

DFG Senatskommission zur gesundheitlichen Bewertung von
Lebensmitteln

SKLM



**Sicherheitsaspekte bei der Herstellung von Lebensmitteln
und Lebensmittelinhaltsstoffen aus Insekten**

Endfassung vom: 22. Februar 2016

Mitglieder und Gäste der DFG Senatskommission zur gesundheitlichen Bewertung von Lebensmitteln 2014-1016

Mitglieder:

Prof. Dr. Pablo Steinberg (Vorsitzender), Prof. Dr. Patrick Diel, Prof. Dr. Gerhard Eisenbrand, Prof. Dr. Karl-Heinz Engel, Prof. Dr. Bernd Epe, Dr. Ing. Volker Heinz, Prof. Dr. Hans-Ulrich Humpf, Prof. Dr. Hans-Georg Joost, Prof. Dr. Dietrich Knorr, Prof. Dr. Theo de Kok, Prof. Dr. Doris Marko, Prof. Dr. Rudi F. Vogel

Ständige Gäste:

Prof. Dr. Peter Fürst, Prof. Dr. Sabine Kulling, Prof. Dr. Alfonso Lampen, Prof. Dr. Gerhard Rechkemmer, Dr. Richard H. Stadler, Professor Dr. Stefan Vieths

Die Kommission dankt der Arbeitsgruppe „Lebensmitteltechnologie und –sicherheit“:

Prof. Dr. Dietrich Knorr (AG Vorsitzender), Dr. Niels Bandick, Prof. Dr. Karl-Heinz Engel, Dr. Ing. Volker Heinz, Dr. Thomas Holzhauser, Prof. Dr. Henry Jäger, Prof. Dr. Sabine Kulling, Dr. Birgit Rumpold, Dr. Oliver Schlüter, Prof. Dr. Rudi Vogel, Herrn Quasigroch und den SKLM Mitarbeiterinnen Dr. Angelika Roth, Dr. Stephanie Vogel und Dr. Sabine Guth für die wissenschaftliche Unterstützung.

SKLM Kommissionssekretariat

Institut für Lebensmitteltoxikologie und Chemische Analytik, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Bischofsholer Damm 15, 30173 Hannover, Germany

E-Mail: SKLM@tiho-hannover.de • Tel.: +49 511 856 7227 • Fax: +49 511 856 82 7227

Die AG „Lebensmitteltechnologie und –sicherheit“ der DFG-Senatskommission zur gesundheitlichen Bewertung von Lebensmitteln (SKLM) befasst sich mit neuen Technologien, die für die Behandlung von Lebensmitteln entwickelt werden bzw. zur Anwendung kommen. In der vorliegenden Stellungnahme werden Insekten als eine neuartige Quelle für Proteine, Lipide und andere Inhaltsstoffe betrachtet. In Europa ist die Verwendung von Insekten als Nahrungsquelle nicht üblich. Risiken der Nutzung sind unzureichend oder nicht untersucht. Die SKLM hat am 22.02.2016 eine erste Beurteilung der mikrobiellen, allergenen, toxikologischen und lebensmittelrechtlichen Sicherheitsaspekte bei der Gewinnung und Verarbeitung von Insekten für den Lebensmitteleinsatz unter besonderer Berücksichtigung technologischer Gesichtspunkte vorgenommen. Weiterhin hat sie dazu Wissenslücken und Forschungsbedarf aufgezeigt.

Sicherheitsaspekte bei der Herstellung von Lebensmitteln und Lebensmittelinhaltsstoffen aus Insekten

1. Einleitung

Insekten werden in Europa von der Lebensmittelindustrie derzeit kaum genutzt, finden aber immer mehr Beachtung als alternative Rohstoffquelle. Sicherheitsrisiken bei der Nutzung von Insekten zur Herstellung von Lebensmitteln und Lebensmittelinhaltsstoffen sind nicht oder nur unzureichend untersucht. Ziel der vorliegenden Stellungnahme ist, die potentiellen Sicherheitsrisiken entlang der Prozessstrecke vom gezüchteten Insekt bis zur isolierten Fraktion sowohl unter Berücksichtigung von Insektenspezies und deren Entwicklungsstadien als auch mit Fokussierung auf einzelne Fraktionen aufzuzeigen. Dabei soll insbesondere betrachtet werden,

- (i) ob durch die Nutzung und die Verarbeitung von Insekten zur Gewinnung von Fraktionen oder Inhaltsstoffen neue bisher unbekannte Risiken entstehen,
- (ii) ob diese vom Rohstoff „Insekt“ allgemein oder von der Spezies und deren Entwicklungsstadien abhängig sind,
- (iii) ob vorhandene Verfahren zur Minimierung bzw. Eliminierung der Risiken ausreichen, ob diese modifiziert oder neue Verfahren entwickelt werden müssen.

Obwohl in den Ländern, in denen Insekten traditionell verzehrt werden, auf Alltagserfahrungen beruhende Kenntnisse zur Verarbeitung, Lagerung und Zubereitung von meist wild gefangenen Insekten vorhanden sind, fehlt wissenschaftlich fundiertes Wissen zu Aufbereitungs- und Verarbeitungsschritten, um die Lebensmittelsicherheit auch bei Umsetzung dieser Prozesse im großtechnischen Maßstab zu gewährleisten. In Anbetracht des möglicherweise vielfältigen Einsatzes der Produkte und einer daraus resultierenden breiten Verteilung von Inhaltsstoffen aus Insekten in Lebensmitteln, die viele unterschiedliche Konsumenten erreichen, kommt deren Sicherheitsbewertung eine besondere Bedeutung zu.

In vielen Regionen der Welt sind Insekten als Nahrungsquelle weit verbreitet [1]. Sie gehören genauso wie Spinnentiere und Krebstiere zu dem Stamm der *Arthropoda* (Gliederfüßer). Eine Liste der weltweit verzehrten Insektenarten, die in wissenschaftlichen Publikationen genannt

werden, ist unter folgendem Link zu finden: <http://www.wageningenur.nl/en/Expertise-Services/Chair-groups/Plant-Sciences/Laboratory-of-Entomology/Edible-insects/Worldwide-species-list.htm>.

Insektenarten der Ordnung *Coleoptera* (Käfer bzw. ihre Larven) sind zu ca. 31 % vertreten, der Ordnung *Lepidoptera* (Motten und Schmetterlinge bzw. ihre Raupen) zu ca. 18 %, der Ordnung *Hymenoptera* (Hautflügler wie Bienen, Wespen, Ameisen) zu ca. 15 % und der Ordnung *Orthoptera* (Heuschrecken, wie Wander- und Wüstenheuschrecke, Grillen und Grashüpfer) zu ca. 14 %. Insektenarten der Ordnung *Diptera* (Zweiflügler wie Fliegen bzw. ihre Larven) haben einen Anteil von ca. 5 %. Zu den in der Literatur beschriebenen Behandlungsarten gesammelter, ganzer Insekten zählen die traditionellen Zubereitungen wie z.B. Kochen, Braten, Rösten, Grillen, Räuchern, Frittieren, Salzen, Würzen, Marinieren und Trocknen [2-5]. In Europa ist der Verzehr von Insekten nicht üblich, findet aber immer mehr Beachtung. Eine Auswahl von Insektenarten, die in einigen europäischen Ländern in geringem Umfang zum Verzehr angeboten werden bzw. zur Lebensmittelherstellung eingesetzt werden könnten, ist in Tabelle 1 aufgeführt.

Insekten sind sehr nährstoffreich und zeichnen sich gegenüber anderen, tierischen Lebensmitteln (Schweine-, Rinder- und Hühnerfleisch) durch z.T. hohe Protein- und Fettgehalte aus (Tabelle 2). Für Vertreter der Ordnung *Orthoptera* (Heuschrecken) werden Proteinmengen von 60 % bis zu 77 % (bezogen auf die Trockenmasse) genannt [6, 7]. Weiterhin weisen Insekten hohe Gehalte an einfach und/oder mehrfach ungesättigten Fettsäuren auf [8]. Im Durchschnitt enthalten sie die für den Menschen essentiellen Aminosäuren, wie sie von der WHO für eine ausgewogene Ernährung gefordert werden [9], und sind reich an Mikronährstoffen wie Eisen, Kupfer, Magnesium, Mangan, Selen und Zink sowie Riboflavin, Pantothensäure, Biotin und in einigen Fällen auch Folsäure [6]. Alle Insekten weisen als strukturgebende Komponente das Polysaccharid Chitin, ein Polymer aus N-Acetyl-D-Glucosamin, auf. Sie verfügen über Enzyme, die für Anwendungen in der Lebensmittelverarbeitung interessant sein könnten, wie z.B. cellulolytische und proteolytische Enzyme [10, 11]. Diese Daten zeigen, dass Insekten nicht nur eine alternative Quelle für Proteine darstellen, sondern auch andere Inhaltsstoffe enthalten, die in der Lebensmittelindustrie Verwendung finden könnten.

Es wird derzeit diskutiert, ob Insekten neben den hohen Proteingehalten und günstigen Nährstoffprofilen auch eine positive ökologische und ökonomische Bilanz im Vergleich zur konventionellen Tierzucht aufweisen und damit eine Alternative bzw. Ergänzung zu konventionellen Nahrungsquellen darstellen können [12-15]. Als mögliche Vorteile der Insektenzucht gelten beispielsweise ein geringer Raumbedarf, eine hohe Futtermittelverwertungseffizienz [16, 17] und eine hohe Fruchtbarkeit mit mehreren Lebenszyklen pro Jahr. Erste Daten deuten darauf hin, dass Insektenzuchten im Vergleich zur Rinder- und

Mastschweinhaltung weniger Treibhausgase und Ammoniak pro kg Massengewinn produzieren könnten [18].

Die Abteilung für Lebensmittelsicherheit des 'Istituto Zooprofilattico Sperimentale', Venedig, hat 2013 eine Übersicht zur Lebensmittelsicherheit von Insekten veröffentlicht [19]. Darauf folgten Stellungnahmen von Behörden in Belgien [20], den Niederlanden [21] und Frankreich [22] bezüglich der Sicherheitsaspekte, die sich aus der Nutzung von ganzen Insekten als Lebens- und Futtermittel, unter Berücksichtigung einer begrenzten Auswahl derzeit relevanter Spezies, ergeben. In diesen Stellungnahmen wurden Verarbeitungsverfahren nur als Maßnahmen zur Keimreduktion betrachtet, wobei vornehmlich traditionelle Methoden wie z.B. Frittieren, Toasten, Trocknen oder Gefriertrocknen im Fokus standen. Ein erheblicher Forschungsbedarf hinsichtlich potentieller mikrobieller, allergener und toxikologischer Risiken bei Verzehr ganzer Insekten wurde verdeutlicht. Im Oktober 2015 erschien von der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) ein Risikoprofil zur Gewinnung und zum Verzehr von Insekten als Lebens- und Futtermittel [23].

In der vorliegenden Stellungnahme der SKLM werden die Sicherheitsaspekte, die bei der Fraktionierung von Insekten zur Herstellung von Lebensmitteln und Lebensmittelinhaltsstoffen zu beachten sind, aufgezeigt und diskutiert. Es wird davon ausgegangen, dass die Bedingungen der Insektenzuchten, die zur Gewinnung von Fraktionen und Inhaltsstoffen genutzt werden, den für die Nutztierhaltung geltenden lebensmittelrechtlichen Vorschriften des Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuches entsprechen (siehe Kapitel 4). Dies schließt kontrollierte Haltungs- und Fütterungsbedingungen mit ein, durch die mikrobielle und chemische Kontaminationen vermieden werden sollen. Daten zum Verzehr ganzer Insekten und zu Risiken bei Wildfang werden nicht betrachtet. Ebenso werden die Risiken der Nutzung von Insekten oder Insektenfraktionen als Futtermittel und die Gewinnung von Bienenhonig nicht berücksichtigt.

2. Technologische Aspekte bei der Nutzung von Insekten zur Gewinnung von Fraktionen und Inhaltsstoffen

Aus Insekten können potentiell unterschiedliche Fraktionen gewonnen werden, wie z.B. Proteine (auch Enzyme), Lipide und Polysaccharide. Bereits bei der Auswahl der Insektenspezies und deren Entwicklungsstadien (Ei, Larve, Puppe, Imago bei holometabolen Insekten; oder Ei, Nymphe, Imago bei hemimetabolen Insekten; siehe Glossar) sind in Abhängigkeit von der vorgesehenen Verwendung potentielle, artspezifische Sicherheitsaspekte zu berücksichtigen; dazu zählen mikrobielle, allergene und toxikologische Risiken. Qualitätsaspekte, wie

ernährungsphysiologische [24] und sensorische Eigenschaften als auch Verarbeitbarkeit sind ebenfalls zu beachten.

Sowohl die Eigenschaften des Ausgangsmaterials als auch das angestrebte Produkt beeinflussen den Einsatz technologischer Verarbeitungsverfahren. Die Protein-, Fett- und Chitin-Gehalte von Larven und Imagines einer Insektenspezies unterscheiden sich zum Teil erheblich, was sich auf die Verarbeitung auswirken kann. Die Larve des Mehlkäfers *Tenebrio molitor* enthält z.B. ca. 47 % Protein und 43 % Fett, wohingegen der adulte Mehlkäfer ca. 65 % Protein und 15 % Fett enthält (bezogen auf die Trockenmasse) [25, 26]. Das letzte Larvenstadium der schwarzen Soldatenfliege (*Hermetia illucens*) weist im Vergleich zu den anderen Entwicklungsstadien dieser Spezies hohe Mengen an Calcium in Form von Ablagerungen als Calciumcarbonat auf [27], was eine Fraktionierung gegebenenfalls beeinflussen könnte.

Für den Verzehr bestimmte Insekten werden nach der Ernte aufbereitet (Abtöten, Reinigungsschritte, Klassierung, ggf. Entnahme des Darms, ggf. Zerlegung mit Entfernen von Kopf, Extremitäten, Fühlern und Flügeln, Dekontamination, Haltbarmachung) [2-5]. Für die Gewinnung von Fraktionen müssen je nach Ausgangsmaterial und Zielsetzung verschiedene Verfahrensschritte durchlaufen werden, bei deren Auswahl neben den technologischen, funktionellen und ernährungsphysiologischen Eigenschaften der Fraktionen insbesondere zu überprüfen ist, in welcher Reinheit die Fraktionen erhalten werden können. Die zur Isolierung und Aufbereitung aus der Lebensmitteltechnologie verfügbaren Verfahren müssen hinsichtlich ihrer Eignung überprüft werden, aus den Fraktionen unerwünschte, insektenspezifische Komponenten und Kontaminanten (Toxine und Antinutritiva, siehe Kapitel 3.2) zu entfernen. Gegebenenfalls müssen bereits bekannte Verfahren angepasst oder neue, geeignete Verfahren entwickelt werden. Zur Gewährleistung der mikrobiellen Sicherheit (siehe Kapitel 3.1) könnten weitere Dekontaminationsschritte im Prozessverlauf erforderlich sein. In Abbildung 1 ist ein Fließdiagramm zur Auswahl der Insektenart und der Verarbeitungsverfahren dargestellt. In diesem Zusammenhang ist für jede Produktlinie eine Gefahrenanalyse (HACCP- Studie¹) unter Berücksichtigung der Risiken (physikalische, mikrobielle, allergene und chemische) anzuraten. Für die als relevant eingestuften Gefahren sind kritische Kontrollpunkte und Präventivprogramme zu etablieren.

1

http://www.bfr.bund.de/cm/350/fragen_und_antworten_zum_hazard_analysis_and_critical_control_point_haccp_konzept.pdf

2.1. Proteine

Bei der Proteinextraktion aus Insekten gibt es im Vergleich zu konventionellen Quellen Unterschiede, wie z.B. die Bindung des insektenspezifischen Chitins an strukturegebende Proteine des Exoskeletts [28-30]. Weiterhin können insektenspezifische Allergene (siehe Kapitel 3.3), insektenspezifische antimikrobiell wirksame Peptide [31-33] und möglicherweise durch Nahrung aufgenommene Prionen (siehe Kapitel 3.1) vorhanden sein. Insektenspezifische Prionen wurden noch nicht beschrieben. Da der Darm in der Regel nicht entfernt werden kann, ist davon auszugehen, dass Proteine der Mikrobiota mit isoliert werden.

Die Proteingehalte am Frischgewicht verschiedener Insekten, z.B. der Larven der mexikanischen Fruchtfliege (*Anastrepha ludens*) [34], des Mehlkäfers (*Tenebrio molitor*), des Schwarzkäfers (*Zophobas morio*) und der Wachsmotte (*Galleria mellonella*), der adulten Form des Heimchens (*Acheta domesticus*) und anderer essbarer Insektenarten liegen zwischen 9 und 25 % [24, 35, 36]. Daten, die zu Proteinisolierungen aus Insekten verfügbar sind, beschreiben im Labormaßstab durchgeführte Extraktionen einiger ausgesuchter Insektenspezies [34, 37-40]. Bei einer Proteinisolierung aus Mehlkäfer (*Tenebrio molitor*; Larven), Schwarzkäfer (*Zophobas morio*; Larven), Getreideschimmelkäfer (*Alphitobius diaperinus*; Larven), Heimchen (*Acheta domesticus*; Imago) und argentinischer Waldschabe (*Blaptica dubia*; Imago) zeigte sich, dass ca. 40 % des Gesamtproteins im abfiltrierten Rückstand, ca. 40 % im abzentrifugierten Pellet und ca. 20 % im Überstand der wässrigen Extraktion zu finden war [37]. Aus entfetteten, getrockneten und vermahlenden Käferspezies (*Aspongubus viduatus*, *Agonoscelis pubescens*, *Agonoscelis versicoloratus*, *Coridius viduatus*) wurden mit wässrigen Extraktionen bei unterschiedlichen Temperaturen und pH-Werten gelierende Proteine isoliert, die teilweise ähnliche Eigenschaften aufwiesen wie herkömmliche Gelatine [38, 41]. Für Proteomanalysen an der Getreideblattlaus (*Schizaphis graminum*) wurden verschiedene Methoden der Proteinextraktion verglichen, bei denen TCA-Aceton, Phenol oder Harnstoff-Pufferlösungen mit Zusatz von Detergentien verwendet wurden [40].

Größere Mengen an koextrahiertem Chitin können einen negativen Einfluss auf die Verdaulichkeit des Insektenproteins haben, da Chitin schwer bis gar nicht verdaulich ist [42]. Ein aus Honigbienen durch 10 %ige NaOH Extraktion und anschließender Fällung gewonnenes Proteinkonzentrat wurde im Vergleich zu ganzen gemahlenden Bienen an Ratten verfüttert. Es wurde beobachtet, dass das Proteinkonzentrat eine höhere Verdaulichkeit, gemessen als Verhältnis von aufgenommener und ausgeschiedener Proteinmenge, aufwies. Dies wurde der Entfernung des Chitins zugeschrieben [39]. Auch wenn die Übertragbarkeit dieser Daten auf den Menschen geprüft werden muss, geben sie einen Hinweis, dass sowohl die maximale Menge an

Chitin, die für den menschlichen Verzehr in Lebensmitteln empfohlen wird, als auch die Proteinverdaulichkeit in Verbindung mit Chitin zu berücksichtigen sind.

Bei der Entwicklung von Verfahren zur Proteinisolierung aus Insekten ist zu beachten, dass Chitin weitmöglichst abgetrennt wird und dass die Extraktionsbedingungen die Aminosäurezusammensetzung nicht so verändern, dass sie die Qualität des Proteins herabsetzen [39]. Zusätzlich ist zu prüfen, ob Extraktionsverfahren zur Proteingewinnung aus konventionellen Quellen für die Matrix Insekt einsetzbar oder zu modifizieren sind und in welchem Umfang die nativen Strukturen und das allergene Potential der isolierten Proteinfractionen beeinflusst werden. Voraussichtlich wird eine Anpassung der Verfahren an die jeweilige Insektenpezies notwendig sein. Hier besteht Forschungsbedarf, da derzeit keine Daten dazu verfügbar sind.

Enzyme

Aufgrund der Anpassung an extreme Lebensräume und Ernährungsweisen besitzen Insekten ein weitreichendes Spektrum an Verdauungsenzymen, die durch das Insekt selbst oder durch Mitglieder der Darmmikrobiota produziert werden [43-45], u.a. proteolytische Enzyme [46-49], Cellulasen [11, 50-52], α -Amylasen [53, 54], und Lipasen [55]. Sowohl durch Genomanalysen von Insekten als auch Metagenomanalysen der Insektenmikrobiota konnten Gene für Enzyme mit Potential zur Anwendung in der Lebensmitteltechnologie identifiziert werden [44].

Aufgrund der komplex strukturierten Insektenmatrix könnte die Gewinnung von ausreichend reinen Enzymfraktionen erschwert sein. Zum Einsatz in Lebensmitteln muss geklärt werden, ob sich die Prozessschritte zur Isolierung und zur Aufreinigung der Insektenenzyme von denen unterscheiden, die zur Aufreinigung aus konventionellen Quellen eingesetzt werden. Weiterhin sollte bei Verfahren zur Gewinnung von Enzymen aus Insekten sichergestellt sein, dass die Enzyme intakt bleiben und gleichzeitig eine vollständige Dekontamination des Produktes gewährleistet ist. Es bleibt zu klären, ob mögliche antinutritive Eigenschaften bestimmter Enzyme aus Insekten bei Einsatz im Lebensmittelbereich ein Risiko darstellen (siehe auch Kapitel 3.2).

2.2. Lipide

Lipide finden sich in dem am Insektendarm lokalisierten Fettkörper, der der zentrale Energiespeicher und ein wichtiges Stoffwechselorgan der Insekten ist [56]. Insekten weisen durchschnittliche Fettgehalte von 13 – 33 % sowie maximale Fettgehalte von über 70 % (bezogen auf die Trockenmasse) auf. Das Fettsäurespektrum ist abhängig von der Spezies und

dem Entwicklungsstadium, wobei es vergleichbar mit dem anderer, tierischer Lipide ist [6] und wie bei diesen durch die Futterzusammensetzung beeinflusst wird [57]. Grundsätzlich hängt die günstige Nährstoffzusammensetzung, je nach Insektenpezies, von der Art und der Qualität des Futters ab [36, 58].

Lipide können aus Insekten mittels Standardverfahren wie z.B. Extraktion mit superkritischem Kohlendioxid oder Hexan/ Petrolether isoliert werden [59-63].

Zur Beeinflussung von wertgebenden Inhaltsstoffen der Insektenöle durch die Extraktion und thermische Behandlung gibt es derzeit nur wenige Daten. Beispielsweise können die Extraktionsbedingungen den Gehalt an Vitamin E verändern [61]. Thermische Behandlungen führten zu Vitaminverlusten in Fettextrakten aus verschiedenen Insektenpezies [64]. Bei der Larve des Palmrüsslers, (*Rhynchophorus phoenicis*) hatten verschiedene thermische Behandlungs- sowie Lagerungsarten Einfluss auf die Eigenschaften des Öls, wie z.B. den Gehalt an freien Fettsäuren [65].

Bei der Gewinnung von Lipiden aus Insekten ist davon auszugehen, dass neben den Triglyceriden andere endogene lipophile Substanzen extrahiert werden. Ein Beispiel sind Ecdysteroide, die als Hormone in Insekten die Häutung, Metamorphose und Fortpflanzung steuern und potentiell pharmakologische Effekte haben können [66, 67]. Gehalte dieser Lipidkomponenten in Insektenölen sind deshalb zu überprüfen.

Neben endogenen lipophilen Substanzen stellen umweltbedingte, lipophile Kontaminanten, wie z.B. Dioxine [68], ein potentielles Risiko dar. Trotz sorgfältig kontrollierter Haltungsbedingungen nicht zu vermeidende lipophile Kontaminanten sollten bei der Lipidgewinnung durch entsprechende Verfahren (Raffination) minimiert werden.

Es muss geklärt werden, ob existierende und üblicherweise zur Gewinnung und Raffination von Fetten und Ölen eingesetzte Verfahren geeignet sind, unerwünschte insektenspezifische Begleitstoffe zu entfernen. Gegebenenfalls ist eine Anpassung der gängigen Ölextraktions- und Ölraffinationstechnologien an Insektenart und Entwicklungsstadium erforderlich.

2.3. Polysaccharide

Zu den Polysacchariden, die in nennenswertem Umfang in Insekten enthalten sind, gehören Chitin, ein Polymer aus N-Acetyl-D-Glucosamin und Hauptbestandteil des Exoskeletts [28, 30], sowie Glykogen, das in den Zellen des Fettkörpers [56] und in den Muskeln gespeichert wird. In der Natur kommt Chitin in den drei Formen α , β und γ vor. Bei der in der Natur häufigsten α -Form sind die N-Acetyl-D-Glucosamin-Ketten antiparallel ausgerichtet, bei der β -Form parallel und bei der γ -Form sowohl parallel als auch antiparallel. In Insekten liegt Chitin in der α -Form

vor [69]. Der Gehalt an Chitin ist von der Insektenart sowie deren Entwicklungsstadien abhängig.

Chitin ist ein für die Lebensmittelindustrie interessanter Bestandteil und wird derzeit aus Schalen von *Crustaceen* gewonnen [70-72]. Durch Deacetylierung kann aus Chitin Chitosan (Poly-D-Glucosamin) hergestellt werden [73], das als Dickungsmittel, als Präbiotikum oder aufgrund seiner antimikrobiellen Wirkung in Lebensmitteln eingesetzt werden kann. Als semipermeable Beschichtung kann es die Lagerfähigkeit, z.B. von Obst und Gemüse, aufgrund einer Minimierung der Atmung und einer Verringerung von Wasserverlusten verlängern [74].

In den Untersuchungen zur Chitinextraktion aus Insekten erfolgte die Isolierung analog zu derjenigen aus marinen Chitin-haltigen Reststoffen wie Krabbenschalen [69, 73, 75-79].

Es ist nicht bekannt, ob Chitinfraktionen aus Insekten unerwünschte, insektenpezifische Begleitstoffe enthalten, deren Entfernung zusätzliche technologische Aufarbeitungsschritte erfordert. Vor dem Hintergrund einer potentiellen Adsorption von Schwermetallen an Chitin [80] sind bei der Chitingewinnung aus Insekten die entsprechenden Bedingungen im Rahmen einer kontrollierten Insektenzucht zu gewährleisten. Weiterhin sollte das allergene Potential von Chitin oder die Bindung von Allergenen an Chitin untersucht werden (Siehe Kapitel 3.3).

2.4. Andere Komponenten

Mit Ausnahme von Karmin gibt es derzeit keine Kenntnisse zu weiteren Komponenten aus Insekten, die im Lebensmittelbereich eine industrielle Anwendung finden bzw. finden könnten. Karmin wird aus weiblichen, graviden Cochenilleschildläusen (*Dactylopius coccus*) gewonnen und ist als Lebensmittelfarbstoff (E 120) in Deutschland zugelassen. Die Schildläuse werden auf den Flachsprossen verschiedener Opuntien (Pflanzengattung aus der Familie der Kakteengewächse) gezüchtet [81]. Sie werden mit einem organischen Lösungsmittel, z.B. Hexan, entfettet, getrocknet und fein gemahlen. Die Extraktion erfolgt in kochender Natriumcarbonat-Lösung bei 95° bis 100°C und pH 9 für ca. 30 min. Das Karmin wird bei 100°C und pH 5,5 durch die Zugabe von Zitronensäure, Aluminium- (Alaun) und Kalziumsalzen ausgefällt und anschließend bei 40° bis 70°C getrocknet [82]. Karmin wurde als Auslöser schwerer, allergischer Reaktionen beschrieben [83] (siehe Kapitel 3.3).

3. Sicherheitskriterien

3.1. Mikrobielle Aspekte

Insekten besitzen eine komplex strukturierte Mikrobiota [43, 84-86]. Neben der Körperoberfläche und den Mundwerkzeugen ist der Hauptbesiedlungsort für Mikroorganismen der Darm. Die Besiedelung der Insekten erfolgt über verschiedene Wege, vertikal mit Mikroorganismen der Eltern über a) das Ovar, b) die Eikapsel, c) Schmierinfektion bei der Eiablage und horizontal über Nahrung und Umwelt [87-91]. In den letzten Jahren haben durch moderne Metagenomanalysen die Kenntnisse über die mikrobielle Artenvielfalt, besonders im Insektdarm, stark zugenommen [44, 50, 86-88, 90, 92-105]. Dabei zeigte sich, dass die Insektenmikrobiota viele, bislang unbekannte Arten umfasst. Die Anzahl der Arten variiert je nach Insektenspezies und deren Ernährungsweise.

Die Nutzung von Insekten als Lebensmittel birgt potentiell mikrobiologische Risiken, da Insekten Vektoren für human-, tier- oder pflanzenpathogene Mikroorganismen sein können. Hierbei muss unterschieden werden, ob die Übertragung der Mikroorganismen durch den Kontakt mit der Körperoberfläche des Insektes mechanisch erfolgt [106-110] oder die Mikroorganismen in der Lage sind, im Insekt zu persistieren und sich zu vermehren. Ohne dass die Insekten erkranken, können sie zu einem natürlichen Reservoir für pathogene Mikroorganismen werden [111-118]. Zu den Krankheitserregern, die durch Insekten übertragen werden können, zählen Viren [119, 120], Rickettsien [121], Bakterien [122], Protozoen [123], Pilze [124, 125], Nematoden und weitere Parasiten des menschlichen Darmtraktes [126, 127]. Insektenpathogene Mikroorganismen [128] werden als harmlos für den Menschen angesehen, da sie einen hohen Tropismus (Gewebspezifität) aufweisen und somit wahrscheinlich nur Zellen oder Gewebe von Insekten besiedeln können. Eine Ausnahme stellen einige, wenige Vertreter der Rickettsien dar, die als humanpathogen beschrieben werden [129-131]. Insektenspezifische Prionen bzw. Insekten als natürliche Vektoren für Prionen wurden bisher nicht beschrieben. Eine Übertragung von Prionen auf Tier und Mensch durch Verzehr von kontaminierten Insekten kann nicht ausgeschlossen werden. Experimentell konnte gezeigt werden, dass Maden der grauen Fleischfliege (*Sarcophaga carnaria*), die mit Prionenprotein PrP^{Sc} (Scrapie) infiziertem Hamsterhirn gefüttert wurden, bei Verfütterung an gesunde Hamster diese infizieren können [132].

Allgemein wird unterschieden zwischen Mikroorganismen der autochthonen Mikrobiota, die immer in allen Individuen einer Insektenart vorkommen, und Mikroorganismen der allochthonen Mikrobiota, die sporadisch vorkommen und deren Ursprung auf die spezifischen Umwelt- oder Anzuchtbedingungen oder den Kontakt mit dem Menschen (sammeln, ernten) oder anderen

Individuen zurückzuführen sind [85]. Mitglieder der allochthonen Mikrobiota können potentiell zu dauerhaften Kommensalen der Insekten werden. Humanpathogene bzw. opportunistisch humanpathogene und toxinbildende Mikroorganismen, die unter lebensmittelhygienischen und medizinischen Aspekten relevant sind, sind sowohl in der Gruppe der autochthonen als auch der allochthonen Mikroorganismen zu finden. Nach derzeitigem Erkenntnisstand beschränken sie sich auf die bekannten Arten, die u.a. lebensmittelverursachte Krankheiten auslösen können (Tabelle 1). Häufig handelt es sich um Zoonoseerreger, die bereits bei üblichen lebensmitteltechnologischen Verfahren zur Herstellung und Haltbarmachung von Lebensmitteln und bei Lebensmittelinfektionen Leitkeime sind. Sie kommen verbreitet und unspezifisch in Insekten vor und gehören u.a. zu den Gattungen *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Bacillus* und *Clostridium* oder gehören zu den *Enterobacteriaceae*, wie *Escherichia*, *Enterobacter*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Shigella* und *Yersinia* [95, 96, 101, 102, 133-140]. *Klebsiella pneumoniae* wurde als häufigstes Bakterium im Darm der Wanderheuschrecke (*Locusta migratoria manilensis*) beschrieben und als autochthon eingestuft [50]. Zur Mikrobiota auf der Oberfläche und im Darm von Insekten zählen auch Pilze, unter denen Arten der Gattungen *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* und *Candida* zu finden sind, zu denen auch humanpathogene, toxinbildende [98, 103, 104, 124, 136, 137, 141-145] (siehe auch Kapitel 3.2) bzw. allergene Spezies gehören (siehe auch Kapitel 3.3).

Da bei fast allen Insektenspezies der Darm mit seiner Mikrobiota nicht entfernt werden kann, ist das Verhältnis von Darminhalt zur Gesamtmasse bei der Aufarbeitung von Insekten als Lebensmittel von besonderem Interesse. Das Volumen des Darmtraktes beträgt, je nach Insektenart, zwischen 0,05 bis 2 ml. Bakteriendichten von durchschnittlich 10^6 bis 10^{12} pro ml Darminhalt konnten je nach Darmabschnitt bei einigen Insektenarten nachgewiesen werden [146]. Der Anteil der mikrobiellen Biomasse am gesamten Insektenkörper liegt, je nach Insektenart, bei 1 bis 10 % [147]. Bei der Verarbeitung von Insekten zu Fraktionen oder bei der Gewinnung von Enzymen ist deswegen initial von einer unvermeidlich hohen Keimbelastung auszugehen, die entsprechende Prozessierungsschritte erforderlich macht.

Es ist zu erwarten, dass kontrollierte Anzuchtbedingungen die Kontamination mit humanpathogenen und toxinbildenden Arten der allochthonen Mikrobiota beherrschbar machen, der enge Besatz bei Insekten-Monokulturen ist aber eine zusätzliche Herausforderung [128]. Weiterhin muss beachtet werden, dass verschiedene Futtersubstrate je nach Insektenart und Entwicklungsstadium das Artenspektrum der Darmmikrobiota und den Anteil einzelner Arten verändern können [86, 88-91, 101, 148-150], wodurch die Keimzahl humanpathogener Mikroorganismen potentiell zunehmen kann. Im Verlauf der komplexen Individualentwicklung von Insekten ändert sich ebenfalls die Zusammensetzung der Mikrobiota, was durch Futter und

Umgebungsbedingungen mitbeeinflusst werden kann [151-153]. Die EFSA hat eine mögliche Einteilung von Substraten zur Insektenanzucht mit unterschiedlichem Gefahrenpotential vorgeschlagen [23]. Humanpathogene Mikroorganismen, die trotz kontrollierter Anzucht nicht zu vermeiden sind, müssen besonders beachtet und durch geeignete Prozesse inaktiviert werden. Die Methoden der Verarbeitung von Insekten zu Protein- und Lipidfraktionen oder der Gewinnung von Enzymen sollten geeignet sein, sterile Produkte zu erzeugen. Die Ermittlung von kritischen Kontrollpunkten entlang der Kultur und Aufbereitung von Insekten [154] sowie zwischengeschaltete Dekontaminationsschritte können gegebenenfalls erforderlich sein. Erste Daten zum Einfluss von Prozessen auf den mikrobiologischen Status ganzer Insekten sind verfügbar [20]. Daten zur Einschätzung des mikrobiologischen Risikos im Vergleich zu anderen tierischen Quellen liegen nicht vor.

3.2. Chemische und toxikologische Aspekte

Bei der Auswahl zum Verzehr geeigneter Insektenarten sind auch Toxine sowie Antinutritiva, z.B. Thiaminasen [155], in Betracht zu ziehen. Dabei ist zu unterscheiden, ob die Toxine bzw. Antinutritiva durch die Nahrung aufgenommen oder vom Insekt synthetisiert werden. Die Kulturbedingungen für Insekten sollten so gewählt sein, dass sie den geltenden lebensmittelrechtlichen Vorschriften entsprechen (siehe Kapitel 4). Somit sollten Insekten, die der Herstellung von Lebensmitteln und Lebensmittelinhaltsstoffen dienen, so gehalten werden, dass eine Anreicherung von extern zugeführten Toxinen, Arzneimitteln oder Antinutritiva ausgeschlossen bzw. minimiert wird.

Einige Insektenarten synthetisieren für den Menschen toxische Stoffe. Zu nennen ist Cantharidin, ein Monoterpen (2,6-Dimethyl-4,10-dioxatricyclo-[5.2.1.0^{2,6}]decane-3,5-dione), das von der spanischen Fliege (*Lytta vesicatoria*), einem Käfer aus der Familie der Ölkäfer, und verschiedenen anderen Käferarten synthetisiert wird. Es wird an Proteine gebunden, die aufgrund dieser Eigenschaft als Cantharidin-bindende Proteine (CBP) bezeichnet werden. Die toxische Wirkung äußert sich nach Verzehr in Schluckbeschwerden, Übelkeit und u.a. Erbrechen von Blut [156-158]. Bockkäfer können Toluol enthalten. Schwarzkäfer (Tenebrionidae) produzieren Chinone und Alkane [159], in bestimmten Mottenarten der Gattung *Zygaena* sind cyanogene Glykoside enthalten [160]. Das Risikopotential solcher Stoffe ist zu überprüfen. Dies gilt auch für Toxine, die möglicherweise durch Mikroorganismen im Insektendarm gebildet werden, z.B. Toxine der Gattungen *Bacillus*, *Clostridium* und *Aspergillus*. Über die Insektenarten, die für einen Verzehr in Frage kommen (Tabelle 1), liegen keine Daten zum Vorkommen von Toxinen vor.

In den wenigen Untersuchungen zu Antinutritiva in gesammelten Insekten wurden z.B. Gehalte an Oxalat, Tannin und Phytat ermittelt, die weit unterhalb gesundheitlich bedenklicher Mengen lagen [161-165]. Für die in der Wildnis gesammelte, afrikanische Seidenraupe (*Anaphe venata*) werden hitzestabile Thiaminasen beschrieben, die für eine jährliche, saisonale Thiamin-Unterversorgung in Nigeria verantwortlich gemacht werden [155]. Obwohl keine Daten dazu vorliegen, ist davon auszugehen, dass auch in kontrollierter Kultur hitzestabile Thiaminasen gebildet werden. Bei der Verwendung der afrikanischen Seidenraupe zur Herstellung von Lebensmitteln und Lebensmittelinhaltsstoffen ist dies zu überprüfen.

Der traditionelle Verzehr von Insekten in bestimmten Teilen der Welt wird als ein Hinweis gesehen, dass bei der Verwendung von Insekten als Lebensmittel keine Gesundheitsgefährdung zu befürchten ist [1, 166]. Dies wurde bislang jedoch nicht wissenschaftlich, systematisch untersucht. Allerdings könnten bei einer Fraktionierung möglicherweise nur in Spuren vorhandene gesundheitsschädliche Bestandteile mit den eigentlichen Zielkomponenten angereichert werden, wie z.B. Cantharidin mit Protein oder Toluol mit Lipiden. Toxisches Potential und Gehalt an Antinutritiva sind durch entsprechende Anzucht und Verarbeitungsbedingungen zu minimieren.

3.3. *Allergenes Potential*

Allergische Reaktionen

Im Zusammenhang mit dem Verzehr von Insekten wurden vereinzelt allergische Episoden, einschließlich anaphylaktischer Reaktionen [167-169] in der medizinischen Fachliteratur dokumentiert. In Arthropoden (*Arthropoda*), zu denen Insekten (*Insecta*, z.B. Bienen, Käfer, Heuschrecken, Schaben) wie auch Spinnentiere (*Arachnida*, z.B. Milben) und Krebstiere (*Crustaceen*, z.B. Garnele, Krebse, Hummer) gehören, wurden pan-allergene Strukturen identifiziert. In gleicher Weise wurden solche pan-allergenen Strukturen bei Muscheln aus dem Stamm der Weichtiere (Mollusca) beschrieben [170, 171]. Beispielsweise kann pan-allergenes Tropomyosin Allergien gegen *Crustaceen* aber auch gegen Milben und Insekten (z.B. Schaben) hervorrufen [172, 173]. Dies wurde in einer Untersuchung der Kreuzreaktivität zu Mehlwurmlarven (*Tenebrio molitor*) mit Hilfe von Patienten mit Inhalations- bzw. Lebensmittelallergie gegen Milben und *Crustaceen* bestätigt. Tropomyosin und Arginininkinase wurden als kreuzreaktive Proteine identifiziert. Damit besteht die Möglichkeit, dass Menschen, die gegen *Crustaceen* und Hausstaubmilben allergisch sind, auch auf Lebensmittel, die Proteine der Mehlkäferlarven enthalten, allergisch reagieren [174]. Auch weitere ubiquitäre bzw. pan-allergene Strukturen (siehe unten) können in atopischen Personen zu möglichen allergischen

Kreuzreaktion gegen Arthropoden und damit gegen essbare Insekten führen. Grundsätzlich sind aber auch Primärsensibilisierungen gegen diese ubiquitären bzw. pan-allergenen Strukturen sowie gegen speziesspezifische Allergene möglich. Bei vorliegender Sensibilisierung gegen pan-allergene Strukturen ist unter Umständen mit unerwarteten allergischen Kreuzreaktionen zu rechnen, da sich für den allergischen Konsumenten die Allergenquellen nicht unmittelbar erschließen. Diese Problematik gewinnt an zusätzlicher Bedeutung, wenn vor allem potentiell allergene Fraktionen, beispielsweise die Proteinfraction, gewonnen und in zusammengesetzten Lebensmitteln als Zutat eingesetzt würden. Berücksichtigt man im Vergleich zu klassischen Lebensmittelallergien die vergleichsweise hohe Häufigkeit von Inhalationsallergien gegen Hausstaub- und Mehlmilben bzw. Schaben in der Bevölkerung [175, 176], könnte ein weitaus größerer Teil der Bevölkerung von möglichen Kreuzreaktionen zwischen Milben- und Insekten-Panallergenen betroffen sein. Als sekundäre, also nicht direkt dem Insekt zuzuordnende Auslöser allergischer Reaktionen sind mögliche Belastungen der Insekten durch pathogene Pilze mit bekanntermaßen allergenem Potential, wie beispielsweise von *Aspergillus*, *Candida* und *Penicillium* [177], in Betracht zu ziehen. Es sollte daher bei der Kultivierung der Insekten sichergestellt werden, dass die Kulturen nicht durch Organismen mit allergenem Potential belastet sind.

Allergene Strukturen

Als allergene Strukturen in Insekten sind vornehmlich (Glyko-) Proteine, zu denen auch die Insektengiftallergene (z.B. Phospholipase A, Hyaluronidase) zählen, zu nennen. In Arthropoden sind aktuell 239 einzelne Allergene entsprechend den Anforderungen des Allergen Nomenclature Sub-Committee der World Health Organization und der International Union of Immunological Societies registriert (www.allergen.org, letzter Zugriff 17.02.2016). Es handelt sich dabei vornehmlich um ubiquitäre bzw. pan-allergene Proteine, die sich vereinfacht in Muskelproteine (z.B. Tropomyosin, Myosin, Actin, Troponin C), zelluläre Proteine (z.B. Tubulin), zirkulierende Proteine (z.B. Hemocyanin, Defensin) und Enzyme (z.B. Arginin-Kinase, Triosephosphatisomerase, α -Amylase, Trypsin, Phospholipase A, Hyaluronidase) gruppieren lassen. Etwa die Hälfte der aktuellen Datenbankeinträge bezieht sich auf Allergene in Insekten, wobei unterschiedliche Entwicklungsstadien bislang nicht systematisch untersucht wurden. Damit ist unklar, welchen Beitrag die Entwicklungsstadien der Insekten zur Allergenität haben. Neben den (Glyko-) Proteinen sind weitere allergene bzw. immunmodulatorische Stoffe aus Arthropoden bekannt. So sind immunogene Glykostrukturen, teils auch mit anaphylaktischem Potential, beschrieben. Es konnte gezeigt werden, dass das allergene Glykoepitop Galaktose- α -1,3-Galaktose (α -Gal) anaphylaktische Reaktionen auslösen kann [178, 179]. So kann der

Biss der Zecke oder Zeckenlarve *Amblyomma americanum* (Arthropoda, Arachnida) Sensibilisierung gegen α -Gal mit anaphylaktischen Kreuzreaktionen gegen Fleisch von Nicht-Primaten, bei denen α -Gal eine Blutgruppensubstanz darstellt, hervorrufen. Es fehlen derzeit Daten zum Vorhandensein von allergenem α -Gal in essbaren Insekten.

Auch bei der Verwendung von einzelnen (Mikro-)Komponenten aus Insekten sind neben Gehalten und optimierten Extraktionsmethoden auch Sicherheitsrisiken zu erforschen. So wurde der Farbstoff Karmin als Auslöser schwerer allergischer Reaktionen gegen Lebensmittel beschrieben [83]. Als mögliche Auslöser der dokumentierten anaphylaktischen Reaktionen auf Karmin werden Karminsäure selbst oder an Protein gebunden [83], oder nachweislich koextrahierte IgE-bindende Proteine aus Cochinilleschildläusen diskutiert [180]. Die Bindung von IgE-Antikörpern von Karminallergikern an extrahierte Proteine der Cochinilleschildlaus konnte mittels Karminextrakt *in vitro* inhibiert werden [180]. Die Ergebnisse weisen auf allergene Proteine der Cochinilleschildlaus und deren Vorhandensein in Karmin hin. Ein möglicher Beitrag von Karminsäure kann anhand der Daten nicht ausgeschlossen werden.

Als weitere molekulare Struktur mit immunmodulatorischem Potential wird Chitin beschrieben. Es gibt Hinweise darauf, dass durch Chitin die Bildung von allergenspezifischen IgE Antikörpern, die eine zentrale Funktion im Pathomechanismus allergischer Soforttypreaktionen haben, verstärken kann. Dies wurde in murinen Sensibilisierungsstudien beispielsweise in *Aspergillus fumigatus* allergischen Mäusen bzw. mit dem Chitin-bindenden Allergen Blo t 12 aus Milben (*Blomia tropicalis*) gezeigt [181, 182]. Darüber hinaus wurden Chitin-bindende Viciline, also Leguminosen Speicherproteine, in *Enterolobium contortisiliquum* und *Erythrina velutina* beschrieben [183, 184]. Für andere, essbare Leguminosen, wie Erdnuss oder Sojabohne [185, 186], sind Viciline als wichtige Allergene beschrieben. Unklar ist, ob Komplexe aus Chitin und bekannten allergenen Vicilinen diätetisch relevanter Leguminosen, in ähnlicher Weise wie für Chitin-bindendes Blo t 12 aus Milben beschrieben, ein immunmodulatorisches Potential hin zur verstärkten Bildung allergievermittelnder Antikörper besitzen.

Expositions- und Sensibilisierungsszenarien

Bei Allergien oder Kreuzallergien gegen Insekten werden die unterschiedlichen Expositionen, also Injektion, Inhalation, Hautkontakt und Ingestion, beschrieben. Mögliche Expositionen mit Insektengift, welches bekanntermaßen allergische Reaktionen bis hin zum anaphylaktischen Schock nach Injektion hervorrufen kann, ergeben sich aufgrund der Verarbeitung ganzer Insekten, wenn das Gift durch die Verarbeitung nicht inaktiviert wird. Allergische Reaktionen, einschließlich anaphylaktischer Reaktionen, nach Verzehr von Insekten wurden bislang jedoch nur in einzelnen Fällen beschrieben.

Es besteht weiterhin große Unklarheit in der Frage, in welchem Ausmaß Primärsensibilisierungen gegen Insekten auftreten, und in welchem Umfang diese Primärsensibilisierungen zu allergischen Reaktionen führen können. In gleicher Weise besteht Klärungsbedarf über mögliche Kreuzsensibilisierungen gegen Arthropodenspezies und vor allem deren klinische Relevanz und den zugrundeliegenden Expositionsszenarien, beispielsweise Inhalation versus Ingestion. Da *Crustaceen* vornehmlich nach Erhitzen verzehrt werden, ist eine gewisse Thermostabilität dieser Allergene und somit auch der kreuzreaktiven Insektenallergene anzunehmen. So hat sich gezeigt, dass Erhitzung die Allergenität von Mehlwurmproteinen nicht reduziert sondern lediglich die Proteinlöslichkeit verändert [187]. Eine weitere Studie mit drei verschiedenen Mehlwurmspezies dokumentierte, dass die IgE-Kreuzreaktion von *Crustaceen*-Allergikern gegen Mehlwurm Tropomyosin nach thermischer Behandlung und *in vitro* Verdau reduziert aber nicht eliminiert wird [188].

Im Gegensatz dazu führen bei der reinen Inhalationsallergie gegen Milben bzw. Schaben nicht thermisch behandelte Allergene (Faeces, Stäube) zur Primärsensibilisierung. Die Frage einer möglichen Kreuzreaktion mit essbaren Arthropodenspezies ist deshalb in Abhängigkeit vom eingesetzten lebensmitteltechnologischen Prozess zu prüfen. Beispielsweise waren *in vitro* IgE-Kreuzreaktionen von Hausstaubmilbenallergikern gegen Mehlwurmproteine nach thermischer Behandlung und *in vitro* Verdau stärker reduziert (aber nicht eliminiert) als IgE-Kreuzreaktionen von Garnelenallergikern. Zudem zeigte sich ein unterschiedliches Profil der kreuzreagierenden Allergene in Abhängigkeit von der Sensibilisierung gegen Garnelen bzw. Hausstaubmilben. Daraus wurde abgeleitet, dass der Verzehr von ausschließlich thermisch behandelten Mehlwürmern für Garnelen- und Hausstaubmilbenallergiker ein Risiko darstellt [188].

Insgesamt ist festzuhalten, dass vorhandene lebensmitteltechnologische Prozessverfahren in nur wenigen Fällen, wie Fermentation und Hydrolyse, eine deutliche Reduzierung der Allergenität von Lebensmitteln bewirken können [189]. Ähnliche Ergebnisse sind für Insektenallergene anzunehmen, so dass neue Verfahren zur Allergenminimierung zu entwickeln sind.

Aufgrund des hohen Sensibilisierungspotentials durch Arthropoden (z.B. Garnelen, Milben, Schaben) ist davon auszugehen, dass bei vermehrtem Verzehr von Insekten oder insektenbasierten Produkten auch mit einem Anstieg der Häufigkeit allergischer Reaktionen gegen Insekten zu rechnen ist.

4. Lebensmittelrechtliche Aspekte

Insekten, Insektenteile und Inhaltsstoffe von Insekten, die zum menschlichen Verzehr bestimmt sind, dürfen - wie auch alle anderen Lebensmittel - in Deutschland nur dann in den Verkehr gebracht werden, wenn sie den hier geltenden lebensmittelrechtlichen Vorschriften entsprechen. Zu nennen sind in diesem Zusammenhang insbesondere die Verordnung (EG) Nr. 178/2002² (sog. Basisverordnung im Lebensmittelrecht), die Verordnung (EG) Nr. 852/2004³ und das Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuch. Danach ist es insbesondere verboten, Lebensmittel, die nicht sicher sind, in den Verkehr zu bringen oder derart herzustellen oder zu behandeln, dass ihr Verzehr gesundheitsschädlich ist.

Insektenteile und Inhaltsstoffe von Insekten sind gemäß der Verordnung (EG) Nr. 258/97⁴ neuartige Lebensmittel und dürfen in der EU nur nach einer gesundheitlichen Bewertung und Zulassung in den Verkehr gebracht werden, sofern sie nicht vor dem Stichtag 15. Mai 1997 in nennenswertem Umfang in der EU verzehrt wurden.

Ganze Insekten werden von einigen Mitgliedstaaten der EU ebenfalls als neuartige Lebensmittel eingestuft, andere Mitgliedstaaten betrachten sie als Erzeugnisse, die nicht von der Verordnung (EG) Nr. 258/97 erfasst sind. Rechtsklarheit bringt die Verordnung (EU) 2015/2283⁵, die die Verordnung (EG) Nr. 258/97 am 1. Januar 2018 ablösen wird. Diese Verordnung führt ganze Tiere explizit in der Begriffsbestimmung für neuartige Lebensmittel auf. Somit müssen ganze Insekten künftig zweifelsfrei vor dem Inverkehrbringen gesundheitlich bewertet und zugelassen werden, sofern sie nicht vor dem Stichtag 15. Mai 1997 in nennenswertem Umfang in der EU verzehrt wurden.

Unbeschadet der Vorschriften über neuartige Lebensmittel sind bei der Einfuhr von Insekten (lebend oder tot), Insektenteilen und Inhaltsstoffen von Insekten aus Drittländern in die Union die speziellen Einfuhrverfahren der Richtlinie 97/78/EG⁶, der Richtlinie 91/496/EG⁷ und der

² Verordnung (EG) Nr. 178/2002 des Europäischen Parlaments und des Rates zur Festlegung der allgemeinen Grundsätze und Anforderungen des Lebensmittelrechts, zur Errichtung der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit und zur Festlegung von Verfahren zur Lebensmittelsicherheit

³ Verordnung (EG) Nr. 852/2004 des Europäischen Parlaments und des Rates über Lebensmittelhygiene

⁴ Verordnung (EG) Nr. 258/97 des Europäischen Parlaments und des Rates über neuartige Lebensmittel und neuartige Lebensmittelzutaten

⁵ Verordnung (EU) 2015/2283 des Europäischen Parlaments und des Rates über neuartige Lebensmittel

⁶ Richtlinie 97/78/EG des Rates zur Festlegung von Grundregeln für die Veterinärkontrollen von aus Drittländern in die Gemeinschaft eingeführten Erzeugnissen

⁷ Richtlinie 91/496/EG des Rates zur Festlegung von Grundregeln für die Veterinärkontrollen von aus Drittländern in die Gemeinschaft eingeführten Tieren und zur Änderung der Richtlinien 89/662/EWG, 90/425/EWG und 90/675/EWG

Entscheidung 2007/275/EG⁸ zu beachten. Danach ist die Einfuhr von Insekten aus Drittländern in die Union veterinärkontrollpflichtig und muss über eine Grenzkontrollstelle erfolgen.

Nach deutschem Lebensmittelrecht ist darüber hinaus bei der Einfuhr von Insekten, Insektenteilen und Inhaltsstoffen von Insekten zum menschlichen Verzehr als spezielle Einfuhranforderung das Zertifikat nach § 6 Absatz 2 Satz 2 in Verbindung mit Anlage 2a Lebensmitteleinfuhr-Verordnung vorzulegen. In dem Einfuhrzertifikat muss der unterzeichnende amtliche Tierarzt oder Inspektor des Drittlandes bestätigen, dass die einzuführenden Erzeugnisse zum menschlichen Verzehr die allgemeinen EU-Anforderungen an die Lebensmittelsicherheit und Lebensmittelhygiene erfüllen.

Lediglich für lebende Bienen und Hummeln werden in der Richtlinie 92/65/EG⁹ und in der Verordnung (EU) Nr. 206/2010¹⁰ spezifische tierseuchenrechtliche Einfuhrbedingungen festgelegt.

5. Schlussfolgerungen

Bei Fraktionen aus Insekten kann es sich einerseits um Gemische handeln, deren Zusammensetzung durch eine gemeinsame physikochemische Eigenschaft, z.B. Löslichkeit in lipophilen Medien, bestimmt wird; andererseits können durch Anwendung spezifischer Aufreinigungs- und Isolierverfahren Einzelsubstanzen gewonnen werden.

Hinsichtlich sicherheitsrelevanter und technologischer Aspekte bei der Verarbeitung von Insekten bestehen erhebliche Wissenslücken. Zur Gewährleistung von Qualität und Sicherheit der aus Insekten gewonnenen Fraktionen oder Inhaltsstoffe sind folgende Kriterien zu beachten:

- Bei der Auswahl der Insektenarten und deren Entwicklungsstadien sowie der Anzuchtbedingungen sind mikrobielle, allergene und toxikologische Risiken zu vermeiden.
- Zur Gewinnung von Inhaltsstoffen sind Insekten unter definierten Haltungs- und Fütterungsbedingungen zu kultivieren, um zu vermeiden, dass unerwünschte Komponenten

⁸ Entscheidung 2007/275/EG der Kommission mit Verzeichnissen von Tieren und Erzeugnissen, die gemäß den Richtlinien 91/496/EWG und 97/78/EG des Rates an Grenzkontrollstellen zu kontrollieren sind

⁹ Richtlinie 92/65/EWG des Rates über die tierseuchenrechtlichen Bedingungen für den Handel mit Tieren, Samen, Eizellen und Embryonen in der Gemeinschaft sowie für ihre Einfuhr in die Gemeinschaft, soweit sie diesbezüglich nicht den spezifischen Gemeinschaftsregelungen nach Anhang A Abschnitt I der Richtlinie 90/425/EWG unterliegen

¹⁰ Verordnung (EU) Nr. 206/2010 der Kommission zur Erstellung von Listen der Drittländer, Gebiete und Teile davon, aus denen das Verbringen bestimmter Tiere und bestimmten frischen Fleisches in die Europäische Union zulässig ist, und zur Festlegung der diesbezüglichen Veterinärbescheinigungen

(Pathogene Mikroorganismen, Toxine, Allergene, Antinutritiva u.a.) aus dem Futter oder der Umwelt aufgenommen/ angereichert werden.

- Mikroorganismen müssen nach der Ernte der Insekten durch geeignete Prozessschritte inaktiviert werden. Ein wesentlicher Aspekt bei der Auswahl bzw. der Entwicklung von Verfahren ist die effektive Abtötung vor allem der Darmmikrobiota, da bei den meisten Insekten eine Darmentfernung nicht möglich ist. Je nach Produktlinie könnten weitere Dekontaminationsschritte notwendig sein.
- Zur Bewertung des allergenen Potentials von Insekten und insbesondere von gewonnenen Fraktionen oder Einzelstoffen bedarf es der Kenntnis potentiell allergener Strukturen. Der Einfluss unterschiedlicher Expositions- und Sensibilisierungsszenarien sowie der Verarbeitungstechnologien auf die Allergenität ist dabei zu berücksichtigen.
- Insekten können unerwünschte, toxische Komponenten synthetisieren. Dieses Potential kann spezifisch für eine bestimmte Insektenart sein und von der Entwicklungsphase abhängen. Es ist daher erforderlich, bei Isolierung und Aufreinigung sicherzustellen, dass diese Komponenten minimiert werden können.
- Die aus Insekten gewonnenen Fraktionen und Inhaltsstoffe müssen analytisch hinsichtlich Identität und Reinheit sowie unvermeidbare Restgehalte an potentiell gesundheitsschädlichen Stoffen charakterisiert werden. Die Daten sollen den Vergleich zu Isolaten aus konventionellen Quellen (z.B. Pflanzen) ermöglichen, für die Sicherheitsbewertungen vorliegen.

6. Forschungsbedarf

Aus den in Kapitel 5 zusammengestellten Kriterien leitet sich folgender Forschungsbedarf zur Minimierung mikrobieller, allergener und toxikologischer Risiken ab.

- Erhebung von Daten hinsichtlich potentieller mikrobieller, allergener und toxikologischer Risiken bedingt durch
 - (i) Auswahl von Insektenarten und deren Entwicklungsstadien,
 - (ii) Anzucht- und Kulturbedingungen,
 - (iii) Verarbeitungsmethoden.

- Die Eignung sowohl einer Positiv- und/oder Negativliste als auch eines QPS (Qualified Presumption of Safety) Systems analog zu dem für Mikroorganismen ist für die Auswahl sicherer Insektenarten bzw. deren Entwicklungsstadien zur Gewinnung von Fraktionen und Inhaltsstoffen zu prüfen (<http://www.efsa.europa.eu/de/efsajournal/pub/4138>; 2015).
- Untersuchung der Insektenarten, die genutzt werden sollen, auf sicherheitsrelevante Mikroorganismen; Überprüfung der potentiell anzuwendenden Dekontaminationsprozesse auf die Reduzierung der Keimbelastung bzw. auf die Inaktivierung identifizierter, sicherheitsrelevanter Mikroorganismen.
- Erhebung von Daten
 - (i) zum Vorkommen von allergenen Strukturen in den Insektenarten, die für die Gewinnung von Insektenfraktionen genutzt werden sollen,
 - (ii) zur Exposition und Sensibilisierung im Menschen,
 - (iii) zum Einfluss technologischer Verfahren auf die Allergenität potentiell allergener Strukturen.
- Untersuchung von Insekteninhaltsstoffen
 - (i) auf ihre Allergenität *per se*,
 - (ii) auf ihre Allergenität in Abhängigkeit von der An- oder Abwesenheit koeextrahierter endogener, potentiell allergener Proteinstrukturen,
 - (iii) auf ihr immunmodulatorisches Potential als solches und in Komplexen mit bekannten exogenen Allergenen, wie z.B. Vicilinen aus essbaren Leguminosen.
- Erhebung von Daten
 - (i) zum Vorkommen von insektenspezifischen Toxinen in den Insektenarten, die genutzt werden sollen,
 - (ii) zur Koextraktion oder Anreicherung von Toxinen und anderen kritischen Komponenten bei einer Fraktionierung der Insekten.
- Entwicklung von Kriterien zur Bewertung der Eignung technologischer Verfahren zur Gewinnung sicherer Insektenfraktionen und Insekteninhaltsstoffe unter Berücksichtigung von Gefahrenanalysen, Ermittlung kritischer Kontrollpunkte und potentiell zu entwickelnden Präventivprogrammen (HACCP-Konzept).

Tabelle 1: Insektenarten, die in wenigen Ländern der EU zum Verzehr angeboten werden bzw. als Lebensmittel genutzt werden könnten

Insektenart	Ordnung	Verzehrt Entwicklungsstadium	Relevante pathogene Mikroorganismen	Literatur
<i>Acheta domesticus</i> (Heimchen, Cricket)	Orthoptera (Langfühlerschrecken)	Imago (adulte Form)	<i>Enterobacteriaceae</i> (<i>Klebsiella</i> sp., <i>Yersinia</i> sp., <i>Citrobacter</i> sp.) Potentieller Vektor für <i>Abbreviata antarctica</i> (experimentell)	[133, 190]
<i>Gryllus assimilis</i> (Steppengrille, Field Cricket)	Orthoptera (Langfühlerschrecken)	Imago (adulte Form)	Keine Daten zur autochthonen Mikrobiota vorhanden	
<i>Gryllus bimaculatus</i>	Orthoptera (Langfühlerschrecken)	Imago (adulte Form)	Keine Daten zur autochthonen Mikrobiota vorhanden, neue Art von <i>Spiroplasma</i> sp. mit 95% Identität zu <i>Spiroplasma platyhelix</i>	[191]
<i>Gryllodes sigillatus</i> (Kurzflügelgrille, Banded Cricket)	Orthoptera (Langfühlerschrecken)	Imago (adulte Form)	Keine Daten zur autochthonen Mikrobiota vorhanden	
<i>Locusta migratoria</i> (Wanderheuschrecke, Migratory Locust)	Orthoptera (Kurzfühlerschrecke)	Imago (adulte Form)	<i>Enterobacteriaceae</i> (<i>Klebsiella</i> sp., <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Yersinia</i> sp., <i>Enterobacter cloacae</i>), <i>Enterococcus</i> sp., <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Vektor und Reservoir für vesicular stomatitis virus (VS)	[50, 154, 192-194]
<i>Oxya fuscovittata</i>	Orthoptera (Kurzfühlerschrecke)	Imago (adulte Form)	Keine Daten zur autochthonen Mikrobiota vorhanden	
<i>Schistocerca americana</i> (Amerikanische Wüstenheuschrecke, American Bird Grasshopper)	Orthoptera (Kurzfühlerschrecke)	Imago (adulte Form)	Keine Daten zur autochthonen Mikrobiota vorhanden	
<i>Schistocerca gregaria</i> (Wüstenheuschrecke, Desert Locust)	Orthoptera (Kurzfühlerschrecke)	Imago (adulte Form)	<i>Enterobacteriaceae</i> (<i>Enterobacter</i> sp., <i>Enterobacter liquefaciens</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Enterobacter agglomerans</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>Citrobacter</i> sp.), <i>Bacillus cereus</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Clostridium septicum</i> , <i>Clostridium difficile</i> , <i>Clostridium sporogenes</i> , <i>Clostridium capitovale</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter</i> sp., <i>Enterococcus</i> sp., <i>Staphylococcus</i> sp., <i>Streptococcus</i> sp., <i>Rhodococcus</i> sp.,	[195-198]
<i>Achroia grisella</i> (Kleine Wachsmotte, Lesser Wax Moth)	Lepidoptera (Schmetterlinge)	Raupe	Keine Daten zur autochthonen Mikrobiota vorhanden	
<i>Bombyx mori</i> (Seidenspinner, Seidenraupe, Silkworm)	Lepidoptera (Schmetterlinge)	Raupe, Puppe ohne Kokon	<i>Enterobacteriaceae</i> (<i>Proteus vulgaris</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Serratia liquefaciens</i> , <i>Serratia</i> sp., <i>Shigella</i> sp., <i>Enterobacter</i> sp., <i>Erwinia</i> sp., <i>Pantoea</i> sp.), <i>Aeromonas</i> sp., <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Clostridium</i> sp., <i>Bacillus</i> sp., <i>Bacillus circulans</i> , <i>Staphylococcus</i> sp., <i>Streptococcus</i> sp., <i>Enterococcus</i> sp., <i>Enterococcus mundtii</i> , <i>Acinetobacter</i> sp., <i>Moraxella</i> sp., <i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Actinobacteria</i>	[52, 149, 199, 200]
<i>Galleria melonella</i> (Große Wachsmotte, Greater Wax Moth)	Lepidoptera (Schmetterlinge)	Raupe	Keine Daten zur autochthonen Mikrobiota vorhanden <i>Galleria melonella</i> wird verbreitet als <i>in vivo</i> Infektionsmodell für pathogene Bakterien und Pilze genutzt, da sich eine Vielzahl humanpathogener Mikroorganismen leicht in dieser Insektenart vermehren lässt.	[201-204]
<i>Imbrasia bellina</i> / <i>Gonimbrasia bellina</i> , (Mopani, Mopanewurm, Emperor Moth)	Lepidoptera (Schmetterlinge)	Raupe	<i>Alternaria</i> sp., <i>Aspergillus</i> sp., <i>Chaetomium</i> sp., <i>Drechslera</i> sp., <i>Penicillium</i> sp., <i>Fusarium</i> sp., <i>Mucor</i> sp., <i>Phoma</i> , and	[205]

<i>Alphitobius diaperinus</i> (Getreideschimmelkäfer, Litter Beetle)	Coleoptera (Käfer)	Larve (kleiner Mehlwurm)	Keine Daten zur autochthonen Mikrobiota vorhanden Vektor für <i>Salmonella enterica</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Campylobacter jejuni</i> , <i>Acinetobacter</i> sp., <i>Aspergillus</i> sp., <i>Infectious Bursal disease virus (IBDV)</i> , <i>Marek's disease virus</i> , <i>Turkey corona virus</i> , Sporozoen: <i>Coccidien (Eimeria)</i>	[111-114, 206-215]
<i>Tenebrio molitor</i> (Mehlkäfer, Yellow Meal Beetle)	Coleoptera (Käfer)	Larve (Mehlwurm)	<i>Enterobacteriaceae (Salmonella</i> sp., <i>Erwinia</i> sp., <i>Pantoea</i> sp.), <i>Staphylococcus</i> sp., <i>Haemophilus</i> sp., <i>Clostridium</i> sp., <i>Bacillus</i> sp., <i>Enterococcus</i> sp., <i>Bacillus</i> sp. Vektor für <i>Mycobacterium</i> sp. (experimentell)	[90, 139, 154, 216]
<i>Zophobas atratus</i> (Großer Schwarzkäfer, Morio Beetle)	Coleoptera (Käfer)	Larve	Vektor für <i>Mycobacterium</i> sp. (experimentell)	[216]
<i>Atta laevigata</i> (Blattschneiderameise, Leaf Cutter Ants)	Hymenoptera (Hautflügler, Ameisen, Bienen, Wespen)	Imago (adulte Form)	<i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Aspergillus sclerotiorum</i> und <i>Penicillium</i> sp., opportunistisch humanpathogene Pilze der Gattungen <i>Cladophialophora</i> , <i>Exophiala</i> , <i>Metarhizium</i> , <i>Ochroconis</i> , <i>Phialophora</i> und <i>Penidiella</i>	[141, 145]
<i>Hermetia illucens</i> (Soldatenfliege black soldier fly)	Diptera (Zweiflügler, Fliegen)	Larve	<i>Enterobacteriaceae (Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Morganella morgani</i> , <i>Klebsiella</i> sp., <i>Klebsiella granulomatis</i> , <i>Shigella</i> sp., <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Providencia rettgeri</i> , <i>Providencia stuartii</i> , <i>Citrobacter</i> sp., <i>Enterobacter</i> sp.) <i>Enterococcus cacciae</i> , <i>Clostridium</i> sp., <i>Bacillus</i> sp., <i>Streptococcus</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Staphylococcus</i> sp., <i>Corynebacterium</i> sp., <i>Acinetobacter</i> sp., <i>Wohlfahrtiimonas larvae</i> sp. nov. Potentieller Vektor für <i>Ascaris suum</i> (experimentell)	[88, 217- 220]
<i>Musca domestica</i> (Große Stubenfliege, Housefly)	Diptera (Zweiflügler, Fliegen)	Larve	Häufig Übergang von allochthoner zu autochthoner Mikrobiota, je nach Bedingungen der Anzucht: <i>Enterobacteriaceae (Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter</i> sp., <i>Klebsiella</i> sp., <i>Citrobacter</i> sp., <i>Shigella</i> sp., <i>Morganella</i> sp., <i>Proteus</i> sp., <i>Providencia</i> sp.) <i>Bacillus</i> sp., <i>Bacillus cereus</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Streptococcus faecalis</i> , <i>Enterococcus</i> sp. Pilze wie <i>Aspergillus tamar</i> und <i>Alternaria</i> sp., Vektor für <i>Escherichia coli</i> O157:H7, <i>Salmonella</i> sp., <i>Salmonella typhi</i> , <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> , Vektor für verschiedene Nematodenarten: Spulwurm (<i>Ascaris lumbricoides</i>), Peitschenwurm (<i>Trichuris trichiura</i>) und Hakenwurm Vektor für Circovirus, Subtypen des Vogelgrippevirus H5N7 und H7N1, Verdacht als Vektor für <i>Vibrio cholerae</i> zu wirken	[95, 106, 109, 110, 126, 138, 221-232]
<i>Blattella germanica</i> Küchenschabe	Blattodea (Schaben)	Imago (adulte Form)	Häufig Übergang von allochthoner zu autochthoner Mikrobiota, je nach Bedingungen der Anzucht: <i>Enterobacteriaceae (Escherichia coli</i> , <i>Salmonella</i> sp., <i>Klebsiella</i> sp., <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Enterobacter</i> sp., <i>Enterobacter aeruginosus</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Serratia</i> sp., <i>Serratia marcescens</i> , <i>Citrobacter</i> sp., <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Proteus</i> sp., <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Shigella</i> sp.) <i>Enterococcaceae</i> , <i>Enterococcus</i> sp., <i>Staphylococcaceae</i> sp., <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus</i> sp., <i>Aeromonas</i> sp., <i>Pseudomonadaceae</i> , <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Haemophilus</i> sp., <i>Clostridiales</i> , <i>Candida</i> sp., <i>Mucor</i> sp., <i>Penicillium</i> sp., <i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i>	[115, 150, 233-236]

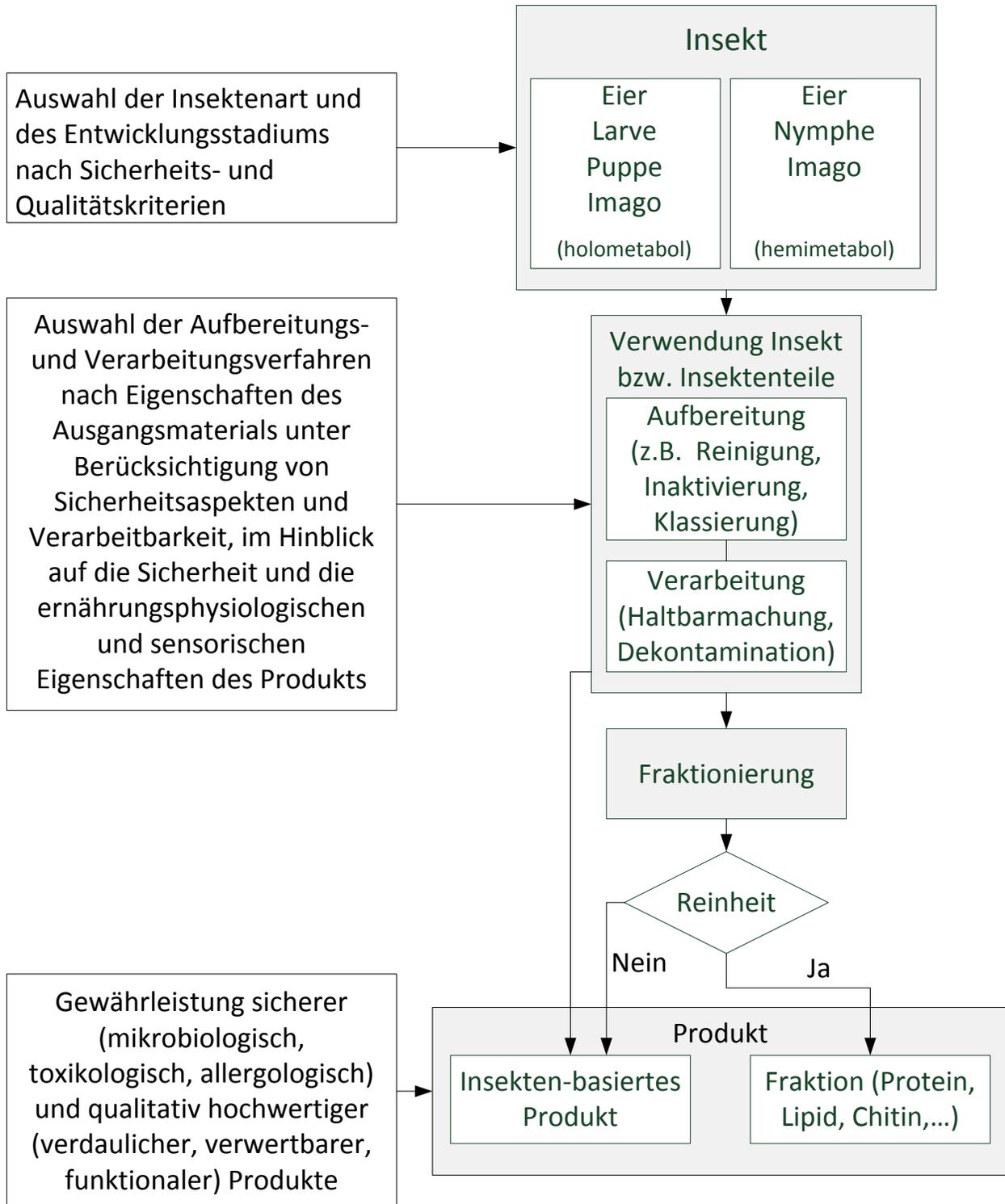
<p><i>Periplaneta americana</i> Amerikanische Großschabe</p>	<p>Blattodea (Schaben)</p>	<p>Imago (adulte Form)</p>	<p>Je nach Bedingungen der Anzucht: <i>Enterobacteriaceae</i> (<i>Escherichia coli</i>, <i>Escherichia vulneris</i>, <i>Salmonella</i> sp., <i>Enterobacter aeroginus</i>, <i>Enterobacter cloacae</i>, <i>Shigella flexneri</i>, <i>Klebsiella pneumoniae</i>, <i>Serratia marcescens</i>, <i>Citrobacter freundii</i>, <i>Enterobacter cloacae</i>, <i>Providencia</i> sp., <i>Yersinia pseudotuberculosis</i>, <i>Yersinia intermedia</i>, <i>Klebsiella</i> sp., <i>Klebsiella oxytoca</i>, <i>Klebsiella planticola</i>, <i>Salmonella</i> sp., <i>Proteus</i> sp., <i>Proteus mirabilis</i>, <i>Proteus vulgaris</i>, <i>Leclercia adecarboxylata</i>, <i>Rahnella aquatilis</i>), <i>Bacillus</i> sp., <i>Staphylococcus</i> sp., <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Staphylococcus epidermidis</i>, <i>Enterococcus</i> sp., <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Aspergillus niger</i>, <i>Mucor</i> sp., <i>Candida</i> sp., <i>Fusarium</i> sp., <i>Penicillium</i>, Spulwurm (<i>Ascaris lumbricoides</i>), Peitschenwurm (<i>Trichuris trichiura</i>), <i>Coccidia</i>, <i>Entamoeba histolytica</i>, <i>Enterobius vermicularis</i>, <i>Schistosoma haematobium</i>, <i>Balantidium coli</i></p>	<p>[140, 231, 234, 236, 237]</p>
--	----------------------------	----------------------------	--	----------------------------------

Tabelle 2: Protein, Fett und Kohlenhydratgehalt (%) von einigen Insektenarten im Vergleich zu Rind, Schwein, Huhn, Ei und Weizenmehl

	Wasser	Protein	Fett	Kohlenhydrate	Asche	kJ/100g
Rindfleisch (mager) ¹	75,0	22,3	1,8		1,2	485
Rind (Schlachtkörper) ¹	54,7	16,5	28,0		0,8	1351
Schwein (mager) ¹	75,1	22,8	1,2		1,0	469
Schwein (Schlachtkörper) ¹	41,1	11,2	47		0,6	1975
Huhn ¹	75,0	22,8	0,9		1,2	439
Ei (roh) ²	75,8	12,6	9,9	0,8	0,8	594
Vollkornweizenmehl ²	11,7	10,7	2,4	74,1	1	1426
Seidenraupenlarve, frisch (<i>Bombyx mori</i>) ³⁻⁴	82-87	8,8-9,3	1,2-4	4,4	1,1-1,4	282
Heimchen, frisch (<i>Acheta domestica</i>) ³	69,2	20,5	6,8	0,8	1,1	587
Mehlwurmlarve, frisch (<i>Tenebrio molitor</i>) ³	61,9	18,7	13,4	0,27	0,9	860
Seidenraupenlarve, getrocknet (<i>Bombyx mori</i>) ³⁻⁴		53,8-69,8	8,1-9,5	25,4	6,4-11,1	1630
Heimchen, getrocknet (<i>Acheta domestica</i>) ³		66,6	22,1	2,6	3,6	1904
Mehlwurmlarve, getrocknet (<i>Tenebrio molitor</i>) ³		49,1	35,2	7,1	2,4	2258

Quellen: ¹ - [238], ² - [239], ³ - [25], ⁴ - [240].

Abbildung 1: Fließdiagramm zur Auswahl der Insektenart und der Verarbeitungsverfahren



Glossar

Allochthon	Zur allochthonen Mikrobiota zählen alle Mikroorganismen, die vorrübergehend in einer bestimmten Umgebung, wie z.B. in einer bestimmten Insektenart, zu finden sind.
Autochthon	Zur autochthonen Mikrobiota zählen alle Mikroorganismen, die stabil in einer bestimmten Umgebung, wie z.B. in einer bestimmten Insektenart, zu finden sind.
CCPs	Critical Control Points
HACCP	Hazard Analysis and Critical Control Points-Konzept, Konzept zur Gefahrenanalyse und zum Aufzeigen kritischer Kontrollpunkte in einer Produktlinie, um durch präventive Maßnahmen Gefahren im Zusammenhang mit Lebensmitteln zu vermeiden.
Hemimetabol	Hemimetabole Insekten entwickeln sich aus Eiern über Nymphen zur Adultform (Imago).
Holometabol	Holometabole Insekten entwickeln sich aus Eiern über Larven bzw. Raupen und Puppen zur Adultform.
Imago	Die geschlechtsreife Adultform von Insekten, die nach der Verpuppung oder der letzten Häutung aus Jugendstadien hervorgehen.
IgE	Immunglobulin E
Leitkeime	Mikroorganismen, welche bei einer bestimmten Erkrankung allein oder mit anderen Mikroorganismen gehäuft auftreten und einer Erkrankung ihren typischen Verlauf geben. In der Lebensmittelproduktion sind es Mikroorganismen (meist Lebensmittel verderbend oder Zoonoseerreger), die in bestimmten Lebensmitteln auftreten und anhand deren Inaktivierung eine effektive Sterilisation des Lebensmittels nachgewiesen wird.
Mikrobiota	Eine Mikrobiota ist eine Lebensgemeinschaft von Mikroorganismen, die in einer bestimmten Umgebung, wie z.B. in einer bestimmten Insektenart, vorkommen und aufgrund gleicher Lebensansprüche abhängig oder unabhängig voneinander existieren.
QPS	Qualified Presumption of Safety
TCA	Tri-Chlor-Essigsäure
Zoonoseerreger	Zoonoseerreger (griech. „zoon“ Lebewesen; „nosos“ Krankheit) sind Krankheitserreger, die von Tier zu Mensch und von Mensch zu Tier übertragen werden. In der Lebensmittelproduktion sind es Mikroorganismen, die über Lebensmittel übertragen werden.

Literatur

1. Anankware, P., et al., *Insects as food and feed: a review*. Int J Agric Res Rev, 2015. **3**(1): p. 143-151.
2. Chakravorty, J., S. Ghosh, and V.B. Meyer-Rochow, *Practices of entomophagy and entomotherapy by members of the Nyishi and Galo tribes, two ethnic groups of the state of Arunachal Pradesh (North-East India)*. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine, 2011. **7**: p. 5.
3. Srivastava, S.K., N. Babu, and H. Pandey, *Traditional insect bioprospecting - As human food and medicine*. Indian Journal of Traditional Knowledge, 2009. **8**(4): p. 485-494.
4. Solomon, M. and N. Prisca, *Nutritive value of Lepidoptara litoralia (edible caterpillar) found in Jos Nigeria: implication for food security and poverty alleviation*. African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development, 2012. **12**(6): p. 6737-6747.
5. Acuna, A.M., et al., *Edible insects as part of the Traditional Food System of the Popoloca Town of Los Reyes Metzontla, Mexico*. Journal of Ethnobiology, 2011. **31**(1): p. 150-169.
6. Rumpold, B.A. and O.K. Schlüter, *Nutritional composition and safety aspects of edible insects*. Molecular Nutrition & Food Research, 2013. **57**: p. 802-823.
7. Ramos-Elorduy, J., J.M. Pino-M, and S.C. Correa, *Edible insects of the state of Mexico and determination of their nutritive values*. Anales del Instituto de Biología Universidad Nacional Autónoma de México Serie Zoología, 1998. **69**(1): p. 65-104.
8. DeFoliart, G., *Insect Fatty Acids: Similar to Those of Poultry and Fish in Their Degree of Unsaturation, but Higher in the Polyunsaturates*. The Food Insects Newsletter, 1991. **4**(1): p. 1-4.
9. WHO, *Protein and amino acid requirements in human nutrition: report of a joint FAO/WHO/UNU expert consultation*, in WHO technical report series. 2007.
10. Terra, W.R. and C. Ferreira, *INSECT DIGESTIVE ENZYMES - PROPERTIES, COMPARTMENTALIZATION AND FUNCTION*. Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology, 1994. **109**(1): p. 1-62.
11. Watanabe, H. and G. Tokuda, *Cellulolytic Systems in Insects*, in Annual Review of Entomology. 2010. p. 609-632.
12. Lundy, M.E. and M.P. Parrella, *Crickets are not a free lunch: protein capture from scalable organic side-streams via high-density populations of Acheta domesticus*. PLoS One, 2015. **10**(4): p. e0118785.
13. Oonincx, D.G.A.B. and I.J.M. de Boer, *Environmental Impact of the Production of Mealworms as a Protein Source for Humans - A Life Cycle Assessment*. Plos One, 2012. **7**(12).

14. Yates-Doerr, E., *The world in a box? Food security, edible insects, and "One World, One Health" collaboration*. Soc Sci Med, 2015. **129**: p. 106-12.
15. Tabassum, A., T. Abbasi, and S.A. Abbasi, *Reducing the global environmental impact of livestock production: the minilivestock option*. Journal of Cleaner Production, 2016. **112**: p. 1754-1766.
16. van Huis, A., *Potential of Insects as Food and Feed in Assuring Food Security*, in *Annual Review of Entomology*, M.R. Berenbaum, Editor. 2013. p. 563-583.
17. van Huis, A., et al., *Edible insects - Future prospects for food and feed security*. FAO Forestry paper. Vol. 171. 2013, Rome: FAO.
18. Oonincx, D.G.A.B., et al., *An Exploration on Greenhouse Gas and Ammonia Production by Insect Species Suitable for Animal or Human Consumption*. Plos One, 2010. **5**(12).
19. Belluco, S., et al., *Edible Insects in a Food Safety and Nutritional Perspective: A Critical Review*. Comprehensive reviews in food science and food safety, 2013. **12**: p. 296-313.
20. FAFSC and SHC, *Advice 14-2014 of the Scientific Committee of the FASFC and advice SHC N° 9160 of the Superior Health Council on food safety aspects of insects intended for human consumption*. 2014: Brussels.
21. Opperhuizen, A., *Advisory report on the risks associated with the consumption of mass-reared insects*. 2014, Dutch Office for Risk Assessment and Research: Utrecht.
22. l'Anses, *La valorisation des insectes dans l'alimentation et l'état des lieux des connaissances scientifiques sur les risques sanitaires en lien avec la consommation des insectes*. 2015, l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (anses): Maisons-Alfort.
23. EFSA, *Risk profile related to production and consumption of insects as food and feed*. EFSA Journal, 2015. **13**(10).
24. Payne, C.L., et al., *A systematic review of nutrient composition data available for twelve commercially available edible insects, and comparison with reference values*. Trends in Food Science & Technology, 2016. **47**: p. 69-77.
25. Finke, M.D., *Complete nutrient composition of commercially raised invertebrates used as food for insectivores*. Zoo Biology, 2002. **21**(3): p. 269-285.
26. Nowak, V., et al., *Review of food composition data for edible insects*. Food chemistry, 2016. **193**: p. 39-46.
27. Johannsen, O.A., *Stratiomyiid Larvae and Puparia of the north-eastern States*. Journal of the New York Entomological Society, 1922. **30**: p. 141-153.
28. Hamodrakas, S.J., J.H. Willis, and V.A. Iconomidou, *A structural model of the chitin-binding domain of cuticle proteins*. Insect Biochem Mol Biol, 2002. **32**(11): p. 1577-83.
29. Khoushab, F. and M. Yamabhai, *Chitin research revisited*. Mar Drugs, 2010. **8**(7): p. 1988-2012.

30. Willis, J.H., *Structural cuticular proteins from arthropods: annotation, nomenclature, and sequence characteristics in the genomics era*. *Insect Biochem Mol Biol*, 2010. **40**(3): p. 189-204.
31. Bulet, P. and R. Stocklin, *Insect antimicrobial peptides: structures, properties and gene regulation*. *Protein Pept Lett*, 2005. **12**(1): p. 3-11.
32. Chernysh, S., et al., *Antiviral and antitumor peptides from insects*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002. **99**(20): p. 12628-12632.
33. Yi, H.-Y., et al., *Insect antimicrobial peptides and their applications*. *Applied microbiology and biotechnology*, 2014. **98**(13): p. 5807-5822.
34. Valle, F.R.d., M.H. Mena, and H. Bourges, *An investigation into insect protein*. *Journal of Food Processing and Preservation*, 1982. **6**(2): p. 99-110.
35. Ghaly, A.E. and F.N. Alkoaik, *The Yellow Mealworm as a Novel Source of Protein*. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences* 2009. **4**(4): p. 319-331.
36. Finke, M.D., *Complete nutrient content of four species of commercially available feeder insects fed enhanced diets during growth*. *Zoo Biol*, 2015. **34**(6): p. 554-64.
37. Yi, L., et al., *Extraction and characterisation of protein fractions from five insect species*. *Food Chemistry*, 2013. **141**(4): p. 3341-3348.
38. Mariod, A.A. and H. Fadul, *Extraction and characterization of gelatin from two edible Sudanese insects and its applications in ice cream making*. *Food Sci Technol Int*, 2015. **21**(5): p. 380-91.
39. Ozimek, L., et al., *Nutritive Value of Protein Extracted from Honey Bees*. *Journal of Food Science*, 1985. **50**(5): p. 1327-1332.
40. Cilia, M., et al., *A Comparison of Protein Extraction Methods Suitable for Gel-Based Proteomic Studies of Aphid Proteins*. *J Biomol Tech*, 2009. **20**(4): p. 201-215.
41. Mariod, A.A., et al., *Preparation and Characterization of Gelatins from Two Sudanese Edible Insects*. *Journal of Food Science and Engineering*, 2011. **1**: p. 45-55.
42. Muzzarelli, R.A.A., et al., *Current views on fungal chitin/chitosan, human chitinases, food preservation, glucans, pectins and inulin: A tribute to Henri Braconnot, precursor of the carbohydrate polymers science, on the chitin bicentennial*. *Carbohydrate Polymers*, 2012. **87**(2): p. 995-1012.
43. Douglas, A.E., *Multiorganismal insects: diversity and function of resident microorganisms*. *Annual Review of Entomology*, 2015. **60**: p. 17-34.
44. Krishnan, M., et al., *Insect gut microbiome - An unexploited reserve for biotechnological application*. *Asian Pac J Trop Biomed*, 2014. **4**(Suppl 1): p. S16-21.
45. Dadd, R.H., *Digestion in insects*. *Chemical Zoology, Arthropoda, Part A*, ed. M. Florin and B.T. Scheer. Vol. V. 2012, New York, London: Academic Press. 117-145.

46. Elpidina, E.N. and I.A. Goptar, *Digestive peptidases in Tenebrio molitor and possibility of use to treat celiac disease*. Entomological Research, 2007. **37**(3): p. 139-147.
47. Goptar, I.A., et al., *Localization of post-proline cleaving peptidases in Tenebrio molitor larval midgut*. Biochimie, 2008. **90**(3): p. 508-14.
48. Cristofaletti, P.T., A.F. Ribeiro, and W.R. Terra, *The cathepsin L-like proteinases from the midgut of Tenebrio molitor larvae: sequence, properties, immunocytochemical localization and function*. Insect Biochem Mol Biol, 2005. **35**(8): p. 883-901.
49. Prabhakar, S., et al., *Sequence analysis and molecular characterization of larval midgut cDNA transcripts encoding peptidases from the yellow mealworm, Tenebrio molitor L.* Insect Mol Biol, 2007. **16**(4): p. 455-68.
50. Su, L.J., et al., *Cellulolytic activity and structure of symbiotic bacteria in locust guts*. Genet Mol Res, 2014. **13**(3): p. 7926-36.
51. Genta, F.A., et al., *Potential role for gut microbiota in cell wall digestion and glucoside detoxification in Tenebrio molitor larvae*. J Insect Physiol, 2006. **52**(6): p. 593-601.
52. Anand, A.A., et al., *Isolation and characterization of bacteria from the gut of Bombyx mori that degrade cellulose, xylan, pectin and starch and their impact on digestion*. J Insect Sci, 2010. **10**: p. 107.
53. Kaur, R., N. Kaur, and A.K. Gupta, *Structural features, substrate specificity, kinetic properties of insect alpha-amylase and specificity of plant alpha-amylase inhibitors*. Pestic Biochem Physiol, 2014. **116**: p. 83-93.
54. Kouadio, E.J.P., et al., *Novel α -Amylases Amy A1 and Amy A2 from digestive tract of tropical house cricket Gryllodes sigillatus (Orthoptera: Gryllidae): hydrolysis and transglycosylation reactions*. Agriculture and Biology Journal of North America, 2012. **3**(5): p. 198-207.
55. Weidlich, S., K.H. Hoffmann, and J. Woodring, *SECRETION OF LIPASES IN THE DIGESTIVE TRACT OF THE CRICKET Gryllus bimaculatus*. Arch Insect Biochem Physiol, 2015. **90**(4): p. 209-17.
56. Arrese, E.L. and J.L. Soulages, *Insect fat body: energy, metabolism, and regulation*. Annu Rev Entomol, 2010. **55**: p. 207-25.
57. Oonincx, D.G.A.B., *Feed conversion efficiency, survival, crude protein content and lipid composition of four insect species on diets composed of organic by-products. In: Insects as food and feed: Nutrient composition and environmental impact.* . 2015, Wageningen, NL: Wageningen University.
58. van Broekhoven, S., et al., *Growth performance and feed conversion efficiency of three edible mealworm species (Coleoptera: Tenebrionidae) on diets composed of organic by-products*. J Insect Physiol, 2015. **73**: p. 1-10.
59. Wu, S., *Supercritical carbon dioxide extraction of oil from Clanis bilineata (Lepidoptera), an edible insect*. African Journal of Biotechnology, 2012. **11**(20): p. 4607-4610.

60. Pan, W.-J., et al., *Supercritical Carbon Dioxide Extraction of the Oak Silkworm (Antheraea pernyi) Pupal Oil: Process Optimization and Composition Determination*. International Journal of Molecular Sciences, 2012. **13**(2): p. 2354-2367.
61. Mariod, A.A., et al., *Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Sorghum Bug (Agonoscelis pubescens) Oil Using Response Surface Methodology*. Journal of the American Oil Chemists Society, 2010. **87**(8): p. 849-856.
62. Tzompa-Sosa, D.A., et al., *Insect lipid profile: aqueous versus organic solvent-based extraction methods*. Food Research International, 2014. **62**: p. 1087-1094.
63. Mustafa, N.E.M., A.A. Mariod, and B. Matthaues, *ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ASPONGOPUS VIDUATUS (MELON BUG) OIL*. Journal of Food Safety, 2008. **28**(4): p. 577-586.
64. Kinyuru, J.N., et al., *Effect of Processing Methods on the In Vitro Protein Digestibility and Vitamin Content of Edible Winged Termite (Macrotermes subhyllanus) and Grasshopper (Ruspolia differens)*. Food and Bioprocess Technology, 2010. **3**(5): p. 778-782.
65. Tiencheu, B., et al., *Changes of lipids in insect (Rhynchophorus phoenicis) during cooking and storage*. European Journal of Lipid Science and Technology, 2013. **115**(2): p. 186-195.
66. Lafont, R. and L. Dinan, *Practical uses for ecdysteroids in mammals including humans: And update*. Journal of Insect Science (Tucson), 2003. **3**(7 Cited March 21, 2003): p. 1-30.
67. Dinan, L. and R. Lafont, *Effects and applications of arthropod steroid hormones (ecdysteroids) in mammals*. Journal of Endocrinology, 2006. **191**(1): p. 1-8.
68. Nordentoft, S., et al., *Accumulation of dioxins and PCB in house fly larvae (musca domestica) reared in poultry manure and used in feed for organic laying hens*, in *Proceedings of the 34th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants*. 2014.
69. Zhang, M., et al., *Structure of insect chitin isolated from beetle larva cuticle and silkworm (Bombyx Mori) pupa exuvia*. International Journal of Biological Macromolecules, 2000. **27**(1): p. 99-105.
70. Aranaz, I., et al., *Functional Characterization of Chitin and Chitosan*. Current Chemical Biology. Vol. 3. 2009: Bentham Science Publishers.
71. Shahidi, F. and R. Abuzaytoun, *Chitin, chitosan, and co-products: chemistry, production, applications, and health effects*. Advances in Food and Nutrition Research, 2005. **49**: p. 93-137.
72. Shahidi, F. and J. Synowiecki, *ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF NUTRIENTS AND VALUE-ADDED PRODUCTS FROM SNOW CRAB (CHINOECETES-OPILIO) AND SHRIMP (PANDALUS-BOREALIS) PROCESSING DISCARDS*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1991. **39**(8): p. 1527-1532.

73. Zhang, A.-J., et al., *Preparation and Characterisation of Food-Grade Chitosan from Housefly Larvae*. Czech Journal of Food Sciences, 2011. **29**(6): p. 616-623.
74. Galed, G., et al., *Application of MRI to monitor the process of ripening and decay in citrus treated with chitosan solutions*. Magn Reson Imaging, 2004. **22**(1): p. 127-37.
75. Kaya, M., et al., *Extraction and characterization of chitin and chitosan with antimicrobial and antioxidant activities from cosmopolitan Orthoptera species (Insecta)*. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 2015. **20**(1): p. 168-179.
76. Kaya, M., et al., *Physicochemical comparison of chitin and chitosan obtained from larvae and adult Colorado potato beetle (Leptinotarsa decemlineata)*. Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications, 2014. **45**: p. 72-81.
77. Kaya, M., et al., *Comparison of chitin structures isolated from seven Orthoptera species*. International Journal of Biological Macromolecules, 2015. **72**: p. 797-805.
78. Liu, S., et al., *Extraction and Characterization of Chitin from the Beetle Holotrichia parallela Motschulsky*. Molecules, 2012. **17**(4): p. 4604-4611.
79. Paulino, A.T., et al., *Characterization of chitosan and chitin produced from silkworm crysalides*. Carbohydrate Polymers, 2006. **64**(1): p. 98-103.
80. Bailey, S.E., et al., *A review of potentially low-cost sorbents for heavy metals*. Water Research, 1999. **33**(11): p. 2469-2479.
81. Dapson, R.W., *The history, chemistry and modes of action of carmine and related dyes*. Biotechnic & Histochemistry, 2007. **82**(4-5): p. 173-187.
82. IDRC, *Carmine extraction technology*. 1999, International Development Research Centre: Ottawa, Canada.
83. Wuthrich, B., M.K. Kagi, and W. Stucker, *Anaphylactic reactions to ingested carmine (E120)*. Allergy, 1997. **52**(11): p. 1133-1137.
84. Engel, P. and N.A. Moran, *The gut microbiota of insects - diversity in structure and function*. FEMS Microbiol Rev, 2013. **37**(5): p. 699-735.
85. Dillon, R.J. and V.M. Dillon, *The gut bacteria of insects: nonpathogenic interactions*. Annu Rev Entomol, 2004. **49**: p. 71-92.
86. Yun, J.H., et al., *Insect gut bacterial diversity determined by environmental habitat, diet, developmental stage, and phylogeny of host*. Appl Environ Microbiol, 2014. **80**(17): p. 5254-64.
87. Dematheis, F., et al., *Microbial communities associated with the larval gut and eggs of the Western corn rootworm*. PLoS One, 2012. **7**(10): p. e44685.
88. Jeon, H., et al., *The intestinal bacterial community in the food waste-reducing larvae of Hermetia illucens*. Curr Microbiol, 2011. **62**(5): p. 1390-9.

89. Montagna, M., et al., *Effects of the diet on the microbiota of the red palm weevil (Coleoptera: Dryophthoridae)*. PLoS One, 2015. **10**(1): p. e0117439.
90. Jung, J., et al., *Gut microbiota of Tenebrio molitor and their response to environmental change*. J Microbiol Biotechnol, 2014. **24**(7): p. 888-97.
91. Belda, E., et al., *Microbial diversity in the midguts of field and lab-reared populations of the European corn borer Ostrinia nubilalis*. PLoS One, 2011. **6**(6): p. e21751.
92. Zheng, L., et al., *A survey of bacterial diversity from successive life stages of black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) by using 16S rDNA pyrosequencing*. J Med Entomol, 2013. **50**(3): p. 647-58.
93. Fang, W., et al., *Phylogenetic analysis of bacterial community in the gut of American cockroach (Periplaneta americana)*. Wei Sheng Wu Xue Bao, 2013. **53**(9): p. 984-94.
94. Broderick, N.A., et al., *Census of the bacterial community of the gypsy moth larval midgut by using culturing and culture-independent methods*. Appl Environ Microbiol, 2004. **70**(1): p. 293-300.
95. Gupta, A.K., et al., *Phylogenetic characterization of bacteria in the gut of house flies (Musca domestica L.)*. FEMS Microbiol Ecol, 2012. **79**(3): p. 581-93.
96. Gupta, A.K., et al., *Molecular phylogenetic profiling of gut-associated bacteria in larvae and adults of flesh flies*. Med Vet Entomol, 2014. **28**(4): p. 345-54.
97. Schauer, C., C. Thompson, and A. Brune, *Pyrotag sequencing of the gut microbiota of the cockroach Shelfordella lateralis reveals a highly dynamic core but only limited effects of diet on community structure*. PLoS One, 2014. **9**(1): p. e85861.
98. Liu, N., et al., *Metagenomic insights into metabolic capacities of the gut microbiota in a fungus-cultivating termite (Odontotermes yunnanensis)*. PLoS One, 2013. **8**(7): p. e69184.
99. Otani, S., et al., *Identifying the core microbial community in the gut of fungus-growing termites*. Mol Ecol, 2014. **23**(18): p. 4631-44.
100. Kautz, S., et al., *Surveying the microbiome of ants: comparing 454 pyrosequencing with traditional methods to uncover bacterial diversity*. Appl Environ Microbiol, 2013. **79**(2): p. 525-34.
101. Tang, X., et al., *Complexity and variability of gut commensal microbiota in polyphagous lepidopteran larvae*. PLoS One, 2012. **7**(7): p. e36978.
102. Bansal, R., et al., *Hessian fly-associated bacteria: transmission, essentiality, and composition*. PLoS One, 2011. **6**(8): p. e23170.
103. Suh, S.O., N.H. Nguyen, and M. Blackwell, *Yeasts isolated from plant-associated beetles and other insects: seven novel Candida species near Candida albicans*. FEMS Yeast Res, 2008. **8**(1): p. 88-102.

104. Suh, S.O., et al., *The beetle gut: a hyperdiverse source of novel yeasts*. Mycol Res, 2005. **109**(Pt 3): p. 261-5.
105. Yu, C., et al., *Streptomyces polyrhachii sp. nov., a novel actinomycete isolated from an edible Chinese black ant (Polyrhachis vicina Roger)*. Antonie Van Leeuwenhoek, 2013. **104**(6): p. 1013-9.
106. Chaiwong, T., et al., *The blow fly, Chrysomya megacephala, and the house fly, Musca domestica, as mechanical vectors of pathogenic bacteria in Northeast Thailand*. Trop Biomed, 2014. **31**(2): p. 336-46.
107. Graczyk, T.K., R. Knight, and L. Tamang, *Mechanical transmission of human protozoan parasites by insects*. Clin Microbiol Rev, 2005. **18**(1): p. 128-32.
108. Lima, W.R., et al., *Ants in a hospital environment and their potential as mechanical bacterial vectors*. Rev Soc Bras Med Trop, 2013. **46**(5): p. 637-40.
109. Wasala, L., et al., *Transfer of Escherichia coli O157:H7 to spinach by house flies, Musca domestica (Diptera: Muscidae)*. Phytopathology, 2013. **103**(4): p. 373-80.
110. Forster, M., S. Klimpel, and K. Sievert, *The house fly (Musca domestica) as a potential vector of metazoan parasites caught in a pig-pen in Germany*. Vet Parasitol, 2009. **160**(1-2): p. 163-7.
111. McAllister, J.C., C.D. Steelman, and J.K. Skeeles, *Reservoir competence of the lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) for Salmonella typhimurium (Eubacteriales: Enterobacteriaceae)*. J Med Entomol, 1994. **31**(3): p. 369-72.
112. McAllister, J.C., et al., *Reservoir competence of Alphitobius diaperinus (Coleoptera:Tenebrionidae) for Escherichia coli (Eubacteriales:Enterobacteriaceae)*. J Med Entomol, 1996. **33**(6): p. 983-7.
113. Strother, K.O., C.D. Steelman, and E.E. Gbur, *Reservoir competence of lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) for Campylobacter jejuni (Campylobacteriales: Campylobacteraceae)*. J Med Entomol, 2005. **42**(1): p. 42-7.
114. Skov, M.N., et al., *The role of litter beetles as potential reservoir for Salmonella enterica and thermophilic Campylobacter spp. between broiler flocks*. Avian Dis, 2004. **48**(1): p. 9-18.
115. Menasria, T., et al., *Bacterial load of German cockroach (Blattella germanica) found in hospital environment*. Pathog Glob Health, 2014. **108**(3): p. 141-7.
116. Ghosh, A., et al., *Significance and survival of Enterococci during the house fly development*. J Med Entomol, 2014. **51**(1): p. 63-7.
117. Zurek, L. and A. Ghosh, *Insects represent a link between food animal farms and the urban environment for antibiotic resistance traits*. Appl Environ Microbiol, 2014. **80**(12): p. 3562-7.
118. Kampen, H., *[What makes an insect a vector?]*. Berl Munch Tierarztl Wochenschr, 2009. **122**(11-12): p. 451-7.

119. Hogenhout, S.A., et al., *Insect vector interactions with persistently transmitted viruses*. Annu Rev Phytopathol, 2008. **46**: p. 327-59.
120. Whitfield, A.E., B.W. Falk, and D. Rotenberg, *Insect vector-mediated transmission of plant viruses*. Virology, 2015. **479-480C**: p. 278-289.
121. Parola, P., B. Davoust, and D. Raoult, *Tick- and flea-borne rickettsial emerging zoonoses*. Vet Res, 2005. **36**(3): p. 469-92.
122. Wales, A.D., et al., *Review of the carriage of zoonotic bacteria by arthropods, with special reference to Salmonella in mites, flies and litter beetles*. Zoonoses Public Health, 2010. **57**(5): p. 299-314.
123. Koura, E.A. and E.G. Kamel, *A study of the protozoa associated with some harmful insects in the local environment*. J Egypt Soc Parasitol, 1990. **20**(1): p. 105-15.
124. Davari, B., S. Khodavaisy, and F. Ala, *Isolation of fungi from housefly (Musca domestica L.) at Slaughter House and Hospital in Sanandaj, Iran*. J Prev Med Hyg, 2012. **53**(3): p. 172-4.
125. Phoku, J.Z., et al., *Fungi in housefly (Musca domestica L.) as a disease risk indicator-A case study in South Africa*. Acta Trop, 2014. **140**: p. 158-65.
126. Adenusi, A.A. and T.O. Adewoga, *Human intestinal parasites in non-biting synanthropic flies in Ogun State, Nigeria*. Travel Med Infect Dis, 2013. **11**(3): p. 181-9.
127. Azambuja, P., E.S. Garcia, and N.A. Ratcliffe, *Gut microbiota and parasite transmission by insect vectors*. Trends Parasitol, 2005. **21**(12): p. 568-72.
128. Eilenberg, J., et al., *Diseases in insects produced for food and feed*. Journal of Insects as Food and Feed, 2015. **1**(2): p. 87-102.
129. Almuzara, M.N., et al., *First case of fulminant sepsis due to Wohlfahrtiimonas chitiniclastica*. J Clin Microbiol, 2011. **49**(6): p. 2333-5.
130. Rebaudet, S., et al., *Wohlfahrtiimonas chitiniclastica bacteremia in homeless woman*. Emerg Infect Dis, 2009. **15**(6): p. 985-7.
131. Lacey, E.D., *Manual of Techniques in Insect Pathology*. Biological Techniques Series. 1997, Wapato, USA: Academic Press Elsevier Science.
132. Post, K., et al., *Fly larvae and pupae as vectors for scrapie*. Lancet, 1999. **354**(9194): p. 1969-1970.
133. Ulrich, R.G., D.A. Buthala, and M.J. Klug, *Microbiota Associated with the Gastrointestinal Tract of the Common House Cricket, Acheta domestica*. Appl Environ Microbiol, 1981. **41**(1): p. 246-54.
134. Bansal, R., et al., *Pyrosequencing reveals the predominance of pseudomonadaceae in gut microbiome of a gall midge*. Pathogens, 2014. **3**(2): p. 459-72.

135. Tagliavia, M., et al., *The gut microbiota of larvae of Rhynchophorus ferrugineus Oliver (Coleoptera: Curculionidae)*. BMC Microbiol, 2014. **14**: p. 136.
136. Banjo, A.D., O.A. Lawal, and O.O. Adeduji, *Bacteria and fungi isolated from housefly (Musca domestica L.) larvae*. African Journal of Biotechnology, 2005. **4** (8): p. 780-784.
137. Banjo, A.D., O.A. Lawal, and A.I. Adeyemi, *The Microbial Fauna Associated with the Larvae of Oryctes Monocerus*. Journal of Applied Sciences Research, 2006. **2**(11): p. 837-843.
138. Nazni, W.A., et al., *Bacteria fauna from the house fly, Musca domestica (L.)*. Trop Biomed, 2005. **22**(2): p. 225-31.
139. Klunder, H.C., et al., *Microbiological aspects of processing and storage of edible insects*. Food Control, 2012. **26**(2): p. 628-631.
140. Akbari, S., et al., *Aerobic Bacterial Community of American Cockroach Periplaneta americana, a Step toward Finding Suitable Paratransgenesis Candidates*. J Arthropod Borne Dis, 2015. **9**(1): p. 35-48.
141. Duarte, A.P., et al., *Leaf-cutting ants: an unexpected microenvironment holding human opportunistic black fungi*. Antonie Van Leeuwenhoek, 2014. **106**(3): p. 465-73.
142. Pagnocca, F.C., et al., *Yeasts and filamentous fungi carried by the gynes of leaf-cutting ants*. Antonie Van Leeuwenhoek, 2008. **94**(4): p. 517-26.
143. McFrederick, Q.S., U.G. Mueller, and R.R. James, *Interactions between fungi and bacteria influence microbial community structure in the Megachile rotundata larval gut*. Proc Biol Sci, 2014. **281**(1779): p. 20132653.
144. Haeder, S., et al., *Candidicin-producing Streptomyces support leaf-cutting ants to protect their fungus garden against the pathogenic fungus Escovopsis*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009. **106**(12): p. 4742-6.
145. Guedes, F.L., D. Attili-Angelis, and F.C. Pagnocca, *Selective isolation of dematiaceous fungi from the workers of Atta laevigata (Formicidae: Attini)*. Folia Microbiol (Praha), 2012. **57**(1): p. 21-6.
146. Cazemier, A.E., et al., *Bacteria in the Intestinal Tract of Different Species of Arthropods*. Microb Ecol, 1997. **33**(3): p. 189-97.
147. Douglas, A.E., *Multiorganismal insects: diversity and function of resident microorganisms*. Annu Rev Entomol, 2015. **60**: p. 17-34.
148. Colman, D.R., E.C. Toolson, and C.D. Takacs-Vesbach, *Do diet and taxonomy influence insect gut bacterial communities?* Mol Ecol, 2012. **21**(20): p. 5124-37.
149. Liang, X., et al., *Microbial shifts of the silkworm larval gut in response to lettuce leaf feeding*. Appl Microbiol Biotechnol, 2014. **98**(8): p. 3769-76.
150. Perez-Cobas, A.E., et al., *Diet shapes the gut microbiota of the omnivorous cockroach Blattella germanica*. FEMS Microbiol Ecol, 2015. **91**(4).

151. Vojvodic, S., S.M. Rehan, and K.E. Anderson, *Microbial gut diversity of Africanized and European honey bee larval instars*. PLoS One, 2013. **8**(8): p. e72106.
152. Singh, B., et al., *A metagenomic assessment of the bacteria associated with *Lucilia sericata* and *Lucilia cuprina* (Diptera: Calliphoridae)*. Appl Microbiol Biotechnol, 2015. **99**(2): p. 869-83.
153. Moll, R.M., et al., *Meconial peritrophic membranes and the fate of midgut bacteria during mosquito (Diptera: Culicidae) metamorphosis*. J Med Entomol, 2001. **38**(1): p. 29-32.
154. Stoops, J., et al., *Microbial community assessment of mealworm larvae (*Tenebrio molitor*) and grasshoppers (*Locusta migratoria migratorioides*) sold for human consumption*. Food microbiology, 2016. **53**: p. 122-127.
155. Nishimune, T., et al., *Thiamin is decomposed due to *Anaphe* spp. entomophagy in seasonal ataxia patients in Nigeria*. J Nutr, 2000. **130**(6): p. 1625-8.
156. Karras, D.J., et al., *Poisoning from "Spanish fly" (cantharidin)*. Am J Emerg Med, 1996. **14**(5): p. 478-83.
157. Till, J.S. and B.N. Majmudar, *Cantharidin poisoning*. South Med J, 1981. **74**(4): p. 444-7.
158. Tagwireyi, D., et al., *Cantharidin poisoning due to "Blister beetle" ingestion*. Toxicol, 2000. **38**(12): p. 1865-9.
159. Brown, W.V., et al., *Chemical Composition and Taxonomic Significance of Defensive Secretions of Some Australian Tenebrionidae (Coleoptera)* J. Aust. ent. Soc., 1992. **31**: p. 79-89.
160. Zagrobelny, M., et al., *Toxic Moths: Source of a Truly Safe Delicacy*. Journal of Ethnobiology, 2009. **29**(1): p. 64-76.
161. Omotoso, O.T., *Nutritional quality, functional properties and anti-nutrient compositions of the larva of *Cirina forda* (Westwood) (Lepidoptera: Saturniidae)*. J Zhejiang Univ Sci B, 2006. **7**(1): p. 51-5.
162. Ekop, E.A., A.I. Udoh, and P.E. Akpan, *Proximate and anti-nutrient composition of four edible insects in Akwa Ibom State, Nigeria*. World Journal of Applied Science and Technology, 2010. **2**(2): p. 224-231.
163. Ekpo, K.E., *Nutrient composition, functional properties and anti-nutrient content of *Rhynchophorus phoenicis* (F) larva*. Annals of Biological Research, 2010. **1**(1): p. 178-190.
164. Ajayi, O.E., *Biochemical analyses and nutritional content of four castes of subterranean termites, *Macrotermes subhyalinus* (Rambur) (Isoptera: Termitidae): differences in digestibility and anti-nutrient contents among castes*. International Journal of Biology, 2012. **4**(4): p. 54-59.
165. Shantibala, T., R.K. Lokeshwari, and H. Debaraj, *Nutritional and antinutritional composition of the five species of aquatic edible insects consumed in Manipur, India*. Journal of Insect Science, 2014. **14**.

166. DeFoliart, G., *Insects as food: Why the Western attitude is important*. Annual Review of Entomology, 1999. **44**: p. 21-50.
167. Ji, K.M., et al., *Anaphylactic shock caused by silkworm pupa consumption in China*. Allergy, 2008. **63**(10): p. 1407-8.
168. Yew, K.L. and V.S. Kok, *Exotic food anaphylaxis and the broken heart: sago worm and takotsubo cardiomyopathy*. Med J Malaysia, 2012. **67**(5): p. 540-1.
169. Choi, G.S., et al., *Five cases of food allergy to vegetable worm (Cordyceps sinensis) showing cross-reactivity with silkworm pupae*. Allergy, 2010. **65**(9): p. 1196-7.
170. Leung, P.S., et al., *IgE reactivity against a cross-reactive allergen in crustacea and mollusca: evidence for tropomyosin as the common allergen*. J Allergy Clin Immunol, 1996. **98**(5 Pt 1): p. 954-61.
171. Kamath, S.D., et al., *Impact of heat processing on the detection of the major shellfish allergen tropomyosin in crustaceans and molluscs using specific monoclonal antibodies*. Food Chem, 2013. **141**(4): p. 4031-9.
172. Hemmer, W., *Insects as a cause for allergic reactions*. Denisia, 2010(30): p. 381-409.
173. Reese, G., R. Ayuso, and S.B. Lehrer, *Tropomyosin: An invertebrate pan-allergen*. International Archives of Allergy and Immunology, 1999. **119**(4): p. 247-258.
174. Verhoeckx, K.C.M., et al., *House dust mite (Der p 10) and crustacean allergic patients may react to food containing Yellow mealworm proteins*. Food and Chemical Toxicology, 2014. **65**: p. 364-373.
175. Calderon, M.A., et al., *Respiratory allergy caused by house dust mites: What do we really know?* J Allergy Clin Immunol, 2015. **136**(1): p. 38-48.
176. Pomes, A. and L.K. Arruda, *Investigating cockroach allergens: aiming to improve diagnosis and treatment of cockroach allergic patients*. Methods, 2014. **66**(1): p. 75-85.
177. Fukutomi, Y. and M. Taniguchi, *Sensitization to fungal allergens: Resolved and unresolved issues*. Allergol Int, 2015. **64**(4): p. 321-31.
178. Commins, S.P. and T.A. Platts-Mills, *Delayed anaphylaxis to red meat in patients with IgE specific for galactose alpha-1,3-galactose (alpha-gal)*. Curr Allergy Asthma Rep, 2013. **13**(1): p. 72-7.
179. Platts-Mills, T.A., et al., *Anaphylaxis to the carbohydrate side chain alpha-gal*. Immunol Allergy Clin North Am, 2015. **35**(2): p. 247-60.
180. Chung, K., et al., *Identification of carmine allergens among three carmine allergy patients*. Allergy, 2001. **56**(1): p. 73-77.
181. Dubey, L.K., et al., *Chitin enhances serum IgE in Aspergillus fumigatus induced allergy in mice*. Immunobiology, 2015. **220**(6): p. 714-21.

182. Zakzuk, J., et al., *The influence of chitin on the immune response to the house dust mite allergen Blo T 12*. Int Arch Allergy Immunol, 2014. **163**(2): p. 119-29.
183. Moura, F.T., et al., *Effects of a chitin-binding vicilin from Enterolobium contortisiliquum seeds on bean bruchid pests (Callosobruchus maculatus and Zabrotes subfasciatus) and phytopathogenic fungi (Fusarium solani and Colletrichum lindemuntianum)*. J Agric Food Chem, 2007. **55**(2): p. 260-6.
184. Macedo, L.L., et al., *Larvicidal effects of a chitin-binding vicilin from Erythrina velutina seeds on the mediterranean fruit fly Ceratitis capitata*. J Agric Food Chem, 2008. **56**(3): p. 802-8.
185. Burks, A.W., et al., *Recombinant peanut allergen Ara h I expression and IgE binding in patients with peanut hypersensitivity*. J Clin Invest, 1995. **96**(4): p. 1715-21.
186. Holzhauser, T., et al., *Soybean (Glycine max) allergy in Europe: Gly m 5 (beta-conglycinin) and Gly m 6 (glycinin) are potential diagnostic markers for severe allergic reactions to soy*. J Allergy Clin Immunol, 2009. **123**(2): p. 452-8.
187. Broekman, H., et al., *Effect of thermal processing on mealworm allergenicity*. Mol Nutr Food Res, 2015. **59**(9): p. 1855-64.
188. van Broekhoven, S., et al., *Influence of processing and in vitro digestion on the allergic cross-reactivity of three mealworm species*. Food Chem, 2016. **196**: p. 1075-83.
189. Verhoeckx, K.C., et al., *Food processing and allergenicity*. Food Chem Toxicol, 2015. **80**: p. 223-40.
190. King, C., H.I. Jones, and C.Y. Tay, *Arthropod intermediate hosts of Abbreviata antarctica (Nematoda: Physalopteridae) in Australia*. J Parasitol, 2013. **99**(4): p. 708-11.
191. Nai, Y.S., et al., *A new spiroplasma isolate from the field cricket (Gryllus bimaculatus) in Taiwan*. J Invertebr Pathol, 2014. **120**: p. 4-8.
192. Zhao, Y., Z.H. Zhang, and G.J. Wang, *Identification of the intestinal bacteria in Locusta migratoria manilensis and their antagonism to Metarhizium anisopliae*. Plant Protection, 2008. **34**: p. 69-72.
193. Shi, W., et al., *Unveiling the mechanism by which microsporidian parasites prevent locust swarm behavior*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2014. **111**(4): p. 1343-8.
194. Nunamaker, R.A., et al., *Grasshoppers (Orthoptera: Acrididae) could serve as reservoirs and vectors of vesicular stomatitis virus*. J Med Entomol, 2003. **40**(6): p. 957-63.
195. Dillon, R. and K. Charnley, *Mutualism between the desert locust Schistocerca gregaria and its gut microbiota*. Res Microbiol, 2002. **153**(8): p. 503-9.
196. Hunt, J. and K.A. Charnley, *Abundance and distribution of the gut flora of the desert locust, Schistocerca gregaria*. Journal of Invertebrate Pathology, 1981. **38**(3): p. 378-385.

197. Stevenson, J.P., *The normal bacterial flora of the alimentary canal of laboratory stocks of the desert locust, Schistocerca gregaria Forskal.* J Invertebr Pathol, 1966. **8**(2): p. 205-11.
198. Stevenson, J.P., *Motile streptococci from the desert locust, Schistocerca gregaria.* J Invertebr Pathol, 1966. **8**(2): p. 258-9.
199. Cappellozza, S., et al., *Identification of Enterococcus mundtii as a pathogenic agent involved in the "flacherie" disease in Bombyx mori L. larvae reared on artificial diet.* J Invertebr Pathol, 2011. **106**(3): p. 386-93.
200. Xiang, H., et al., *Bacterial community in midguts of the silkworm larvae estimated by PCR-DGGE and 16S rDNA gene library analysis.* Acta Entomologica Sinica, 2007. **50**(3): p. 222-232.
201. Evans, B.A. and D.E. Rozen, *A Streptococcus pneumoniae infection model in larvae of the wax moth Galleria mellonella.* Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2012. **31**(10): p. 2653-60.
202. Fedhila, S., et al., *Comparative analysis of the virulence of invertebrate and mammalian pathogenic bacteria in the oral insect infection model Galleria mellonella.* J Invertebr Pathol, 2010. **103**(1): p. 24-9.
203. Glavis-Bloom, J., M. Muhammed, and E. Mylonakis, *Of model hosts and man: using Caenorhabditis elegans, Drosophila melanogaster and Galleria mellonella as model hosts for infectious disease research.* Adv Exp Med Biol, 2012. **710**: p. 11-7.
204. Mylonakis, E., *Galleria mellonella and the study of fungal pathogenesis: making the case for another genetically tractable model host.* Mycopathologia, 2008. **165**(1): p. 1-3.
205. Simpanya, M.F., J. Allotey, and S.F. Mpuchane, *A mycological investigation of phane, an edible caterpillar of an emperor moth, Imbrasia belina.* J Food Prot, 2000. **63**(1): p. 137-40.
206. Bates, C., K.L. Hiett, and N.J. Stern, *Relationship of Campylobacter isolated from poultry and from darkling beetles in New Zealand.* Avian Dis, 2004. **48**(1): p. 138-47.
207. Crippen, T.L., et al., *The acquisition and internalization of Salmonella by the lesser mealworm, Alphitobius diaperinus (Coleoptera: Tenebrionidae).* Vector Borne Zoonotic Dis, 2009. **9**(1): p. 65-72.
208. Hazeleger, W.C., et al., *Darkling beetles (Alphitobius diaperinus) and their larvae as potential vectors for the transfer of Campylobacter jejuni and Salmonella enterica serovar paratyphi B variant Java between successive broiler flocks.* Appl Environ Microbiol, 2008. **74**(22): p. 6887-91.
209. Leffer, A.M., et al., *Vectorial competence of larvae and adults of Alphitobius diaperinus in the transmission of Salmonella enteritidis in poultry.* Vector Borne Zoonotic Dis, 2010. **10**(5): p. 481-487.

210. Roche, A.J., et al., *Transmission of Salmonella to broilers by contaminated larval and adult lesser mealworms, Alphitobius diaperinus (Coleoptera: Tenebrionidae)*. *Poult Sci*, 2009. **88**(1): p. 44-8.
211. Zheng, L., et al., *Evaluation of Salmonella movement through the gut of the lesser mealworm, Alphitobius diaperinus (Coleoptera: Tenebrionidae)*. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 2012. **12**(4): p. 287-92.
212. McAllister, J.C., et al., *Isolation of infectious bursal disease virus from the lesser mealworm, Alphitobius diaperinus (Panzer)*. *Poult Sci*, 1995. **74**(1): p. 45-9.
213. Goodwin, M.A. and W.D. Waltman, *Transmission of Eimeria, Viruses, and Bacteria to Chicks: Darkling Beetles (Alphitobius diaperinus) as Vectors of Pathogens*. *J Appl Poult Res*, 1996. **5**(1).
214. Watson, D.W., J.S. Guy, and S.M. Stringham, *Limited transmission of turkey coronavirus in young turkeys by adult Alphitobius diaperinus (Coleoptera: Tenebrionidae)*. *J Med Entomol*, 2000. **37**(3): p. 480-3.
215. Crippen, T.L., et al., *Transient gut retention and persistence of Salmonella through metamorphosis in the lesser mealworm, Alphitobius diaperinus (Coleoptera: Tenebrionidae)*. *J Appl Microbiol*, 2012. **112**(5): p. 920-6.
216. Fischer, O.A., et al., *Beetles as possible vectors of infections caused by Mycobacterium avium species*. *Vet Microbiol*, 2004. **102**(3-4): p. 247-55.
217. Lee, J.K., et al., *Wohlfahrtiimonas larvae sp. nov., isolated from the larval gut of Hermetia illucens (Diptera: Stratiomyidae)*. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2014. **105**(1): p. 15-21.
218. Zheng, L., et al., *Bacteria mediate oviposition by the black soldier fly, Hermetia illucens (L.), (Diptera: Stratiomyidae)*. *Sci Rep*, 2013. **3**: p. 2563.
219. Lalander, C., et al., *Faecal sludge management with the larvae of the black soldier fly (Hermetia illucens)--from a hygiene aspect*. *Sci Total Environ*, 2013. **458-460**: p. 312-8.
220. Lalander, C.H., et al., *High waste-to-biomass conversion and efficient Salmonella spp. reduction using black soldier fly for waste recycling*. *Agronomy for Sustainable Development*, 2015. **35**(1): p. 261-271.
221. De Jesus, A.J., et al., *Quantitative contamination and transfer of Escherichia coli from foods by houseflies, Musca domestica L. (Diptera: Muscidae)*. *Int J Food Microbiol*, 2004. **93**(2): p. 259-62.
222. Farag, T.H., et al., *Housefly population density correlates with shigellosis among children in Mirzapur, Bangladesh: a time series analysis*. *PLoS Negl Trop Dis*, 2013. **7**(6): p. e2280.
223. Fotedar, R., et al., *Vector potential of hospital houseflies with special reference to Klebsiella species*. *Epidemiol Infect*, 1992. **109**(1): p. 143-7.

224. Joyner, C., M.K. Mills, and D. Nayduch, *Pseudomonas aeruginosa* in *Musca domestica* L.: temporospatial examination of bacteria population dynamics and house fly antimicrobial responses. PLoS One, 2013. **8**(11): p. e79224.
225. Rahuma, N., et al., *Carriage by the housefly (Musca domestica) of multiple-antibiotic-resistant bacteria that are potentially pathogenic to humans, in hospital and other urban environments in Misurata, Libya*. Ann Trop Med Parasitol, 2005. **99**(8): p. 795-802.
226. Sola-Gines, M., et al., *Houseflies (Musca domestica) as Vectors for Extended-Spectrum beta-Lactamase-Producing Escherichia coli on Spanish Broiler Farms*. Appl Environ Microbiol, 2015. **81**(11): p. 3604-11.
227. Wang, Y.C., et al., *Transmission of Salmonella between swine farms by the housefly (Musca domestica)*. J Food Prot, 2011. **74**(6): p. 1012-6.
228. Zurek, L., et al., *Vector competence of Musca domestica (Diptera: Muscidae) for Yersinia pseudotuberculosis*. J Med Entomol, 2001. **38**(2): p. 333-5.
229. Nielsen, A.A., et al., *Persistence of low-pathogenic avian influenza H5N7 and H7N1 subtypes in house flies (Diptera: Muscidae)*. J Med Entomol, 2011. **48**(3): p. 608-14.
230. Fotedar, R., *Vector potential of houseflies (Musca domestica) in the transmission of Vibrio cholerae in India*. Acta Trop, 2001. **78**(1): p. 31-4.
231. Bouamama, L., et al., *Antibiotic resistance patterns of bacterial strains isolated from Periplaneta americana and Musca domestica in Tangier, Morocco*. J Infect Dev Ctries, 2010. **4**(4): p. 194-201.
232. Szalanski, A.L., et al., *Detection of Campylobacter and Escherichia coli O157:H7 from filth flies by polymerase chain reaction*. Med Vet Entomol, 2004. **18**(3): p. 241-6.
233. Elgderi, R.M., K.S. Ghenghesh, and N. Berbash, *Carriage by the German cockroach (Blattella germanica) of multiple-antibiotic-resistant bacteria that are potentially pathogenic to humans, in hospitals and households in Tripoli, Libya*. Ann Trop Med Parasitol, 2006. **100**(1): p. 55-62.
234. Pai, H.H., W.C. Chen, and C.F. Peng, *Cockroaches as potential vectors of nosocomial infections*. Infect Control Hosp Epidemiol, 2004. **25**(11): p. 979-84.
235. Salehzadeh, A., P. Tavacol, and H. Mahjub, *Bacterial, fungal and parasitic contamination of cockroaches in public hospitals of Hamadan, Iran*. J Vector Borne Dis, 2007. **44**(2): p. 105-10.
236. Wannigama, D.L., R. Dwivedi, and A. Zahraei-Ramazani, *Prevalence and Antibiotic Resistance of Gram-Negative Pathogenic Bacteria Species Isolated from Periplaneta americana and Blattella germanica in Varanasi, India*. J Arthropod Borne Dis, 2014. **8**(1): p. 10-20.
237. Isaac, C., et al., *Comparative analysis of pathogenic organisms in cockroaches from different community settings in Edo State, Nigeria*. Korean J Parasitol, 2014. **52**(2): p. 177-81.

238. Heinz, G. and P. Hautzinger, *Meat processing technology for small- to medium-scale producers*, F.R.O.f.A.a.t.P. (RAP), Editor. 2007, FAO Regional Office for Asia and the Pacific (RAP): Bangkok.
239. Saxholt, E., et al., *Danish Food Composition Databank 2009*, Department of Nutrition, National Food Institute, Technical University of Denmark.
240. Finke, M.D., *Estimate of chitin in raw whole insects*. Zoo Biology, 2007. **26**(2): p. 105-115.