

Ringversuch zum Nachweis von Trichinellen in Fleisch (2015)

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

Herr Peter Bahn
Tel.: 030-18412-2060
E-Mail: peter.bahn@bfr.bund.de

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

1 Einleitung

Die Verordnung 2075/2005/EG mit spezifischen Vorschriften für die amtlichen Fleischuntersuchungen auf Trichinen wurde am 10. August 2015 durch die Durchführungsverordnung (EU) 2015/1375 ersetzt. Die Verordnung regelt die Beprobung von Schlachtkörpern inklusive Ausnahmen, und legt die Pflichten der zuständigen Behörden und Unternehmen im Zusammenhang mit der amtlichen Anerkennung von Haltungsbetrieben, die kontrollierte Haltungsbedingungen anwenden, fest. Das Verfahren der Trichinenuntersuchung im Labor bleibt weitestgehend unberührt. Zugefügt wurden Verfahren der Änderungsverordnung (EU) Nr. 216/2014 und die Möglichkeit des Einsatzes eines stabilisierten, flüssigen Pepsins. Die Verwendung der Trichinoskopie wird nicht mehr empfohlen und wurde aus den Nachweismethoden in Anhang I entfernt.

In Anlehnung an die EU Verordnung, die Leitlinien des OIE-Diagnosehandbuchs und der Internationalen Kommission für *Trichinella* wurde auch die ISO/DIS 18743:2013, Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln - Nachweis von Trichinellenlarven aus Fleischproben - Physikalisches Verdauungsverfahren, 2015 publiziert.

Wie in den vergangenen Jahren wurde aufgrund der großen Teilnehmerzahl der Ringversuch wieder in drei Durchgängen durchgeführt. Eine abgezählte Larvenanzahl wurde in jede positive Fleischprobe verbracht und der Toleranzbereich unter Bestimmung des „z-score“ ermittelt. Die Auswertung der Ergebnisse des Ringversuches erfolgte wieder nach qualitativen und quantitativen Aspekten. Zu diesem Zweck wurde für jeden Teilnehmer der Anteil der richtigen, falsch-negativen und falsch-positiven Befunde ermittelt und die Zahl der in den positiven Proben nachgewiesenen Larven mit dem nach der ISO 13528 (Ausgabe 2005) festgelegten Sollwert verglichen.

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. 18 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 Larvenbefallsrate, 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 296, Zunge 415, Kaumuskulatur 209, Schulter 118, Vorderbein 105, Bauch 81, Zwischenrippe 60, Kotelett 31 und Schinken 88 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 3 *Trichinella*-positive und 3 *Trichinella*-negative Proben (Tabelle 1).

Tabelle 1: Status der Proben für den Ringversuch

Probe Nr.	Status	Sollwert (LpG)
1	negativ	0
2	positiv	3
3	positiv	9
4	negativ	0
5	positiv	13
6	negativ	0

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 Proben 3 (9 Larven) betrug die tolerierbare Abweichung 50%, für die Proben 5 (13 Larven) 30% (Tabelle 2). Für die Proben 2 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 3 (Sollwert 9 Larven)

(n) Larven	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
z-score	-3,8	-3,0	-2,3	-1,5	-0,8	0	0,8	1,5	2,3	3,0	3,8

Bewertung der quantitativen Ergebnisse für die Probe 5 (Sollwert 13 Larven)

(n) Larven	9	10	11	12	13	14	15	16	17
z-score	3,1	2,3	1,5	-0,8	0	0,8	1,5	2,3	3,1

Bewertung des Ergebnisses für die Probe 2 (Sollwert 3 Larven)

(n) Larven	1 - 4
------------	-------

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 113 Labore aus allen 16 Bundesländern an dem Ringversuch teil. Von 13 Teilnehmern wurden die Ergebnisse erst nach Ende der Einsendefrist übersandt, die Ergebnisse wurden trotzdem in die Auswertung mit aufgenommen. Vier Teilnehmer (Labore 2, 136, 139, 169) reichten keine Ergebnisse ein und wurden in der Analyse nicht berücksichtigt.

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

108 Teilnehmer führten das Magnetrührverfahren nach dem Prinzip der künstlichen Verdauung durch, ein Teilnehmer verwendete den Trichomatic-35®. Bei 54 % aller Teilnehmer erfolgte die Auswertung der Proben mit einem Stereomikroskop. 40 % der Teilnehmer benutzten ein Trichinoskop, ein Labor nutzte ein Inversmikroskop und fünf Labore machten keine Angaben. Die durchschnittliche Anzahl der richtig gefundenen Larven unterschied sich nicht signifikant bei den eingesetzten Auswertungsmethoden (Trichinoskop 72 % aller Larven gefunden, Stereomikroskop 76 %).

Um die Vollständigkeit des Verdauungsvorgangs zu beurteilen, sollte die Menge des unverdauten Restmaterials auf dem Sieb bestimmt werden. Bei 90 Teilnehmern (83 %) wurde bei keiner Probe mehr als 5 g Restmaterial ermittelt. Bei sieben Laboren (6 %) wiesen ein bis drei untersuchte Proben eine erhöhte Menge unverdauten Materials auf, bei drei Laboren (3 %) wurde bei mindestens 4 Proben mehr als 5 g Restmaterial gefunden. Sieben Labore machten bei einer oder mehr Proben keine Angaben, bei einem Labor wurde die Untersuchung bei einer Probe nicht durchgeführt. Ein Labor konnte auf Grund der technischen Gegebenheiten des eingesetzten TM 35 Geräts kein Gewicht an unverdautem Material angeben.

Auch sollte die Morphologie der gefundenen Larven beurteilt werden. Es wurde unterschieden zwischen beweglichen und/oder eingerollten Larven und Larven, die in offener Form vorlagen und unbeweglich waren. Drei Teilnehmer machten keine Angaben zur Form der Larven. 92 % der gefundenen Larven wurden als lebend erkannt.

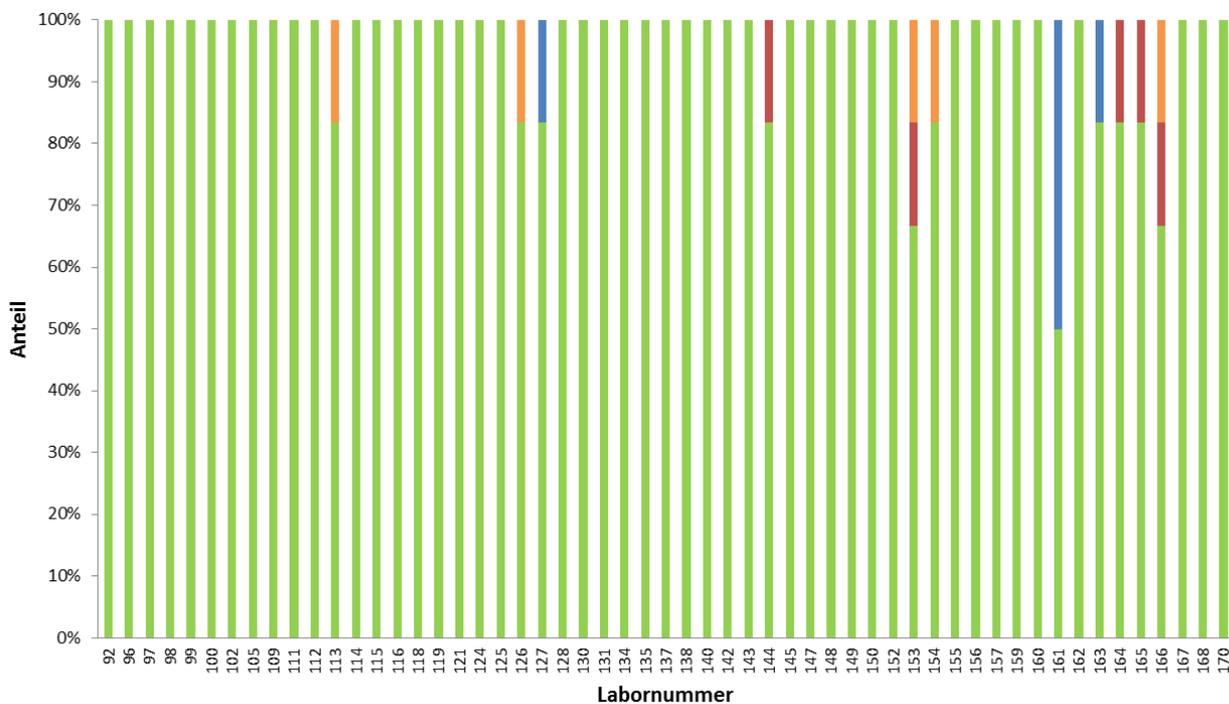
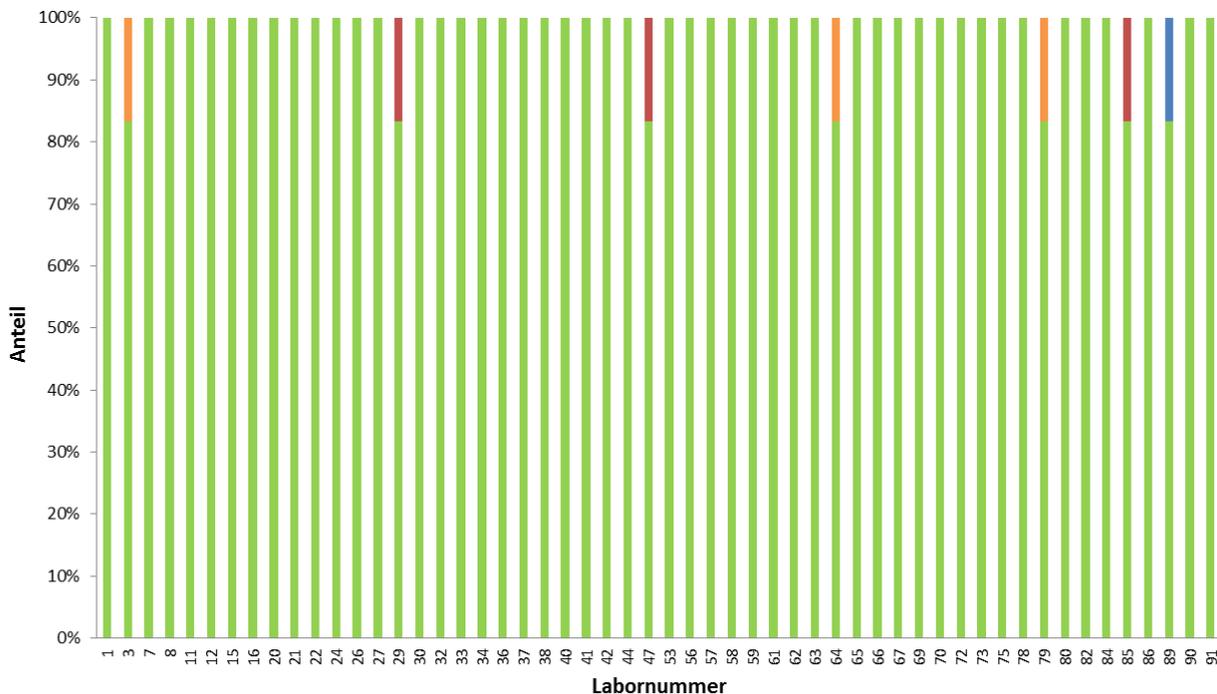
Von den zu bewertenden 327 *Trichinella*-positiven Proben wurden Larven in 317 Proben (97 %) gefunden. Acht Ergebnisse erwiesen sich als falsch-negativ, zwei Proben wurden nicht bearbeitet. Von den 327 negativen Proben wurden 315 (97 %) korrekt und acht als falsch-positiv (3 %) beurteilt. Vier Proben wurden nicht untersucht.

Bei den acht falsch-negativen Ergebnissen handelte es sich in fünf Fällen um die Probe 2 (Sollwert 3 L), in einem Fall um die Probe 3 (Sollwert 9 L) und in zwei Fällen um die Probe 5 (Sollwert 13 L).

Nach Auswertung der Einzelergebnisse haben 91 Labore (83 %) alle Proben korrekt als *Trichinella*-positiv bzw. -negativ erkannt, siehe Abbildung 1A und B. Von sechs Laboren wurde

eine Probe falsch-negativ beurteilt. Zwei Labore hatten ein falsch positives und ein falsch negatives Ergebnis. Sechs Labore hatten ein falsch positives Ergebnis. Bei drei Laboren wurde eine Probe nicht bearbeitet, bei einem Labor drei Proben.

Abbildung 1A und B: Prozentualer Anteil der von den Teilnehmern richtig erkannten Proben.



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

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

Tabelle 3: Ergebnisse der 109 Labore zur Anzahl der Larven in den Proben 1-6

Probe	Pr. 1	Pr. 2	Pr. 3	Pr. 4	Pr. 5	Pr. 6	richtig erkannt	falsch negativ	falsch positiv
Sollwert	0	3	9	0	13	0			
Labor-Nr.									
1	0	3	9	0	11	0	6		
3	0	4	10	2	12	0	5		1
7	0	3	9	0	12	0	6		
8	0	2	7	0	11	0	6		
11	0	1	11	0	13	0	6		
12	0	3	8	0	13	0	6		
15	0	3	9	0	8	0	6		
16	0	2	3	0	10	0	6		
20	0	2	8	0	12	0	6		
21	0	3	5	0	10	0	6		
22	0	3	4	0	11	0	6		
24	0	3	7	0	6	0	6		
26	0	3	6	0	7	0	6		
27	0	3	3	0	9	0	6		
29	0	1	4	0	0	0	5	1	
30	0	2	6	0	7	0	6		
32	0	2	5	0	8	0	6		
33	0	3	8	0	12	0	6		
34	0	2	7	0	9	0	6		
36	0	2	7	0	11	0	6		
37	0	3	5	0	9	0	6		
38	0	2	7	0	11	0	6		
40	0	3	9	0	3	0	6		
41	0	2	5	0	3	0	6		
42	0	3	6	0	9	0	6		
44	0	3	9	0	12	0	6		
47	0	0	10	0	11	0	5	1	
53	0	1	2	0	6	0	6		
56	0	3	9	0	12	0	6		
57	0	3	9	0	11	0	6		
58	0	2	9	0	10	0	6		
59	0	3	9	0	12	0	6		
61	0	1	9	0	13	0	6		
62	0	2	8	0	11	0	6		
63	0	2	8	0	13	0	6		
64	0	3	8	0	9	1	5		1
65	0	3	9	0	12	0	6		
66	0	2	6	0	9	0	6		
67	0	2	6	0	8	0	6		
69	0	2	8	0	7	0	6		
70	0	3	8	0	10	0	6		
72	0	3	9	0	12	0	6		
73	0	3	8	0	13	0	6		
75	0	2	8	0	10	0	6		
78	0	2	4	0	9	0	6		
79	0	3	7	0	14	2	5		1
80	0	3	7	0	13	0	6		
82	0	3	1	0	10	0	6		
84	0	3	1	0	6	0	6		
85	0	2	0	0	12	0	5	1	
86	0	1	7	0	5	0	6		
89	0	3	9	0	12	n.d.	5		
90	0	3	6	0	12	0	6		
91	0	2	8	0	12	0	6		
92	0	3	13	0	6	0	6		
96	0	2	10	0	6	0	6		
97	0	2	7	0	5	0	6		

Fortsetzung Tabelle 3

Probe	Pr. 1	Pr. 2	Pr. 3	Pr. 4	Pr. 5	Pr. 6	richtig erkannt	falsch negativ	falsch positiv
Sollwert	0	3	9	0	13	0			
Labor-Nr.									
98	0	3	9	0	12	0	6		
99	0	2	7	0	12	0	6		
100	0	3	9	0	12	0	6		
102	0	2	8	0	12	0	6		
105	0	3	6	0	9	0	6		
109	0	3	9	0	12	0	6		
111	0	3	16	0	9	0	6		
112	0	2	6	0	7	0	6		
113	0	3	9	0	10	1	5		1
114	0	1	1	0	8	0	6		
115	0	1	3	0	9	0	6		
116	0	3	8	0	11	0	6		
118	0	3	7	0	10	0	6		
119	0	3	7	0	10	0	6		
121	0	3	8	0	9	0	6		
124	0	3	9	0	12	0	6		
125	0	3	8	0	11	0	6		
126	0	1	7	1	12	0	5		1
127	0	2	9	n.d.	11	0	5		
128	0	2	7	0	9	0	6		
130	0	3	8	0	12	0	6		
131	0	1	8	0	12	0	6		
134	0	2	8	0	11	0	6		
135	0	3	5	0	13	0	6		
137	0	3	5	0	6	0	6		
138	0	3	6	0	12	0	6		
140	0	3	8	0	12	0	6		
142	0	2	5	0	4	0	6		
143	0	3	7	0	12	0	6		
144	0	0	6	0	5	0	5	1	
145	0	1	6	0	6	0	6		
147	0	3	6	0	12	0	6		
148	0	2	6	0	8	0	6		
149	0	4	8	0	12	0	6		
150	0	2	8	0	10	0	6		
152	0	1	8	0	9	0	6		
153	2	0	5	0	9	0	4	1	1
154	0	3	5	0	9	3	5		1
155	0	3	6	0	10	0	6		
156	0	3	5	0	11	0	6		
157	0	2	7	0	12	0	6		
159	0	1	7	0	9	0	6		
160	0	2	2	0	6	0	6		
161	n.d.	n.d.	n.d.	0	9	0	3		
162	0	1	15	0	11	0	6		
163	0	3	7	0	13	n.d.	5		
164	0	0	5	0	7	0	5	1	
165	0	0	8	0	10	0	5	1	
166	0	3	1	0	0	11	4	1	1
167	0	3	9	0	10	0	6		
168	0	3	4	0	11	0	6		
170	0	2	7	0	10	0	6		
Mittelwert	0,0	2,3	7,0	0,0	9,7	0,2			
St. abw	0,2	0,9	2,7	0,2	2,8	1,1			
Tol. bereich	0	1-3	7-11	0	11-15	0			

Zeichenerklärung: rot = falsch-negative oder falsch-positive Ergebnisse; blau = Larvenzahl liegt außerhalb des Toleranzbereiches; bei Proben 1 und 4 mehr als 4 Larven gezählt; n.d. = nicht durchgeführt

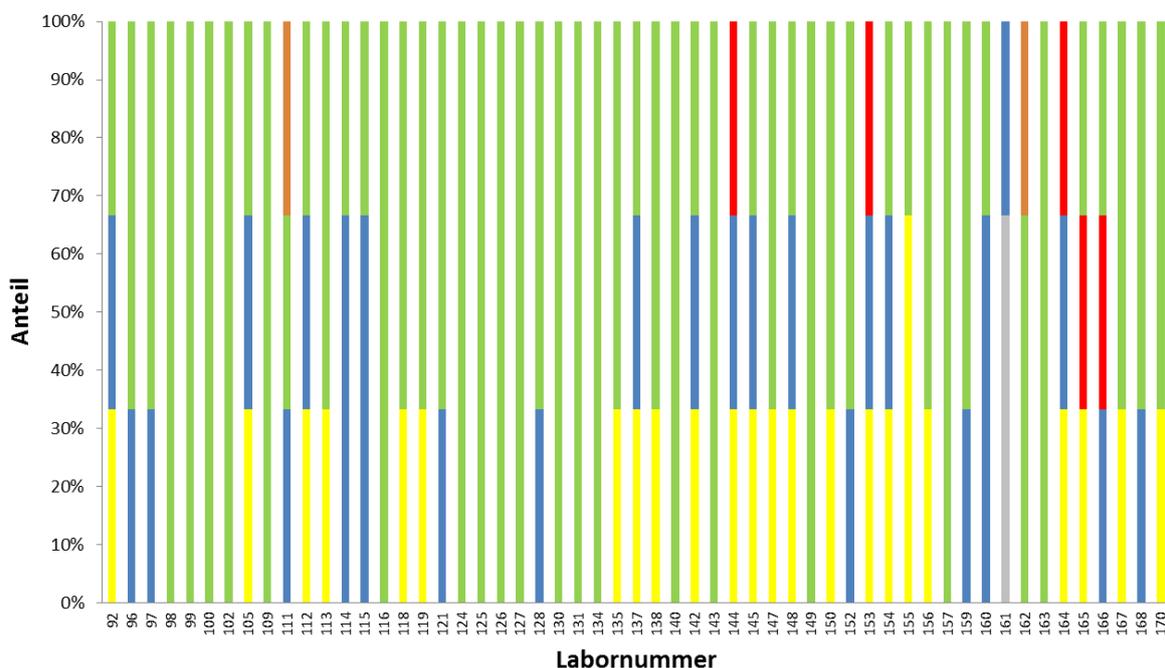
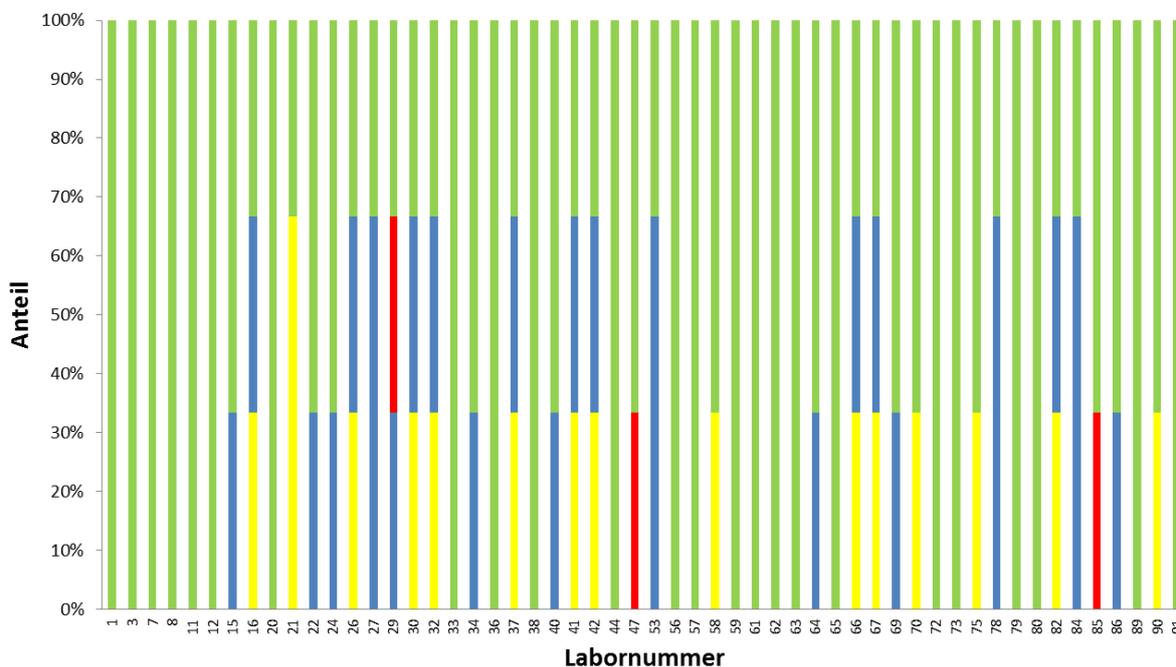
3.2 Quantitative Auswertung

Für die jeweiligen positiven Proben lag der Mittelwert der Labore für die Larvenanzahl unter dem Sollwert, wobei die Standardabweichung bei der Probe 5 (13 L) am höchsten war (Tabelle 3).

Von den insgesamt 317 richtig erkannten und quantitativ ausgewerteten *Trichinella*-positiven Proben lag die ermittelte Larvenanzahl in 221 Fällen (70 %) im berechneten Toleranzbereich (grüner Bereich des z-score). Für 40 Proben (13 %) lagen die Ergebnisse im grenzwertigen Bereich (gelber Bereich des z-score). 56 Proben (18 %) lagen außerhalb des Toleranzbereiches (Warnbereich).

Nach den Ergebnissen der quantitativen Auswertung für die einzelnen Labore hatten 42 Teilnehmer (38 %) alle positiven Proben gleichzeitig als qualitativ richtig bewertet und die ermittelte Larvenanzahl lag innerhalb des Toleranzbereichs ausschließlich im grünen Bereich. Allerdings hatten sechs dieser Labore falsch positive Ergebnisse gemeldet oder hatten eine Probe nicht bearbeitet. Bei weiteren 16 Laboren (15 %) lag die ermittelte Anzahl der Larven der drei richtig bewerteten positiven Proben auch im grenzwertigen (gelben) Bereich. Bei 43 Laboren (39 %) befand sich die ermittelte Larvenanzahl bei einer oder zwei der als richtig positiv erkannten Proben außerhalb des Toleranzbereichs (Abbildung 2A und B).

Abbildung 2A und B: Ergebnisse zur Larvenanzahl der 3 positiven Proben.

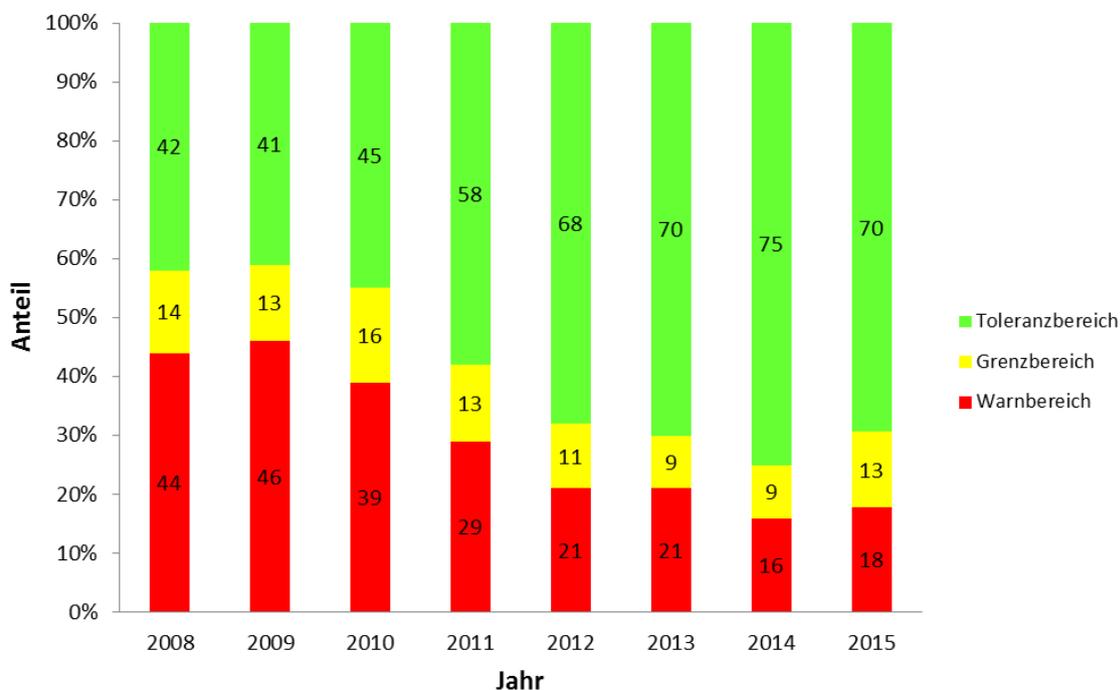


Zeichenerklärung: rot = falsch-negative Ergebnisse; blau = Larvenzahl liegt unterhalb des Toleranzbereiches, grün = Larvenzahl liegt innerhalb des Toleranzbereiches (grüner Bereich), gelb = Larvenzahl liegt im grenzwertigen Bereich, braun = Larvenzahl liegt unterhalb des Toleranzbereiches, grau = nicht durchgeführt

Beim Vergleich der quantitativen Auswertung der *Trichinella*-positiven Proben der vergangenen Jahre wird ersichtlich, dass die Anzahl der richtig erkannten Trichinellen dieses Jahr wieder etwas gesunken ist (70 %). 2013 waren 70% der Ergebnisse im berechneten (grü-

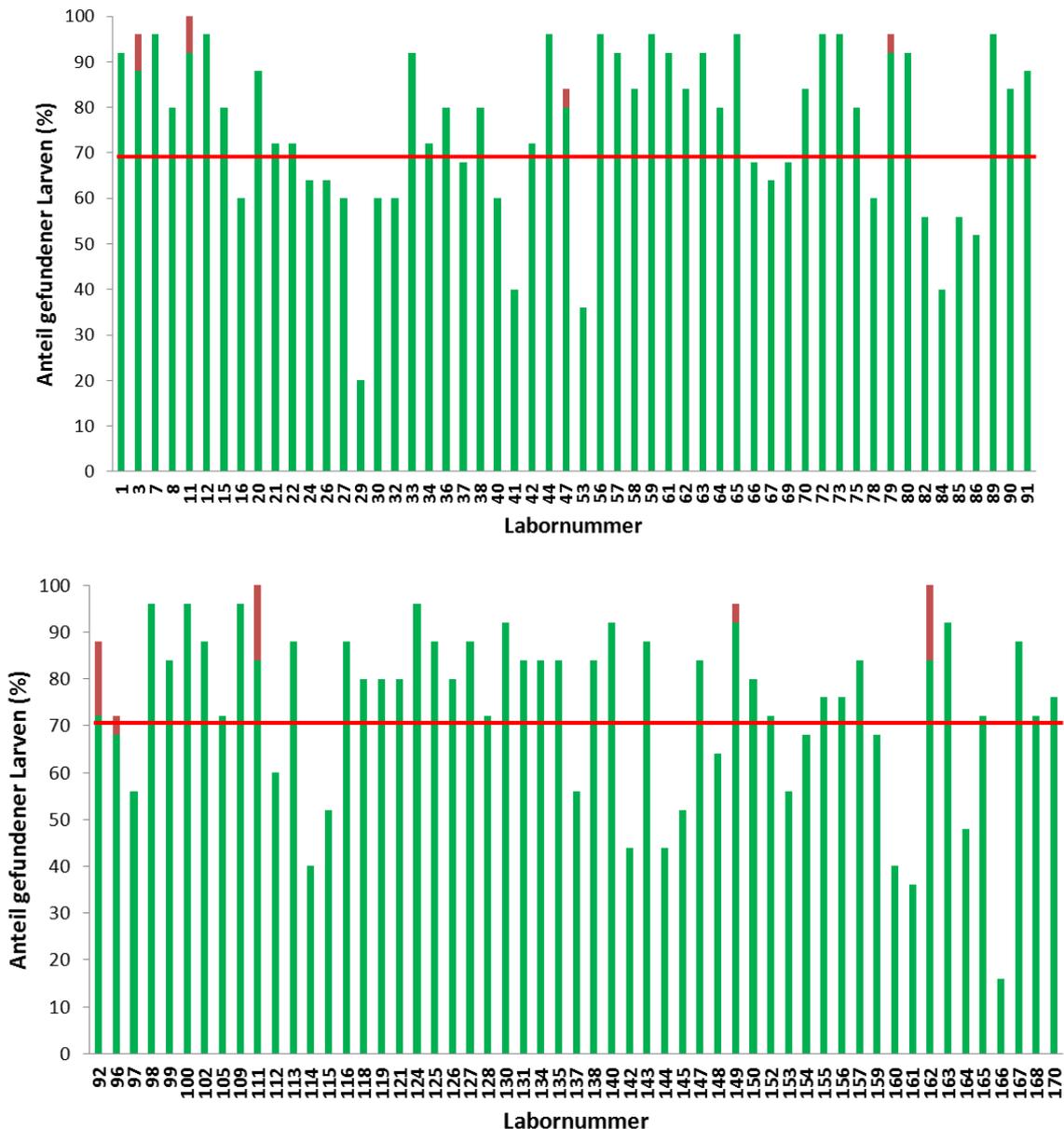
nen) Toleranzbereich, in 2014 lagen sogar 75% aller erkannten und quantitativ ausgewerteten *Trichinella*-positiven Proben innerhalb des errechneten Toleranzbereichs (Abbildung 3).

Abbildung 3: Ergebnisse zur Larvenanzahl der 3 oder 4 positiven Proben aller Labore von 2008-2015.



Nach einem allgemeinen Richtwert sollten mindestens 70 % aller Larven (von insgesamt 25) identifiziert werden. Von den 109 Teilnehmern konnten 73 Labore (67 %) mindestens 70% der Larven (≥ 18 Larven) identifizieren (Abbildungen 4A und B).

Abbildung 4A und B: Anteil gefundener Larven aller positiven Proben. Der „cut-off“ (rote Linie) liegt bei 70 %.



Zeichenerklärung: grün = richtig gefundene Larven; rot = 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 83 % der Labore wurden alle Proben korrekt als *Trichinella*-positiv bzw. -negativ beurteilt. Der Anteil der Teilnehmer die mindestens 70 % der in den positiven Proben vorhandenen Larven fanden, lag in diesem Jahr bei 67 %. Die unterschiedliche

Durchführung der mikroskopischen Untersuchung des Sediments (Stereomikroskop mit skaliertes 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 (EU) 2015/1375 gilt der Verdauungsvorgang als zufrieden stellend, wenn nicht mehr als 5 % des ursprünglichen Gewichts der Probe auf dem Sieb bleiben. Bei 9 % der Teilnehmer war bei mindestens einer von sechs der untersuchten Proben das Gewicht des Rückstandes auf dem Sieb größer als 5 g.

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 zu viel 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. Im Fall einer falschen qualitativen Beurteilung von Ringversuchsproben ist die zuständige Behörde durch das betroffene Labor zu informieren und Korrekturmaßnahmen einzuleiten. In diesem Zusammenhang muss eine Fehleranalyse erfolgen, um nach Erkennung der Schwachstellen und durchgeführter Korrektur die Sensitivität und Spezifität 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, die 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 zu viel 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.