# Аналитическая записка по результатам выполнения гранта в 2021 году

**1. Номер и название проекта.**
№075-15-2020-775 «Фундаментальные исследования перемещений патогенных микроорганизмов и вирусов в пищевых системах и создание инновационных средств их предотвращения с использованием антимикробных материалов и физических методов воздействий на биологические объекты».

**2. Цель проводимых исследований с точки зрения государства, общества и науки.**
Создание безопасных пищевых систем, устойчивых к глобальным вызовам, провоцирующим вспышки пищевых инфекций.

**3. Актуальность проводимых исследований для науки и практической деятельности.**
Современные пищевые системы - от поля до потребителя - представляют собой среду для возникновения, передачи и распространения инфекционных заболеваний. Сложность современных комплексов по производству и переработке продовольственного сырья способствует циркуляции в них микроорганизмов и вирусов, которые возникают сначала как сопутствующие определенной среде и объектам этой среде, но оказываются способными мигрировать, мутировать и передаваться человеку. Пищевые системы, не защищенные от такого проникновения соответствующим образом, могут являться и объектами для преднамеренного инфицирования (биотерроризма).
Изучение перемещений возбудителей вирусной и бактериальной природы имеет решающее значение для обеспечения безопасности национальных и международных поставок продовольствия. Число пищевых инфекций повсеместно растет. По оценкам ФАО/ВОЗ вспышки инфекций пищевого происхождения ложатся тяжелым бременем на системы здравоохранения и на экономику разных стран. Ежегодно от пищевых инфекций заболевает свыше 600 млн человек /почти каждый 10-й житель планеты/ и умирает 420 тыс человек, что приводит к потере 33 млн лет здоровой жизни. Экономические потери оцениваются на уровне 110 млрд долларов США. 40% бремени пищевых инфекций приходится на детей до 5 лет, эти болезни уносят жизни 125 тыс детей в год. С 2017 года в мире наблюдается прогрессирующий рост инфекционных болезней пищевого происхождения. Антропогенные воздействия на окружающую среду «форсировали» эволюцию микробов и привели к появлению среди традиционных контаминантов продовольственного сырья и пищевых продуктов штаммов с измененными свойствами, резистентных к воздействию окружающей среды, к дезинфектантам и антибиотикам, с дополнительными факторами патогенности. Именно этим в настоящее время объясняется всё возрастающее количество так называемых «эмерджентных» (возникающих неожиданно) инфекций от пищи. Согласно данным ФАО/ВОЗ к группе таких заболеваний относится около двух сотен заразных болезней, получивших распространение в мире в последнее время, при этом 75% эмерджентных инфекций являются заболеваниями зоогенного происхождения.

**4. Превосходство полученного результата над зарубежными достижениями.**
Подобного научного проекта за рубежом не выполнялось. В зарубежных проектах исследуется определенное звено пищевой системы (например, свежие фрукты или замороженное мясо) или определенный вид патогена (например, возбудитель листериоза или кампилобактериоза). В российском проекте изучается вся микрофлора, выявляемая в производственной среде. Из выявленной микрофлоры выделяются наиболее опасные представители (патогены и микроорганизмы порчи), изучаются их характеристики, в особенности, их способность к выживанию в производственной среде, и одновременно разрабатываются научные основы борьбы с ними.
Наиболее близким к российскому проекту является французский проект группы Actalia Fastypers, который был начат в 2022 году. Их целью также является глубокое изучение патогенов на пищевых предприятиях. Однако французский проект предполагает

первоначально сосредоточить внимание только на 2х патогенах (листериях и сальмонеллах) в свиноводческом и молочном секторах. Основная задача французского проекта перекликается с задачами российского проекта - попытать понять, как патогенам удается адаптироваться, в том числе к используемым биоцидным средствам, сохраняться и передаваться в окружающей среде и на пищевых производствах. Появление зарубежных проектов, подобных российскому, свидетельствует о своевременности и актуальности выполняемого научного проекта.

Проект еще не закончен, но уже за 2 года работы он позволили получить следующие результаты:

- установлена роль биопленок (пленок, образуемых бактериями; это наиболее устойчивая форма развития микробных сообществ) на пищевых производствах в циркуляции патогенов, устойчивых к антибиотикам, в том числе возбудителей внутрибольничных инфекций;
- заложена уникальная коллекция микроорганизмов (патогенов и сапрофитов), формирующих «микробиом» пищевых производств;
- разработана методология идентификации, сбора и оценки наличия биопленочного фенотипа микробных контаминантов пищевого производства, в том числе содержащая методы индикации биопленок, позволяющих их выявлять на месте (экспресс-тесты);
- разработана методология определения вирусов на объектах пищевых производств;
- на основании исследования таксономического состава микроорганизмов, представленных на разных стадиях производства пищевых продуктов, доказана необходимость разработки принципиально новых подходов к дезинфекции производственных поверхностей;
- методом анкетирования оценена готовность 63 российских предприятий к таким вызовам, как распространение инфекций (на примере Ковид-19). Оценен уровень систем менеджмента пищевой безопасности предприятий по отношению к уровню зарубежных стран (ЕС и Китая) /значимых различий нет/;
- получены новые биоцидные макромолекулярные комплексы на основе катионных полимеров и наночастиц для борьбы с бактериальными пленками. Разработаны эффективные методики синтеза антимикробных металлополимерных нанокомпозитов в дисперсиях интерполиэлектролитных комплексов с использованием радиационно-химических и фотохимических подходов;
- показана полная гибель микроорганизмов в биопленках в случае лазерного переноса металлических (серебро, медь) пленок в виде наночастиц с поверхности полимера на поверхность биопленок;
- разработана высокопроизводительная технология получения электроискровым методом коллоидного раствора содержащего наночастицы аморфного углерода;
- с использованием лазерных технологий разработаны схемы получения плазменных и/или акустических разрядов в жидкостях (оптический пробой) с возможностью снижения энергетических затрат примерно на 2 порядка;
- изготовлены 2 экспериментальные установки для получения акустоплазменным методом наночастиц оксидов металлов и металлов с антимикробными свойствами;
- установлено, что присутствие патогенных микроорганизмов сальмонелл и кампилобактера, а также условно-патогенных псевдомонад усиливается в летний период, тогда как патоген листерия моноцитогенес циркулирует на предприятиях вне зависимости от сезонных изменений. Выявлен основной источник распространения патогенных и условно-патогенных микроорганизмов - вспомогательное оборудование. Показана опасность формирования сообществ микроорганизмов под влиянием однотипных санитарно-гигиенических процедур, при отсутствии ротации дезинфектантов;
- созданы модели моно- и мультивидовых биопленок грамотрицательных и грамположительных бактерий, выделенных из объектов производственной среды, с целью

разработки методов изучения влияния на них внешних факторов, в том числе для подбора дезинфектантов.

- при изучении интенсивности биопленкообразования и морфотипов выживания патогенов обнаружено явление быстрого восстановления жизнеспособности клеток в составе биопленок, обработанных препаратом на основе хлора;
- при проведении апробации методик выделения пищевых вирусов выявлен высокий уровень распространенности Норовируса GII в устрицах (9,6%) и в клубнике (6,8 %), при этом гепатита Е в свиной печени (85 образцов от различных производителей) не обнаружено;
- в исследованиях низковольной электрической инактивации бактерий был предложен и апробирован новый высокоэффективный бактерицидный материал на основе электрически слабозаряженных наноструктурированных металлических пленок на поверхности кристаллического кремния;
- установлен антибактериальный эффект плазмы тлеющего разряда и водных растворов хлорида натрия, обработанных плазмой тлеющего разряда, а также высокочастотной низкотемпературной аргоновой плазмы и водных растворов хлорида натрия, обработанных высокочистой низкотемпературной аргоновой плазмой;
- получены новые композиционные материалы, обладающие уникальными свойствами: они проявляют бактериостатический эффект и являются биосовместимы с клетками эукариот.

**Уникальность и мировой уровень:** Одним из важных оригинальных, патентуемых в настоящее время, научных результатов проекта является дистанционная (бесконтактная) инактивация-дезинфекция патогенов с помощью спектрально-селективного воздействия ИК-лазерного излучения на характеристические молекулярные колебания ключевых функциональных органелл бактерий (в частности, на трехмерные структуры молекул ДНК), а также способ и устройство на основе разработанного источника плазмы тлеющего разряда для низкотемпературной стерилизации инструмента (планируется получение не менее 3х патентов).

Все результаты прошли широкое обсуждение. По итогам 2х лет работы проведены 2 международные конференции, из которых одна - «Food Quality – Food Safety» - совместно с Российским университетом дружбы народов, другая - XXII Международная научно-практическая конференция, посвященная памяти В.М. Горбатова «Пищевые системы. Биобезопасность, технологии и инжиниринг». В последней приняли участие докладчики и слушатели из 16 стран, в том числе из России, Сербии, Болгарии, Венгрии, Испании, Италии, Швеции, Японии, Китая, США, Индии, Египета, Объединенных Арабских Эмиратов, Украины, Белоруссии и Казахстана. География российских подключений охватила 63 города (населенных пункта). В первый день в пленарном заседании приняли участие 450 человек, во второй день на секционных заседаниях – 415 человек. На научные и образовательные организации пришлось 50% подключений, на бизнес – 35%, государственные и прочие организации - 15% подключений.

За 2 года сделано 30 устных научных докладов на 10 международных конференциях и конгрессах. По результатам исследований за 2020-2021 гг. опубликовано 35 научных статей в высокорейтинговых изданиях первого и второго квартиля. Средний процентиль актуальности тематики публикаций SciVal (отражает интенсивность интереса мирового научного сообщества к выбранной теме) – 94,019. Средний взвешенный по области знаний индекс цитирования FWCI (значение больше 1,00 означает, что цитирование документа выше среднего) – 3,09. Опубликованные статьи процитированы учеными 46 стран., в т.ч. США, Австралии, Австрии, Армении, Бангладеш, Беларуси, Бельгии, Бирмы, Бразилии, Великобритании, Вьетнама, Германии, Греции, Дании, Египта, Израиля, Индии, Индонезии, Ирака, Ирана, Испании, Италии, Казахстана, Канады, Китая, Колумбии, Малайзии, Марокко, Мексики, Нидерландов, Новой Зеландии, Пакистана, Польши,

Португалии, Саудовской Аравии, Сербии, Тайваня, Таиланда, Украины, Франции, Чехии, Чили, Швейцарии, Эквадора, Южной Кореи, Японии.

**5. Важность полученного результата для науки и социально-экономической сферы.**

Важность полученных результатов определяется следующим: проект направлен на получение новых научных знаний, обеспечивающий повышение уровня микробиологической безопасности и качества продуктов питания. Обеспечение продовольственной безопасности и улучшение питания является второй из 17 целей устойчивого развития /ЦУР/, определенных Генеральной Ассамблеей ООН в 2015 г. Поскольку без ее достижения невозможна реализация всех остальных ЦУР, то полученные результаты имеют не только научное, но и важнейшее социально-экономическое значение.

Безопасность пищевых систем и их устойчивость к таким вызовам как вспышки инфекционных заболеваний для России, обладающей огромными природными ресурсами и активно развивающей национальный агропромышленный комплекс, имеет особое значение. Исходя из национальных приоритетов, определенных в Стратегии научно-технологического развития реализация проекта имеет исключительное значение. Реализация предлагаемого проекта позволяет получить новые научные результаты, которые станут основой для повышения надежности пищевых систем, достижения целей научно-технологического и устойчивого развития России в целом, а именно:

- позволит получить новые материалы (приоритет 20а) с антимикробными свойствами;
- будет способствовать переходу к экологически чистым и ресурсосберегающим технологиям (приоритеты 20б и 20г) за счет сокращения всех видов потерь, неразрывно возникающих и воздействующих на окружающую среду при необходимости утилизации опасного продовольствия и/или при утрате продовольствия в результате порчи;
- а также сокращению и/или исключению применения антибактериальных лекарственных препаратов (приоритет 20в) за счет развития научных знаний о механизмах выживаемости бактерий и нанотехнологий;
- обеспечит развитие систем безопасности и качества пищевых производств и их устойчивости к угрозам пандемического характера (приоритеты 20г и 20д).

Возможность повышения эффективного предотвращения вспышек пищевых инфекций необходима для развития связанности территорий, дальнейшего освоения космического и воздушного пространства, Мирового океана, Арктики и Антарктики (приоритет 20е).

Полученные результаты фундаментальных исследований будут востребованы для последующих разработок прикладного характера, создания частных решений в различных отраслях промышленности, сельского хозяйства и других сфер деятельности.

О высокой социально-экономической значимости свидетельствует поддержка проекта Комитетом Совета Федерации по аграрно-продовольственной политике и природопользованию, Россельхознадзором, отраслевыми союзами и другими организациями еще на стадии его формирования.

Социальная значимость проекта состоит в повышении надёжности современных стратегий защиты пищевых систем, в том числе и в случае биотерроризма. Изучение перемещений возбудителей бактериальной и вирусной природы имеет решающее значение для обеспечения безопасности внутригосударственных и международных поставок продовольствия.

Эффект от реализации проекта будет состоять в получении новых фундаментальных знаний, необходимых для повышения безопасности пищевых систем и их устойчивости к таким вызовам как вспышки инфекционных заболеваний. Надо отметить, что все этапы проекта выполняются на действующих предприятиях. Бизнес-сообщество демонстрирует огромную заинтересованность в получении результатов и конкретных рекомендаций по реинжинирингу санитарно-гигиенических процедур по повышению безопасности и качества продукции.

В целом результаты выполнения проекта будут отвечать вызовам, стоящим перед человечеством по обеспечению глобальной продовольственной безопасности, содействовать целям устойчивого развития планеты.

**6. Роль каждой организации-участника в достижении поставленных целей проекта.**

Исполнителями проекта является Консорциум 6 организаций – ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, ФГБУН Физический институт им. П.Н. Лебедева РАН, ФГБУН Федеральный исследовательский центр «Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН», ФГБОУВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Центр коллективного пользования «Протеом человека» ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.М. Ореховича», ФГБУ «Всероссийский государственный центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов».

ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН – головная организация проекта. Руководитель проекта – академик РАН, доктор технических наук, профессор Лисицын Андрей Борисович. Центр осуществляет планирование и координацию работ, сбор и систематизацию экспериментальных данных, в том числе данных мониторинга и обследования пищевых предприятий по распространению патогенных микроорганизмов и вирусов, биопленкообразующих штаммов, разработку и апробацию метода выявления вирусов на пищевых предприятиях, микробиологические исследования, разработку бактериостатических покрытий на основе природных биополимеров (коллагена), апробацию инновационных антимикробных и противовирусных материалов, физических методов обработки на пищевых продуктах и др.

Головной организацией разработаны проекты «Методических рекомендации по идентификации (оценке наличия), сбору и исследованию биопленок микробных контаминантов пищевых производств» и «Методических рекомендаций по выявлению вирусных инфекций в пищевой промышленности»; МР 784-00419779-2021 «Методика создания моделей моно- и мультивидовых биопленок грамотрицательных и грамположительных бактерий».

ФГБУН Физический институт им. П.Н. Лебедева РАН – участник проекта. Разрабатывает инновационные лазерные, плазменные, акустические и оптические технологии для обнаружения и инактивации пищевых патогенов, а также лазерные и акусто-плазменные технологии получения и применения бактерицидных наноматериалов. В качестве инновационных физических методов Институтом предложены: полуконтактный лазерный перенос на биопленку нанопленок бактерицидных металлов и оксидов в виде их наночастиц в высокой концентрации, фатальной для биопленок; селективное бесконтактное воздействие ИК-лазерного излучения на органеллы бактерий пищевых патогенов, несущие генетическую и метаболическую функции, с их локальным структурным превращением (денатурацией) при сохранении бактерии в целом неповрежденной и др. Исследованы процессы направленного импрегнирования наночастиц в органические материалы, установлены взаимосвязи условий получения наноматериалов и их характеристик. Получены и охарактеризованы композиционные материалы на основе пленок оксида графена и наночастиц, синтезированных в плазменном разряде под действием ультразвуковой кавитации, обладающие бактерицидными и бактериостатическими свойствами.

ФГБУН Федеральный исследовательский центр «Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН» – участник проекта. Осуществляет исследования по обнаружению возбудителей пищевых инфекций и продуктов их жизнедеятельности с использованием лазерной диодной и терагерцовой спектроскопии, интерференционно-модуляционных и

лидарных технологий, разрабатывает бактериостатические покрытия. Создает методы плазменной и иной обработки с использованием физических методов.
Важнейшими результатами центра, полученными при выполнении проекта, являются:
- разработка композитных полимерных материалов с антимикробными свойствами не оказывающие острой токсичности на клетки млекопитающих, позволяющих снизить риски распространения патогенной флоры на предприятиях пищевой промышленности;
- создание источника плазмы тлеющего разряда, способного создавать в водных растворах условия не совместимые с жизнью микроорганизмов; разработанный источник плазмы тлеющего разряда не имеет прямых аналогов и является прототипом низкотемпературного стерилизатора инструмента (в частности, ножей). При создании источника разработаны методы поддержания тлеющего разряда при частотах сотни мегагерц. Созданы схемы антибактериальной обработки поверхностей различных материалов, применяющихся в пищевой промышленности.

ФГБОУВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» - участник. Разрабатывает биоцидные рецептуры водных растворов полимеров и их комплексов с ионами и наночастицами металлов, исследует долговременной стабильности рецептур в зависимости от их состава, концентрации соли, кислотности раствора и температуры, а также влияние составов рецептур и способа нанесения на особенности формирования, структуру и свойства покрытий. Изучает морфологию (микрорельеф) поверхности, толщину и прочность покрытий.
Разработанные биоцидные покрытия обладают пролонгированным действием и оптимальными адгезионными свойствами по отношению как к гидрофильным, так и гидрофобным поверхностям, устойчивы к смыванию.
Составы предназначены для обработки стен производственных, складских и прочих помещений предприятий пищевой промышленности. В отличие от существующих препаратов подобного назначения новые рецептуры получены на основе полимеров с собственными уникальными биоцидными свойствами. При необходимости их антибактериальное действие может быть усилено введением наночастиц. Они не содержат лекарственных средств, антибиотиков и дезинфектантов, к которым большинство микроорганизмов способно вырабатывать устойчивость (резистентность). В качестве растворителя используется вода, что очень важно для предприятий пищевой промышленности
Как показали исследования, проведенные ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова, огромную проблему в пищевой промышленности создают устойчивые микробные сообщества, развивающиеся в виде бактериальных биопленок, где микробные клетки надежно защищены от воздействия внешней среды, включая дезинфектанты. Новые полимерные рецептуры вызывают гибель таких сообществ и не дают образовываться им в дальнейшем на обработанной поверхности. Особенностью созданных составов является их безопасность для людей, высокая экологичность и отсутствие риска воспламенения.
В настоящее время для нанесения существующих препаратов аналогичного назначения в больницах применяются полярные органические растворители, которые способны воспламеняться. В пищевой промышленности, на предприятиях общественного питания применяются процессы, связанные с обработкой и/или нагревом пламенем. Разработанные составы не требуют предохранения от воздействия прямых солнечных лучей и нагревания выше 50°С. Новые рецептуры нетоксичны, после их нанесения на стены и потолки, помещение не нужно проветривать. Еще одним преимуществом новой разработки является ее низкая стоимость, что делает это средство доступным для предприятий малого и среднего бизнеса и позволяет заменить существующие аналоги.

Центр коллективного пользования «Протеом человека» ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.М. Ореховича» - участник.

Проводит исследования по изучению протеомных характеристик/маркеров возбудителей пищевых инфекций. Разработал протоколы биоинформатического анализа масс-спектрометрических данных, протоколы пробоподготовки и последующего протеомного анализа образцов микробных сообществ пищевых производств с идентификацией белков по общедоступным базам данных. Конечной целью исследований центра является разработка метод молекулярного профилирования образцов смывов для оценки состояния спектра микробных сообществ, присутствующих в производственной среде - системы молекулярного мониторинга состояния микробных сообществ на пищевых производствах России.

ФГБУ «Всероссийский государственный центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» – участник. Выполняет работы по идентификации микроорганизмов, выделенных из производственной среды, методом времяпролётной масспектрометрии MALDI-Tof-MS. Осуществляет депонирование и хранение наиболее интересных, с научной точки зрения, штаммов микроорганизмов, выделенных из объектов производственной среды. За 2 года центром в рамках проекта идентифицировано свыше 1,5 тысяч микроорганизмов, тестируемых для последующих исследований. Из общего числа испытуемых микроорганизмов - обнаружено 113 образцов, представляющих перспективу для дальнейших исследований и внесения в референсную базу данных «*MALDI Biotyper*». Проведен статистический анализ гомогенности и гетерогенности масс-спектров, полученных от разных видов микроорганизмов. Представлен подробный анализ данных отечественной и зарубежной литературы о выделенных и идентифицированных микроорганизмах. Разработан проект «Положения и правил депонирования штаммов микроорганизмов, формирующих микробиом пищевых систем». Осуществлено депонирование и отправление на хранение наиболее интересных, с научной точки зрения, штаммов микроорганизмов, выделенных из объектов производственной среды. Коллекция контаминантов будет использована в дальнейших исследованиях при выборе наиболее эффективных средств дезинфекции и физических воздействий.