

Biofilm a fytofarmaka

Vilma Vranová

Farmaceutická fakulta, Veterinární a farmaceutická univerzita, Brno

Akutní infekce močových cest je v dospělé populaci velmi častým onemocněním. Platí zde, že mnohem větší zdravotní potíže než infekce akutní přinášejí chronické a recidivující bakteriální infekce. Tvorba biofilmu je významným faktorem, který umožňuje delší přežívání bakterií a také významně ztěžuje léčbu bakteriálních infekcí. Vzhledem k omezeným možnostem antibakteriální terapie je pochopitelné hledání dalších možností, jak pacientům účinně pomoci. Tyto možnosti již tradičně nabízí fytofarmaka, tedy rostlinné léčivé přípravky. Sdělení se věnuje možnostem registrovaných léčiv rostlinného původu v léčbě akutních infekcí močových cest.

Klíčová slova: *E. coli*, infekce močových cest, biofilm, fytofarmaka.

Biofilm and phytopharmaceuticals

Acute urinary tract infection is a very common disease in the adult population. It holds true that much more significant treatment difficulties are encountered in the case of chronic and recurrent bacterial infections than in acute ones. Biofilm formation is another important factor, allowing prolonged survival of bacteria and, thus, making treatment of bacterial infections more difficult. Given the limited options of antibacterial therapy, other possibilities of helping patients in an effective way are, of course, being sought. These traditionally include the use of phytopharmaceuticals, i.e. herbal medicinal products. The paper deals with the possible use of registered pharmaceutical products of plant origin in treating acute urinary tract infections.

Key words: *E. coli*, urinary tract infection, biofilm, phytopharmaceuticals.

Akutní infekce močových cest je v dospělé populaci velmi častým onemocněním. Onemocnění postihuje častěji ženy, nicméně zánětlivé onemocnění prostaty a močových cest jsou nejčastější urologickou diagnózou i mužů mladších 50 let, ve vyšších věkových skupinách jsou na třetím místě. Platí zde, že mnohem větší zdravotní potíže přinášejí chronické a recidivující bakteriální infekce. Hlavním původcem zánětů močových cest je uropatogenní *Escherichia coli* (UPEC), podle různých zdrojů v 80–90 %; dalšími původci jsou *Staphylococcus saprophyticus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, a dále pak *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter cloacae*, *Streptococcus bovis* a kvasinka *Candida albicans* (1).

Rozvoj infekce UPEC probíhá v následujících fázích: kolonizace močových cest uropatogenní mikroflórou a její průnik do močového měchýře, následuje namnožení planktonické formy bakterií v moči a jejich adherence na povrch epitelu močového měchýře; dále bakterie na sliznici

močového měchýře vytváří biofilm, posléze pronikají do nitra epitelu, kde tvoří intracelulární rezervoáry (Quiescent Intracellular Reservoirs, QIRs); následuje případně kolonizace ledvin s rozvojem zánětu ledvin či pánvičky ledvinové, které mohou vyústit až v septický stav.

K rozvoji infekce močových cest dochází obvykle ascendentní cestou z tzv. uretrálního kompartmentu. Po proniknutí do močového měchýře se planktonické formy UPEC namnoží v moči, většina je jich vyplavena při mikci. Při kolonizaci močového měchýře hraje svou roli velké množství virulencních faktorů, jako jsou povrchové strukturální komponenty, např. lipopolysacharidy, flagella, pili a další adheziny, stejně jako produkováné exotoxiny (2). Stejně jako u mnoha dalších mikroorganismů můžeme u UPEC rozlišit různé typy adhezivních faktorů, jednak konstitutivní, umožňující prostou adhezi, zde např. pili prvního typu, jejichž tvorba je kódovaná fim operonem, které jsou manóza senzitivní, a tzv. P nebo Pap-

pili, kódované pap operonem, které se uplatňují např. při průniku bakterie do urotelu (3).

Biofilm

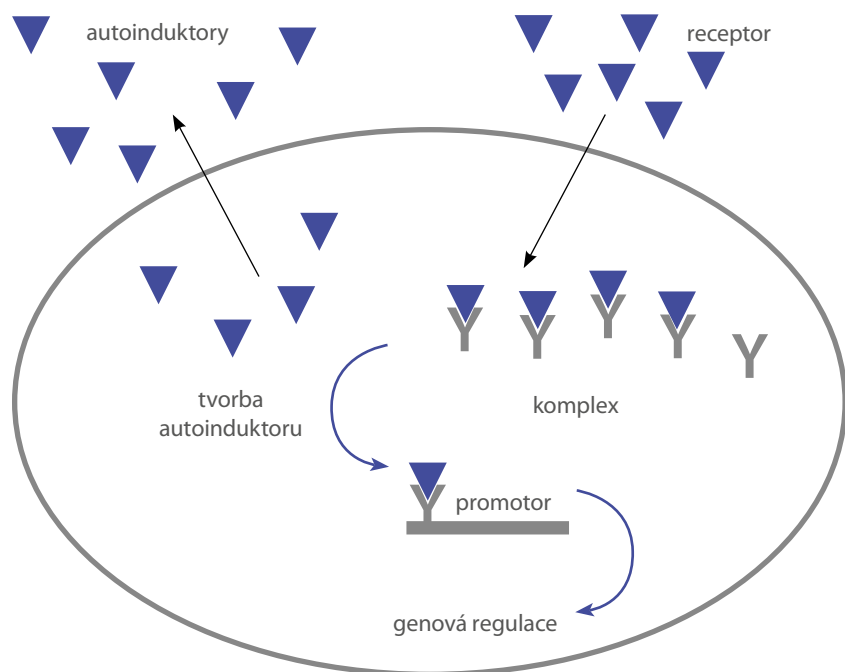
Tvorba biofilmu je významným faktorem, který umožňuje delší přežívání bakterií a také významně ztěžuje léčbu bakteriálních infekcí. Biofilm je společenství buněk obalené v jimi produkováné gelové hmotě, tzv. extracelulární matrix (ECM), kde asi jednu třetinu biofilmu tvoří vlastní bakterie a zbylé dvě třetiny jsou tvořeny ECM. Dá se říci, že biofilm je struktura, lpící na pevném povrchu – ať už je to epitel nebo neživý povrch např. katétru, tvořená bakteriální mikrokolií, která je obklopená extracelulární matrix a propojená vodními kanály, které zajišťují distribuci živin a kyslíku. ECM tak určuje životní podmínky buněk biofilmu, chrání bakterie před vyplavením z organismu, umožňuje intenzivní mezibuněčnou komunikaci a horizontální přenos genů. Laicky se dá biofilm přirovnat k pevnosti, poskytující ochranu a zázemí vojákům, kteří odtud vyráží na



KORESPONDENČNÍ ADRESA AUTORA: PharmDr. MVDr. Vilma Vranová, Ph.D., vranavi@seznam.cz
Farmaceutická fakulta, Veterinární a farmaceutická univerzita v Brně
Palackého tř. 1 946/1, 612 42 Brno

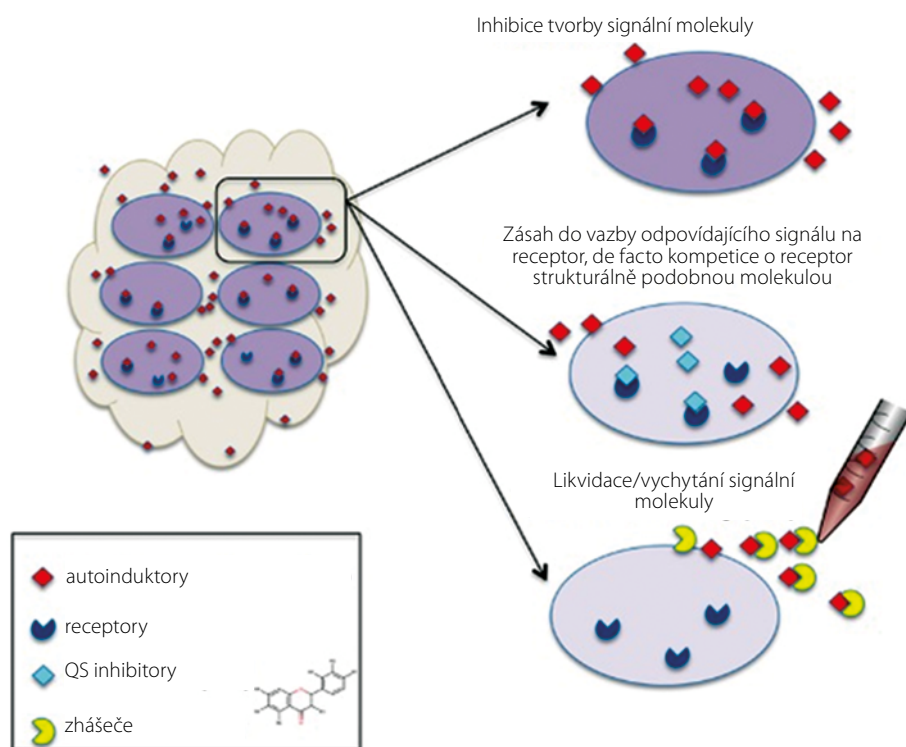
Převzato a upraveno z: Urol. praxi 2020; 21(1): 25–30
Článek přijat redakcí: 10. 12. 2019
Článek přijat k publikaci: 13. 12. 2019

Obr. 1. Mechanismus quorum sensing



Podle: Quorum sensing – the way of bacterial communication [online]. [2018-10-24]. Dostupné z: <https://www.phytogenius.com/en/catphytonics/quorum-sensing-the-way-of-bacterial-communication/>

Obr. 2. Quorum quenching



Inspirováno: Skogman ME, Kanerva S, et al. Flavones as Quorum Sensing Inhibitors Identified by a Newly Optimized Screening Platform Using *Chromobacterium violaceum* as Reporter Bacteria. *Molecules* 2016; 21: 1211.

další mise. Tvorba biofilmu je problematická nejen díky vyšší odolnosti v něm ukrytých bakterií a omezenému průniku antimikrobiálních látek do nitra biofilmu, bakterie tvořící biofilmy jeví signifikantně vyšší rezistenci vůči antibiotikům, schopnost tvořit biofilmy pak významně zvyšuje virulenci patogenů. Pro likvidaci bakterií, žijících v biofilmu, je třeba

řádově vyšší dávka antibiotik než na likvidaci téhož patogena v planktonické formě (4).

Quorum sensing

Pro bakterie je životně nezbytné postupovat koordinovaně a synchronizovat svoje aktivity, i tvorba biofilmu je vyjádřením schopnosti postu-

povat jako tým. Základ komunikace mezi mikroorganismy, který umožňuje bakteriálním populacím vytvářet synchronizovanou odpověď na abiotické a biotické stresové faktory, se nazývá *quorum sensing*. Jedná se o mechanismus, který umožňuje bakteriím vnímat změny v hustotě populace bakterií v daném prostředí a adekvátně na ně reagovat (5).

Mechanismus této mezibuněčné komunikace je jednoduchý, bakterie produkují specifické signální molekuly, v prostředí pak dochází ke kumulaci těchto látek. Když dojde k překročení prahové koncentrace, naváže se signální molekula na membránový receptor na povrchu sousední bakteriální buňky, to je signál, který oznamuje, že je dostatečně navýšená bakteriální populace. Hned poté se aktivuje intracelulární regulátorový protein, což vede ke změně exprese genů (Obr. 1).

Komunikační systémy *E. coli* jsou předmětem mnoha výzkumů. Skutečnost, že virulence, zejména schopnost adheze na epitel, tvorba biofilmu, produkce toxinů i schopnost průniku do nitra epitelu, je vázaná na komunikační systémy, láká k tomu využít tyto systémy a znemožněním bakteriální komunikace bojovat proti infekčním onemocněním (1). Znemožnění komunikace se nazývá *quorum quenching*, teoreticky máme tři možnosti, jak této komunikaci zabránit (viz Obr. 2). V současnosti probíhají intenzivní výzkumy rostlinných metabolitů, silic a jiných látek, které této komunikaci mohou zabránit.

Dalším krokem postupující infekce je prostup UPEC do buněk urotelu močových cest a zejména močového měchýře. Buňky mají obranný mechanismus, jak bakterie vypudit zpět do lumina močového měchýře, krajní možností je odlupování napadených slizničních buněk, UPEC i tyto obranné mechanismy dokáže překonat. Byla dokonce prokázána tvorba intracelulárního biofilmu, který chrání tyto bakterie před imunitním systémem hostitele a účinkem antibiotik (1).

Antibiotická rezistence

Rezistence vůči antibiotikům je v současnosti závažný problém. Tabulka uvádí přehled vývoje antibiotik, jejich uvádění na trh a dobu, kdy se objevily první rezistentní kmeny (Tab. 1).

Problém bakteriální rezistence se týká i urologických infekcí. Kromě již výše zmíněných mechanismů totiž jeví UPEC významnou rezistenci vůči antibiotikům. Uvádí se, že v Evropě je ke třetí generaci cefalosporinů rezistentní téměř 12 % UPEC a cca 22 % k fluorochinolonom. Co se týče

Tab. 1. Informativní přehled vývoje antibiotik a výskyt rezistentních kmenů

	Objev	Uvedení na trh	Rezistence
Sulfonamidy	1932	1936	1942
Peniciliny	1928	1938	1945
Aminoglykosidy – streptomycin	1943	1946	1946
Chloramfenikol	1946	1948	1950
Makrolidy – erytromycin	1948	1951	1955
Tetracykliny	1944	1952	1950
Rifampicin	1957	1958	1962
Vankomycin	1953	1958	1960
Chinolony – ciprofloxacin	1961	1968	1968
Oxazolidinony	1955	2000	2001
Daptomycin	1986	2003	1987
Fidaxomicin	1948	2011	1977
Diarylchinoliny	1997	2012	2006

Lewis K. Platforms for antibiotic discovery. *Nature Reviews Drug Discovery* 2013; 12(5): 371.

rezistence vůči aminopenicilinům, vzhledem k její schopnosti tvorby β -laktamáz a širokospektrých β -laktamáz, nemají nechráněné aminopeniciliny v terapii UTI (infekce močových cest, urinary tract infection) v podstatě smysl. Podstatný problém tvoří narůstající množství bakterií jevící korezistencí k fluorochinolonom i β -laktamovým antibiotikům (6, 7). Vzhledem k těmto skutečnostem jsou v Doporučených postupech Evropské urologické společnosti (European Association of Urology, EAU) jako léky volby pro UTI uvedeny fosfomycin trometamol 3 g (v ČR Urifos, při poskytování ambulantní zdravotní péče není hrazen ze zdravotního pojištění (8)), pivmecillinam 400 mg (v ČR není registrován) a nitrofurantoin (v ČR Furolin, nahrazující běžně užívaný přípravek Nitrofurantoin, který je dlouhodobě ve výpadku). Furolin není běžně v ČR registrován, jeho užívání je umožněno zařazením do specifického léčebného programu „Léčba infekcí močových cest, zánětu močového měchýře (cystitidy), prostatitidy, pooperačních infekcí a po prostatektomii“. Státní ústav pro kontrolu léčiv upozorňuje, že při preskripci léčivého přípravku, který je podáván v rámci specifického léčebného programu, je na recept nutné vyznačit, že použitý léčivý přípravek je neregistrovaný, a to tak, že se na recept napíše zkratka SpLP (9). Další doporučovanou možností je trimethoprim nebo trimethoprim v kombinaci se sulfamethoxazolem (v ČR Biseptol, Cotrimetoxazol AI a Sumetrolim). Co se týče β -laktamových antibiotik, zejména amoxicilinu, resp. kombinace amoxicilinu s kyselinou klavulanovou, jejich užívání je dle výše zmíněných guidelines EAU vhodné pouze v indikovaných případech, jako např. léčba UTI v graviditě (10).

Vzhledem k omezeným možnostem antibakteriální terapie je pochopitelné hledání dalších možností, jak pacientům účinně pomoci. Tyto

možnosti již tradičně nabízí fytofarmaka, tedy rostlinné léčivé přípravky. Zajímavostí je, že vůči rostlinným silicím si bakterie rezistenci navodit nedokážou, např. olej z kajeputu střídavolistého *Melaleuca alternifolia*, i u nás populární tea tree oil, je v Austrálii terapeuticky užíván od roku 1920, dosud si bakterie vůči němu nedokázaly navodit rezistenci. Stejně tak se nepodařilo vypěstovat rezistentní bakterie in vitro, a to ani vůči tymiánové nebo skořicové silici (11).

Používané rostliny a jejich efekt

Medvědice lékařská (*Arctostaphylos uva-ursi*)

Stálezelený keřík, hlavní účinnou složkou je arbutin (β -D-glukohydrochinon), antibakteriální účinek má jeho štěpný produkt hydrochinon, další složky jsou flavonoidy, trísloviny, kys. ursolová, gallová, elagová. Studie ukazují, že extrakt z medvědice zvyšuje účinnost antibiotické terapie, je otázkou, zda v dostupné lékové formě je možno dosáhnout účinné dávky (12, 13). Běžné je užívání čajových směsí obsahujících listy medvědice lékařské (Species urologicae Leros, Urcyston planta Leros a Urologická čajová směs Megafyt) jako doplňkové léčby při akutních infekčních chorobách močových cest, zde je naprosto nezbytné řídit se pokyny z SPC jednotlivých přípravků. Jak již bylo výše zmíněno, arbutin je prodrug a až v ledvinách se mění na antibakteriálně působící hydrochinon. Toto ovšem probíhá jen při alkalické reakci moči, je proto vhodné přidat do připraveného čaje po vyluhování na špičku nože užívací sodu a nepodávat současně léky a potraviny snižující pH moči.

Kopřiva dvoudomá (*Urtica dioica*)

Kopřiva je dobře známá léčivá rostlina, pro terapii močových infekcí se užívá její nať, pro te-

riapi benigní hyperplazie prostaty se jako droga užívá kořen. Účinné látky a přesný mechanismus účinku jsou stále předmětem zkoumání, hlavními složkami jsou β -sitosterol a lignany. Ve studiích se projevuje jako inhibitor cyklooxygenázy, což by vysvětlovalo její protizánětlivý efekt. Dalším prokázaným účinkem je inhibice aromatázy (14). Ve studiích jeví extrakt z kopřivy i antiadhezivní efekt, nutno dodat, že ve studii byl používán lihový extrakt, nikoliv extrakt vodný (15).

Rozmarýna lékařská (*Rosmarinum officinale*)

Drogou je list. Obsahuje velké množství silic (cineol, borneol, kafr, limonen, pinen), flavonoidy, trísloviny, organické kyseliny (kávová, chlorogenová, rozmarýnová), fytoncidy s účinkem protizánětlivým, antioxidačním, dezinfekčním, znemožňuje účinnou bakteriální komunikaci. Posílení účinnosti antibiotické léčby bylo prokázáno jak v kombinaci s fluorochinolony (16), tak trimethoprim sulfamethoxazolem (17, 18, 19). Její protizánětlivý efekt je zkoumán v léčbě chronických zánětů např. u metabolického syndromu (20), v onkologii (21), studie prokazují synergický účinek s antibiotiky v antibakteriální terapii.

Libeček lékařský (*Levisticum officinale*)

Drogou je kořen i list. Obsahuje silice, pryskyřice, kumariny aj. s prokázaným účinkem diuretickým a desinfekčním; výsledky studií dokládají zvýšení účinku antibiotické terapie (22). Extrakt z libečku prokazatelně inhibuje buněčný eflux, tedy aktivní vylučování antibiotika z buňky (23, 24). Zkoumány jsou i mechanismy, jimiž zabraňuje adhezi bakterií na sliznici močového měchýře (25). Nutno dodat, že zkoumány jsou extrakty lihové, je otázkou, zda přídatek libečku k bramborám nebo do polévky bude mít stejný účinek.

Zeměžluč lékařská (*Centaurium erythraea*)

Drogou je nať, obsahující zejména hořčiny (gentiopikrin, erythaurin, gentiopikrosid), silice a flavonoidy. Známe je její využití jako digestivum (např. tinctura amara) i v likérnictví (je součástí např. Becherovky nebo Fernetu), hořčiny mají významný účinek antioxidační a antibakteriální, např. prokázáný je přímý antibakteriální efekt vůči patogenům *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Citrobacterus freundii* a zejména *Escherichia coli* (26, 27).

Fytofarmaka

Tab. 2. Porovnání registrovaných léčiv a doplňků stravy (DS)

	Léky	Doplňky stravy
Definice	Látka nebo kombinace látek prezentovaná s tím, že má léčebné nebo preventivní vlastnosti v případě onemocnění lidí nebo zvířat.	Potravina, jejímž účelem je doplňovat běžnou stravu a která je koncentrovaným zdrojem vitaminů a minerálních látek nebo dalších látek s nutričním nebo fyziologickým účinkem, obsažených v potravině samostatně nebo v kombinaci, určená k přímé spotřebě v malých odměřených množstvích.
Legislativa	Zákon č. 378/2007 Sb. Zákon o léčivech.	Zákon 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích.
Registrace	Léčivý přípravek nesmí být uveden na trh v České republice, pokud mu nebyla udělena: a) registrace Ústavem, jde-li o humánní léčivý přípravek, nebo Veterinárním ústavem, jde-li o veterinární léčivý přípravek, nebo b) registrace postupem podle přímo použitelného předpisu Společenství.	Provozovatel potravinářského podniku, který vyrábí nebo uvádí na trh DS, je povinen zaslat Ministerstvu zemědělství český text označení, který bude na obalu. Není nutné přikládat výsledky jakýchkoliv testů či kontrol nezávadnosti, DS nepodléhají ze strany MZ žádnému schvalovacímu procesu.
Zveřejnění přesného složení	Viz SPC léčiva.	Není nutné.
Databáze	http://www.sukl.cz/modules/medication/search.php	Neexistuje.

Registrovaná léčiva rostlinného původu určená pro terapii urologických onemocnění

Tab. 3. Přehled rostlinných léčiv s indikací terapie urologických onemocnění

Název přípravku (složení)	Indikace/Kontraindikace	Dávkování	Způsob podání
CANEPHRON Nať zeměžluči lékařské, kořen libečku lékařského, list rozmarýny lékařské	Doplňková léčba v případě zánětlivých onemocnění močových cest a v rámci prevence usazování krystalů, které jsou základem močových kamenů. Hypersenzitivita na léčivé látky, anetol (tj. složka esenciálních olejů, např. v anýzu, fenyklu) či rostliny z čeledi Apiaceae (např. anýz, kmín, celer, koriandr, kopř) nebo na kteroukoli pomocnou látku. Aktivní peptické vředy.	Dospělí užívají 3 × 2 tablety, může být užíván po dobu 4 týdnů (po 2týdenním užívání je nutno se poradit s lékařem). Zvláštní je, že tentýž lék je ve Slovenské republice možno užívat od 6 let (28). V ČR je určen pouze pro léčbu dospělých pacientů.	Užívá se jednotlivá dávka ráno, v poledne a večer. Tablety se polykají vcelku a zapíjejí se tekutinou (např. sklenicí vody). Doporučuje se zvýšený příjem tekutin.
ROWATINEX Pinenum α, Pinenum β, Camphenum, Cineolum, Fenchonum, Borneolum, Anetholum	Urolitiáza, nefrolitiáza, renální onemocnění. Podporuje rozpad, rozpouštění a vyplavování ledvinových a močových kamenů a preventivně působí proti tvorbě kamenů nových. Má spasmolytický účinek, zvyšuje diurézu. KI nejsou známy, není vhodný pro pacienty s těžkými a opakovanými kolikami, anurií a při těžkých a recidivujících infekcích močových cest, neměl být podáván v prvním trimestru těhotenství a po dobu kojení.	Dospělí: 3 až 4x denně 1 tobolku před jídlem. Děti od 6 do 14 let: 1–2x denně 1 tobolku před jídlem.	Polknout tobolku před jídlem.
URCYSTON PLANTA List medvědice lékařské, nať přesličky rolní, nať brusnice borůvky, květ heřmánku pravého, květ bezu černého, nať zlatobýlu obecného, nať tymiánu obecného	Doplňková léčba při akutních infekčních urologických onemocněních. Hypersenzitivita na léčivé látky. Otoky způsobené nedostatečnou funkcí srdce a ledvin, těhotenství, kojení, děti mladší než 12 let.	Čaj se pije teplý 3–5 × denně. Přípravuje se vždy čerstvý, bezprostředně před použitím. Bez konzultace s lékařem užívat nejdéle 2 týdny. Léčbu možno opakovat nejvýše 5 × za rok.	Polévková lžice (5 g)/1 nálevový sáček (1,5 g) se přelije šálkem (1/4 l) vařící vody, a po 10 minutách vyluhování v přikryté nádobě se vyjme. Ke zvýšení účinku se doporučuje přidat k nálevu na špičku nože žaživací sodu. Nepodávat s léky a potravou snižující pH moče.
UROLOGICKÁ ČAJOVÁ SMĚS List břízy bělokore, list medvědice lékařské, nať máty peprné, kořen jehlice trnité, kořen petržele obecné, nať průtřníku lysého	Doplňková léčba při akutních infekčních chorobách močových cest. Hypersenzitivita na léčivé látky přípravku. Otoky způsobené nedostatečnou funkcí srdce a ledvin, těhotenství, kojení, děti do 12 let.	Čaj se pije teplý, neslazený 3–5 × denně. Nepoužívat déle než 1 týden. Léčbu je možno opakovat nejvýše 5 × do roka.	Polévková lžice (5 g)/1 nálevový sáček se přelije 0,25 l vroucí vody a nechá se 5–10 min. vyluhovat v zakryté nádobě. Nesmí se vařit. Účinek lze zvýšit přidáním malého množství jedlé sody (na špičku nože do šálku). Nepodávat s léky a potravou snižující pH moče.
SPECIES UROLOGICAE PLANTA List břízy bělokore, list medvědice lékařské, kořen jehlice trnité, kořen petržele obecné, nať truskavce ptačího, nať kopřivy dvoudomé, nať řebříčku obecného, květ bezu černého	Doplňková léčba při akutních infekčních chorobách močových cest. Hypersenzitivita na léčivé látky přípravku. Otoky způsobené nedostatečnou funkcí srdce a ledvin, těhotenství, kojení, děti mladší než 12 let.	Čaj se pije teplý 3–5 × denně. Přípravuje se vždy čerstvý, bezprostředně před použitím.	Polévková lžice (5 g)/1 nálevový sáček (1,5 g) se přelije šálkem (1/4 l) vařící vody a po 10 minutách vyluhování v přikryté nádobě se vyjme. Ke zvýšení účinku se doporučuje přidat k nálevu na špičku nože užívací sodu. Nepodávat s léky a potravou snižující pH moče.

INZERCE

Závěr

UTI patří k nejčastějším urologickým onemocněním. Terapie bývá obtížná, zejména u recidivujících infekcí. Registrovaná léčiva rostlinného původu mohou pacientům přinést značnou úlevu. Je možné je užívat jako primární terapii i v kombinaci s antibiotickou

léčbou. Výhodou léčiv rostlinného původu je minimum vedlejších účinků, nicméně je nezbytné důsledně rozlišovat registrovaná léčiva a doplňky stravy, u nichž není jasné složení ani jejich účinek (Tab. 2. a 3.). Slibné výsledky ukazují studie, kdy rostlinné extrakty, zejména silice, zvyšují účinek antibiotické léčby, ať už

znemožněním adheze patogenů na sliznici, zamezením bakteriální komunikace, omezením tvorby biofilmů nebo jinými mechanismy. Kombinace antibiotik a registrovaných léčiv rostlinného původu se jeví jako velmi efektivní řešení léčby infekcí močových cest, další výzkum je nutný.

LITERATURA

1. Terlizzi ME, Griboaudi G, et al. Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) Infections: Virulence Factors, Bladder Responses, Antibiotic, and Non-antibiotic Antimicrobial Strategies. *Front. Microbiol.* 2017; 8: 1566.
2. Werneburg GT, Henderson NS, et al. The pilus usher controls protein interactions via domain masking and is functional as an oligomer. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2015; 22: 540–546.
3. Bien J, Sokolova O, et al. Role of uropathogenic *Escherichia coli* virulence factors in development of urinary tract infection and kidney damage. *Int. J. Nephrol.* 2012; 2012: 681473. doi: 10.1155/2012/681473.
4. Surgers L, Boyd A, et al. Biofilm formation by ESBL-producing strains of *Escherichia coli* and *Klebsiella Pneumoniae*. *International Journal of Medical Microbiology* 2019; 309: 13–18.
5. Lhotský J. Úvod do studia symbiotických interakcí mikroorganismů: nový pohled na viry a bakterie. Praha: Academia, 2015.
6. EAU [online]. EAU Guidelines Urological infection. Uncomplicated cystitis [Cit. 1. 11. 2019]. Dostupné na: https://uroweb.org/guideline/urological-infections/#3_4.
7. Basu S, Mukherjee M. Incidence and risk of co-transmission of plasmid-mediated quinolone resistance and extended-spectrum β -lactamase genes in fluoroquinolone-resistant uropathogenic *Escherichia coli*: a first study from Kolkata, India, *Journal of Global Antimicrobial Resistance* 2018; 14: 217–223.
8. SUKL [online]. Furolin – SPC. Databáze léků. [Cit. 1. 11. 2019]. Dostupné na: <http://www.sukl.cz/modules/medication/detail.php?code=0213944&tab=prices>.
9. Česká urologická společnost [online]. Informace SÚKL. Furolin. [Cit. 1. 11. 2019]. Dostupné na: <http://www.cus.cz/?s=furolin>.
10. EAU [online]. EAU Guidelines Urological infection. Disease management [Cit. 1. 11. 2019]. Dostupné na: <https://uroweb.org/guideline/urological-infections/#3>.
11. Yap PS, Yip BC, et al. Essential Oils, A New Horizon in Combating Bacterial Antibiotic Resistance. *The Open Microbiology Journal* 2014; 8: 6–14.
12. Shimizu M, Shiota S, et al. Marked potentiation of activity of β -lactams against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by corilagin, *Antimicrob. Agents Chemother.* 2001; 45: 3198–3201.
13. Afshar K, Fleischmann N, et al. Reducing antibiotic use for uncomplicated urinary tract infection in general practice by treatment with uva-ursi (REGATTA) – a double-blind, randomized, controlled comparative effectiveness trial *BMC Complementary and Alternative Medicine* 2018; 18: 203.
14. Chrusbasik JE, Roufogalis BD, et al. A comprehensive review on the stinging nettle effect and efficacy profiles. *Phytomedicine* 2007; 14: 568–579.
15. Rafsanjany N, Lechtenberg M, et al. Antiadhesion as a functional concept for protection against uropathogenic *Escherichia coli*: In vitro studies with traditionally used plants with antiadhesive activity against uropathogenic *Escherichia coli*. *Journal of Ethnopharmacology* 2013; 145: 591–597.
16. Ghusoon A. Synergism effect of rosemary essential oil and some antibiotic against *Escherichia coli* isolated from clinical samples. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences* (IOSR-JPBS) 12, 2 Ver. III: 39–42.
17. Tawab AA, El-Hofy FI, et al. Synergistic effect between some antimicrobial agents and rosemary (*Rosmarinus officinalis*) toward *Staphylococcus aureus* in-vitro. *Benha Vet Med J* 2015; 28: 195–201.
18. Sienkiewicz M, Łysakowska M, et al. The Potential of Use Basil and Rosemary Essential Oils as Effective Antibacterial Agents. *Molecules* 2013; 18: 9334–9351. doi: 10.3390/molecules18089334.
19. Shaaban HA, Ahmed MBM, et al. Study on the antimicrobial activity and synergistic/antagonistic effect of interactions between antibiotics and some spice essential oils against pathogenic and food-spoiler microorganisms. *J Appl Sci Res* 2013; 9: 5076–5085.
20. Hassani FV, Shirani K, et al. Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) as a potential therapeutic plant in metabolic syndrome: a review *Arch Pharmacol* 2016; 389: 931. <https://doi.org/10.1007/s00210-016-1256-0>.
21. Moore J, Yousef M, et al. Anticancer Effects of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) Extract and Rosemary Extract Polyphenols. *Nutrients.* 2016; 8(11): 17.
22. Ebrahimi A, Eshraghi A, et al. Antibacterial and Antibiotic-Potential Activities of *Levisticum officinale* L. Extracts on Pathogenic Bacteria, *Int J Infect.* 2017; 4(2): e38768. doi: 10.5812/iji.38768.
23. Garvey MI, Rahman M, et al. Medicinal plant extracts with efflux inhibitory activity against Gram-negative bacteria. *International Journal of Antimicrobial Agents*, Elsevier, 2011; 37(2): 145. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2010.10.027.
24. Seukep AJ, Kuete V, et al. Plant-derived secondary metabolites as the main source of efflux pump inhibitors and methods for identification, *Journal of Pharmaceutical Analysis* 2019. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2019.11.002>
25. Grube K, Spiegler V, et al. Antiadhesive phthalides from *Apium graveolens* fruits against uropathogenic *E. coli*, *Journal of Ethnopharmacology* 2019; 237: 300–306. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.03.024>.
26. Kumarasamy Y, Nahar L, et al. Bioactivity of secoiridoid glycosides from *Centaurium erythraea*. *Phytomedicine* 2003; 10: 344–347.
27. Siler B, Živković S, et al. Centauries as underestimated food additives: Antioxidant and antimicrobial potential. *Food Chemistry* 2014; 147: 367–376.
28. SUKL [online]. Canephron SPC. Databáze léků. [Cit. 1. 11. 2019]. Dostupné na: https://www.sukl.sk/hlavna-stranka/slovenska-verzia/pomocne-stranky/detail-lieku?page_id=386&lie_id=86821.