

Ringversuch zum Nachweis von Trichinellen in Fleisch (2016)

Bericht des Nationalen Referenzlabors für Trichinellose

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

Dr. Annette Johne
Tel.: 030-18412-2056
E-Mail: annette.johne@bfr.bund.de

Dr. Anne Mayer-Scholl
Tel.: 030-18412-2057
E-Mail: anne.mayer-scholl@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 ist eine lebensmittelbedingte Zoonose und wird durch Parasiten der Gattung *Trichinella* verursacht. Der Mensch infiziert sich durch den Verzehr rohen oder ungenügend zubereiteten trichinösen Fleisches (z.B. von Haus- oder Wildschwein) oder daraus hergestellten Produkten wie Rohwurst oder Rohschinken. Anzeichen einer Infektion sind im Anfangsstadium Mattigkeit, intermittierendes hohes Fieber, Schlaflosigkeit, Durchfall und Erbrechen. Im späteren Verlauf können Muskelverhärtungen, Muskelschmerzen und Ödeme im Gesicht hinzukommen. Kennzeichnend für die Trichinellose ist das plötzliche und unerwartete Auftreten von Epidemien mit hoher Personenbeteiligung.

Die Trichinellose des Menschen ist in Deutschland nach dem Infektionsschutzgesetz meldepflichtig. Von 2001 bis 2016 wurden dem Robert Koch-Institut insgesamt 129 Trichinellosefälle gemeldet (Quelle: SurvStat, RKI). Sofern eine Aufklärung der Infektionsquelle möglich war, wurde die Erkrankung zumeist im Ausland erworben. So erkrankten beispielsweise 8 Personen aus Baden-Württemberg 2015 nach einem Aufenthalt in Serbien. Als Infektionsquelle wurde Rohwurst ermittelt, die aus dem Fleisch eines hausgeschlachteten Schweins hergestellt wurde. Auch Fleisch von Wildschweinen kann eine Gefahrenquelle für den Menschen darstellen, wenn das Fleisch positiver 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.

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. 50.000 *Trichinella spiralis* Muskellarven (Referenzstamm ISS 003 aus der Muskulatur eines infizierten Meerschweinchens) infiziert. 14 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 326, Zunge 743, Kaumuskulatur 228, Schulter 137, Vorderbein 218, Bauch 116, Zwischenrippe 89, Kotelett 59 und Schinken 88 LpG.

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 eine *Trichinella*-negative und fünf *Trichinella*-positive Proben (Tabelle 1).

Tabelle 1: Status der Proben für den Ringversuch

Probe Nr.	Status	Sollwert (LpG)
1	positiv	3
2	negativ	0
3	positiv	8
4	positiv	15
5	positiv	3
6	positiv	4

Jede Probe wurde in eine verschließbare Kunststoffdose verpackt und entsprechend nummeriert. Alle Proben wurden bis zum Versand im Kühlraum bei 4°C gelagert. Jede kodierte 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 3 (8 Larven) und 6 (4 Larven) betrug die tolerierbare Abweichung 50 %, für die Probe 4 (15 Larven) 30 % (Tabelle 2). Für die Proben 1 und 5 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 8 Larven)

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

Bewertung der quantitativen Ergebnisse für die Probe 4 (Sollwert 15 Larven)

(n) Larven	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
z-score	-3,3	-2,7	-2	-1,3	-0,7	0	0,7	1,3	2	2,7	3,3

Bewertung der quantitativen Ergebnisse für die Probe 6 (Sollwert 4 Larven)

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

Bewertung des Ergebnisses für die Proben 1 und 5 (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.

2.3 Ringversuchsteilnehmer

Insgesamt nahmen 117 Labore aus allen 16 Bundesländern an dem Ringversuch teil. Ein Labor untersuchte zwei Probensätze und verwendete hierzu zwei unterschiedliche Untersuchungsmethoden. Da beide Ergebnisse separat in die Wertung einfließen, wurde dieses Labor zweimal gezählt, sodass die Teilnehmerzahl letztendlich 118 Labore betrug. Von 21 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

107 Teilnehmer führten das Magnetrührverfahren nach dem Prinzip der künstlichen Verdauung durch, zwei Teilnehmer verwendeten den Trichomatic-35® und vier Teilnehmer führten die Untersuchung mittels PrioCHECK®-Kit durch. Insgesamt fünf Teilnehmer machten keine Angabe zur verwendeten Methode. Bei 52 % aller Teilnehmer erfolgte die Auswertung der Proben mit einem Stereomikroskop. 40 % der Teilnehmer benutzten ein Trichinoskop und neun Labore machten keine Angaben. Die durchschnittliche Anzahl der richtig gefundenen Larven unterschied sich nicht signifikant bei den eingesetzten Auswertungsmethoden (Trichinoskop 73 % aller Larven gefunden, Stereomikroskop 74 %).

Um die Vollständigkeit des Verdauungsvorgangs zu beurteilen, sollte die Menge des unverdauten Restmaterials auf dem Sieb bestimmt werden. Bei 97 Teilnehmern (82 %) wurde bei keiner Probe mehr als 5 g Restmaterial ermittelt. Bei neun Laboren (8 %) wiesen ein bis drei untersuchte Proben eine erhöhte Menge unverdauten Materials auf, bei acht Laboren (7 %) wurde bei mindestens 4 Proben mehr als 5 g Restmaterial gefunden. Drei Labore machten bei allen Proben keine Angaben, bei einem Labor wurde keine genaue Gewichtsangabe für das Restmaterial (1-2 g) übermittelt. Auch sollte die Morphologie der gefundenen Larven

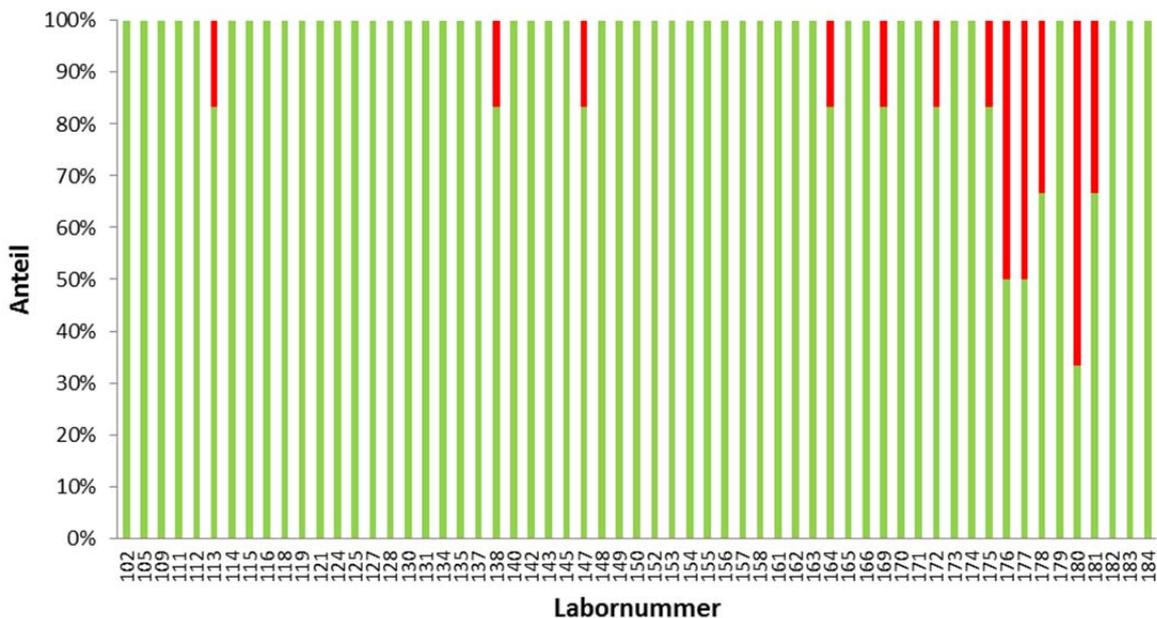
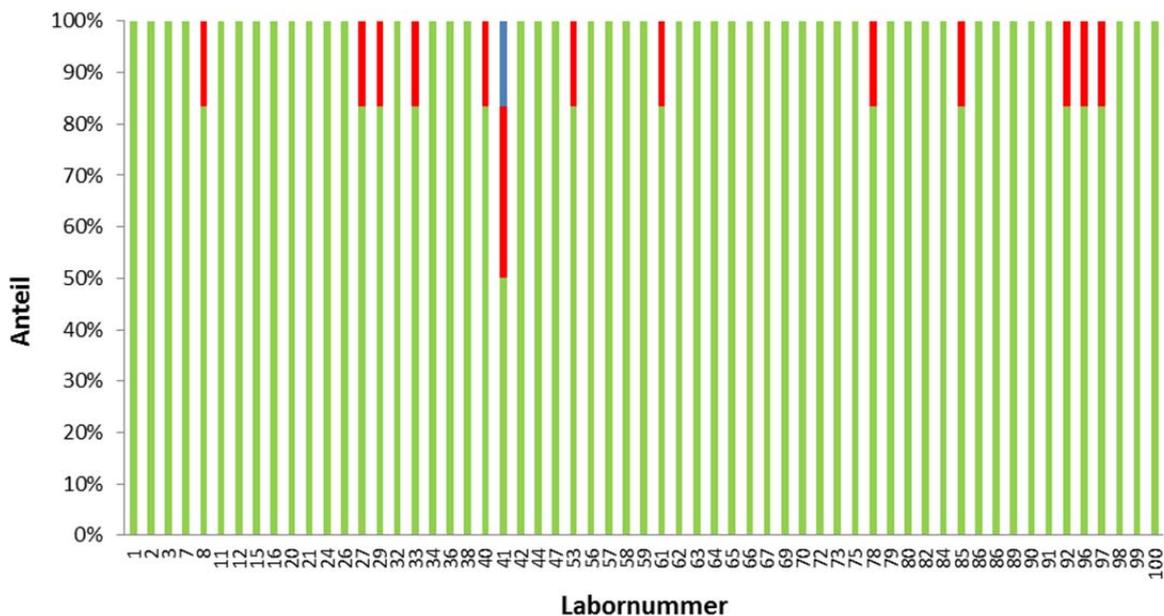
beurteilt werden. Es wurde unterschieden zwischen beweglichen und/oder eingerollten Larven und Larven, die in offener Form vorlagen und unbeweglich waren. Vier Teilnehmer machten keine Angaben zur Form der Larven. 91 % der gefundenen Larven wurden als lebend erkannt.

Von den zu bewertenden 590 *Trichinella*-positiven Proben wurden Larven in 555 Proben (94 %) gefunden. 35 Ergebnisse erwiesen sich als falsch-negativ. Von den 118 negativen Proben wurden 117 (99,2 %) korrekt und eine als falsch-positiv (0,8 %) beurteilt.

Bei den 35 falsch-negativen Ergebnissen handelte es sich in 15 Fällen um die Probe 1 (Sollwert 3 L), in zwei Fällen um die Probe 3 (Sollwert 8 L), in zwei Fällen um die Probe 4 (Sollwert 15 L), in acht Fällen um die Probe 5 (Sollwert 3 L) und in acht Fällen um die Probe 6 (Sollwert 4L).

Nach Auswertung der Einzelergebnisse haben 93 Labore (79 %) alle Proben korrekt als *Trichinella*-positiv bzw. -negativ erkannt, siehe Abbildung 1A und B. Von 19 Laboren wurde eine Probe falsch-negativ beurteilt. Jeweils zwei Labore hatten bei 2 Proben bzw. bei 3 Proben falsch-negative Ergebnisse. Ein Labor beurteilte 4 Proben falsch-negativ. Ein Labor hatte ein falsch positives und zwei falsch negative Ergebnisse.

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



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

Die Übersicht der Ergebnisse aller Labore ist in der Tabelle 3, geordnet nach der laufenden Probennummer, dargestellt.

Tabelle 3: Ergebnisse der 118 Labore zur Anzahl der Larven in den Proben 1-6

Probe	Pr. 1	Pr. 2	Pr. 3	Pr. 4	Pr. 5	Pr. 6	Anzahl Proben		
							Sollwert	richtig erkannt	falsch negativ
Labor-Nr.									
1	3	0	8	11	1	4	6		
2	3	0	5	14	3	4	6		
3	4	0	9	13	2	2	6		
7	3	0	7	12	2	3	6		
8	0	0	7	14	2	4	5	1	
11	3	0	7	14	2	5	6		
12	3	0	7	15	3	2	6		
15	3	0	8	14	3	4	6		
16	3	0	5	11	3	4	6		
20	1	0	5	14	3	2	6		
21	2	0	7	14	3	3	6		
24	2	0	7	13	2	3	6		
26	3	0	7	10	3	3	6		
27	0	0	10	11	3	3	5	1	
29	0	0	3	4	2	1	5	1	
32	2	0	8	15	3	4	6		
33	2	0	6	11	2	0	5	1	
34	3	0	8	12	3	2	6		
36	2	0	5	13	3	4	6		
38	2	0	7	15	3	3	6		
40	0	0	8	13	3	4	5	1	
41	1	2	2	0	0	5	3	2	1
42	3	0	5	14	3	4	6		
44	3	0	5	14	3	4	6		
47	2	0	7	7	2	1	6		
53	3	0	6	2	3	0	5	1	
56	3	0	7	15	3	4	6		
57	3	0	6	13	3	4	6		
58	2	0	2	17	3	4	6		
59	2	0	7	14	3	4	6		
61	1	0	3	2	1	0	5	1	
62	3	0	8	12	3	4	6		
63	3	0	7	13	2	4	6		
64	2	0	5	4	3	2	6		
65	3	0	6	13	3	3	6		
66	2	0	8	14	3	2	6		
67	2	0	6	13	3	4	6		
69	2	0	6	11	3	3	6		
70	3	0	7	13	1	4	6		
72	3	0	8	9	3	4	6		
73	3	0	8	11	3	4	6		
75	2	0	7	12	3	2	6		
78	0	0	9	8	4	2	5	1	
79	2	0	8	12	2	4	6		
80	3	0	7	14	2	2	6		
82	2	0	6	13	2	3	6		
84	4	0	6	11	3	4	6		
85	2	0	4	9	0	1	5	1	
86	3	0	6	8	2	3	6		
86	3	0	7	8	2	3	6		
89	3	0	8	13	3	3	6		
90	2	0	7	8	3	2	6		
91	2	0	7	11	3	2	6		
92	0	0	5	3	2	3	5	1	
96	2	0	9	5	3	0	5	1	
97	2	0	5	7	0	2	5	1	
98	3	0	7	14	3	4	6		
99	2	0	7	12	3	4	6		
100	3	0	8	12	3	4	6		
102	3	0	5	14	2	4	6		
105	2	0	4	11	3	4	6		
109	2	0	7	14	3	4	6		

Fortsetzung Tabelle 3:

Probe	Pr. 1	Pr. 2	Pr. 3	Pr. 4	Pr. 5	Pr. 6	Anzahl Proben		
							richtig erkannt	falsch negativ	falsch positiv
Sollwert	3	0	8	15	3	4			
Labor-Nr.									
111	2	0	7	11	3	1	6		
112	3	0	6	10	2	3	6		
113	2	0	0	12	2	3	5	1	
114	3	0	7	10	3	3	6		
115	3	0	3	12	2	1	6		
116	3	0	5	13	2	4	6		
118	2	0	8	12	3	4	6		
119	2	0	6	9	3	4	6		
121	3	0	8	15	2	3	6		
124	3	0	7	15	3	3	6		
125	1	0	3	15	3	3	6		
127	3	0	8	15	2	4	6		
128	2	0	9	11	2	1	6		
130	1	0	5	4	2	3	6		
131	2	0	8	13	1	1	6		
134	1	0	4	10	3	2	6		
135	3	0	7	10	2	2	6		
137	3	0	5	11	1	1	6		
138	0	0	8	12	3	3	5	1	
140	3	0	8	11	3	4	6		
142	3	0	6	14	1	1	6		
143	3	0	9	14	2	3	6		
145	3	0	4	8	3	2	6		
147	2	0	10	11	1	0	5	1	
148	2	0	8	9	1	2	6		
149	2	0	8	14	2	3	6		
150	3	0	5	13	3	4	6		
152	3	0	6	11	3	3	6		
153	7	0	3	6	4	2	6		
154	3	0	5	14	2	3	6		
155	4	0	4	14	3	4	6		
156	4	0	8	15	2	3	6		
157	3	0	8	15	2	2	6		
158	3	0	8	11	3	2	6		
161	1	0	7	15	2	2	6		
162	3	0	7	15	3	3	6		
163	2	0	7	14	2	3	6		
164	3	0	4	13	0	3	5	1	
165	4	0	5	15	2	4	6		
166	2	0	5	7	3	3	6		
169	0	0	2	4	1	2	5	1	
170	2	0	5	10	1	3	6		
171	3	0	5	14	3	4	6		
172	0	0	4	12	6	3	5	1	
173	2	0	4	6	1	2	6		
174	4	0	5	4	3	3	6		
175	0	0	5	8	2	3	5	1	
176	0	0	2	2	0	0	3	3	
177	0	0	1	4	0	0	3	3	
178	0	0	3	3	0	1	4	2	
179	2	0	9	17	6	4	6		
180	0	0	0	0	1	0	2	4	
181	0	0	13	10	0	8	4	2	
182	2	0	6	5	1	5	6		
183	1	0	6	9	3	4	6		
184	2	0	7	10	3	3	6		
Mittelwert	2,2	0,0	6,2	10,9	2,4	2,9			
St.abw.	1,2	0,2	2,1	3,8	1,1	1,3			
Tol.bereich	1-4	0	6-10	12-18	1-4	3-5			

Zeichenerklärung: rot = falsch-negative Ergebnisse; orange = falsch-positive Ergebnisse; blau = mehr Larven gezählt als Sollwert; fett gedruckt = Larvenzahl liegt außerhalb des Toleranzbereiches

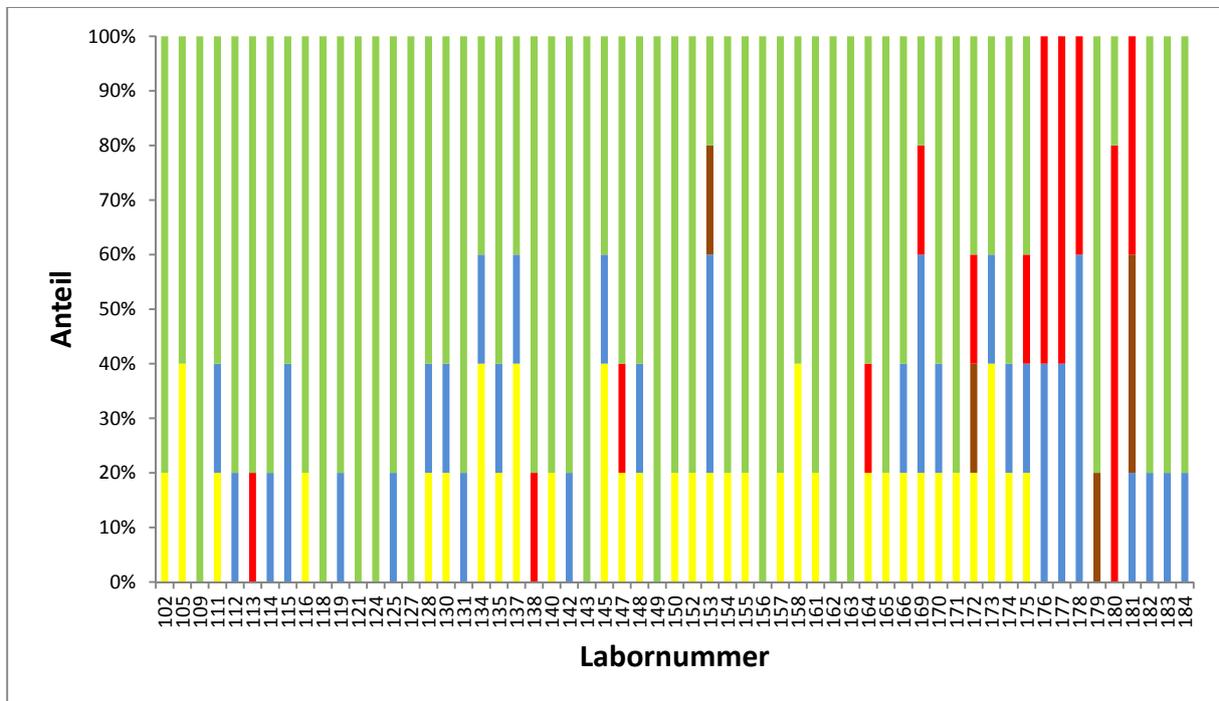
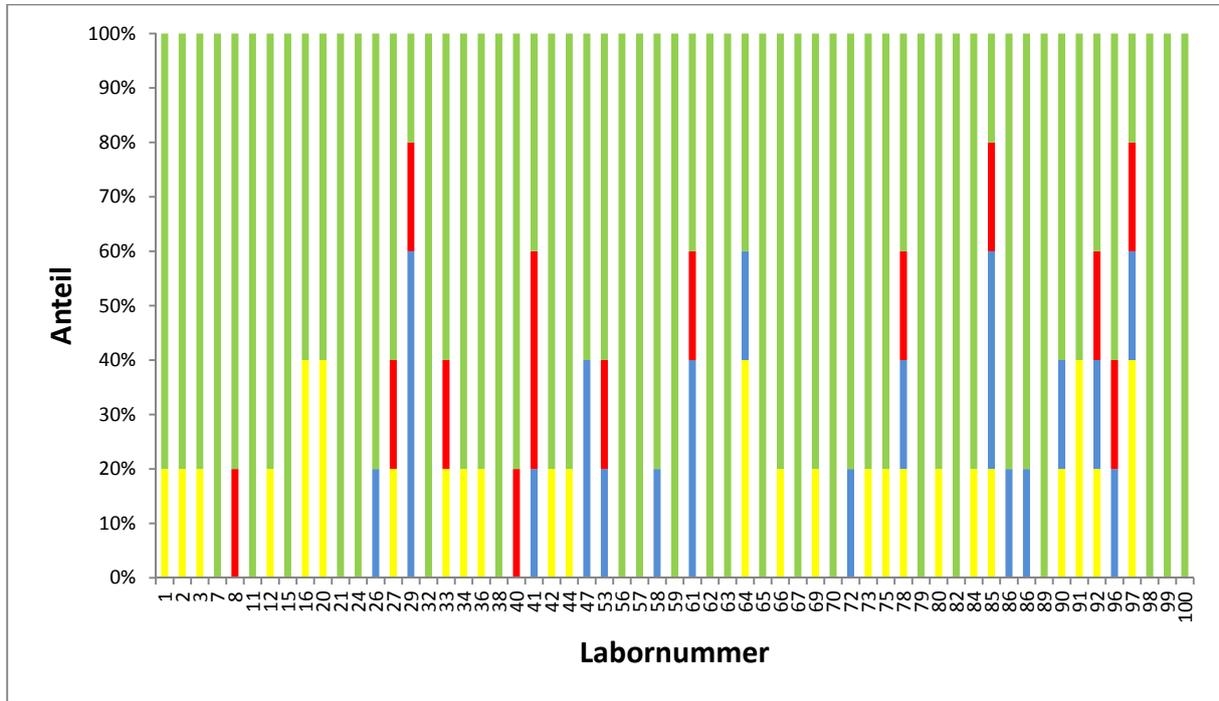
3.2 Quantitative Auswertung

Für die jeweiligen positiven Proben lag der Mittelwert der Labore für die Larvenanzahl unter dem Sollwert, wobei die Standardabweichung bei der Probe 4 (15 L) am höchsten war (Tabelle 3).

Von den insgesamt 555 richtig erkannten und quantitativ ausgewerteten *Trichinella*-positiven Proben lag die ermittelte Larvenanzahl in 425 Fällen (77 %) im berechneten Toleranzbereich (grüner Bereich des z-score). Für 67 Proben (12 %) lagen die Ergebnisse im grenzwertigen Bereich (gelber Bereich des z-score). 63 Proben (11 %) lagen außerhalb des Toleranzbereiches (Warnbereich).

Nach den Ergebnissen der quantitativen Auswertung für die einzelnen Labore hatten 31 Teilnehmer (26,3 %) die ermittelte Larvenanzahl für alle fünf positiven Proben gleichzeitig als qualitativ richtig bewertet und die ermittelte Larvenanzahl lag innerhalb des Toleranzbereichs und somit ausschließlich im grünen Bereich. Bei weiteren 30 Laboren (25,4 %) lag die ermittelte Anzahl der Larven der fünf richtig bewerteten positiven Proben sowohl im grünen als auch im grenzwertigen (gelben) Bereich. Bei insgesamt 57 Laboren (48,3 %) befand sich die ermittelte Larvenanzahl bei mindestens einer Probe außerhalb des Toleranzbereichs und/oder mindestens eine Probe wurde falsch-negativ beurteilt. (Abbildung 2A und B).

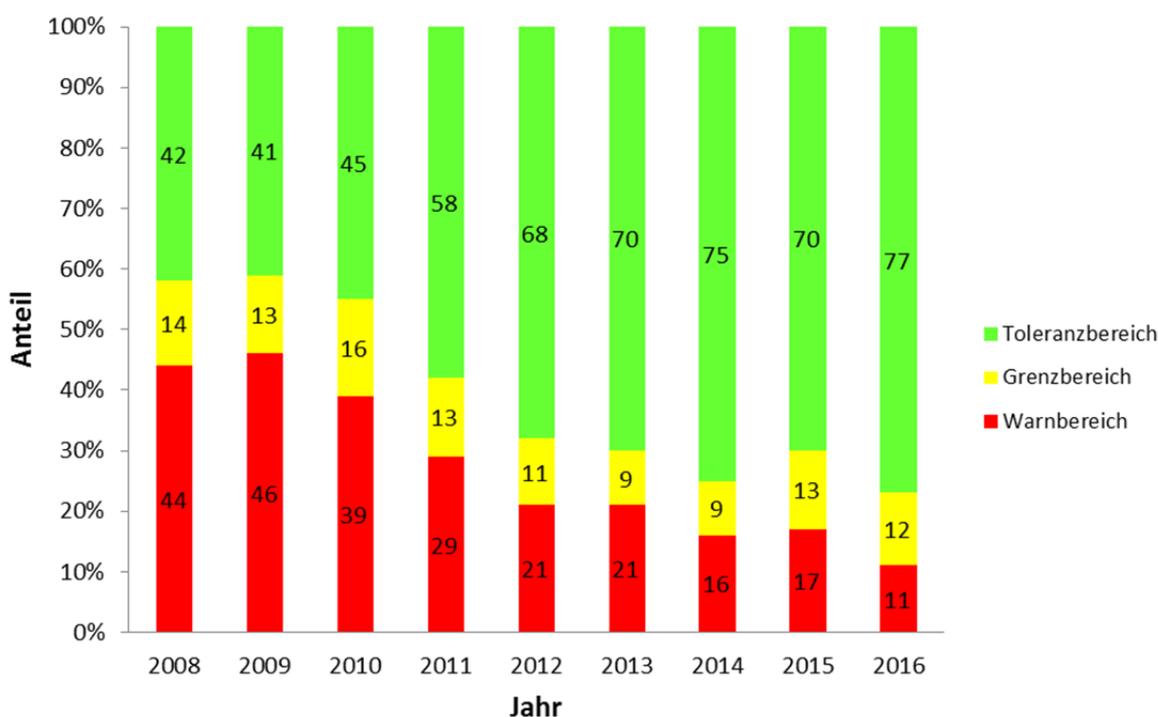
Abbildung 2A und B: Ergebnisse zur Larvenanzahl der 5 positiven Proben



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 oberhalb des Toleranzbereiches

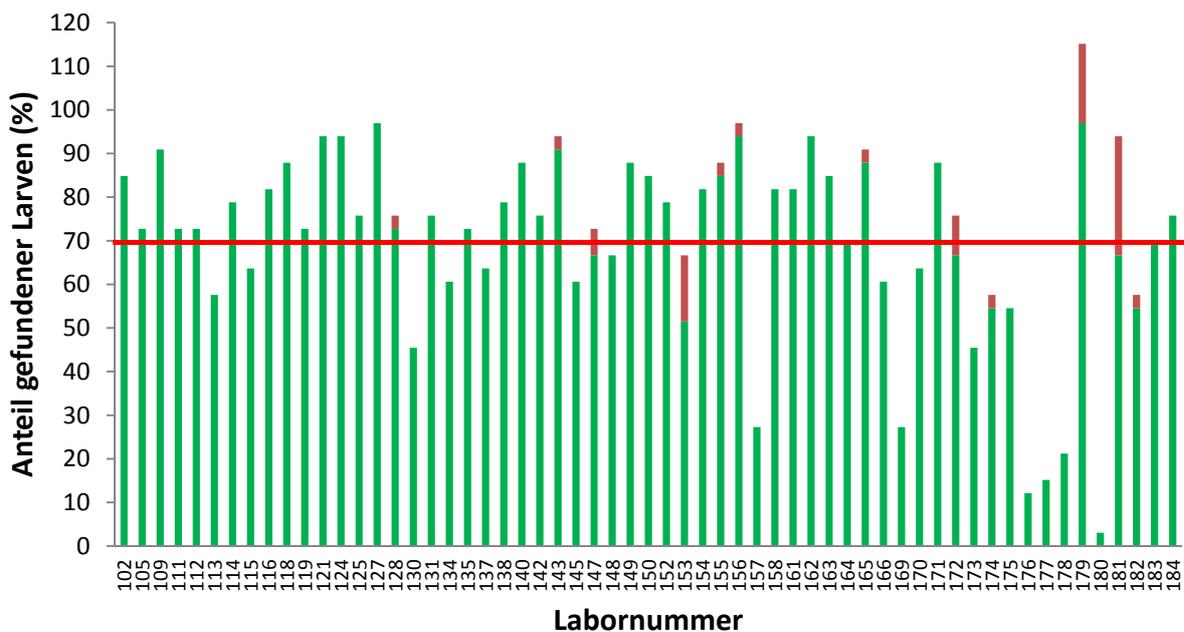
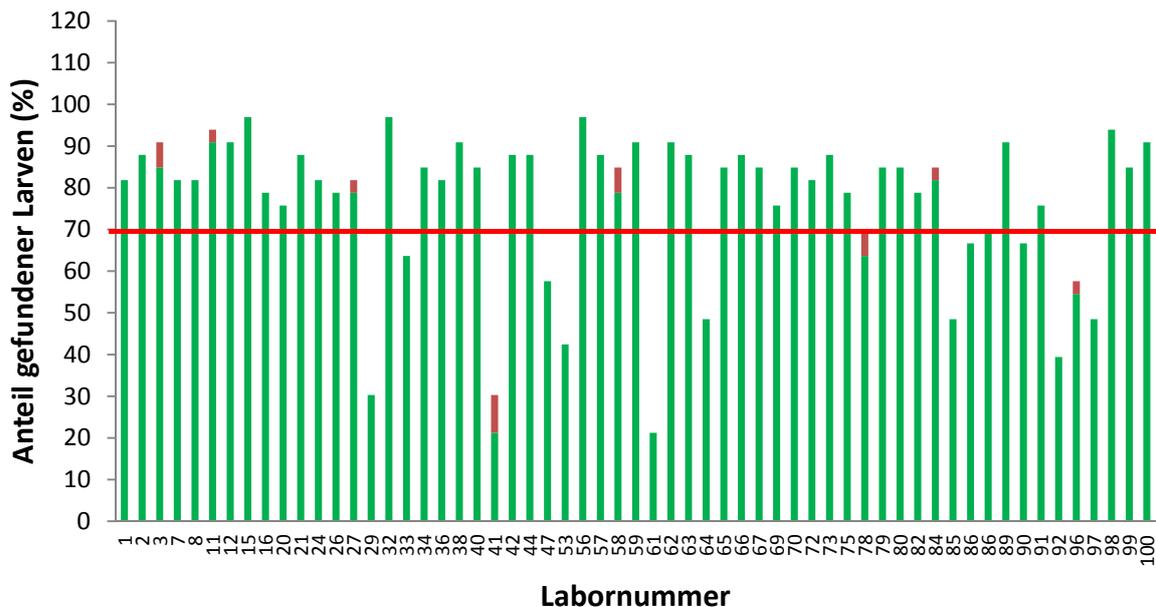
Beim Vergleich der quantitativen Auswertung der *Trichinella*-positiven Proben der vergangenen Jahre wird ersichtlich, dass die Anzahl der richtig erkannten Trichinellen dieses Jahr wieder angestiegen ist und mit 77 % den höchsten Wert seit 2008 darstellt. Während 2014 75 % der Ergebnisse im berechneten (grünen) Toleranzbereich lagen, sank in 2015 die Anzahl aller erkannten und quantitativ ausgewerteten *Trichinella*-positiven Proben innerhalb des errechneten Toleranzbereichs leicht auf 70 % ab (Abbildung 3).

Abbildung 3: Ergebnisse zur Larvenanzahl der 3, 4 oder 5 positiven Proben aller Labore von 2008-2016



Nach einem allgemeinen Richtwert sollten mindestens 70 % aller Larven (von insgesamt 33) identifiziert werden. Von den 118 Teilnehmern konnten 90 Labore (76 %) mindestens 70 % der Larven (≥ 23 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

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 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 76 %. 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 8 % 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 es sind 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 vorgeschriebe-

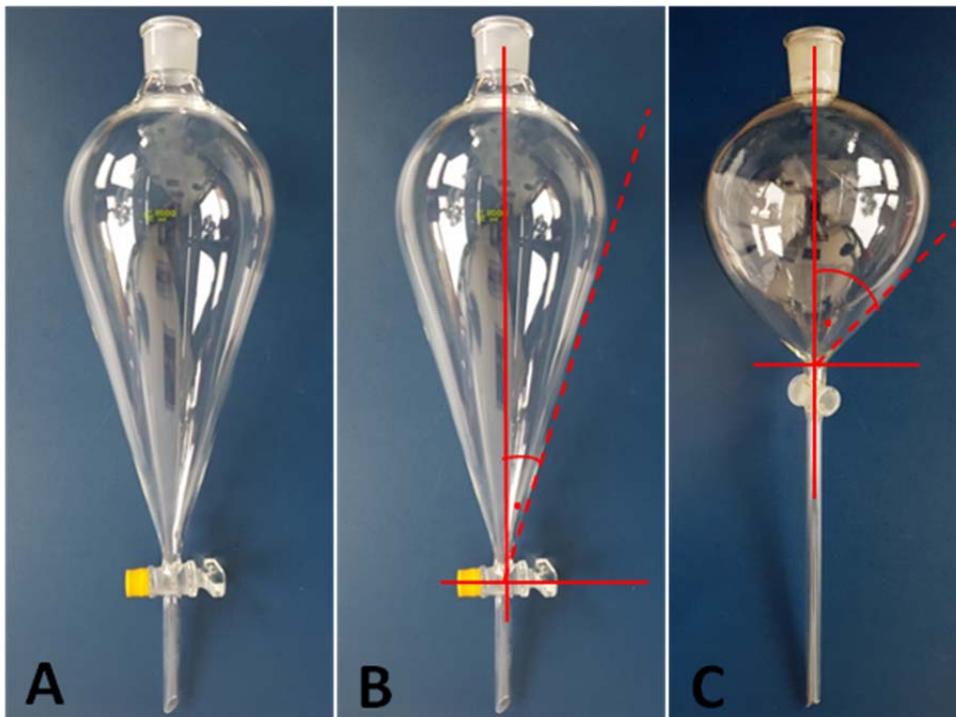
nen Verdauungszeit, Nichteinhaltung der Temperatur), sodass unverdautes Restmaterial auf dem Sieb zurückgeblieben ist.

- 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, Sedimentationsbecken mit Rillen, Scheidetrichter/Hahnküken aus Plastik.

Des Weiteren sollte bei der Auswahl des Scheidetrichters auf die Form und materielle Beschaffenheit geachtet werden, damit die Sedimentation aller Larven gewährleistet ist. Da Larven an Plastikoberflächen leicht haften bleiben, sollte ein Scheidetrichter aus Glas mit Glasküken verwendet werden. Auch sollte der Korpus des Trichters in einem bestimmten Winkel abgeschrägt sein (Scheidetrichter nach Squibb; s. Abb. 5):

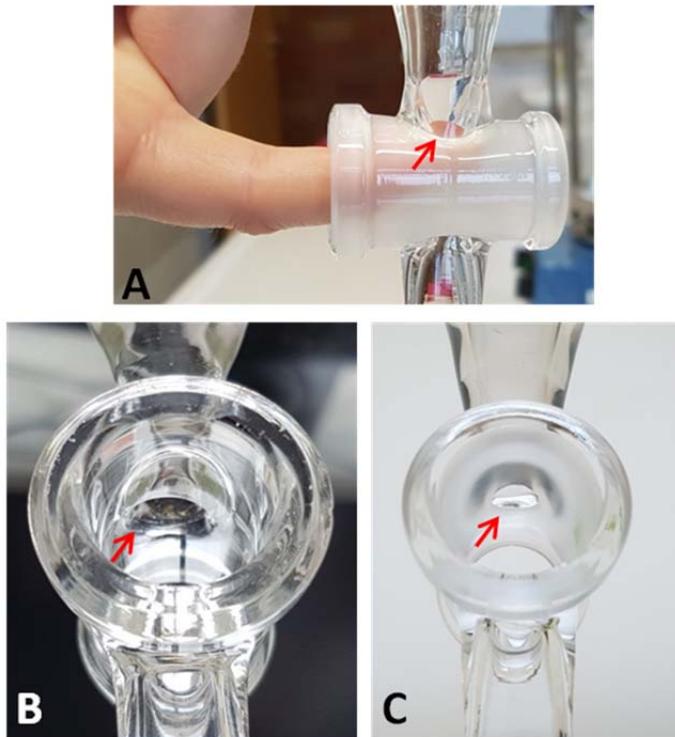
Abbildung 5: Darstellung geeigneter und ungeeigneter Scheidetrichter

A: Scheidetrichter nach Squibb; B: geeignete Form; C: ungeeignete Form, zu bauchförmig



Weiterhin sollte der Übergang vom Trichter zum Abflusshahn **nicht** abgerundet sein. Er sollte scharfkantig sein, damit die Larven an diesem Übergang beim Öffnen des Hahns nicht eingeklemmt werden (s. Abb. 6):

Abbildung 6: Überprüfung der Kantenbeschaffenheit am Übergang zum Abflusshahn. A: Überprüfung des Übergangs; B: abgerundeter Übergang, ungeeignet; C: scharfkantiger Übergang



Ferner, sollte in regelmäßigen Abständen 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.

Als zusätzliche Hilfestellung kann unter folgendem Link der ordnungsgemäße Ablauf der Trichinenuntersuchung in Form einer Videopräsentation abgerufen werden:

<http://www.jove.com/video/55354>