

Ringversuch zum Nachweis von Trichinellen in Fleisch (2012)

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

Die Trichinellose des Menschen ist in Deutschland nach dem Infektionsschutzgesetz meldepflichtig. Von 2001 bis 2012 wurden dem Robert Koch-Institut insgesamt 65 Trichinellose-Fälle gemeldet. Sofern eine Aufklärung der Infektionsquelle möglich war, wurde die Erkrankung zumeist im Ausland erworben. So erkrankten beispielsweise 3 Personen aus Bayern Anfang 2007 nach einem Aufenthalt in Rumänien. Als Infektionsquelle wurde Rohwurst ermittelt, die aus dem Fleisch eines während der Weihnachtszeit hausgeschlachteten Schweins hergestellt wurde. Auch der Verzehr von ungenügend erhitztem Schweinefleisch aus Hobbyhaltung gilt als Risikofaktor. So kam es 2006 zu einem Ausbruch im Landkreis Uecker-Randow (Mecklenburg-Vorpommern) bei dem mehrere Mitglieder einer Großfamilie an Trichinellose erkrankten. Als Infektionsquelle wurde das Fleisch eines privat gehaltenen Schweins vermutet, die endgültige Ermittlung der Infektionsquelle war jedoch trotz umfangreicher Untersuchungen durch die zuständigen Behörden nicht möglich.

Kennzeichnend für die Trichinellose ist das plötzliche und unerwartete Auftreten von Epidemien mit hoher Personenbeteiligung. Auf Grund dessen werden in Deutschland alle Schlachtkörper von Hausschweinen, Pferden und Wildschweinen einer systematischen Trichinenuntersuchung unterzogen.

Nach Artikel 2 der Verordnung EG Nr. 2075/2005 der Europäischen Kommission vom 5. Dezember 2005 ist die Trichinenuntersuchung nach einer Methode der künstlichen Verdauung durchzuführen, wobei das Magnetrührverfahren als Referenzmethode gilt. In diesem Zusammenhang hat die zuständige Behörde nach Artikel 5 auch sicherzustellen, dass das Untersuchungspersonal eine entsprechende Ausbildung absolviert und an einem Qualitätskontrollprogramm für die Trichinennachweisverfahren teilnimmt. Ferner besteht die Notwendigkeit der Teilnahme an Laborvergleichsuntersuchungen im Rahmen der Laborakkreditierung nach ISO 17025. Deswegen wird vom Nationalen Referenzlabor für Trichinellose jährlich ein Ringversuch zum Nachweis von Trichinen in Fleisch durchgeführt. Wie in den vergangenen zwei Jahren wurde aufgrund der großen Teilnehmerzahl der Ringversuch in drei Durchgängen durchgeführt.

Eine abgezählte Larvenanzahl wurde in jede verschickte 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. 13 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 1332, Zunge 1216, Kaumuskulatur 534, Schulter 396, Vorderbein 449, Bauch 421, Zwischenrippe 304, Kotelett 206 und Schinken 309 LpG. Das Muskelfleisch wurde bei 4°C bis zur weiteren Verwendung aufbewahrt.

2.2 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-positiv und 2 Trichinella-negativ Proben (Tabelle 1).

Tabelle 1: Status der Proben für den Ringversuch

Probe Nr.	Status	Sollwert (LpG)
1	positiv	10
2	negativ	0
3	positiv	3
4	positiv	18
5	negativ	0
6	positiv	6

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 werden 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 6 (6 Larven) und wurde eine tolerierbare Abweichung von 50 % zugrunde gelegt. Für die Proben 1 (10 Larven) und 4 (18 Larven) betrug die tolerierbare Abweichung 30 % (Tabelle 2). Für die Probe 3 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 6 (Sollwert 6 Larven)

(n) Larven	≤2	3	4	5	6	7	8	9	≥10
z-score	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4

Bewertung der quantitativen Ergebnisse für die Probe 1 (Sollwert 10 Larven)

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

Bewertung der quantitativen Ergebnisse für die Probe 4 (Sollwert 18 Larven)

(n) Larven	≤12	13	14	15	16 - 20	21	22	23	≥24
z-score	-3,3	-2,8	-2,2	-1,7	+1,1	1,7	2,2	2,8	3,3

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.

2.3 Ringversuchsteilnehmer

Insgesamt nahmen 113 Labore aus allen 16 Bundesländern an dem Ringversuch teil. Von 5 Teilnehmern wurden die Ergebnisse erst nach Ende der Einsendefrist übersandt, die Ergebnisse wurden trotzdem in die Auswertung mit aufgenommen.

2.4 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).

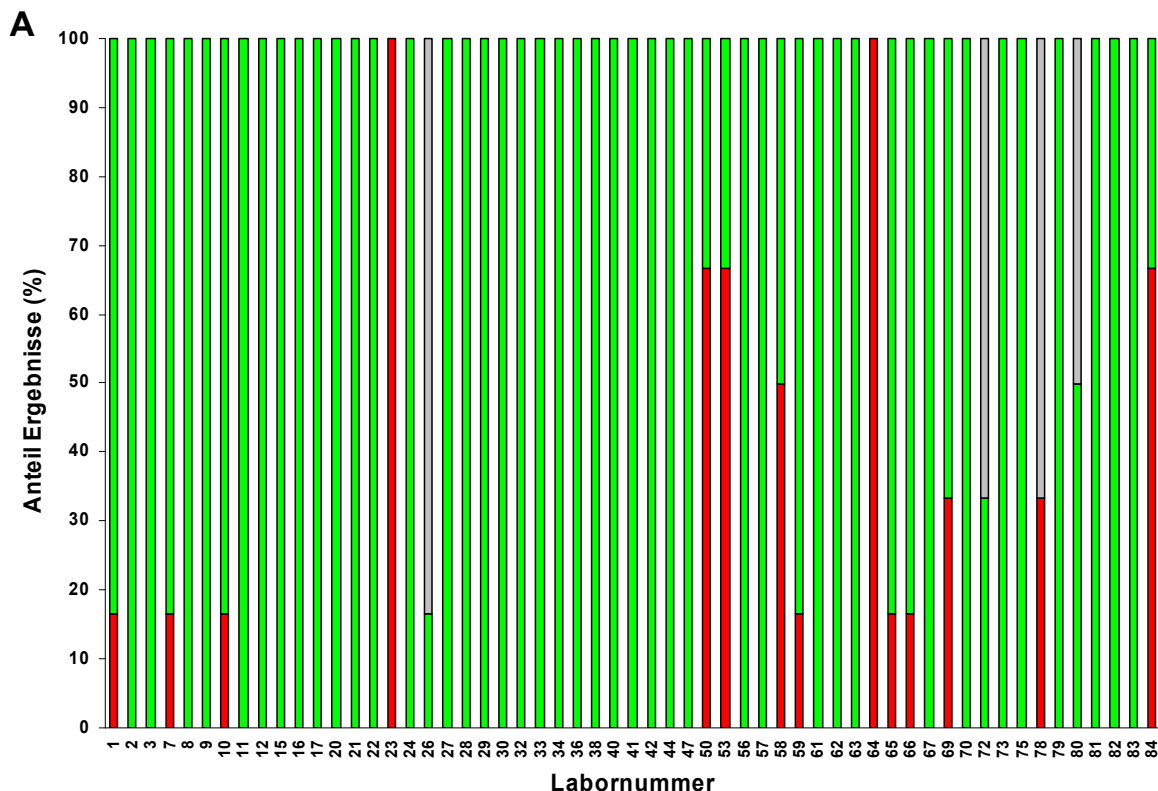
3. Ergebnisse

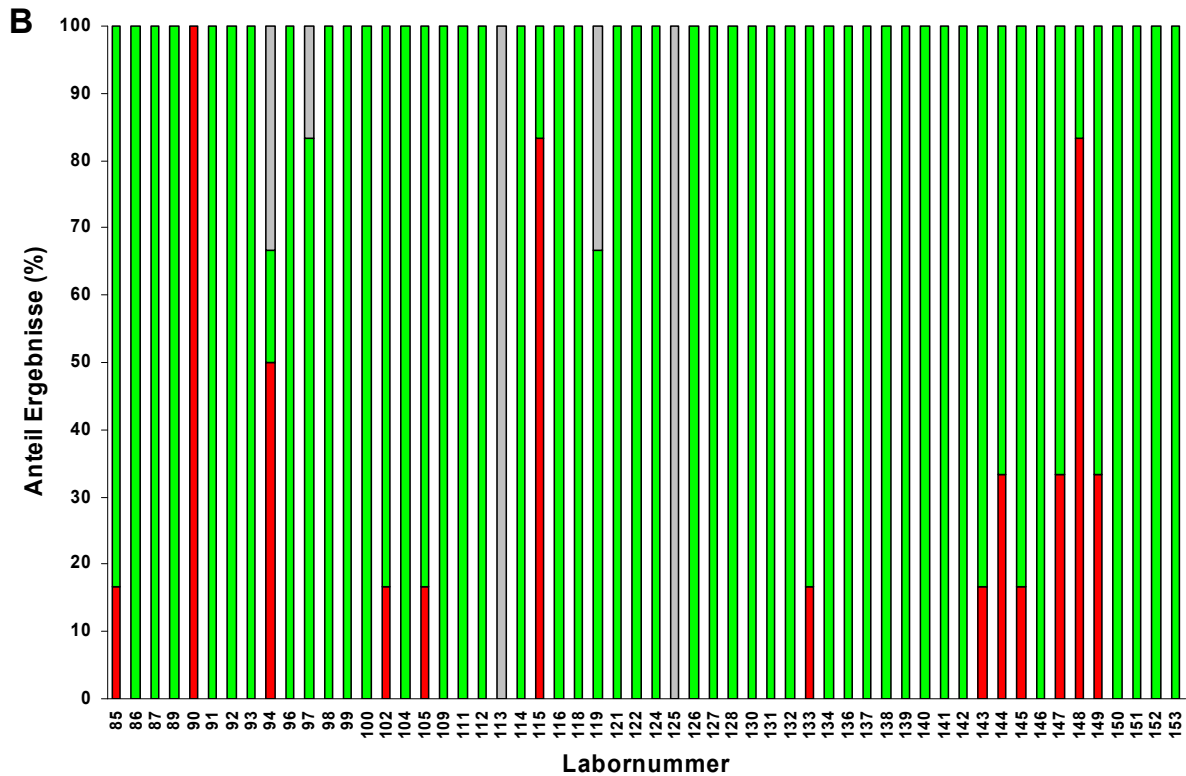
3.1 Qualitative Auswertung

112 Teilnehmer führten das Magnetrührverfahren nach dem Prinzip der künstlichen Verdauung durch, ein Teilnehmer verwendete den Trichomatic-35®. Bei 58 % aller Teilnehmer erfolgte die Auswertung der Proben mit einem Stereomikroskop. 37 % der Teilnehmer benutzten ein Trichinoskop, fünf Labore machten keine Angaben und ein Labor verwendete beide Methoden. Die durchschnittliche Anzahl der gefundenen Larven unterschied sich nicht signifikant bei den eingesetzten Auswertungsmethoden (Trichinoskop 69 % aller Larven gefunden, Stereomikroskop 74 %).

Um die Vollständigkeit des Verdauungsvorgangs zu beurteilen, sollte die Menge des unverdauten Restmaterials auf dem Sieb bestimmt werden. 92 % (104) aller Teilnehmer machten Mengenangaben für alle 6 Proben, 4 % (5) der Labore machten Angaben für mindesten zwei Proben. 3 Labore machten keine oder nur eine Angabe und ein Labor konnte auf Grund der technischen Gegebenheiten des eingesetzten TM 35 Geräts kein Gewicht an unverdautem Material angeben. Bei 84 (74 %) der Teilnehmer wurde bei keiner der sechs untersuchten Proben mehr als 5 g Restmaterial ermittelt. Bei 19 Laboren (17 %) wiesen ein bis drei Proben eine erhöhte Menge unverdauten Materials auf, bei 8 Laboren (7 %) 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=0.72-0.75) lag signifikant über dem Anteil gefundener Larven bei Proben mit mehr als 5 g Restmaterial (95 % CI=0.58-0.67).

Abbildung 1A und B: Prozentualer Anteil vollständig verdauter Proben





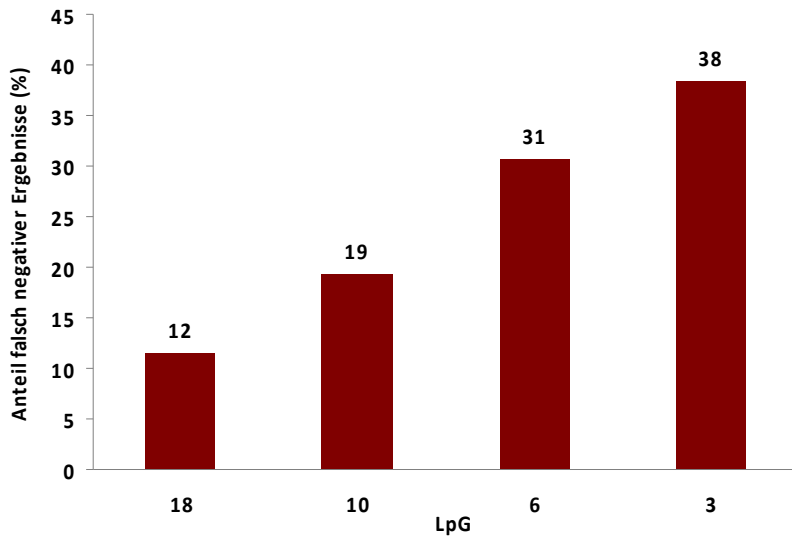
Zeichenerklärung: rot = >5 g Restmaterial; grün = <5 g Restmaterial, grau = Menge des Restmaterials nicht bestimmt.

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. Sechs Teilnehmer machten keine oder unvollständige Angaben zur Form der Larven. 93 % der gefundenen Larven wurden als lebend erkannt (Spannweite 11-100 %, Median 100 %).

Von den zu bewertenden 452 Trichinella-positiven Proben wurden Larven in 424 Proben (94 %) gefunden. 26 Ergebnisse erwiesen sich als falsch-negativ (6 %). Zwei positive Proben wurden nicht untersucht. Von den 226 negativen Proben wurden 218 (96 %) korrekt und 7 als falsch-positiv (3 %) beurteilt. Eine negative Probe wurde nicht untersucht.

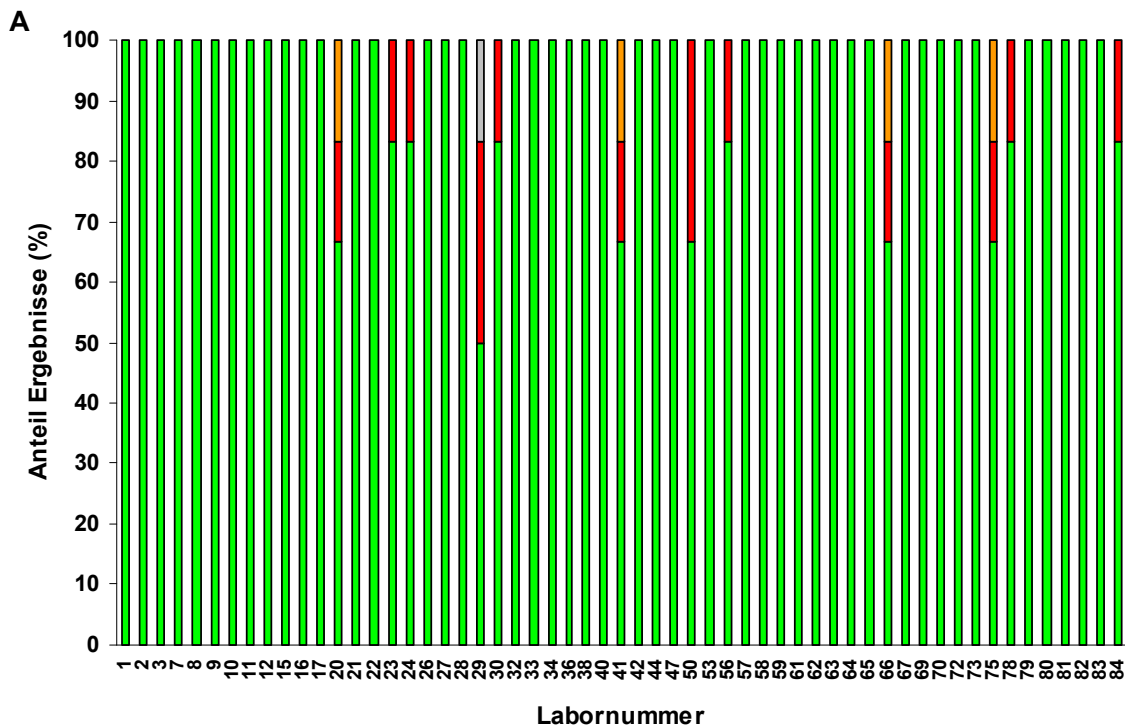
Bei den im Magnetrührverfahren ermittelten 26 falsch-negativen Ergebnissen handelte es sich in 3 Fällen (12 %) um die Probe 4 (Sollwert 18 LpG), in 5 Fällen (19 %) um die Probe 1 (Sollwert 10 LpG), in 8 Fällen (31 %) um die Probe 6 (Sollwert 6 LpG) und in 10 Fällen (38 %) um die Probe 3 (Sollwert 3 LpG), siehe Abbildung 2.

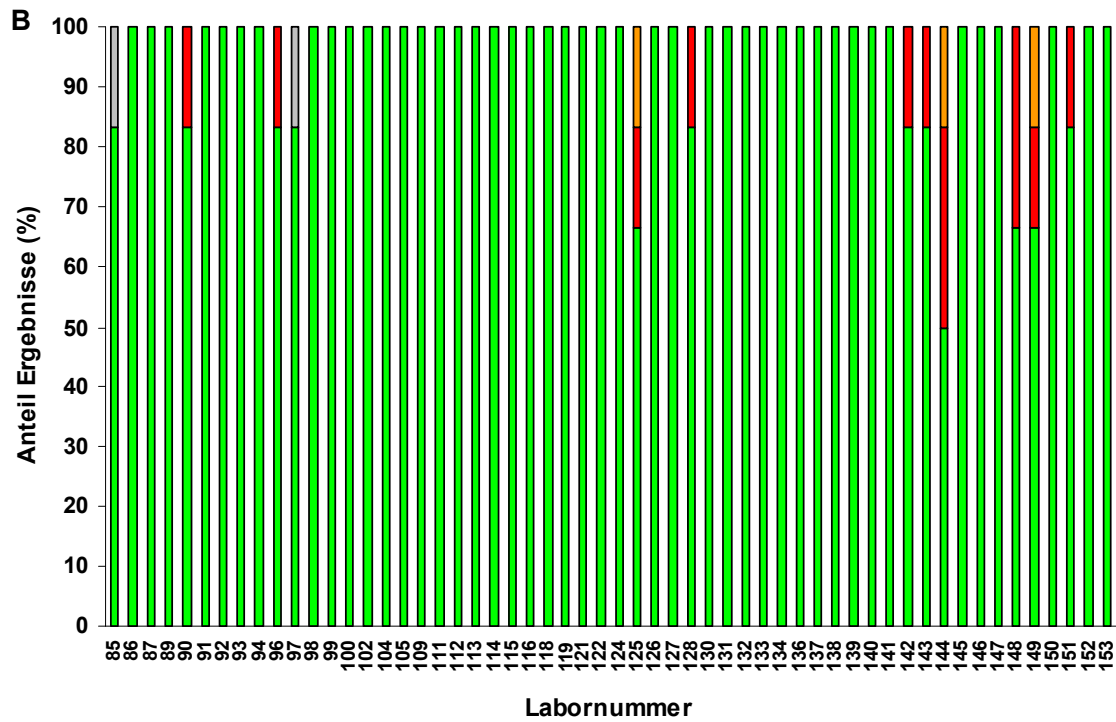
Abbildung 2: Anteil falsch-negativer Ergebnisse für die Probe 4 (18 LpG), Probe 1 (10 LpG), Probe 6 (6 LpG) und Probe 3 (3 LpG)



Nach Auswertung der Einzelergebnisse haben 91 Labore (81 %) alle untersuchten Proben korrekt als Trichinella-positiv bzw. -negativ erkannt, siehe Abbildung 3A und B. Von 12 Laboren wurde eine Probe, von 3 Laboren zwei Proben falsch-negativ beurteilt. Sechs Labore hatten ein falsch negatives und ein falsch positives Ergebnis, ein Labor hatte zwei falsch negative und ein falsch positives Ergebnis.

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





Zeichenerklärung: rot = falsch-negativ; orange = falsch-positiv, grün = richtig erkannt, grau = Probe nicht untersucht

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

Tabelle 3: Ergebnisse der 113 Labore zur Anzahl der Larven in den Proben 1-6

Probe	1	2	3	4	5	6	richtig	falsch negativ	falsch positiv
Sollwert	10	0	3	18	0	6			
Labor	Dig	Dig	Dig	Dig	Dig	Dig			
1	10	0	3	18	0	6	6		
2	10	0	3	17	0	6	6		
3	10	0	2	18	0	6	6		
7	2	0	2	8	0	5	6		
8	10	0	3	13	0	6	6		
9	6	0	1	4	0	2	6		
10	1	0	3	10	0	4	6		
11	10	0	3	14	0	5	6		
12	10	0	3	18	0	4	6		
15	9	0	2	15	0	6	6		
16	8	0	3	13	0	5	6		
17	4	0	4	16	0	7	6		
20	0	10	1	16	0	6	4	1	1
21	13	0	3	16	0	7	6		
22	8	0	3	12	0	3	6		
23	2	0	3	6	0	0	5	1	
24	7	0	0	7	0	6	5	1	
26	9	0	3	16	0	3	6		
27	3	0	2	7	0	4	6		
28	8	0	6	11	0	7	6		
29	0	0	0	n.d.	0	1	3	2	
30	2	0	1	0	0	2	5	1	
32	6	0	3	7	0	2	6		
33	7	0	3	14	0	5	6		
34	9	0	2	13	0	4	6		
36	8	0	1	15	0	3	6		
38	12	0	4	14	0	6	6		
40	5	0	2	18	0	3	6		
41	11	0	4	14	3	0	4	1	1
42	10	0	3	18	0	4	6		
44	13	0	3	15	0	7	6		
47	6	0	2	16	0	6	6		
50	0	0	0	6	0	2	4	2	
53	9	0	2	11	0	4	6		
56	3	0	2	7	0	0	5	1	
57	7	0	4	13	0	4	6		
58	11	0	3	15	0	6	6		
59	4	0	2	7	0	4	6		
61	6	0	3	16	0	5	6		
62	9	0	1	13	0	5	6		
63	8	0	3	17	0	6	6		
64	8	0	2	10	0	3	6		
65	9	0	3	16	0	6	6		
66	3	0	1	4	2	0	4	1	1
67	11	0	3	16	0	9	6		
69	10	0	3	11	0	4	6		
70	9	0	3	18	0	6	6		
72	9	0	3	18	0	6	6		
73	10	0	3	17	0	6	6		
75	6	0	2	12	5	0	4	1	1
78	0	0	3	13	0	6	5	1	
79	10	0	1	19	0	5	6		
80	8	0	3	15	0	6	6		
81	8	0	3	18	0	4	6		
82	9	0	3	16	0	6	6		
83	9	0	2	9	0	6	6		
84	4	0	0	7	0	3	5	1	
85	7	n.d.	2	16	0	6	5		
86	6	0	2	11	0	2	6		
87	10	0	5	13	0	7	6		
89	4	0	3	19	0	7	6		

Probe	1	2	3	4	5	6	richtig	falsch negativ	falsch positiv	nicht durchgeführt
Sollwert	10	0	3	18	0	6				
Labor	Dig	Dig	Dig	Dig	Dig	Dig				
90	10	0	0	18	0	6	5	1		
91	9	0	1	14	0	6	6			
92	7	0	2	9	0	4	6			
93	8	0	3	15	0	6	6			
94	2	0	2	13	0	3	6			
96	8	0	0	8	0	2	5	1		
97	10	0	1	n.d.	0	2	5			1
98	10	0	2	17	0	2	6			
99	7	0	3	16	0	6	6			
100	8	0	2	18	0	3	6			
102	8	0	1	16	0	4	6			
104	9	0	3	17	0	4	6			
105	7	0	2	16	0	5	6			
109	10	0	3	16	0	6	6			
111	10	0	3	18	0	4	6			
112	8	0	3	12	0	7	6			
113	4	0	3	2	0	3	6			
114	9	0	3	18	0	5	6			
115	3	0	3	19	0	5	6			
116	10	0	3	19	0	6	6			
118	9	0	2	15	0	6	6			
119	9	0	3	12	0	6	6			
121	3	0	2	9	0	4	6			
122	4	0	2	3	0	5	6			
124	10	0	3	17	0	6	6			
125	8	0	0	14	3	4	4	1	1	
126	10	0	3	17	0	4	6			
127	10	0	3	18	0	6	6			
128	4	0	1	11	0	0	5	1		
130	8	0	3	13	0	6	6			
131	9	0	2	17	0	6	6			
132	8	0	3	15	0	4	6			
133	9	0	2	15	0	4	6			
134	8	0	2	16	0	3	6			
136	10	0	3	17	0	4	6			
137	9	0	3	12	0	3	6			
138	10	0	4	16	0	5	6			
139	2	0	3	8	0	5	6			
140	10	0	6	18	0	3	6			
141	6	0	4	14	0	3	6			
142	0	0	1	8	0	1	5	1		
143	11	0	0	14	0	5	5	1		
144	13	7	6	0	0	0	3	2	1	
145	3	0	2	3	0	6	6			
146	4	0	3	11	0	4	6			
147	3	0	1	10	0	2	6			
148	3	0	2	0	0	0	4	2		
149	4	0	0	9	1	2	4	1	1	
150	2	0	1	4	0	6	6			
151	3	0	0	12	0	4	5	1		
152	7	0	3	17	0	5	6			
153	9	0	7	9	0	5	6			
Mittelwert	7,2		2,4	12,9		4,3				
St. abw.	3,2		1,3	4,7		1,9				
Tol.-bereich	7 - 13		1 - 3	13 - 23		3 - 9				

Zeichenerklärung: rot = falsch-negative oder falsch-positive Ergebnisse; blau = Larvenzahl liegt unterhalb des Toleranzbereiches; bei Probe 3 mehr als 3 Larven gezählt; n.d.: nicht durchgeführt

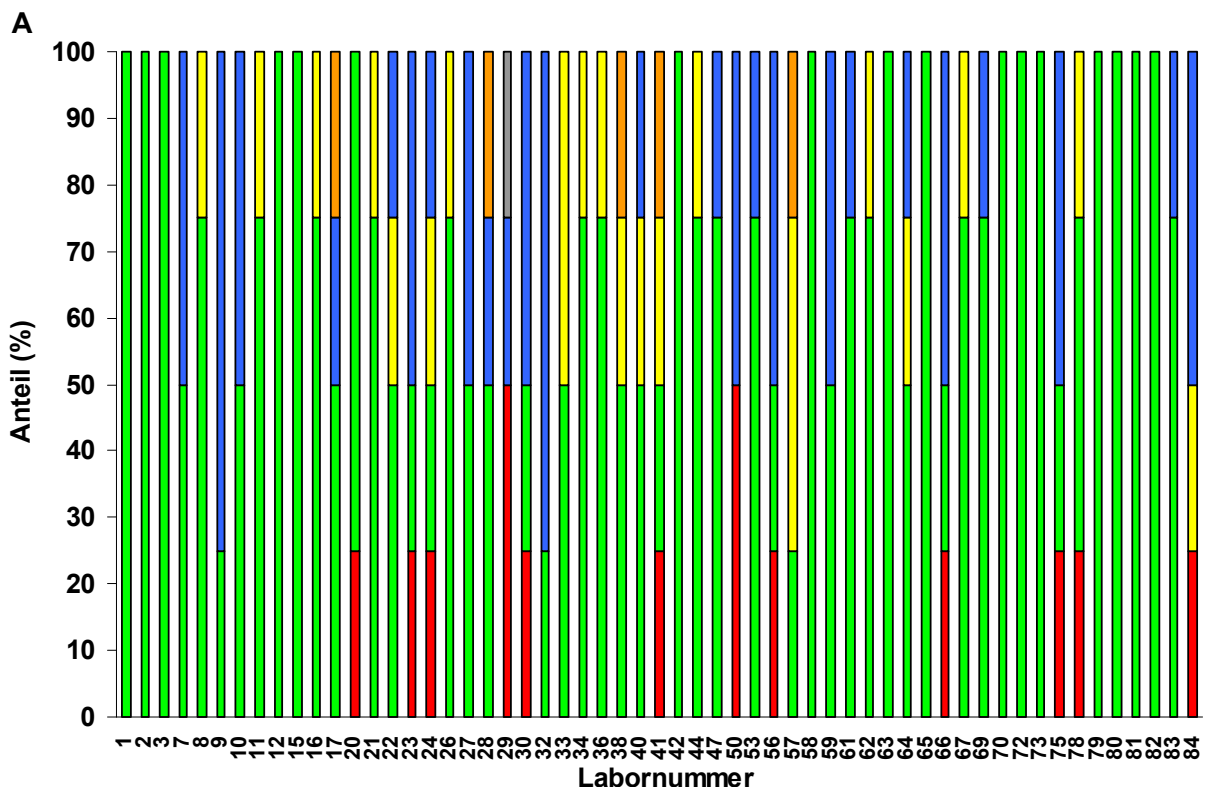
3.2 Quantitative Auswertung

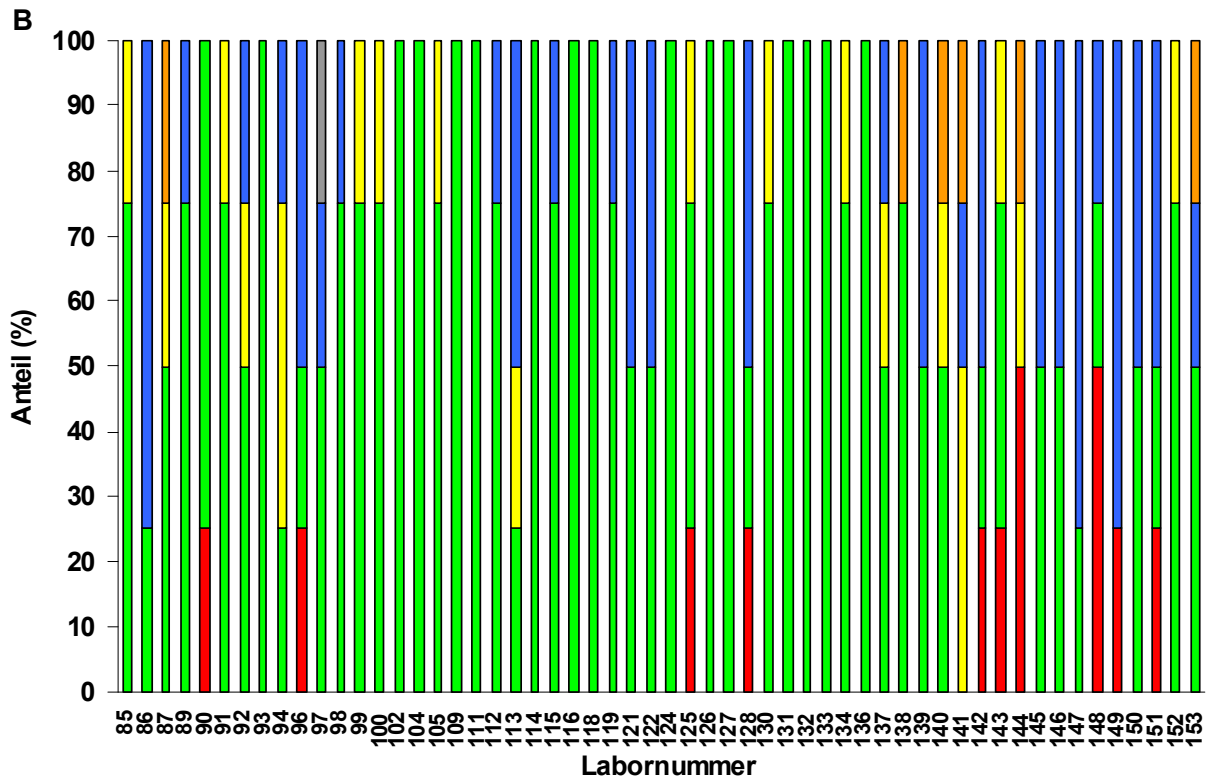
Für die jeweiligen positiven Proben lag der Mittelwert der Labore für die Larvenanzahl unter dem Sollwert, wobei die Standardabweichung bei der Probe 4 (18 LpG) erwartungsgemäß am höchsten war (Tabelle 3).

Von den insgesamt 424 richtig erkannten und quantitativ ausgewerteten Trichinella-positiven Proben lag die ermittelte Larvenanzahl in 288 Fällen (68 %) im berechneten Toleranzbereich (grüner Bereich des z-score). Für 42 Proben (10 %) lagen die Ergebnisse im grenzwertigen Bereich (gelber Bereich des z-score). 83 Proben (20 %) lagen unter dem Toleranzbereich (roter Bereich des z-score). Bei 11 Proben wurden bei Probe 3 mehr als 3 Larven gezählt.

Nach den Ergebnissen der quantitativen Auswertung für die einzelnen Labore hatten nur 31 Teilnehmer (27 %) alle positiven Proben gleichzeitig als qualitativ richtig bewertet und die ermittelte Larvenanzahl lag innerhalb des Toleranzbereichs ausschließlich im grünen Bereich. Bei weiteren 19 Laboren (17 %) lag die ermittelte Anzahl der Larven der vier richtig bewerteten positiven Proben auch im grenzwertigen Bereich. Bei 28 Laboren (25 %) befand sich die ermittelte Larvenanzahl bei einer oder zwei der als richtig positiv erkannten Proben unterhalb des Toleranzbereichs. Bei vier weiteren Laboren (4 %) war bei drei Trichinella-positiven Proben die Larvenanzahl unterhalb des Toleranzbereiches (Abbildung 4A und B).

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

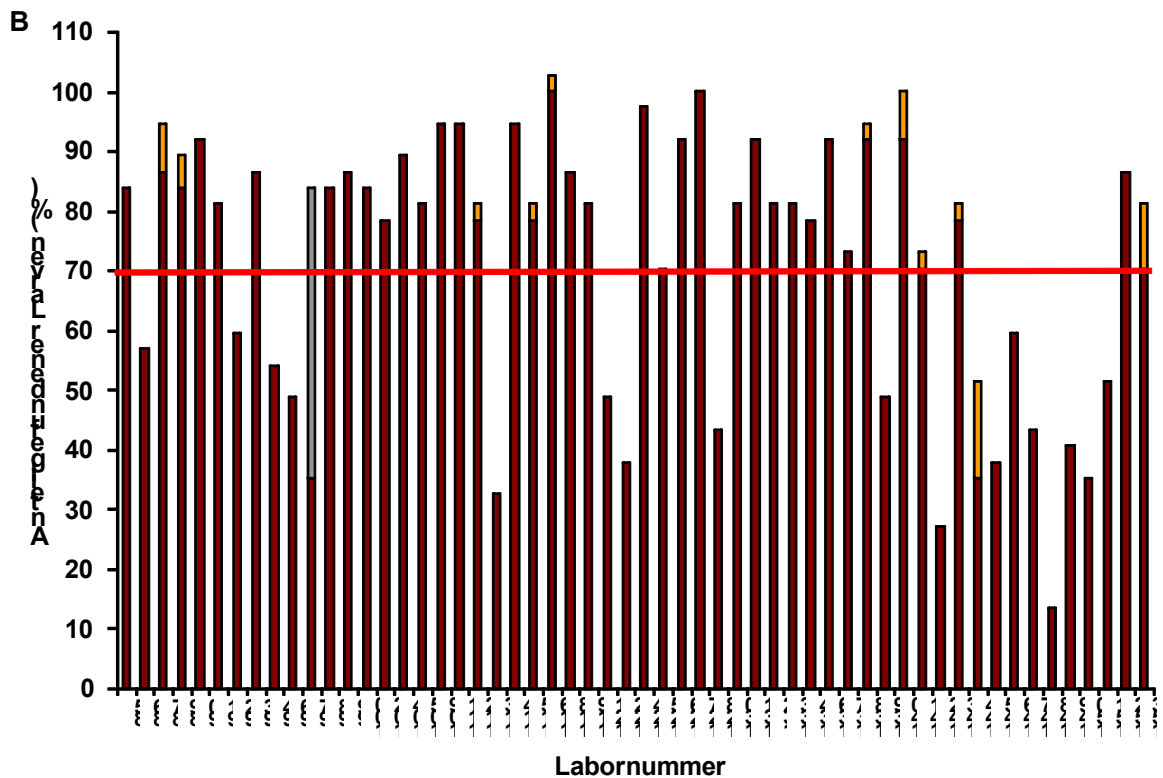
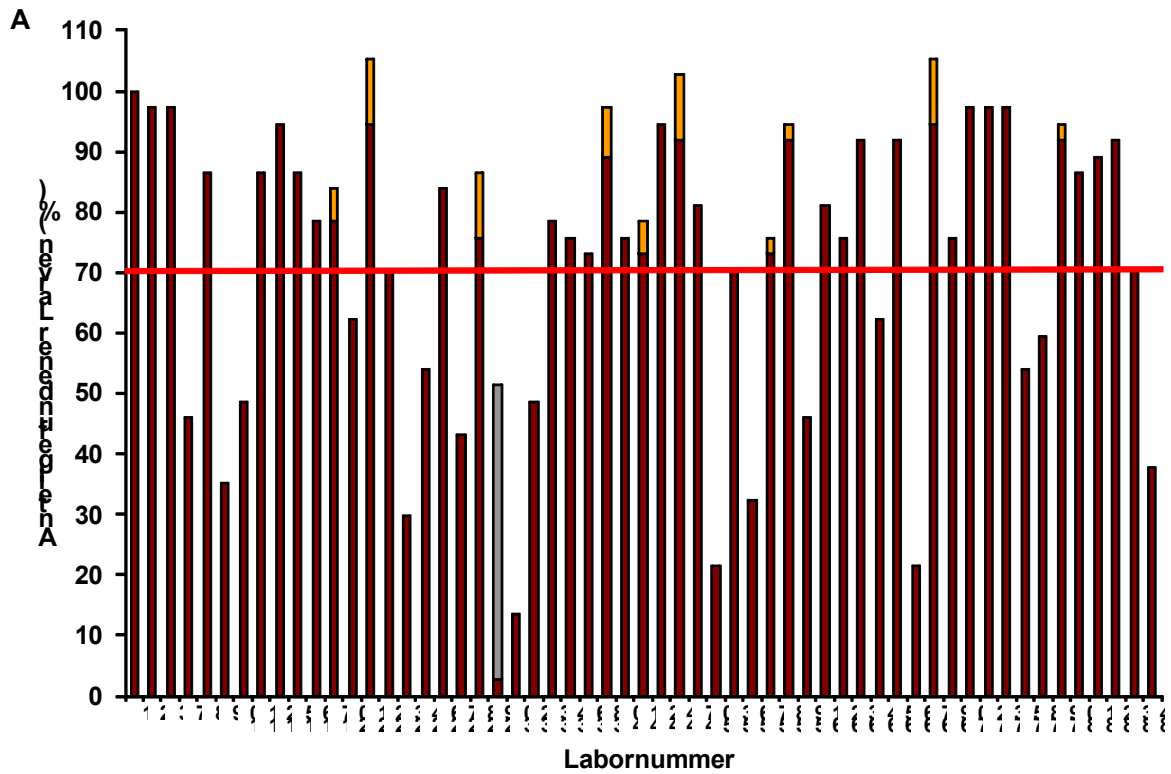




Zeichenerklärung: rot = falsch-negative Ergebnisse; blau = Larvenzahl liegt unterhalb des Toleranzbereiches, grün = Larvenzahl liegt innerhalb des Toleranzbereiches (grüner Bereich), gelb = Larvenzahl liegt im grenzwertigen Bereich, orange = bei Probe 3 mehr als 3 Larven gezählt; hell grau = Probe nicht untersucht

Nach einem allgemeinen Richtwert sollten mindestens 70 % aller Larven (insgesamt 37) identifiziert werden. Von den 113 Teilnehmern konnten 76 Labore (67 %) mindestens 70 % der Larven (≥ 26 Larven) identifizieren (Abbildungen 5A und B). Im Vergleich zu den Vorjahren ist dies wieder ein Anstieg der Anzahl gefundener Larven. 2009, 2010 und 2011 konnten nur 41 %, 36 %, bzw. 60 % der Labore mindestens 70 % aller Larven identifizieren.

Abbildung 5A und B: Anteil gefundener Larven aller positiven Proben. Der „cut-off“ (rote Linie) liegt bei 70 %.



Zeichenerklärung: rot = richtig gefundene Larven; grau = entsprechende Larvenzahl der Probe nicht untersucht; 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 79 % der Labore wurden alle Proben bearbeitet und korrekt als Trichinella-positiv bzw. -negativ beurteilt. Der Anteil der Teilnehmer welche mindestens 70 % der in den positiven Proben vorhandenen Larven fand, stieg auf 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 24 % 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

- 1) im zugefügten Probenmaterial befand sich unverdauliches Gewebe wie Bindegewebe oder Sehnen,
- 2) 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 nachgewiesener 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:

1. Verwechslung der Proben.
2. 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.
3. 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), so dass unverdautes Restmaterial auf dem Sieb zurückgeblieben ist.
4. Die vorgeschriebene Zeit, welche für die Sedimentation der Larven im Scheidetrichter erforderlich ist (30 min), wurde nicht eingehalten.

5. Die vorgeschriebene Sedimentationszeit im 50 ml-Zentrifugenglas (10 min) war zu kurz.
6. Es wurde zu wenig Sediment abgelassen.
7. Es wurde zuviel Überstand aus dem Zentrifugenröhrchen abgesaugt, sodass Larven mit verloren gingen.
8. Die Verdauungsflüssigkeit wurde ungenügend gewaschen und Larven wurden durch die zu starke Trübung übersehen.
9. Die Verdauungsflüssigkeit in der skalierten Petrischale wurde unvollständig und/oder zu schnell mit dem Mikroskop durchmustert, sodass Larven übersehen wurden.
10. Die Kenntnisse zum Aussehen des Untersuchungsgegenstandes, d.h. zur Form und Größe der Trichinella-Larven sind mangelhaft.

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.