









DOI: 10.22363/2312-797X-2024-19-2-370-382

EDN: HBBYLN

УДК 619:636.8:615

Научная статья / Research article


Действие фарнезола на чувствительность микроорганизмов из бактериально-грибковой биопленки к антимикробным средствам *in vitro*

Н.П. Сачивкина¹  , О.В. Нечет¹ , И.С. Гашимова¹ ,
Д.В. Кондратьева² , Н.В. Сахно³ 

¹Российский университет дружбы народов, г. Москва, Российская Федерация

²Частный конный ветеринарный врач Москвы и Московской области, г. Москва, Российская Федерация

³Орловский государственный аграрный университет им. Н.В. Парахина, г. Орел, Российская Федерация

 sachivkina@yandex.ru

Аннотация. Исследовано 2 микроорганизма — *Staphylococcus aureus* и *Candida albicans*, выделенных из смешанной бактериально-грибковой биопленки раны лошади. В лаборатории определяли профиль резистентности этих клинических штаммов к антимикробным средствам стандартным диско-диффузионным методом на плотной питательной среде. Далее к дискам добавляли Фарнезол в концентрациях 12,5...200 мкМ/мл (опыт) или физиологический раствор (контроль). В ходе исследования показано, что в большинстве случаев при добавлении Фарнезола регистрируется увеличение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам и нет случаев отрицательного влияния Фарнезола на чувствительность. Причем в процентном соотношении лучшие результаты синергизма отмечены в сочетании с противогрибковыми препаратами, нежели с антибактериальными. Есть и уникальный показатель: чувствительность *C. albicans* к Нистатину и Миконазолу выросла вдвое при добавлении Фарнезола в концентрации 25...200 мкМ/мл. Кроме того, доказано что клинический штамм золотистого стафилококка был полностью резистентен к пенициллину, а при добавлении Фарнезола чувствительность появилась. Аналогично изначально наблюдалась резистентность штамма кандиды к Амфотерицину В, а с Фарнезолом даже в небольших концентрациях этот препарат стал работать. Данные *in vivo* свидетельствуют об адьювантном эффекте Фарнезола в сочетании с большинством антибиотиков и/или противогрибковых препаратов.

© Сачивкина Н.П., Нечет О.В., Гашимова И.С., Кондратьева Д.В., Сахно Н.В., 2024



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/legalcode>

Ключевые слова: *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, рана лошади, антибиотики, противогрибковые препараты







Заявление о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Коммерческий препарат Фарнезол (Sigma-Adrich, Германия) приобретался на собственные средства Н.П. Сачивкиной, поскольку является единственным очищенным препаратом без дополнительных примесей.

Вклад авторов: Н.П. Сачивкина и Д.В. Кондратьева придумали идею и дизайн исследования; О.В. Нечет и И.С. Гашимова осуществляли сбор и обработку материалов, выполняли анализ полученных данных; Н.П. Сачивкина и Н.В. Сахно написали текст статьи. Все авторы ознакомлены с окончательной версией статьи и одобрили ее.

История статьи: поступила в редакцию 17 апреля 2024 г., принята к публикации 8 мая 2024 г.

Для цитирования: Сачивкина Н.П., Нечет О.В., Гашимова И.С., Кондратьева Д.В., Сахно Н.В. Действие фарнезола на чувствительность микроорганизмов из бактериально-грибковой биопленки к антимикробным средствам *in vitro* // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Агрономия и животноводство. 2024. Т. 19. № 2. С. 370—382. doi: 10.22363/2312-797X-2024-19-2-370-382


The effect of Farnesol on sensitivity of microorganisms from bacterial-fungal biofilm to antimicrobial agents *in vitro*

Nadezhda P. Sachivkina¹  , Oksana V. Nechet¹ , Iman S. Gashimova¹ ,
Diana V. Kondrateva² , Nikolay V. Sakhno³ 

¹RUDN University, Moscow, Russian Federation

²Private equine veterinarian in Moscow and Moscow region, Moscow, Russian Federation

³Orel State Agrarian University named after N.V. Parakhin, Orel, Russian Federation

 sachivkina@yandex.ru

Abstract. Two microorganisms — *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* isolated from a mixed bacterial-fungal biofilm of horse wound were studied. Resistance profile of these clinical strains to antimicrobial agents was determined using standard disc diffusion method on solid nutrient medium in the laboratory. Next, Farnesol was added to the disks at concentrations of 12.5...200 $\mu\text{M}/\text{ml}$ (experiment) or physiologic saline solution (control). The experiments showed that in most cases addition of Farnesol increased sensitivity of microorganisms to antimicrobial drugs, and there were no cases of a negative effect of Farnesol on sensitivity. Moreover, the best results of synergism were observed in combination with antifungal drugs rather than with antibacterial drugs. There were also unique indicators: sensitivity of *C. albicans* to Nystatin and Miconazole doubled after the addition of Farnesol at a concentration of 25...200 $\mu\text{M}/\text{ml}$. Furthermore, it was proved that the clinical strain of *S. aureus* was completely resistant to penicillin. And sensitivity appeared after the addition of Farnesol. A similar situation was with the *Candida* strain: resistance to Amphotericin B was initially observed, and in combination with Farnesol, this drug began to work even in small concentrations. *In vivo* data indicate that Farnesol has an adjuvant effect in combination with most antibiotics and/or antifungal drugs.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, horse wound, Farnesol, antibiotics, antifungal drugs.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest. The commercial drug Farnesol (Sigma-Adrich, Germany) was purchased by Sachivkina N.P. since it is the only purified drug without additional impurities.

Authors contribution. Sachivkina N.P. and Kondrateva D.V. developed and designed the experiments; Nechet O.V. and Gashimova I.S. collected and analyzed the data; Sakhno N.V. wrote the paper.

Article history: Received: 17 April 2024. Accepted: 8 May 2024.

For citation: Sachivkina NP, Nechet OV, Gashimova IS, Kondrateva DV, Sakhno NV. The effect of Farnesol on sensitivity of microorganisms from bacterial-fungal biofilm to antimicrobial agents *in vitro*. *RUDN Journal of Agronomy and Animal Industries*. 2024;19(2):370–382. doi: 10.22363/2312-797X-2024-19-2-370-382

Введение

В научной литературе пристальное внимание уделяется изучению лекарственных средств растительного происхождения и возможности их использования для терапии инфекционных заболеваний [1, 2]. Впервые о фарнезоле в микробиологии заговорили в 2001 г. [3]. Оказалось, что этот сесквитерпен с алифатической углеродной цепью является одной из молекул кворума дрожжеподобных грибов (ДПГ) *Candida albicans* — важного патогена человека и животных. Фарнезол способен блокировать трубкообразование у этих грибов и развитие их биопленок [4]. Позже появились сообщения об антигрибковых свойствах фарнезола по отношению к плесневым грибам *Aspergillus nidulans* и *Aspergillus fumigatus* [5, 6]. В следствии этих новостей возобновился интерес к фарнезолу и родственным ему молекулам, например, 2,3-дигидрофарнезолу, как потенциальным новым противогрибковым препаратам. Например, Дж. Браш с соавт. в 2014 г. подробно описали их эффективность против дерматофитов [7], а А. Катрагко в 2015 г. продемонстрировал их синергетическую эффективность с флуконазолом, амфотерицином В и микафунгином в биопленках *C. albicans* [8]. В 2020 г. Ф. Нэджи с соавт. сообщили, что фарнезол подавляет рост и способность *Candida auris* образовывать биопленки [9]. В 2022 г. Дж. Деккерова и др. подтвердили синергетический эффект фарнезола с флуконазолом на модели *C. auris* [10]. А в 2023 г. Ф. Никуманэш с соавт. подтвердили синергизм между фарнезолом с флуконазолом или итраконазолом, в результате чего восстанавливалась исходная чувствительность устойчивых к азолу *C. albicans* и *C. parapsilosis* [11].

Но фокусироваться только на биопленках грибов было бы неправильно, так как чаще всего в организме биопленки состоят из смешанных видов микробов. Например, кандиды очень часто в качестве партнера выбирают стафилококков [12]. Их совместная работа обычно является показателем неблагоприятного исхода. Особенно восприимчивы к полимикробным биопленкам пациенты с ослабленным иммунитетом. Логично, что в 2006 г. появилась работа [13], подтверждающая антибактериальное действие фарнезола по отношению к золотистому стафилококку. Но не это самое главное. Ведь антибактериальные свойства фарнезола как компонента растительного происхождения давно известны фармацевтической промышленности и активно используются в косметологической продукции. Главное, что было доказано в этой работе, что фарнезол повышал чувствительность *S. aureus* к противомикробным препаратам. Например, резистентные штаммы стафилококков к гентамицину становились чувствительными к нему при добавлении фарнезола в концентрации 150 мкМ. А противомикробный эффект всех антибиотиков, к кото-

рым штаммы были и так чувствительны, увеличивался в несколько раз. Эффект синергизма фарнезола и гентамицина повторился и на стафилококковых биопленках. Комбинированный эффект гентамицина в дозе, в 2,5 раза превышающей минимальную подавляющую концентрацию, и фарнезола в концентрации 100 μM позволил снизить бактериальные популяции более, чем в 2 раза [13]. Однако эти исследования проводились с применением однократной дозы фарнезола и гентамицина на 24-часовых сформированных биопленках. Учитывая тот факт, что обычное лечение большинства биопленочных инфекций заключается в пролонгированном приеме или введении антибиотиков в течение нескольких дней или даже недель, фарнезол может демонстрировать еще более высокую эффективность *in vivo*.

Механизм действия фарнезола на *Staphylococcus aureus* был раскрыт японскими учеными в 2016 г. Они исследовали действие фарнезола 100 μM на цитоплазматическую мембрану бактериальных клеток. Концентрация ионов калия в живой бактериальной клетке выше, чем вне клетки. А концентрация ионов натрия, наоборот, снаружи клетки выше, чем внутри. Изменения концентрации ионов калия и натрия в бактериальной суспензии наблюдались при добавлении фарнезола. Концентрация ионов калия повышалась, а концентрация ионов натрия снижалась. Их различия были статистически значимыми ($p < 0,05$). Эти результаты показали, что ионы калия, существующие в бактериальной клетке, вытекали наружу, а ионы натрия, находящиеся снаружи, текли внутрь клетки. Это означает, что бактериальная цитоплазматическая мембрана была повреждена и потеряла свой гомеостаз. Соответственно, фарнезол проникает в цитоплазматическую мембрану клеток *S. aureus* и вызывает ее полное или частичное разрушение. Этот факт был подтвержден обратным опытом: эффекты фарнезола уменьшались при добавлении каротиноида, который был стабилизирующим «заживляющим» препаратом для билипидного слоя [14].

Но самое интересное явление было раскрыто М.Дж. Варго с соавт. в 2006 г. Их исследования были направлены на выяснение потенциальной роли фарнезола как молекулы кворума в управлении динамикой между *C. albicans* и *S. aureus* внутри смешанной биопленки. Было доказано, что фарнезол вырабатывается кандидами не сразу, не в моменте адгезии и прикрепления, а с возрастом биопленки. Максимальные концентрации фарнезола составляли 40 μM в зрелой 24–48 часовой биопленке, и при дальнейшем культивировании его концентрация не повышалась [15].

Эти результаты очень важны, поскольку в следующем исследовании Е.Ф. Конг с соавт. в 2017 г. доказал обратный эффект фарнезола по отношению к *S. aureus*. А именно: добавление 30...40 μM фарнезола повышало устойчивость стафилококка к ванкомицину. Опыт заключался в следующем: питательную среду, в которой несколько дней культивировали биопленки *C. albicans*, слили, профильтровали от клеток грибов, замерили концентрацию фарнезола. Она составляла 40 μM . В эту отработанную среду добавили стафилококк и после суток инкубации измерили стандартным диско-диффузионным методом его чувствительность к противомикробным препаратам. В качестве контроля использовали стафилококк, который культивировали в среде после мутантного штамма кандид, который не способен

вырабатывать фарнезол. Значит, в небольших концентрациях — до 40 μM , фарнезол не усиливает действие антибиотиков, а наоборот, усиливает резистентность патогена. При искусственном добавлении в питательную среду фарнезола (50 μM и выше) наблюдалось большая восприимчивость *S. aureus* к антибиотикам и частичная гибель бактерий. Тем самым ученые доказали доза-зависимый эффект фарнезола [16]. Поскольку ванкомицин является одним из немногих антибиотиков, которые по-прежнему эффективны против метициллин-резистентного *S. aureus* (MRSA), демонстрация повышенной толерантности *S. aureus* к этому препарату, опосредованной его взаимодействием с *C. albicans*, имеет важное клиническое значение, поскольку эти виды часто изолируются вместе в смешанных биопленках.

Цель исследования — выделить 2 патогена из смешанной бактериально-грибковой биопленки раны лошади и *in vitro* определить эффективность применения фарнезола в разных концентрациях на восприимчивость микроорганизмов к антимикробным препаратам.

Материалы и методы исследования

Для наших экспериментов использовали *S. aureus* и *C. albicans*, полученные клинически из открытой раны лошади (рис. 1, а). Работа с микроорганизмами не требовала разрешения этического комитета, поскольку проходила только в лаборатории *in vitro*. Рану лошади фарнезолом не обрабатывали. Предварительную идентификацию штаммов проводили по морфологии и результатам микроскопии колоний, выращенных на маннитол-солевом агаре для стафилококков с окраской по Граму и агаре Сабуро для ДППГ (HiMedia, Индия) (рис. 1, б, в).

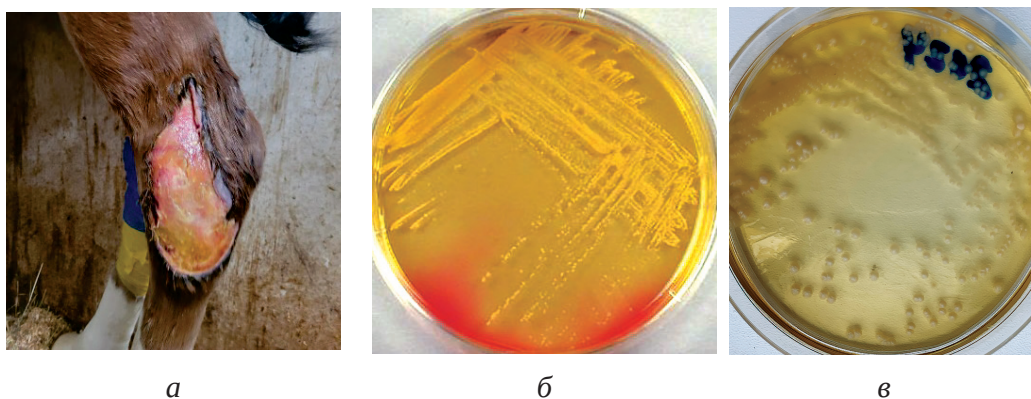


Рис. 1. Этапы выделения микроорганизмов: а — клиническая картина раны лошади, от которой были получены штаммы; б — рост *S. aureus* на маннитол-солевом агаре; в — *C. albicans* на агаре Сабуро

Источник: фото Н.П. Сачивкиной, О.В. Нечет, И.С. Гашимовой, Д.В. Кондратьевой, Н.В. Сахно

Fig. 1. Stages of microorganism isolation: а — Clinical picture of the horse's wound from which the strains were obtained; б — growth of *S. aureus* on mannitol-salt agar; в — *C. albicans* on Sabouraud agar

Source: photo taken by N.P. Sachivkina, O.V. Nechet, I.S. Gashimova, D.V. Kondrateva, N.V. Sakhno

S. aureus идентифицировали с помощью биохимической тест-системы ari® (Bio Mérieux, Франция) и программного обеспечения API WEB [12]. *C. albicans* идентифицировали на хромогенной среде HiCrome Candida Agar (Himedia, Индия) по цвету зеленых колоний [17]. Затем идентификацию двух штаммов подтвердили с применением матрично-активируемой технологии лазерной десорбции/ионизации Bruker Daltonik MALDI Biotyper (Bruker Daltonik Inc., США). После учета значений показателя X, который колебался от 0 до 3, успешными считали значения от 2 до 3. Штаммы для дальнейших исследований хранили в пробирках с триптиказо-соевым бульоном (TSB, Merck, Германия) с добавлением 30 % стерильного глицерина (Sigma, США) при –18 °С.

Тестирование на устойчивость к антибиотикам проводили с антибактериальными препаратами (табл. 1) по стандартному диско-диффузионному методу на мясо-пептонном агаре (рис. 2).

Таблица 1

Антибиотики и антимикотики, используемые в эксперименте

Сокращения	Название антибиотика/противогрибкового препарата	Группа препаратов	Нагрузка на диск, мкг
FOX	Цефокситин	Цефалоспорин 2-го поколения	10
PNG	Пенициллин/бензилпенициллин	Пенициллины	1
LIN	Линкомицин	Линкозамиды	10
SXT	Триметоприм/сульфаметоксазол	Сульфонамиды-триметоприм	25
ERY	Эритромицин	Макролиды	15
CMN	Клиндамицин	Линкозамиды	2
NXN	Норфлоксацин	Фторхинолон	15
NS	Нистатин	Полиеновый макролид	50
AP	Амфотерицин-Б	Полиеновый макролид	10
KT	Кетоконазол	Производное имидазола	10
CC	Клотримазол	Производное имидазола	10
VOR	Вориконазол	Триазол	10
FU	Флуконазол	Триазол	25
MIC	Миконазол	Производное имидазола	10
IT	Итраконазол	Производное триазола	10

Table 1

Antibiotics and antimycotics used in the experiment

Abbreviations	Name of antibiotic/antifungal dru	Group of drugs	Disk load, µg
FOX	Cefoxitin	Cephalosporin of 2nd generation	10
PNG	Penicillin/benzylpenicillin	Penicillins	1
LIN	Lincomycin	Lincosamides	10
SXT	Trimethoprim/sulfamethoxazole	Sulfonamides-trimethoprim	25

End of Table 1

Abbreviations	Name of antibiotic/antifungal dru	Group of drugs	Disk load, µg
ERY	Erythromycin	Macrolides	15
CMN	Clindamycin	Lincosamides	2
NXN	Norfloxacin	Fluoroquinolone	15
NS	Nystatin	Polyene macrolide	50
AP	Amphotericin-B	Polyene macrolide	10
KT	Ketoconazole	Imidazole derivative	10
CC	Clotrimazole	Imidazole derivative	10
VOR	Voriconazole	Triazole	10
FU	Fluconazole	Triazole	25
MIC	Miconazole	Imidazole derivative	10
IT	Itraconazole	Triazole derivative	10

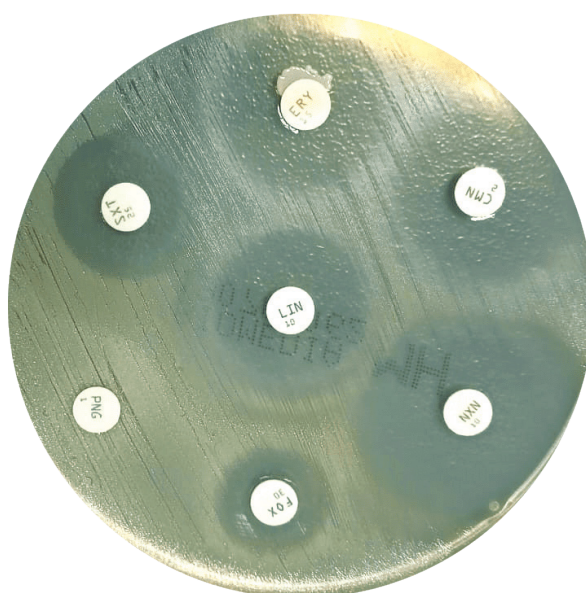


Рис. 2. Чувствительность штамма *Staphylococcus aureus* к антибиотикам

Источник: фото Н.П. Сачивкиной, О.В. Нечет, И.С. Гашимовой, Д.В. Кондратьевой, Н.В. Сахно

Fig. 2. Antibiotic sensitivity of *Staphylococcus aureus* strain

Source: photo taken by N.P. Sachivkina, O.V. Nechet, I.S. Gashimova, D.V. Kondrateva, N.V. Sakhno

Для определения изменения чувствительности *S. aureus* и *C. albicans* к лечебным препаратам с помощью фарнезола использовали коммерческий препарат с аналогичным названием (Sigma-Adrich, Германия), молярная масса равна 222,37 г/моль, масса вещества — 0,886 г/мл, количество вещества в молях — $0,886 : 222,37 = 0,004$ М/мл или 4000 мкМ/мл [18, 19]. Суточную культуру микроорганизмов наносили на чашки Петри газоном, затем накладывали диски с антибиотиком, плюс 25 мкл физиологического раствора (ФР) или пять различных концентраций Фарнезола (12,5...200 мкМ/мл).

Мы решили сосредоточиться на этих 5 концентрациях, поскольку, согласно нашему предыдущему опыту со штаммами *Candida* и *Malassezia*, более высокие разведения Фарнезола были не очень эффективны [20, 21]. Эксперименты с дисками проводили в трех повторностях. Данные в табл. 2 и 3 по чувствительности к антимикробным препаратам приведены без указания отклонения для лучшего визуального восприятия. Отклонение не превышало 0,4. Результаты исследований обрабатывали общепринятыми статистическими методами и считали достоверными при $p \leq 0,05$.

Результаты исследования и обсуждение

Результаты эксперимента по изменению чувствительности двух микроорганизмов к антимикробным препаратам (АБ — антибиотик; АМ — антимикотик) при добавлении к последним Фарнезола приведены в табл. 2 и 3.

Таблица 2

Чувствительность штамма *S. aureus* к антибиотикам и влияние пяти концентраций Фарнезола на эти результаты

Сокращенное название АБ	Время инкубации, ч	Только АБ	АБ + ФР (контроль)	АБ + 12,5 Фар	АБ + 25 Фар	АБ + 50 Фар	АБ + 100 Фар	АБ + 200 Фар
FOX	24	12	12	13 (+ 8,3 %)	13 (+ 8,3 %)	13 (+ 8,3 %)	15 (+ 25,0 %)	16 (+ 33,3 %)
	48	12	12	13 (+ 8,3 %)	13 (+ 8,3 %)	14 (+ 16,7 %)	16 (+ 33,3 %)	16 (+ 33,3 %)
PNG	24	0	0	10	10	11	12	14
	48	0	0	10	10	11	12	15
LIN	24	16	16	16	17 (+ 6,3 %)	17 (+ 6,3 %)	18 (+ 12,5 %)	19 (+ 18,8 %)
	48	15	16	16	17 (+ 6,3 %)	17 (+ 6,3 %)	18 (+ 12,5 %)	20 (+ 25,0 %)
SXT	24	16	16	17	18 (+ 12,5 %)	18 (+ 12,5 %)	20 (+ 25,0 %)	20 (+ 25,0 %)
	48	15	16	17	18 (+ 12,5 %)	19 (+ 18,8 %)	20 (+ 25,0 %)	20 (+ 25,0 %)
ERY	24	17	17	17	17	17	17	17
	48	16	17	17	17	17	17	17
CMN	24	17	17	18 (+ 5,9 %)	19 (+ 11,8 %)	19 (+ 11,8 %)	20 (+ 17,6 %)	22 (+ 29,4 %)
	48	17	17	18 (+ 5,9 %)	18 (+ 5,9 %)	19 (+ 11,8 %)	20 (+ 17,6 %)	22 (+ 29,4 %)
NXN	24	23	23	23	24 (+ 4,3 %)	24 (+ 4,3 %)	25 (+ 8,7 %)	27 (+ 17,4 %)
	48	23	23	23	23	24 (+ 4,3 %)	26 (+ 13,0 %)	27 (+ 17,4 %)

Примечания.

- Фарнезол увеличивает зону задержки роста.
- Фарнезол не влияет на зону задержки роста.

В скобках указаны проценты, на которые увеличивается чувствительность к антибиотикам.

Table 2

Antibiotic sensitivity of *S. aureus* strain and the effect of Farnesol five concentrations on these results

Antibiotic name	Incubation time, h	Antibiotic	Antibiotic + PSS (control)	Antibiotic + 12.5 Far	Antibiotic + 25 Far	Antibiotic + 50 Far	Antibiotic + 100 Far	Antibiotic + 200 Far
FOX	24h	12	12	13 (+ 8.3 %)	13 (+ 8.3 %)	13 (+ 8.3 %)	15 (+ 25.0 %)	16 (+ 33.3 %)
	48h	12	12	13 (+ 8.3 %)	13 (+ 8.3 %)	14 (+ 16.7 %)	16 (+ 33.3 %)	16 (+ 33.3 %)
PNG	24h	0	0	10	10	11	12	14
	48h	0	0	10	10	11	12	15
LIN	24h	16	16	16	17 (+ 6.3 %)	17 (+ 6.3 %)	18 (+ 12.5 %)	19 (+ 18.8 %)
	48h	15	16	16	17 (+ 6.3 %)	17 (+ 6.3 %)	18 (+ 12.5 %)	20 (+ 25.0 %)
SXT	24h	16	16	17	18 (+ 12.5 %)	18 (+ 12.5 %)	20 (+ 25.0 %)	20 (+ 25.0 %)
	48h	15	16	17	18 (+ 12.5 %)	19 (+ 18.8 %)	20 (+ 25.0 %)	20 (+ 25.0 %)
ERY	24h	17	17	17	17	17	17	17
	48h	16	17	17	17	17	17	17
CMN	24h	17	17	18 (+ 5.9 %)	19 (+ 11.8 %)	19 (+ 11.8 %)	20 (+ 17.6 %)	22 (+ 29.4 %)
	48h	17	17	18 (+ 5.9 %)	18 (+ 5.9 %)	19 (+ 11.8 %)	20 (+ 17.6 %)	22 (+ 29.4 %)
NXN	24h	23	23	23	24 (+ 4.3 %)	24 (+ 4.3 %)	25 (+ 8.7 %)	27 (+ 17.4 %)
	48h	23	23	23	23	24 (+ 4.3 %)	26 (+ 13.0 %)	27 (+ 17.4 %)

Note.

	– Farnesol increases the inhibition zone.
	– Farnesol does not affect the inhibition zone.

The percentages by which antibiotic sensitivity increases are indicated in parentheses.

Таблица 3

Чувствительность штамма *C. albicans* к антимикотикам и влияние пяти концентраций Фарнезола на эти результаты

Сокращенное название АМ	Время инкубации	Только АМ	АМ+ ФР (контроль)	АМ+ 12.5 Фар	АМ + 25 Фар	АМ + 50 Фар	АМ + 100 Фар	АМ+ 200 Фар
NS	24h	10	10	17 (+ 70,0 %)	20 (+ 100,0 %)	21 (+ 110,0 %)	21 (+ 110,0 %)	21 (+ 110,0 %)
	48h	10	10	16 (+ 60,0 %)	16 (+ 60,0 %)	18 (+ 80,0 %)	18 (+ 80,0 %)	18 (+ 80,0 %)
AP	24h	0	0	8	10	11	11	11
	48h	0	0	6	10	11	11	11
КТ	24h	13	13	13	13	15 (+ 15,4 %)	15 (+ 15,4 %)	16 (+ 23,1 %)
	48h	12	13	13	13	14 (+ 7,7 %)	15 (+ 15,4 %)	16 (+ 23,1 %)
СС	24h	14	14	14	14	14	14	15 (+ 7,1 %)
	48h	13	13	13	13	13	13	15 (+ 15,4 %)

Окончание табл. 3

Сокращенное название АМ	Время инкубации	Только АМ	АМ+ ФР (контроль)	АМ + 12,5 Фар	АМ + 25 Фар	АМ + 50 Фар	АМ + 100 Фар	АМ + 200 Фар
VOR	24h	17	17	18 (+ 5,9 %)	19 (+ 11,8 %)	19 (+ 11,8 %)	20 (+ 17,6 %)	20 (+ 17,6 %)
	48h	16	17	18 (+ 5,9 %)	18 (+ 5,9 %)	19 (+ 11,8 %)	20 (+ 17,6 %)	20 (+ 17,6 %)
FU	24h	8	8	8	10 (+ 25,0 %)	11 (+ 37,5 %)	11 (+ 37,5 %)	11 (+ 37,5 %)
	48h	6	6	6	10 (+ 66,7 %)	11 (+ 83,3 %)	11 (+ 83,3 %)	11 (+ 83,3 %)
MIC	24h	11	11	18 (+ 63,7 %)	19 (+ 72,7 %)	19 (+ 72,7 %)	20 (+ 81,8 %)	22 (+ 100,0 %)
	48h	11	11	18 (+ 63,7 %)	18 (+ 63,7 %)	19 (+ 72,7 %)	20 (+ 81,8 %)	22 (+ 100,0 %)
IT	24h	13	13	13	14 (+ 7,7 %)	14 (+ 7,7 %)	14 (+ 7,7 %)	15 (+ 15,4 %)
	48h	13	13	13	13	14 (+ 7,7 %)	14 (+ 7,7 %)	15 (+ 15,4 %)

Примечания.

- Фарнезол увеличивает зону задержки роста
- Фарнезол не влияет на зону задержки роста

В скобках указаны проценты, на которые увеличивается чувствительность к антибиотикам.

Table 3

Sensitivity of the *C. albicans* strain to antimycotics and the effect of five concentrations of Farnesol on these results

Anti-mycotic name	Incubation time, h	Antimycotic	Antimycotic + PSS (control)	Antimycotic + 12.5 Far	Antimycotic + 25 Far	Antimycotic + 50 Far	Antimycotic + 100 Far	Antimycotic + 200 Far
NS	24h	10	10	17 (+ 70.0 %)	20 (+ 100.0 %)	21 (+ 110.0 %)	21 (+ 110.0 %)	21 (+ 110.0 %)
	48h	10	10	16 (+ 60.0 %)	16 (+ 60.0 %)	18 (+ 80.0 %)	18 (+ 80.0 %)	18 (+ 80.0 %)
AP	24h	0	0	8	10	11	11	11
	48h	0	0	6	10	11	11	11
KT	24h	13	13	13	13	15 (+ 15.4 %)	15 (+ 15.4 %)	16 (+ 23.1 %)
	48h	12	13	13	13	14 (+ 7.7 %)	15 (+ 15.4 %)	16 (+ 23.1 %)
CC	24h	14	14	14	14	14	14	15 (+ 7.1 %)
	48h	13	13	13	13	13	13	15 (+ 15.4 %)
VOR	24h	17	17	18 (+ 5.9 %)	19 (+ 11.8 %)	19 (+ 11.8 %)	20 (+ 17.6 %)	20 (+ 17.6 %)
	48h	16	17	18 (+ 5.9 %)	18 (+ 5.9 %)	19 (+ 11.8 %)	20 (+ 17.6 %)	20 (+ 17.6 %)
FU	24h	8	8	8	10 (+ 25.0 %)	11 (+ 37.5 %)	11 (+ 37.5 %)	11 (+ 37.5 %)
	48h	6	6	6	10 (+ 66.7 %)	11 (+ 83.3 %)	11 (+ 83.3 %)	11 (+ 83.3 %)
MIC	24h	11	11	18 (+ 63.7 %)	19 (+ 72.7 %)	19 (+ 72.7 %)	20 (+ 81.8 %)	22 (+ 100.0 %)
	48h	11	11	18 (+ 63.7 %)	18 (+ 63.7 %)	19 (+ 72.7 %)	20 (+ 81.8 %)	22 (+ 100.0 %)
IT	24h	13	13	13	14 (+ 7.7 %)	14 (+ 7.7 %)	14 (+ 7.7 %)	15 (+ 15.4 %)
	48h	13	13	13	13	14 (+ 7.7 %)	14 (+ 7.7 %)	15 (+ 15.4 %)

Note.

- Farnesol increases the inhibition zone.
- Farnesol does not affect the inhibition zone.

The percentages by which sensitivity to antimycotics increases are indicated in parentheses.

Из табл. 2 следует, что клинический штамм золотистого стафилококка был полностью резистентен к пенициллину, а при добавлении Фарнезола чувствительность появилась. Аналогичная ситуация прослеживается и со штаммом кандиды: изначально мы наблюдали резистентность к Амфотерицину В, а с Фарнезолом даже в небольших концентрациях этот препарат стал работать.

Однако надо обратить внимание и на наличие результатов с некоторыми препаратами, где Фарнезол никак не повлиял на чувствительность: это у *S. aureus* с Эритромицином и у *C. albicans* с Клотримазолом. Последний препарат все же «сдался» при добавлении Фарнезола в наибольшей концентрации 200 мкМ/мл.

Таким образом, в большинстве случаев при добавлении Фарнезола регистрируется увеличение чувствительности микроорганизмов к препаратам в опыте по сравнению с контролем. Причем в процентном соотношении лучшие результаты синергизма отмечены в сочетании с противогрибковыми препаратами, нежели с антибактериальными. Есть и уникальный показатель (см. табл. 3): чувствительность *C. albicans* к Нистатину и Миконазолу выросла вдвое при добавлении Фарнезола в концентрации 25...200 мкМ/мл. Помимо этого, наблюдается интересная тенденция: через 48 часов инкубации зона задержки роста стафилококка вокруг дисков чуть увеличивается за счет действия Фарнезола по сравнению с диаметром через 24 часа инкубации. А у грибов, наоборот, зона задержки роста при увеличении времени инкубации с 24 до 48 часов чуть уменьшается или остается такой же.

Заключение

Доказано эффективное симбиотическое действие Фарнезола с антимикробными препаратами по отношению к патогенным или условно-патогенным микроорганизмам. Таким образом, местное применение Фарнезола при микст-инфекции окажет воздействие сразу на несколько микроорганизмов в смешанной биопленке. Данные *in vivo* свидетельствуют о том, что в сочетании с большинством антибиотиков и/или противогрибковых препаратов Фарнезол имеет адьювантный эффект.

Библиографический список / References

1. Sachivkina N, Karamyan A, Semenova V, Ignatiev A, Abdurasulov A, Muratova R, et al. The Effects of *Angelica ternata* Extract from Kyrgyzstan on the Formation of *Candida albicans* ATCC 10231 Biofilms. *Appl Sci*. 2023;13(21):12042. doi: 10.3390/app132112042
2. Kumar R, Das J, Rode S, Kaur H, Shah V, Verma P, et al. Farnesol dehydrogenase from *Helicoverpa armigera* (Hübner) as a promising target for pest management: molecular docking, in vitro and insect bioassay studies using geranylgeraniol as potential inhibitor. *3 Biotech*. 2023;13(6):175. doi: 10.1007/s13205-023-03598-9
3. Hornby JM, Jensen EC, Lisec AD, Tasto JJ, Jahnke B, Shoemaker R, et al. Quorum sensing in the dimorphic fungus *Candida albicans* is mediated by farnesol. *Appl Environ Microbiol*. 2001;67(7):2982–2992. doi: 10.1128/AEM.67.7.2982-2992.2001
4. Ramage G, Saville SP, Wickes BL, Lopez-Ribot JL. Inhibition of *Candida albicans* biofilm formation by farnesol, a quorum-sensing molecule. *Appl Environ Microbiol*. 2002;68(11):5459–5463. doi: 10.1128/aem.68.11.5459-5463.2002
5. Semighini CP, Hornby JM, Dumitru R, Nickerson KW, Harris SD. Farnesol-induced apoptosis in *Aspergillus nidulans* reveals a possible mechanism for antagonistic interactions between fungi. *Mol Microbiol*. 2006;59(3):753–764. doi: 10.1111/j.1365-2958.2005.04976.x

6. Shirtliff ME, Krom BP, Meijering RA, Peters BM, Zhu J, Scheper MA, et al. Farnesol-induced apoptosis in *Candida albicans*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009;53(6):2392–2401. doi: 10.1128/AAC.01551-08
7. Brasch J, Horter F, Fritsch D, Beck-Jendroschek V, Tröger A, Francke W. Acyclic sesquiterpenes released by *Candida albicans* inhibit growth of dermatophytes. *Med Mycol*. 2014;52(1):46–55. doi: 10.3109/13693786.2013.814174
8. Katragkou A, McCarthy M, Alexander EL, Antachopoulos C, Meletiadis J, Jabra-Rizk MA, et al. In vitro interactions between farnesol and fluconazole, amphotericin B, or microfungin against *Candida albicans* biofilms. *J Antimicrob Chemother*. 2015;70(2):470–478. doi: 10.1093/jac/dku374
9. Nagy F, Vitalis E, Jakab A, Borman AM, Forgacs L, Toth Z, et al. In vitro and in vivo effect of exogenous farnesol exposure against *Candida auris*. *Front Microbiol*. 2020;11:957. doi: 10.3389/fmicb.2020.00957
10. Dekkerova J, Cernakova L, Kendra S, Borghi E, Ottaviano E, Willinger B, et al. Farnesol boosts the antifungal effect of fluconazole and modulates resistance in *Candida auris* through regulation of the CDR1 and ERG11 genes. *J Fungi*. 2022;8(8):783. doi: 10.3390/jof8080783
11. Nikoomanesh F, Falahatinejad M, Cernakova L, dos Santos ALS, Mohammadi SR, Rafiee M, et al. Combination of farnesol with common antifungal drugs: inhibitory effect against *Candida* species isolated from women with RVVC. *Medicina*. 2023;59(4):743. doi: 10.3390/medicina59040743
12. Lenchenko E, Sachivkina N, Petrukhina O, Petukhov N, Zharov A, Zhabo N, Avdonina M. Anatomical, pathological, and histological features of experimental respiratory infection of birds by biofilm-forming bacteria *Staphylococcus aureus*. *Veterinary World*. 2024;17(3):612–619. doi: 10.14202/vetworld.2024.612-619
13. Jabra-Rizk MA, Meiller TF, James CE, Shirtliff ME. Effect of farnesol on *Staphylococcus aureus* biofilm formation and antimicrobial susceptibility. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50(4):1463–1469. doi: 10.1128/AAC.50.4.1463-1469.2006
14. Inoue Y, Togashi N, Hamashima H. Farnesol-induced disruption of the *Staphylococcus aureus* cytoplasmic membrane. *Biol Pharm Bull*. 2016; 39(5):653–656. doi: 10.1248/bpb.b15-00416
15. Wargo MJ, Hogan DA. Fungal-bacterial interactions: a mixed bag of mingling microbes. *Curr Opin Microbiol*. 2006;9(4):359–364. doi: 10.1016/j.mib.2006.06.001
16. Kong EF, Tsui C, Kuchariková S, Van Dijck P, Jabra-Rizk MA. Modulation of *Staphylococcus aureus* response to antimicrobials by the *Candida albicans* quorum sensing molecule farnesol. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61(12):e01573–17. doi: 10.1128/AAC.01573-17
17. Boone CHT, Parker KA, Gutzmann DJ, Atkin AL, Nickerson KW. Farnesol as an antifungal agent: comparisons among MTL α and MTL α haploid and diploid *Candida albicans* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Front Physiol*. 2023;14:1207567. doi: 10.3389/fphys.2023.1207567
18. Erdal B, Baylan B, Batar B, Öztürk A, Topçu B. Investigation of the Effect of Farnesol on Biofilm Formation by *Candida albicans* and *Candida parapsilosis* complex isolates. *Mikrobiyol Bul*. 2024;58(1):49–62. doi: 10.5578/mb.20249905r
19. Li T, Liu ZH, Fan LY, Zhang Z, Bai HH, Wang FJ, et al. The fungal quorum-sensing molecule, farnesol, regulates the immune response of vaginal epithelial cells against *Candida albicans*. *BMC Microbiol*. 2023;23(1):251. doi: 10.1186/s12866-023-02987-7
20. Olabode IR, Sachivkina N, Karamyan A, Mannapova R, Kuznetsova O, Bobunova A, et al. In vitro activity of farnesol against *Malassezia pachydermatis* isolates from otitis externa cases in dogs. *Animals*. 2023;13(7):1259. doi: 10.3390/ani13071259
21. Sachivkina N, Senyagin A, Podoprigora I, Vasilieva E, Kuznetsova O, Karamyan A, et al. Enhancement of the antifungal activity of some antimycotics by farnesol and reduction of *Candida albicans* pathogenicity in a quail model experiment. *Veterinary World*. 2022;15(4):848–854. doi: 10.14202/vetworld.2022.848-854

Об авторах:

Сачивкина Надежда Павловна — кандидат биологических наук, доцент департамента ветеринарной медицины, Российский университет дружбы народов, Российская Федерация, 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 8, корп. 2; e-mail: sachivkina@yandex.ru

ORCID: 0000-0003-1100-929X SPIN-код: 1172–3163

Нечет Оксана Викторовна — руководитель Лабораторного центра «Биохим», заместитель директора НОЦ «Нанотехнологии» института биохимической технологии и нанотехнологии, Российский университет дружбы народов, Российская Федерация, 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 10, корп. 2; e-mail: nechet-ov@rudn.ru

ORCID: 0009-0002-3855-5653

Гашимова Иман Солтановна — магистрант института биохимической технологии и нанотехнологии, Российский университет дружбы народов, Российская Федерация, 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 10, корп. 2; e-mail: 1032220115@rudn.ru

ORCID: 0009-0004-0645-3980 SPIN-код: 3661–9354

Кондратьева Диана Валерьевна — частный конный ветеринарный врач Москвы и Московской области, основатель мобильного конного госпиталя Moscow Equine Services, Российская Федерация, г. Москва; e-mail: Diakonratieva@gmail.com

ORCID: 0009-0001-4387-8281

Сахно Николай Владимирович — доктор ветеринарных наук, доцент, профессор кафедры эпизоотологии и терапии, Орловский государственный аграрный университет им. Н.В. Парахина, Российская Федерация, 302019, г. Орел, ул. Генерала Родина, д. 69; e-mail: sahnoorelsau@mail.ru

ORCID: 0000-0002-3281-1081 SPIN-код: 5461–3191

About authors:

Sachivkina Nadezhda Pavlovna — Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Department of Veterinary Medicine, RUDN University, 8 Miklukho-Maklaya st., bldg. 2, Moscow, 117198, Russian Federation; e-mail: sachivkina@yandex.ru

ORCID: 0000-0003-1100-929X SPIN-code: 1172–3163

Nechet Oksana Viktorovna — head of the Microbiological Laboratory Center “Biochim”, deputy director of the Research Center “Nanotechnologies” of the Institute of Biochemical Technology and Nanotechnology, RUDN University, 10 Miklukho-Maklaya st., bldg. 2, Moscow, 117198, Russian Federation; e-mail: nechet-ov@rudn.ru

ORCID: 0009-0002-3855-5653

Gashimova Iman Soltanovna — Master student, Institute of Biochemical Technology and Nanotechnology, RUDN University, 10 Miklukho-Maklaya st., bldg. 2, Moscow, 117198, Russian Federation; e-mail: 1032220115@rudn.ru

ORCID: 0009-0004-0645-3980 SPIN-code: 3661–9354

Konratieva Diana Valerievna — private equestrian veterinarian in Moscow and Moscow region, founder of the mobile equestrian hospital Moscow Equine Services, Moscow, Russian Federation; e-mail: Diakonratieva@gmail.com

ORCID: 0009-0001-4387-8281

Sakhno Nikolay Vladimirovich — Doctor of Veterinary Sciences, Associate Professor, Professor, Department of Epizootology and Therapy, Orel State Agrarian University named after N.V. Parakhin, 69 Generala Rodina st., Orel, 302019, Russian Federation; e-mail: sahnoorelsau@mail.ru

ORCID: 0000-0002-3281-1081 SPIN-code: 5461–3191