

Ringversuch zum Nachweis von Trichinellen in Fleisch (2013)

Bericht des Nationalen Referenzlabors für Trichinellose

Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR)
Fachgruppe 45
Diedersdorfer Weg 1
12277 Berlin

Dr. Anne Mayer-Scholl
Tel.: 030-18412-2057
e-mail: anne.mayer-scholl@bfr.bund.de

Frau Sabine Reckinger
Tel.: 030-18412-2073
e-mail: sabine.reckinger@bfr.bund.de

PD Dr. Karsten Nöckler
Tel.: 030-18412-2053
Fax: 030-18412-2000
e-mail: karsten.noeckler@bfr.bund.de

1 Einleitung

Von ca. 563 Millionen Hausschweinen, die von 2002 bis 2012 in Deutschland auf Trichinellen untersucht wurden, waren 7 Tiere aus Freilandhaltung *Trichinella* (*T.*)-positiv. Bei allen Schweinen handelte es sich um eine Infektion mit *T. spiralis*. Bei den in dem Zeitraum untersuchten ca. 113.000 Schlachtpferden aus Deutschland wurden Trichinellen nicht nachgewiesen (Statistisches Bundesamt, Fachserie 3, Reihe 4.3).

Dagegen sind im silvatischen Zyklus verschiedene *Trichinella*-Spezies weiter verbreitet. Die Untersuchungen von ca. 3,8 Millionen Wildschweinen in Deutschland im Zeitraum von 2002 bis 2012 ergaben 110 *Trichinella*-positive Tiere, welches einer Prävalenz von 0,003 % entspricht. 81 der Isolate wurden ans NRL für Trichinellose eingesandt und eine Speziesbestimmung durchgeführt. Bei 71% der Wildschweine wurde *T. spiralis* identifiziert, gefolgt von *T. pseudospiralis* mit 19% und *T. britovi* mit 7%. Obwohl die Anzahl Trichinellen-positiver Wildschweine eher niedrig ist, können diese eine Gefahrenquelle für den Menschen darstellen, wenn das Fleisch solcher Tiere ohne oder nach fehlerhafter Kontrolle in den Verkehr gelangt. Dies zeigte sich im April 2013, als Fleisch eines mit Trichinellen befallenen Wildschweins zu kurzgereiften Knackern verarbeitet wurde und zu einem Trichinelloseausbruch in Sachsen führte.

Die amtliche Untersuchung auf Trichinellen nach VO (EG) Nr. 2075/2005 muss gemäß der VO (EG) Nr. 882/2004 nur von dafür akkreditierten Laboratorien erfolgen. Ausnahmen und Übergangsregelungen sind in den VO (EG) Nr. 1162/2009 und VO (EG) Nr. 702/2013 beschrieben. Im Rahmen der Akkreditierung sind Trichinenuntersuchungsstellen verpflichtet, regelmäßig an Ringversuchen teilzunehmen. Zu diesem Zweck wurde vom Nationalen Referenzlabor für Trichinellose des Bundesinstituts für Risikobewertung mit 108 Laboratorien ein deutschlandweiter Ringversuch durchgeführt. Von jedem Teilnehmer waren insgesamt 6 anonymisierte Fleischproben, davon 2 negative und 4 positive Proben mit 3, 5, 11 bzw. 16 Trichinellen zu untersuchen. Die Auswertung erfolgte qualitativ nach der Anzahl der richtigen bzw. falschen Ergebnisse und quantitativ auf Grundlage der Bestimmung des Toleranzbereiches für die Anzahl der Trichinellen in den einzelnen positiven Fleischproben. Ferner sollten die eingesetzten Auswertungsmethoden (Trichinoskop oder Stereomikroskop) und die Vollständigkeit des Verdauungsvorgangs beurteilt werden.

2 Material und Methoden

2.1 Versuchstiere und Muskelproben

Zur Gewinnung des trichinösen Fleisches wurde ein Schwein (Rasse Deutsches Edelschwein) mit ca. 40.000 *Trichinella spiralis* Muskellarven (Referenzstamm ISS 003 aus der Muskulatur eines infizierten Meerschweinchens) infiziert. 16 Wochen nach der Infektion wurde das Schwein elektrisch betäubt und entblutet. Nach der Probenentnahme wurden die zerlegten Teile im Kühlraum bei 4°C bis zur weiteren Verwendung aufbewahrt.

Es wurden Proben von 9 verschiedenen Muskeln nach dem Prinzip der künstlichen Verdauung mit dem Magnetrührverfahren auf *Trichinella*-Larven untersucht und die Larven-Befallsrate, d.h. die Anzahl der Larven pro g Muskulatur (LpG) aus jeweils 100 g der Probe bestimmt. Für die untersuchten Muskelpartien wurden folgende Befallsraten ermittelt: Zwerchfellpfeiler 821, Zunge 839, Kaumuskulatur 347, Schulter 230, Vorderbein 294, Bauch 234, Zwischenrippe 229, Kotelett 156 und Schinken 161 LpG.

Ringversuchsmaterial

Zur Herstellung der *Trichinella*-positiven Proben wurden für jeden Durchgang *T. spiralis* Larven mittels Digestion aus dem Muskelfleisch des infizierten Hausschweins gewonnen. Negatives Fleisch wurde mit einer Moulinette zerkleinert und in 10 g große Klopse geformt. Eine genau abgezählte Anzahl Larven wurde mit einer Pipette in die Klopse verbracht. Für den Ringversuch

wurden pro Teilnehmer insgesamt 6 Proben vorbereitet. Bei diesen Proben handelte es sich um 4 *Trichinella*-positive und 2 *Trichinella*-negative Proben (Tabelle 1).

Tabelle 1: Status der Proben für den Ringversuch

Probe Nr.	Status	Sollwert (LpG)
1	positiv	16
2	positiv	5
3	positiv	11
4	negativ	0
5	negativ	0
6	positiv	3

Jede Probe wurde in einen Plastikbeutel verpackt und entsprechend nummeriert. Alle Proben wurden bis zum Versand im Kühlraum bei 4°C gelagert. Jede codierte Probe sollte mit 90 g Füllmaterial (negatives Schweinefleisch) pro Ansatz untersucht werden. Die Ringversuchsproben (10 g Klopse) sollten nicht nochmals im Mixer zerkleinert sondern direkt in die Digestionsflüssigkeit gegeben und am Rand des Becherglases mit einer Gabel leicht zerdrückt werden.

Die quantitative Auswertung zur ermittelten Larvenzahl erfolgte nach der ISO 13528 (Ausgabe 2005) auf der Grundlage der Berechnung des z-score. Mit dem z-score wird die Anzahl der Standardabweichungen angegeben, um die der Messwert ober- oder unterhalb des Sollwertes liegt. Für die Probe 2 (5 Larven) wurde eine tolerierbare Abweichung von 50% zugrunde gelegt. Für die Proben 3 (11 Larven) und 1 (16 Larven) betrug die tolerierbare Abweichung 30% (Tabelle 2). Für die Probe 6 mit nur 3 Larven ist der z-score nicht anwendbar, es sollte jedoch mindestens eine Larve gefunden werden.

Tabelle 2: Bewertung der quantitativen Ergebnisse nach dem z-score.

Bewertung der quantitativen Ergebnisse für die Probe 1 (Sollwert 16 Larven)

(n) Larven	11	12	13	14	15-17	18	19	20	21
z-score	-3,1	-2,5	-1,9	-1,3	+0,6	1,3	1,9	2,5	3,1

Bewertung der quantitativen Ergebnisse für die Probe 2 (Sollwert 5 Larven)

(n) Larven	1	2	3	4	5	6	7	8	9
z-score	-4,8	-3,6	-2,4	-1,2	0	1,2	2,4	3,6	4,8

Bewertung der quantitativen Ergebnisse für die Probe 3 (Sollwert 11 Larven)

(n) Larven	7	8	9	10	11	12	13	14	15
z-score	-3,6	-2,7	-1,8	-0,9	0	0,9	1,8	2,7	3,6

grün = Ergebnis liegt im Toleranzbereich ($-2 \leq z \leq 2$)

gelb = Ergebnis liegt im grenzwertigen Bereich ($-3 \leq z < -2$ und $2 < z \leq 3$)

rot = Ergebnis liegt nicht im Toleranzbereich ($z < -3$ und $z > 3$)

Den Ringversuchsteilnehmern wurde der Versand der Proben etwa 6 Wochen im Voraus angekündigt und nähere Informationen zur Untersuchung der Proben und Auswertung gegeben. Der Versand der Proben erfolgte in speziellen Gefahrgutbehältern (Bio-Bottle 2,4l, Klasse 6.2) mit einer Versandfirma. Die Proben waren mit einer für die Trichinenuntersuchung beim Schwein vorgeschriebenen Methode der künstlichen Verdauung zu untersuchen. Innerhalb von 3 Wochen nach dem Erhalt der Proben mussten die Ergebnisse auf einem vorbereiteten Formblatt an das BfR zurückgesendet werden.

2.2 Ringversuchsteilnehmer

Insgesamt nahmen 108 Labore aus allen 16 Bundesländern an dem Ringversuch teil. Von 4 Teilnehmern wurden die Ergebnisse erst nach Ende der Einsendefrist übersandt, die Ergebnisse wurden trotzdem in die Auswertung mit aufgenommen.

2.3 Auswertung der Ergebnisse

Die Auswertung erfolgte für jeden Teilnehmer nach der Anzahl der richtig erkannten *Trichinella*-positiven bzw. -negativen Muskelproben sowie der Zahl der falsch-positiven und falsch-negativen Ergebnisse (qualitative Auswertung). Weiterhin wurden die Ergebnisse jedes Teilnehmers zur Anzahl der Larven mit dem errechneten Toleranzbereich verglichen (quantitative Auswertung).

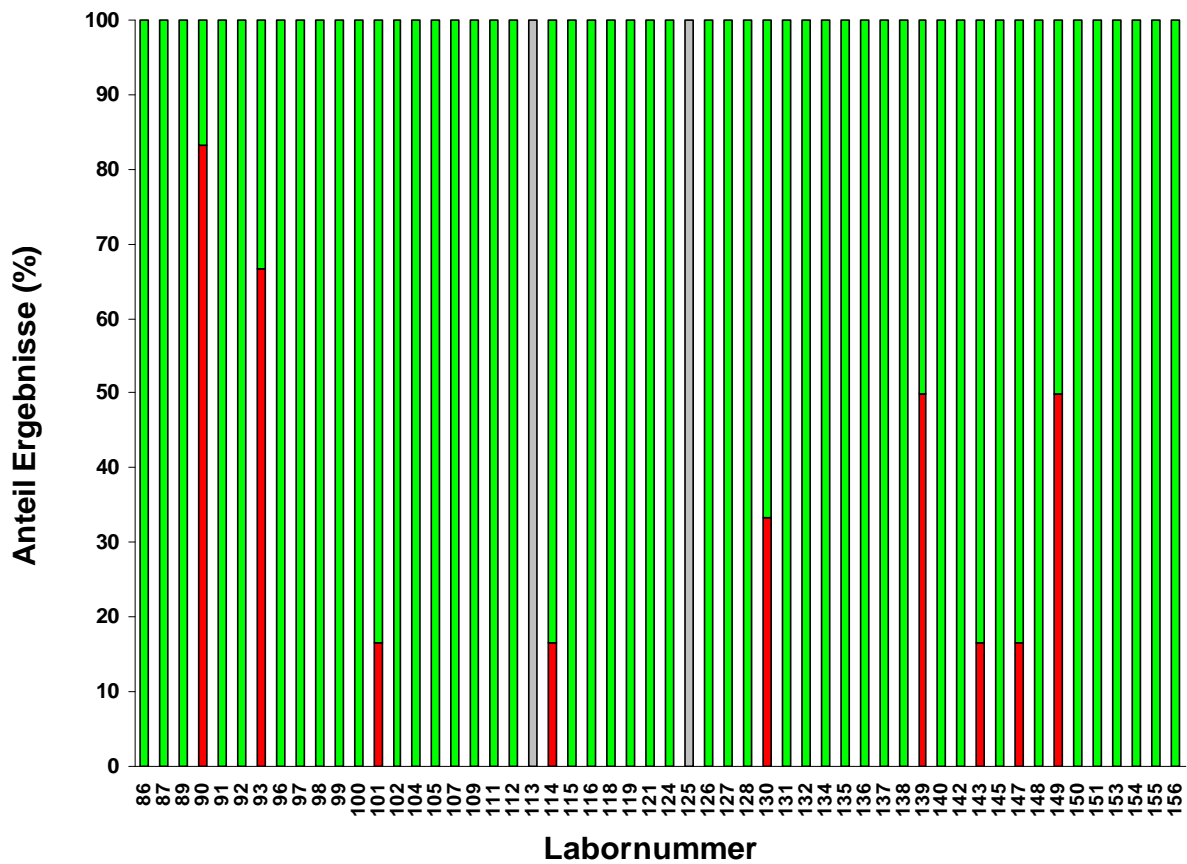
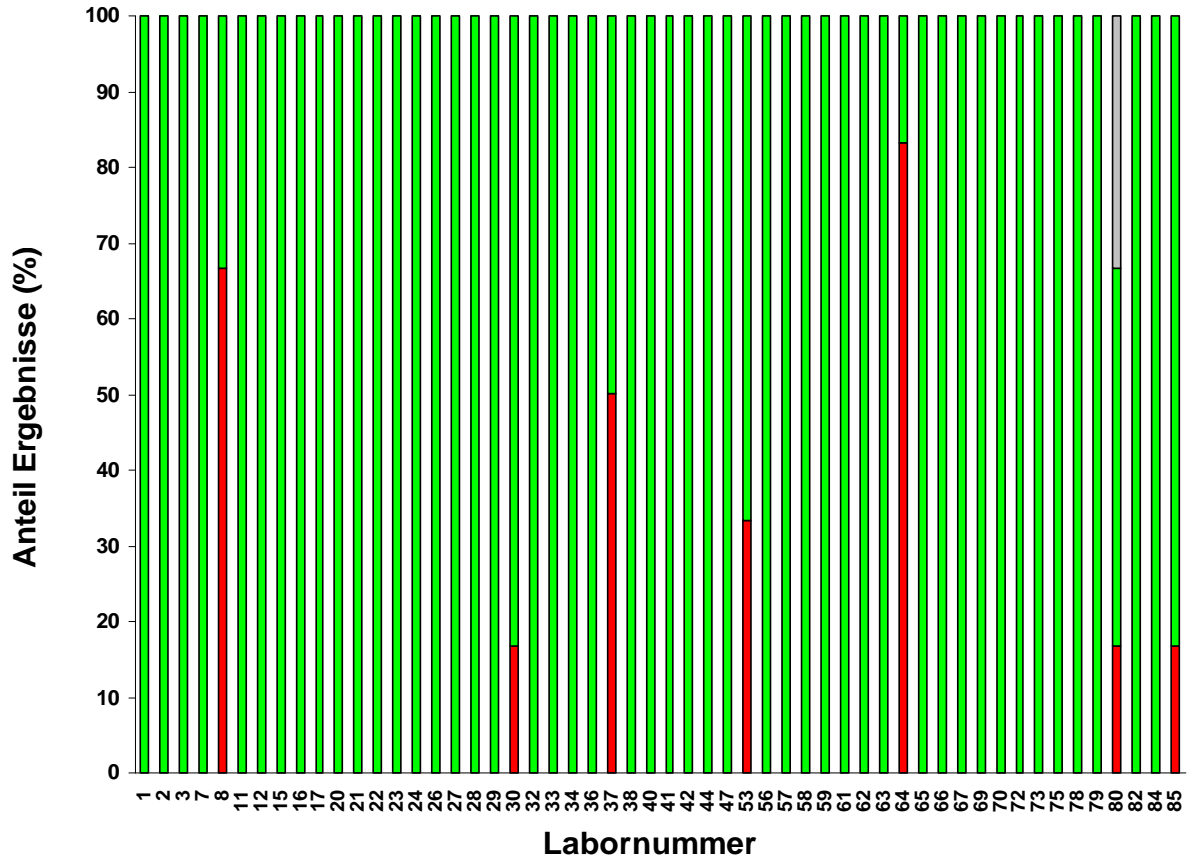
3. Ergebnisse

3.1 Qualitative Auswertung

106 Teilnehmer führten das Magnetrührverfahren nach dem Prinzip der künstlichen Verdauung durch, zwei Teilnehmer verwendeten den Trichomatic-35®. Bei 58 % aller Teilnehmer erfolgte die Auswertung der Proben mit einem Stereomikroskop. 40 % der Teilnehmer benutzten ein Trichinoskop, zwei Labore machten keine Angaben. Die durchschnittliche Anzahl der gefundenen Larven unterschied sich nicht signifikant bei den eingesetzten Auswertungsmethoden (Trichinoskop 74 % aller Larven gefunden, Stereomikroskop 77 %).

Um die Vollständigkeit des Verdauungsvorgangs zu beurteilen, sollte die Menge des unverdauten Restmaterials auf dem Sieb bestimmt werden. 97 % (105) aller Teilnehmer machten Mengenangaben für alle 6 Proben, ein Labor machte Angaben für vier Proben. Zwei Labore konnten auf Grund der technischen Gegebenheiten des eingesetzten TM 35 Geräts kein Gewicht an unverdautem Material angeben. Bei 92 (85 %) der Teilnehmer wurde bei keiner der untersuchten Proben mehr als 5 g Restmaterial ermittelt. Bei 12 Laboren (11 %) wiesen ein bis drei untersuchte Proben eine erhöhte Menge unverdauten Materials auf, bei 4 Laboren (4 %) wurde bei mindestens vier Proben mehr als 5 g Restmaterial gefunden (Abbildung 1A und B). Der durchschnittliche Anteil gefundener Larven bei Proben mit weniger als 5 g Restmaterial (95% CI=0.73-0.76) lag signifikant über dem Anteil gefundener Larven bei Proben mit mehr als 5 g Restmaterial (95% CI=0.59-0.72).

Abbildung 1A und B: Prozentualer Anteil vollständig verdauter Proben



Zeichenerklärung: rot = >5 g Restmaterial; grün = <5 g Restmaterial, grau = Menge des Restmaterials nicht bestimmt.

Auch sollte die Morphologie der gefundenen Larven beurteilt werden. Es wurde unterschieden zwischen beweglichen und/oder eingerollten Larven und Larven, welche in offener Form vorlagen und unbeweglich waren. 3 Teilnehmer machten keine oder unvollständige Angaben zur Form der Larven. 94 % der gefundenen Larven wurden als lebend erkannt (Spannweite 27-100%, Median 100%).

Von den zu bewertenden 432 *Trichinella*-positiven Proben wurden Larven in 416 Proben (96 %) gefunden. 16 Ergebnisse erwiesen sich als falsch-negativ (4 %). Von den 216 negativen Proben wurden 213 (99 %) korrekt und 3 als falsch-positiv (1 %) beurteilt.

Bei den im Magnetrührverfahren ermittelten 16 falsch-negativen Ergebnissen handelte es sich in einem Fall (6 %) um die Probe 3 (Sollwert 11 L), in 2 Fällen (13 %) um die Probe 1 (Sollwert 16 L), in 3 Fällen (19 %) um die Probe 2 (Sollwert 5 L) und in 10 Fällen (62 %) um die Probe 6 (Sollwert 6 L), siehe Abbildung 2.

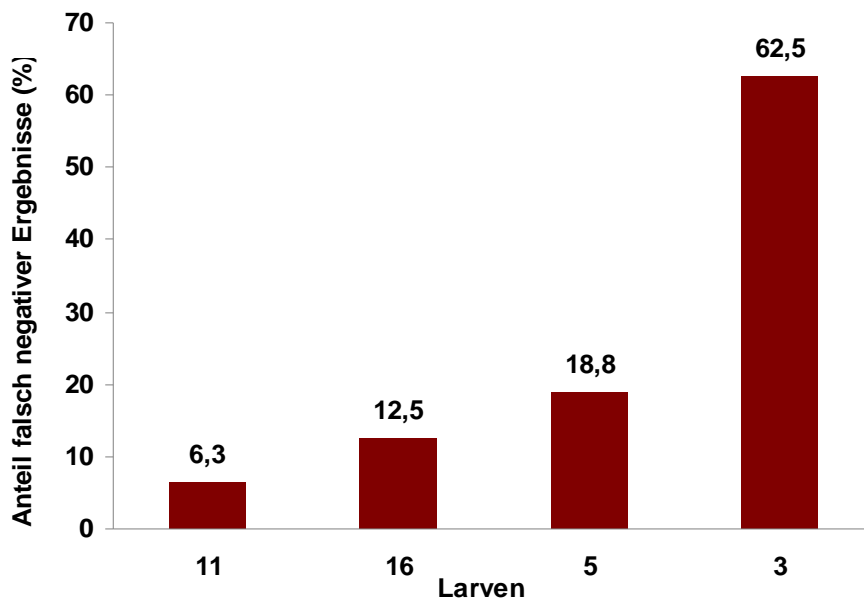
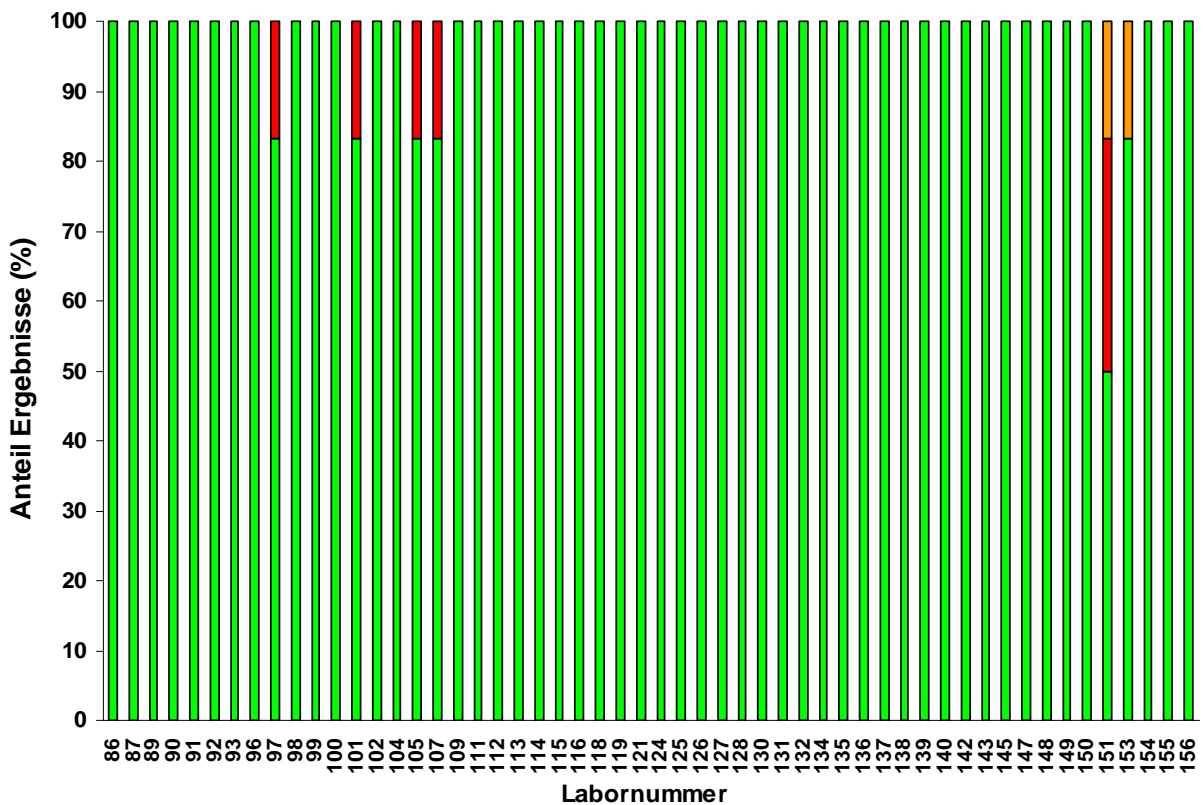
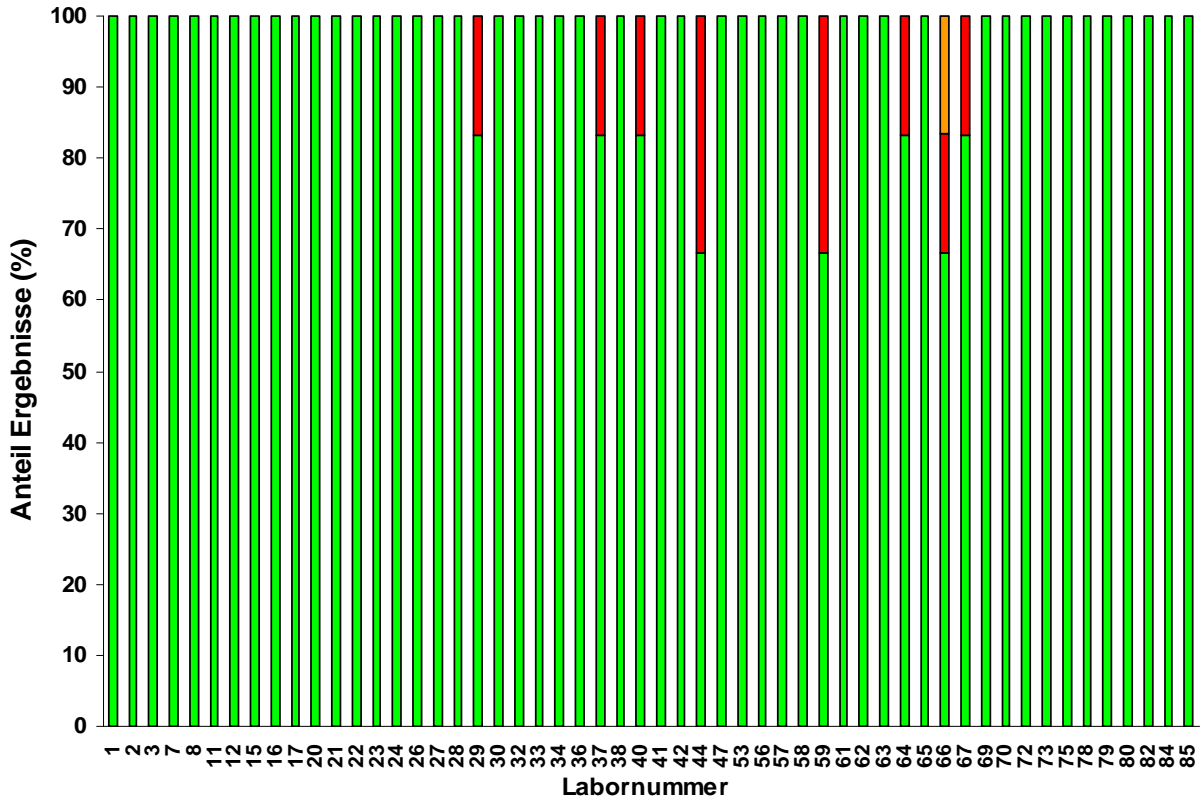


Abbildung 2: Anteil falsch-negativer Ergebnisse für die Probe 3 (11 L), Probe 1 (16 L), Probe 2 (5 L) und Probe 6 (3 L)

Nach Auswertung der Einzelergebnisse haben 94 Labore (87 %) alle untersuchten Proben korrekt als *Trichinella*-positiv bzw. -negativ erkannt, siehe Abbildung 3A und B. Von 9 Laboren wurde eine Probe, von 2 Laboren zwei Proben falsch-negativ beurteilt. Ein Labor hatte ein falsch negatives und ein falsch positives Ergebnis, ein Labor hatte zwei falsch negative und ein falsch positives Ergebnis und ein Labor ein falsch positives Ergebnis gemeldet.

Abbildung 3A und B: Prozentualer Anteil der von den Teilnehmern richtig erkannten Proben.



Zeichenerklärung: rot = falsch-negativ; orange = falsch-positiv, grün = richtig erkannt

Die Übersicht für die Ergebnisse aller Labore ist in der Tabelle 3, geordnet nach der laufenden Nummer der Probe dargestellt.

Tabelle 3: Ergebnisse der 108 Labore zur Anzahl der Larven in den Proben 1-6

Probe	1	2	3	4	5	6	richtig	falsch negativ	falsch positiv
Sollwert	16	5	11	0	0	3			
Labor	Dig	Dig	Dig	Dig	Dig	Dig			
1	13	5	9	0	0	2	6		
2	16	5	9	0	0	3	6		
3	15	5	11	0	0	3	6		
7	13	5	10	0	0	2	6		
8	16	5	9	0	0	3	6		
11	11	5	8	0	0	3	6		
12	16	5	11	0	0	3	6		
15	15	5	10	0	0	4	6		
16	12	5	10	0	0	4	6		
17	5	1	3	0	0	3	6		
20	3	4	3	0	0	3	6		
21	18	4	9	0	0	3	6		
22	13	3	11	0	0	2	6		
23	9	4	10	0	0	2	6		
24	11	4	10	0	0	3	6		
26	14	4	10	0	0	2	6		
27	7	5	8	0	0	1	6		
28	9	8	12	0	0	4	6		
29	1	2	4	0	0	0	5	1	
30	12	3	5	0	0	2	6		
32	13	4	9	0	0	2	6		
33	13	4	10	0	0	2	6		
34	5	4	7	0	0	4	6		
36	15	4	7	0	0	2	6		
37	11	5	4	0	0	0	5	1	
38	7	3	11	0	0	2	6		
40	4	2	7	0	0	0	5	1	
41	4	6	10	0	0	2	6		
42	15	5	11	0	0	3	6		
44	12	5	0	0	0	0	4	2	
47	12	3	8	0	0	2	6		
53	15	3	8	0	0	2	6		
56	8	1	8	0	0	1	6		
57	15	5	9	0	0	5	6		
58	9	5	6	0	0	2	6		
59	0	0	2	0	0	2	4	2	
61	15	4	11	0	0	3	6		
62	13	5	11	0	0	3	6		
63	16	5	9	0	0	3	6		
64	8	0	4	0	0	1	5	1	
65	13	5	10	0	0	3	6		
66	6	3	4	4	0	0	4	1	1
67	16	4	10	0	0	0	5	1	
69	2	5	8	0	0	3	6		
70	15	5	9	0	0	3	6		
72	15	5	10	0	0	3	6		
73	17	5	11	0	0	3	6		
75	6	4	9	0	0	3	6		
78	7	6	5	0	0	2	6		
79	14	5	9	0	0	2	6		
80	15	5	11	0	0	2	6		
82	15	5	10	0	0	3	6		
84	11	5	10	0	0	4	6		
85	4	6	11	0	0	3	6		
86	8	2	6	0	0	3	6		
87	18	8	15	0	0	5	6		
89	9	4	8	0	0	3	6		

Fortsetzung Tabelle 3

Probe	1	2	3	4	5	6	richtig	falsch negativ	falsch positiv
Sollwert	16	5	11	0	0	3			
Labor	Dig	Dig	Dig	Dig	Dig	Dig			
90	14	4	9	0	0	1	6		
91	14	5	10	0	0	3	6		
92	13	5	6	0	0	3	6		
93	9	5	11	0	0	1	6		
96	15	6	11	0	0	1	6		
97	11	2	2	0	0	0	5	1	
98	16	5	11	0	0	3	6		
99	13	2	9	0	0	3	6		
100	15	4	11	0	0	3	6		
101	5	3	7	0	0	0	5	1	
102	9	2	2	0	0	1	6		
104	7	4	10	0	0	3	6		
105	0	3	13	0	0	2	5	1	
107	12	4	11	0	0	0	5	1	
109	15	5	11	0	0	2	6		
111	15	5	9	0	0	2	6		
112	17	4	9	0	0	3	6		
113	15	5	11	0	0	3	6		
114	13	1	9	0	0	1	6		
115	13	5	11	0	0	2	6		
116	14	2	9	0	0	3	6		
118	14	6	11	0	0	3	6		
119	14	5	9	0	0	3	6		
121	9	5	8	0	0	3	6		
124	15	5	8	0	0	3	6		
125	6	4	3	0	0	2	6		
126	14	5	11	0	0	3	6		
127	16	4	7	0	0	3	6		
128	9	5	10	0	0	2	6		
130	16	4	10	0	0	2	6		
131	12	5	7	0	0	1	6		
132	17	3	10	0	0	3	6		
134	11	3	9	0	0	2	6		
135	14	3	9	0	0	2	6		
136	13	5	10	0	0	3	6		
137	11	5	3	0	0	3	6		
138	13	5	10	0	0	3	6		
139	11	5	8	0	0	2	6		
140	12	5	5	0	0	3	6		
142	10	4	4	0	0	1	6		
143	15	3	4	0	0	2	6		
145	14	5	9	0	0	3	6		
147	8	3	9	0	0	3	6		
148	12	2	8	0	0	3	6		
149	10	3	4	0	0	3	6		
150	14	2	8	0	0	2	6		
151	2	0	8	1	0	0	3	2	1
153	15	3	11	0	14	18	5		1
154	11	3	4	0	0	3	6		
155	13	4	10	0	0	3	6		
156	4	6	2	0	0	2	6		
Mittelwert	11,5	4,1	8,3	0,0	0,1	2,5			
St. abw.	4,2	1,5	2,8	0,4	1,3	1,8			
Tol.-bereich	12-20	3-7	8-14	0	0	1-3			

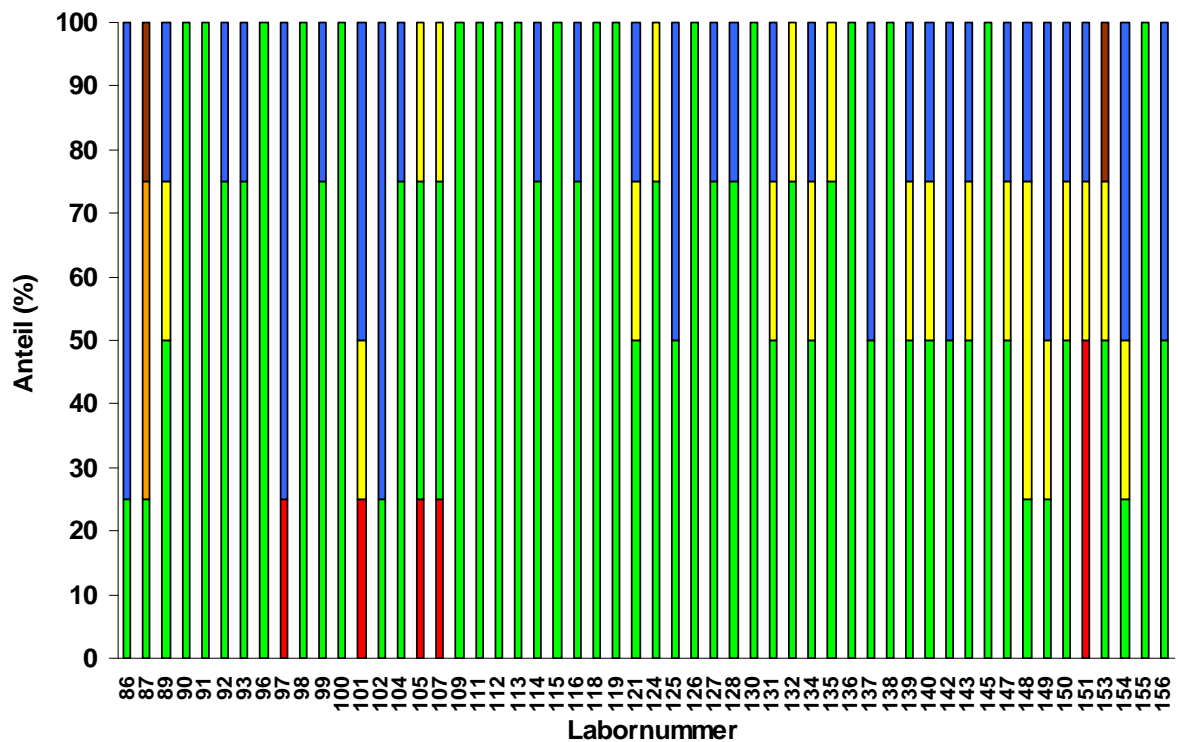
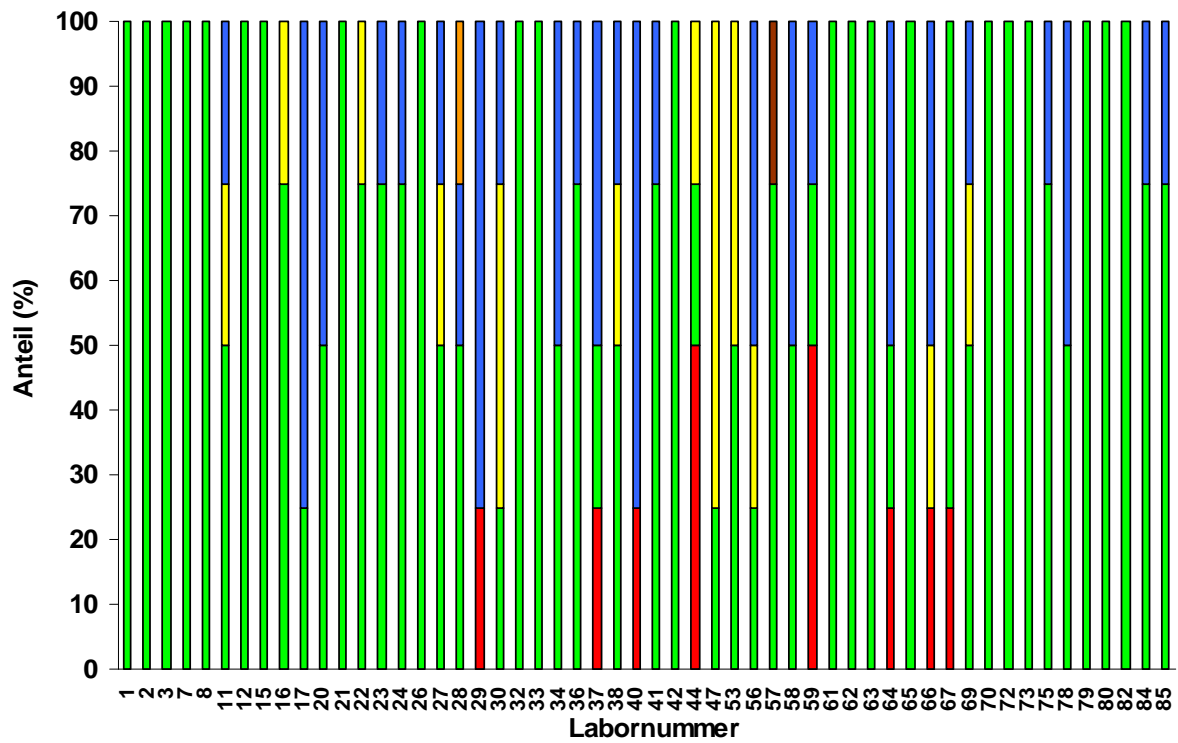
Zeichenerklärung: rot = falsch-negative oder falsch-positive Ergebnisse; blau = Larvenzahl liegt außerhalb des Toleranzbereiches; bei Probe 6 mehr als 4 Larven gezählt;

3.2 Quantitative Auswertung

Für die jeweiligen positiven Proben lag der Mittelwert der Labore für die Larvenanzahl unter dem Sollwert, wobei die Standardabweichung bei der Probe 1 (16 L) erwartungsgemäß am höchsten war (Tabelle 3).

Von den insgesamt 416 richtig erkannten und quantitativ ausgewerteten *Trichinella*-positiven Proben lag die ermittelte Larvenanzahl in 292 Fällen (70 %) im berechneten Toleranzbereich (grüner Bereich des z-score). Für 37 Proben (9 %) lagen die Ergebnisse im grenzwertigen Bereich (gelber Bereich des z-score). 81 Proben (19 %) lagen unter dem Toleranzbereich (blauer Bereich des z-score). Bei 3 Proben lag die Anzahl der gezählten Larven über dem Toleranzbereich, bei weiteren 3 Proben wurden bei Probe 6 mehr als 4 Larven gezählt. Nach den Ergebnissen der quantitativen Auswertung für die einzelnen Labore hatten 40 Teilnehmer (37 %) alle positiven Proben gleichzeitig als qualitativ richtig bewertet und die ermittelte Larvenanzahl lag innerhalb des Toleranzbereichs ausschließlich im grünen Bereich. Bei weiteren 7 Laboren (6 %) lag die ermittelte Anzahl der Larven der vier richtig bewerteten positiven Proben auch im grenzwertigen Bereich. Bei 42 Laboren (39 %) befand sich die ermittelte Larvenanzahl bei einer oder zwei der als richtig positiv erkannten Proben unterhalb des Toleranzbereichs. Bei drei weiteren Laboren (3 %) lag bei drei *Trichinella*-positiven Proben die Larvenanzahl unterhalb des Toleranzbereiches. Bei vier Teilnehmern wurden bei einer oder mehreren Proben eine Larvenanzahl über dem Toleranzbereich oder bei Probe 6 mehr als 4 Larven gezählt (Abbildung 4A und B).

Abbildung 4A und B: Ergebnisse zur Larvenanzahl der 4 positiven Proben.

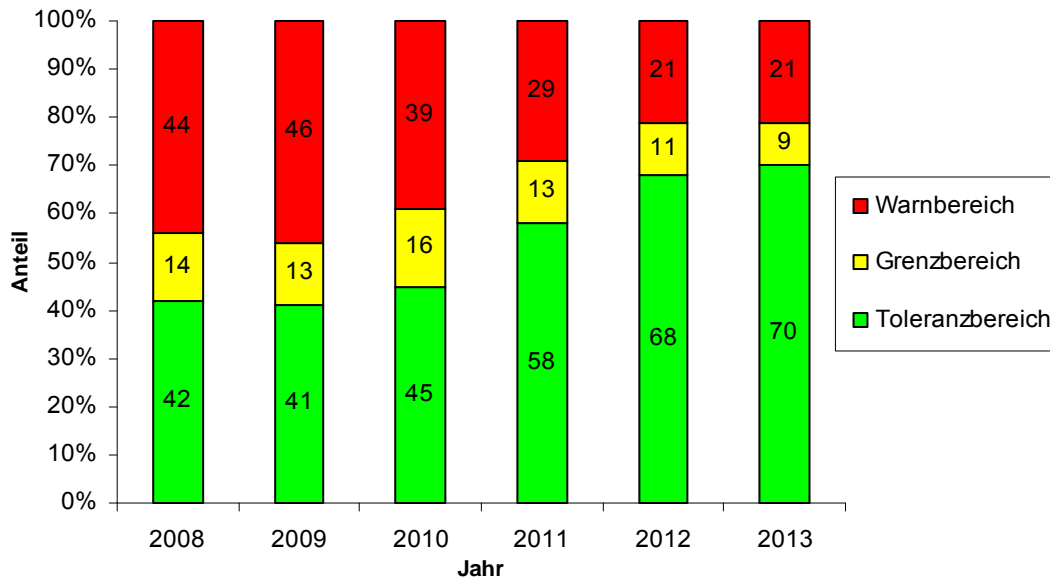


Zeichenerklärung: rot = falsch-negative Ergebnisse; blau = Larvenzahl liegt unterhalb des Toleranzbereiches, grün = Larvenzahl liegt innerhalb des Toleranzbereiches (grüner Bereich), gelb = Larvenzahl liegt im grenzwertigen Bereich, orange = Larvenanzahl liegt über dem Toleranzbereich; braun = bei Probe 3 mehr als 4 Larven gezählt

Beim Vergleich der quantitativen Auswertung der *Trichinella*-positiven Proben der vergangenen sechs Jahre wird ersichtlich, dass die Anzahl der richtig erkannten Trichinellen

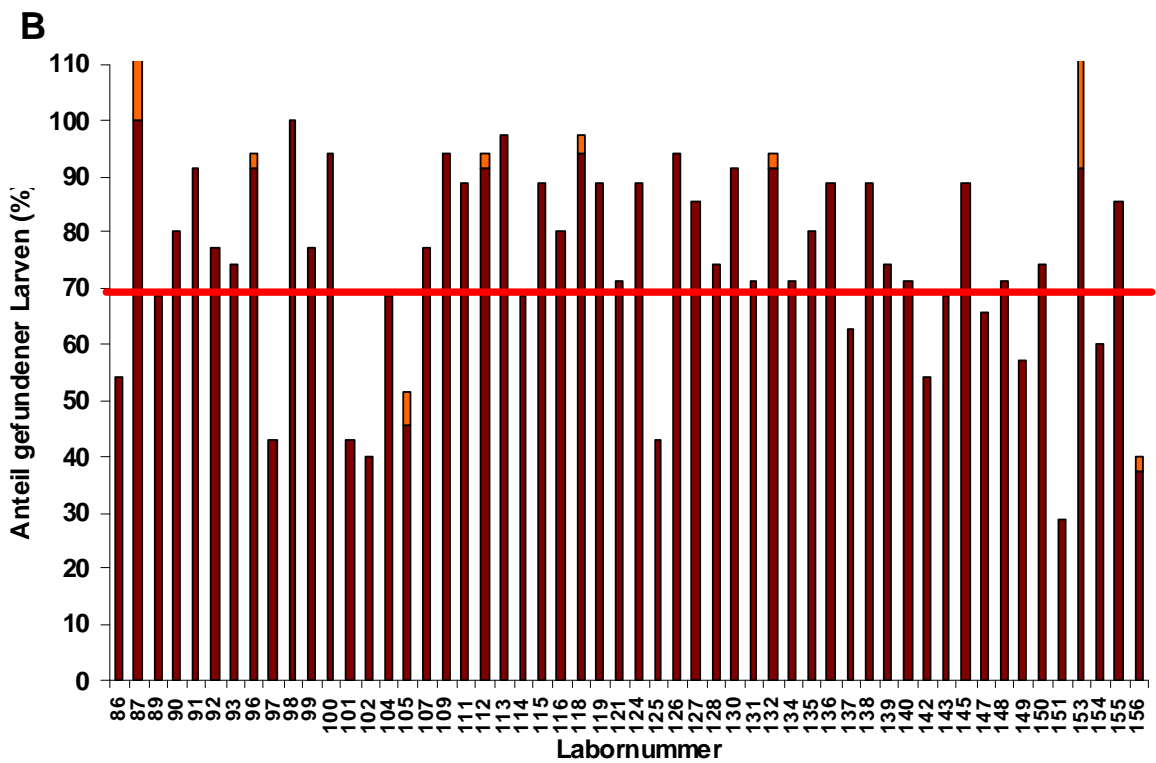
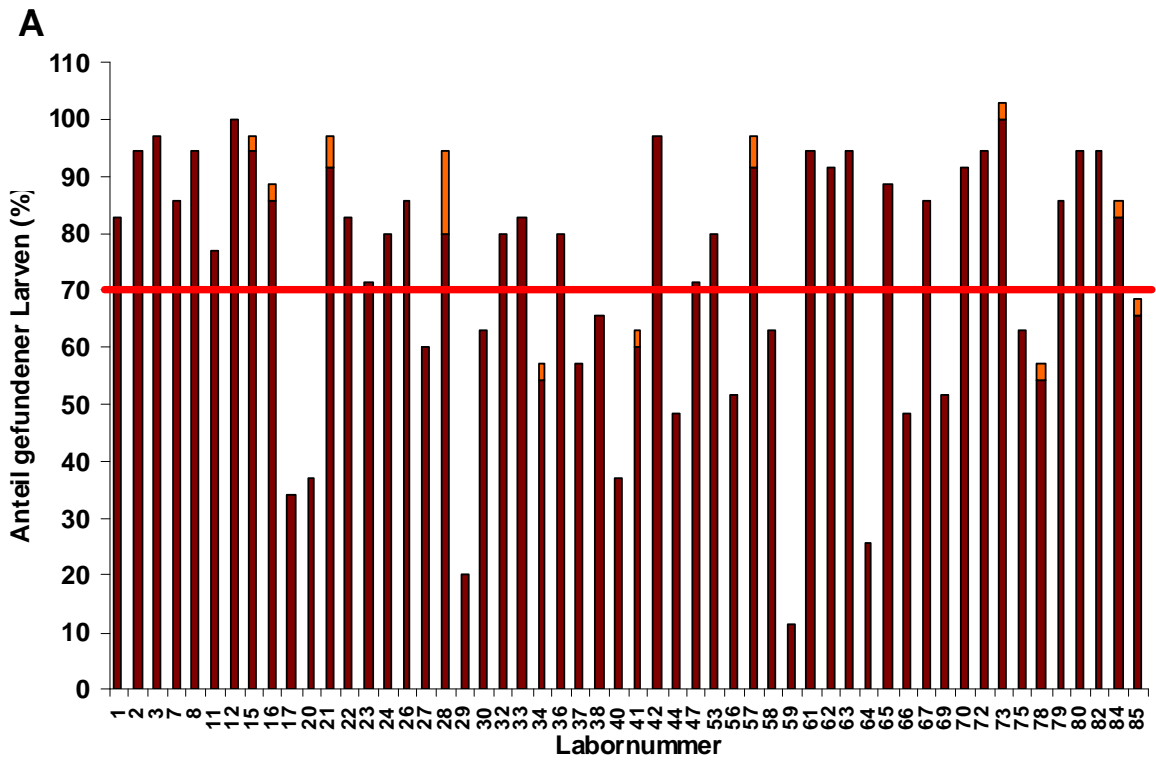
stetig gestiegen ist. Lag 2008 noch bei 44 % der Proben die ermittelte Larvenanzahl außerhalb des Toleranzbereichs, so waren dies 2012 und 2013 nur noch 21%. Erstmals lagen 2013 70% der Ergebnisse im berechneten (grünen) Toleranzbereich (Abbildung 5).

Abbildung 5: Ergebnisse zur Larvenanzahl der 4 positiven Proben aller Labore von 2008-2013.



Nach einem allgemeinen Richtwert sollten mindestens 70 % aller Larven (insgesamt 35) identifiziert werden. Von den 108 Teilnehmern konnten 71 Labore (66 %) mindestens 70% der Larven (≥ 25 Larven) identifizieren (Abbildungen 6A und B).

Abbildung 6A und B: Anteil gefundener Larven aller positiven Proben. Der „cut-off“ (rote Linie) liegt bei 70 %.



Zeichenerklärung: rot = richtig gefundene Larven; orange = falsch positive Larven innerhalb einer Probe

4 Diskussion

Ringversuche sind ein wichtiger Bestandteil des Qualitätssicherungssystems. Die Teilnahme an Ringversuchen bietet die Möglichkeit, die eigene Untersuchungsqualität zu überprüfen, eventuelle Probleme bei der Trichinenuntersuchung zu erkennen und die Fehlerquellen zu analysieren.

Insgesamt zeigen die Ergebnisse des diesjährigen Ringversuchs, dass die Mehrheit der Teilnehmer den Anforderungen an die richtige qualitative Beurteilung der Ringversuchsproben gerecht wurde. Von 87 % der Labore wurden alle Proben korrekt als *Trichinella*-positiv bzw. -negativ beurteilt. Der Anteil der Teilnehmer welche mindestens 70 % der in den positiven Proben vorhandenen Larven fand, lag wie im vergangenen Jahr bei 67 %. Die unterschiedliche Durchführung der mikroskopischen Untersuchung des Sediments (Stereomikroskop mit skalierter Petrischale vs. Trichinoskop mit Larvenzählbecken) hatte wieder keinen Einfluss auf das Ergebnis.

Es sollte auch wieder die Vollständigkeit des Verdauungsvorgangs beurteilt werden. Nach der Verordnung EG Nr. 2075/2005 gilt der Verdauungsvorgang als zufrieden stellend, wenn nicht mehr als 5 % des ursprünglichen Gewichts der Probe auf dem Sieb bleiben. Bei 17 % der Teilnehmer war bei mindestens einer von sechs der untersuchten Proben das Gewicht des Rückstandes auf dem Sieb größer als 5 g. Es konnte gezeigt werden, dass eine unvollständige Verdauung zu einer signifikant geringeren Anzahl gefundener Larven führt.

Ein größerer Rückstand auf dem Sieb könnte dabei folgende Ursachen haben:

- im zugefügten Probenmaterial befand sich unverdauliches Gewebe wie Bindegewebe oder Sehnen,
- Teile der Muskulatur wurden unzureichend verdaut.

Wenn zuviel Rückstand auf dem Sieb verbleibt, kann es zum Verlust von Larven kommen. Daher sollte während der Routineuntersuchungen im Fall der Überschreitung der Rückstandsmenge auf dem Sieb (> 5 g) der Ansatz wiederholt werden.

Die Dotierung der Ringversuchsproben erfolgte mit lebenden Larven, die nach den Ergebnissen der Labors auch nach Transport, Lagerung und Durchführung der Verdauungsmethode in der überwiegenden Anzahl der Fälle vital (beweglich und/oder eingerollt) waren.

Die falsch-negativen und -positiven Ergebnisse verdeutlichen, dass es weiterhin zu fehlerhaften Beurteilungen im Rahmen der Trichinenuntersuchung kommt. Beim Auftreten von falsch-negativen Ergebnissen oder zu wenig nachgewiesenen Larven sollte eine Fehleranalyse erfolgen, um die Sensitivität der Nachweismethode zu verbessern.

Beim Auftreten von abweichenden Ergebnissen sollten im Rahmen der Fehleranalyse folgende Ursachen in Betracht gezogen werden:

- Verwechslung der Proben.
- Es wurde nicht die vorgeschriebene Untersuchungsmenge für die Untersuchung eingesetzt. Sofern sich das Gewicht der Probe durch Flüssigkeitsverlust verringerte, hat dieses keinen Einfluss auf die Larvenzahl im Fleisch.
- Die künstliche Verdauung der Proben verlief nicht optimal (z.B. falsche Konzentration von Salzsäure und Pepsin, überlagertes Pepsin, Unterschreitung der vorgeschriebenen Verdauungszeit, Nichteinhaltung der Temperatur), sodass unverdautes Restmaterial auf dem Sieb zurückgeblieben ist.
- Die vorgeschriebene Zeit, welche für die Sedimentation der Larven im Scheidetrichter erforderlich ist (30 min), wurde nicht eingehalten.

- Die vorgeschriebene Sedimentationszeit im 50 ml-Zentrifugenglas (10 min) war zu kurz.
- Es wurde zu wenig Sediment abgelassen.
- Es wurde zuviel Überstand aus dem Zentrifugenröhrchen abgesaugt, sodass Larven verloren gingen.
- Die Verdauungsflüssigkeit wurde ungenügend gewaschen und Larven wurden durch die zu starke Trübung übersehen.
- Die Verdauungsflüssigkeit in der skalierten Petrischale wurde unvollständig und/oder zu schnell mit dem Mikroskop durchmustert, sodass Larven übersehen wurden.
- Die Kenntnisse zum Aussehen des Untersuchungsgegenstandes, d.h. zur Form und Größe der *Trichinella*-Larven sind mangelhaft.
- Verwendung nicht geeigneter Gerätschaften, z.B. verstopfte Siebe, Scheidetrichter aus Plastik, Sedimentationsbecken mit Rillen.

In regelmäßigen Abständen sollte das für die Untersuchung verwendete Mikroskop bzw. Trichinoskop auf die richtige Justierung zum Zweck der sicheren Nachweisbarkeit der Larven im Sediment überprüft werden.

Ursache für zu hohe Larvenzahlen könnte sein, dass Larven durch unsystematisches Durchmustern der Verdauungsflüssigkeit mehrfach gezählt wurden oder dass Artefakte als vermeintliche Larven identifiziert wurden. Letzteres könnte auch die Ursache für falsch-positive Ergebnisse sein. Als Grund für falsch-positive Ergebnisse kommt z.B. auch eine unzureichende Reinigung der vorher mit Trichinenlarven behafteten Gerätschaften in Frage.