

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra kvality a bezpečnosti potravin (FAPPZ)



**Česká zemědělská
univerzita v Praze**

**Antibakteriální aktivita extraktů a silic z různých
genotypů léčebného konopí (*Cannabis sativa* L.)**

Diplomová práce

Bc. Lukáš Kořánek

Výživa a potraviny

Ing. Anežka Janatová, Ph.D.

© 2020 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci Antibakteriální aktivita extraktů a silic z různých genotypů léčebného konopí (*Cannabis sativa* L.) jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 26. 4. 2021

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval vedoucí diplomové práce Ing. Anežce Janatové, Ph.D. za odborné rady, ochotu, trpělivost a vlídný přístup během výzkumu a psaní této práce. Dále bych také rád poděkoval rodině a blízkým za podporu během studia.

Antibakteriální aktivita extraktů a silic z různých genotypů léčebného konopí (*Cannabis sativa* L.)

Souhrn

Konopí patří mezi nejdéle používané léčivé rostliny a bylo známo již lidmi v pravěku, kde bylo používáno jako tkanina. Široké uplatnění v medicíně začalo ve starověku, odkud se dochovalo i několik lékařských záznamů o použití. V současnosti stále existují kultury, které konopí běžně využívají pro své pozitivní léčebné účinky. I přes svůj široký léčebný potenciál je v současnosti však v mnoha zemích světa zakázáno, z důvodu jeho možného zneužití jako návykové látky.

Uplatnění konopí v moderní medicíně může být mimo jiné i díky své antibakteriální aktivitě. V současnosti roste problém se zvyšující bakteriální rezistencí, se kterou souvisí i nutnost objevování nových účinných antibiotických látek. Jako možný zdroj těchto látek se jeví látky přírodního původu, zejména rostlinné zdroje se svým širokým množstvím biologicky aktivních látek. Mezi tyto zdroje nepochybně spadá i konopí, a proto je výzkum této práce zaměřen na jeho antibakteriální aktivitu.

Cílem této práce bylo zhodnotit antibakteriální aktivitu konopných extraktů a silic na bakteriích vyvolávající mimo jiné gastrointestinální onemocnění. K vyhodnocení byly použity extrakty a silice z deseti různých genotypů konopí. Mezi vybrané mikroorganismy byli cíleně pro porovnání vybráni zástupci gramnegativních (dva kmeny *Escherichia coli* a *Salmonella enteritica*) i grampozitivních bakterií (*Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* a dva kmeny *Staphylococcus aureus*).

Výsledky práce potvrzují antibakteriální působení extraktů na grampozitivní bakterie (minimální inhibiční koncentrace vyšla 8 µg/ml nebo 16 µg/ml) a lze zde tedy hovořit o možném využití v medicíně. V případě gramnegativních bakterií nebyla při zvolené koncentraci extraktů (1024 µg/ml) potvrzena antibakteriální aktivita. U silic, kde byla zvolena stejná počáteční koncentrace jako u extraktů (1024 µg/ml), nebyla zaznamenána antibakteriální aktivita ani u jedné z vybraných bakterií. Z výsledků minimální inhibiční koncentrace extraktů u grampozitivních extraktů lze také částečně potvrdit rozdílnou účinnost extraktů u jednotlivých genotypů. Z vybraných bakterií extrakty nejvíce účinkovaly na grampozitivní bakterie *Bacillus cereus* a *Listeria monocytogenes*.

Klíčová slova: léčebné konopí, antibakteriální aktivita, extrakty, silice, grampozitivní bakterie, gramnegativní bakterie

Antibacterial activity of extracts and essential oils from different genotypes of medicinal cannabis (*Cannabis sativa* L.)

Summary

Cannabis is one of the longest used medicinal plants and it was already known to mankind during the prehistoric times, where it was mainly used for fibre production. Wide spektrum of application s medicine began in antiquity. Several medical records of use have been preserved since that time. There are still places where cannabis is being used for its positive healing effects. Despite its wide therapeutic potential it is currently banned in many countries around the world due to its possible addictive misuse.

The use of cannabis in modern medicine can be, among other things, due to its antibacterial activity. Currently, there is a growing problem with increasing bacterial resistance, which is related to the need to discover new effective antibiotics. Possible sources of these substances are substances of natural origin, especially plant sources with their wide range of biologically active substances. Cannabis undoubtedly belongs among these sources, and therefore the research of this thesis is focused on the cannabis antibacterial activity.

The aim of this thesis is to evaluate the antibacterial activity of cannabis extracts and essential oils on bacteria causing, among other things, gastrointestinal diseases. Extracts and essential oils from ten different cannabis genotypes were used for evaluation. Representatives of gram-negative (two strains of *Escherichia coli* and *Salmonella enteritica*) and gram-positive bacteria (*Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* and two strains of *Staphylococcus aureus*) were selected for comparison between selected microorganisms.

The results of the thesis confirm the antibacterial effect of the extracts on gram-positive bacteria (the minimum inhibitory concentration was 8 µg / ml or 16 µg / ml) and it is therefore possible to speak of its possible use in medicine. In the case of gram-negative bacteria, antibacterial activity was not confirmed with the selected concentration of extracts (1024 µg / ml). For essential oils, with the same initial concentration (1024 µg / ml), no antibacterial activity was confirmed on any of the selected bacteria. The results of the minimum inhibitory concentration of extracts in gram-positive extracts can also partially confirm the different efficacy of the extracts in individual genotypes. The extracts had the most significant effect on the gram-positive bacteria *Bacillus cereus* and *Listeria monocytogenes*.

Keywords: medical cannabis, antibacterial activity, extracts, essential oils, gram-positive bacteria, gram-negative bacteria

Obsah

| | |
|--|-----------|
| 1 Úvod | 8 |
| 2 Vědecká hypotéza a cíle práce | 9 |
| 3 Literární rešerše..... | 10 |
| 3.1 Charakteristika konopí..... | 10 |
| 3.1.1 Taxonomické zařazení rostliny | 10 |
| 3.1.2 Popis rostliny | 10 |
| 3.1.3 Historie léčebného konopí | 12 |
| 3.1.4 Úvod do legislativy..... | 13 |
| 3.2 Biologicky aktivní látky v konopí a jejich účinky | 18 |
| 3.2.1 Fytokanabinoidy | 18 |
| 3.2.2 Terpenické látky | 22 |
| 3.2.3 Flavonoidy | 23 |
| 3.2.4 Alkaloidy | 23 |
| 3.2.5 Stilbenoidy..... | 24 |
| 3.3 Možnosti využití konopí v medicíně | 25 |
| 3.3.1 Endokanabioidní systém..... | 25 |
| 3.3.2 „Entourage effect“ | 26 |
| 3.3.3 Léčebné účinky konopí..... | 26 |
| 3.4 Antibakteriální aktivita konopí | 30 |
| 3.4.1 Účinek na grampozitivní bakterie..... | 30 |
| 3.4.2 Účinek na gramnegativní bakterie | 31 |
| 3.4.3 Problematika bakteriální rezistence | 31 |
| 3.4.4 Vybrané bakterie způsobující gastrointestinální onemocnění | 35 |
| 4 Materiál a metody | 42 |
| 4.1 Biologický materiál | 42 |
| 4.1.1 Konopné extrakty a silice | 42 |
| 4.1.2 Použité kmeny bakterií | 42 |
| 4.2 Média a chemikálie | 43 |
| 4.2.1 Kultivační médium | 43 |
| 4.2.2 Antibiotikum..... | 43 |
| 4.2.3 Rozpouštědlo | 43 |
| 4.2.4 Barvivo | 43 |
| 4.2.5 Polysorbát | 43 |
| 4.3 Příprava zásobních roztoků | 43 |
| 4.3.1 Extrakty..... | 43 |
| 4.3.2 Silice | 43 |

| | | |
|------------|--|-----------|
| 4.3.3 | Antibiotikum..... | 44 |
| 4.4 | Příprava inokula..... | 44 |
| 4.5 | Mikrodiluční metoda | 44 |
| 4.5.1 | Postup..... | 44 |
| 4.6 | Statistické vyhodnocení | 44 |
| 5 | Výsledky | 45 |
| 5.1 | Antibakteriální aktivita silic..... | 45 |
| 6 | Diskuze | 51 |
| 6.1 | Antibakteriální aktivita konopných silic..... | 51 |
| 6.2 | Antibakteriální aktivita konopných extraktů..... | 53 |
| 7 | Závěr..... | 57 |
| 8 | Literatura..... | 58 |
| 9 | Seznam obrázků | 70 |
| 10 | Seznam tabulek | 71 |
| 11 | Seznam použitých zkratk..... | 72 |

1 Úvod

Konopí seté (*Cannabis sativa* L.) je rostlina pocházející ze střední a jihovýchodní Asie, kde pravděpodobně došlo k její první domestikaci a kultivaci přibližně před 5 000 lety (Stevens et al. 2016). Archeologické nálezy ovšem dokazují její použití již před 12 000 lety (Li 1974). V průběhu lidské historie se používala jako textilní vlákno, potravina, pro výrobu olejů, k rekreačním, náboženským účelům a v léčitelství (Piluzza et al. 2013). Obsahuje mnoho biologicky aktivních látek, které jsou produkovány zejména ve žlaznatých trichomech rostliny a za nejvýznamnější z nich jsou považovány kanabinoidy, terpenické látky a flavonoidy (Andre et al. 2016). Konopí se díky svým psychoaktivním účinkům zneužívá jako droga. Psychoaktivita rostliny je způsobena především trans- Δ^9 -tetrahydrokanabinolem (THC), který je považován za jednu z farmakologicky a toxikologicky nejdůležitějších složek konopí (Hazeckamp et al. 2010). Možnost zneužití psychoaktivity konopí je důvodem, proč je jeho užití v mnoha zemích zakázáno i k léčebným účinkům.

Konopí má velmi významný léčivý potenciál, ovšem jeho medicínskému využití v mnohých zemích brání legislativní prostředí (Zábranský et al. 2016). Přestože je v České republice užití konopí pro léčebné účely povoleno od roku 2013, je léčba konopím stále málo rozšířená a mnoho pacientů si jej opatřuje z nelegálních zdrojů o neznámé kvalitě, což přináší zdravotní i zákonná rizika (Zábranský et al. 2017).

Z důvodu vysokého množství různých biologicky aktivních látek v konopí a jejich častým vzájemným interakcím („Entourage effect“) je mechanismus léčebných účinků konopí na člověka velmi složitý a často ne zcela objasněný. Velkou část farmakologických mechanismů konopí je ovšem možné vysvětlit prostřednictvím endokanabinoidního systému (Russo et Marcu 2017).

Konopí má také antimikrobiální účinky, způsobené především kanabinoidy, terpenickými látkami a flavonoidy. Antibakteriální účinnost je popisována především u grampozitivních bakterií. Významný terapeutický potenciál může představovat jeho schopnost účinně inhibovat methicilin rezistentní *Staphylococcus aureus* (MRSA). Ačkoli konopí samotné je málo účinné na gramnegativní bakterie, při kombinaci s antibiotiky byla potvrzena jejich vzájemná synergie a došlo k inhibici i gramnegativních bakterií (Farha et al. 2020). V souvislosti s narůstající bakteriální rezistencí a potřebou nových antibiotických látek může mít antibakteriální aktivita konopí významný terapeutický potenciál.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Konopné extrakty a silice působí antibakteriálně proti bakteriím vyvolávajícím gastrointestinální onemocnění. Genotyp konopí použitý pro přípravu extraktů a silic ovlivňuje jejich antibakteriální účinnost.

Cíle:

1. Zhodnotit antibakteriální působení konopných extraktů a silic na vybrané bakterie vyvolávající gastrointestinální onemocnění.
2. Porovnat antibakteriální účinnost použitých genotypů, ze kterých byly extrakty a silice připraveny.
3. Porovnat antibakteriální účinnost konopných extraktů a silic mezi G+ a G-bakteriemi.

3 Literární rešerše

3.1 Charakteristika konopí

Konopí seté (*Cannabis sativa* L.) patří mezi nejstarší léčivé rostliny používané lidmi, která se pro své léčebné účinky používá již po tisíce let. Předpokládá se, že konopí se poprvé objevilo ve střední Asii již před 5 000 lety, př. n. l. Po tisíciletí se tato rostlina také používá k výrobě vláken, oleje, jako přísada do potravinářských výrobků (Appendino et al. 2011) a také k rekreačním a náboženským účelům (Russo 2007). Pro své pozitivní účinky na široké množství lidských onemocnění se v současnosti globálně zkoumá jeho možné použití v medicíně. Zavedení přípravků z léčebného konopí do konvenční léčby často brání legislativa, která má ke konopí odlišný postoj v jednotlivých státech (Zábranský et al. 2016). V mnoha zemích je léčebné konopí nelegální z důvodu jeho psychoaktivních účinků, které mohou vést ke zneužívání a závislosti (Abrams 2016).

3.1.1 Taxonomické zařazení rostliny

Podle současné systematické klasifikace patří konopí seté do rostlin oddělení krytosemenných rostlin, třídy vyšších dvouděložných, řádu *Rosales*, čeledi *Cannabaceae*, rodu *Cannabis* a druhu *sativa* L. (Sytsma et al. 2002). Do čeledi *Cannabaceae* patří také rod *Humulus* (chmel). V průběhu mnoha staletí jako výsledek šlechtění a výběru vznikly další genotypy konopí. Nové odrůdy rostliny vzniklé šlechtěním a výběrem způsobují velké množství debat o botanické klasifikaci, a proto při taxonomickém zařazení neexistuje všeobecná shoda pro různé skupiny rodu *Cannabis* (Farag et Kayser 2017). V současnosti je popsáno více než 700 různých genotypů a předpokládá se, že existuje mnoho dalších. Bylo již navrženo několik klasifikací konopí. Původně se klasifikace rozdělovala na *C. sativa* L., *Cannabis indica* Lam. a *Cannabis ruderalis* Janisch nebo na *C. sativa* L. subsp. *sativa* a *C. sativa* subsp. *indica* (Hazekamp et al. 2010). Obecně je však přijímáno, že konopí je monotypické a skládá se pouze z jediného druhu *C. sativa* (Farag et Kayser 2017).

3.1.2 Popis rostliny

Konopí seté, je obvykle jednoletá a dvoudomá, větrosnubná rostlina. V závislosti na podmínkách prostředí a genetické rozmanitosti může dosáhnout až 5 m (Farag et Kayser 2017). Rozmnožuje se ze semen nebo klonováním a během svého růstu vyžaduje střední úroveň vlhkosti prostředí a půdy a dobrou intenzitu světla (Raman 1998). Obvykle má hranaté, zvrásněné a rozvětvené stonky a dlaňovité listy, obvykle se sedmi laloky. Velikost a tvar listů se výrazně liší podle genetického původu. Mohou být 6 – 11 cm dlouhé a 2 – 15 mm široké (Farag et Kayser 2017).

V moderním šlechtění a pěstování léčebného konopí je preferovaným způsobem množení rostlin klonováním pomocí řízků z mateřské rostliny. K tomuto účelu jsou používány samičí rostliny, protože produkují významně vyšší množství biologicky aktivních sloučenin než samčí rostliny. Dokud rostliny nezačnou kvést, je jejich pohlaví anatomicky nerozeznatelné, poté se vývoj samčích a samičích rostlin velmi liší. Samičí rostlina při kvetení vytvoří několik přeplněných shluků jednotlivých květů (květinové vrcholy), velký na vrcholu

stonku a několik menších na každé větvi. Samčí květy visí ve volných shlucích podél relativně bezlisté vzpřímené větve. Samčí rostliny se zbavují pylu a odumírají ještě před dozráním semen v samičích rostlinách, tedy 4–8 týdnů po oplodnění. Velká samičí rostlina může produkovat více než 1 kg semen. Pokud semeno přežije, může klíčit příští jaro (Hazekamp et al. 2010). Samčí květ se skládá z pěti světle zelených, chlupatých kališních lístků dlouhých 2,5–4 mm a pěti tyčinek, s tenkými vlákny. Pestíky v samičích květech jsou téměř přisedlé a jsou v párech. Plodem je nažka obsahující semeno s tvrdou skořápkou, které má elipsoidní tvar a hladký povrch, je 2–5 mm dlouhé, obvykle nahnědlé a skvrnité (Farag et Kayser 2017).



Obrázek 1 Samčí (A) a samičí (B) rostlina (Bonini et al. 2018)



Obrázek 2 Konopí seté (Wikipedia 2006)

Rostlina je prokryta velkým množstvím trichomů, což jsou epidermální žlázové výčnělky pokrývající listy. Také patří mezi rostliny mající listeny (Happyana et al. 2013; Huchelmann et al. 2017). Žlázové trichomy vylučují sekundární metabolity rostliny, například fytokanabinoidy, které jsou odpovědné za obranu a interakci s býložravci a škůdci. Dále terpenoidy, které generují typický zápach rostliny (Andre et al. 2016).



Obrázek 3 Trichomy (Healtheuropa 2020)

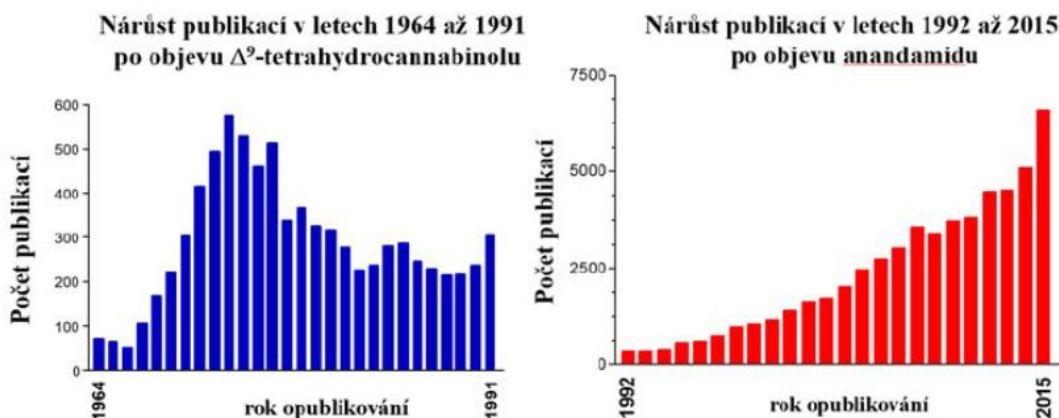
3.1.3 Historie léčebného konopí

Na základě archeologických a historických nálezů se předpokládá, že konopí je používáno lidstvem již po tisíce let (Stevens et al. 2016). Historicky se jako potenciální oblast jeho přirozeného původu či primární domestikace považuje střední a jihovýchodní Asie (Jiang et al. 2006; Stevens et al. 2016). Několik neolitických důkazů nalezených na Tchaj-wanu dále naznačují, že konopí bylo použito již před 12 000 lety a hrálo významnou roli v rané výrobě provazů a textilu (Li 1974). McPartland a Hegman (2018) hodnotili důkazy pro nezávislé pěstování *Cannabis sativa* v Evropě a všimli si, že existují některé archeobotanické pozůstatky semen konopí datované do doby měděné, doby před přibližně 7 000 lety. Později se konopí rozšířilo na další kontinenty a do Nového světa se dostalo až po roce 1492 n. l. (Merlin 2003). Nejčasnější důkazy se ovšem datují do třetího tisíciletí př. n. l. v Číně a Japonsku, což naznačuje, že k domestikaci a počáteční kultivaci došlo ve východní Asii (Stevens et al. 2016).

První záznamy o lékařském použití konopí pochází z období okolo 2700 let př. n. l., kdy čínský císař Chen Nung vytvořil první čínský lékopis, podle kterého se například konopí používalo například na únavu, revmatismus, malárii (Abel 1980) či porodní bolesti (Zla set al. 1993). Dále se používalo pro vlákninu, jako potravina, ale také jako intoxikátor. V západní Číně bylo také používáno během rituálních účelů, jako je pohřeb (Merlin 2003). Starověké medicínské texty pocházejí také z Indie (Touw 1981), Řecka a Říma (Butrica 2002).

Předpokládá se, že již ve starověku lidé vědomě vybírali a pěstovali různé konopné chemovary na základě zkušeností a lékařských znalostí (Koltai et Namdar 2020).

Z farmakologického hlediska byl jeden z největších objevů v roce 1964, kdy Gaoni a Mechoulam v roce 1964 izolovali a syntetizovali hlavní fytkanabinoid tetrahydrokanabidiol (THC) (Mechoulam a Gaoni 1965). Další zlomový objev přišel v roce 1988 s objevením kanabinoidního receptoru CB1 (Devane et al. 1988), v roce 1993 byl objeven i kanabinoidní receptor CB2 a v 90. letech 20. století byly také objeveny endogenní ligandy endokanabinoidních receptorů: arachidonoylethanolamin a 2-arachidonylglycerol (Pertwee 2006). V této době Di Marzo s kolegy také vytvořil pojem endokanabinoidní systém zahrnující endogenní ligandy, receptory a enzymy pro syntézu a degradaci (Di Marzo et al., 1994).

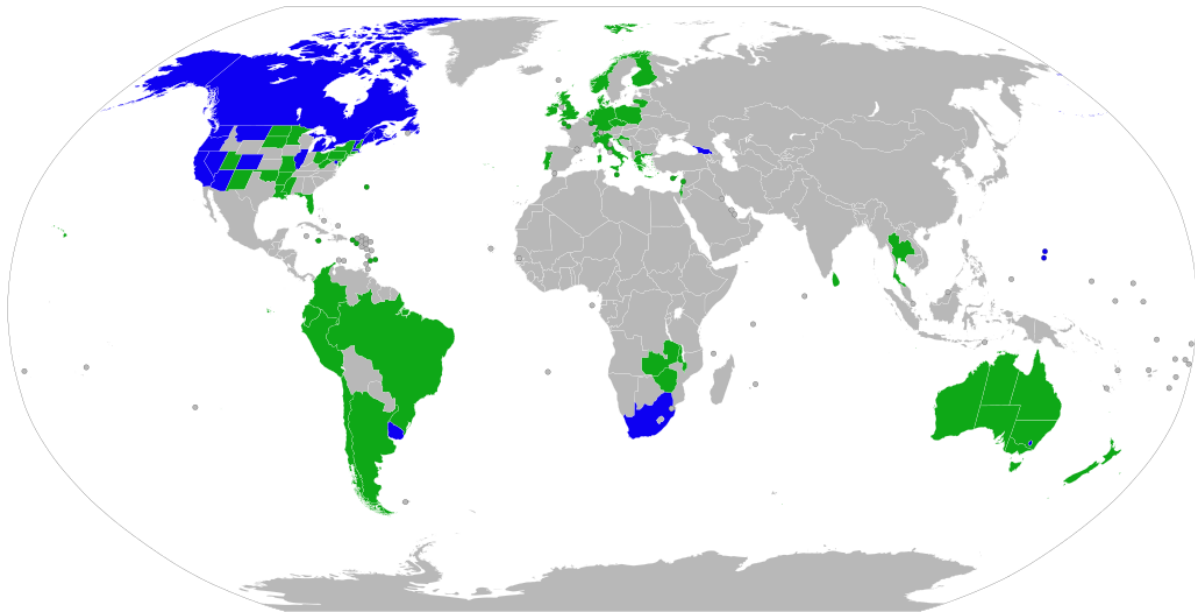


Obrázek 4 Nárůst publikací po objevu struktury THC (1964) a po objevu endogenního kanabinoidu – anandamidu (1992) (Zábranský et al. 2016)

3.1.4 Úvod do legislativy

Legislativa konopí se liší v jednotlivých státech světa. V mnoha zemích světa je konopí legální pro léčebné účely a v některých i pro rekreační použití. V Izraeli je léčebné konopí (LK) používáno již od roku 1993. V USA bylo LK legalizováno poprvé v Kalifornii v roce 1996, aktuálně je konopí pro léčebné užití legalizováno již v 35 státech a Washingtonu, DC. Mezi první země EU, které legalizovaly konopí pro léčebné užití, patří Nizozemí (v roce 2003) a Německo (v roce 2008). LK je například legální také ve Švýcarsku a celé Austrálii (KOPAC 2019).

Mezi země, ve kterých je konopí legální nejen pro léčebné účely, ale i k rekreačnímu využití patří Kanada, Uruguay a celkem ve 13 státech USA a Washingtonu D. C. (KOPAC 2019).



Obrázek 5 Legislativa léčebného konopí ve světě: zelená – povoleno léčebné konopí; modrá – povoleno konopí pro jakékoli účely; šedá – konopí nelegální pro jakékoli účely (Wikipedia 2018)

Izrael

V Izraeli je konopí regulováno Nařízením o nebezpečných drogách z roku 1973 (Ministry of Health – State of Israel). Podle tohoto zákona je jakékoli užívání konopí zakázáno, pokud to nepovoluje licence ministerstva zdravotnictví. První licence na léčebné konopí byly vydány v 90. letech. Na základě rozhodnutí vlády v roce 2013, se v Izraeli zřídila v rámci ministerstva zdravotnictví zvláštní regulační agentura - Israel Medical Cannabis Agency (IMCA). IMCA definuje podrobná kritéria k indikaci a vytvořila seznam indikací, pro které lze konopí povolit: nevolnost a zvracení způsobené chemoterapií, bolest spojená s rakovinou, Crohnova choroba, ulcerózní kolitida, neuropatická bolest, pacienti s AIDS s kachexií, roztroušená skleróza, Parkinsonova choroba, Tourettův syndrom, epilepsie (dospělá i dětská populace), paliativní léčba a posttraumatická stresová porucha. Pokud při léčbě nezaberou tradiční lékařské postupy a odborník poskytne doporučení pro léčbu konopím, mohou se licence na léčebné konopí se udělit i na jiné indikace (International Association for Cannabinoid Medicines).

Udělení licence na léčebné konopí schvaluje IMCA na základě doporučení podepsaným odborným lékařem. Lékař vydávající doporučení by se měl specializovat v oboru v souladu s lékařskou indikací, pro kterou je konopí doporučeno. Například doporučení léčebného konopí pro indikace související s nádorovým onemocněním, musí být podepsáno onkologem (International Association for Cannabinoid Medicines). V roce 2016 ministerstvo zdravotnictví vydalo informační brožuru a lékařského průvodce – Léčebné konopí. Na základě této metodiky jsou v současné době proškolení lékaři, kteří mohou získat certifikaci pro přímé vydávání licen k držení a užívání léčebného konopí bez potvrzení IMCA (Ministry of Health – State of Israel).

Léčebné konopí je dodáváno certifikovanými dodavateli. V současné době existuje osm certifikovaných dodavatelů, kteří pěstují konopí v Izraeli. Povolené množství se

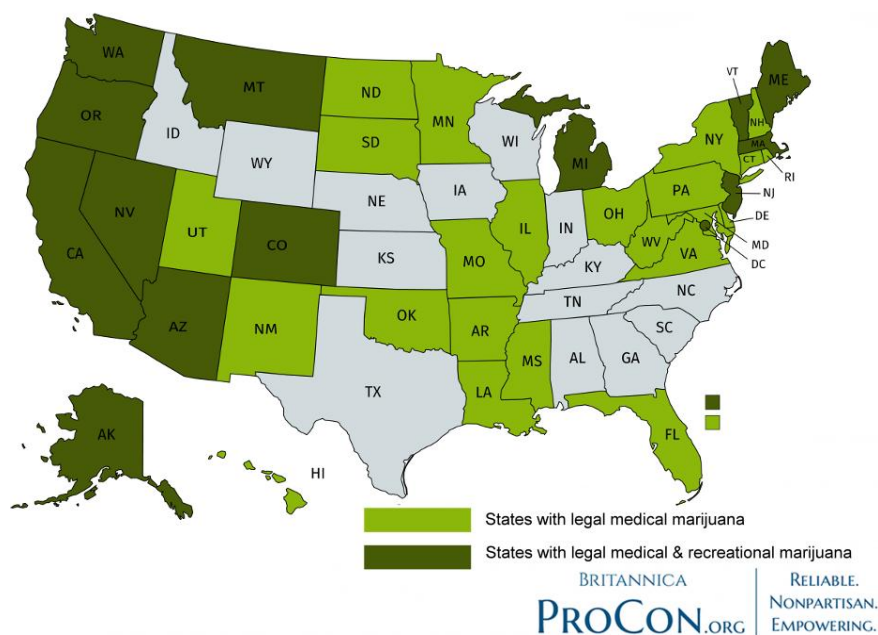
pohybuje od 20 do 100 gramů léčebného konopí měsíčně, v některých případech i více (International Association for Cannabinoid Medicines). Výrobky z konopí, které byly schváleny pro výrobu a distribuci, musí odpovídat standardům kvality ministerstva zdravotnictví a postupům IMCA a jejich koncentrace je hlídána (Ministry of Health – State of Israel).

Izrael je již po mnoho let ústředním místem pro výzkum kanabinoidů, zejména díky výzkumu profesora Raphaela Mechoulama (International Association for Cannabinoid Medicines).

USA

Prvním státem USA, který zlegalizoval konopí pro lékařské účely, byla Kalifornie v roce 1996 a do konce roku 2000 byla legalizována již v osmi státech. Do konce roku 2017 zlegalizovalo použití konopí pro lékařské účely celkem 29 států a Washington, D. C. Aktuálně je konopí pro lékařské účely legalizováno celkem ve 35 státech a Washingtonu, DC. Konopí pro rekreační účely je legalizováno ve 13 státech a Washingtonu, D. C. Rekreační užití konopí bylo poprvé zlegalizováno v Coloradu a Washingtonu v roce 2012 (ProCon 2020).

Legal Medical & Recreational Marijuana States



Obrázek 6 Legislativa konopí v jednotlivých státech USA: světle zelená – povoleno léčebné konopí; tmavě zelená – povoleno léčebné i rekreační konopí (ProCon 2021)

Kanada

Zákon o konopí platný od 17. října 2018 umožňuje mimo léčebné užití konopí také jeho rekreační používání a vytváří přísný právní rámec pro kontrolu výroby, distribuci, prodej a držení konopí v celé Kanadě. Cílem zákona je dosáhnout tří hlavních cílů, mezi které patří

snaha o zamezení užívání konopí dětmi a mladistvými, zabránit nelegálnímu zisku spojeným s drogami a chránit veřejné zdraví a bezpečnost tím, že umožní dospělým přístup k legálnímu konopí (Department of justice – Canada 2021)

Zákon umožňuje lidem starším 18 let a s výhradou na některá provinční a územní omezení na veřejnosti držet až 30 gramů sušeného legálního konopí či ekvivalentní množství v nesusené či jiné formě a toto množství je také možné sdílet s ostatními dospělými. Sušené nebo čerstvé konopí a konopný olej lze nakoupit od maloobchodníka s provinční licencí. V některých částech Kanady bez regulace maloobchodního prodeje lze od federálně licencovaných výrobců nakupovat konopí i online. Zákon dále umožnil legálně pěstovat až čtyři rostliny konopí pro osobní použití na bydliště, ovšem z licencovaného osiva či sazenic a pouze na výrobu domácích konopných produktů (nápoje, potraviny) za podmínky, že se při výrobě koncentrovaných produktů nepoužijí organická rozpouštědla. Od 17. října 2019 je také legální prodej jedlých produktů a koncentrátů z konopí (Department of justice – Canada 2021).

Nizozemí

Nizozemí je první stát v Evropě, který oficiálně legalizoval použití konopí pro léčebné účely. K legalizaci došlo v roce 2003 (KOPAC 2019). Dohled nad produkcí konopí pro léčebné a vědecké účely zde má vládní organizace – Úřad pro léčebné konopí (Bureau of Medicinal Cannabis) (Cannabisbureau.nl).

Česká republika

V České republice (ČR) je problematika týkající se konopí obsažena v **zákoně č. 50/2013 Sb.**, kterým se mění zákon č. 378/2007 Sb., o léčivech a o změnách některých souvisejících zákonů (zákon o léčivech), ve znění pozdějších předpisů, zákon č. 167/1998 Sb., o návykových látkách a o změně některých dalších zákonů, ve znění pozdějších předpisů, a zákon č. 634/2004 Sb., o správních poplatcích, ve znění pozdějších předpisů (PSP). Tento zákon doplňuje **vyhláška č. 307/2020 Sb.**, kterou se mění vyhláška č. 236/2015 Sb., o stanovení podmínek pro předepisování, přípravu, distribuci, výdej a používání individuálně připravovaných léčivých přípravků s obsahem konopí pro léčebné použití (Ministerstvo zdravotnictví České republiky 2020).

Vyhláška č. 236/2015 Sb. § 4 (novela č. 307/2020 Sb.) uvádí, že individuálně připravovaný léčivý přípravek s obsahem konopí pro léčebné užití může předepisovat pouze odborně způsobilý lékař pacientům starším 18 let. Lékař je mimo jiné povinen na receptu uvést druh konopí pro léčebné použití, procentuální obsah delta-9-tetrahydrokanabinolu a procentuální obsah kanabidiolu. Na jeden recept je možné předepsat nejvýše množství odpovídající dávce pro zajištění léčby na jeden měsíc pro danou indikaci (Sbírka zákonů č. 236/2015).

Vyhláška č. 307/2020 Sb.: „*Pro přípravu individuálně připravovaného léčivého přípravku s obsahem konopí pro léčebné použití lze použít pouze konopí pro léčebné použití, jehož obsah delta-9-tetrahydrocannabinolu vyjádřený v procentech činí minimálně 0,3 % a maximálně 25,0 % a obsah cannabidiolu vyjádřený v procentech činí maximálně 23,0 %*“ (Sbírka zákonů č. 307/2020, s. 3146).

Pěstování konopí pro léčebné použití v ČR je možné po udělení licence od Státní agentury pro konopí pro léčebné použití (SAKL). Tato agentura patří ke Státnímu ústavu pro kontrolu léčiv (SÚKL) a mezi její činnosti dále patří zajištění výkupu vypěstovaného a sklizeného konopí pro léčebné použití, jeho následná distribuce a dozor nad pěstováním. Také plní informační povinnosti vůči Ministerstvu zdravotnictví ČR a Policii ČR. Svou činnost plní na základě zákona č. 50/2013 Sb. a zákona 167/1998 Sb. Do činnosti agentury nespadá oblast dovozu a distribuce konopí pro léčebné použití ze zahraničí (Státní agentura pro konopí pro léčebné použití; Státní ústav pro kontrolu léčiv).

Oblast dovozu a distribuce konopí ze zahraničí zajišťuje Ministerstvo zdravotnictví ČR, konkrétně Inspektorát omamných a psychotropních látek. Dovezené konopí musí splňovat veškeré požadavky kvality a množství účinných látek, které jsou uvedené v legislativě (Státní ústav pro kontrolu léčiv).

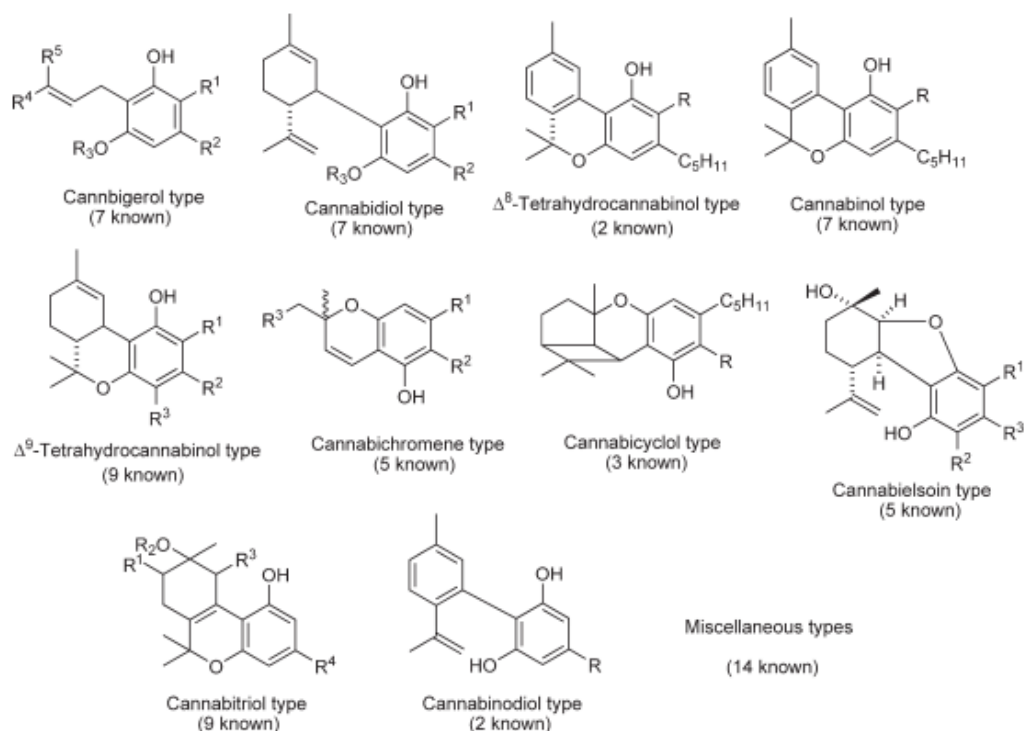
Cena konopí pro léčebné užití v ČR není regulována. V případě dovezeného konopí je cena udána výrobcem či distributorem. Cena konopí, které je vypěstované v ČR, závisí na nejnižší nabídce při výběrovém řízení (Státní ústav pro kontrolu léčiv).

3.2 Biologicky aktivní látky v konopí a jejich účinky

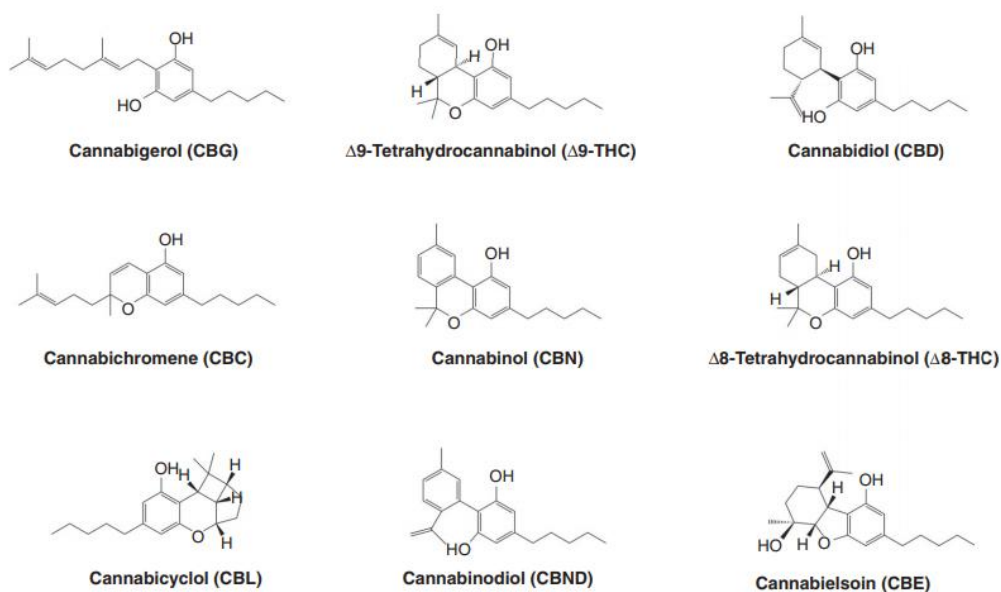
Konopí obsahuje značné množství chemických látek, u nichž v mnoha případech dosud nebyla jejich biologická aktivita dostatečně prozkoumána. Biologicky aktivní látky vznikají převážně ve žlázatých trichomech a to hlavně na samičích rostlinách. Mezi látky s největší biologickou aktivitou patří především terpenoidy, flavonoidy a kanabinoidy (Hazekamp et al. 2010). V prosinci roku 2016 bylo popsáno celkem 1269 sloučenin, z toho 144 fytokanabinoidů, 150 terpenů a terpenoidů, 50 flavonoidů a flavonoidních glykosidů, dále konopí obsahuje aminokyseliny, fenoly, glykosidy, aminy, cukry, uhlovodíky, alkoholy, ketony, estery, kyseliny, mastné kyseliny, vitaminy, těžké kovy a další (Zábranský et al. 2016). Více než 400 molekul mají léčivé účinky, asi čtvrtinu z nich tvoří kanabinoidy (Samridhi et al. 2021).

3.2.1 Fytokanabinoidy

Fytokanabinoidy představují skupinu C21 nebo C22 (pro karboxylované formy) převážně terpenofenolových sloučenin přirozeně se vyskytujících v konopí (Appendino et al. 2008). Mají největší vliv na biologickou aktivitu konopí a tvoří komplexní skupinu blíže příbuzných sloučenin (Hazekamp et al. 2010). V konopí bylo identifikováno celkem 11 typů kanabinoidů, a to Δ^9 -trans-tetrahydrokanabinolový, Δ^8 -trans-tetrahydrokanabinolový, kanabidiolový, kanabigerolový, kanabichromenový, kanabinodiolový, kanabielsoinový, kanabicyklolový, kanabinolový, kanabitriolový a smíšené kanabinoidy. Koncentrace kanabinoidů v rostlině je závislá na růstových podmínkách jako je vlhkost, teplota, živiny v půdě a UV záření (Murillo-Rodriguez et al. 2021). Fytokanabinoidy jsou neutrální formy fytokanabioidních kyselin a vznikají neenzymatickou dekarboxylací odpovídajících kyselin. V rostlině se neutrální formy vyskytují v malém množství, jejich množství roste zahříváním po sklizni (Flores-Sanchez et Verpoorte 2008). Všechny přírodní kanabinoidy jsou vysoce rozpustné v tucích (Hazekamp et al. 2010).



Obrázek 7 Strukturální typy kanabinoidů (Hazeckamp et al. 2010)



Obrázek 8 Struktury hlavních fytkanabinoidů (Marsh et Smid 2020)

Trans- Δ^9 -tetrahydrokanabinol

Trans- Δ^9 -tetrahydrokanabinol (THC) patří k nejpočetnější skupině fytkanabinoidů (Hanuš et al. 2016) a je hlavní psychotropní složkou v konopí (Reekie et al. 2018; Marsh et Smid 2020). Poprvé byl z rostliny izolován v roce 1942 Adamsem a kolegy, jeho strukturu plně objasnil v roce 1964 Gaoni a Mechoulam (Adams 1942; Gaoni et Mechoulam 1964). Pro svou výraznou biologickou aktivitu je považován za farmakologicky a toxikologicky

nejdůležitější složku v konopí. Vyvolává spoustu různých účinků u lidí i zvířat (Hazekamp et al. 2010). THC působí jako částečný agonista na CB1 a CB2 receptory (viz kapitola 3.1.10 Endokanabinoidní systém) (Hanuš et al. 2016). Z toxikologického hlediska jsou nejdůležitější centrální účinky zprostředkované CB1, protože přímo souvisí s psychologickými účinky konopí. Nejvíce pozorovatelné psychologické účinky THC u lidí se rozdělují do čtyř skupin: afektivní, senzorické, somatické a kognitivní funkce (Hazekamp et al. 2010).

Mezi důvody užívání THC v medicíně patří jeho působení proti nevolnosti a zvracení vyvolané chemoterapií u onkologických pacientů. Bylo prokázáno, že u většiny uživatelů snižuje nevolnost při požití nebo vdechnutí. U onkologických pacientů se také využívá pro stimulaci chuti k jídlu a snížení bolesti (Hazekamp et al. 2010). Dále THC zlepšuje spánek a má pozitivní účinky na Tourettův syndrom (Murillo-Rodriguez et al. 2021). Bylo zjištěno, že THC snižuje nitrooční tlak a zlepšuje krevní oběh v oku. THC je také studován pro možnou léčbu roztroušené sklerózy a může mít význam i při epilepsii, díky svým myorelaxačním, hypokinetickým a antikonvulzivním účinkům (Hazekamp et al. 2010). THC je považován za imunomodulátor, schopný posílit nebo potlačit funkci řady imunitních reakcí. Na tyto účinky mohou mít také vliv další složky přítomné v konopí (J. McPartland et al. 2000). Mnoho popsaných protizánětlivých účinků THC a jiných kanabinoidů je pravděpodobně zprostředkováno komplexními interakcemi s imunitním systémem. V současnosti se THC studuje pro možné antikancerogenní účinky (Hazekamp et al. 2010). Zjistilo se, že THC uvolňuje tlusté střevo a snižuje pohyblivost a tonus tlustého střeva po jídle (Esfandyari et al. 2007). To poukazuje na potenciál, že kanabinoidní receptory modulují motorické funkce tlustého střeva při střevním onemocnění jako je syndrom dráždivého tračníku nebo Crohnova choroba (Hazekamp et al. 2010). Je zřejmé, že THC má řadu dalších terapeutických účinků a pravděpodobně více léčivého potenciálu, který doposud nebyl všechen objeven (Murillo-Rodriguez et al. 2021).

THC ve vysokých dávkách zvyšuje rychlost metabolismu v mozku zvířat a lidí (Abrams et Martin 1996) a ve vysokých dávkách snižuje tělesnou teplotu. V závislosti na dávce zvyšuje THC v plazmě srdeční frekvenci, proto je léčebné konopí či THC kontraindikováno u pacientů s kardiovaskulárními problémy. Zvýšení srdeční frekvence je způsobeno přímým působením THC na srdce bez zprostředkování mozkovým kmenem. V závislosti na dávce má také posturální účinky (Hazekamp et al. 2010). THC může především u nezkušených uživatelů vyvolat nepříjemné účinky jako je úzkost, panika a paranoia. Existují podezření, že Δ^9 -THC může vyvolat psychózu zahrnující bludy a halucinace (Favrat et al. 2005). Případy psychózy vyvolané THC jsou ovšem vzácné, protože s největší pravděpodobností vyžadují velmi vysoké dávky THC, dlouhodobé užívání vysoce účinných forem konopí nebo již existující genecké predispozice jedince (Henquet et al. 2006). Příčinná souvislost mezi užíváním konopí a rozvojem psychózy nebyla prokázána, vzhledem k velkému množství parametrů, které je třeba vzít v úvahu. Psychologické účinky způsobené THC nebo konopím jsou hlavní nevýhodou jejich lékařských aplikací, ovšem mnoho z fyziologických účinků je již dosaženo pod prahem psychologických účinků (Hazekamp et al. 2010).

V současné době existují již i registrované léčivé přípravky s obsahem THC. Například lék s komerčním názvem Marinol se používá při léčbě různých druhů bolesti. Dále lék Sativex s kombinací THC a CBD (viz kapitola Kanabidiol) (Zábranský et al. 2016).

Kanabidiol

Kanabidiol (CBD) je po THC druhým nejhojnějším fytoKANABINOIDEM a hlavní primárně nepsychotropní složkou v konopí. Je studován v souvislosti neurodegenerativními onemocněními, zejména z důvodu neuroprotektivních, protizánětlivých, antiepileptických, antipsychotických a analgetických účincích (Weston-Green 2019; Marsh et Smid 2020).

V čerstvé rostlině se nachází ve formě prekurzoru - kanabidiolové kyseliny (CBDA) (Baron et al. 2018). Byl izolován Adamsem a kolegy v roce 1940, ale jeho struktura byla plně objasněna až v roce 1963 (Abrams et al. 1940; Mechoulam et Shvo 1963; Marsh et Smid 2020). CBD na rozdíl od Δ^9 -THC neaktivuje receptory CB₁ (viz kapitola 3.1.10 Endokanabinoidní systém), což může vysvětlovat důvod, proč nemá psychoaktivní účinky. Jeho terapeutický potenciál je ovšem také velmi vysoký. Účinky CBD jsou způsobeny více mechanismy související s G-proteinem GPR55 a kanálem melastatinu typu 8 (TRPM8) (Pertwee 2008).

CBD má anxiolytické, antipsychotické a neuroprotektivní vlastnosti. Také může mít potenciální využití při epilepsii, schizofrenii, sociální fobii, posttraumatickému stresu, depresi, bipolární poruše, při poruchách spánku a Parkinsonově chorobě či jako substituční léčba při závislostech (Crippa et al. 2018; Murillo-Rodriguez et al. 2021).

Má silné antioxidační vlastnosti (účinnější než askorbát a α -tokoferol) a významné protizánětlivé a imunomodulační účinky (Malfait et al. 2000; Hazekamp et al. 2010). Také vykazuje silné antifungální a antibakteriální vlastnosti a dokonce silnou aktivitu proti meticilin-rezistentnímu *Staphylococcus aureus* (MRSA) (Appendino et al. 2008).

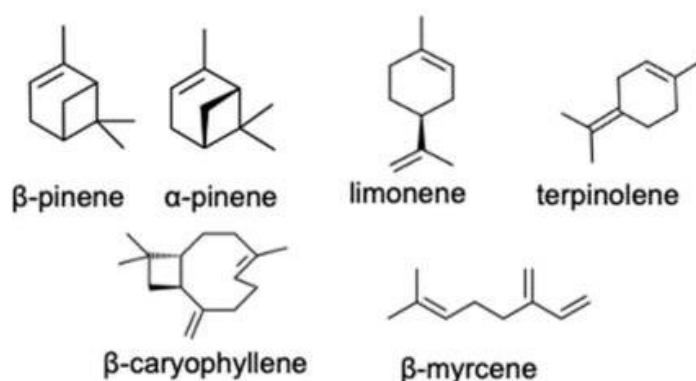
V současné době existuje již několik oficiálně schválených léčiv obsahujících CBD a THC. Příkladem je lék s komerčním názvem Sativex obsahující CBD a THC, který se předepisuje primárně na spastickou bolest při roztroušené skleróze. Prokázány jsou také účinky při bolestech způsobených revmatoidní artritidou, alodynii, nádorovými onemocněními a také na bolesti, u které nezabírají opioidy. V ČR je legální, ovšem těžko dostupný. Dalším příkladem je lék Epidiolex, obsahující CBD pro léčbu dětské refrakterní vysokofrekvenční epilepsie (Zábranský et al. 2016).

Kanabigerol

Kanabigerol (CBG) je nepsychoaktivní fytoKANABINOID s nízkou afinitou ke kanabinoidním receptorům CB₁ a CB₂ (Murillo-Rodriguez et al. 2021). V rostlině se nachází ve formě prekurzoru - kyseliny kanabigerolové (CBGA). CBGA a CBG se také nachází v rostlině *Helichrysum umbraculigerum* (Russo 2016). CBG má neuroprotektivní, antioxidační a protizánětlivé účinky (Gugliandolo et al. 2018). CBG je také významný pro své antibiotické vlastnosti. *In vitro* bylo prokázáno, že CBG má antibiotické účinky na meticilin rezistentní *Staphylococcus aureus* (MRSA), pravděpodobně způsobené působením CBG na cytoplazmatickou membránu. Účinnost CBG na MRSA byla potvrzena také *in vivo* a byla srovnatelná s vankomycinem podávaným v podobných dávkách (Farha et al. 2020).

3.2.2 Terpenické látky

Terpeny jsou lipofilní sloučeniny, které snadno procházejí membránami i hematoencefalickou bariérou a mají širokou škálu farmakologických účinků. V závislosti na počtu izoprenových jednotek (ij) je rozdělujeme na monoterpeny (2 ij), seskviterpeny (3 ij), triterpeny (6 ij) a další (Andre et al. 2016). Společně s kanabinoidy jsou považovány za hlavní fyziologicky aktivní sekundární metabolity konopí (Fischedick et al. 2015; Andre et al. 2016). Mohou působit anxiolyticky, antibakteriálně, protizánětlivě a sedativně (Russo 2011). Primárně se nacházejí v pryskyřici produkované ve žlaznatých trichomech samičího květenství. Terpeny, především mono- a seskviterpeny, jsou hlavním důvodem charakteristické vůně a chuti konopí (Booth et al. 2017). V konopí se nachází mono- a seskviterpeny, které jsou v konopí nejvíce zastoupené (Booth et al. 2017), dále také triterpeny (Andre et al. 2016). Monoterpeny jsou nejvíce těkavé a v konopí se nachází hlavně D-limonen, β -myrcen, α - a β -pinen, terpinolen a linalol. Mezi seskviterpeny obsažené v konopí patří především β -karyofylen a α -humulen. K triterpenům obsažených v konopí patří například friedelin, epifriedelanol, β -amyrin, cykloartenol, β -amyrin a dammaradienol (Andre et al. 2016). Obecně se v konopí nejčastěji vyskytuje limonen, myrcen a pinen (Frag et Kayser 2017). V květu, listech rostliny bylo identifikováno více než 200 terpenoidů (Booth et al. 2017). Při pěstování za standardizovaných podmínek byla zjištěna významná a pozitivní korelace mezi úrovní terpenů a kanabinoidů (Fischedick et al. 2010). Terpeny v kombinaci s insekticidními fyto-kanabinoidovými kyselinami poskytují mechanicko-chemickou obrannou strategii proti predátorům (Russo 2011). Jejich zastoupení závisí na genotypu a produkce se zvyšuje s expozicí světla a úrodností půdy (Langenheim 1994).



Obrázek 9 Příklady terpenů (Sommano et al. 2020)

D-limonen

Tento terpenoid se běžně vyskytuje také v citrusech. Má významné antioxidantní schopnosti (Bai et al. 2016) a anxiolytickou aktivitu, která byla popsána na myších a souvisí se serotoninem a dopaminem (Yun 2014; Bonini 2018). Působí také antikancerogenně a imunostimulačně (Andre et al. 2016).

β -myrcen

β -myrcen se vyskytuje také například v chmelu a působí protizánětlivě, analgeticky a anxiolyticky (Cleemput 2009).

α -pinen

α -pinen je nejčastěji se vysytující terpen v přírodě. Vyskytuje se například v jehličnanech, kde slouží k odpuzování hmyzu. Má protizánětlivé, bronchodilatační účinky, pravděpodobně zlepšuje paměť (Russo 2011) a účinkuje podobně jako širokospektrá antibiotika s účinkem i proti MRSA (Nissen et al. 2010).

Tabulka 1 Souhrn biologické aktivity konopných terpenů

| Terpen | Známé vlastnosti |
|----------------------|--|
| β -myrcen | Analgetický, protizánětlivý, antibiotický, antimutagenní |
| β -karyophylen | Protizánětlivý, cytoprotektivní, antimalarický, agonista CB2 |
| D-limonen | Imunitní potenciátor, antidepresivum, antimutagenní |
| Linalol | Sedativum, antidepresivum, anxiolytikum, imunitní potenciátor |
| Pulegon | Inhibitor acetylcholinesterázy (AChE), sedativní, antipyretický |
| 1,8-cineol | AChE inhibitor, stimulant, antibiotikum, antivirové, protizánětlivé, antinociceptivní |
| α -pinen | Protizánětlivý, bronchodilatační, stimulační, antibiotikum, antineoplastický, AChE inhibitor |
| α -terpineol | Sedativum, antibiotikum, inhibitor AChE, antioxidant, antimalarikum |
| Terpineol-4-ol | AChE inhibitor, antibiotikum |
| p-cymen | Antibiotikum, antikandididum, inhibitor AChE |

3.2.3 Flavonoidy

Flavonoidy mají mnoho funkcí ve fyziologii rostlin. Poskytují rostlinnou pigmentaci, podílejí se na růstu a vývoji rostlin, chrání je proti patogenům a predátorům a také proti škodlivým účinkům UV záření (Treutter 2005). Vykazují širokou škálu farmakologických a biologických vlastností, jsou lipofilní a mají afinitu k biologickým membránám. Mohou působit jako lapače volných radikálů a působit tedy jako antioxidanty. Flavonoidy jsou schopny modifikovat aktivity mnoha enzymatických systémů v lidském těle a také měnit funkci různých typů buněk v buněčných systémech savců. Tyto vlastnosti souvisí například s imunitními funkcemi a antikancerogenními účinky. Mezi další účinky flavonoidů patří antibakteriální, antifungální a antivirové účinky. Mezi hlavní flavonoidy v konopí patří kanaflaviny A a B, u kterých bylo zjištěno, že inhibují prostaglandin E2 v lidských revmatoidních synoviálních buňkách. Kanaflavin A dokonce s vyšší účinností než léčivo Aspirin. Kanaflavin A má také protizánětlivé vlastnosti, způsobené inhibicí zánětlivých enzymů (Hazeckamp et al. 2010).

3.2.4 Alkaloidy

V konopí bylo identifikováno celkem 10 alkaloidů v různých částech rostliny vyjma květů (Zielonka et al. 2020). Jako první se izoloval kanabisativin z kořene rostliny a následně

anhydrokanabisativin z kořenů a listů. V současnosti o žádném z konopných alkaloidů nejsou známy žádné významné farmakologické informace, pravděpodobně protože jsou přítomny ve velmi malém množství a nejsou relevantní pro žádnou biologickou aktivitu konopí (Russo et Marcu 2017). Obecně jsou ovšem alkaloidy považovány za velmi biologicky aktivní sloučeniny (Hazeckamp et al. 2010).

3.2.5 Stilbenoidy

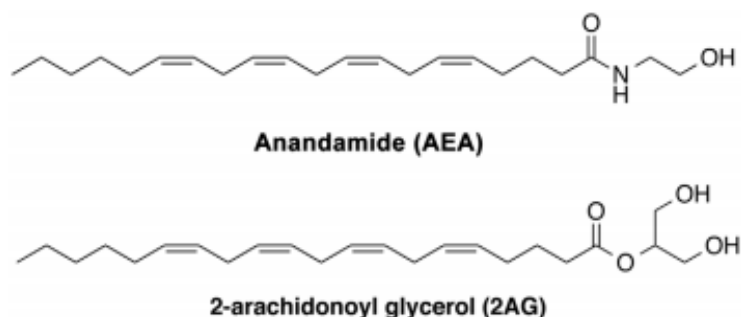
Stilbenoidy se často vyskytují u rostlin, kde plní obrannou funkci (konstitutivní a indukované obranné mechanismy), inhibují růst a signalizují k dormanci. Jsou to fenolické sloučeniny a v konopí se nachází ve stonku, listech a pryskyřici. Pravděpodobně mají antibakteriální a antifungální aktivitu. V konopí se nejčastěji vyskytuje kanipren a dihydroresveratrol. Celkem v konopí bylo identifikováno 19 různých stilbenoidů (Zielonka et al. 2020).

3.3 Možnosti využití konopí v medicíně

Konopí má široké účinky na lidský organismus a jeho využití v medicíně může mít velký význam. Farmakologie a farmakodynamika konopí je ovšem velice složitá a různorodá. Obsahuje vysoké množství různorodých biologicky aktivních látek, mezi kterými navíc může docházet k interakcím („Entourage effect“). Velkou část farmakologických mechanismů konopí, které jsou také základem jeho terapeutických účinků, lze vysvětlit prostřednictvím endokanabinoidního systému (Russo et Marcu 2017).

3.3.1 Endokanabinoidní systém

Většina biologických vlastností souvisejících s kanabinoidy závisí na jejich interakci s endokanabinoidním systémem (ECS) (De Petrocellis et al. 2011; Di Marzo et Piscitelli 2015). ECS vykonává hlavní regulační homeostatické funkce v mozku, kůži, zažívacím traktu, játrech, kardiovaskulárním systému, urogenitální traktu a dokonce i v kostech (Pacher et Kunos 2013; Maccarrone 2015). Zahrnuje kanabinoidní receptory spojené s G-proteinem, CB1 a CB2, endogenní ligandy (endokanabinoidy) anandamid a 2-arachidonylglycerol a enzymy zodpovědné za metabolismus (jejich biosyntézu a inaktivaci) endokanabinoidů. Mezi hlavní endokanabinoidy patří anandamid a 2-arachidonylglycerol (De Petrocellis et al. 2011; Di Marzo et Piscitelli 2015). Endokanabinoidy působí jako lokální mediátory (Hazekamp et al. 2010) a předpokládá se, že modulují nebo hrají regulační roli v různých fyziologických procesech jako je například chuť k jídlu, vnímání bolesti, nálada, paměť, zánět, inzulínová citlivost a metabolismus tuků a energie (De Petrocellis et al. 2011; Di Marzo et Piscitelli 2015). Je možné, že klinický nedostatek endokanabinoidů je příčinou mnoha lidských chorob způsobujících bolest a psychiatrické poruchy (McPartland et al. 2014; Russo 2016).



Obrázek 10 Endogenní ligandy anandamid (AEA) a 2-arachidonylglycerol (2AG) (Hartsel et al. 2016)

CB1 je neuromodulační receptor objevený v roce 1988 (Devane et al. 1988). Má hlavní homeostatický vliv na centrální nervový systém (CNS) a jde o nejhojnější receptor spřažený s G-proteinem (Glass et al. 1997). Receptory CB1 se nacházejí v centrálním nervovém systému a v celém mozku, také v imunitních buňkách, ve tkáni gastrointestinální, reprodukční, nadledvinové, srdeční, plicní a ve tkáni močového měchýře. Fytokanabinoidy s afinitou k receptorům ECS, proto mohou mít účinky v těchto orgánech (De Petrocellis et al. 2011). Receptory typu CB2 jsou přítomny v bílých krvinkách a předpokládá se, že ovlivňují imunitní systém (Hazekamp et al. 2010) a regulují aktivitu cytokinů (De Petrocellis et al.

2011). Z tohoto důvodu je konopí často používáno k samoléčbě imunokompromitovanými jedinci (Hazekamp et al. 2010). Konopí ovšem není jediná rostlina obsahující sloučeniny se schopností interagovat s ECS. Mezi další rostliny patří například šalvěj divotvorná (*Salvia divinorum*) obsahující salvinorin A; mrkev obecná (*Daucus carota*) – carotatoxin; pepřovník opojný (*Piper methysticum*) – yangonin; třapatka (*Echinacea*) a další (Russo 2016). Z kanabinoidů konopí má nejvyšší schopnost aktivovat receptory CB1 a CB2 THC. Soubor endogenních kanabinoidů (endokanabinoidom) a rostlinných (fytokanabinoidom) jsou svými účinky částečně podobní. Fytokanabinoidy pravděpodobně svými účinky napomáhají k vytvoření endokanabinoidomu (Di Marzo et Piscitelli 2015) a to může být jeden z důvodů, jejich léčebných účinku (Russo 2016).

3.3.2 „Entourage effect“

Některé fytochemikály konopí spolu navzájem interagují a tím způsobují zvýšenou biologickou aktivitu. Tento jev se popisuje jako „Entourage effect“. Konopí má v závislosti na množství obsažených sloučenin (Russo 2011) a různém poměru těchto látek napříč genotypy (Lewis et al. 2018) velice široké spektrum účinků (Russo 2011). Bylo dokázáno, že surový extrakt z květenství vykazuje při léčení lepší účinky než jednotlivé fytochemikály (Russo 2019).

„Entourage effect“ byl poprvé pozorován ve vazebné afinitě ligandu 2-arachidonoylglycerolu (2-AG) k endokanabinoidnímu receptoru CB1 a bylo zjištěno, že vazebná afinita 2-AG k CB1 byla zvýšena v přítomnosti palmitoylglycerolu a linoleylglycerolu (Ben-Shabat 1998). Později byl tento efekt zjištěn také u fytochemikálů a začalo se předpokládat, že hlavní aktivní složky v přítomnosti jejich doprovodných sloučenin mají lepší terapeutickou aktivitu než jejich izolované látky použité samostatně (Mechoulam et Ben-shabat 1999).

„Entourage effect“ se nejčastěji týká zvýšené biologické aktivity připisované interakci mezi fytochemikály a terpeny (Russo 2011; Namdar et al. 2019). Vyšší aktivita byla ovšem pozorována pouze při určitých poměru směsi fytochemikálů a terpenů nacházejících se ve specifických chemovarech. Předpokládá se, že doprovodný účinek může být závislý na velmi specifické kombinaci fytochemikálů a terpenů (Namdar et al. 2019).

3.3.3 Léčebné účinky konopí

Konopí má velmi významný léčivý potenciál. V případě bolesti, nechutenství, zvracení či křečových stavů byla již prokázána terapeutická účinnost a bezpečnost využití konopí a jeho přípravků. Existuje také množství důkazů o léčebných účincích na Parkinsonovu nemoc, Tourettův syndrom, stařeckou demenci (hlavně na Alzheimerův syndrom), epilepsii (především frekventních a na jinou léčbu nereagujících dětských epilepsií), nespavost a další poruchy spánku, fibromyalgii, posttraumatickou stresovou poruchu a úzkost. Léčebné konopí se také jeví jako potenciální možnost léčby idiopatických zánětů střev jako je Crohnova nemoc a ulcerózní kolitida a dále u různých nádorových onemocnění (Zábranský et al. 2017). V literatuře se také uvádí možnost využití konopí k léčbě roztroušené sklerózy, autismu, ztráty chuti k jídlu a kachexie, lupénky, revmatoidní polyartritidy, aterosklerózy, diabetu mellitu 2. typu, osteoporózy, vedlejších

účinků spojených s radioterapií, glaukomem, autoimunitního onemocnění štítné žlázy či dalších onemocnění (Zielonka et al. 2020).

Chronická bolest

Je prokázáno, že neurální signalizací receptorů endokanabinoidního systému - CB1 a CB2 (viz kapitola 3.3.1 Endokanabinoidní systém) je možné ovlivnit vnímání bolesti. Tímto způsobem probíhá i regulace bolesti pomocí konopí (Zábranský et al. 2016). Na regulaci bolesti se podílí především fytokanabinoidy, hlavně THC a CBD (Andre et al. 2016), ze kterých vyrábí i několik hromadně připravovaných léčivých přípravků. Příkladem je léčivý přípravek Sativex, který se vyrábí z THC a CBD v poměru 1:1 (viz 3.2.1 Fytokanabinoidy) (Zábranský et al. 2016).

Nevolnost a zvracení

Konopí je schopné potlačit nevolnost či zvracení v kouřené fomě (Parker et al. 2011). Endokanabinoidní systém je distribuován také v zažívacím traktu a díky tomu je konopí účinné při léčbě nevolnosti a zvracení (Sharkey et al. 2014). Účinek je dán působením na receptory CB2 a to především kanabinoidy CBD a THC (Zábranský et al. 2016). V klinické studii v roce 2001 se u pacientů podstupujících chemoterapeutickou léčbu různých nádorových onemocnění potvrdil účinek proti nevolnosti i zvracení. V případě kouření léčebného kouření v 70 až 100% a při orálně podávaném THC 76 až 88% testovaných pacientů (Musty et Rossi 2001).

Při léčbě nevolnosti a zvracení se ovšem po podání kanabinoidů může vyskytnout nežádoucí sedace, omámení či pocit sucha v ústech. I přes zmíněné nežádoucí účinky se konopí jeví vhodné k léčbě v případech, kde konvenčně podávaná antiemetika neúčinkují (Smith et al. 2015). Celkově se konopí a jeho přípravky jeví jako vhodná možnost léčby nevolnosti a zvracení a je minimálně stejně účinná jako konvenční antiemetika či v některých případech i účinnější (Whiting et al. 2015).

Parkinsonova nemoc

Parkinsonova nemoc (PN) se vykytuje především u starších jedinců a za její hlavní příčina je pravděpodobně snížení počtu dopaminergních neuronů v bazálních gangliích. Z důvodu výskytu endokanabinoidních receptorů v bazálních gangliích je tuto chorobu potenciálně možné léčit konopím (Gomez-Galvez et al. 2016; Fernandez-Ruiz et al. 2015). Konopí pravděpodobně pomáhá zmírnit specifické motorické symptomy nemoci jako je například třes, ztuhlost či zpomalenost pohybu (Zábranský et al. 2017).

I přes teoretický základ léčby PN konopím se její účinnost v současnosti spolehlivě nepotvrdila (Zábranský et al. 2017).

Alzheimerova choroba

Předpokládá se, že nízké dávky konopí u dospělých mohou mít příznivý dopad při prevenci nebo dokonce i při léčbě Alzheimerovy choroby. Studie *in vitro* a *in vivo* popisují, že některé kanabinoidní součeniny mají neuroprotektivní schopnosti. Ukázalo se,

že nízké dávky THC mohou u starých potkanů významně zvýšit neurogenezi v hipokampu (Suliman et al. 2018). Zánět mozku je klíčovým faktorem v patogenezi Alzheimerovy choroby a bylo prokázáno, že cílením na receptor CB2 se může snížit neurozánět, poškození oxidačním stresem a zlepšit zhoršenou paměťovou funkci (Aso et al. 2013; Walther et al. 2006).

Souhrnně předklinické a klinické výsledky potvrzují možný příznivý účinek kanabinoidních sloučenin při léčbě AD, ale k plnému pochopení jejich terapeutického potenciálu a možných vedlejších účinků během chronické léčby jsou však nutné další klinické studie (Bonini et al. 2018).

Epilepsie

Konopí je schopné působit proti křečovitým záchvatům především díky fytokanabinoidům, zejména CBD má v tomto ohledu největší potenciál a podobné účinky jsou připisované také kanabivarinu. THC je schopné v některých případech také působit antikonvulzivně, ale v některých naopak může záchvaty vyvolat (Zábranský et al. 2017). Antikonvulzivní účinky konopných kanabinoidů byly potvrzeny na preklinických studiích a zvířecích modelech (Rosenberg 2015). Ve studii z roku 2018 byli potvrzeny účinky CBD, kdy u dětí i dospělých trpících epilepsií rezistentní vůči léčbě bylo zaznamenáno významné zlepšení příznaků (Szaflarski et al. 2018). V současnosti existuje hromadně vyráběný léčivý přípravek Epidiolex vyvinutý firmou GW Pharmaceuticals, který obsahuje CBD a je určen především na různé formy závažné dětské epilepsie s vysokou frekvencí záchvatů odolné vůči konvenční léčbě (Dravetův a Lennox-Gastautův syndrom) (Devinsky et al. 2016).

Poruchy spánku

Pozitivní účinky konopí na nespavost či jiné poruchy spánku je známé již od starověku (Kabelik 1955). Endokanabinoidní systém se podílí také na procesu spánku a mechanismus účinku konopí se připisuje jeho interakci s ECS (Pava et al. 2016). Terapeutický potenciál konopí na spánek je dán zejména vlivem CBD a THC (Bonini et al. 2018). Pro zavedení konopí do běžné lékařské praxe je ovšem potřeba podrobnější výzkum (Zábranský et al. 2017).

Úzkost

Konopí může mít anxiogenní i anxiolytické účinky. Schopnost konopí olivnit úzkost je spojována především s THC a CBD. Vyšší léčebný potenciál je připisován CBD, protože nízké dávky THC sice působí proti úzkosti, ale vysoké dávky mohou úzkosti naopak vyvolat. CBD má hlavně anxiolytické účinky u zvířat i lidí díky působení na limbické a paralimbické oblasti (Whiting et al., 2015). Možným důvodem tohoto anxiolytického působení může být jeho interakce s receptory serotoninu (Zanelati et al. 2010; Linge et al. 2016; Murillo-Rodriguez et al. 2021).

Antikancerogenní účinky

Antikancerogenní účinky konopí a jeho složek jsou popisovány především ve studiích *in vitro* a to zejména u THC, CBD, CBG a CBC (Lal et al. 2021). Protirakovinný účinek konopí je pravděpodobně způsoben selektivním ovlivněním apoptózy buněk a předpokládá se, že endokanabinoidní systém (ECS) má zásadní význam při jejím řízení (Calvaruso et al. 2012). Z důvodu složitosti ECS se ovšem usuzuje, že existuje více mechanismů, které ovlivňují tento účinek. Je také možnost, že protinádorový efekt se vztahuje jen na určité typy nádorů. Na základě *in vivo* pokusů se jeví konopí účinné na gliomy a další nádory nervových buněk, nádory prostaty, a karcinomy prsu (Zábranský et al. 2017).

V souvislosti s nádorovými onemocněními se ukazuje možnost využití léčebného konopí (LK) také pro zmírnění symptomů provázejících léčbu i samotné onemocnění. LK se jeví jako vhodný doplněk léčby onkologických onemocnění díky schopnosti potlačit bolest, nevolnost, úzkost, působit antiemeticky či stimulovat chuť k jídlu (Lal et al. 2021)

Velký zájem v současnosti vyvolává přípravek „Fénixovy slzy“ (FS), koncentrát konopí často s vysokým obsahem THC, který se získá pomocí organických rozpouštědel. FS jsou popisovány jako „všelék“, ale nejčastěji jsou dávány do souvislosti s antikancerogenními účinky (Zábranský et al. 2017).

Pro medicínské využití léčebného konopí pro léčbu nádorových onemocnění je ovšem zapotřebí objektivních klinických studií (Zábranský et al. 2017). „...*klinicky využitelné výsledky výzkumu léčby rakoviny pomocí kanabinoidů a celého konopí a přípravků z něj jedním z nejtoužebněji vyhlížených produktů současné „konopné vědy.“*“ (Zábranský et al. 2017).

Tradiční využití léčebných účinků konopí

V současnosti stále existuje ve světě mnoho domorodých komunit používající konopí jako tradiční léčivo. Například v oblasti Miandamu v Swatu v severním Pákistánu se listy konopí používají k hojení ran, usušené a rozemleté také jako anodyna, sedativa, tonika a narkotika (Akhtar et al. 2013). Malé etnické skupiny venkovských vesnic z Nepálu, Arunáčalpradéšu a Haryany užívají konopí při léčbě zažívacích chorob lidí i hospodářských zvířat, proti bolesti a také po hadím kousnutí (Abbasi et al. 2013; Kunwar et al., 2010; Namsa et al. 2011; Panghal et al. 2010). Někteří chovatelé hospodářských zvířat v Ugandě a v Keni rostlinu používají jako etnoveterinární lék (Gakuubi et Wanzala 2012; Nabukenya et al. 2014). Také v některých izolovaných etnických skupinách na Kavkaze je stále zachováno užívání konopí jako tradičního léku (Bussmann et al. 2016).

3.4 Antibakteriální aktivita konopí

Antibakteriální aktivita konopí je dána jeho biologicky aktivními látkami. Nejvíce se ovšem tato vlastnost zkoumá a připisuje zástupcům ze skupiny kanabinoidů, terpenů a flavonoidů (viz kapitola 3.2 Biologicky aktivní látky v konopí). V závislosti na jejich zastoupení, poměru a množství spolu látky mohou interagovat a případně tak zvyšovat svoji účinnost (viz kapitola 3.3.2 „Entourage effect“).

Pro fytochemikálie (nejen v konopí) bylo navrženo několik antimikrobiálních mechanismů účinku, mezi které patří například poškození bakteriální membrány, inhibice tvorby bakteriálního biofilmu či potlačení faktorů virulence jako jsou enzymy a toxiny (Barbieri et al. 2017). I přes vysokou antibakteriální aktivitu sekundárních metabolitů mnoha rostlin (Gibbons 2004) a schopnost některých účinkovat i proti multirezistentním kmenům bakterií jsou rostliny stále v podstatě nevyužitým zdrojem antimikrobiálních látek (Appendino et al. 2008).

V současnosti nabývá na důležitosti hledání nových zdrojů účinných antimikrobiálních látek, které by mohly omezit nadměrné užívání antibiotik nejen v medicíně, ale i v dalších oborech jako je například zemědělství. V návaznosti na tuto problematiku se tato kapitola věnuje bakteriální rezistenci a také poukazuje na aktuálnost zkoumání antimikrobiálního účinku konopí. Také jsou zde mezi vybranými bakteriemi uvedeny a charakterizovány bakterie použité při testování antimikrobiální aktivity v rámci této práce. Do práce byly vybrány bakterie přenášející se alimentární cestou a způsobující nejčastěji onemocnění gastrointestinálního traktu. U mnohých z nich se bakteriální rezistence již také vyskytuje (viz kapitola 3.4.2 Vybrané bakterie způsobující gastrointestinální onemocnění - *Escherichia coli*).

3.4.1 Účinek na grampozitivní bakterie

Bylo prokázáno, že ve studiích *in vitro* mají konopné kanabinoidy schopnost inhibovat růst grampozitivních bakterií (G+). V případě MRSA jsou schopné inhibovat jeho schopnost tvořit biofilmy, vymýtit již vytvořené biofilmy a stacionární fáze buňky odolné vůči antibiotikům. Ze všech hlavních kanabinoidů (THC, CBD, CBC, CBG, CBN – viz 3.2 kapitola Biologicky aktivní látky) obsažených v konopí se ukazuje CBG jako nejvíce účinný na MRSA. CBG dokáže MRSA inhibovat již při minimální inhibiční koncentraci (MIC) 2 µg/ml, také je schopen potlačit tvorbu či vymýtit již vzniklé biofilmy a dokonce i perzistentní buňky. Ve zmíněné studii se také neúspěšně pokusili vytvořit rezistenci MRSA vůči CBG, tím se potvrdila potenciální možnost využití jako účinného antibiotika. Vůči CBG byl citlivý také *Bacillus subtilis* při MIC 2 µg/ml. Předpokládá se, že účinek CBG u grampozitivních bakterií je způsoben vlivem jeho působení na geny v cytoplasmatické membráně (Farha et al. 2020) Mechanismus působení na cytoplasmatické membráně G+ bakterií může být i příčina účinku CBG na MRSA (Hurdle et al. 2011). V testech *in vivo* byla účinnost CBG srovnatelná s kontrolním antibiotikem, vankomycinem, který byl podáván v podobné dávce. Celkově CBG vykazovala slibnou úroveň účinnosti v modelu systémové infekce (Farha et al. 2020).

Antibakteriální sloučeniny mohou také narušit bakteriální buněčnou stěnu G+ bakterií a způsobit únik cytoplazmy a její koagulaci (Tian et al. 2018). Ve studii z roku 2020 se zkoumal účinek extraktů semen konopí vůči biofilmu *Staphylococcus aureus*, kde měl extrakt

silný antibakteriální efekt. Mechanismus účinku byl spojován s poškozením buněčných stěn bakterie, ale i dalšími mechanismy antibakteriální aktivity. Inhibice biofilmu byla přisouzena především kanabisinu A, B a C (viz kapitola 3.2 Biologicky aktivní látky) v extraktu (Frassinetti et al. 2020).

Při testování antibakteriální aktivity esenciálních olejů z konopí, které se skládaly z terpenů o různém poměru, se potvrdila také účinnost proti *Enterococcus hirae*, *Enterococcus faecium* and *S. salivarius* subsp. *thermophilus*. Esenciální olej s vyšším zastoupením α -pinenu účinkoval i na klostridie (Nissen et al. 2010).

3.4.2 Účinek na gramnegativní bakterie

Konopí je v současnosti považováno za málo účinné proti G- bakteriím. Při testování účinku kanabinoidů na modelovém organismu *Escherichia coli* vyšla MIC > 128 $\mu\text{g/ml}$, což ukazuje jejich značně nižší účinnost než na G+ bakterie (MIC G+ = 2 $\mu\text{g/ml}$) (Farha et al. 2020). G- bakterie jsou odolné i k jiným antibakteriálním látkám díky malé propustnosti jejich vnější membrány (Krishnamoorthy et al. 2016). Tento důvod může být i příčina nízké účinnosti kanabinoidů (Farha et al. 2020).

V současnosti se k léčbě často uplatňuje kombinace antibiotik, které pak mohou účinkovat i na jinak rezistentní bakterie (Worthington et Melander 2013). Také se mohou použít molekuly rozrušující vnější membránu G- bakterií k usnadnění průchodu sloučenin obvykle účinných pouze na G+ bakterie (Stokes et al. 2017). Ve studii z roku 2020 byla použita kombinace antibiotika (polymyxin B) a CBG k inhibici růstu G- patogenů *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* a *Pseudomonas aeruginosa* a ve všech případech byla potvrzena jednoznačná synergie těchto látek. Tyto výsledky naznačují terapeutický potenciál kombinace antibiotik s kanabinoidy (Farha et al. 2020).

3.4.3 Problematika bakteriální rezistence

Rezistence na antibiotika je celosvětový problém. V současné době stále roste výskyt rezistentních bakterií vůči antibiotikům a s ním i vznik infekcí jimi způsobenými, které jsou často těžce léčitelné a způsobují závažné následky. Objevují se i multirezistentní kmeny odolné vůči všem existujícím antibiotikům (Jindrák, Hedlová, Urbášková a kol., 2014).

Bakteriální rezistence je zapříčiněna několika činiteli, mechanismy, kteří se vzájemně ovlivňují, a to způsobuje rychlejší rozšiřování odolných kmenů bakterií. Mezi činitele, kteří jsou důvodem vzniku a šíření rezistence bakterií k antibiotikům, patří selekční tlak antibiotik, šíření genů odolnosti mezi bakteriemi a horizontální, klonální šíření geneticky totožných kmenů určitého druhu (Kolář 2011).

Bakterie mohou mít rezistenci přirozenou nebo získanou. Přirozená rezistence je daná vlastností mikroorganismu přirozené odolnosti k určitým skupinám antibiotik. Tato vlastnost může být způsobena nepropustností pro antibiotickou látku, enzymatickou inaktivací látky nebo některé mikroorganismy nemusí mít žádné místo pro účinek antibiotika (Goering, 2016).

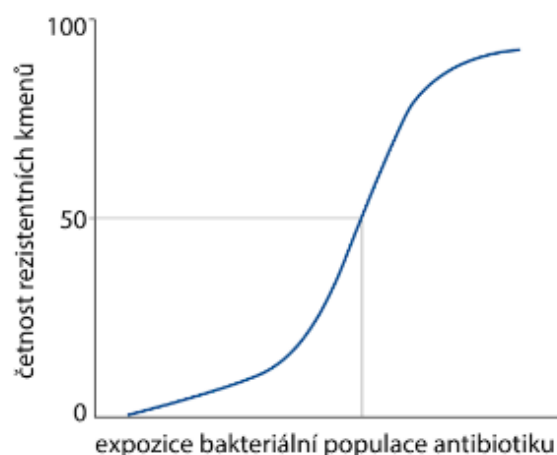
Příkladem přirozené rezistence mohou být gramnegativní střevní tyčky, které jsou vrozeně odolné proti penicilinu, makrolidům a linkosamidům, dále rezistence rodu *Klebsiella* k ampicilinu či streptokoků vůči aminoglykosidům. Znalost přirozené rezistence se používá

k výrobě selektivních půd (Votava, 2005). Důvodem odolnosti gramnegativních bakterií je větší nepropustnost pro molekuly větších rozměrů než mají bakterie grampozitivní. Je to způsobeno vnější membránou a vrstvou peptidoglykanu, kterou je tvořena jejich buněčná stěna (Goering, 2016).

Získaná rezistence vzniká u bakterií sekundárně. Původně vnímavé bakterie na určité antibiotikum vlivem selekčního tlaku získají odolnost. Příkladem je získaná rezistence *Staphylococcus aureus* k penicilinu. V dnešní době na téměř většinu kmenů této bakterie penicilin ztratil efekt. Rezistentních kmenů bakterií pořád přibývá. Tento problém je sledován především v nemocnicích, kde se antibiotika spotřebovávají ve velkém množství, ale na antibiotické rezistenci má podíl i podávání antibiotik hospodářským zvířatům k navýšení váhových přírůstků. Rezistentních zástupců přibývá takovou rychlostí, že se nestačí vytvářet nové antimikrobiální látky, které by dokázaly mikroby zlikvidovat (Votava, 2005). „Jsou oprávněné obavy, že se brzy objeví kmeny například stafylokoků nebo enterokoků, které budou rezistentní ke všem dosud užívaným antimikrobiálním léčivům, a pak se ocitneme tam, kde jsme byli před objevem antibiotik“ (Votava, 2005, s. 241).

Selekční tlak

Selekční tlak bakterií závisí na spotřebě antibiotik (Beneš, 2018). „Při nízké preskripci je selekční tlak malý a bakteriím jakoby nestojí za to, aby si zhoršovaly celkovou zdatnost (fitness) přibíráním genů navíc“ (Beneš, 2018, s. 57/58). Bakterie začnou získávat geny rezistence při dosažení určité kritické hranice působení selekčního tlaku, a to i na úkor jejich zdatnosti. Množství rezistentních bakterií se pak zvětšuje v závislosti na zvyšujícím se selekčním tlaku antibiotik. Seleční tlak přestává růst v případě, kdy je již majoritní část bakterií vůči antibiotiku odolná. Problémem je určení kritické hranice selekčního tlaku, a proto lze jen těžko stanovit spotřebu antibiotik způsobující nízký selekční tlak. Rezistentní bakteriální kmeny mohou postupně zaniknout, když nebudou vystaveny selekčnímu tlaku. Důvodem zániku by byla jejich rezistencí snížená zdatnost, která by zabránila schopnosti soupeřit s jejich původní variantou, označovanou jako „wild“. Dlouhotrvající expozice bakterií antibiotikům může způsobit vznik permanentní rezistence (Beneš, 2018). Důvodem vzniku selekčního tlaku je především nadměrné a nerozumné užívání antibiotik nejen lékaři, ale i neodbornou veřejností či veterináři (Julák, 2006).



Obrázek 11 Závislost rezistence na spotřebě antibiotik (Beneš 2018)

Míra selekčního tlaku záleží na druhu antibiotika a také na druhu bakterií (Kolář 2011). Obecně lze říci, že úzkospektrá antibiotika mají menší vliv na vznik rezistence (Rozsypal, 2015). Selekční tlak lze ovlivnit racionální antibiotickou politikou (Klinická farmakologie a farmacie 2012).

„Dokladem působení selekčního tlaku často používaných antibiotik je častý výskyt multirezistentních kmenů v nemocnicích, nebo volný prodej antibiotik v lékárnách, někdy i v drogériích. Názorným příkladem důsledků volného prodeje a snadné dostupnosti antibiotik jsou studie o výskytu rezistence na pomezí USA a Kanady: zatímco v USA je díky snadné dostupnosti volně prodejných antibiotik vysoká incidence MRSA, v Kanadě s přísnějšími omezeními se vyskytují převážně importované kmeny MRSA“ (Julák 2006, s. 122).

Genetický podklad rezistence

Bakterie si odolnost k antibiotikům získávají chromozomální mutací, přenositelnými plasmidy či transpozony (Votava, 2005). Geny odolnosti se mohou šířit vertikálně, tedy z mateřské buňky na dceřiné či horizontálně mezi dalšími bakteriemi v prostředí (Rozsypal 2015).

Chromozomální mutace

Odolnost dokáže vytvořit pouze jediná chromozomální mutace v buňce bakterie, což bude mít za následek produkci transformované bílkoviny. Zde je podklad rezistence proti streptomycinu, která je zapříčiněna transformací ribozomální bílkoviny či poklesem účinku sulfonamidů vzniklým přetvořením aminokyseliny v enzymu dihydropteroátsyntetasy. Odolnost může také vzniknout zvýšením či snížením samotné produkce bílkovin (Goering 2016). Více mutací je nutné například u pneumokoků odolných vůči penicilinu, kde se mění penicilinvázající bílkoviny (Votava 2005). Chromozomální mutace zajistí přežití a další růst bakterií i při působení antibiotika. Takto upravené bakterie dovedou diseminovat na další, původně nenapadená místa pacienta. Mohou se také rozšiřovat mezi jednotlivými pacienty (Goering 2016). Chromozomální mutace nejsou úplně časté a většinou způsobí odolnost pouze proti jedné skupině antimikrobiálních látek, které jsou strukturně podobné. Tato rezistence se nazývá zkřížená (Goering 2016).

Přenositelné plasmidy

Tento přenos odolnosti je nejzávažnější z důvodu stálosti a možnosti šíření mezi druhy. Závažnost spočívá i v rezistenci na více typů antibakteriálních látek a dále v možnosti přenosu vlastností, které usnadňují další osídlení a pronikání do dalšího vnímavého hostitele (Julák 2006). Plasmidy neboli drobné kruhové molekuly deoxyribonukleové kyseliny se nachází v cytoplazmě buňky a mají přibližně stokrát menší rozměr než DNA obsažená v jádře (Julák 2006). Nesou jediný či více genů. Genetickou informaci z plasmidu jsou bakterie schopné uplatnit shodně jako jadernou DNA, ovšem plasmidy může bakterie i lehce odstranit (Beneš 2018). Odolnost může vzniknout přenášením plasmidů majících gen rezistence. Vyskytují se i plasmidy, které dovedou překlenout mezidruhovou bariéru a odolnost přenést, ty se nazývají promiskuitní. Příkladem je přenesení rezistence z *Escherichia coli* na další enterokoky, gonokoky nebo hemofily (Votava 2005). U gramnegativních bakterií, jako jsou *Escherichia coli* a jiných enterobacteriaceae se objevuje TEM-1, což je beta-laktamasa

zprostředkovaná plasmidem. Ta způsobuje i odolnost *Haemophilus influenzae* vůči ampicilinu či odolnost *Neisseria gonorrhoeae* k penicilinu (Goering 2016). Plasmidy tedy mohou obsahovat faktory, které způsobí rezistenci i proti více strukturně odlišným třídám antimikrobiálních látek, pak vzniká multirezistence, neboli odolnost k několika typům antibiotik (Goering 2016). Tento typ rezistence byl prvně pozorován u střevních bakterií, dnes se předpokládá možnost jejího výskytu u všech kmenů (Goering 2016).

Rezistence způsobená transpozony

Transpozony jsou úseky DNA mající schopnost změnit svou polohu v DNA. Tento přenos může být uskutečněn v rámci jediné molekuly či mezi více molekulami DNA. Tato změna polohy se popisuje jako transpozice. Dokáží vyvolávat mutace, měnit uspořádání genomu, dávají možnost příjmu dalších genů a napomáhají přenosu těchto genů mezi bakteriemi. Podílí se na odstraňování, zdvojování a převracení částí deoxyribonukleové kyseliny. Svůj význam mají i při sjednocování úseků DNA vzniklých při replikaci (Julák 2006). Transpozony také mohou nést gen odolnosti. Při replikaci tvoří kopie, které jsou schopné se začlenit do chromosomu či plastidů, a pro tuto vlastnost se nazývají „skákájící geny“. Lokalizace transpozonů v chromosomu zajistí jejich stálější umístění, rychlost jejich šíření je ovšem závislá na rychlosti rozmnožování bakterie. Transpozony přenášející se z chromosomu na plasmidy se budou rozšiřovat větší rychlostí. K nejrychlejšímu šíření dochází při pohybu kopií transpozonů mezi plasmidy. Možnost tohoto přenosu je z nepřenositelného plasmidu na přenositelný (Goering 2016).

Rezistence způsobená integrony

Sloučením více genů odolnosti vzniká integron. Integrony obsahují enzym, který způsobuje přemísťování tzv. genových kazet, jež obsahují geny rezistence. Tento enzym se nazývá integrasa a je to místně specifický rekombinanční enzym. Integrony mohou být samostatné pohyblivé genetické jednotky nebo se mohou nacházet v transpozomech. Dovedou se šířit i do molekul DNA plasmidů či chromosomů. Dokáží zachytit, uspořádat a přeskupit geny odolnosti (Goering 2016; Julák 2006).

Stafylokoková rezistence k antibiotikům

Odolnost stafylokoků proti meticilinu je zapříčiněná geny, které jsou lokalizovány v jedinečném uspořádání kazety. Její odborný název je stafylokoková chromozomální kazeta a značka SCCmec. Kazeta má své cílové místo v chromozomu stafylokoků. Do kazety lze vkládat další elementy odolnosti, jimiž mohou být například plasmidy nebo transpozony a také dovede přetvořit svoje vnitřní uspořádání (Goering 2016).

Mechanismy vzniku rezistence

Existují tři hlavní způsoby vzniku rezistence, jimiž jsou změna cílového místa účinku antibiotika, změna přístupu na cílové místo účinku a enzymatická inaktivace látky (Goering 2016; Votava 2005).

Změna cílového místa účinku

Bakterie dokážou změnit místo účinku snížením afinity pro antibiotický přípravek a i po této změně bakterie zůstanou stále životaschopné. Je zde také možnost vytvoření nového cílového místa, jímž může být například enzym (Goering 2016). Příkladem tohoto mechanismu je odolnost na linkosamidy, makrolidy či beta-laktamy (Votava 2005).

Změna přístupu na cílové místo

Změna přístupu může být zapříčiněna snížením permeability buněčné stěny či schopností mikroorganismu vypudit látku mimo buňku. Vypuzení můžeme vyjádřit také jako eflux. Tyto vlastnosti mikroorganismu způsobí zmenšení množství léku, které se dostane k místu účinku (Goering 2016). Tento typ mechanismu způsobuje rezistenci na aminoglykosidy, chinolony či tetracykliny (Votava 2005).

Enzymatická úprava či inaktivace látky

Bakterie mohou vytvářet enzymy schopné rozkládat antibiotika. Příkladem těchto enzymů jsou beta-laktamasy působící na beta-laktamy. Dále mohou produkovat enzymy upravující aminoglykosidy nebo chloramfenikol acetyltransferázy (Goering 2016; Votava 2005).

Prevence vzniku rezistence

Souhrn postupů, které mají za cíl zabránit vzniku odolných kmenů bakterií, se nazývá antibiotická politika. Před použitím antibiotik je nutné brát ohled na etiologii infekčního agens, především je vždy nutné rozlišit bakteriální a virovou infekci a případně pak citlivost agens k antimikrobiálnímu přípravku (Julák 2006). Při léčbě antibiotiky je nutné vybrat účinnou antibakteriální látku a poté dodržet dostatečné hladiny antibiotika v organismu. Nízká hladina antibiotika v těle může způsobit nedostatečnost léčby a zvětší se tím i možnost selekce odolných kmenů bakterií. Nadměrná dávka zase zvyšuje toxicitu látky pro člověka (Rozsypal 2015). Vhodnost použití antibiotik či jiných antimikrobiálních látek je nutné uvážit nejen ve zdravotnictví, ale ve všech oblastech, kde se tyto látky používají, aby se zamezilo jejich nadměrnému používání (Julák 2006).

3.4.4 Vybrané bakterie způsobující gastrointestinální onemocnění

Rod: *Escherichia*

Rod *Escherichia* patří do čeledi *Enterobacteriaceae* a zahrnuje gramnegativní fakultativně anaerobní, tyčinkovité bakterie, které produkují plyn z fermentovatelných sacharidů a obvykle jsou pohyblivé pomocí bičíků. Nejvýznamnější zástupce rodu je *Escherichia coli*. Mezi další druhy rodu patří *E. albertii*, *E. blattae*, *E. fergusonii*, *E. hermanii* a *E. vulneris* (Leung et Gallant 2014).

Escherichia coli

Escherichia coli je gramnegativní, fakultativně anaerobní tyčinka (Murray et al. 2013). Používá se jako modelový organismus v laboratořích a rovněž se používá pro tvorbu rekombinantních vakcín pomocí antigenů jiných bakterií, které se do ní vkládají (Votava et al. 2010). Přirozeně se vyskytuje v tlustém střevě savců a člověka. Za normálních podmínek je *Escherichia coli* nepatogenní, symbiotická bakterie, která produkuje vitamin K a potlačuje patogeny, které by mohly osídlit tlusté střevo. Schopnost potlačovat patogeny je daná tvorbou kolicinů, což jsou specifické bílkoviny ze skupiny bakteriocinů. Je schopna přijímat plazmidy, které mohou obsahovat metabolické geny, geny rezistence či geny zapříčínující produkci toxinů. Problémem zde může být tedy například rezistence na β -laktamová antibiotika či vytvoření faktorů virulence (Schindler 2014).

Virulentní kmeny *Escherichie coli* se mimo jiné rozdělují podle projevů infekce. EPEC je enteropatogenní kmen *Escherichia coli*, zapříčínuje průjmy novorozenců a kojenců, obvykle s příměsí krve a bez horečky. Netvoří toxiny a je málo invazivní. ETEC je enterotoxigenní kmen *Escherichia coli*, který produkuje termolabilní a termostabilní toxiny. Způsobuje průjmy cestovatelů, které jsou vodnaté a bez horečky. Kmen EIEC je enteroinvazivní. Ke sliznici střeva se přichytí pomocí bílkovin vnější membrány, do které pronikne a rozmnoží se. Projevuje se akutními průjmy s příměsí hlenu a krve. EAEC je enteroadherentní *Escherichia coli*, která přilne ke sliznici. Infekce způsobená tímto kmenem je mírná a nerozšiřuje se. EHEC je Enterohemoragická *Escherichia coli*, její nejčastěji se vyskytující sérovar O157:H7 je nejvíce nebezpečný. Vyvolává hemoragickou kolitidu, která může vést až ke vzniku hemoragicko-uremického syndromu, jež může zapříčinit smrt. Syndrom způsobuje hemolytickou anémii, trombocytopenii a akutní selhání ledvin. Příčinou infekce je shiga toxin (Schindler 2014). Používá se i pojem STEC, tedy shiga-like toxigenní kmeny, které patří pod EHEC kmeny (Votava 2010). Kmeny UPEC jsou uropatogenní a způsobují infekce mimo střevo, nejčastěji ovšem infikují močové cesty. *Escherichia coli* je nejčastější příčinou uroinfekcí. UPEC se v nemocnicích se vyskytují velmi často a mohou zapříčinit také infekce dýchacích cest a plic, ran, způsobit sepsi, novorozeneckou meningitidu či jiné závažné infekce (Votava 2010). Močové infekce vznikají při přenesení bakterie z konečníku do uretry přes hráz. Infekce se může dostat do močového měchýře či až do pánviček ledviny, pyelonefritida je způsobena kmeny s p-fimbriemi, které se snadno přichytí na epitel močových cest. *Escherichie* často stojí za příčinou infekcí močového měchýře u žen již v mládí (Schindler 2014).

Obecně je *Escherichia coli* celosvětově častou příčinou průjmových onemocnění, je nejčastější příčinou nekomplikovaných i komplikovaných infekcí močových cest a hlavní příčinou bakteremie a neonatální meningitidy (Poolman 2017).

E. Coli se přenáší fekálně orální cestou. Mimostřevní infekce jsou často endogenního původu. Bakterie je odolná, a proto je zde i riziko přenosu kontaktem. Objevuje se rovněž v potravinách (Votava 2010). Podle citlivosti se léčí ampicilinem, cefalosporiny či dalšími typy antibiotik (Votava 2010).

U této bakterie se objevuje rezistence vůči β -laktamovým antibiotikům, která je způsobena produkcí karbapenemáz, což jsou enzymy hydrolyzující karbapenemy či jiná beta-laktamová antibiotika a patří do skupiny beta-laktamáz (Biomedcentral-Antimicrobial

Resistance & Infection Control 2017). Beta-laktamová antibiotika lze rozdělit do čtyř hlavních skupin: peniciliny, cefalosporiny, monobaktamy a karbapenemy (Klinická farmakologie a farmacie 2012). Karbapenemázy vytváří odolnost bakterií většinou ke všem známým druhům antibiotik a je tedy problém i s účinnou léčbou infekcí způsobených takto rezistentními bakteriemi. Karbapenemázy produkují většinou zástupci z čeledi *Enterobacteriaceae* a s produkcí těchto enzymů se označují zkratkou CPE, tedy Karbapenemázy produkující enterobakterie (Klinická farmakologie a farmacie 2012; Věstník ministerstva zdravotnictví České republiky 2012). Rezistence na antibiotika u *Escherichia coli* je rozšířená po celém světě a značně přispívá k nemocnosti, úmrtnosti a nákladům na zdravotní péči. V současnosti je ve vývoji mnoho vakcín, které by mohly omezit nárůst rezistence a pomoci při kontrole onemocnění způsobených *Escherichii coli* (Poolman 2017).

Rod: *Salmonella*

Rod *Salmonella* zahrnuje gramnegativní, fakultativně anaerobní tyčinkovitá bakterie (Crump et Wain 2017). Díky peritrichálně rozmístěným bičíkům jsou pohyblivé, ale v kultuře mohou být nepohyblivé. Patří do čeledi *Enterobacteriaceae* a předpokládá se, že se vyvinuly ze stejného předka jako *Escherichia coli* před 160-180 miliony lety (Mumy 2014). Původně se předpokládalo, že rod zahrnuje pouze jediný druh *Salmonella enterica*, ale v roce 1989 byl navržen druh *Salmonella bongori* (Reeves et al. 1989) a byl potvrzen sekvenováním genomu v roce 2011 (Fookes et al., 2011). Druh *Salmonella enterica* je rozdělen do šesti poddruhů (subspecies): *enterica* (I), *salamae* (II), *arizonae* (IIIa), *diarizonae* (IIIb), *houtenae* (IV) a *indica* (VI) (Crump et Wain 2017). V rámci poddruhů bylo podle klasifikace Kauffmann–White klasifikováno okolo 2600 sérotypů. Odlišování sérotypů je na základě reakce antigenů přítomných na povrchu bakterie s protilátkou (Lynne et al. 2016).

Mnoho sérovarů *Salmonella* je všude přítomných a může způsobit onemocnění u různých hostitelů. Infekce jsou obvykle spojené s konzumací kontaminovaných potravin nebo vody (kontaminace výkaly). Za nejčastější zdroj infekce se považuje maso, mléko a vejce, ale mohou jím být i měkkýši, čerské ovoce či zelenina. *Salmonella* může být přenášena i ptáky či se asymptomaticky vyskytovat u mnoha teplokrevných zvířat, například u prasat nebo psů (Mumy 2014). Za primární hostitele sérotypů způsobující onemocnění u lidí se považuje drůbež, dobytek a prasata. Na člověka mohou být také přeneseny prostřednictvím kontaktu se zvířaty a jejich prostředím. Přibližně 99% sérovarů, které způsobují onemocnění teplokrevných zvířat a člověka spadají do *Salmonella enterica* subsp. *enterica*, zbylé poddruhy (II-VI) jsou obvykle spojené s chladnokrevnými zvířaty nebo se nacházejí v přirozeném prostředí (Crump et Wain 2017). Mezi sérotypy nejčastěji způsobující onemocnění člověka patří Enteritidis (spp. *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. Enteritidis), Typhimurium a Choleraesuis (Lynne et al. 2016). Mezi další sérotypy infikující člověka patří například Dublin, Gallinarum či Typhy (Mumy 2014; Crump et Wain 2017). Pro klinické použití se sérotypy zkráceně pojmenovávají *Salmonella typhi*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella dublin* atd. (Reller 2018).

Onemocnění člověka způsobené těmito bakteriemi může mít různé příznaky. Velikost infekční dávky závisí na konkrétním sérovaru a fyzickém stavu exponovaného jedince. Velmi malá část infekcí je asymptomatická. Většina infekcí způsobuje gastroenteritidu, která se

obvykle projevuje bolestí břicha, horečkou, nevolností a průjmem a příznaky většinou do týdne sami ustoupí. Důležité je ovšem zamezit dehydrataci. Člověk může dále vylučovat bakterie až tři měsíce po odeznění příznaků. Nástup příznaků obvykle nastává do 6–12 hodin po požití kontaminované látky, jídla či vody. Člověk může dále vylučovat bakterie až tři měsíce po odeznění příznaků. Nejvíce ohroženi jsou staří a imunokompromitovaní pacienti. Kromě gastroenteritidy může inekce způsobit onemocnění břišní tyfus způsobená sérotypem *Salmonella typhi*. Pokud se nemoc neléčí, může být smrtelná až u 10% všech infikovaných. Inkubační doba pro tyfus může být až 1 týden a počáteční příznaky jsou podobné gastroenteritidě s přidanými bolestmi svalů. Může se ale dále rozvinout hepatosplenomegalie či neuropsychiatrické projevy. V pozdním stádiu může dojít ke krvácení nebo perforaci střeva, perikarditidě, myokarditidě či infekci sleziny a jater (Mumy 2014; Crump et Wain 2017).

U těchto bakterií se také vyskytuje rezistence na antibiotika. V roce 2010 bylo vyhodnoceno, že 15,3 % izolátů salmonel z člověka (nezahrnovala se *Salmonella typhi*) bylo odolných vůči alespoň jedné antibakteriální látce a u zvířat dokonce 51,9% izolovaných vzorků (Lynne et al. 2016).

Rod: *Bacillus*

Rod *Bacillus* patří do čeledi *Bacillaceae* (Skerman et al. 1980) a zahrnuje tyčinkovité bakterie tvořící spory, mohou být pohyblivé nebo nepohyblivé, aerobní nebo fakultativně anaerobní (také několik striktních anaerobů) a jejich kolonie mohou mít řadu různých morfologií. Zástupci rodu *Bacillus* jsou převážně grampozitivní bakterie, ale několik druhů jsou i gramnegativní (např. *B. azotoformans*, *B. farraginis*, *B. fordii*, *B. fortis*, *B. oleronius* a *B. subterraneus*). Jsou hojně rozšířeni v přírodě a mohou být halofilní, alkalofilní, psychrofilní, termofilní, fototrofní či autotrofní (Cote et al. 2015). Díky endosporám vydrží velmi nehostinné prostředí, jako jsou vysoké teploty, UV záření a chemikálie. Do rodu *Bacillus* patří více než 273 druhů a jejich počet se stále zvyšuje (Borriss 2020). Rod *Bacillus* obsahuje řadu patogenních druhů s různou mírou patogenity. Mezi patogenní zástupce patří například *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *B. pumilus* a *B. licheniformis*, kteří nejčastěji infikují člověka gastrointestinální cestou prostřednictvím potravin (Logan 2012). Obzvláště nebezpečný je *B. anthracis*, který způsobuje antrax a často je dáván do souvislosti s bioterorismem. Je přenosný kožní, gastrointestinální a inhalační cestou prostřednictvím spor. Všechny formy antraxu mohou být smrtelné, ale inhalační forma má bez léčby téměř 100% úmrtnost (Cote et al. 2015).

Bacillus cereus

Bacillus cereus je grampozitivní, aerobní nebo fakultativně anaerobní, pohyblivá, patogenní a oportunní bakterie. V přítomnosti kyslíku je schopná produkovat endospory. *Bacillus cereus* je široce distribuován v prostředí, konkrétně v půdě, kde spóry přetrvávají nepříznivé podmínky (Parihar 2014). Jeho optimální růstová teplota je 28–35 °C s minimem 4–5 °C a maximem 48 °C. Roste v širokém rozmezí pH 4,9–9,3 a při koncentraci solí až 7,5% (Batt 2014). Endospory jsou odolné vůči teplotě, záření, dezinfekčním prostředkům, vysoušení a mají adhezivní schopnosti. Často kontaminují klinická prostředí, biotechnologické procesy

či potravinářskou výrobu a díky adhezivním schopnostem jsou často odolné vůči čisticím postupům (Parihar 2014).

Běžně se nachází v půdě a může být snadno přenesen do zemědělských plodin či zvířat a následně tedy také do potravin. Může se nacházet v různých potravinách, například v mléčných výrobcích, mase, koření a obilovinách. Člověk se nejčastěji nakazí kontaminovaným jídlem, zejména kontaminovanou rýží. I když se rýže uvaří, tak mohou přežít spory a následně při delším skladování v pokojové teplotě se může bakterie pomnožit a produkovat toxin. Následné tepelné opracování před konzumací obvykle již není pro eliminaci bakterií a inaktivaci toxinu dostačující (Batt 2014).

Bacillus cereus nejčastěji způsobuje průjem nebo zvracení a do těla se dostane prostřednictvím kontaminovaných potravin. Emetická varianta se projevuje obvykle za 1-5 hodin od požití kontaminované potravy s bakteriálním toxinem. Průjmová se projeví za 12 i více hodin a je způsobena produkcí enterotoxinů v tenkém střevě (Batt 2014; Parihar 2014). Může také způsobit široké množství oportunních infekcí u imunokompromitovaných i imunokompetentních pacientů, mezi které patří například těžká endoftalmitida, bakteremie, septikémie, endokarditida, zápal plic, meningitida, gastritida a kožní infekce (Parihar 2014).

Rod: *Listeria*

Rod *Listeria* (Listérie) patří do čeledi *Listeriaceae* zahrnuje grampozitivní tyčinkovité bakterie, které tvoří spory ani pouzdra a jsou fakultativně anaerobní. V závislosti na růstové teplotě mohou tvořit bičíky a být pohyblivé. K tvorbě bičíků dochází v teplotách při 20-25 °C. Optimální teplota Listérií je 30-37 °C a některé druhy, zejména *Listeria monocytogenes*, mohou růst při teplotách až 4 °C. I přestože je schopnost replikace u těchto druhů při nízkých teplotách pomalá, tak představuje riziko jejich přenášení potravinami (Batt 2014).

Listérie jsou volně žijící bakterie běžně se vyskytující v půdě, vodě, rostlinách a rozpadající se vegetaci. Byly také izolovány jako komenzální bakterie ze střevní flóry skotu, ptáků a lidí. Rod *Listeria* zahrnuje 10 druhů a 2 poddruhy, z nichž pouze *Listeria monocytogenes* a *Listeria ivanovii* jsou patogenní. *L. ivanovii* je pravděpodobně striktně zvířecí patogen, který je zvláště spojován s potratem u přežvýkavců (Dortet et al. 2014).

Listeria monocytogenes

Listeria monocytogenes je grampozitivní, fakultativně anaerobní bakterie, která není schopna tvořit spory. Při teplotě 28 °C má jeden až pět bičíků umožňující pohyb a při vyšších teplotách má sníženou nebo žádnou pohyblivost. Je schopna růst při teplotách od 2 °C do 42 °C (McMullen et Freitag 2015).

Listeria monocytogenes je potravinový patogen způsobující listeriózu, v určitých případech i smrtelné gastrointestinální onemocnění (Jordan et McAuliffe 2018). Nachází se všude v prostředí, například ve vodě, půdě či výkalech. Má také schopnost přežít v lidském těle a procházet střevní, hematoencefalickou i fetoplacentární bariérou, infikovat orgány. Může infikovat mozek nebo dělohu a způsobit tak závažné život ohrožující infekce, jako je meningitida, encefalitida či potrat. Zdraví jedinci obvykle nejsou citliví na infekci *Listeria monocytogenes*, ale pro osoby se sníženou imunitou může mít závažné následky. Především

jsou ohroženi starší lidé, novorozenci a těhotné ženy (Buchanan et al. 2017). U zdravých jedinců se listerióza obvykle projeví jako samo-odeznívající gastroenteritida, u vnímavých jedinců se může vyvinout bakteremie, infekce CNS, placentární infekce či jiné formy onemocnění spojené s vysokou úmrtností (McMullen et Freitag 2015).

Díky širokému rozšíření dochází také ke kontaminci prostředí určené pro zpracování potravin, kde může díky tvorbě biofilmu, schopnosti odolávat dezinfekčním prostředkům, různým pH a teplotě přežít dlouhou dobu (Jordan et McAuliffe 2018). Infekce touto bakterií je často způsobena konzumací kontaminovaných měkkých sýrů a masa (McMullen et Freitag 2015). Listérie jsou usmrceny při 60 ° C, proto je pasterizace účinná možnost pro její eliminaci z mléčných výrobků (Dortet et al. 2014).

Používá se jako modelový systém pro studium intracelulární patogeneze bakterií (Dortet et al. 2014) a studium infekce v tkáňových kulturách a zvířecích modelech pomohlo identifikovat řadu aspektů týkajících se signálních kaskád, fyziologie buněk a imunitní odpovědi hostitele na intracelulární patogeny (McMullen et Freitag 2015).

Rod: *Staphylococcus*

Zástupci rodu *Staphylococcus* (stafylokoky) jsou grampozitivní, obvykle fakultativně anaerobní kokovité bakterie, které jsou nepohyblivé a tvoří spory (Samanta et Bandyopadhyay 2020). Mají vysokou odolnost vůči solím. Rod *Staphylococcus* zahrnuje 48 druhů a 21 poddruhů a patří do čeledi *Staphylococcaceae*. Rozděluje se na dvě skupiny: koaguláza pozitivní a koaguláza negativní. Stafylokoci jsou široce rozšířeni v přírodě a obvykle se vyskytují jako komenzální bakterie na kůži a sliznicích zvířat i člověka (Leroy et al. 2016). Například *Staphylococcus capitis* se často vyskytuje na pokožce hlavy, *Staphylococcus aureus* kolonizuje nosní dírkou u 25 – 50% lidí a *Staphylococcus epidermidis* je primární organismus nacházející se na epidermální vrstvě jako součást běžné kožní mikrobioty (Gillaspay et Iandolo 2014). Mohou být ovšem příčinou oportunních infekcí a některé druhy jsou také uznány jako lidské i zvířecí patogeny. Mezi patogenní druhy patří zejména *Staphylococcus aureus*, spadající do skupiny koaguláza pozitivních stafylokoků. Koaguláza negativní zástupci jsou obvykle nepatogenní a jsou považovány většinou za prospěšnou mikrobiotu spojenou s potravinami. Mohou se běžně vyskytovat v potravinách živočišného původu, hlavně ve fermentovaných potravinách. Některé druhy jsou také používány v potravinářském průmyslu ke zlepšení barvy, chuti a k omezení žluknutí masných výrobků či jako startovací kultury masa či mléka (vybrané kmeny *Staphylococcus carnosus* a *Staphylococcus xylosus*). Mohou být také použity jako bioprotektivní kultury. Některé koaguláza negativní druhy ovšem mohou také produkovat faktory virulence a být zdrojem především nozokomiálních infekcí. Mezi tyto druhy patří například *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus lugdunensis* a *Staphylococcus saprophyticus* (Leroy et al. 2016).

Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus (STAU) je komenzální lidský i zvířecí grampozitivní kokovitá bakterie vyskytující se jako komenzál u člověka i zvířat. Přibližně 30% lidské populace je kolonizována STAU a to zvláště na kůži, sliznicích a v nosních dírkách. STAU je ovšem

schopen vyvolat řadu onemocnění u lidí i zvířat. U člověka může být příčinou například hnisavých zánětů kůže i podkoží, zápalu plic, endokarditidy, syndromu toxického šoku, můžež infikovat také kosti a klouby či močové cesty a často je spojen s otravami jídlem. U hospodářských zvířat je spojen například s mastitidou skotu a dalších přežvýkavců. U STAU je také problém s častým výskytem kmenů odolné na antibiotika. Nejčastěji se objevuje varianta odolná na meticilin – meticilin rezistentní *Staphylococcus aureus*, který se poprvé objevil v roce 1961 (Samanta et Bandyopadhyay 2020). Rezistence na antibiotika je obvykle kódovaná na mobilních genetických prvcích (viz kapitola 3.4.3 Problematika bakteriální rezistence) a je zde i riziko genetického přenosu na bakterie v potravinách či zažívacím traktu (Leroy et al. 2016).

Některé kmeny STAU jsou schopny produkovat enterotoxiny v potravinách a následně způsobit stafylokokovou otravu jídlem, která patří mezi nejčastější příčinu onemocnění přenášených potravinami na celém světě. Projevuje se silnou nevolností, zvracením, průjmy a břišními křečemi. K příznakům dochází 2-8 hodin po konzumaci potraviny s enterotoxiny. Hlavním drojem bakterie je člověk a hospodářská zvířata, odkud se poté dostává do potravin. Může také kolonizovat povrchy přicházející do styku s potravinami a stát se perzistentním organismem díky své schopnosti tvořit biofilm. Během přípravy může pak a kontaminovat různé potravinářské výrobky. Má schopnost růst a produkovat enterotoxiny v širokém rozmezí teplot, pH, vodní aktivity i koncentraci soli (Leroy et al. 2016). Samotná bakterie může být zničena vhodnou tepelnou úpravou potravin, ale vyprodukované enterotoxiny jsou extrémně odolné vůči teplu a mohou i po tepelné úpravě zůstat aktivní. Většina otrav spojených s potravinami je způsobena špatnými hygienickými postupy, které umožní růst STAU a následnou produkci enterotoxinů. Nejčastěji jsou kontaminovány potraviny vyrobené ručně, které nevyžadují tepelnou úpravu po přípravě (bramborový salát a sýry). U zdravých jedinců onemocnění ustoupí obvykle za 24-72 hodin, ale u imunosuprimovaných může být zapotřebí hospitalizace a intravenózní podání tekutin. Problémem může být i léčba, kdy antibiotika působí pouze na původce toxinu a ne již vzniklé toxiny. Samotné toxiny nejsou přenosné z člověka na člověka (Gillaspy et Iandolo 2014).

4 Materiál a metody

V práci byla mikrodiluční metodou testována antibakteriální aktivita ethanolových extraktů a silic z deseti různých genotypů léčebného konopí (*Cannabis sativa* L.). Pro testování byly použity vybrané bakterie způsobující mimo jiné onemocnění gastrointestinálního traktu.

4.1 Biologický materiál

4.1.1 Konopné extrakty a silice

Extrakty a silice byly připraveny z deseti různých genotypů konopí, které bylo vyšlechtěno pro léčebné účely a lze tedy předpokládat, že obsah THC v těchto rostlinách se bude pohybovat mezi 0,3 % a 25 % a obsah CBD bude do 23 %. Konopí bylo vypěstováno v kontrolovaných podmínkách v pěstírně České zemědělské univerzity v Praze na Katedře kvality a bezpečnosti potravin.

Extrakty i silice byly vyrobeny z usušeného a následně zhomogenizovaného květenství jednotlivých genotypů rostliny. Extrakty byly získány extrakcí květenství pomocí vakuové odparky a silice destilací Clavengerovým aparátem. Výroba byla provedena na Katedře kvality a bezpečnosti potravin České zemědělské univerzity v Praze.

Tabulka 2 Použité genotypy léčebného konopí

| Genotyp | Šlechtitel |
|-------------------|----------------------------|
| Critical 2+ | Dinafem seeds |
| Critical Hog | T.H. Seeds |
| Cheese | Dinafem seeds |
| Gorilla Glue | Fair seeds |
| Granddaddy Purple | Blimburn |
| Green Poison | Sweet seeds |
| Forbidden fruit | Fair seeds |
| Chocolope | Fair seeds |
| Mango Sapphire | Humboldt Seed Organisation |
| Tangie | Fair seeds |

4.1.2 Použité kmeny bakterií

Pro testování antibakteriální aktivity léčebného konopí (extraktů a silic) bylo použito sedm bakterií, z nichž tři byly gramnegativní (G-) a čtyři grampozitivní (G+). Ze skupiny G-bakterií byly použity dva kmeny *Escherichia coli*: DSM 18039 a ATCC 25922 a *Salmonella enteritica* ATCC 13076. Z G+ bakterií byly vybrány bakterie: *Bacillus cereus* ATCC 1177, *Listeria Monocytogenes* ATCC 7644 a dva kmeny *Staphylococcus aureus*: ATCC 25923 a ATCC 29213. Vybrané bakterie pocházely z americké sbírky bakterií ATCC (American Type Culture Collection) nebo německé sbírky bakterií DSM (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen).

4.2 Média a chemikálie

4.2.1 Kultivační médium

Pro kultivaci bakterií se jako živná půda použil kultivační bujón Mueller-Hinton Broth (MHB) CMO405.

4.2.2 Antibiotikum

Pro porovnání antibakteriální účinnosti extraktů s konvenčně užívaným antibiotikem byl použit ampicilin (AMP) v roztoku s počáteční koncentrací (c) 50 µg/ml.

4.2.3 Rozpouštědlo

K rozpuštění extraktů byl použit dimethylsulfoxid (DMSO) v množství 1 ml pro každý extrakt.

4.2.4 Barvivo

Účinnost antibakteriálního působení extraktů a silic byla vyhodnocena pomocí barviva Thiazolylblue (MTT), které obarvilo případné životaschopné bakterie do fialova.

4.2.5 Polysorbát

Pro lepší smáčivost silic byl použit polysorbát Tween 80 smíchaný s médiem v 1 % roztoku.

4.3 Příprava zásobních roztoků

4.3.1 Extrakty

Počáteční koncentrace extraktů byla 1024 µg/ml. Nejprve bylo naváženo potřebné množství extraktů, které se následně smíchalo s 1 ml rozpouštědla. Pro dokonalé rozpuštění extraktů se připravený roztok vložil na 15 minut do ultrazvukové lázně (Bandelin Sonorex Digitec). Z homogenizovaných extraktů se odebralo potřebné množství a naředilo médiem na požadovanou koncentraci. U G⁺ bakterií bylo potřeba pro kontrolu minimální inhibiční koncentrace vytvořit počáteční koncentraci extraktů 32 µg/ml, která byla vytvořena stejným způsobem s vyšším podílem média.

4.3.2 Silice

Stejně jako u extraktů byla zvolena počáteční koncentrace silic 1024 µg/ml. Pro dosažení koncentrace bylo nepipetováno a smícháno silice a smícháno s 1% roztokem Tweenu a média.

4.3.3 Antibiotikum

Požadovaná koncentrace antibiotika byla získána navážením příslušného množství ATB a jeho následné zředění v potřebném množství použitého kultivačního média.

4.4 Příprava inokula

Vybrané bakterie se odebraly ze zásobních roztoků v množství 0,1 ml do lékovky a kultivovaly ve 37 °C 20 hodin. Vykultivovaná bakteriální suspenze se naředila médiem na koncentraci 0,5 McFarlanda, což odpovídá 10^5 kolonií tvořících jednotek (KTJ). Hodnota se zjistila pomocí denzitometru (DEN-1B, Biosan).

4.5 Mikrodiluční metoda

Veškeré činnosti, při kterých hrozí riziko kontaminace okolního prostředí bakteriemi či riziko kontaminace vzorku prostředím, byly prováděny v laminárním boxu, který zajistil sterilní prostředí. Mimo tento box se připravil pouze živný bujón a navázili vzorky extraktů. Všechny použité pomůcky, u kterých je nutná sterilita, byly před začátkem testování vysterilovány v autoklávu.

U extraktů byla provedena tři nezávislá opakování. U silic postačila dvě nezávislá opakování.

4.5.1 Postup

Z připravených roztoků antibiotika, extraktů a silic se pipetou odebralo od každého roztoku 200 μ l a přeneslo do první řady mikrotitrační destičky. Každá mikrotitrační destička zahrnovala také kontrolu čistoty média a nárůstu bakterií (kontrola inokula). Následně se provedlo dvojkové ředění. Koncentrace extraktů a silic byla snižována z 1024 μ g/ml do 8 μ g/ml a v případě G+ bakterií byla koncentrace extraktů snížena až na 0,25 μ g/ml. Koncentrace ATB byla ředěna stejným způsobem z 50 μ g/ml do 0,4 μ g/ml.

Po dvojkovém ředění se inokulátorem naočkovaly destičky a následně nechali kultivovat v teplotě 37 °C přibližně 20 hodin.

Pro vyhodnocení antibakteriální účinnosti konopných extraktů a silic bylo po kultivaci destiček použito barvivo thiazolylblau, které zbarvilo živé bakterie do fialova.

4.6 Statistické vyhodnocení

Ze všech získaných výsledků byly vybrány nejčastěji vyskytující se hodnoty (modus) minimální inhibiční koncentrace (MIC).

5 Výsledky

Výsledné hodnoty minimálních inhibičních koncentrací (MIC) byly získány ze tří nezávislých opakování u extraktů a ze dvou u silic.

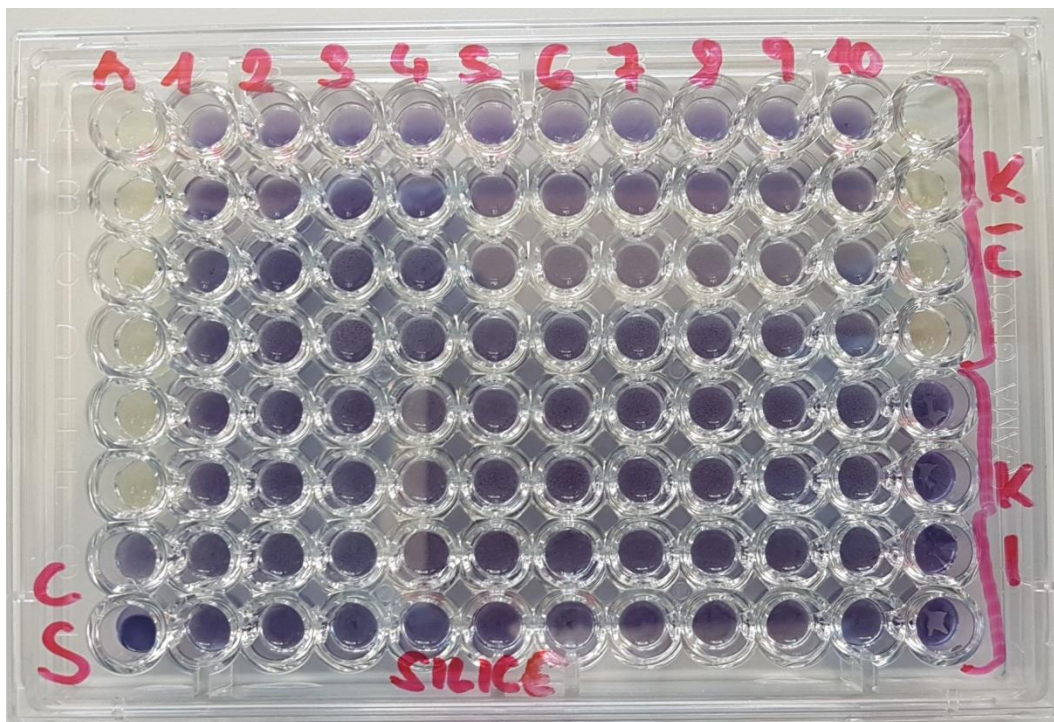
5.1 Antibakteriální aktivita silic

Tabulka 3 Minimální inhibiční koncentrace konopných silic [$\mu\text{g/ml}$] (autor 2021)

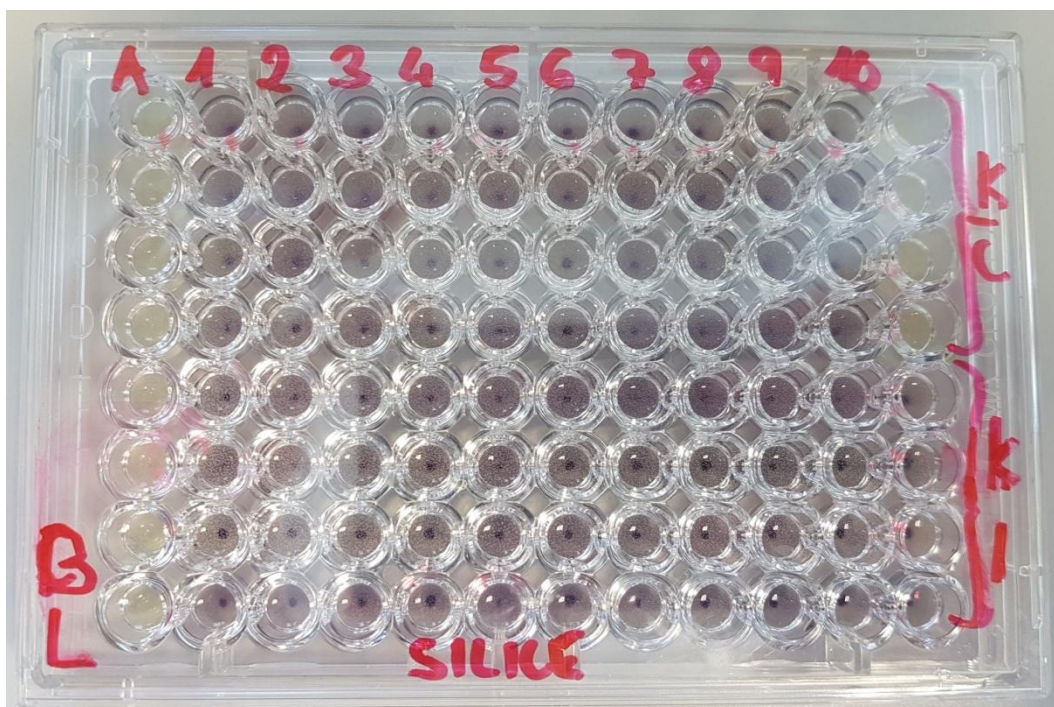
| Bakterie | Critical 2+ | Critical Hog | Cheese | Gorilla Glue | Granddaddy Purple | Green Poison | Forbidden fruit | Chocolope | Mango Sapphire | Targie | Ampicilin |
|------------------------------------|-------------|--------------|--------|--------------|-------------------|--------------|-----------------|-----------|----------------|--------|-----------|
| <i>Escherichia coli</i> 18039 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | 0,8 |
| <i>Escherichia coli</i> 25922 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | 0,8 |
| <i>Salmonella enteritica</i> 13076 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | <0,4 |
| <i>Bacillus cereus</i> 1177 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | <0,4 |
| <i>Listeria monocytogenes</i> 7644 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | <0,4 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> 25923 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | <0,4 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> 29213 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | <0,4 |

Minimální koncentrace silic potřebná k inhibici vybraných bakterií je ve všech případech vyšší než 1024 $\mu\text{g/ml}$ (viz Tabulka 3). Na antimikrobiální aktivitu neměl vliv ani genotyp rostliny, ze které silice pocházely. Při porovnání MIC silic a konvenčně užívaného antibiotika (ampicilin) je jednoznačně několikanásobně vyšší účinnost antibiotika, která byla ve všech případech, vyjma obou kmenů *Escherichia coli*, menší než 0,4 $\mu\text{g/ml}$. U obou kmenů *Escherichia coli* byla výsledná MIC 0,8 $\mu\text{g/ml}$, což ukazuje vyšší odolnost těchto bakterií vůči použitému antibiotiku. MIC silic nad 1024 $\mu\text{g/ml}$ je z terapeutického i ekonomického hlediska neefektivní, a proto již nebyla zjišťována.

Z výsledků uvedených v Tabulce 3 lze vyvodit závěr, že antibakteriální aktivita silic je v porovnání s konvenčně užívaným antibiotikem velmi nízká a to u všech bakterií bez ohledu na genotyp rostliny z jakého jsou silice získány.



Obrázek 12 Testování antibakteriální aktivity silic – *Salmonella enteritica* (počáteční koncentrace silic = 1024 µg/ml)
(autor 2021)



Obrázek 13 Testování antibakteriální aktivity silic – *Listeria monocytogenes* (počáteční koncentrace silic = 1024 µg/ml)
(autor 2021)

Tabulka 4 Minimální inhibiční koncentrace konopných extraktů [$\mu\text{g/ml}$] (autor 2021)

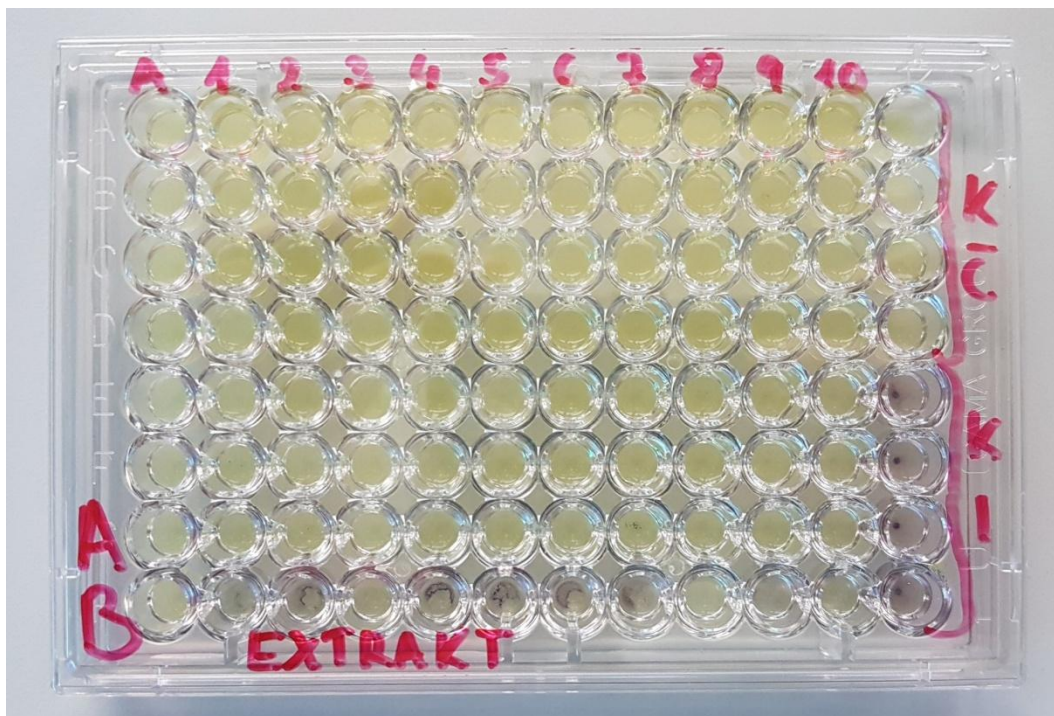
| Bakterie | Critical 2+ | Critical Hog | Cheese | Gorilla Glue | Granddaddy Purple | Green Poison | Forbidden fruit | Chocolope | Mango Sapphire | Tangie | Ampicilin (ATB) |
|------------------------------------|-------------|--------------|--------|--------------|-------------------|--------------|-----------------|-----------|----------------|--------|-----------------|
| <i>Escherichia coli</i> 18039 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | 0,8 |
| <i>Escherichia coli</i> 25922 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | 0,8 |
| <i>Salmonella enteritica</i> 13076 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | >1024 | <0,4 |
| <i>Bacillus cereus</i> 1177 | 16 | 8 | 16 | 8 | 16 | 16 | 16 | 8 | 16 | 16 | <0,4 |
| <i>Listeria monocytogenes</i> 7644 | 16 | 16 | 16 | 8 | 16 | 16 | 16 | 8 | 16 | 16 | <0,4 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> 25923 | 16 | 16 | 16 | 8 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | <0,4 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> 29213 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | <0,4 |

Antibakteriální aktivita extraktů byla u G- bakterií (kmeny *Escherichia coli*, *Salmonella enteritica*) srovnatelná s aktivitou silic. Ve všech případech vyšla MIC vyšší než 1024 $\mu\text{g/ml}$ a na výsledek neměl vliv ani genotyp rostliny, ze kterých byly jednotlivé extrakty připraveny (viz Tabulka 4). V porovnání s antibiotikem je aktivita extraktů několikanásobně nižší.

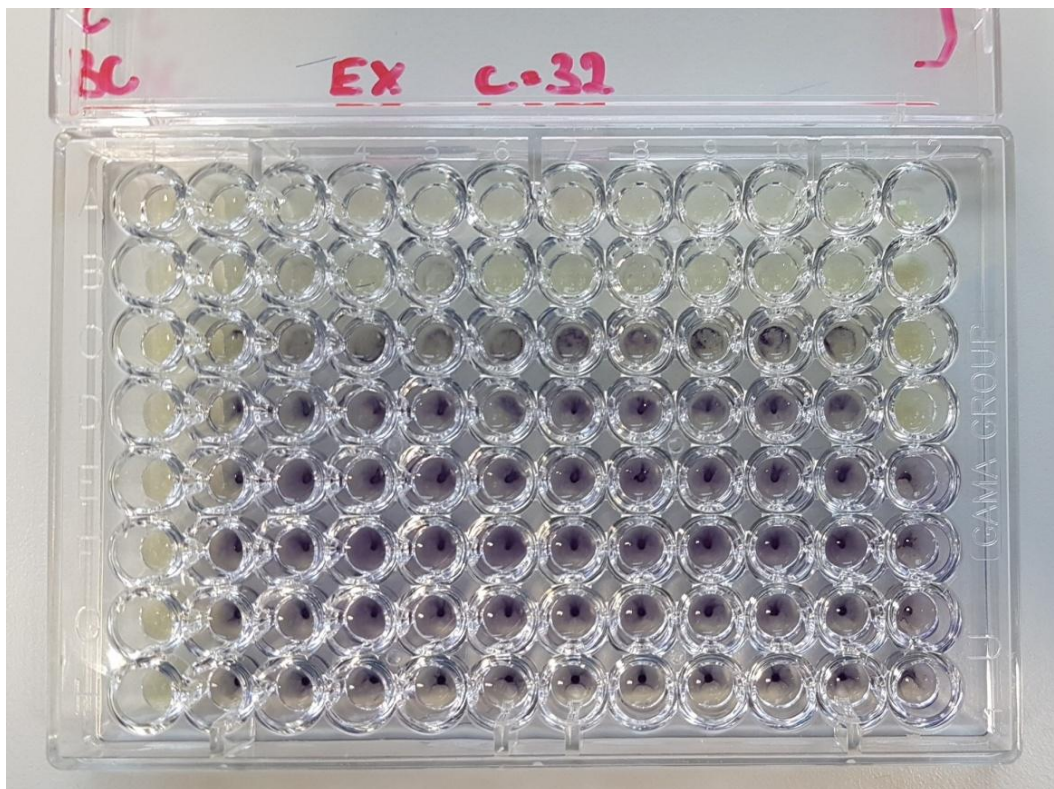
V případě G+ bakterií (*Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, kmeny *Staphylococcus aureus*) byla antibakteriální účinnost extraktů jednoznačně vyšší než u G-. Účinek extraktů byl u jednotlivých G+ bakterií podobný bez výrazných výkyvů hodnot. Ani v jednom případě nebyla překročena hodnota MIC 16 $\mu\text{g/ml}$ a neklesla pod 8 $\mu\text{g/ml}$. Podle výsledků projevuje mírně vyšší antibakteriální aktivitu extrakt z genotypu Gorilla Glue, kde je u *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* 25923 hodnota MIC 8 $\mu\text{g/ml}$. Dále extrakt z genotypu Chocolope, u kterého v případě *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* byla výsledná MIC 8 $\mu\text{g/ml}$ a u bakterie *Bacillus cereus* byla mírně zvýšená aktivita u genotypu Critical Hog, kde MIC vyšla také 8 $\mu\text{g/ml}$ (viz Tabulka 4). V porovnání s antibiotikem je tedy rozdíl v poměru podstatně přijatelnější.

Z výsledků uvedených v Tabulce 4 je vidět markantní rozdíl v antibakteriální aktivitě mezi G+ a G- bakteriemi. U G- bakterií nevyšla MIC extraktů ani jednou prokazatelně nižší než 1024 $\mu\text{g/ml}$ a stejně jako u silic by již bylo hledat MIC z hlediska ekonomického i terapeutického neefektivní. Naopak na G+ bakterie byla účinnost u všech extraktů

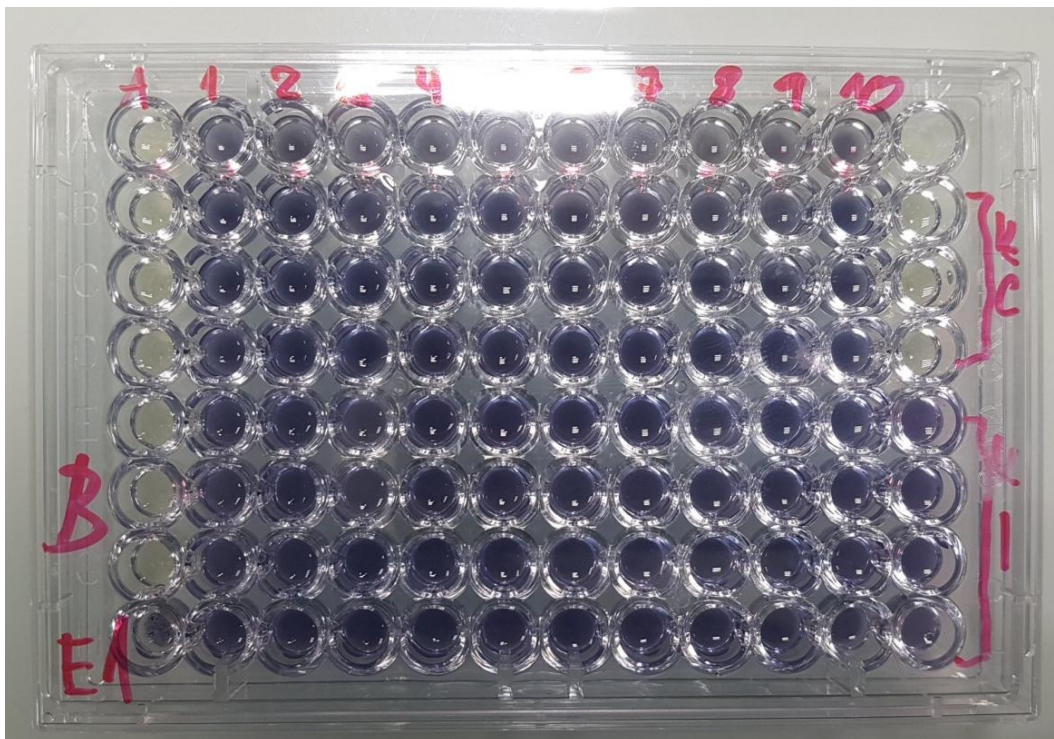
mnohonásobně vyšší než na G- a z výsledků lze tedy potvrdit antibakteriální aktivitu konopných extraktů na vybrané G+ bakterie.



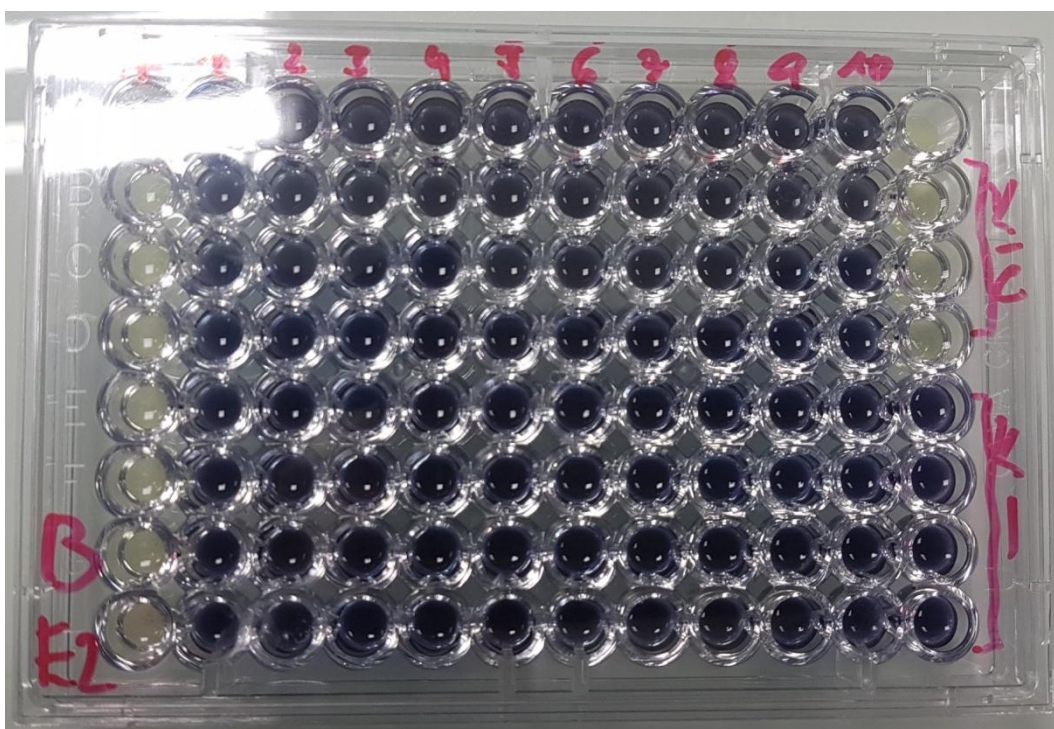
Obrázek 14 Testování antibakteriální aktivity extraktů – *Bacillus cereus* (počáteční koncentrace extraktů = 1024 $\mu\text{g/ml}$) (autor 2021)



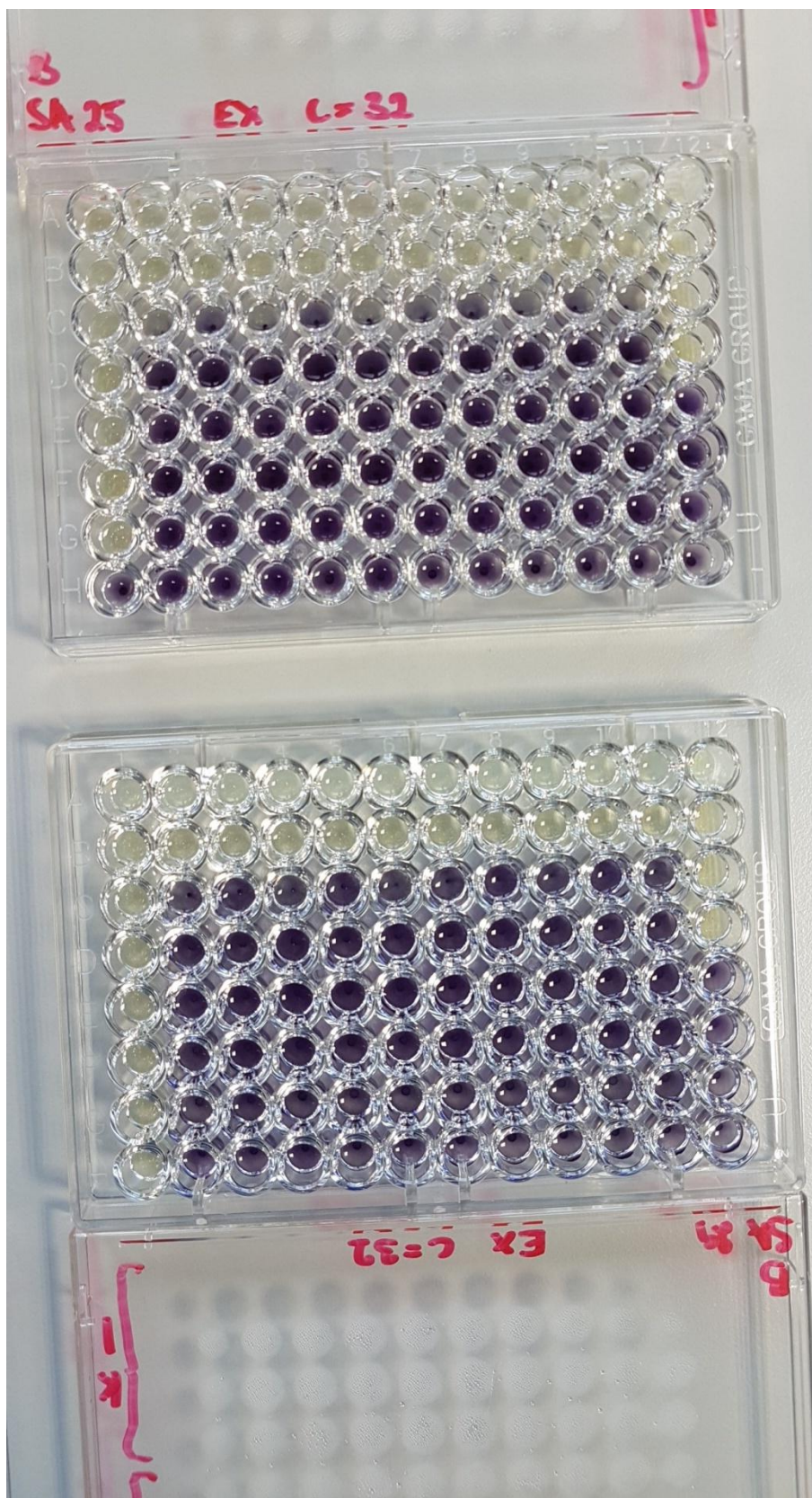
Obrázek 15 Testování antibakteriální aktivity extraktů – *Bacillus cereus* (počáteční koncentrace extraktů = 32 $\mu\text{g/ml}$) (autor 2021)



Obrázek 16 Testování antibakteriální aktivity extraktů – *Escherichia coli* 18039 (počáteční koncentrace extraktů = 1024 $\mu\text{g/ml}$) (autor 2021)



Obrázek 17 Testování antibakteriální aktivity extraktů – *Escherichia coli* 25922 (počáteční koncentrace extraktů = 1024 $\mu\text{g/ml}$) (autor 2021)



Obrázek 18 Testování antibakteriální aktivity extraktů – *Staphylococcus aureus* 25923 (nahore) a *Staphylococcus aureus* 29213 (dole) (počáteční koncentrace extraktů = 32 $\mu\text{g/ml}$) (autor 2021)

6 Diskuze

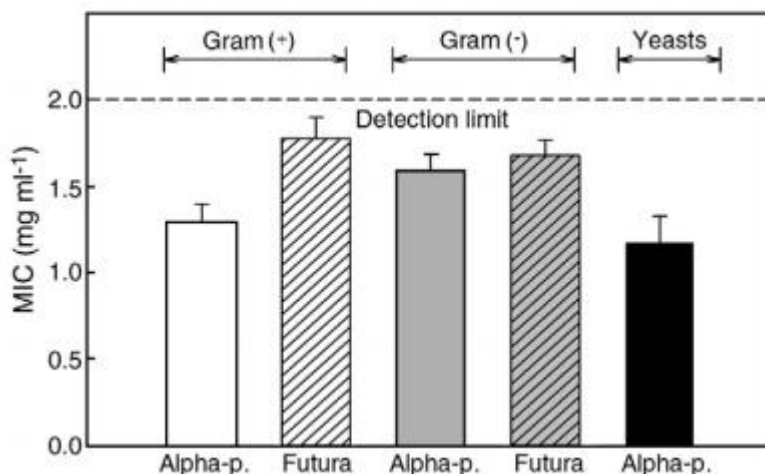
Hledání nových zdrojů účinných antibakteriálních látek je v současnosti stále více aktuální téma a je pravděpodobné, že objevování těchto látek bude dále nabývat na důležitosti. Důvodem potřeby nových antibiotických látek je zvyšování počtu odolných bakterií vůči dosud používaným antibiotikům. Bakterie jsou schopné si v relativně krátké době vytvořit účinné mechanismy rezistence vůči antibiotickým látkám a jejich eliminace/léčba je pak mnohem obtížnější. Jako slibný zdroj nových léčiv se jeví antibakteriální látky přírodního původu, mezi které patří i látky obsažené v konopí.

Výzkum práce byl zaměřen na antibakteriální účinnost konopných extraktů a silic na bakterie způsobující mimo jiné onemocnění gastrointestinálního traktu. Ve vybraných bakteriích jsou zahrnuti i zástupci, u nichž je odolnost na antibiotika závažný problém. Tyto bakterie se mohou dokonce stát téměř až neléčitelné (viz kapitola 3.4.4 *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus*).

6.1 Antibakteriální aktivita konopných silic

Ve všech provedených testování v rámci výzkumu této práce vyšla MIC u silic vyšší než 1024 $\mu\text{g/ml}$ a to u všech bakterií i genotypů rostliny. V porovnání s antibiotikem, kde v žádném případě nevyšla MIC vyšší než 0,8 $\mu\text{g/ml}$, je antibakteriální účinnost mnohonásobně nižší, a proto ze zmíněného terapeutického a ekonomického hlediska již MIC v koncentraci nad 1024 $\mu\text{g/ml}$ nebyla stanovována.

Výsledky práce jsou částečně porovnatelné se studií z roku 2010 (Nissen et al. 2010), kde byla testována antimikrobiální aktivita silic vyskytujících se v konopí a také jednotlivých terpenoidních látek v silicích. Ve studii byly použity silice z několika genotypů konopí a byla zjišťována jejich antibakteriální aktivita na vybrané G+ (*Clostridium* spp., *Enterococcus* spp., *Streptococcus* spp.) a G- bakterie (*Pectobacterium* spp., *Pseudomonas* spp.) a kvasinky. Antibakteriální aktivita silic zde byla nepatrně vyšší na G- bakterie a MIC u G+ i G- vyšla nejčastěji hodnotách mezi 1300 $\mu\text{g/ml}$ a 2000 $\mu\text{g/ml}$. I přes to, že zde byly použity jiné druhy bakterií, je tento výsledek částečně porovnatelný s výsledky naší práce a to v případě, pokud by byly porovnány pouze hodnoty MIC u G+ a G- bakterií obecně bez ohledu na druh. V obou pracích vyšla MIC silic ve všech případech vyšší než 1024 $\mu\text{g/ml}$ a při vztažení výsledků na G+ a G- bakterie obecně, tak potvrzují námi dosažené hodnoty. Ve zmíněné studii byla také testována antimikrobiální aktivita samotných terpenoidních látek v silici. Z těchto látek vykazoval nejvyšší aktivitu α -pinen a u většiny případů vykazoval vyšší aktivitu než celé silice. U G+ bakterií nepřesáhla MIC α -pinenu 1300 $\mu\text{g/ml}$ a v případě bakterie *Enterococcus faecium* (G+) vyšla MIC i 750 $\mu\text{g/ml}$. Ačkolí ani α -pinen nedosahuje hodnot antibakteriální aktivity, které by bylo možné srovnávat s účinností konvenčních antibiotik, je možné usuzovat, že zvyšováním podílu α -pinenu v konopné silici lze dosáhnout vyšší antibakteriální aktivity.



Obrázek 19 Antibakteriální aktivita silic ve studii z roku 2010 (Nissen et. al 2010)

Naši práci je možné porovnat také se studií z roku 2019 (Nafis et al. 2019), kde byla mimo jiné mikrodiluční metodou stanovována MIC silic z marockého genotypu konopí na vybraných bakteriích a kvasinkách. Mezi testovanými bakteriemi byla *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus* a *Staphylococcus aureus* (STAU). Z důvodu vybraných bakterií (dva stejné druhy - *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* a jeden společný rod - *Bacillus*) byla tato studie porovnatelná s naší prací. Jako kultivační médium bylo v této studii také použito médium MHB a tím se zvyšuje relevantnost porovnání výsledků prací. V případě *Staphylococcus aureus* vyšla MIC silic 4700 µg/ml a u testované *Escherichia coli* i *Bacillus subtilis* vyšla MIC silic 1200 µg/ml. Výsledky této studie nevyvracejí námi získané hodnoty (MIC >1024 µg/ml) a pokud bychom také stanovovali MIC v koncentracích nad 1024 µg/ml, tak existuje pravděpodobnost, že můžeme dosáhnout podobných hodnot. Jak již bylo zmíněno, kvůli terapeutickému a ekonomickému hledisku jsme již v koncentraci nad 1024 µg/ml MIC nestanovovali. Ve zmíněné studii bylo pro srovnání použito antibiotikum Ciprofloxacin, kde u bakterie STAU vyšla MIC 31 µg/ml, u *Escherichia coli* 62 µg/ml a u *Bacillus subtilis* 15 µg/ml a tyto výsledky, stejně jako v naší studii, ukazují nízkou antibakteriální aktivitu silic v porovnání s konvenčně používanými antibiotiky. Zajímavostí této studie je výsledek aktivity silic na G- bakterii *Klebsiella pneumoniae*, kde MIC vyšla 37,8 mg/ml a MIC ATB 250 µg/ml, což ukazuje na minimální antibakteriální aktivitu silic na tuto bakterii.

V návaznosti na naši výsledky práce, které nebyly vyvráceny žádnou ze zmíněných studií, je možné konstatovat, že směs terpenoidních látek v konopných silicích má pravděpodobně nízkou antibakteriální aktivitu a tedy i nízký terapeutický potenciál v porovnání konvenčními antibiotiky. Toto tvrzení ovšem nemusí být platné ve všech případech. Jednotlivé terpenoidní látky se mohou v určitém genotypu konopí vyskytovat v poměru, který může výslednou antibakteriální aktivitu silice navýšit a následně tak zvýšit terapeutický potenciál.

I když výsledky studií ukazují na podstatně nižší antibiotický efekt konopných silic v porovnání s antibiotiky, tak je jejich určitá antibakteriální aktivita stále potvrzena.

6.2 Antibakteriální aktivita konopných extraktů

Výsledky práce ukazují na podstatný rozdíl v antibakteriální aktivitě extraktů mezi G- a G+ bakteriemi.

V případě všech vybraných G- bakterií nedošlo k jejich jednoznačné inhibici ani při nejvyšší použité koncentraci 1024 $\mu\text{g/ml}$. V jednom z provedených opakování byl sice na několika mikrotitračních destičkách pozorován mírný antibakteriální účinek extraktů na vybrané G- bakterie v nejvyšší použité koncentraci, ale ani zde nemohla být potvrzena jednoznačná inhibice všech životaschopných bakterií. Účinnost antibiotika zůstává stejná jako v případě silic, tedy lehce vyšší odolnost obou kmenů *Escherichia coli* (MIC = 0,8 $\mu\text{g/ml}$) oproti *Salmonella enteritica* (MIC = 0,4 $\mu\text{g/ml}$). Při porovnání antibakteriální aktivity extraktů a antibiotika je jednoznačná několikanásobně vyšší účinnost antibiotika a stanovení hodnot MIC extraktů nad koncentrací 1024 $\mu\text{g/ml}$ již nebylo provedeno. Stejně jako v případě silic by stanovování MIC v koncentracích nad 1024 $\mu\text{g/ml}$ bylo ekonomicky i terapeuticky nevýhodné.

Ve studii z roku 2020 (Farha et al. 2020) byla zjišťována antibakteriální aktivita konopných kanabinoidů (také vybraných kanabioidních kyselin a isomerů) na G- bakterie a v případě CBC i na G+ bakterie. Z G- bakterií byla mezi vybranými bakteriemi také *Escherichia coli*, na které byla stanovována antibakteriální aktivita CBG, CBD, CBN, CBCA and THC a ve všech případech vyšla MIC vyšší než 128 $\mu\text{g/ml}$. Tímto výsledkem zde potvrzují výsledky předchozích studií (Van Klingeret et Ham 1976; Turner et Elsohly 1981), kde byly MIC kanabinoidů na G- bakterie stanoveny v rozmezí 100-200 $\mu\text{g/ml}$ a tím byla antibakteriální aktivita kanabinoidů na tyto bakterie zamítnuta.

Ačkoli v naší práci vyšla MIC na G- bakterie ještě vyšší (> 1024 $\mu\text{g/ml}$), je nutné zde přihlédnout ke skutečnosti, že v našem případě byl použit celý extrakt a ve zmíněné studii pouze jednotlivé kanabinoidy samostatně. Při porovnání výsledků je možné se domnívat, že samostatné konopné kanabinoidy mají vyšší antibakteriální účinnost než extrakt rostliny se všemi látkami. Může zde vyplynout otázka, zda-li se zvýšením podílu kanabinoidů v extraktu zvýší také jeho celková antibakteriální aktivita. Odpověď ovšem nemůže být jednoznačná, přestože se zvýšením zmíněného podílu antibakteriální aktivita zvýšit může, tak je nutné vzít v úvahu tzv. „entourage effect“, tedy synergii jednotlivých obsažených látek v rostlině (extraktu), která by mohla zvýšit výslednou účinnost/aktivitu celku. Může tedy existovat odrůda s poměrem látek, která by i přes nízké množství kanabinoidů mohla dosahovat vyšší aktivity než samostatné kanabinoidy. Synergie je například popisována mezi kanabinoidy a terpenoidními látkami (Russo 2011).

V již zmíněné studii z roku 2020 (Farha et al. 2020) byl také otestován synergický efekt antibiotika a kanabinoidů. Při použití CBG v přítomnosti subletální dávky antibiotika polymyxinu B (0.062 $\mu\text{g/ml}$), tak v případě bakterie *Escherichia coli* byla MIC snížena na 1 $\mu\text{g/ml}$. Tato synergie byla potvrzena i v případě dalších G- bakterií: *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* a *Pseudomonas aeruginosa*. Snížení MIC je naprosto jednoznačné a touto kombinací je již dosažena terapeutická hodnota.

Na základě těchto poznatků může mít kombinace antibiotik s kanabinoidy či jinými přírodními látkami významný terapeutický potenciál a také lze o této kombinaci uvažovat i jako o možnosti ke snižování vzrůstající antibiotické rezistence.

Jak bylo již zmíněno, výsledky námi provedené studie ukazují jednoznačně na vyšší antibakteriální aktivitu konopných extraktů na G+ bakterie. MIC vybraných G+ bakterií (*Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* 25923, *Staphylococcus aureus* 29213) nebyly v žádném případě výrazně odlišné a pohybovaly se v rozmezí od 8 µg/ml do 16 µg/ml. V porovnání MIC G- bakterií (> 1024 µg/ml) je vidět několikanásobně vyšší antibakteriální aktivita extraktů na G+ bakterie. Při porovnání s MIC použitého antibiotika (< 0,4 µg/ml) je sice účinnost ATB stále vyšší, ale i tak lze hodnoty MIC extraktů považovat za velmi příznivé a případně uvažovat o možnosti případného terapeutického použití.

Výsledky neukazují významné rozdíly účinku extraktů mezi jednotlivými G+ bakteriemi. V průměru vykazovaly konopné extrakty nejvyšší antibakteriální aktivitu na *Bacillus cereus* a následně na bakterii *Listeria monocytogenes* a *Staphylococcus aureus* 25923. Nelze ovšem hovořit o směrodatných rozdílech.

Při srovnání antibakteriální aktivity mezi jednotlivými genotypy konopí, tak nejlepších výsledků dosáhl genotyp Gorilla Glue, který jako jediný dosáhl hodnoty MIC 8 µg/ml u tří G+ bakterií (*Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* a *Staphylococcus aureus* 25923). Dále genotyp Chocologe u dvou (*Bacillus cereus* a *Listeria monocytogenes*) a Critical Hog u jedné (*Bacillus cereus*).

Z výsledků analýzy extraktů provedené na Katedře kvality a bezpečnosti potravin ovšem ani jeden z výše uvedených extraktů nevykazoval výrazné odchylky v obsahu primárních kanabinoidů oproti zbylým. V případě Gorilla Glue byl zaznamenán jen mírný nadprůměr obsahu CBG (0,42%; průměr u použitých extraktů – 0,36%) oproti ostatním extraktům. Ovšem u všech ostatních primárních kanabinoidů byly jednotlivé hodnoty dokonce mírně podprůměrné. Z analýzy silice u Gorilla glue vyšla u této odrůdy jednoznačně nejvyšší hodnota v obsahu karyofylen oxidu a také vysoký obsah β-karyofylenu a β-myrcenu. U ostatních terpenoidních látek u této odrůdy nebyly zaznamenány výrazné odchylky oproti zbylým genotypům. V případě extraktu odrůdy Chocologe vyšly téměř u všech primárních kanabinoidů i jejich kyselin nadprůměrné hodnoty (u THCA, THC, CBGA, CBG, CBCA, CBC). Obsah THCA a THC byl mezi odrůdami jeden z nejvyšších a v případě CBC dokonce nejvyšší obsah ze všech odrůd (0,22%). U analýzy silice zde vyšly nejvyšší hodnoty u terpenoidní látky linalool, valencen a guaiol. U zbylých terpenoidních látek nebyly pozorovány žádné významné odchylky v obsahu mezi jednotlivými odrůdami. V případě odrůdy Critical Hog vyšly podprůměrné hodnoty obsahu u všech primárních kanabinoidů, ale výrazně vyšší obsah limonenu, β-farnesenu, δ-guaienu, δ-kadinenu v silici oproti ostatním použitým odrůdám.

Ze zmíněných nejúčinnějších odrůd vykazovala nejvyšší antibakteriální aktivitu extraktu odrůda Gorilla Glue a to i přes relativně malý obsah kanabinoidů. Ovšem v silici, která je obsažena i v extraktu, byl zaznamenán nejvyšší obsah karyofylen oxidu a také vysoké hodnoty β-karyofylenu a β-myrcenu. Vysvětlí vysoké antibakteriální aktivity může být právě zmíněný „Entourage effect“, kdy je popisována synergie právě mezi kanabinoidy a terpenoidními látkami (Russo 2011). Také nebyly analyzovány ostatní biologicky aktivní látky v extraktu, jako jsou flavonoidy, stilbenoidy, alkaloidy či další, které by mohli také

přispět k výsledné antibakteriální aktivitě. V případě extraktu z odrůdy Choclope je „Entourage effect“ mezi jednotlivými kanabinoidy, ale i terpenoidními látkami velmi pravděpodobný. I když hodnoty obsahu jednotlivých kanabinoidů nebyly v žádném případě jednoznačně nejvyšší, tak u všech byl pozorován minimálně nadprůměr. Obsah terpenoidních látek byl u tohoto extraktu také příznivý a potvrzuje předpoklad o výsledné synergii. Výsledná antibakteriální aktivita extraktů u odrůdy Critical Hog z důvodu nízkého obsahu kanabinoidů, ale naopak vysokému obsahu terpenoidních látek limonenu, β -farnesenu, δ -guaianu a δ -cadinenu také poukazuje na možnost synergie mezi kanabinoidy a terpenoidními látkami. Vyšší antibakteriální aktivita těchto extraktů může potvrzovat existenci synergie jednotlivých látek a také kanabinoidů s terpenoidními látkami a za vysvětlení jejich vyšší antibakteriální aktivity může být tedy považován „Entourage effect“.

Pro porovnání lze použít již zmíněnou studii z roku 2020 (Farha et al. 2020) kde byla stanovována také antibakteriální aktivita CBG na MRSA, od kterého bylo testováno 96 klinických izolátů. MIC CBG se v jednotlivých izolátech pohybovala v rozmezí od 2 $\mu\text{g/ml}$ do 8 $\mu\text{g/ml}$ a výsledná MIC₉₀ vyšla 4 $\mu\text{g/ml}$. Ve studii byla také testována antibakteriální aktivita CBG na *Bacillus subtilis*, u kterého vyšla MIC 2 $\mu\text{g/ml}$. V práci byla sice stanovována MIC u samotného CBG, ale i tak jsou výsledky částečně porovnatelné s našimi. Jak již bylo řečeno u G- bakterií, tak i zde pravděpodobně mají samotné kanabinoidy vyšší antibakteriální aktivitu než extrakt z rostliny. V tomto případě jsou ovšem rozdíly MIC mezi kanabinoidy a extrakty menší než u G- bakterií. Zajímavostí je také MIC u rodu *Bacillus*, která byla v naší (u několika extraktů) i uvedené studii nižší než u *Staphylococcus aureus* a to i přes rozdíl v použitém rostlinném materiálu.

Ve studii z roku 2008 (Appendino et al. 2008) byla testována antibakteriální aktivita kanabinoidů na různé kmeny *Staphylococcus aureus* včetně jejich rezistentních kmenů. Mezi vybranými kanabinoidy byly mimo jiné THC, CBD, CBG, CBC a CBN. Hladina MIC u zmíněných kanabinoidů se pohybovala v rozmezí 0,5-2 $\mu\text{g/ml}$ u všech vybraných kmenů STAU a to včetně rezistentních. V některých případech tyto hodnoty dokonce dosáhly vyšší účinnosti než použitá kontrolní antibiotika. Výsledky této práce potvrzují velmi silnou antibakteriální aktivitu kanabinoidů na *Staphylococcus aureus*.

Je tedy možné usuzovat, že pokud se cíleně vyberou genotypy konopí s vyšším obsahem kanabinoidů, může dojít k vyšší antibakteriální aktivitě následných extraktů. Je zde i možnost synergie jednotlivých kanabinoidů v extraktu a tím se ještě zvýšit antibakteriální aktivita. Výsledky uvedených studií, včetně našich potvrzují antibakteriální aktivitu konopných extraktů, na kterou má pravděpodobně vyšší vliv obsah kanabinoidů než silice a ostatních obsažených látek. Stále je zde ovšem možnost synergie všech látek v konopí a může se teoreticky objevit genotyp konopí, který svojí výslednou kombinací látek bude mít vyšší antibakteriální aktivitu než samotné kanabinoidy. Ačkoli samotné extrakty ani kanabinoidy nevykazují významnou antibakteriální aktivitu na G- bakterie, kombinace antibiotika s těmito látkami představuje možnou alternativu k inhibici či případné léčbě komplikací způsobené těmito organismy.

Kanabinoidy jsou označovány jako farmakologická pokladnice (Mechoulam 2009) a jejich účinky, synergie a interakce mezi sebou či dalšími obsaženými látkami v konopí pravděpodobně nebyly zatím zcela objeveny a objasněny. Využití biologicky aktivních látek

v konopí jako antibiotických preparátů či jako doplněk ke konvenčním antibiotikům při léčbě onemocnění by mohlo být významným přínosem pro medicínu i další obory.

7 Závěr

Cílem této práce bylo zhodnotit antibakteriální aktivitu konopných extraktů a silic na bakterie vyvolávající mimo jiné gastrointestinální onemocnění. Do studie byly použity silice a extrakty z deseti různých genotypů konopí a mezi testované organismy byly cíleně vybrány grampozitivní i gramnegativní bakterie.

Na základě výsledků lze potvrdit antibakteriální aktivitu extraktů, ale pouze na grampozitivní bakterie. V případě silic nebyla u použitých koncentrací sledována antibakteriální aktivita u G- ani G+ bakterií. Vyšší koncentrace by již byly z hlediska terapeutického i ekonomického málo efektivní, a proto jsme se rozhodli koncentraci nezvyšovat. V naší práci antibakteriální aktivita silic sice potvrzena nebyla, ale v jiných pracích při použití vyšších koncentrací ano. V případě některých samotných terpenoidních látek byla dokonce vyšší než celá silice, ale ani zde stále nebylo dosaženo terapeuticky významných hodnot (viz kapitola 6 Diskuze). Extrakty vykazovaly silnou antibakteriální aktivitu na G+ bakterie, ale v případě G- bakterií nebyla stejně jako u silic zjištěna antibakteriální aktivita. U extraktů i silic byla zvolena stejná počáteční koncentrace (1024 µg/ml), a proto jsme z důvodu zmíněného terapeutického i ekonomického hlediska již nezvyšovali koncentraci extraktů u G- bakterií.

V případě G+ bakterií MIC extraktů neklesla pod 8 µg/ml a nepřesáhla 16 µg/ml. Antibakteriální aktivita extraktů se již přiblížila zvolenému konvenčnímu antibiotiku (MIC = 0,4 µg/ml). V tomto případě výsledek ukazuje na potenciální možnost terapeutického použití extraktů a další studie dokonce popisují ještě vyšší antibakteriální aktivitu samotných kanabinoidů (viz kapitola 6 Diskuze).

Z vybraných G+ bakterií vyšly hodnoty MIC nejpříznivěji pro *Bacillus cereus*, kde byla u tří extraktů stanovena MIC 8 µg/ml. Dále potom u bakterie *Listeria monocytogenes*, u které tato MIC vyšla u dvou genotypů.

Při porovnání jednotlivých genotypů konopí, tak nejvyšší účinnost měl extrakt z genotypu Gorilla Glue, dále potom Choclope a Critical Hog. Výrazné rozdíly mezi antibakteriální účinností napříč jednotlivými genotypy ovšem zaznamenány nebyly.

Na základě výsledků této práce lze potvrdit antibakteriální účinnost konopných extraktů na G+ bakterie a lze hovořit o možnosti terapeutického využití těchto látek. V případě antibakteriální účinnosti extraktů na G- bakterie a silic na G- i G+ bakterie nebyla při použité koncentraci potvrzena antibakteriální aktivita. U extraktů byly pozorovány mezi jednotlivými genotypy rozdílné hodnoty MIC. Rozdíly v antibakteriální aktivitě mezi jednotlivými extrakty sice nebyly výrazné, ale i tak lze z výsledků usoudit, že výběr genotypu konopí může mít vliv na antibakteriální aktivitu extraktů.

8 Literatura

Abbasi AM, Khan SM, Ahmad M, Khanm M, Quave C, Pieroni A. 2013. Botanical ethnoveterinary therapies in three districts of the Lesser Himalayas of Pakistan. *J Ethnobiology Ethnomedicine* **9**: 84.

Abel EL. 1980. *Marihuana: The First Twelve Thousand Years*. Springer, Boston.

Abrams DI. 2016. Integrating Cannabis into Clinical Cancer Care. *Current Oncology* **23**:8-14.

Adams IB, Martin BR. 1996. Cannabis: pharmacology and toxicology in animals and humans. *Addiction* **91**:1585-1614.

Adams R, Baker BR, Wearn RB. 1940. Structure of Cannabinol. III. Synthesis of Cannabinol, 1-Hydroxy-3-n-amy-6,6,9-trimethyl-6-dibenzopyran¹. *Journal of the American Chemical Society* **62**:2204-2207.

Adams R. 1942. Marihuana: Harvey Lecture. *Bulletin of the New York Academy of Medicine* **18**:705-730.

Akhtar N, Rashid A, Murad W, Bergmeier E. 2013. Diversity and use of ethno-medicinal plants in the region of Swat, North Pakistan. *J Ethnobiology Ethnomedicine* **9**:25.

Andre CM, Hausman JF, Guerriero G. 2016. Cannabis sativa: The Plant of the Thousand and One Molecules. *Front Plant Sci.* **7**:19.

Appendino G, Gibbons S, Giana A, Pagani A, Grassi G, Stavri M. 2008. Antibacterial cannabinoids from Cannabis sativa: a structure-activity study. *J Nat Prod.* **71**: 1427-1430.

Appendino G, Chianese G, Tagliatalata-Scafati O. 2011. Cannabinoids: occurrence and medicinal chemistry. *Current medicinal chemistry* **18**:1085-1099.

Aso E, Juvés S, Maldonado R, Ferrer I. 2013. CB2 cannabinoid receptor agonist ameliorates Alzheimer-like phenotype in A β PP/PS1 mice. *Journal of Alzheimer's Disease* **35**:847-58.

Bai J, Zheng Y, Wang G, Liu P. 2016. Protective Effect of D-Limonene against Oxidative Stress-Induced Cell Damage in Human Lens Epithelial Cells via the p38 Pathway. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* **2016**:1-12.

Barbieri R, Coppo E, Marchese A, Daglia M, Sobarzo-Sánchez E, Nabavi SF, Nabavi SM. 2017. Phytochemicals for human disease: An update on plant-derived compounds antibacterial activity. *Microbiological Research* **196**: 44-68.

Baron EP, Lucas P, Eades J, Hogue O. 2018. Patterns of medicinal cannabis use, strain analysis, and substitution effect among patients with migraine, headache, arthritis, and chronic pain in a medicinal cannabis cohort. *J Headache Pain* **19**: 37.

- Batt CA, Tortorello ML 2014. *Bacillus*. Encyclopedia of Food Microbiology. Elsevier. Amsterdam **2014**:124-128.
- Batt CA, Tortorello ML. 2014. *Listeria*. Encyclopedia of Food Microbiology. Elsevier. Amsterdam **2014**:466-469.
- Beneš J. 2018. Antibiotika: systematika, vlastnosti, použití. Grada Publishing, Praha.
- Ben-Shabat S, Fride E, Sheskin T, Tamiri T, Rhee MH, Vogel Z, Bisogno T, De Petrocellis L, Di Marzo V, Mechoulam R. 1998. An entourage effect: inactive endogenous fatty acid glycerol esters enhance 2-arachidonoyl-glycerol cannabinoid activity. *European Journal of Pharmacology* **353**:23-31.
- Bonini SA, Premoli M, Tambaro S, Kumar A, Maccarinelli G, Memo M, Mastinu A. 2018. Cannabis sativa: A comprehensive ethnopharmacological review of a medicinal plant with a long history. *Journal of Ethnopharmacology* **227**:300-315.
- Booth JK, Page JE, Bohlmann J. 2017. Terpene synthases from Cannabis sativa. *PLoS One* **12**.
- Borille BT, González M, Steffens L, Ortiz RS, Limberger RP. 2017. Cannabis sativa: a systematic review of plant analysis. *Drug Analytical Research* **1**:1-23.
- Borriss R. 2020. Beneficial Microbes in Agro-Ecology. Elsevier, Amsterdam.
- Buchanan RL, Gorris LGM, Hayman MM, Jackson TC, Whiting RC. 2017. A review of Listeria monocytogenes: An update on outbreaks, virulence, dose-response, ecology, and risk assessments. *Food control* **75**:1-13.
- Bussmann RW, Paniagua Zambrana NY, Sikharulidze S, Kikvidze Z, Kikodze D, Tchelidze D, Khutsishvili M, Batsatsashvili K, Hart RE. 2016. A comparative ethnobotany of Khevsureti, Samtskhe-Javakheti, Tusheti, Svaneti, and Racha-Lechkhumi, Republic of Georgia (Sakartvelo), Caucasus. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* **12**:43.
- Butrica JL. 2002. The Medical Use of Cannabis Among the Greeks and Romans. *Journal of Cannabis Therapeutics* **2**:51-70.
- Calvaruso G, Pellerito O, Notaro A, Giuliano M. 2012. Cannabinoid-associated cell death mechanisms in tumor models (review). *International journal of oncology* **41**:407-13.
- Cote CK, Heffron JD, Bozue JA, Welkos SL. 2015. Bacillus anthracis and Other Bacillus Species. *Molecular Medical Microbiology* **2**:1789-1844.
- Crippa JA, Guimarães FS, Campos AC, Zuardi AW. 2018. Translational Investigation of the Therapeutic Potential of Cannabidiol (CBD): Toward a New Age. *Front Immunol* **9**: 2009.

Crump JA, Wain J. 2017. *Salmonella*. International Encyclopedia of Public Health. Elsevier **2017**:425-433.

De Petrocellis L, Ligresti A, Moriello AS, Allarà M, Bisogno T, Petrosino S, Stott CG, Di Marzo V. 2011. Effects of cannabinoids and cannabinoid-enriched Cannabis extracts on TRP channels and endocannabinoid metabolic enzymes. British Journal of Pharmacology **163**:1479-1494.

Department of Justice Canada. 2021. Cannabis Legalization and Regulation. Available from: <https://www.justice.gc.ca/eng/cj-jp/cannabis/> (accessed February 2021).

Devane WA, Dysarz FA, Johnson MR, Melvin LS, Howlett AC. 1988. Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. Molecular Pharmacology **34**:605-613.

Devinsky O, Marsh E, Friedman D, Thiele E, Laux L, Sullivan J, Miller I, Flamini R, Wilfong A, Filloux F, Wong M, Tilton N, Bruno P, Bluvstein J, Hedlund J, Kamens R, Maclean J, Nangia S, Singhal NS, Wilson CA, Patel A, Cilio MR. 2016. Cannabidiol in patients with treatment-resistant epilepsy: an open-label interventional trial. The Lancet Neurology **15**:270-278.

Di Marzo V, Fontana A, Cadas H, Schinelli S, Cimino G, Schwartz Jch, Piomelli D. 1994. Formation and inactivation of endogenous cannabinoid anandamide in central neurons. Nature **372**:686-691.

Di Marzo V, Piscitelli F. 2015. The Endocannabinoid System and its Modulation by Phytocannabinoids. Neurotherapeutics **12**:692-698.

Dortet L, Radoshevich L, Veiga E, Cossart P. 2014. *Listeria Monocytogenes*. Reference Module in Biomedical Sciences. Elsevier.

Esfandyari T, Camilleri M, Busciglio I; Burton D; Baxter K; Zinsmeister AR. 2007. Effects of a cannabinoid receptor agonist on colonic motor and sensory functions in humans: a randomized, placebo-controlled study. American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology **293**:137-145.

Farag S, Kayser O. 2017. The Cannabis Plant: Botanical Aspects. Handbook of Cannabis and Related Pathologies. Elsevier.

Farha MA, El-Halfawy OM, Gale RT, MacNair CR, Carfrae LA, Zhang X, Jentsch NG, Magolan J, Brown ED. 2020. Uncovering the Hidden Antibiotic Potential of Cannabis. ACS Infectious Diseases **6**: 338-346.

Favrat B, Ménétrey A, Augsburger M, Rothuizen LE, Appenzeller M, Buclin T, Pin M, Mangin P, Giroud C. 2005. Two cases of "cannabis acute psychosis" following the administration of oral cannabis. BMC Psychiatry **5**:17.

- Fernández-Ruiz J, Romero J, Ramos JA. 2015. Endocannabinoids and Neurodegenerative Disorders: Parkinson's Disease, Huntington's Chorea, Alzheimer's Disease, and Others. *Handb Exp Pharmacol* **231**:233-59.
- Fischedick J, Elzinga S, Podkolinski R, Raber JC. 2015. Cannabinoids and Terpenes as Chemotaxonomic Markers in Cannabis. *Natural products chemistry & research* **3**:1-9.
- Fischedick JT, Hazekamp A, Erkelens T, Choi YH, Verpoorte R. 2010. Metabolic fingerprinting of Cannabis sativa L., cannabinoids and terpenoids for chemotaxonomic and drug standardization purposes. *Phytochemistry* **71**:2058-2073.
- Flores-Sanchez IJ, Verpoorte R. 2008. Secondary metabolism in cannabis. *Phytochemistry Reviews* **7**:615-639.
- Fookes M et al. 2011. *Salmonella bongori* provides insights into the evolution of the *Salmonellae*. *PLoS Pathog* **7**.
- Frassinetti S, Gabriele M, Moccia E, Longo V, Gioia, D. 2020. Antimicrobial and antibiofilm activity of Cannabis sativa L. seeds extract against Staphylococcus aureus and growth effects on probiotic Lactobacillus spp. *Lwt - Food Science and Technology* **124**.
- Gakuubi M, Wanzala W. 2012. A survey of plants and plant products traditionally used in livestock health management in Buuri district, Meru County, Kenya. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* **8**:39.
- Gaoni Y, Mechoulam R. 1964. Isolation, Structure, and Partial Synthesis of an Active Constituent of Hashish. *Journal of the American Chemical Society* **86**:1646-1647.
- Gibbons S. 2004. Anti-staphylococcal plant natural products. *Nat Prod Rep.* **21**:263-77.
- Gillaspy AF, Iandolo JJ. 2014. *Staphylococcus*. *Encyclopedia of Food Microbiology*. Elsevier.
- Glass M, Dragunow M, Faull RL. 1997. Cannabinoid receptors in the human brain: a detailed anatomical and quantitative autoradiographic study in the fetal, neonatal and adult human brain. *Neuroscience* **77**:299-318.
- Goering RV, Dockrell HM, Zuckerman MA, Chiodini PL, Julák, J. 2016. *Mimsova lékařská mikrobiologie*. Triton, Praha.
- Gómez-Gálvez Y, Palomo-Garo C, Fernández-Ruiz J, García C. 2016. Potential of the cannabinoid CB2 receptor as a pharmacological target against inflammation in Parkinson's disease. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry* **64**:200-208.
- Gugliandolo A, Pollastro F, Grassi G, Bramanti P, Mazzon E. 2018. In Vitro Model of Neuroinflammation: Efficacy of Cannabigerol, a Non-Psychoactive Cannabinoid. *International Journal of Molecular Sciences* **19**.

- Happyana N, Agnolet S, Muntendam R, Van Dam A, Schneider B, Kayser O. Analysis of cannabinoids in laser-microdissected trichomes of medicinal *Cannabis sativa* using LCMS and cryogenic NMR. *Phytochemistry* **87**:51-59.
- Hazekamp A, Fishedick JT, Díez ML, Lubbe A, Ruhaak RL. 2010. Chemistry of Cannabis. *Comprehensive Natural Products II*. Elsevier.
- Henquet C, Rosa A, Krabbendam L, Papiol S, Fananás L, Drukker M, Ramaekers JG, van Os J. 2006. An experimental study of catechol-o-methyltransferase Val158Met moderation of delta-9-tetrahydrocannabinol-induced effects on psychosis and cognition. *Neuropsychopharmacology* **31**:2748-2757.
- Htoutou Sedláková M., Vojtová V., Hanulík V., Suchánková H., Kolář M. 2012. Rezistence enterobakterií k vybraným antibiotikům v souvislosti s jejich spotřebou. *Klin Farmakologie a Farmacie* **26**:61-66.
- Huchelmann A, Boutry M, Hachez Ch. 2017. Plant Glandular Trichomes: Natural Cell Factories of High Biotechnological Interest. *Plant Physiology* **175**:2-66.
- Hurdle JG, O'Neill AJ, Chopra I, Lee RE. 2011. Targeting bacterial membrane function: an underexploited mechanism for treating persistent infections. *Nature Reviews Microbiology* **9**:62-75.
- International Association for Cannabinoid Medicines. 2018. Israel. Available from: <https://www.cannabis-med.org/index.php?tpl=page&id=45&lng=en> (accessed February 2021).
- Jiang HE, Li X, Zhao YX, Ferguson DK, Hueber F, Bera S, Wang YF, Zhao LC, Liu CJ, Li CS. 2006. A new insight into *Cannabis sativa* (Cannabaceae) utilization from 2500-year-old Yanghai Tombs, Xinjiang, China. *Journal of Ethnopharmacology* **108**:414-422.
- Jindrák V, Hedlová D, Urbášková P. 2014. Antibiotická politika a prevence infekcí v nemocnici. *Mladá fronta, Praha*.
- Jordan K, McAuliffe O. 2018. *Listeria monocytogenes* in Foods. *Biological Emerging Risks in Foods*. Elsevier 181-213.
- Julák J. 2006. Úvod do lékařské bakteriologie. *Karolinum, Praha*.
- Kabelík J. 1955. Dějinný přehled léčebného účinku konopí. *Univerzita Palackého v Olomouci, Olomouc*.
- Kolář M. 2011. Problematika bakteriální rezistence. *Mladá fronta, Praha*. Available from <https://zdravi.euro.cz/clanek/postgradualni-medicina-priloha-problematika-bakterialni-rezistence-462236> (accessed March 2021).
- Koltai H, Namdar D. 2020. Cannabis Phytomolecule 'Entourage': From Domestication to Medical Use. *Trends in Plant Science* **25**:976-984.

- KOPAC. 2019. Kde ve světě je léčebné konopí legální a do jaké míry (pravidelně aktualizováno). KOPAC, Pacientský spolek pro léčbu konopím, Praha. Available from: <https://kopac.cz/kde-ve-svete-je-lecebne-konopi-legalni-a-do-jake-miry-pravidelne-aktualizovano/> (accessed February 2021).
- Krishnamoorthy G, Wolloscheck D, Weeks JW, Croft C, Rybenkov VV, Zgurskaya HI. 2016 Breaking the Permeability Barrier of *Escherichia coli* by Controlled Hyperporination of the Outer Membrane. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **60**:7372–7381.
- Kunwar RM, Shrestha KP, Bussmann RW. 2010. Traditional herbal medicine in far-west Nepal: a pharmacological appraisal. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* **6**:35.
- Lal S, Shekher A, Puneet, Narula AS, Abrahamse H, Gupta SC. 2021. Cannabis and its constituents for cancer: History, biogenesis, chemistry and pharmacological activities. *Pharmacological Research* **163**.
- Langenheim JH. 1994. Higher plant terpenoids: a phytocentric overview of their ecological roles. *Journal of Chemical Ecology* **20**:1223-1279.
- Laprairie RB, Costain WJ. 2019. Introduction to Recent Advances in Cannabinoid Research. IntechOpen.
- Leroy S, Vermassen A, Talon R. 2016. *Staphylococcus*: Occurrence and Properties. Encyclopedia of Food and Health. Elsevier.
- Leung JM, Gallant CV. 2014. Infections due to *Escherichia* and *Shigella*. Reference Module in Biomedical Sciences. Elsevier.
- Lewis MA, Russo EB, Smith KM. 2018. Pharmacological Foundations of Cannabis Chemovars. *Planta Medica* **84**:225-233.
- Linge R, Jiménez-Sánchez L, Campa L, Pilar-Cuéllar F, Vidal R, Pazos A, Adell A, Díaz Á. 2016. Cannabidiol induces rapid-acting antidepressant-like effects and enhances cortical 5-HT/glutamate neurotransmission: role of 5-HT_{1A} receptors. *Neuropharmacology* **103**:16-26.
- Logan NA. 2012. *Bacillus* and relatives in foodborne illness. *Journal of Applied Microbiology* **112**:417-429.
- Lynne AM, Foley SL, Han J. 2016. *Salmonella*: Properties and Occurrence. Encyclopedia of Food and Health. Elsevier, 695-700.
- Maccarrone M, Bab I, Bíró T, Cabral GA, Dey SK, Di Marzo V, Konje JC, Kunos G, Mechoulam R, Pacher P, Sharkey KA, Zimmer A. 2015. Endocannabinoid signaling at the periphery: 50 years after THC. *Trends in Pharmacological Sciences* **36**:277-296.
- Malfait AM, Gallily R, Sumariwalla PF, Malik AS, Andreakos E, Mechoulam R, Feldmann M. 2000. The nonpsychoactive cannabis constituent cannabidiol is an oral anti-arthritic

therapeutic in murine collagen-induced arthritis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **97**:9561-9566.

Marsh DT, Smid SD. 2020. Cannabis Phytochemicals: A Review of Phytocannabinoid Chemistry and Bioactivity as Neuroprotective Agents. *Australian Journal of Chemistry*.

Mcmullen PD, Freitag NE. 2015. *Listeria monocytogenes*. *Molecular Medical Microbiology*. Elsevier.

McPartland JM, Guy GW, Di Marzo V. 2014. Care and feeding of the endocannabinoid system: a systematic review of potential clinical interventions that upregulate the endocannabinoid system. *PLoS ONE* **9**.

McPartland JM, Hegman W. 2018. Cannabis utilization and diffusion patterns in prehistoric Europe: a critical analysis of archaeological evidence. *Vegetation History and Archaeobotany* **27**:627-634.

McPartland, J. 2000. Advantages of polypharmaceutical herbal Cannabis compared to single-ingredient, synthetic tetrahydrocannabinol. *Biosource Hemp: Proceedings of the Third International Symposium*. Nova Institut: Wolfsburg, Germany.

Mechoulam R, Ben-Shabat S. 1999. From gan-zi-gun-nu to anandamide and 2-arachidonoylglycerol: the ongoing story of cannabis. *Natural Product Reports* **16**:131-143.

Mechoulam R, Gaoni Y. 1965. A Total Synthesis of dl- Δ^1 -Tetrahydrocannabinol, the Active Constituent of Hashish I. *Journal of the American Chemical Society* **87**:3273-3275.

Mechoulam R, Shvo Y. 1963. Hashish. I. The structure of cannabidiol. *Tetrahedron* **19**:2073-2078.

Mechoulam R. 2005. Plant cannabinoids: a neglected pharmacological treasure trove. *British Journal of Pharmacology* **146**:913-915.

Merlin MD. 2003. Archaeological Evidence for the Tradition of Psychoactive Plant Use in the Old World. *Economic Botany* **57**:295-323.

Ministerstvo zdravotnictví České republiky. 2012. Metodický pokyn ke kontrole výskytu importovaných případů kolonizace a/ nebo infekce enterobakteriemi produkujícími Karbapenamázu. *Věstník Ministerstva zdravotnictví České republiky* **8**:10-19.

Ministerstvo zdravotnictví České republiky. 2013. Zákon č. 50 ze dne 30. ledna 2013, kterým se mění zákon č. 378/2007 Sb., o léčivech a o změnách některých souvisejících zákonů (zákon o léčivech), ve znění pozdějších předpisů, zákon č. 167/1998 Sb., o návykových látkách a o změně některých dalších zákonů, ve znění pozdějších předpisů, a zákon č. 634/2004 Sb., o správních poplatcích, ve znění pozdějších předpisů. Pages 367-376 in *Sbírka zákonů České republiky, 2013, částka 22*. Česká republika.

Ministerstvo zdravotnictví České republiky. 2020. Vyhláška č. 307 ze dne 23. června 2020, kterou se mění vyhláška č. 236/2015 Sb., o stanovení podmínek pro předepisování, přípravu, distribuci, výdej a používání individuálně připravovaných léčivých přípravků s obsahem konopí pro léčebné použití. Page 3146 in Sbírka zákonů České republiky, 2020, částka 121. Česká republika.

Ministry of Health, Welfare and Sport. Office of Medicinal Cannabis. Bureau voor Medicinale Cannabis, Netherlands. Available from: <https://english.cannabisbureau.nl/> (accessed February 2021).

Mumy KL. 2014. *Salmonella*. Encyclopedia of Toxicology. Elsevier 2014: s. 211-212.

Murillo-Rodriguez E, Pandi-Perumal SR, Monti JM. 2021. Cannabinoids and Neuropsychiatric Disorders. Advances in Experimental Medicine and Biology. Cham: Springer International Publishing, Switzerland.

Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. 2013. Medical microbiology. Elsevier Saunders, Edinburgh, UK.

Musty RE, Rossi R. 2001. Effects of Smoked Cannabis and Oral Δ^9 -Tetrahydrocannabinol on Nausea and Emesis After Cancer Chemotherapy: A Review of State Clinical Trials. Journal of Cannabis Therapeutics **1**:29-56.

Nabukenya I, Rubaire-Akiiki C, Olila D, Ikwap K, Höglund J. 2014. Ethnopharmacological practices by livestock farmers in Uganda: Survey experiences from Mpigi and Gulu districts. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine. **10**:9.

Nafis A, Kasrati A, Jamali Ca, Mezrioui N, Setzer W, Abbad A, Hassani L. 2019. Antioxidant activity and evidence for synergism of *Cannabis sativa* (L.) essential oil with antimicrobial standards. Industrial Crops and Products **137**:396-400.

Namdar D, Voet H, Ajjampura V, Nadarajan S, Mayzlish-Gati E, Mazuz M, Shalev N, Koltai H. 2019. Terpenoids and Phytocannabinoids Co-Produced in Cannabis Sativa Strains Show Specific Interaction for Cell Cytotoxic Activity. Molecules **24**.

Namsa ND, Mandal M, Tangjang S, Mandal SC. 2011. Ethnobotany of the Monpa ethnic group at Arunachal Pradesh, India. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine **7**:31.

Nissen L, Zatta A, Stefanini I, Grandi S, Sgorbati B, Biavati B, Monti A. 2010. Characterization and antimicrobial activity of essential oils of industrial hemp varieties (*Cannabis sativa* L.). Fitoterapia **81**:413-419.

Pacher P, Kunos G. 2013. Modulating the endocannabinoid system in human health and disease - successes and failures. FEBS Journal **280**:1918-1943.

- Panghal M, Arya V, Yadav S, Kumar S, Yadav J. 2010. Indigenous knowledge of medicinal plants used by Saperas community of Khetawas, Jhajjar District, Haryana, India. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* **6**:4
- Parihar HS. 2014. *Bacillus cereus*. *Encyclopedia of Toxicology*. Elsevier **2**:353-354
- Parker LA, Rock EM, Limebeer CL. 2011. Regulation of nausea and vomiting by cannabinoids. *British Journal of Pharmacology* **163**:1411-22.
- Pava MJ, Makriyannis A, Lovinger DM. 2016. Endocannabinoid Signaling Regulates Sleep Stability. *PLoS One* 11(e0152473) DOI:10.1371/journal.pone.0152473.
- Pertwee RG. 2006. Cannabinoid pharmacology: the first 66 years. *British Journal of Pharmacology* **147**:163-171.
- Pertwee RG. 2008. The diverse CB1 and CB2 receptor pharmacology of three plant cannabinoids: Δ 9-tetrahydrocannabinol, cannabidiol and Δ 9-tetrahydrocannabivarin. *British Journal of Pharmacology* **153**:199–215.
- Poolman JT. 2017. *Escherichia coli*. *International Encyclopedia of Public Health*. Elsevier **2017**:585-593.
- Poslanecká sněmovna parlamentu české republiky. 2015. Vyhláška č. 236 ze dne 4. září 2015 o stanovení podmínek pro předepisování, přípravu, distribuci, výdej a používání individuálně připravovaných léčivých přípravků s obsahem konopí pro léčebné použití. Pages 2978-2984 in *Sbírka zákonů České republiky, 2015, částka 98*. Česká republika.
- ProCon.org. 2020. History of Recreational Marijuana. *Encyclopaedia Britannica*, Chicago. Available from: <https://marijuana.procon.org/history-of-recreational-marijuana/> (accessed February 2021).
- Raman A. 1998. *The Cannabis plant: botany, cultivation, and processing for use*. Harwood Academic Publishers. Amsterdam.
- Reekie TA, Scott MP, Kassiou M. 2018. The evolving science of phytocannabinoids. *Nature Reviews Chemistry* **2**.
- Reeves MW, Evins GM, Heiba AA, Plikaytis BD, Farmer JJ. 1989. Clonal nature of *Salmonella typhi* and its genetic relatedness to other salmonellae as shown by multilocus enzyme electrophoresis, and proposal of *Salmonella bongori* comb. nov. *Journal of Clinical Microbiology* **27**:313–320.
- Rosenberg EC, Tsien RW, Whalley BJ, Devinsky O. 2015. Cannabinoids and Epilepsy. *Neurotherapeutics* **12**:747-68.
- Rozsypal H, 2015. *Základy infekčního lékařství*. Karolinum, Praha.

- Russo EB, Marcu J. 2017. Cannabis Pharmacology: The Usual Suspects and a Few Promising Leads. *Cannabinoid Pharmacology*. Elsevier **2017**: 67-134.
- Russo EB. 2004. Clinical endocannabinoid deficiency (CECD): can this concept explain therapeutic benefits of cannabis in migraine, fibromyalgia, irritable bowel syndrome and other treatment-resistant conditions? *Neuroendocrinol. Lett.* **25**:31-39.
- Russo EB. 2007. History of Cannabis and Its Preparations in Saga, Science, and Sobriquet. *Chemistry & Biodiversity* **4**:1614-1648.
- Russo EB. 2011. Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. *British Journal of Pharmacology* **163**:1344-1364.
- Russo EB. 2016. Beyond Cannabis: Plants and the Endocannabinoid System. *Trends in Pharmacological Sciences* **37**:594-605.
- Russo EB. 2019. The Case for the Entourage Effect and Conventional Breeding of Clinical Cannabis: No “Strain,” No Gain. *Frontiers in Plant Science* **9**.
- Samanta I, Bandyopadhyay S. 2020. Staphylococcus. Antimicrobial Resistance in Agriculture. Elsevier **2020**:195-215.
- Sharkey KA, Darmani NA, Parker LA. 2014. Regulation of nausea and vomiting by cannabinoids and the endocannabinoid system. *European Journal of Pharmacology* **722**:134-146.
- Schindler J. 2014. Mikrobiologie: pro studenty zdravotnických oborů. Grada, Praha.
- Skerman VDB, McGowan V, Sneath PHA. 1980. Approved lists of bacterial names. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **30**:225-420.
- Smith LA, Azariah F, Lavender VT, Stoner NS, Bettiol S. 2015. Cannabinoids for nausea and vomiting in adults with cancer receiving chemotherapy. *Cochrane Database of Systematic Reviews* **11**.
- State of Israel Ministry of Health. Cannabis for Medical Use and for Research. Available from: <https://www.health.gov.il/English/Topics/cannabis/Pages/default.aspx> (accessed February 2021).
- Státní agentura pro konopí pro léčebné použití. Základní informace o agentuře. Available from: <http://www.sakl.cz/home/zakladni-informace> (accessed February 2021).
- Státní ústav pro kontrolu léčiv. Konopí pro léčebné použití. Státní ústav pro kontrolu léčiv, Praha. Available from: <https://www.sukl.cz/konopi-pro-lecebne-pouziti> (accessed February 2021).

Stevens CJ, Murphy C, Roberts R, Lucas L, Silva F, Fuller DQ. 2016. Between China and South Asia: A Middle Asian corridor of crop dispersal and agricultural innovation in the Bronze Age. *The Holocene* **26**:1541-1555.

Stevens CJ, Murphy C, Roberts R, Lucas L, Silva F, Fuller DQ. 2016. Between China and South Asia: A Middle Asian corridor of crop dispersal and agricultural innovation in the Bronze Age. *The Holocene* **26**:1541-1555.

Stokes JM, MacNair CR, Ilyas B, French S, Cote JP, Bouwman C, Farha MA, Sieron AO, Whitfield C, Coombes BK, Brown ED. 2017. Pentamidine sensitizes Gram-negative pathogens to antibiotics and overcomes acquired colistin resistance. *Nature Microbiology* **2**.

Sytsma K, Morawetz J, Pires J, Nepokroeff M, Conti E, Zjhra M, Hall J, Chase M. 2002. Urticalean rosids: circumscription, rosid ancestry, and phylogenetics based on *rbcL*, *trnL-F*, and *ndhF* sequences. *American Journal of Botany*, **89**:1531–1546.

Szaflarski JP et al. 2018. Cannabidiol improves frequency and severity of seizures and reduces adverse events in an open-label add-on prospective study. *Epilepsy & Behavior* **87**:131-136.

Tian Y, Puganen A, Alakomi HL, Uusitupa A, Saarela M, Yang B. 2018. Antioxidative and antibacterial activities of aqueous ethanol extracts of berries, leaves, and branches of berry plants. *Food Research International* **106**: 291-303.

Touw M. 1981. The Religious and Medicinal Uses of Cannabis in China, India and Tibet. *Journal of Psychoactive Drugs* **13**:23-34.

Treutter D. 2005. Significance of Flavonoids in Plant Resistance and Enhancement of Their Biosynthesis. *Plant Biology* **7**:581-591.

Turner CE, Elsohly MA. 1981. Biological activity of cannabichromene, its homologs and isomers. *Journal of Clinical Pharmacology* **21**:283-291.

Van Cleemput M, Cattoor K, De Bosscher K, Haegeman G, De Keukeleire D, Heyerick A. 2009. Hop (*Humulus lupulus*) - Derived Bitter Acids as Multipotent Bioactive Compounds. *Journal of Natural Products* **72**:1220-1230.

Van Klingeren B, Ten Ham M. 1976. Antibacterial activity of delta9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol. *Antonie van Leeuwenhoek* **42**:9-12.

Votava M, 2010. *Lékařská mikrobiologie - vyšetřovací metody*. Neptun, Brno.

Votava M. 2005. *Lékařská mikrobiologie obecná*. Neptun, Brno.

Walther S, Mahlberg R, Eichmann U, Kunz D. 2006. Delta-9-tetrahydrocannabinol for nighttime agitation in severe dementia. *Psychopharmacology* **185**:524-528.

- Whiting PF et al. 2015. Cannabinoids for Medical Use: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA* **313**:2456-2473.
- Worthington RJ, Melander C. 2013. Combination approaches to combat multidrug-resistant bacteria. *Trends in Biotechnology* **31**:177–84.
- Zábranský T, Hanuš L, Rokyta R. 2016. Přehled současných znalostí o léčebných účincích konopí a přípravků z něj a jeho perspektiv - 1. část. *Bulletin sdružení praktických lékařů ČR* **26**:10-26.
- Zábranský T, Hanuš L, Rokyta R. 2017. Přehled současných znalostí o léčebných účincích konopí a přípravků z něj a jeho perspektiv - 2. část. *Bulletin sdružení praktických lékařů ČR* **27**:12-30.
- Zanelati TV, Biojone C, Moreira FA, Guimaraes FS, Joca SR. 2010. Antidepressant-like effects of cannabidiol in mice: possible involvement of 5-HT1A receptors. *British Journal of Pharmacology* **159**:122–128.
- Zias J, Stark H, Sellgman J, Levy R, Werker E, Breuer A, Mechoulam R. 1993. Early medical use of cannabis. *Nature* **363**:215.
- Zielonka DM, Kiraga L, Kozłowski RM. 2020. Medical potential of cannabis. *Handbook of Natural Fibres*. Elsevier **2020**:419-448.
- Zlas J, Stark H, Seligman J, Levy R, Werker E, Breuer A, Mechoulam R. 1993. Early medical use of cannabis. *Nature* **363**:215-215.

9 Seznam obrázků

| | |
|--|----|
| Obrázek 1 Samčí (A) a samičí (B) rostlina (Bonini et al. 2018) | 11 |
| Obrázek 2 Konopí seté (Wikipedia 2006) | 11 |
| Obrázek 3 Trichomy (Healtheuropa 2020) | 12 |
| Obrázek 4 Nárůst publikací po objevu struktury THC (1964) a po objevu endogenního kanabinoidu – anandamidu (1992) (Zábranský et al. 2016) | 13 |
| Obrázek 5 Legislativa léčebného konopí ve světě: zelená – povoleno léčebné konopí; modrá – povoleno konopí pro jakékoli účely; šedá – konopí nelegální pro jakékoli účely (Wikipedia 2018) | 14 |
| Obrázek 6 Legislativa konopí v jednotlivých státech USA: světle zelená – povoleno léčebné konopí; tmavě zelená – povoleno léčebné i rekreační konopí (ProCon 2021) | 15 |
| Obrázek 7 Strukturální typy kanabinoidů (Hazeckamp et al. 2010) | 19 |
| Obrázek 8 Struktury hlavních fytoKANABINOIDŮ (Marsh et Smid 2020) | 19 |
| Obrázek 9 Příklady terpenů (Sommano et al. 2020) | 22 |
| Obrázek 10 Endogenní ligandy anadamid (AEA) a 2-arachidonylglycerol (2AG) (Hartsel et al. 2016) | 25 |
| Obrázek 11 Závislost rezistence na spotřebě antibiotik (Beneš 2018) | 32 |
| Obrázek 12 Testování antibakteriální aktivity silic – <i>Sallmonela eneteritica</i> (počáteční koncentrace silic = 1024 µg/ml) (autor 2021) | 46 |
| Obrázek 13 Testování antibakteriální aktivity silic – <i>Listeria monocytogenes</i> (počáteční koncentrace silic = 1024 µg/ml) (autor 2021) | 46 |
| Obrázek 14 Testování antibakteriální aktivity extraktů – <i>Bacillus cereus</i> (počáteční koncentrace extraktů = 1024 µg/ml) (autor 2021) | 48 |
| Obrázek 15 Testování antibakteriální aktivity extraktů – <i>Bacillus cereus</i> (počáteční koncentrace extraktů = 32 µg/ml) (autor 2021) | 48 |
| Obrázek 16 Testování antibakteriální aktivity extraktů – <i>Escherichia coli</i> 18039 (počáteční koncentrace extraktů = 1024 µg/ml) (autor 2021) | 49 |
| Obrázek 17 Testování antibakteriální aktivity extraktů – <i>Escherichia coli</i> 25922 (počáteční koncentrace extraktů = 1024 µg/ml) (autor 2021) | 49 |
| Obrázek 18 Testování antibakteriální aktivity extraktů – <i>Staphylococcus aureus</i> 25923 (nahore) a <i>Staphylococcus aureus</i> 29213 (dole) (počáteční koncentrace extraktů = 32 µg/ml) (autor 2021) | 50 |
| Obrázek 19 Antibakteriální aktivita silic ve studii z roku 2010 (Nissen et. al 2010) | 52 |

10 Seznam tabulek

| | |
|--|----|
| Tabulka 1 Souhrn biologické aktivity konopných terpenů..... | 23 |
| Tabulka 2 Použité genotypy léčebného konopí..... | 42 |
| Tabulka 3 Minimální inhibiční koncentrace konopných silic [μg/ml] (autor 2021)..... | 45 |
| Tabulka 4 Minimální inhibiční koncentrace konopných extraktů [μg/ml] (autor 2021) | 47 |

11 Seznam použitých zkratek

- 2-AG – 2-arachidonylglycerol
AD – Alzheimerova choroba
AChE – arachidonylethanolamin
AIDS – syndrom získané imunodeficiencie
AMP – ampicilin
ATB – antibiotikum
ATCC – American Type Culture Collection
CB1 – centrální kanabiodní receptor
CB2 – periferní kanabiodní receptor
CBC - kanabichromen
CBD – kanabidiol
CBG – kanabigerol
CBGA – kanabigerolová kyselina
CNS – centrální nervový systém
CPE – karbapenemázy produkující enterobakterie
ČR – Česká republika
DMSO – dimethylsulfoxid
DNA – deoxyribonukleová kyselina
DSM – Deutsche Sammlung von Mikroorganismen
EAEC – enteroadherentní *Escherichia coli*
ECS – endokanabiodní systém
ECS – endokanabiodní systém *Escherichia coli*
EHEC – enterohemoragická *Escherichia coli*
EIEC – enteroinvazivní *Escherichia coli*
EPEC – enteropatogenní *Escherichia coli*
ETEC – enterotoxigenní *Escherichia coli*
EU – Evropská unie
G- – gramnegativní
G+ – grampozitivní
GPR55 – receptor spojený s G proteinem 55
ij – izoprenová jednotka
IMCA – Israel Medical Cannabis Agency

KTJ – kolonie tvořící jednotka
L. / Lam. – Lamarcks
LK – léčebné konopí
MHB – Mueller-Hinton Broth
MIC – minimální inhibiční koncentrace
MRSA – methicilin rezistentní *Staphylococcus aureus*
MTT – Thiazolylblue
PN – Parkinsonova nemoc
SAKL – Státní agentury pro konopí pro léčebné použití
SCCmec – stafylokoková chromozomální kazeta
spp. – druh
STAU – *Staphylococcus aureus*
STEC – shiga-like toxigenní *Escherichia coli*
subsp. – poddruh
SÚKL – Státnímu ústavu pro kontrolu léčiv
THC – tetrahydrokanabinol
THCA – tetrahydrokanabinolová kyselina
UPEC – uropatogenní *Escherichia coli*
USA – Spojené státy americké
UV – ultrafialové záření

