



Notat

Mikrobiologiske problemstillinger

Detektion af patogene mikroorganismer – *Salmonella* som case

Birgit Groth Storgaard

18. juli 2025
Proj.nr. 2011311
Version 01
bgs/tjan/mt

Baggrund for notat Der gennemføres dagligt mikrobiologiske analyser af fødevarer som en del af virksomheders egenkontrolprogram, og der bør løbende foretages faglige vurderinger af de anvendte metoder for at undersøge, om analyserne kan gennemføres hurtigere, billigere, bedre og/eller nemmere.

I SAF-projektet "Metodiske problemstillinger indenfor mikrobiologi og sensorik" indhentes løbende viden om behovet for samt udviklingen i mikrobiologiske analyser. Der har i 2024 været særligt fokus på at indsamle viden om og sammenholde kommercielt tilgængelige metoder til hurtig detektion af relevante fødevarebårne patogene mikroorganismer. Viden er samlet i nærværende notat omhandlende detektion af *Salmonella* som case.

Resumé Notatet gennemgår påvisning og/eller kvantificering af *Salmonella*. Det skitserer lovgivningsmæssige krav til salmonellatestning i forskellige fødevarekategorier, henviser til EU-forordning 2073/2005 og specificerer, at ISO 6579-standardmetoden er den officielle reference. Muligheden for at anvende alternative, validerede hurtigmetoder diskuteres, forudsat at disse opfylder specifikke kriterier for validering og ækvivalens med referencemetoden.

En sammenligning af udvalgte tilgængelige kommercielle metoder til påvisning af salmonella præsenteres, grupperet i:

1. Dyrkningsbaserede metoder (fx RAPID[®] Salmonella Agar, Petrifilm SALX): Betragtes som præcise og bredt anvendte, men kræver typisk flere dage for resultater.
2. Molekylære metoder (fx PCR, qPCR såsom iQ-Check, Salmonella Velox): Giver øget hastighed og følsomhed, hvilket giver resultater inden for få timer efter et nødvendigt berigelsestrin, men kræver specialudstyr.
3. Immunoassays (fx Singlepath Salmonella): Tillader hurtig og enkel kvalitativ screening, generelt efter prøveberigelse.

Tabellerne opsummerer tid, udstyr, omkostninger og anvendelsesområde for hver metode. Notatet indeholder validerede kommercielle metoder og oplister deres certificeringer (AOAC, AFNOR, NordVal, MicroVal).

Den overordnede konklusion er, at mens nye og alternative hurtigmetoder konstant udvikler sig, er ingen ufejlbarlige, og grundig validering er fortsat afgørende.

Zoonose-overvågning i Danmark og Europa

Zoonose-rapporter udgives hvert år i Danmark af DTU og på europæisk plan af 'EFSA & ECDC' (The European Union One Health Zoonoses Report). Rapporterne indeholder resultater fra det foregående års overvågning af forskellige zoonoser.

Zoonoser er infektionssygdomme, som overføres fra dyr til mennesker. Der er tale om en lang række forskellige mikroorganismer, både virus, bakterier og parasitter, og nogle af dem forekommer også i Danmark

De vigtigste bakterielle zoonoser i Danmark er tarmbakterier, som findes naturligt hos en række husdyr, så som fjerkræ og svin. Bakterierne overføres til mennesker primært gennem fødevarer (fx ikke-tilstrækkeligt opvarmede kødprodukter, upasteuriseret mælk og rå æg), som er blevet forurenet med bakterierne i forbindelse med fødevareproduktionen

Blandt de hyppigste bakterielle zoonoser er *Salmonella*. I 2023 var *Salmonella* blandt top 5 på listen over mikroorganismer, der var årsag til sygdomsudbrud blandt mennesker. Faktisk var *Salmonella* nummer 1 og 2 i hhv. DK og Europa i 2023.

[EFSA: The European Union One Health 2023 Zoonoses report. Annual Report on Zoonoses in Denmark 2023.](#)

Mikrobiologiske kriterier og krav til analysemetoder

Flere fødevarekategorier er omfattet af krav om test for *Salmonella* iht. Kommissionens forordning om [mikrobiologiske kriterier](#).

Dette gælder fx for fødevarekategori 1.4 (hakket kød og tilberedt kød, der er beregnet til at blive spist rå), som angivet nedenfor i figur 1. Der er ligeledes krav om test for forekomst af *Salmonella* for fødevarekategorierne 1.5 – 1.20, 1.22, 1.23 og 1.28.

▼ M1

Kapitel 1. Fødevaresikkerhedskriterier

Fødevarekategori	Mikroorganismer/toksiner og metabolitter heraf	Prøvestagningsplan (*)		Grænseværdier (*)		Referencemålemetoder (*)	Led, hvor kriteriet anvendes
		n	c	m	M		
1.1. Spiseklare fødevarer bestemt til spædbørn og spiseklare fødevarer til særlige medicinske formål (*)	<i>Listeria monocytogenes</i>	10	0	Ingen i 25 g		EN/ISO 11290-1	Markedsførte produkter i deres holdbarhedsperiode
1.2. Andre spiseklare fødevarer, der understøtter vækst af <i>Listeria monocytogenes</i> , end fødevarer bestemt til spædbørn og til særlige medicinske formål	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100 cfu/g (*)		EN/ISO 11290-2 (*)	Markedsførte produkter i deres holdbarhedsperiode
		5	0	Ingen i 25 g (*)		EN/ISO 11290-1	For fødevarer forlader den producerende fødevarevirksomhedsleders umiddelbare kontrol
1.3. Andre spiseklare fødevarer, der ikke understøtter vækst af <i>Listeria monocytogenes</i> , end fødevarer bestemt til spædbørn og til særlige medicinske formål (*)	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100 cfu/g		EN/ISO 11290-2 (*)	Markedsførte produkter i deres holdbarhedsperiode
1.4. Hakket kød og tilberedt kød, der er beregnet til at blive spist rå	<i>Salmonella</i>	5	0	Ingen i 25 g		EN/ISO 6579	Markedsførte produkter i deres holdbarhedsperiode
▼ M2							
1.5. Hakket kød og tilberedt kød af fjerkræ, der er beregnet til at blive spist efter varmebehandling	<i>Salmonella</i>	5	0	Ingen i 25 g		EN/ISO 6579	Markedsførte produkter i deres holdbarhedsperiode
▼ M1							
1.6. Hakket kød og tilberedt kød af andre arter end fjerkræ, der er beregnet til at blive spist efter varmebehandling	<i>Salmonella</i>	5	0	Ingen i 10 g		EN/ISO 6579	Markedsførte produkter i deres holdbarhedsperiode
1.7. Maskinsepareret kød (*)	<i>Salmonella</i>	5	0	Ingen i 10 g		EN/ISO 6579	Markedsførte produkter i deres holdbarhedsperiode

2005R2073 — DA — 01.07.2013 — 004.001 — 16

Figur 1. Udsnit af bilag 1, kapitel 1 Fødevaresikkerhedskriterier (side 16) fra [KOMMISSIONENS FORORDNING \(EF\) Nr. 2073/2005 af 15. november 2005 om mikrobiologiske kriterier for fødevarer](#)

I bilag 1, kapitel 2 fremgår proceshygiejekriterierne, hvor der ligeledes er krav om test for *Salmonella* for nogle fødevarekategorier, fx kategori 2.1.3 (slagtekroppe af kvæg, får, geder og heste).

For hvert mikrobiologisk kriterium er der fastsat en analysemetode, som skal bruges som referencemetode. For fødevarekategori 1.4 ses fx, at ISO-metoden DS/EN ISO 6579 skal anvendes som referencemetode ved analyse for *Salmonella*.

Brug af alternative metoder

Man kan som fødevarevirksomhed og/eller analyselaboratorium godt vælge at benytte alternative analysemetoder og hurtigmetoder i stedet for referencemetoden, men virksomheden skal i så fald kunne dokumentere over for Fødevarestyrelsen, at kravene om validering er opfyldt.

Kravene om validering for alternative metoder vurderes opfyldt, hvis metoden er:

- i) valideret med et tilfredsstillende resultat overfor referencemetoden af et anerkendt valideringsorgan som [NordVal](#), [AFNOR](#), [MicroVal](#), AOAC og [AOAC Research Institute](#)
- ii) valideret over for referencemetoden i henhold til en international anerkendt protokol (DS/EN ISO 16140-2) og som minimum fundet ligeværdig med referencemetoden.

DS/EN ISO 16140-2: Mikrobiologiske undersøgelser i fødevarekæden – Metodevalidering – Del 2: Protokol til validering af alternative (ophavsretslige) metoder ved hjælp af en referencemetode.

Hvis der opstår uenighed om et analyseresultat, vil det dog altid være analyse-resultater fremkommet ved brug af referencemetoden, der vil være gældende.

Der kan findes yderligere information i [mikrobiologivejledningen](#) om brugen af alternative analysemetoder.

Det er desuden vigtigt at holde sig for øje, at der stilles nationale krav til analyselaboratoriet ifølge [Autorisationsbekendtgørelsens § 43](#). Ifølge denne skal analyserne foretages på laboratorier med et dokumenteret kvalitetssikringssystem i form af akkreditering, certificering eller et kvalitetssystem baseret på anerkendte principper for kvalitetssikring af laboratorier.

Kommercielt tilgængelige metoder til analyse for Salmonella

Der findes adskillige kommercielt tilgængelige metoder til analyse for *Salmonella* i bl.a. fødevare-, vand- og miljøprøver.

Det kan virke både overvældende og tidskrævende at navigere blandt tilgængelige metoder samt at holde sig opdateret om nye relevante analysemetoder hos leverandører. Tilgængelige metoder varierer i princip, detektionstid, følsomhed, omkostninger samt anvendelighed og omfatter fx metoder baseret på dyrkning, molekulære metoder og immunologiske principper. I tabel 1 er skitseret de væsentligste forskelle mellem analyser baseret på dyrkning, molekulære og immunologiske principper samt automatiserede systemer.

Tabel 1. Groft forsimpelt oversigt over forskelle mellem metoder baseret på dyrkning, molekylære og immunologiske principper samt automatiserede systemer.

Metode	Tidsforbrug	Fordele	Ulemper	Anvendelse
Lateral Flow (LFA)	Under 1 time	Simpel, hurtig og billig	Kræver præopformering	Hurtig screening i produktion
PCR	24-48 timer	Høj følsomhed og specificitet	Kræver avanceret udstyr og opformering	Laboratorier
ELISA	24-48 timer	Lavere omkostninger	Mindre følsom end molekylære metoder	Fødevareindustri
Automatiserede systemer	24-48 timer	Høj præcision og automatisering	Høj initial investering	Store laboratorier
Dyrkningsbaserede	4-7 dage	Standardiseret, billig	Langsom	Standardmetode

Det er dog muligt at skabe sig overblik over de mange tilgængelige analyser ved at studere oversigter, som den nedenfor beskrevne, der udgives af amerikanske FSIS, og som opdateres løbende (ca. 4 gange årligt). I forbindelse med tilblivelsen af nærværende notat er der desuden udarbejdet en oversigt over et udvalg af nationalt kommercielt tilgængelige metoder (tabel 6).

Dyrkningsbaserede metoder

Dyrkningsbaserede metoder er generelt præcise, men oftest tidskrævende (typisk 4-5 dage).

Standardmetoden til detektion af *Salmonella* er baseret på dyrkning af fødevareprøven ved brug af mikrobiologiske substrater. Standardmetoden følger retningslinjerne i ISO 6579-1 (Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* Part 1: Detection of *Salmonella* spp.) og regnes for at være "den gyldne referencemetode".

Metoden består af flere trin:

- Præopformering, hvor prøven inokuleres i et ikke-selektivt medium (fx Buffered Peptone Water) for at gendanne stressede bakterieceller.
- Selektiv opformering, hvor prøven overføres til selektive medier (fx Rappaport-Vassiliadis sojabouillon eller Müller-Kauffmann tetrathionatbouillon).
- Selektiv dyrkning, hvor de berigede prøver plades ud på selektive agarplader, fx XLD (Xylose Lysine Deoxycholate) eller Brilliant Green Agar.
- Konfirmering af mistænkte kolonier, der underkastes yderligere tests (biokemiske tests og serotypning) fx konventionelle verifikationstest allerede beskrevet i referencemetoder, MALDI Biotyper (Bruker), *Salmonella* latex test, *Salmonella* Confirm latex test, Oxoid *Salmonella* Latex test o.l. for at klarlægge, om der er fundet *Salmonella*.

Der findes flere alternative, validerede og kommercielt tilgængelige dyrkningsbaserede metoder, som angivet i tabel 6.

Molekylære metoder

Molekylære metoder som Polymerase Chain Reaction (PCR) bruges i stigende grad til hurtig detektion af *Salmonella*. Disse metoder er hurtigere end dyrkningsmetoder og kan give resultater inden for få timer.

Der findes ganske mange forskellige kommercielt tilgængelige analyser til påvisning af *Salmonella* som angivet i tabel 6 og FSIS oversigtsliste.

Fordelene ved molekylære metoder er bl.a. høj følsomhed og specificitet samt mulighed for hurtigere resultater. De molekylære metoder benytter alle opførmere i mindst 4-6 timer; dette gør det muligt kun at medtage levende celler.

Immunoassay

Immunoassay er en biokemisk test, der måler tilstedeværelsen eller koncentrationen af en substans i en prøve ved at udnytte, at der sker en reaktion mellem et antigen (den substans, der skal måles) og et antistof (en del af assayet).

Antigenet og antistoffet blandes, og de bindes sammen for at danne et kompleks, hvorefter komplekset kan detekteres og måles ved hjælp af forskellige metoder, afhængigt af den specifikke type immunoassay.

Immunoassays anvendes ofte som en hurtig indikation på, om en given mikroorganisme er til stede i prøven.

Der er flere forskellige typer af immunoassays, fx:

- **Enzym-linked immunosorbent assay (ELISA)**, som er en af de almindelige typer af immunoassays. Ved ELISA anvendes et enzym, der er knyttet til antistoffet, til at producere et farvesignal, når antigen-antistof-komplekset dannes.
- **Fluorescence immunoassay (FIA)** er en type immunoassay, der bruger fluorescerende farvestoffer til at detektere antigen-antistof-komplekset.
- **Lateral flow assays (LFA)** bygger på biokemiske interaktioner mellem antistof-antigen-komplekser eller målrettede hybridiseringer mellem antistof og nukleinsyrer (DNA).

Oversigt over validerede analyser og test-kit til påvisning af fødevarebårne patogener – udgivet af amerikanske FSIS, USDA

FSIS-USDA (Food Safety and Inspection Service – U.S. Department of Agriculture) udgiver en liste over analyser og testkits, der er valideret til påvisning af relevante fødevarebårne patogener. Listen inkluderer *Salmonella*, *Campylobacter*, *Listeria* spp., herunder *L. monocytogenes*, *E. coli* O157:H7 og non-O157 STEC.

Listen er beregnet til at være informativ og er ikke en blåstempling eller godkendelse af noget specifikt testkit, uanset om det er optaget på listen.

Listen indeholder analyser og testkits, der er validerede af anerkendte uafhængige organisationer (dvs. AOAC, AFNOR, MicroVal, NordVal). Det er vigtigt at holde sig for øje, at testene på denne liste ikke nødvendigvis er ækvivalente med referencemetoden og/eller passende til alle testapplikationer.

FSIS har til hensigt at opdatere listen over validerede testkits kvartalsvis.

Listen kan findes [her](#) (senest opdateret 18. juli 2025).

Desuden kan der være god viden at hente om metoder, der er beskrevet i FSIS's "[Microbiology Laboratory Guidebook](#)".

Sammenligning af resourcedata for udvalgte alternative metoder

Princip

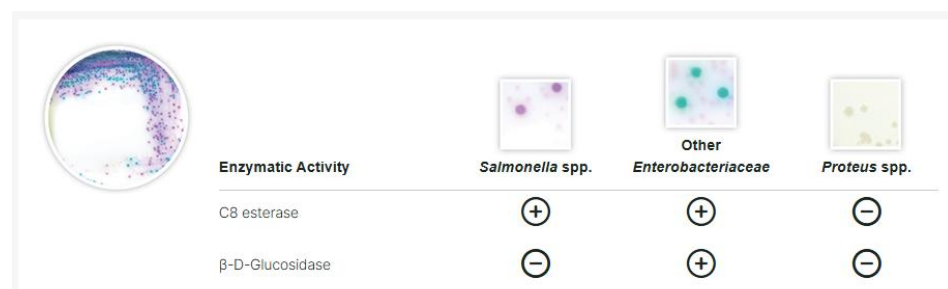
RAPID'Salmonella (dyrkning)

Dyrkningsbaserede metoder fra BioRad til både isolering og formodet identifikation af *Salmonella*-arter samt differentiering fra andre medlemmer af familien Enterobacteriaceae. Identifikationen af *Salmonella*-arter omfatter laktosepositive *Salmonella*, (*Salmonella* er typisk laktosenegativ) herunder også *S. typhi* og *S. paratyphi*.

Princippet for RAPID'Salmonella er baseret på tilstedeværelsen af to enzymatiske aktiviteter: C8-esterase og β -D-Glucosidase. På grund af aktiviteten af *Salmonella* C8-esterase vil formodede *Salmonella*-positive kolonier vise sig som typiske og let identificerbare magentafarvede (lilla) kolonier på den klare hvide agarbaggrund.

Samtidig påvises andre Enterobacteriaceae som blåfarvede kolonier pga. aktiviteten af β -D glucosidase.

Desuden kan baggrundsfloraen, hvis den ikke hæmmes af blandingen af selektive stoffer, producere violette til grønne eller farveløse kolonier.



Figur 2. Tilstedeværelse af enzymatisk aktivitet for *Salmonella*, andre Enterobacteriaceae og baggrundsflora som fx *Proteus* spp. Foto fra [BioRad's hjemmeside](#).

Certifikater

- [AOAC](#), AFNOR, [Nordval](#).
- [Validering januar 2023, ver C](#)

Anvendelse

RAPID'Salmonella-metoden – kort protokol kan anvendes på en bred vifte af fødevarer (25 g testportioner), mælkepulver, herunder modermælkserstatning (med og uden probiotika), og relaterede dehydrerede mejeriingredienser (375 g testportion), modermælkserstatning og morgenmadsprodukter til spædbørn med eller uden probiotika, herunder ingredienser (375 g testportion). Foder til selskabsdyr og dyrefoderprodukter (25 g og 375 g testportioner).

RAPID'Salmonella-metoden – protokol for dobbelt berigelse gælder for mejeriprodukter (undtagen råmælk).

[NMKL nr. 189 Aerobic and anaerobic microorganisms.](#)

Ressourcedata

[Analysetid](#)

- 1. opformering v. $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ eller $41,5^{\circ}\text{C}$ i 16-22 timer (temperatur afhænger af produkt matrice)
- 2. opformering v. $41,5\pm 1^{\circ}\text{C}$ i 6-26 timer (kun for mejeriprodukter)
- Selektiv dyrkning v. $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ i 24 ± 2 timer
- verificering af formodede positive kolonier

[RAPID'Salmonella agar, User guide \(BioRad\)](#)

Pris pr. analyse (2025-udsalgspriser indhentet ved Food Diagnostics)

- RAPID'Salmonella Agar Plates (#3563961): **20,50 kr. pr. prøve** (407,40 kr. for 20 stk.)
- RAPID'Salmonella Capsules (#3564710): **7,70 kr. pr. prøve** (772,70 kr. for 100 stk.)
- Rapid Salmonella Opformeringsmedie (Buffered Peptone Water Plus (BPW): **22,30 kr. pr. prøve** (133,67 kr. for 6 x 225 ml)

Totalpris pr. prøve: **50,50 kr. pr. prøve** (20,50+7,70+22,30 kr.)

OBS! Priser for evt. konfirmering er ikke medtaget.

Detektionsgrænse

Detektionsgrænsen kan betragtes som mindre end 1 cfu i en fødevareprøve på 25 g.

Udstyr

Der kræves almindeligt laboratorieudstyr i form af pipetter, stomacher, vægt, inkubator m.v.

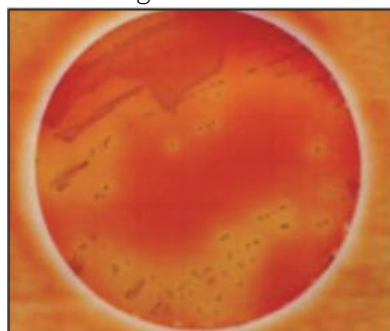
Princip

Salmonella petrifilm SALX (dyrkning)

Dyrkningsbaseret metode fra Neogen. Petrifilm SALX systemet består af:

- *Salmonella* opformeringssubstrat base + supplement
- Petrifilm® *Salmonella* Express (SALX)
- Petrifilm® *Salmonella* Express (SALX) Confirmation Disk

Petrifilm SALX er en kromogent dyrkningsbaseret metode, der både selekterer for *Salmonella* og differentierer *Salmonella* fra andre beslægtede bakterier, der måtte kunne vokse frem på petrifilmen. Formodede positive *Salmonella* fremtræder som røde/mørkerøde/brune kolonier med/uden gul zone og med/uden luftudvikling.



Figur 3. Eksempel på formodet positivt resultat ([Figur G, side 11 i Neogen protokol](#)).

Formodede positive kolonier verificeres via "Petrifilm SALX Confirmation Disk", som indeholder et biokemisk substrat, der letter den biokemiske bekræftelse af *Salmonella*.

Petrifilm SALX bruges med eller uden Petrifilm SALX Confirmation Disk, mens Petrifilm SALX Confirmation Disk kun bør anvendes som konfirmeringsmetode sammen med Neogen® Petrifilm SALX.

Validering, certifikater AOAC® Official Method of AnalysisSM (OMA) 2014.01
AOAC® Performance Tested MethodsSM (PTM) Certificate #061301

Anvendelse Anvendes til miljøprøver samt fødevarer med både lav (<10⁴ cfu/g) og høj (>10⁴ cfu/g) mikrobiologisk belastning (baggrundsflora)

Ressource data Analysetid

- 1. opformering v. 41,5°C ± 1°C i 18-24 timer
- 2. opformering v. 41,5°C ± 1°C i 8-24 timer (kun for prøver med høj baggrundsflora); Rappaport-Vassiliadis R10 (R-V R10) broth
- Selektiv dyrkning v. 41,5°C ± 1°C i 24 ± 2 timer
- Konfirmering af formodede positive kolonier

Pris pr. analyse

OBS! *Salmonella* Petrifilm SALX er ikke tilgængeligt for salg i Europa.

Detektionsgrænse

Detektionsgrænsen kan betragtes som mindre end 1 cfu i en fødevareprøve på 25 g.

Udstyr

Der kræves almindeligt laboratorieudstyr i form af pipetter, stomacher, vægt, inkubator m.v.

Princip ***Singlepath®Salmonella (immunoassay inkl. præopformering)***
[Singlepath® Salmonella](#) er designet til at påvise *Salmonella* i forskellige fødevareprøver.

Testen er en immunkromatografisk hurtigtest baseret på at påvise tilstedeværelsen af *Salmonella*-specifikke antigener. Teststrimlen er belagt med antistoffer, der er specifikke for *Salmonella* antigener. Når prøven påføres teststrimlen, vil eventuelle *Salmonella* antigener fra prøven binde sig til antistofferne på strimlen. Hvis der er *Salmonella* antistoffer til stede i prøven, vil der vise sig 2 røde streger i aflæsningsfeltet. Hvis der ikke er *Salmonella* antistoffer til stede i prøven, vil der kun vise sig 1 rød streg i aflæsningsfeltet (kontrol).

Certifikat [AOAC No. 060401.](#)

Anvendelse

Beregnet til brug i mikrobiologiske laboratorier, der analyserer fødevarer og dyrefoder mhp. en formodet kvalitativ påvisning af *Salmonella* spp. fra fødevarematricer som fx:

- kød (hakket rå oksekød og hakket rå kalkun)
- krydderier (sort peber)
- mejeriprodukter (tørret skummetmælk)
- tørrede fødevarer (kokosnød)
- skaldyr (kogte, pillede frosne rejer)

Testen kan fx anvendes som en hurtig indikation på tilstedeværelse af *Salmonella* forud for standard udpladning og tælling af kimtal samt verificering iht. ISO 6579.

Ressourcedata

Analysetid

Selve immunoassay-testen tager cirka 20 minutter at gennemføre, og resultaterne fortolkes ud fra tilstedeværelsen eller fraværet af testlinjen.

Forud for immunoassay-testen skal fødevareprøven håndteres og opformeres iht. ISO 6579:2017 eller tilsvarende (se tabel 2, 1. og 2. opformering for ISO 6579).

Pris pr. analyse

- 94 kr. ekskl. præ-opformering (1.880 kr. for 20 stk. test-strips).

Detektionsgrænse

Detektionsgrænsen kan betragtes som mindre end 1 cfu i en fødevareprøve på 25 g.

Yderligere udstyr

Der er ikke behov for yderligere udgifter til udstyr, men der kræves almindeligt laboratorieudstyr i form af pipetter, stomacher, vægt, inkubator m.v. til forbehandling og præopformering af prøven.

Tabel 2. Sammenligning af analysetid for udvalgte dyrkningsbaserede metoder med referencemetode.

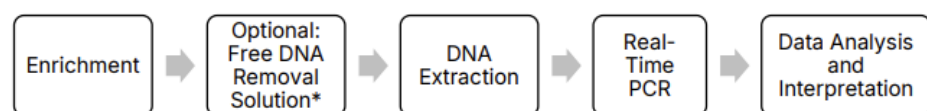
Metode	1. opformering	2. opformering	Dyrkning	Verificering
ISO 6579:2017; AMD 1:2020 (reference-metode)	18±2 h (37±1°C, BPW)	24±3 h (37±1°C, MKTTn) og 24±3 h (41,5±1°C, RVS) / 24±3 h /48±3 h (41,5±1°C, MSRV)	24±3 h /48±3 h (37°C, XLD agar + additional)	Formodede positive kolonier verificeres som beskrevet i metode
Rapid <i>Salmonella</i>	16-22 h (41,5±1°C / 37±1°C)	6-26 h (41,5±1°C) – kun for mejeriprodukter	24±2 h (37±1°C)	Formodede positive kolonier verificeres som i referencemetode eller alternative accepterede metoder
Petrifilm SALX	18-24 h (41,5°C ±1°C)	8-24 h (41,5°C ±1°C) – kun for prøver med høj baggrundsflora	24±2 h (41,5°C±1°C)	Formodede positive kolonier verificeres ved Petrifilm 'SALX Confirmation Disk'
Sin-glepath® <i>Salmonella</i>	Som ISO 6579	Som ISO 6579	20 min (indikativ test) Desuden følges ISO 6579	Som ISO 6579

IQ Check (Real-time PCR)

Princip

[Real-Time PCR \(RTi-PCR\) fra Bio-Rad.](#)

Fødevareprøven opformerer i buffered pepton vand (37°C i 10±2 – 21±1 timer). DNA høstes fra opformeringsbouillon og påføres et klargjort PCR-kit, inden real time PCR-reaktionen sættes i gang.



Figur 4. Udklip fra [Biorad protokol](#) side 2.

Detektionsprincippet virker ved binding af et fluorescerende stof (FAM) til det amplificerede DNA. Idet mængden af amplificeret DNA stiger efter hver PCR-cyklus, vil intensiteten af FAM stige tilsvarende. I realtid vil systemets software plote fluorescensintensiteten mod PCR cyklusnummer. Output fra analysen er en kurve, som angiver positiv eller negativ reaktion for *Salmonella*.

Tabel 3. Udklip fra [Biorad protokol side 13.](#)

	<i>Salmonella</i> spp. Detection (FAM channel)	Internal Control Detection (HEX channel)
Negative control	Cq = N/A*	28 ≤ Cq ≤ 40
Positive control	26 ≤ Cq ≤ 36	N/A

* The software indicates a Cq value of N/A (not applicable) when the fluorescence of a sample does not rise significantly above the background noise and hence does not cross the threshold.

Certifikater

Salmonella spp.; [AOAC](#), NF Validation, Nordval, Health Canada
S. enteritidis og *S. Typhimurium*: AOAC.

Anvendelse Validerede matricer dækker bl.a. over æg, rå kylling, rå oksekød, rå svinekød, chokolade, materialer (keramik, beton, plastik, rustfrit stål), tørret hundemad og våd kattemad.

Ressourcedata

Analysetid

- Standard opformering af fødevareprøve: 37°C i 16-24 timer
- DNA-oprensning (standard 1 protokol): ca. 30 min
- qPCR-run (tid ikke oplyst)
- Herefter konfirmering af positive prøver

Pris pr. analyse (2025-listepris indhentet via Food Diagnostics)

- iQ-check salmonella II kit: 124 kr. pr. prøve (11.926 kr. for 96 tests).

Udstyr

- BioRad Realtime PCR-udstyr, inkubator, varmeblok 37 el. 95-100°C, stoma-cher, centrifuge, pipetter, magnetomrører

Princip

***Salmonella velox* (qPCR)**

qPCR-reaktion fra DNA Diagnostics, [Salmonella Velox fra DNA Diagnostic](#).

Fødevareprøven opformerer i bouillon. DNA høstet fra opformeringsbouillon påføres et klargjort qPCR-kit, inden qPCR-reaktionen sættes i gang. Output fra analysen er en Ct-værdi, som angiver positiv eller negativ reaktion for *Salmonella*.

Tabel 4. Output fra qPCR-analyse for *Salmonella velox* i form af Ct-værdi.

Ct-værdi	<i>Salmonella velox</i>	<i>Salmonella</i> SE+ST
ROX<38	Positiv for <i>Salmonella</i> spp.	Positiv for <i>Salmonella Enteritidis</i>
CY5<38	N/A	Positiv for <i>Salmonella Typhimurium</i>
ROX/CY5 38-40	Positiv for <i>Salmonella</i> spp., hvis re-test viser samme eller lavere Ct-værdi	Positiv for <i>Salmonella Enteritidis/Typhimurium</i> , hvis re-test viser samme eller lavere Ct-værdi
ROX/CY 5 No Ct	Negativ for <i>Salmonella</i> spp.	Negativ for <i>Salmonella Enteritidis/Typhimurium</i>

Certifikat

[Nordval certifikat no. 046.](#)

Der er 2 forskellige certificerede systemer til specifik detektion af hhv. i) *Salmonella* spp. og ii) *Salmonella Enteritidis* (SE) og *Salmonella Typhimurium* (ST).

Anvendelse

Kan anvendes til følgende matricer:

- 1) rå kød, fjerkræ og fiskevarer
- 2) ready-to-cook, ready-to-reheat, ready-to-eat kød-, fjerkræ- og fiskeprodukter
- 3) swabs udført på råvareprøver
- 4) miljø- og primærproduktionsprøver

Ressourcedata

Analysetid

- opformering 4,5-24 timer v. 42,5°C ± 0,5°C eller 41,0°C ± 0,5°C (fx 25-125 g fødevare)

- DNA-ekstraktion: ca. 20 min
1,5-1,8 ml opformeringsbouillon centrifugeres, bakterieceller (pellet) lyseres med buffer, opvarmes kortvarigt ($95^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$), og supernatant høstes ved centrifugering
- qPCR-reaktion: 40 min

Pris pr. analyse

- *Salmonella* Velox spp qPCR Kit: 59,30 kr. pr. prøve (v. 5.695,21 kr. for kit til 96 prøver)
- *Salmonella* SE+ST qPCR Kit: 59,30 kr. pr. prøve (v. 5.695,21 kr. for kit til 96 prøver)

Yderligere udstyr

Inkubator, pipetter, centrifuge, PCR-udstyr.

Konklusion

Der findes en række validerede metoder til påvisning og/eller kvantificering af *Salmonella* i fødevarer, herunder både traditionelle dyrkningsbaserede referencemetoder og nyere, hurtige alternativer såsom molekylære og immunologiske assays.

Selv om hurtigmetoder kan give hurtigere resultater, skal de valideres grundigt og godkendes i henhold til etablerede standarder, før de anvendes i offentlig kontrol. Samtidig er det nødvendigt at gøre sig klart, hvilke analyseprincipper man vil og/eller kan arbejde med, da fx molekylære metoder kræver mere specialiseret udstyr og personale end andre og mere simple analyser, som så til gengæld kan tage længere tid.

Den løbende udvikling af detektionsteknologier fortsætter heldigvis med at forbedre overvågningen af fødevareresikkerheden, og der udvikles hele tiden nye metoder. Ingen enkelt metode er dog fejlfri, ligesom biologiens verden sjældent følger teorien slavisk – og der altid vil være nogle bakterier, der afviger lidt.

Et eksempel herpå er forekomst af laktose-positive (lac+) *Salmonella* i bl.a. fødevarer. De fleste *Salmonella*-stammer fermenterer ikke laktose (Lac-), og laktoseforgæring er derfor en biokemisk egenskab, der bruges i nogle substrater til at skelne *Salmonella* fra andre bakterier, fx *E. coli* (Lac+).

Forekomst af Lac+-*Salmonella* stammer giver derfor udfordringer i analyselaboratorier, og der er risiko for, at disse lac+-stammer kan blive overset. Der findes dog specialiserede diagnostiske medier (fx CHROMagar, se tabel 6) til at hjælpe med at opdage Lac+ *Salmonella*-stammer.

Regelmæssig evaluering af både nye og gamle metoders analytiske ydeevne er derfor nødvendig.

Tabel 5. Sammenligning af resourcedata for udvalgte alternative hurtigmetoder.

Metode	Tid til analyse svar	Pris pr. analyse (ekskl. udstyr)	Nødvendigt udstyr	Anvendelse
Rapid <i>Salmonella</i> agar	38-48 timer + verificering For mejeriprodukter: + 6-26 h	50,50 kr. ekskl. konfirmering	Alm. laboratorieudstyr, pipetter, stomacher, vægt, inkubator m.v.	Fødevarer, dehydrerede mejeriprodukter, foder til selskabsdyr, dyrefoderprodukter
Petrifilm SALX	26-48 h + verificering Ved høj baggrundsflora: + 24±2 h	NA Ikke til salg i Europa	Alm. laboratorieudstyr, pipetter, stomacher, vægt, inkubator m.v.	Anvendes til miljøprøver samt fødevarer med både lav (<10 ⁴ cfu/g) og høj (>10 ⁴ cfu/g) mikrobiologisk belastning (baggrundsflora)
Singlepath® <i>Salmonella</i>	20 minutter + opformering + dyrkning	94 kr. ekskl. præopformering	Alm. laboratorieudstyr, pipetter, stomacher, vægt, inkubator m.v.	Kan fx anvendes som en hurtig indikation på tilstedeværelse af <i>Salmonella</i> forud for standardanalyse iht. ISO 6579.
<i>Salmonella</i> Velox	4,5-24 timer (opformering) + 40 min qPCR reaktion	59,30 kr.	PCR-udstyr samt almindeligt laboratorieudstyr som inkubator, pipetter, centrifuge m.v.	Anvendes til rå og ready-to-cook/-reheat/-eat (kød-, fjerkræ- og fiskeprodukter), swabs udført på råvareprøver samt miljø- og primærproduktionsprøver.
iQ Check		124 kr.	Realtime PCR-udstyr samt almindeligt laboratorieudstyr som inkubator, pipetter, centrifuge m.v.	Validerede matricer dækker bl.a. over æg, rå kylling, rå oksekød, rå svinekød, chokolade, materialer (keramik, beton, plastik, rustfrit stål), tørret hundemad og våd kattemad.

Tabel 6. Eksempler på certificerede metoder til detektion og/eller kvantificering af *Salmonella*. Informationer er hentet fra producenters/leverandørers hjemmeside og er ikke verificeret.

Analyse navn	Analyse princip	Producent	Certificeret	Link
<i>Salmonella</i> Chromoselect Agar	Dyrkning	Millipore	AOAC	https://www.sigmaaldrich.com/DK/en/product/sial/78419?utm_source=google&utm_medium=cpc&utm_campaign=9206223574&utm_content=130577573194&gad_source=1&gclid=EALaQob-ChMI6lqTib2bjAMVAp1oCR32Mgw1EAAAYASAAEgJwbFD_BwE
CHROMagar™ <i>Salmonella</i> Plus	Dyrkning	CHROMagar	Opfylder ISO 6579 krav	https://www.chromagar.com/en/product/chromagar-salmonella-plus/
Chromocult® RAMBACH™ Agar	Dyrkning	Millipore	Ref. til ISO 6579	https://www.sigmaaldrich.com/DK/en/product/mm/100188
CompactDry SL	Dyrkning	Nissui Pharma Solutions	MicroVal	https://www.diagnostics-eu.shimadzu.com/shop/food/compactdry/compactdry-sl/
RAPID [®] <i>Salmonella</i> Agar	Dyrkning	Bio-Rad	AOAC, AFNOR	https://www.bio-rad.com/en-dk/product/rapidsalmonella-medium?ID=3ecfb140-cd5d-48c4-9a44-f1ca7630ab8f
Petrifilm <i>Salmonella</i> Express plates	Dyrkning	Neogen	AOAC	https://www.neogen.com/en/categories/microbiology/petrifilm-salmonella-express-plates?min=700002144
SureTech <i>Salmonella</i> PCR testing	PCR	ThermoFisher	MicroVal	https://www.thermofisher.com/dk/en/home/industrial/food-beverage/food-microbiology-testing/food-microbiology-detection-quantification/pcr-food-testing-pathogen-detection/suretect-pcr-food-pathogen-testing.html#assays
iQ Check <i>Salmonella</i>	PCR	Bio-Rad	AOAC, AFNOR, Nordval	https://www.bio-rad.com/en-dk/product/iq-check-salmonella-ii-pcr-detection-kit?ID=d23decd6-2349-4e87-9087-3fe30ec6d3be
<i>Salmonella</i> Detection Lyokit	PCR	Hygiena	AOAC, Afnor	https://www.hygienia.com/documents/69296/foodproof-salmonella-detection-lyokit-instructions-en.pdf?_gl=1*1kbbhtp*_up*MQ..*_ga*MTgwMTAx-Njc0Ni4xNzM3MDU4ODM2*_ga_N1ZFCTH78j*MTczNzA1ODgzNS4xLjAuMTczNzA1ODgzNS4wLjAuNTA0MDAyNTI3
Gene-UP®QUANT <i>Salmonella</i>	PCR	Biomérieux	AOAC	https://www.biomerieux.com/corp/en/our-offer/industry-products/gene-up-quant-salmonella-accurate-quantification-of-salmonella.html?utm_source=google&utm_medium=cpc&utm_campaign=ind_gl_pathogen&utm_content=174453014293&utm_term=microbiological%20test%20for%20salmonella&s_kwcid=AL!9999!3!733036921860!p!lg!microbiological%20test%20for%20salmonella&gad_source=1&gclid=EALaQobChMIwMqx4vekjAMVp6doCR0_oQCDEAAyAAEgJ38_D_BwE
Foodproof® <i>Salmonella</i> Detection LyoKit	Real-time PCR	Hygiena	AOAC, MicroVal	https://www.hygienia.com/food-safety/pathogen-detection/salmonella/foodproof-salmonella-detection-lyokit
InviScreen® <i>Salmonella</i> spp. Detection Kit	Real-time PCR	Invitex Diagnostics	AOAC, MicroVal	https://www.invitek.com/en/foodborne-pathogens/pdp-salmonella-spp
<i>Salmonella</i> velox	qPCR	DNA Diagnostic	Nordval	https://dna-diagnostic.com/products/salmonella-velox/
Neogen® MDS molecular detection assay <i>salmonella</i> method	Specifik DNA amplifikation (LAMP)	Neogen	AOAC	https://www.neogen.com/en/usac/brands/molecular-detection-system/
RapidChek® SELECT™ <i>Salmonella</i> Food System	Immunoassay	Römer Labs	AOAC, NPIP	https://www.romerlabs.com/en/shop/rapidchek-r-select-tm-salmonella-food-system/
N-Light™ <i>Salmonella</i> Risk – indicator test	Immunoassay	NEMIS Technologies	AOAC 072204	https://www.nemistech.com/products/salmonella-risk-test/
Singlepath® & Duopath® lateral Flow tests	Immunoassay	Millipore	AOAC	https://www.merckmillipore.com/DK/en/products/industrial-microbiology/pathogen-and-spoilage-testing/pathogen-detection/pathogen-detection-by-organism/salmonella/6Gmb.qB.Vs0AA-AFA1fxkiQpx.nav?ReferrerURL=https%3A%2F%2Fwww.google.com%2F
InSite® <i>Salmonella</i>	Screening, Swap stick	Hygiena	AOAC	https://www.hygienia.com/food-safety/microbial-contamination/indicator-organism-testing/salmonella/in-site-salmonella