

Ringversuch zum Nachweis von Trichinellen in Fleisch (2010)

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

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

1 Einleitung

Gemäß der Verordnung (EG) Nr. 2075/2005 werden in Deutschland alle Schlachtkörper von Hausschweinen, Pferden, Wildschweinen, Zuchtwild und frei lebendem Wild, die Träger von Trichinen sein können, einer systematischen Trichinenuntersuchung unterzogen. In den letzten zehn Jahren wurden von ca. 453 Mio untersuchten Tieren nur 4 Schweine *Trichinella* positiv bewertet. Im Gegensatz zu den Haustieren wurden bei den zwischen 2000 und 2009 ca. 3,4 Mio. in Deutschland untersuchten Wildschweinen 92 *Trichinella*-positive Tiere gefunden.

Interessanterweise wurden in den Jahren 2005 - 2009 in Mecklenburg-Vorpommern im Vergleich zum restlichen Bundesgebiet signifikant mehr *Trichinella*-positive Wildschweine gemeldet. Dies könnte auf die starke Ausbreitung des Marderhundes in der Region zurückzuführen sein. Der Marderhund spielt auf Grund seiner Fressgewohnheiten eine bedeutende Rolle als natürliches *Trichinella*-Reservoir. Alle 4 in den letzten 10 Jahren gemeldeten *Trichinella*-positive Hausschweine waren in kleinbäuerlichen Betrieben gehalten worden. In Gebieten mit einer erhöhten *Trichinella* Prävalenz im silvatischen Zyklus kann es zu einer Infektion von Hausschweinen durch das Fressen infizierter Wildtiere während der Freilandhaltung oder durch das Verfüttern von Wildabfällen kommen. Eine interessante Fragestellung ist, ob sich die erwartete Ausbreitung des Marderhunds in Richtung Westen auch auf die Anzahl der deutschlandweit gefundenen *Trichinella*-positiven Wildschweine auswirken wird.

Wie in den vergangenen Jahren bestand auch im Jahr 2010 ein großes Interesse am Ringversuch des Nationalen Referenzlabors für Trichinellose zum Nachweis von Trichinellen im Fleisch. Aufgrund der großen Teilnehmerzahl wurde der Ringversuch erstmals in drei, um eine Woche versetzten, Durchgängen durchgeführt.

Wie im vergangenen Jahr wurde eine abgezählte Larvenanzahl 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 Hausschweins) infiziert. 10 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 239, Zunge 332, Kaumuskulatur 137,5, Schulter 107,5, Vorderbein 89,5, Bauch 86, Zwischenrippe 69,5, Kotelett 40,5 und Schinken 53 LpG.

2.2 Ringversuchsmaterial

Zur Herstellung der *Trichinella*-positiven Proben wurden für jeden Durchgang *T. spiralis* Larven mittels Digestion aus dem Fleisch des Koteletts des infizierten Schweins 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	6
2	negativ	0
3	positiv	14
4	negativ	0
5	positiv	18
6	positiv	8

Jede Probe wurde in einen Plastikbeutel verpackt und entsprechend nummeriert. Alle Proben wurden bis zum Versand im Kühlraum bei 4°C gelagert. Die Probe sollte mit 90 g Füllmaterial (negatives Schweinefleisch) pro Ansatz untersucht werden, jedoch ohne dass die Ringversuchsproben nochmals im Mixer zerkleinert werden sollten. Die Probe sollte direkt in die Digestionsflüssigkeit gegeben und am Rand des Becherglases 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 1 (6 Larven) und 6 (8 Larven) wurde eine tolerierbare Abweichung von 50 % zugrunde gelegt. Für die Proben 3 (14 Larven) und 5 (18 Larven) betrug die tolerierbare Abweichung 30 % (Tabelle 2).

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

Bewertung der quantitativen Ergebnisse für die Probe 1 (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 6 (Sollwert 8 Larven)

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

Bewertung der quantitativen Ergebnisse für die Probe 3 (Sollwert 14 Larven)

(n) Larven	≤9	10	11	12	13 - 15	16	17	18	≥19
z-score	-3,6	-2,9	-2,1	-1,4	+0,7	1,4	2,1	2,9	3,6

Bewertung der quantitativen Ergebnisse für die Probe 5 (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

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

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

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

2.3 Ringversuchsteilnehmer

Insgesamt nahmen 108 Labore aus allen 16 Bundesländern an dem Ringversuch teil. Ein Teilnehmer konnte wegen Krankheitsfall die Proben nicht bearbeiten, die Ergebnisse eines weiteren Teilnehmers wurden erst 8 Tage nach Ende der Einsendefrist übersandt (die Ergebnisse wurden in die Auswertung mit aufgenommen).

Seit dem ersten vom BfR ausgerichteten Ringversuch zum Nachweis von Trichinellen im Fleisch (2004) hat sich die Anzahl der Ringversuchsteilnehmer mehr als verdreifacht.

Den Ringversuchsteilnehmern wurde der Versand der Proben etwa 4 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.

2.4 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

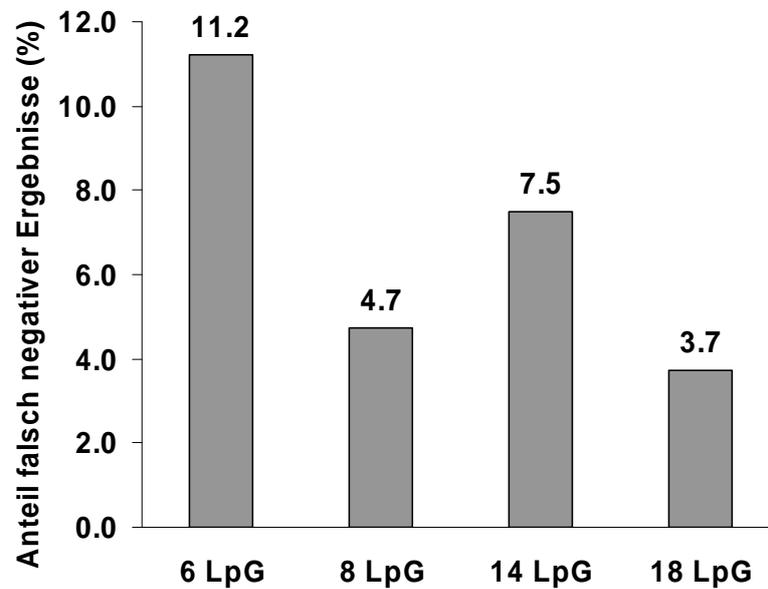
3.1 Qualitative Auswertung

Alle Teilnehmer führten das Magnetrührverfahren nach dem Prinzip der künstlichen Verdauung durch. Bei 59 % aller Teilnehmer erfolgte die Auswertung der Proben mit einem Stereomikroskop. 37 % der Teilnehmer benutzten ein Trichinoskop, zwei Teilnehmer verwendeten beide Methoden und zwei Labore machten keine Angaben. Die durchschnittliche Anzahl der gefundenen Larven unterschied sich bei den eingesetzten Auswertungsmethoden nicht (Trichinoskop 61% aller Larven gefunden, Stereomikroskop 60%).

Von den zu bewertenden 428 *Trichinella*-positiven Proben wurden Larven in 398 Proben (93 %) gefunden. 29 Ergebnisse erwiesen sich als falsch-negativ (7 %). Eine positive Probe wurde nicht untersucht. Von den 214 negativen Proben wurden 207 (96,7 %) korrekt und 5 als falsch-positiv (2,3 %) beurteilt. Zwei negative Proben wurden auf Grund technischer Schwierigkeiten nicht untersucht.

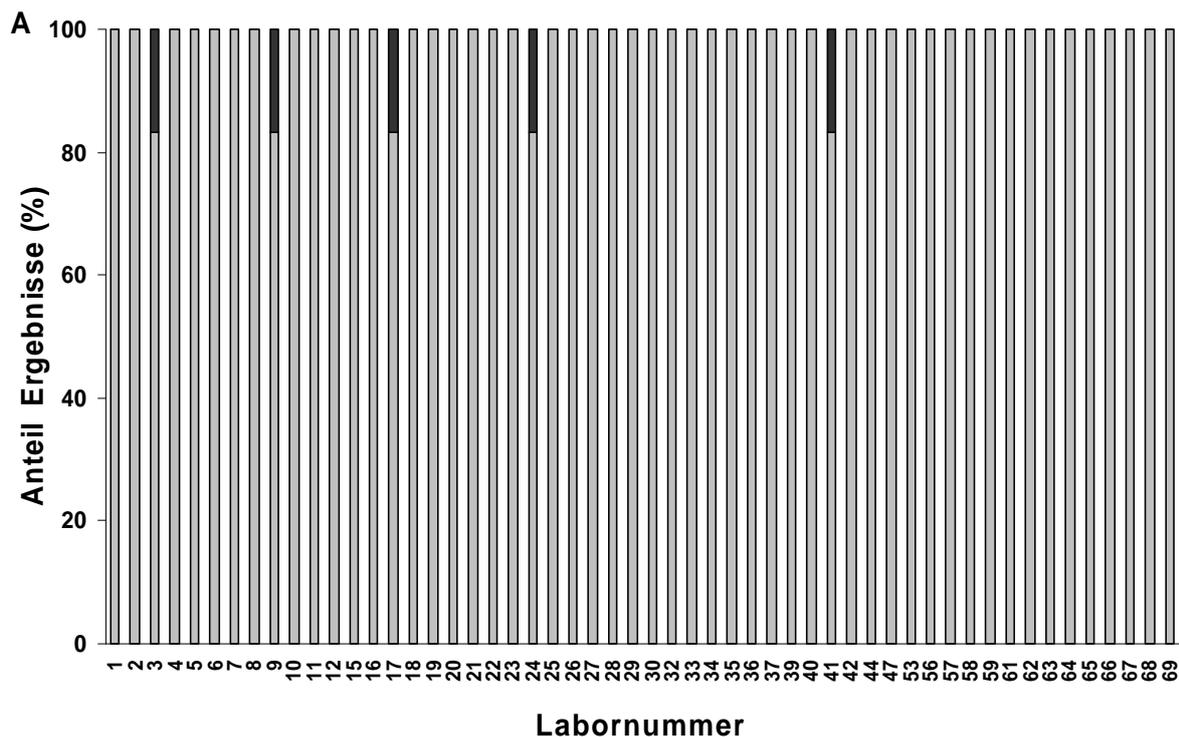
Bei den im Magnetrührverfahren ermittelten 29 falsch-negativen Ergebnissen handelte es sich in 12 Fällen um die Probe 1 (Sollwert 6 LpG), in 5 Fällen um die Probe 6 (Sollwert 8 LpG), in 8 Fällen um die Probe 3 (Sollwert 14 LpG), in 4 Fällen um die Probe 5 (Sollwert 18 LpG), siehe Abbildung 1.

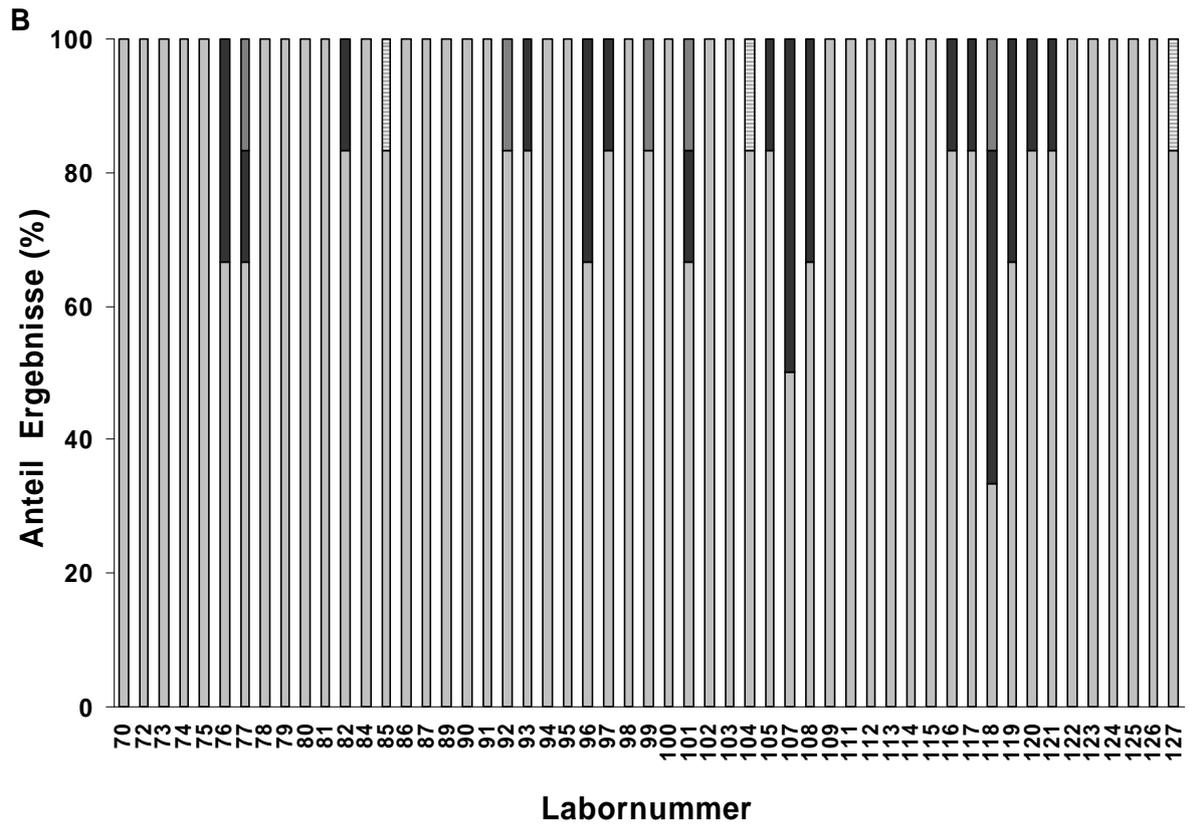
Abbildung 1: Anteil falsch-negative Ergebnisse für die Probe 1 (6 LpG), 6 (8 LpG), 3 (14 LpG) und 5 (18 LpG)



Nach Auswertung der Einzelergebnisse haben 84 Labore (78,5 %) alle untersuchten 6 Proben korrekt als *Trichinella*-positiv bzw. -negativ erkannt, siehe Abbildung 2A und Abbildung 2B. Von 13 Laboren wurde eine Probe, von 5 Laboren mehr als eine Probe falsch-negativ beurteilt. Zwei Labore hatten ein falsch-positives Ergebnis. Zwei Labore beurteilten jeweils eine Probe als falsch-negativ bzw. falsch-positiv, ein Labor hatte drei falsch negative und ein falsch positives Ergebnis. Proben, welche auf Grund technischer Schwierigkeiten nicht ausgezählt werden konnten, wurden nicht in die Bewertung mit aufgenommen.

Abbildung 2 A und B: Prozentualer Anteil der von den Teilnehmern richtig erkannten Proben.





Zeichenerklärung: schwarz = falsch-negativ; dunkel grau = falsch-positiv, hell grau = richtig erkannt, grau gestreift = 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 107 Labore zur Anzahl der Larven in den Proben 1-6

Probe	1	2	3	4	5	6	richtig	falsch negativ	falsch positiv
Sollwert	6	0	14	0	18	8			
Labor	Dig	Dig	Dig	Dig	Dig	Dig			
1	5	0	12	0	15	7	6	0	0
2	6	0	13	0	18	8	6	0	0
3	3	0	11	0	10	0	5	1	0
4	2	0	7	0	8	4	6	0	0
5	10	0	15	0	20	6	6	0	0
6	2	0	7	0	13	6	6	0	0
7	4	0	6	0	7	6	6	0	0
8	6	0	11	0	13	6	6	0	0
9	8	0	4	0	14	0	5	1	0
10	5	0	9	0	17	4	6	0	0
11	5	0	15	0	13	4	6	0	0
12	6	0	14	0	17	7	6	0	0
15	6	0	9	0	9	5	6	0	0
16	6	0	9	0	17	7	6	0	0
17	1	0	2	0	0	1	5	1	0
18	6	0	10	0	16	8	6	0	0
19	4	0	4	0	7	2	6	0	0
20	3	0	7	0	7	8	6	0	0
21	6	0	2	0	18	2	6	0	0
22	5	0	12	0	16	8	6	0	0
23	5	0	12	0	10	2	6	0	0
24	0	0	3	0	18	8	5	1	0
25	7	0	15	0	12	7	6	0	0
26	6	0	13	0	15	8	6	0	0
27	3	0	10	0	11	4	6	0	0
28	2	0	7	0	8	5	6	0	0
29	3	0	7	0	11	5	6	0	0
30	1	0	8	0	8	6	6	0	0
32	6	0	14	0	16	6	6	0	0
33	5	0	7	0	12	2	6	0	0
34	5	0	3	0	12	3	6	0	0
35	5	0	6	0	6	1	6	0	0
36	2	0	5	0	7	4	6	0	0
37	6	0	12	0	16	7	6	0	0
39	4	0	12	0	15	5	6	0	0
40	3	0	7	0	17	8	6	0	0
41	0	0	12	0	3	4	5	1	0
42	4	0	12	0	9	5	6	0	0
44	5	0	11	0	1	7	6	0	0
47	5	0	13	0	15	6	6	0	0
53	3	0	6	0	5	1	6	0	0
56	4	0	7	0	12	7	6	0	0
57	1	0	16	0	3	4	6	0	0
58	3	0	11	0	16	5	6	0	0
59	5	0	5	0	3	5	6	0	0
61	5	0	13	0	16	5	6	0	0
62	5	0	10	0	14	8	6	0	0
63	5	0	11	0	16	6	6	0	0
64	1	0	8	0	4	1	6	0	0
65	5	0	11	0	16	7	6	0	0
66	4	0	3	0	3	3	6	0	0
67	4	0	12	0	10	6	6	0	0
68	4	0	2	0	2	4	6	0	0
69	6	0	4	0	13	3	6	0	0

Probe	1	2	3	4	5	6	richtig	falsch negativ	falsch positiv
Sollwert	6	0	14	0	18	8			
Labor	Dig	Dig	Dig	Dig	Dig	Dig			
70	6	0	13	0	13	7	6	0	0
72	6	0	13	0	18	7	6	0	0
73	6	0	13	0	17	8	6	0	0
74	2	0	9	0	6	6	6	0	0
75	4	0	7	0	6	8	6	0	0
76	0	0	0	0	15	2	4	2	0
77	2	0	0	4	12	6	4	1	1
78	5	0	8	0	10	5	6	0	0
79	6	0	6	0	10	5	6	0	0
80	4	0	13	0	10	6	6	0	0
81	5	0	5	0	12	5	6	0	0
82	0	0	5	0	9	2	5	1	0
84	5	0	9	0	9	3	6	0	0
85	6	-	7	0	14	4	5	0	0
86	2	0	4	0	11	5	6	0	0
87	4	0	13	0	10	3	6	0	0
89	2	0	10	0	15	6	6	0	0
90	6	0	14	0	17	6	6	0	0
91	5	0	11	0	16	7	6	0	0
92	1	0	7	1	2	2	5	0	1
93	0	0	3	0	4	4	5	1	0
94	5	0	9	0	16	6	6	0	0
95	5	0	12	0	8	3	6	0	0
96	0	0	0	0	8	6	4	2	0
97	3	0	4	0	8	0	5	1	0
98	6	0	13	0	11	7	6	0	0
99	8	0	12	1	19	9	5	0	1
100	4	0	12	0	16	6	6	0	0
101	1	0	0	1	3	7	4	1	1
102	4	0	15	0	14	7	6	0	0
103	6	0	7	0	17	6	6	0	0
104	6	0	12	0	5	-	5	0	0
105	1	0	0	0	1	1	5	1	0
107	1	0	0	0	0	0	3	3	0
108	0	0	0	0	3	6	4	2	0
109	1	0	12	0	13	5	6	0	0
111	4	0	8	0	6	6	6	0	0
112	3	0	11	0	17	8	6	0	0
113	5	0	8	0	6	8	6	0	0
114	6	0	6	0	11	4	6	0	0
115	3	0	7	0	11	7	6	0	0
116	3	0	9	0	0	3	5	1	0
117	0	0	5	0	2	8	5	1	0
118	0	0	2	2	0	0	2	3	1
119	0	0	0	0	2	5	4	2	0
120	0	0	3	0	6	1	5	1	0
121	0	0	1	0	5	4	5	1	0
122	5	0	5	0	10	3	6	0	0
124	5	0	14	0	16	6	6	0	0
125	3	0	6	0	12	8	6	0	0
126	2	0	7	0	8	4	6	0	0
123	3	0	8	0	13	4	6	0	0
127	2	-	12	0	7	3	5	0	0
Mittelwert	3.77	0.00	8.20	0.08	10.47	4.95			
St. abw.	2.18	0.00	4.31	0.46	5.30	2.30			
Tol.-bereich	3-9	0	10-18	0	13-23	4-12			

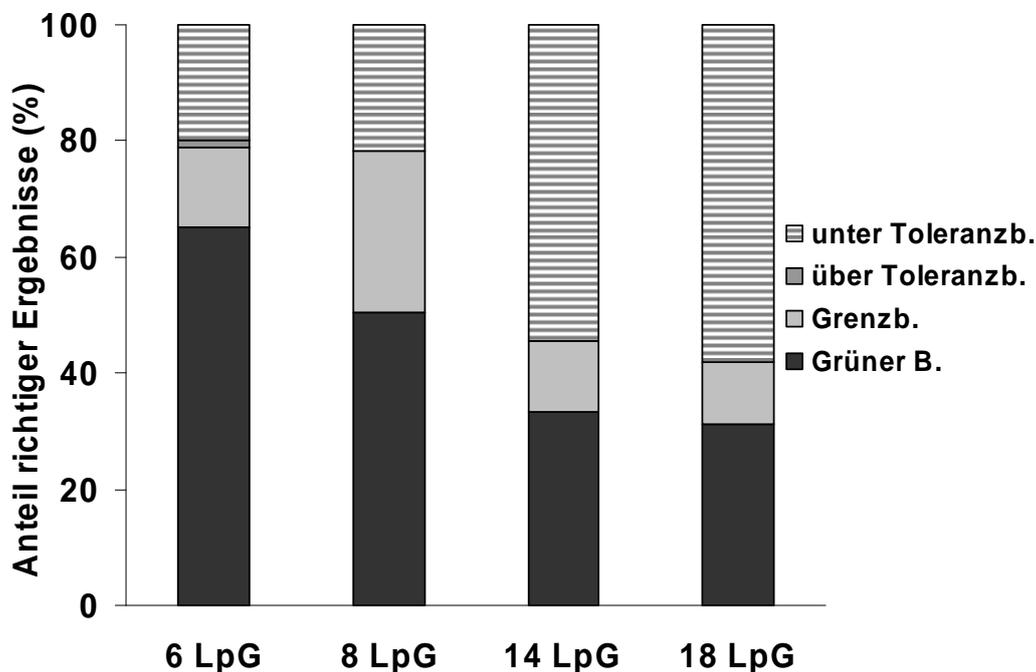
Zeichenerklärung: dunkel grau = falsch-negative oder falsch-positive Ergebnisse; hell grau = Larvenzahl liegt unterhalb des Toleranzbereiches; schwarz unterstrichen = Larvenzahl liegt oberhalb des Toleranzbereiches.

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 5 (18 LpG) erwartungsgemäß am höchsten war (Tabelle 3).

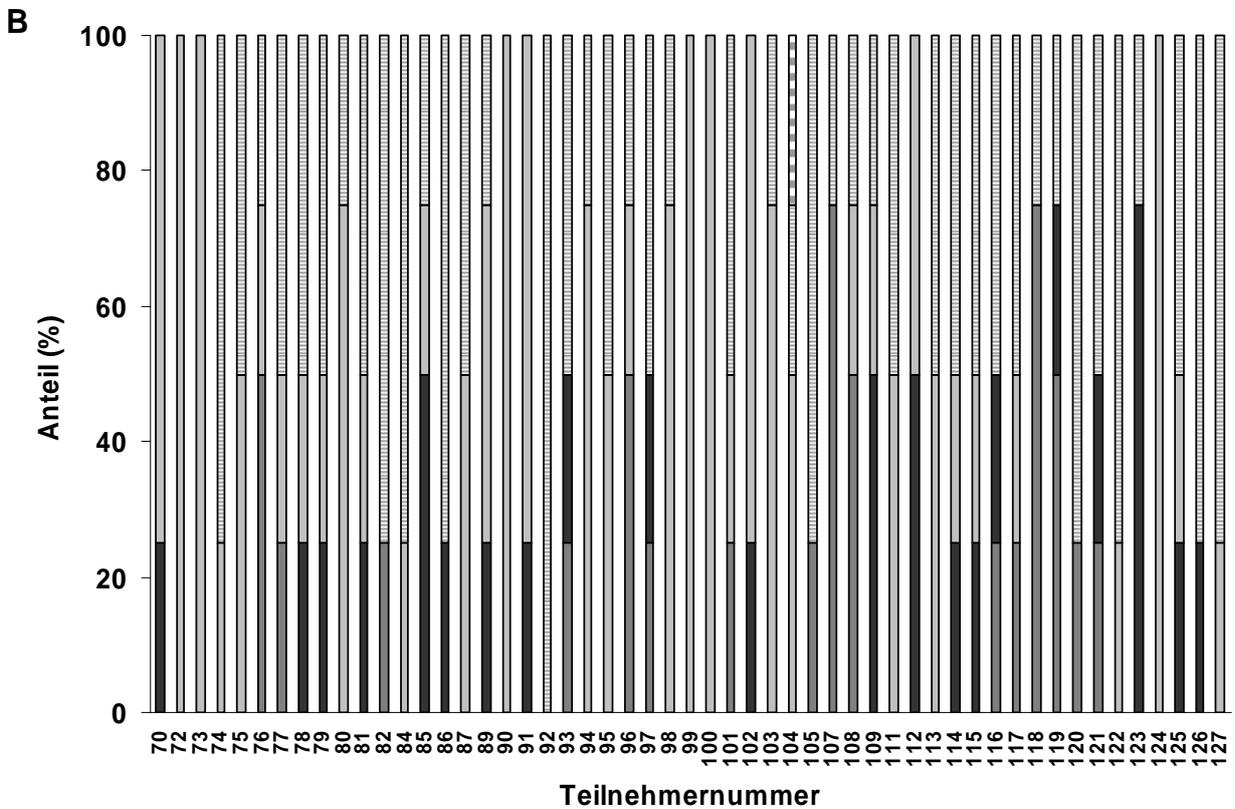
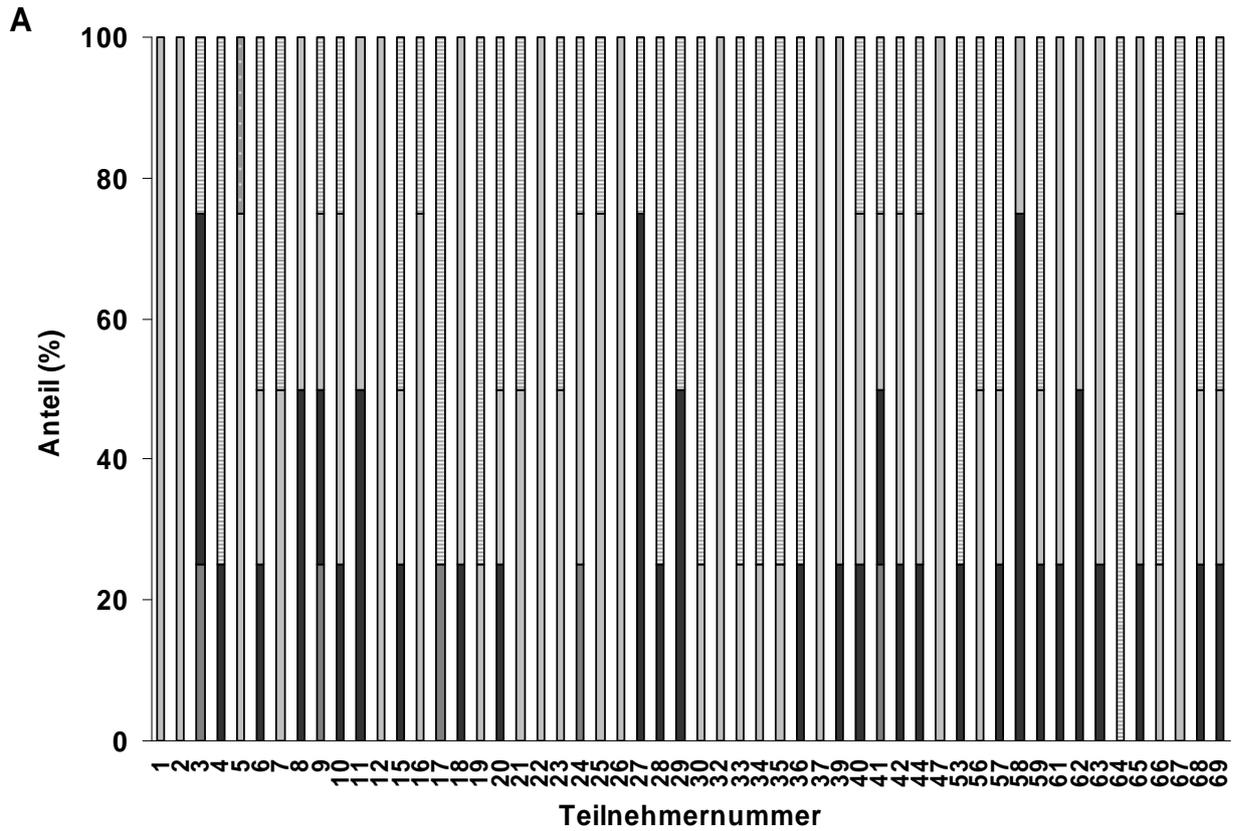
Von den insgesamt 398 erkannten *Trichinella*-positiven Proben lag die ermittelte Larvenanzahl in 242 Fällen (60,8 %) im berechneten Toleranzbereich. Hiervon lagen 26,4 % (64) der Proben im grenzwertigen Bereich des z-score. Die ermittelte Larvenanzahl lag für 1 Probe über und für 155 Proben (38,9 %) unter dem Toleranzbereich. Dabei war für Probe 5 (18 LpG) der Anteil der Ergebnisse, für welche die Anzahl der ermittelten Larven außerhalb des Toleranzbereiches lag, am höchsten (Abbildung 4).

Abbildung 4: Anteil der *Trichinella*-positiven Proben, für welche die Larvenanzahl im Toleranzbereich (aufgeteilt in grenzwertigen Bereich und grünen Bereich), darüber oder darunter lag.



Nach den Ergebnissen der quantitativen Auswertung für die einzelnen Labore hatten nur 14 Teilnehmer (13%) alle positiven Proben gleichzeitig als qualitativ richtig bewertet und die ermittelte Larvenanzahl lag innerhalb des Toleranzbereichs ausschließlich im grünen Bereich. Bei weiteren 13 Laboren (12%) lag die ermittelte Anzahl der Larven der 4 richtig bewerteten positiven Proben auch im grenzwertigen Bereich. Bei 41 Laboren (38%) befand sich die ermittelte Larvenanzahl bei einer oder zwei der als richtig positiv erkannten Proben außerhalb des Toleranzbereichs. Im Gegensatz dazu war bei 39 Laboren (37 %) bei 3 oder mehr *Trichinella*-positiven Proben die Larvenanzahl außerhalb des Toleranzbereiches oder es handelte sich um falsch-negative Proben (Abbildung 5A und 5B).

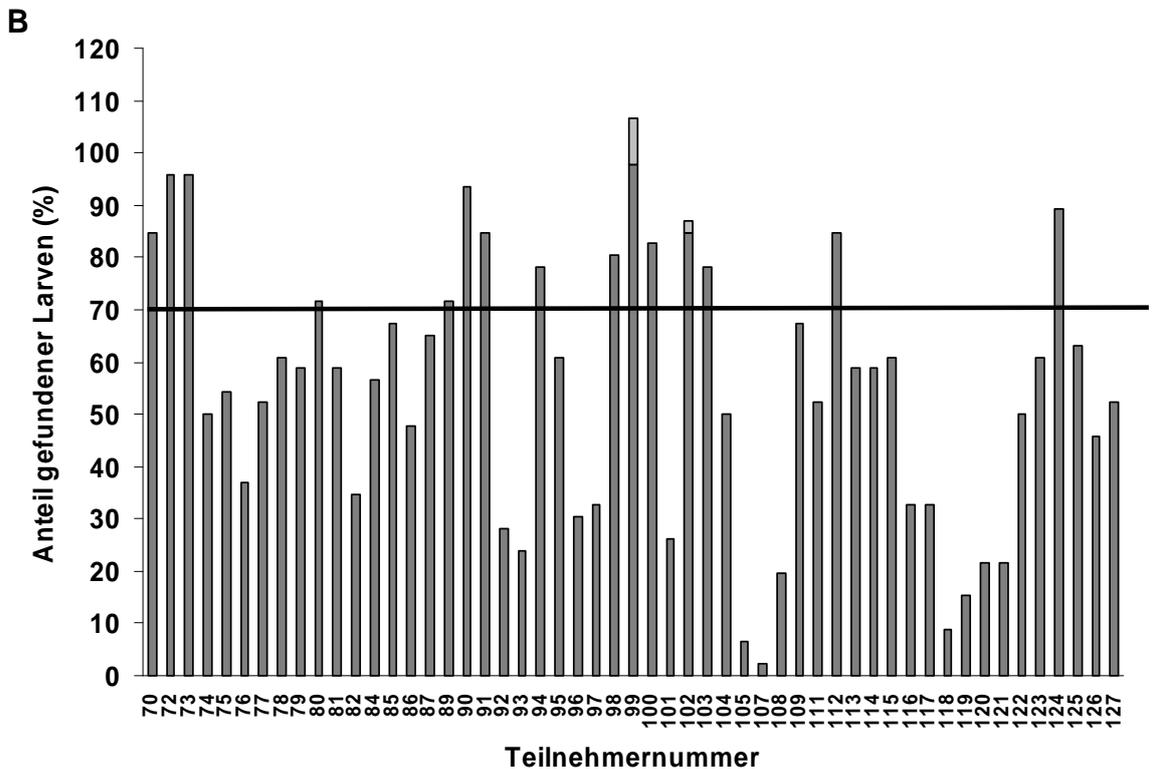
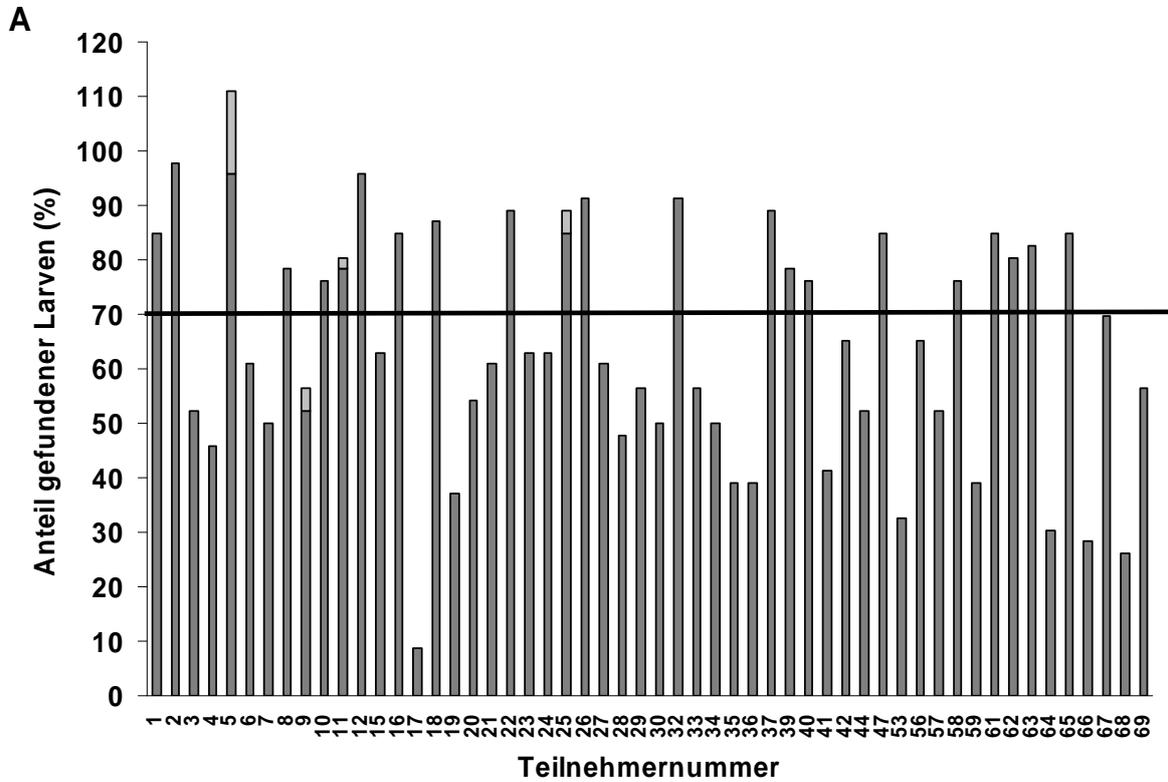
Abbildung 5A und B: Ergebnisse zur Larvenanzahl der 4 positiven Proben für die einzelnen Labore.



Zeichenerklärung: dunkel grau = falsch-negative Ergebnisse; grau weiß gepunktet = Larvenzahl liegt oberhalb des Toleranzbereiches; grau gestreift = Larvenzahl liegt unterhalb des Toleranzbereiches, hell grau = Larvenzahl liegt innerhalb des Toleranzbereiches (grüner Bereich), schwarz = Larvenzahl liegt innerhalb des Toleranzbereiches (grenzwertiger Bereich), grau weiß kariert = Probe nicht untersucht.

Nach einem allgemeinen Richtwert sollten mindestens 70 % aller in die Fleischklopse verbrachter Larven identifiziert werden. Die Gesamtzahl aller Larven in den vier positiven Proben lag bei 46 Larven. Von den 107 Teilnehmern konnten nur 38 Labore (36 %) mindestens 70% der Larven (≥ 32 Larven) identifizieren (Abbildungen 6A und B).

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

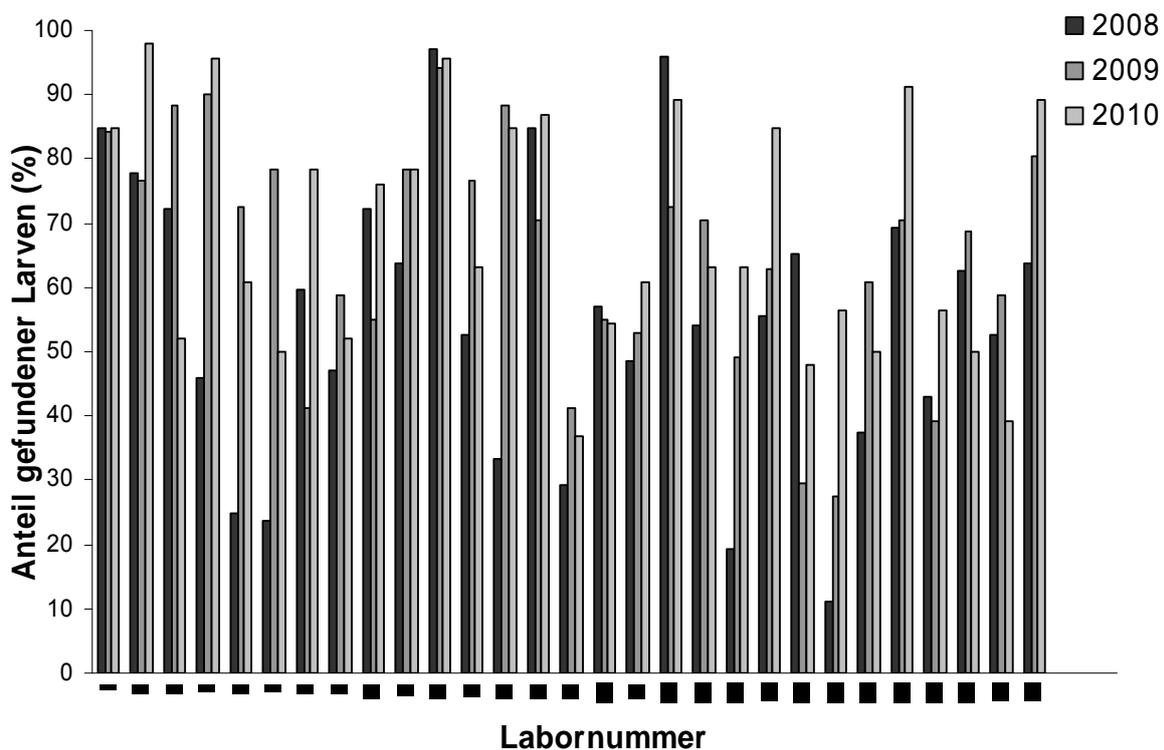


Zeichenerklärung: dunkel grau = richtig gefundene Larven; hell grau = falsch positive Larven

3.2 Vergleich der Ringversuchergebnisse 2008 - 2010

29 Labore hatten unter Vergabe der gleichen Laboridentifikationsnummer an den Ringversuchen 2008, 2009 und 2010 teilgenommen. Vorherige Ringversuche wurden in dem Vergleich nicht berücksichtigt, da erst 2008 das Verbringen einer exakt abgezählten Larvenanzahl eingeführt worden war. Als Vergleichsgröße wurde der Anteil richtig gefundener Larven eines jeden Labors herangezogen (Abbildung 7). 2008 wurden von den Teilnehmern im Durchschnitt 55 % aller Larven gefunden, 2009 waren es 65 % und 2010 69 %. Die Ergebnisse weisen bei wiederholter Teilnahme an einem Ringversuch auf eine sich stetig verbessernde Qualität der Untersuchungen hin.

Abbildung 7: Anteil gefundener Larven aller positiven Proben von 2008-2010



4 Diskussion

Die Zahl der am Ringversuch 2010 teilnehmenden Labore stieg weiter an und verdeutlicht das Interesse zur Teilnahme an Qualitätskontrollen im Rahmen der Trichinenuntersuchung.

Von 78,5 % der Labore wurden alle Proben korrekt als *Trichinella*-positiv bzw. -negativ beurteilt. Erfreulicherweise stieg der Anteil der quantitativ richtig bewerteten positiven Proben von 54 % (2009) auf 60,8 %. Leider erkannten jedoch nur 36 % aller Teilnehmer mindestens 70 % der in den positiven Proben vorhandenen Larven.

Beim Auftreten von falsch-negativen Ergebnissen oder zu wenig nachgewiesener Larven sollte eine Fehleranalyse erfolgen, um die Sensitivität der Nachweismethode zu verbessern. Folgende Ursachen sollten 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), so dass unverdautes Restmaterial auf dem Sieb zurückgeblieben ist.
- Die vorgeschriebene Zeit, welche für die Sedimentation der Larven erforderlich ist, wurde nicht eingehalten.
- Die Sedimentationszeit in dem 50 ml-Zentrifugenglas war zu kurz.
- 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, so dass Larven übersehen wurden.
- Die Kenntnisse zum Aussehen des Untersuchungsgegenstandes, d.h. zur Form und Größe der *Trichinella*-Larven sind mangelhaft.

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.