

Разработка и валидация метода количественного определения *Salmonella spp.* в мясе птицы с использованием комбинации метода наиболее вероятного числа и полимеразной цепной реакции

РЕЗЮМЕ

Мясо птицы и продукты его переработки выступают ключевым фактором передачи данного патогена человеку. В связи с этим контроль уровня контаминации продукции животноводства сальмонеллами представляет собой критически важную задачу в системе обеспечения пищевой безопасности.

Целью настоящего исследования стала разработка и валидация метода количественного определения *Salmonella spp.* в мясной продукции. Разработанный метод основан на комбинации микробиологических и молекулярно-биологических методов, а именно на применении полимеразной цепной реакции (ПЦР) с предварительным этапом накопления целевой культуры в комбинации с методом наиболее вероятного числа (НВЧ). В ходе работы была проведена сравнительная оценка эффективности предложенного метода и классического культурального метода. Кроме того, выполнена комплексная валидация разработанной методики, включающая определение ее аналитической чувствительности, специфичности и правильности на образцах мяса птицы. Представлены результаты комплексной валидации разработанного метода, выполненной в соответствии с международными требованиями к оценке аналитических характеристик микробиологических тестов.

Метод количественного определения бактерий рода *Salmonella spp.* в мясной продукции валидирован в условиях научно-испытательного центра «Черкизово» (г. Москва). Разработанный метод продемонстрировал высокую эффективность, что выражается в снижении времени анализа до 24 часов в сравнении с классическим методом (до 78 часов) и обеспечении высокой специфичности при обнаружении низких концентраций патогена при пределе количественного определения 10^1 КОЕ/г и в присутствии сопутствующей микрофлоры.

Ключевые слова: *Salmonella spp.*, мясная продукция, пищевая безопасность, количественное определение, ПЦР, микробиологический контроль, контаминация, патогены, НВЧ, количественное определение сальмонеллы

Для цитирования: Камалетдинова А.В., Калашников В.А., Бодрякова Н.П., Калашников М.В. Разработка и валидация метода количественного определения *Salmonella spp.* в мясе птицы с использованием комбинации метода наиболее вероятного числа и полимеразной цепной реакции. *Аграрная наука*. 2026; 404(03): 34–41. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2026-404-03-34-41>

Development and validation of a method for the quantification of *Salmonella spp.* in poultry meat using a combination of the most probable number and polymerase chain reaction

ABSTRACT

Poultry meat and its processed products are a key factor in the transmission of this pathogen to humans. Therefore, monitoring the level of *Salmonella* contamination in livestock products is a critical task in ensuring food safety.

The aim of this study was to develop and validate a method for the quantitative determination of *Salmonella spp.* in meat products. The developed method is based on a combination of microbiological and molecular biological methods, namely, the use of polymerase chain reaction (PCR) with a preliminary stage of target culture accumulation, in combination with the most probable number (MPN) method.

This study also included a comparative evaluation of the effectiveness of the proposed method and the classical culture method. In addition, a comprehensive validation of the developed method was performed, including determination of its analytical sensitivity, specificity, and accuracy on poultry meat samples. The results of the comprehensive validation of the developed method, conducted in accordance with international requirements for evaluating the analytical performance of microbiological tests, are presented.

The method for the quantitative determination of *Salmonella spp.* bacteria in meat products was validated at the Cherkizovo Research and Testing Center in Moscow. The developed method demonstrated high efficiency, reducing the analysis time to 24 hours compared to the traditional method (up to 78 hours) and ensuring high specificity in detecting low pathogen concentrations with a quantification limit of 10^1 CFU/g and in the presence of accompanying microflora.

Key words: *Salmonella spp.*, meat products, food safety, quantitative determination, PCR, microbiological control, contamination, pathogens, MPN, quantitative determination of *Salmonella*

For citation: Kamaletdinova A.V., Kalashnikov V.A., Bodryakova N.P., Kalashnikov M.V. Development and validation of a method for the quantification of *Salmonella spp.* in poultry meat using a combination of the most probable number and polymerase chain reaction. *Agrarian science*. 2026; 404(03): 34–41 (in Russian). <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2026-404-03-34-41>

Введение/Introduction

Во всем мире проблемы ветеринарного, медицинского и экологического характера, связанные с патогенами животного происхождения, представляют серьезную угрозу для жизни и здоровья человека [1-3]. Недоброкачественные пищевые продукты нередко являются источником потенциально опасных контаминантов химической и биологической природы [4-7].

Бактерии рода *Salmonella spp.* являются одними из наиболее опасных зоонозных возбудителей инфекционных заболеваний, передающихся при употреблении инфицированной пищи. Мясо птицы и продукты его переработки наиболее часто выступают ключевым фактором пищевой сальмонеллезной токсикоинфекции. Риски потери микробиологической безопасности пищи возникают не только в случае нарушения санитарных правил на отдельных технологических этапах производства пищевой продукции, но и при отсутствии надежного контроля сырья, полуфабриката и готовых продуктов [8-10].

Снижение патогенной нагрузки при переработке и реализации животноводческой продукции играет важнейшую роль для пищевой промышленности [11-13]. Сложившаяся ситуация подтверждает актуальность и своевременность совершенствования ветеринарно-санитарного контроля животного сырья, используемого в пищевых целях [14-16]. Количественная оценка обсемененности *Salmonella spp.* может иметь важное значение в выявлении критичных моментов технологических процессов уоя, мясопереработки и в разработке профилактических мероприятий [13, 17, 18]. Стандартные методы количественной оценки, в основе которых посев на агаризованные питательные среды и дальнейшая идентификация, традиционно использовались для подсчета целевых бактерий в пищевых продуктах. Данные методы культивирования требуют значительного времени и трудозатрат на подтверждение микробиологической безопасности, что является критическим фактором для пищевой промышленности. Таким образом, разработка современного количественного метода подсчета патогенных микроорганизмов, отличающегося точностью и экспрессностью, целесообразна для устранения недостатков стандартных подходов [11, 19, 20].

Цель работы — разработка и валидация нового гибридного метода количественного определения бактерий рода *Salmonella spp.* в мясной продукции, сочетающего метод наиболее вероятного числа (НВЧ) и полимеразную цепную реакцию (ПЦР) с оценкой его основных аналитических

характеристик (предела количественного определения, специфичности, прецизионности, линейности и правильности) [21-24] в сравнении с классическим культуральным методом¹.

Материалы и методы исследования / Materials and methods

Экспериментальная работа проводилась в 2025 году на базе лаборатории ветеринарно-санитарной экспертизы ООО НИЦ «Черкизово»² (Москва, Россия).

В качестве матрицы были использованы образцы мяса цыплят-бройлеров на 1-е сутки после уоя.

Контроль отсутствия бактерий рода *Salmonella spp.* в образцах проводили методом иммуноферментного флуоресцентного анализа с использованием тест-системы Vidas UP *Salmonella* (SPT) производства bioMérieux, Франция на иммунологическом анализаторе VIDAS (bioMérieux, Франция).

Для оценки аналитических характеристик метода — предел количественного определения (ПКО), внутрिलाбораторной прецизионности, линейности, правильности — образцы были искусственно контаминированы бактериальным штаммом *Salmonella Enteritidis* 11272 из государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур (Оболensk, Россия).

При проведении исследований были использованы однотипные разбавления 1:9 каждого образца согласно ГОСТ 6887³. Уровни искусственной контаминации образцов находились в диапазоне от $1,5 \times 10^1$ до $1,5 \times 10^6$ КОЕ/г.

Специфичность тестировалась с использованием бактериальных штаммов: *Salmonella Enteritidis* 11272, *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028, *Listeria monocytogenes* ATCC 13932 NCTC 10527, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 DSM 1117, *Campylobacter jejuni* ATCC 33560, *Proteus mirabilis* ATCC 29852, *Enterococcus faecalis* ATCC 19433 NCTC 775, *Lactobacillus sakei* ATCC 15521, *Clostridium perfringens* ATCC 13124, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 DSM 1103, *Bacillus cereus* ATCC 10702 NCTC 8035, полученных из государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур (Оболensk, Россия). Также для оценки специфичности были использованы «полевые» штаммы *Enterococcus faecium*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter braakii*, *Proteus vulgaris*, *Enterobacter kobei*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus xylosus*, *Klebsiella oxytoca*, *Acinetobacter baumannii* из рабочей коллекции, идентифицированные методом

¹ PDA Technical Report No. 33 «Evaluation, Validation and Implementation of Alternative and Rapid Microbiological Methods». Bethesda: Parenteral Drug Association, 2013. — 78 p.

² ООО НИЦ «Черкизово» (г. Москва) осуществляет свою деятельность на основании лицензии №77.01.13.001.Л.000021.06.16 от 08.06.2016г и аттестата аккредитации №ААС.А.00281 от 04.04.2025г.

³ ГОСТ ISO 6887-1-2015 «Микробиология пищевой цепи. Подготовка образцов для испытания, исходной суспензии и десятикратных разведений для микробиологического исследования Часть 1 Общие правила подготовки исходной суспензии и десятикратных разведений». Москва: Российский институт стандартизации, 2024. — 7 с.

матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации MALDI-TOF MS на масс-спектрометре Microflex (Bruker Daltonik GmbH, Германия), и *Salmonella Infantis*, *Salmonella Hadar*, *Salmonella Heidelberg*, *Salmonella Abortusequi*, *Salmonella Reading*, *Salmonella Schwarzengrund*, *Salmonella Falkensee*, *Salmonella Kedougou*, *Salmonella Derby*, *Salmonella Isangi*, *Salmonella Muenchen*, *Salmonella Arizonae*, *Salmonella Bredeney*, *Salmonella Senftenberg*, *Salmonella Montevideo*, *Salmonella Braenderup*, *Salmonella Kentucky*, *Salmonella Rissen*, *Salmonella Agona*, *Salmonella Choleraesuis*, *Salmonella Saintpaul*, *Salmonella Give*, *Salmonella Mbandaka*, *Salmonella Alachua*, *Salmonella Manhattan*, *Salmonella Uganda*, *Salmonella Bovismorbificans*, *Salmonella Meleagridis*, идентифицированные методом мультилокусного секвенирования по 7 генам (Achtman 7 Gene MLST) на генетическом анализаторе 3500 Applied Biosystems (Thermo Scientific, США). Все штаммы хранились в криобанках CRYOBANK (Mast Group Ltd., Ливерпуль, Великобритания) при температуре $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Для приготовления суспензий клеток микроорганизмов, использовали содержимое криофлаконов, хранившихся при температуре $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$, стерильной иглой извлекали один криошарик в асептических условиях. Помещали криошарик в забуференную пептонную воду, далее инкубировали при температуре $37 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 18 ± 2 часов. Культуру наращивали на TSA-агаре, инкубируя чашки Петри при $37 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 24 ± 3 ч (поставщик реактивов Федеральное государственное учреждение науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», Оболенск, Россия). Из полученной агаровой культуры готовили суспензию тестовых штаммов в стерильной воде, доводили до концентрации $1,5 \times 10^8$, измеряя оптическую плотность по стандарту МакФарланда $0,5\text{ McF}$ с помощью прибора для определения мутности суспензии Densi-La-Meter II (Erba Lachema s.r.o., Чехия). Затем осуществляли ряд последовательных десятикратных разведений для получения инокулятов с заданной концентрацией клеток.

На следующем этапе провели валидацию метода.

Для приготовления гомогенатов и разведений применяли забуференную пептонную воду. Для детекции ДНК *Salmonella spp.* использовали коммерческий ПЦР-набор «BACGene *Salmonella spp.*» (Eurofins Technologies, Венгрия/Германия) в соответствии с инструкцией производителя. Селективное обогащение классического метода проводили в среде Rappaport-Vassiliadis (RVS) бульон. Дальнейший высев осуществляли на агар, инкубируя чашки Петри при $37 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 24 ± 3 ч. (поставщик реактивов Федеральное

государственное учреждение науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», Оболенск, Россия)

Подготовку первичных разведений осуществляли с помощью гравиметрического дилютера Dilumat Start (bioMérieux, Франция), последующую гомогенизацию — в аппарате Smasher (bioMérieux, Франция). Инкубацию посевов проводили в термостатах BD 115 (Binder, Германия) при температуре $37 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 18 ± 2 часа и при $41,5 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 24 ± 3 часов (на среде RVS для классического метода) с дальнейшей инкубацией чашек Петри со средой XLD. Дозирование реагентов и проб выполняли с использованием полуавтоматических дозаторов переменного объема серий Proline Plus (Sartorius Biohit, Финляндия) и TopPette (DLAB Scientific, Китай), ПЦР-анализ проводили на автоматическом микробиологическом анализаторе BAX® Q7 (Hygiene, США). Используемое оборудование было поверено и аттестовано в установленном порядке.

Валидация была проведена путем сопоставления результатов исследований, полученных валидируемым и референтным методами, т.е. методом НВЧ с учетом наличия/отсутствия *Salmonella spp.* методом ПЦР и методом НВЧ с учетом наличия/отсутствия *Salmonella spp.* классическим методом на питательных средах.⁴

Оценку основных аналитических характеристик проводили следующим образом:

Специфичность, инклюзивность и эксклюзивность оценивались с целью подтверждения, что ПЦР-система корректно идентифицирует целевой микроорганизм и не дает ложноположительных результатов в присутствии штаммов-ассоциантов [25].

Объектами исследования послужили 50 проб мяса, инокулированных штаммами микроорганизмов: 30 проб — различными штаммами *Salmonella* (целевой микроорганизм) и 20 проб, контаминированных штаммами культур, характерными для частой контаминации исследуемого продукта (штамм-ассоциант). Концентрации клеток целевых микроорганизмов и штаммов-ассоциантов в рабочих взвесах отличаются на несколько порядков, количество целевых микроорганизмов — 10^2 КОЕ/г , штаммов-ассоциантов — 10^5 КОЕ/г .⁵

Предел количественного определения (ПКО) определяли как минимальную концентрацию, при которой отклонение результата, полученного валидируемым методом не превышало $0,5\text{ log}_{10}$ от контрольного значения, полученного референтным методом⁶. Для этого анализировали пять параллельных образцов на пяти уровнях концентрации (от 10^5 до 10^1 КОЕ/г).

⁴ ГОСТ ISO 7218-2011 «Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям». Москва: Стандартинформ, 2013. — 51–52 с

⁵ ОФС.1.1.0021.18 «Валидация микробиологических методик» Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. I. М., 2018. — 15 с.

⁶ ISO 16140-2:2016 «Микробиология пищевой цепи. Валидация метода. Часть 2. Протокол валидации альтернативных (собственных) методов в сравнении с референтным методом». Женева: ISO, 2016. — 74 с.

Прецизионность: оценивали внутрилабораторную прецизионность по результатам, полученным двумя независимыми операторами в условиях одной лаборатории. Рассчитывали коэффициент вариации (CV, %).

Линейность устанавливали в рабочем диапазоне уровней концентрации от 10^1 до 10^5 КОЕ/г. Для каждого из пяти уровней концентрации проводили по пять независимых определений. Строили график зависимости десятичного логарифма полученного результата ($\log_{10} N$) от логарифма заданной концентрации ($\log N_0$) и рассчитывали коэффициент линейной корреляции (R) и детерминации (R^2).

Правильность выражали через процент восстановления (K, %), рассчитанный как отношение результата, полученного валидируемым методом, к результату, полученному референтным методом.

Таблица 1. Результаты анализа ПЦР-методом образцов, загрязненных целевыми штаммами

Table 1. Results of PCR analysis of samples contaminated with target strains

Результаты идентификации целевых микроорганизмов (Salmonella) ПЦР-методом		
Целевые штаммы	Положительный	Отрицательный
<i>Salmonella Enteritidis</i>	+	-
<i>Salmonella Typhimurium</i>	+	-
<i>Salmonella Infantis</i>	+	-
<i>Salmonella Hadar</i>	+	-
<i>Salmonella Heidelberg</i>	+	-
<i>Salmonella Abortusequi</i>	+	-
<i>Salmonella Reading</i>	+	-
<i>Salmonella Schwarzengrund</i>	+	-
<i>Salmonella Falkensee</i>	+	-
<i>Salmonella Kedougou</i>	+	-
<i>Salmonella Derby</i>	+	-
<i>Salmonella Isangi</i>	+	-
<i>Salmonella Muenchen</i>	+	-
<i>Salmonella Arizonae</i>	+	-
<i>Salmonella Bredeney</i>	+	-
<i>Salmonella Senftenberg</i>	+	-
<i>Salmonella Montevideo</i>	+	-
<i>Salmonella Braenderup</i>	+	-
<i>Salmonella Kentucky</i>	+	-
<i>Salmonella Rissen</i>	+	-
<i>Salmonella Agona</i>	+	-
<i>Salmonella Choleraesuis</i>	+	-
<i>Salmonella Saintpaul</i>	+	-
<i>Salmonella GIVE</i>	+	-
<i>Salmonella Mbandaka</i>	+	-
<i>Salmonella Alachua</i>	+	-
<i>Salmonella Manhattan</i>	+	-
<i>Salmonella Uganda</i>	+	-
<i>Salmonella Bovismorbificans</i>	+	-
<i>Salmonella Meleagridis</i>	+	-
Доля результатов, %	100	0

Для статистической обработки данных использовали пакет программ Microsoft Excel 2019 (США). Рассчитывали среднее арифметическое (M), стандартное отклонение (SD) и коэффициент вариации (CV, %).

Результаты и обсуждение / Results and discussion

Результаты оценки специфичности, инклюзивности и эксклюзивности метода представлены в таблицах 1, 2.

Критерием приемлемости считали отсутствие ложноотрицательных результатов в образцах, содержащих целевой микроорганизм, и отсутствие ложноположительных результатов в образцах, содержащих ассоциированную микрофлору⁷.

Во всех тестируемых образцах отсутствовали ложноотрицательные и ложноположительные результаты. Метод показал 100% специфичность.

Высокая специфичность ПЦР-детекции в рамках гибридного подхода обусловлена принципом комплементарного связывания уникальных праймеров (и зондов) со строго определенным участком ДНК-мишени в оптимизированных температурных условиях.

Для оценки предела количественного определения метода проводили исследования пяти загрязненных образцов в 5-ти разведениях.

Таблица 2. Результаты анализа ПЦР-методом образцов, загрязненных штаммами-ассоциантами

Table 2. Results of PCR analysis of samples contaminated with associated strains

Результаты идентификации целевых микроорганизмов (Salmonella) ПЦР-методом		
Целевые штаммы	Положительный	Отрицательный
<i>Listeria monocytogenes</i>	-	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	+
<i>Campylobacter jejuni</i>	-	+
<i>Proteus mirabilis</i>	-	+
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	+
<i>Lactobacillus sakei</i>	-	+
<i>Clostridium perfringens</i>	-	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	+
<i>Escherichia coli</i>	-	+
<i>Bacillus cereus</i>	-	+
<i>Enterococcus faecium</i>	-	+
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	+
<i>Citrobacter freundii</i>	-	+
<i>Citrobacter braakii</i>	-	+
<i>Proteus vulgaris</i>	-	+
<i>Enterobacter kobei</i>	-	+
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	-	+
<i>Staphylococcus xylosum</i>	-	+
<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	+
<i>Acinetobacter baumannii</i>	-	+
Доля результатов, %	0	100

⁷ ГОСТ ISO 16140-2011 «Микробиология продуктов питания и кормов для животных. Протокол валидации альтернативных методов». Москва: Стандартинформ, 2013. — 61 с.

Затем осуществили сравнительный анализ результатов исследований, полученных разработанным методом и методом НВЧ с учетом наличия/отсутствия *Salmonella spp.* классическим методом на питательных средах (табл. 3).

ПКО установлен на уровне 10^1 КОЕ/г, так как значения результатов, полученных валидируемым методом, на этом и всех более высоких уровнях концентраций получены с требуемой правильно-стью и прецизионностью⁸.

Установленный предел количественного определения демонстрирует, что разработанный метод не уступает по чувствительности классическому методу НВЧ с использованием чашек Петри.

Для оценки прецизионности разработанного метода проводили по 5 измерений контаминированных образцов в диапазоне уровней концентрации от 10^5 до 10^1 КОЕ/г.

Рассчитывали коэффициент вариации (CV) для каждой концентрации. Результаты представлены в таблице 4.

Среднее значение CV внутрилабораторной прецизионности составило 2,8%.

Полученное среднее значение коэффициента вариации (CV) внутрилабораторной прецизионности на уровне 2,8% свидетельствует о высокой степени воспроизводимости метода. Данный показатель значительно ниже общепринятого в микробиологических исследованиях порога (10–15%), что указывает на стабильность аналитической системы и минимальное влияние случайных факторов на результат.

Для оценки линейности было проведено по 5 параллельных исследований проб с уровнями концентрации *Salmonella enteritidis* от 10^5 до 10^1 КОЕ/г валидируемым методом.

Был построен график зависимости десятичных логарифмов фактического содержания клеток (N) от теоретического содержания клеток (N_0) в виде линии тренда и установлен коэффициент детерминации R^2 на рисунке 1.

Линейность метода доказана, т.к. коэффициент линейной корреляции (R) составил $0,9987 \geq 0,95$, а коэффициент детерминации (R^2) составил $0,9974 \geq 0,90^8$, критерии линейности соблюдены.

Линейная зависимость сигнала от концентрации патогена во всем диапазоне подтверждает корректность применения статистики НВЧ в сочетании с ПЦР-детекцией.

Правильность оценивали как близость полученных результатов к истинному (принятому опорному) значению. За истинное значение приняли результат, полученный референтным методом. Критерием приемлемости является процент восстановления, который должен составлять не менее 70% от истинного значения⁸.

Результат выражают в процентах восстановления микроорганизмов (K, %) и определяют как

Таблица 3. Оценка предела количественного определения

Table 3. Estimation of the limit of quantification

Уровень концентрации <i>Salmonella spp.</i> , КОЕ/г	Валидируемый метод	Референтный метод	Отклонение
	Результат, LOG10	Результат, LOG10	LOG10
10^1	1,28	1,29	0,01
10^2	2,43	2,42	0,01
10^3	3,39	3,43	0,04
10^4	4,44	4,41	0,03
10^5	5,47	5,49	0,02

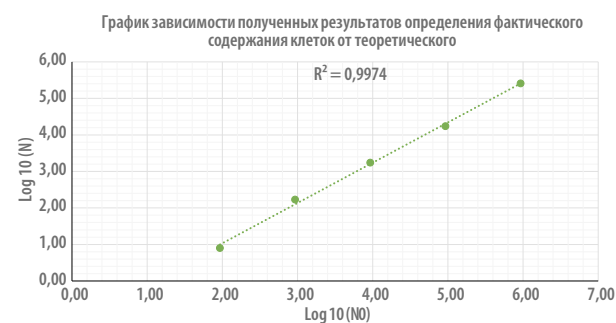
Таблица 4. Оценка внутрилабораторной прецизионности метода

Table 4. Assessment of Intermediate precision of the method

Уровень концентрации <i>Salmonella spp.</i> , КОЕ/г	Результат, LOG10		CV, %
	Первый оператор	Второй оператор	
10^1	1,27	1,29	3,05
10^2	2,36	2,26	4,65
10^3	3,22	3,26	3,24
10^4	4,30	4,32	2,01
10^5	5,38	5,42	1,24

Рис. 1. График зависимости десятичных логарифмов фактического содержания клеток (N) от теоретического содержания клеток (N_0) в виде линии тренда, установлен коэффициент детерминации R^2 .

Fig. 1. The relationship between the decimal logarithms of the actual cell count (N) and the theoretical cell count (N_0) is presented as a trend line with the calculated R-squared (R^2) value.



отношение результата, полученного с помощью валидируемой методики, к результату, полученному с помощью референтного метода (табл. 5).

По результатам исследований процент восстановления микроорганизмов составил более 70% для всего диапазона концентраций, что соответствует критерию приемлемости.

Значения коэффициента восстановления (K) микроорганизмов близкие к 100% свидетельствуют о высокой чувствительности метода и отсутствии систематической погрешности.

Результаты оценки совокупности аналитических характеристик демонстрируют полное соответствие установленным международным требованиям.

Высокие показатели линейности и прецизионности подтверждают надежность и пригодность

⁸ ОФС.1.1.0021.18 «Валидация микробиологических методик» Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. I. М., 2018. — 15 с.

Таблица 5. Оценка правильности метода

Table 5. Evaluation of method accuracy

(n)	Заданная концентрация <i>Salmonella spp.</i> , КОЕ/г									
	10 ⁵		10 ⁴		10 ³		10 ²		10 ¹	
	Результат, количество микроорганизмов <i>Salmonella spp.</i> , КОЕ/г									
	Валидир. метод	Референт. метод	Валидир. метод	Референт. метод	Валидир. метод	Референт. метод	Валидир. метод	Референт. метод	Валидир. метод	Референт. метод
1	2,9E+05	3,6E+05	2,3E+04	2,1E+04	1,6E+03	1,5E+03	2,9E+02	2,7E+02	2,1E+01	2,0E+01
2	2,3E+05	2,1E+05	2,9E+04	2,9E+04	2,3E+03	2,7E+03	2,9E+02	3,5E+02	1,6E+01	2,0E+01
3	2,3E+05	2,3E+05	2,3E+04	2,0E+04	2,7E+03	3,5E+03	2,8E+02	2,9E+02	2,0E+01	2,0E+01
4	4,3E+05	4,3E+05	2,9E+04	2,3E+04	2,9E+03	3,6E+03	2,7E+02	2,1E+02	1,8E+01	2,1E+01
5	2,9E+05	3,1E+05	3,5E+04	3,6E+04	2,8E+03	2,3E+03	2,3E+02	2,1E+02	2,0E+01	1,6E+01
K (%)	96,7		90,4		94,3		95,0		99,1	

разработанного метода для широкого внедрения в практику аккредитованных ветеринарных и производственных лабораторий.

Выводы/Conclusions

Разработанный метод количественного определения *Salmonella spp.*, в сравнении с классическим методом, является более быстрым (результат через 24 ч вместо 5–7 суток), высокочувствительным (ПКО установлен на уровне 10¹ КОЕ/г) и специфичным, поэтому может быть рекомендован альтернативой рутинному лабораторному контролю качества мясной продукции. Его внедрение позволит повысить уровень безопасности пищевых продуктов и оперативно реагировать на потенциальные риски контаминации.

Изложенные данные подтверждают пригодность, скорость и эффективность метода для применения в лабораторной практике.

Сравнительным преимуществом разработанного метода является сокращение времени анализа до 24 часов за счет замены этапа подтверждения на агаре ПЦР-детекцией. Переход от качественного учета к инструментальной детекции позволяет полностью нивелировать риск субъективной интерпретации результатов, характерный для визуальной оценки морфологии колоний на селективных агаризованных средах. Это

обеспечивает стандартизацию исследований и исключает ложноотрицательные или ложноположительные заключения, вызванные атипичным ростом целевых микроорганизмов или маскирующим влиянием сопутствующей микрофлоры.

Предложенный подход обладает высоким потенциалом для универсальной адаптации к различным категориям продовольственного сырья и объектов окружающей среды.

В перспективе возможно масштабирование метода для количественной оценки широкого спектра патогенных микроорганизмов (*Listeria monocytogenes*, *Campylobacter spp.*), что обеспечит оперативный контроль биологических рисков.

Предлагаемый алгоритм, по аналогии с классическим методом наиболее вероятного числа (НВЧ), характеризуется определенной трудоемкостью при масштабировании на массовые ежедневные исследования проб.

Получаемые данные носят статистически вероятностный характер, что необходимо учитывать при интерпретации количественных показателей.

Кроме того, реализация протокола предполагает наличие дорогостоящих реагентов и специализированного оборудования для проведения ПЦР-анализа, что накладывает значительные финансовые обязательства на приборное и ресурсное обеспечение лаборатории.

Все авторы несут ответственность за работу и представленные данные. Все авторы внесли равный вклад в работу. Авторы в равной степени принимали участие в написании рукописи и несут равную ответственность за плагиат. Авторы объявили об отсутствии конфликта интересов.

All authors bear responsibility for the work and presented data. All authors made an equal contribution to the work. The authors were equally involved in writing the manuscript and bear the equal responsibility for plagiarism. The authors declare no conflict of interest.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Гунашев Ш.А., Микайлов М.М., Карашаев М.Ф. Обеспечение безопасности мясного сырья. *Проблемы взаимосвязи науки и экономики: особенности современного этапа: Материалы Всероссийской (национальной) научно-практической конференции*. Нальчик: Кабардино-Балкарский государственный аграрный университет им. В.М. Кокова. 2025; 373–377. EDN ITQNPJ.
- Брянцев В.М., Максимов И.В. Анализ санитарно-эпидемиологических опасностей в животноводческой отрасли. *Инновационные технологии и технические средства для АПК: Материалы международной научно-практической конференции молодых ученых и специалистов*. Воронеж: Воронежский государственный аграрный университет имени Императора Петра I. 2025; 82–87. EDN URBVHO.

REFERENCES

- Gunashv Sh.A., Mikailov M.M., Karashaev M.F. Ensuring the Safety of Raw Meat. *Problems of the Relationship between Science and Economics: Features of the Current Stage: Proceedings of the All-Russian (National) Scientific and Practical Conference*. Nalchik: Kabardino-Balkarian State Agrarian University named after V.M. Kokov. 2025; 373–377. (in Russian). EDN ITQNPJ.
- Bryancev V.M., Maksimov I.V. Analysis of Sanitary and Epidemiological Hazards in the Livestock Industry. *Innovative Technologies and Technical Means for the AIC: Proceedings of the International Scientific and Practical Conference of Young Scientists and Specialists*. Voronezh: Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter I. 2025; 82–87. (in Russian). EDN URBVHO.

3. Mashoshin I.V., Gorobets A.Yu. Профилактика заболеваний у животных: роль ветеринарной терапии. *Молодежная наука — развитию агропромышленного комплекса: материалы V Международной научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых*. Курск: Курский государственный аграрный университет им. И.И. Иванова. 2025; 271–273. EDN DMGPAC.
4. Seregin I.G., Kozak Yu.A., Semenov V.G., Kozak S.S., Sofronov V.G. Основные проблемы производственного ветеринарно-санитарного контроля на предприятиях АПК. *Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана*. 2021; 246: 202–210. EDN QYYM
5. Rebezov M.B., Kuramshina N.G., Topuria G.M., Topuria L.Yu., Karataeva D.A. Содержание радионуклидов в продукции птицеводства. *Научное обеспечение безопасности и качества продукции животноводства: сборник статей по материалам Всероссийской (национальной) научно-практической конференции*. Курган: Курганская государственная сельскохозяйственная академия им. Т.С. Мальцева. 2019; С. 238–241. EDN AMAAPP.
6. Zhumanova G.T., Asenova B.K., Rebezov M.B. Исследование химического состава и показатели безопасности исследуемых куриных гребней, как сырья для получения белкового обогатителя. *Интеграция образования, науки и производства: Сборник материалов международной научно-практической конференции*. Мелеуз: Башкирский институт технологий и управления. 2020; 44–49. EDN LQQTDF.
7. Chuprakova A.M., Rebezov M.B. Анализ результатов мониторинга проб мясных и рыбных продуктов на содержание тяжелых металлов. *Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Экономика и менеджмент*. 2015; 9(2): 194–201. EDN TYFJT.
8. Akhmetova S.O., Suleimenova M.S., Rebezov M.B. Mechanism of an improvement of business processes management system for food production: Case of meat products enterprise. *Entrepreneurship and Sustainability Issues*. 2019; 7(2): 1015–1035. [https://doi.org/10.9770/jesi.2019.7.2\(16\)](https://doi.org/10.9770/jesi.2019.7.2(16)).
9. Rebezov M.B., Topuria G.M., Asenova B.K. Виды опасностей во время технологического процесса производства сыровяленых мясосюродов и предупреждающие действия (на примере принципов HACCP). *Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии*. 2014; 2(1): 60–66. EDN RZCMMB
10. Atambaeva Zh.M., Nurgazesova A.N., Rebezov M.B., Kambarova A.S., Kolesnichenko I.S. Пищевая безопасность и качество мясного сырья. Качество продукции, технологий и образования: *Материалы XIV Международной научно-практической конференции*. Магнитогорск: Магнитогорский государственный технический университет им. Г.И. Носова. 2019; 49–53. EDN VRTZZJ.
11. Stathas L., Aspidou Z., Koutsoumanis K. Quantitative microbial risk assessment of *Salmonella* in fresh chicken patties. *Food Research International*. 2024; 178: 113960. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.113960>
12. Karachina T.A., Abdullaeva A.M., Blinkova L.P., Usha B.V. Biohazard analysis of high quantity pathogens in poultry meat of mechanical deboning. *Problems of veterinary sanitation, hygiene and ecology*. 2020; (3): 285–290 (in Russian). <https://doi.org/10.36871/vet.san.hyg.ecol.202003002>
13. Kozak S.S., Baranovich E.S., Kozak Yu.A. Заболеваемость сельскохозяйственных животных и птицы сальмонеллезом. *Тимирязевский биологический журнал*. 2023; 1(3): 71–77. EDN FPPWL
14. Kurbanova M.N., Samoylov A.V. Promising directions in food microbiology. methods of detection and identification of microorganisms. *Russian Problems of veterinary sanitation, hygiene and ecology*. 2021; (4): 370–379. <https://doi.org/10.36871/vet.san.hyg.ecol.202104001>
15. Rebezov M.B., Trushina L.N., Topuria G.M., Topuria L.Yu. Ветеринарно-санитарная оценка мяса уток при применении биостимулятора. *Приоритетные направления регионального развития: Сборник статей по материалам II Всероссийской (национальной) научно-практической конференции с международным участием*. Курган: Курганская государственная сельскохозяйственная академия им. Т.С. Мальцева. 2021; 478–481. EDN CETOWE.
16. Topuria G.M., Topuria L.Yu., Rebezov M.B. Ветеринарно-санитарная экспертиза мяса цыплят-бройлеров при использовании растительной кормовой добавки. *Вестник мясного скотоводства*. 2016; 1(93): 112–115. EDN VVRLPJ.
17. Kamaletdinova A.V., Bodryakova N.P., Kalashnikov V.A. Актуальность мониторинга патогенной микрофлоры при переработке мясной продукции. *Пищевые инновации и биотехнологии. Сборник тезисов XIII Всероссийской (национальной) научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых*. Кемерово: Кемеровский государственный университет. 2025; 266–268. EDN SBAWDT
3. Mashoshin I.V., Gorobets A.Yu. Disease prevention in animals: the role of veterinary therapy. *Young science for the development of the agro-industrial complex: Proceedings of the 5th International Scientific and Practical Conference of Students, Postgraduates, and Young Scientists*. Kursk: Kursk State Agrarian University named after I.I. Ivanov. 2025; 271–273. (in Russian). EDN DMGPAC.
4. Seregin I.G., Kozak Yu.A., Semenov V.G., Kozak S.S., Sofronov V.G. Main problems of production veterinary and sanitary control at agro-industrial enterprises. *Scientific notes Kazan Bauman State Academy of Veterinary Medicine*. 2021; 246: 202–210 (in Russian). EDN QYYM
5. Rebezov M.B., Kuramshina N.G., Topuria G.M., Topuria L.Yu., Karataeva D.A. The content of radionuclides in poultry products. *Scientific support for the safety and quality of livestock products: a collection of articles based on the materials of the All-Russian (national) scientific and practical conference*. Kurgan: Kurgan State Agricultural Academy named after TS Maltsev. 2019; pp. 238–241. (in Russian). EDN AMAAPP.
6. Zhumanova G.T., Asenova B.K., Rebezov M.B. A study of the chemical composition and safety indicators of the studied chicken combs as a raw material for obtaining a protein fortifier. *Integration of education, science and production: a collection of materials of the international scientific and practical conference*. Meleuz: Bashkir Institute of Technology and Management. 2020; 44–49. (in Russian). EDN LQQTDF.
7. Chuprakova A.M., Rebezov M.B. Analysis of the results of monitoring meat and fish product samples for heavy metal content. *Bulletin of South Ural State University. Series: Economics and Management*. 2015; 9(2): 194–201. (in Russian). EDN TYFJT.
8. Akhmetova S.O., Suleimenova M.S., Rebezov M.B. Mechanism of an improvement of business processes management system for food production: Case of meat products enterprise. *Entrepreneurship and Sustainability Issues*. 2019; 7(2): 1015–1035. [https://doi.org/10.9770/jesi.2019.7.2\(16\)](https://doi.org/10.9770/jesi.2019.7.2(16)).
9. Rebezov M.B., Topuria G.M., Asenova B.K. Types of hazards during the technological process of production of dry-cured meat products and preventive actions (using the HACCP principles as an example). *Bulletin of the South Ural State University. Series: Food and Biotechnology*. 2014; 2(1): 60–66. (in Russian). EDN RZCMMB
10. Atambaeva Zh.M., Nurgazesova A.N., Rebezov M.B., Kambarova A.S., Kolesnichenko I.S. Food safety and quality of raw meat. *Quality of products, technologies and education: Proceedings of the XIV International scientific and practical conference*. Magnitogorsk: Nosov Magnitogorsk State Technical University. 2019; 49–53. (in Russian). EDN VRTZZJ
11. Stathas L., Aspidou Z., Koutsoumanis K. Quantitative microbial risk assessment of *Salmonella* in fresh chicken patties. *Food Research International*. 2024; 178: 113960. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.113960>
12. Karachina T.A., Abdullaeva A.M., Blinkova L.P., Usha B.V. Biohazard analysis of high quantity pathogens in poultry meat of mechanical deboning. *Problems of veterinary sanitation, hygiene and ecology*. 2020; (3): 285–290 (in Russian). <https://doi.org/10.36871/vet.san.hyg.ecol.202003002>
13. Kozak S.S., Baranovich E.S., Kozak Yu.A. Salmonellosis Incidence in Farm Animals and Poultry. *Timiryazev Biological Journal*. 2023; 1(3): 71–77 (in Russian). EDN FPPWL
14. Kurbanova M.N., Samoylov A.V. Promising directions in food microbiology. methods of detection and identification of microorganisms. *Russian Problems of veterinary sanitation, hygiene and ecology*. 2021; (4): 370–379 (in Russian). <https://doi.org/10.36871/vet.san.hyg.ecol.202104001>
15. Rebezov M.B., Trushina L.N., Topuria G.M., Topuria L.Yu. Veterinary and sanitary assessment of duck meat using a biostimulant. *Priority areas of regional development: Collection of articles based on the materials of the II All-Russian (national) scientific and practical conference with international participation*. Kurgan: Kurgan State Agricultural Academy named after T.S. Maltsev. 2021; 478–481. (in Russian). EDN CETOWE.
16. Topuria G.M., Topuria L.Yu., Rebezov M.B. Veterinary and sanitary examination of broiler chicken meat using a plant-based feed additive. *Bulletin of Beef Cattle Breeding*. 2016; 1(93): 112–115. (in Russian). EDN VVRLPJ.
17. Kamaletdinova A.V., Bodryakova N.P., Kalashnikov V.A. The relevance of monitoring pathogenic microflora during meat product processing. *Food Innovations and Biotechnologies. Collection of abstracts of the XIII All-Russian (National) scientific conference of students, graduate students and young scientists*. Kemerovo: Kemerovo State University. 2025; 266–268 (in Russian). EDN SBAWDT

18. Козак Ю.А., Козак С.С., Сычева И.Н. Возможность использования подложек MICROFAST® SALMONELLA COUNT PLATE (SAL) для обнаружения сальмонелл в мясе птицы. *Тимирязевский биологический журнал*. 2024; 2(4): 78–82. <https://doi.org/10.26897/2949-4710-2024-2-4-78-82>
19. Kim S.A., Park S.H., Lee S.I., Ricke S.C. Development of a rapid method to quantify *Salmonella* Typhimurium using a combination of MPN with qPCR and a shortened time incubation. *Food Microbiology*. 2017; 65: 7–18. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.01.013>
20. Noviyanti F., Mochida M., Kawasaki S. Predictive modeling of *Salmonella* spp. growth behavior in cooked and raw chicken samples: Real-time PCR quantification approach and model assessment in different handling scenarios. *Journal of Food Science*. 2024; 89(4): 2410–2422. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.17020>
21. Peris-Vicente J., Carda-Broch S., Esteve-Romero J. Validation of rapid microbiological methods. *Journal of Laboratory Automation*. 2015; 20(3): 259–264. <https://doi.org/10.1177/2211068214554612>
22. Тымчук С.Н., Ларин В.Е. Проблематика верификации и валидации микробиологических методик. *Контроль качества продукции*. 2020; (9): 14–19. EDN CGJXVS
23. Буйлова И.А., Гунар О.В. Практические аспекты применения валидационных параметров на примере методик определения количественного содержания микроорганизмов в лекарственных препаратах. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2020; 10(4): 267–272. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2020-10-4-267-272>
24. Гунар О.В., Буйлова И.А., Колосова Л.В., Доренская А.В. Применение валидационных исследований для оценки микробиологических методик. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2013; (3): 4–7. EDN RWWUQN
25. Manju M.A., Van Den Heuvel E.R., IJzerman-Boon P.C. A comparison of spiking experiments to estimate the detection proportion of qualitative microbiological methods. *Journal of Biopharmaceutical Statistics*. 2019; 29(1): 30–55. <https://doi.org/10.1080/10543406.2018.1452027>
18. Kozak Yu.A., Kozak S.S., Sycheva I.N. Possibility of using MICROFAST® SALMONELLA COUNT PLATE (SAL) for the detection of *Salmonella* in poultry meat. *Timiryazev Biological Journal*. 2024; 2(4): 78–82 (in Russian). <https://doi.org/10.26897/2949-4710-2024-2-4-78-82>
19. Kim S.A., Park S.H., Lee S.I., Ricke S.C. Development of a rapid method to quantify *Salmonella* Typhimurium using a combination of MPN with qPCR and a shortened time incubation. *Food Microbiology*. 2017; 65: 7–18. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.01.013>
20. Noviyanti F., Mochida M., Kawasaki S. Predictive modeling of *Salmonella* spp. growth behavior in cooked and raw chicken samples: Real-time PCR quantification approach and model assessment in different handling scenarios. *Journal of Food Science*. 2024; 89(4): 2410–2422. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.17020>
21. Peris-Vicente J., Carda-Broch S., Esteve-Romero J. Validation of rapid microbiological methods. *Journal of Laboratory Automation*. 2015; 20(3): 259–264. <https://doi.org/10.1177/2211068214554612>
22. Tymchuk S.N., Larin V.E. Problems of verification and validation of microbiological methods. *Product quality control*. 2020; (9): 14–19 (in Russian). EDN CGJXVS
23. Buylova I.A., Gunar O.V. Validation Parameters as Applied to Methods for Quantification of Microorganisms in Medicinal Products. *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2020; 10(4): 267–272 (in Russian). <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2020-10-4-267-272>
24. Gunar O.V., Builova I.A., Kolosova L.V., Dorenskaya A.V. Validation studies for the assessment of microbiological methods. *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2013; (3): 4–7 (in Russian). EDN RWWUQN
25. Manju M.A., Van Den Heuvel E.R., IJzerman-Boon P.C. A comparison of spiking experiments to estimate the detection proportion of qualitative microbiological methods. *Journal of Biopharmaceutical Statistics*. 2019; 29(1): 30–55. <https://doi.org/10.1080/10543406.2018.1452027>

ОБ АВТОРАХ

Ангела Викторовна Камалетдинова^{1,2}

– магистрант¹;
– ведущий специалист²
angela.kamaletdinova.1988@mail.ru
<https://orcid.org/0009-0009-9922-359X>

Вячеслав Александрович Калашников²

кандидат ветеринарных наук, руководитель направления
v.kalashnikov@cherkizovo.com
<https://orcid.org/0009-0001-1223-8644>

Наталья Павловна Бодрякова¹

кандидат биологических наук,
доцент
bodryakova@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-7058-3817>

Максим Вячеславович Калашников³

младший научный сотрудник
maxim07092001@gmail.com

¹ Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии — МВА им. К.И. Скрябина ул. им. Академика Скрябина, 23, Москва, 109472, Россия

² ООО «Научно-испытательный центр НИЦ «Черкизово»», Дорожная ул., 14, дер. Яковлевское, Москва, 143340, Россия

³ ООО Синтол», Ул. Тимирязевская 42, корпус Б, офис 316, Москва, 127434, Россия

ABOUT THE AUTHORS

Angela Victorovna Kamaletdinova^{1,2}

– Master's student¹;
– Leading specialist²
angela.kamaletdinova.1988@mail.ru
<https://orcid.org/0009-0009-9922-359X>

Viacheslav Alexandrovich Kalashnikov²

Candidate of Veterinary Sciences Head of the Lab
v.kalashnikov@cherkizovo.com
<https://orcid.org/0009-0001-1223-8644>

Natalya Pavlovna Bodryakova¹

Candidate of Biological Sciences,
scientific title Associate Professor
bodryakova@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-7058-3817>

Maksim Viacheslavovich Kalashnikov³

Junior Researcher
maxim07092001@gmail.com

¹ Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology — MVA named after K.I. Skryabin 23 Academician Skryabin st., Moscow, 109472, Russia

² LLC SIC “Cherkizovo”, 14 Dorozhnaya st., Yakovlevskoye village, Moscow, 143340, Russia

³ Synthol LLC», 42, building B, office 316, Timiryazevskaya st., Moscow, 127434, Russia