isolates from waters and raw shellfish collected in two French coastal areas and from seafood imported into France. *Int J Food Microbiol* 91, 319-325.
- Roque, A., Lopez-Joven, C., Lacuesta, B., Elandaloussi, L., Wagley, S., Furones, M.D., Ruiz-Zarzuela, I., De Blas, I., Rangdale, R., and Gomez-Gil, B. (2009). Detection and identification of *tdh*- and *trh*-positive *Vibrio parahaemolyticus* strains from four species of cultured bivalve molluscs on the Spanish Mediterranean Coast. *Appl Environ Microbiol* 75, 7574-7577.
- Saito, S., Iwade, Y., Tokuoka, E., Nishio, T., Otomo, Y., Araki, E., Konuma, H., Nakagawa, H., Tanaka, H., Sugiyama, K., Hasegawa, A., Sugita-Konishi, Y., and Hara-Kudo, Y. (2015). Epidemiological evidence of lesser role of thermostable direct hemolysin (TDH)-related hemolysin (TRH) than TDH on *Vibrio parahaemolyticus* pathogenicity. *Foodborne Pathog Dis* 12, 131-138.
- Sanjuan, E., Fouz, B., Oliver, J.D., and Amaro, C. (2009). Evaluation of genotypic and phenotypic methods to distinguish clinical from environmental *Vibrio vulnificus* strains. *Applied and Environmental Microbiology* 75, 1604-1613.
- Schirmeister, F., Dieckmann, R., Bechlars, S., Bier, N., Faruque, S.M., and Strauch, E. (2014). Genetic and phenotypic analysis of *Vibrio cholerae* non-O1, non-O139 isolated from German and Austrian patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 33, 767-778.
- Schwartz, K., Hammerl, J.A., Göllner, C., and Strauch, E. (2019). Environmental and Clinical Strains of *Vibrio cholerae* Non-O1, Non-O139 from Germany Possess Similar Virulence Gene Profiles. *Front Microbiol* 10, 733.
- Serracca, L., Battistini, R., Rossini, I., Prearo, M., Ottaviani, D., Leoni, F., and Ercolini, C. (2011). *Vibrio* virulence genes in fishes collected from estuarine waters in Italy. *Letts Appl Microbiol* 53, 403-408.
- Stavric, S., and Buchanan, B. (1997). Does *Vibrio vulnificus* present a health threat to Canadians? *Can J Infect Dis* 8, 279-285.
- Stöppelmann, F., and Fieseler, L. (2020). *Massnahmen zur Beherrschung mikrobiologischer Risiken verursacht durch Vibrio spp.* [Online]. Zürcher Hochschule für Angewandte Wissenschaften, Institut für Lebensmittel- und Getränkeinnovation. Available: <https://digitalcollection.zhaw.ch/handle/11475/20471> [Accessed].
- Su, Y.C., Yang, Q., and Häse, C. (2010). Refrigerated seawater depuration for reducing *Vibrio parahaemolyticus* contamination in pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *J Food Prot* 73, 1111-1115.
- Tamplin, M.L., and Capers, G.M. (1992). Persistence of *Vibrio vulnificus* in tissues of Gulf Coast oysters, *Crassostrea virginica*, exposed to seawater disinfected with UV light. *Appl Environ Microbiol* 58, 1506-1510.
- Thiaville, P.C., Bourdage, K.L., Wright, A.C., Farrell-Evans, M., Garvan, C.W., and Gulig, P.A. (2011). Genotype is correlated with but does not predict virulence of *Vibrio vulnificus* biotype 1 in subcutaneously inoculated, iron dextran-treated mice. *Infection and Immunity* 79, 1194-1207.
- Tobin-D'angelo, M., Smith, A.R., Bulens, S.N., Thomas, S., Hodel, M., Izumiya, H., Arakawa, E., Morita, M., Watanabe, H., Marin, C., Parsons, M.B., Greene, K., Cooper, K., Haydel, D., Bopp, C., Yu, P., and Mintz, E. (2008). Severe diarrhea caused by cholera toxin-producing *Vibrio cholerae* serogroup O75 infections acquired in the southeastern United States. *Clin Infect Dis* 47, 1035-1040.

- Vasconcelos, G.J., and Lee, J.S. (1972). Microbial flora of Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) subjected to ultraviolet-irradiated seawater. *Appl Microbiol* 23, 11-16.
- Velazquez-Roman, J., Leon-Sicairos, N., De Jesus Hernandez-Diaz, L., and Canizalez-Roman, A. (2014). Pandemic *Vibrio parahaemolyticus* O3:K6 on the American continent. *Front Cell Infect Microbiol* 3, 110.
- Vezzulli, L., Baker-Austin, C., Kirschner, A., Pruzzo, C., and Martinez-Urtaza, J. (2020). Global emergence of environmental non-O1/O139 *Vibrio cholerae* infections linked with climate change: a neglected research field? *Environ Microbiol* 22, 4342-4355.
- Vezzulli, L., Brettar, I., Pezzati, E., Reid, P.C., Colwell, R.R., Hofle, M.G., and Pruzzo, C. (2012). Long-term effects of ocean warming on the prokaryotic community: evidence from the vibrios. *ISME J* 6, 21-30.
- Vu, T.T.T., Alter, T., Braun, P.G., Dittrich, A.J., and Huehn, S. (2018a). Inactivation of *Vibrio* sp. in pure cultures and mussel homogenates using high hydrostatic pressure. *Letts Appl Microbiol* 67, 220-225.
- Vu, T.T.T., Alter, T., and Huehn, S. (2018b). Prevalence of *Vibrio* spp. in Retail Seafood in Berlin, Germany. *J Food Prot* 81, 593-597.
- Yeung, P.S., and Boor, K.J. (2004a). Effects of acid stress on *Vibrio parahaemolyticus* survival and cytotoxicity. *J Food Prot* 67, 1328-1334.
- Yeung, P.S., and Boor, K.J. (2004b). Epidemiology, pathogenesis, and prevention of foodborne *Vibrio parahaemolyticus* infections. *Foodborne Pathog Dis* 1, 74-88.
- Zabala, B., García, K., and Espejo, R.T. (2009). Enhancement of UV light sensitivity of a *Vibrio parahaemolyticus* O3:K6 pandemic strain due to natural lysogenization by a telomeric phage. *Appl Environ Microbiol* 75, 1697-1702.
- Zimmerman, A.M., Depaola, A., Bowers, J.C., Krantz, J.A., Nordstrom, J.L., Johnson, C.N., and Grimes, D.J. (2007). Variability of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* densities in northern Gulf of Mexico water and oysters. *Appl Environ Microbiol* 73, 7589-7596.
- Zuckerman, J.N., Rombo, L., and Fisch, A. (2007). The true burden and risk of cholera: implications for prevention and control. *Lancet Infect Dis* 7, 521-530.

## 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.