



Zdravotně
sociální fakulta
Faculty of Health
and Social Sciences

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

**Vliv fortifikace medu vybranými bioaktivními látkami
na jeho antimikrobiální aktivitu vůči *Staphylococcus
aureus*.**

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Studijní program: **LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA**

Autor: Natálie Bohdalová

Vedoucí práce: Ing. Marian Hýbl, Ph.D.

České Budějovice 2024

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci s názvem **Vliv fortifikace medu vybranými bioaktivními látkami na jeho antimikrobiální aktivitu vůči *Staphylococcus aureus*** jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejich internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby bakalářské práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé bakalářské práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 29. 04. 2024

Podpis

Poděkování

Tímto bych ráda poděkovala svému vedoucímu bakalářské práce, Ing. Marianu Hýblovi, Ph.D., za cenné rady, trpělivost, a především za čas, který věnoval pro realizaci tohoto projektu. Děkuji také fakultám Zdravotně sociální a Zemědělské a technologické za poskytnutí laboratorních prostor a vybavení. V poslední řadě bych chtěla poděkovat své rodině a příteli za jejich neustálou podporu a trpělivost během mého studia.

Vliv fortifikace medu vybranými bioaktivními látkami na jeho antimikrobiální aktivitu vůči *Staphylococcus aureus*

Abstrakt

Staphylococcus aureus je grampozitivní bakterie, která může způsobovat širokou škálu infekcí, od mírných kožních infekcí po závažné a život ohrožující onemocnění. Jedním z hlavních problémů spojených s touto bakterií je stále častěji rozvíjející se rezistence proti různým typům antibiotik.

Med je přírodní produkt vyrobený z medovice a nektaru květů sbíraných včelami a uložených v jejich plástech. Med má široké spektrum možností, jak může být použit pro léčebné účely, a to díky jeho blahodárným účinkům.

Hlavním cílem této bakalářské práce bylo zjistit minimální inhibiční a baktericidní koncentrace medů, ať už nativních nebo obohacených vybranými esenciálními oleji nebo esenciálních olejů samotných, na růst *Staphylococcus aureus*.

Teoretická část je zaměřená na základní informace o bakterii, onemocněních, která tato bakterie způsobuje a jejich léčbě. Následně se teoretická část zaměřuje na med a jeho charakteristiku. Na závěr jsou popsány esenciální oleje a jejich vlastnosti.

V metodické části této práce jsou popsány jednotlivé pomůcky a přístroje, které byly použity. Dále je vysvětlen postup přípravy medů, rostlinných silic a bakteriálního inokula. Nakonec je popsán proces určení minimální inhibiční a baktericidní koncentrace. Stanovení minimální inhibiční a baktericidní koncentrace se provádělo v 96 jamkových mikrotitračních destičkách, které následně byly spektrofotometricky změřeny.

Výsledky ukázaly, že obohacování medu bioaktivními látkami má ve většině případech pozitivní vlastnosti na jeho antimikrobiální aktivitu vůči *Staphylococcus aureus*.

Klíčová slova

Minimální inhibiční koncentrace (MIC); minimální baktericidní koncentrace (MBC); esenciální oleje; med

Effect of honey fortification by selected bioactive substances on its antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*

Abstract

Staphylococcus aureus is a Gram-positive bacterium that can cause a wide range of infections, from mild skin infections to serious and life-threatening diseases. One of the main problems associated with this bacterium is still increasing to develop resistance to various types of antibiotics.

Honey is a natural product made from the nectar of flowers collected by bees and stored in their combs. Honey has a wide range of ways it can be used for medicinal purposes, thanks to its beneficial effects.

The main aim of this bachelor's thesis was to determine the minimum inhibitory and bactericidal concentrations of honeys, whether native or enriched with selected plant essential oils, or the plant essential oils themselves, on the growth of *Staphylococcus aureus*.

The theoretical part focuses on basic information about the bacterium, the diseases it causes, and their treatment. Subsequently, the theoretical part delves into honey and its characteristics. Finally, plant essential oils and their properties are described.

The methodological part of this thesis describes the individual tools and instruments that were used. The procedure for the preparation of honeys, plant essential oils and bacterial inoculum is also explained. Finally, the process of determining the minimum inhibitory and bactericidal concentrations is described. The determination of minimum inhibitory and bactericidal concentrations was carried out in 96-well microtiter plates, which were then measured spectrophotometrically. The results showed that the enrichment of honey with bioactive substances has in most cases positive properties on its antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*.

Key words

Minimum inhibitory concentration (MIC); minimum bactericidal concentration (MBC); essential oils; honey

Obsah

| | |
|--|-----------|
| Úvod | 9 |
| Teoretická část..... | 10 |
| 1 Staphylococcus aureus..... | 10 |
| 1.1 Mikroskopie..... | 11 |
| 1.2 Barvení dle Grama | 11 |
| 1.3 Koagulázová reakce..... | 11 |
| 1.4 Patogeneze | 11 |
| 1.5 Faktory virulence..... | 12 |
| 1.6 MRSA | 12 |
| 1.7 Onemocnění..... | 13 |
| 1.7.1 Impetigo..... | 13 |
| 1.7.2 Folliculitis decalvans (FD) | 14 |
| 1.7.3 Stafylokoková meningitida | 14 |
| 1.7.4 Hordeolum (ječné zrno) | 15 |
| 1.7.5 Stafylokoková infekce | 15 |
| 1.7.6 Stafylokoková pneumonie (zápal plic)..... | 15 |
| 1.7.7 Bakteriémie Staphylococcus aureus | 16 |
| 1.7.8 Léčba a prevence stafylokokových infekcí | 16 |
| 2 Včelí produkty | 16 |
| 3 Med..... | 17 |
| 3.1 Proces vzniku medu | 18 |
| 3.2 Fyzikálně-chemické vlastnosti medu..... | 18 |
| 3.2.1 Krystalizace medu | 19 |
| 3.3 Složení medu | 19 |
| 3.3.1 Hlavní složky medu | 19 |
| 3.4 Druhy medu..... | 20 |
| 3.4.1 Medovicový med (lesní)..... | 20 |
| 3.4.2 Květový med (nektarový)..... | 21 |
| 3.4.3 Smíšený med | 21 |
| 3.5 Účinky medu | 21 |
| 4 Esenciální oleje | 23 |
| 4.1 Skořicovník pravý (<i>Cinnamomum verum</i>)..... | 23 |

| | | |
|-------|--|----|
| 4.2 | Máta peprná (<i>Mentha piperita</i>)..... | 24 |
| 4.3 | Tymián obecný (<i>Thymus vulgaris</i>)..... | 24 |
| 4.4 | Hřebíčkovce kořený (<i>Syzygium aromaticum</i>)..... | 25 |
| 4.5 | Vavřín kubébový (<i>Litsea cubeba</i>)..... | 25 |
| 4.6 | Saturejka horská (<i>Satureja montana</i>)..... | 26 |
| 4.7 | Česnek (<i>Allium sativum</i>)..... | 26 |
| 4.8 | Dobromysl obecná (<i>Origanum vulgare</i>)..... | 27 |
| 5 | Emulgátory..... | 27 |
| 5.1 | Dimethylsulfoxid (DMSO)..... | 28 |
| | Cíle práce | 29 |
| | Hypotéza | 29 |
| 6 | Metodika | 30 |
| 6.1 | Zkoumané látky..... | 30 |
| 6.1.1 | Vybrané medy..... | 30 |
| 6.1.2 | Vybrané esenciální oleje..... | 30 |
| 6.1.3 | Vybrané emulgátory..... | 30 |
| 6.2 | Pomůcky a přístroje..... | 30 |
| 6.3 | Kultivace bakterií..... | 32 |
| 6.3.1 | Mueller Hinton agar (MHA)..... | 32 |
| 6.3.2 | Příprava Mueller Hinton agaru na kultivační misky..... | 32 |
| 6.3.3 | Příprava Mueller Hinton broth (MHB)..... | 33 |
| 6.3.4 | Příprava kultury <i>Staphylococcus aureus</i> na Mueller Hinton agaru..... | 33 |
| 6.4 | Příprava bakteriálního inokula..... | 33 |
| 6.5 | Příprava vzorků..... | 34 |
| 6.5.1 | Příprava vzorků s nativním medem..... | 34 |
| 6.5.2 | Příprava vzorků s medem obohaceného esenciálními oleji..... | 34 |
| 6.5.3 | Příprava vzorků s esenciálními oleji a emulgátorem..... | 34 |
| 6.6 | Minimální inhibiční koncentrace (MIC)..... | 34 |
| 6.7 | Minimální baktericidní koncentrace (MBC)..... | 36 |
| 7 | Výsledky | 38 |
| 7.1 | Stanovení MIC a MBC nativních a obohacených medů..... | 38 |
| 7.2 | Porovnání jednotlivých výsledků..... | 39 |
| | Diskuse | 40 |

| | |
|--------------------------------------|----|
| Závěr | 44 |
| Seznam použitých zdrojů | 45 |
| Seznam obrázků | 54 |
| Seznam tabulek | 55 |

Úvod

Staphylococcus aureus je grampozitivní, všudypřítomný bakteriální druh a může způsobovat různá onemocnění, včetně infekcí kůže, potravinových otrav a závažnějších onemocnění, jako je sepse a léčba těchto infekcí závisí na antibiotikách. Výskyt bakterií rezistentních na antibiotika, zejména kmenů *S. aureus* rezistentních na lék meticilin (MRSA), představuje vážný globální zdravotní problém. MRSA představuje významnou hrozbu jak v nemocničním prostředí, tak i ve společnosti, kde se rychle šíří.

V této souvislosti med začíná opět nabývat na své důležitosti jakožto antimikrobiální činidlo. Medy totiž vykazují antibakteriální účinky i v situacích kdy klasická antibiotika již nejsou účinná.

Navíc je známo, že med má další pozitivní vlastnosti, zahrnující např. antioxidační účinky a schopnosti podporovat hojení ran. V závislosti na botanickém a geografickém původu medů jsou jeho bioaktivní vlastnosti značně proměnlivé, proto je žádoucí jejich navýšení na garantovanou hladinu při zachování ostatních benefičních vlastností.

Esenciální oleje jsou tekuté výtažky z aromatických rostlin, které mají četné aplikace v různých průmyslových odvětvích. Využití těchto olejů jako antimikrobiálních, protirakovinných, protizánětlivých a antivirových látek je dáno jejich silnými a účinnými vlastnostmi, a proto mohou být jednou z vhodných možností k fortifikaci medů.

Cílem této práce bylo zkoumat antimikrobiální účinnost různých druhů medů, jak samotných, tak i ve spojení s vybranými esenciálními oleji nebo esenciálních olejů samotných, proti růstu bakterie. K dosažení tohoto cíle byla použita metoda stanovení minimální inhibiční koncentrace (MIC), což je nejnižší koncentrace látky, která brání růstu bakterií. Dále byla prováděna metoda stanovení minimální baktericidní koncentrace (MBC) určující nejnižší koncentraci látky, která bakterie usmrtí. Pro tento výzkum byla zvolena bakterie *S. aureus*. V této práci byla MIC vypočtena pomocí bujónové mikro – diluční metody.

Teoretická část

1 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus je grampozitivní bakterie, která se přirozeně vyskytuje na kůži a sliznicích zdravých lidí jako součást normální mikrobiální flóry. I když obvykle nezpůsobuje žádné potíže, může se stát příčinou různých onemocnění, pokud vstoupí do těla nebo se začne nadměrně rozmnožovat. Tyto problémy mohou zahrnovat od jednoduchých kožních infekcí až po závažná onemocnění, jako je infekce krve nebo poškození vnitřních orgánů (Jenul & Horswill, 2019).

V humánní patologii je jediný důležitý druh koagulující plazmu, a to *S. aureus*, zbývajících šest druhů (respektive poddruhů) koaguláza-pozitivních stafylokoků je zvířecího původu. U člověka z nich nalézáme jen výjimečně (např. v souvislosti s pokousáním psem) *S. intermedius*.

Zlatý stafylokok (*S. aureus*) (pojmenován podle žlutě pigmentovaných kolonií) byl objeven v 80. letech 19. století. Od té doby se ukázalo, že se jedná o potenciální patogenní bakterii způsobující drobné kožní infekce a pooperační infekce ran (Deurenberg, 2008). V současnosti rod *Staphylococcus* zahrnuje více než 50 druhů. Existují však dva poddruhy tohoto stafylokoka: *S. aureus* subsp. a *S. aureus* subsp. *anaerobius* (Votava et al., 2003). *S. aureus* subsp. *anaerobius* je rostoucí anaerobně a u člověka se nenalzá.

S. aureus je oportunní a všestranný patogen, který může způsobit několik onemocnění, od akutních a destruktivních až po chronické a obtížně léčitelné infekce (Löffler & Tuchscher, 2021). Je to bakterie o průměru 1 μm obývající kůži a sliznici u mnoha živočišných druhů včetně lidí; je také všudypřítomná v životním prostředí.

Stafylokoky patří k nejdéle studovaným a v přírodě nejrozšířenějším bakteriím. Jejich buňky jsou nepohyblivé, nesporulující, fakultativně anaerobní, kultivačně nenáročné. Vyskytují se jak samostatně, tak i ve dvojicích či seskupeních připomínající trs hroznů (Pantuček, 2007).

S. aureus patří k významným patogenům lidí a zvířat. Je důležitou příčinou mastitid u dojnic a kostních a kloubních lézí u drůbeže a také příležitostnou příčinou kožních infekcí u hospodářských zvířat. *S. aureus* je i nadále důležitým patogenem v běžné populaci, a zvláště pak u nemocničních pacientů, kde způsobuje vysokou morbiditu a mortalitu (Grace & Fetsch, 2017). Hlavními místy infekce u nemocničních pacientů jsou chirurgické rány a zavedená lékařská zařízení. V druhém případě mohou bakterie

kolonizovat implantované zařízení a způsobit místní poškození nebo se mohou šířit, a proto je důležité dodržovat přísnou hygienu k omezení šíření a přetrvávání nemocničních kmenů (Foster, 2007).

1.1 Mikroskopie

Mikroskopicky nelze odlišit *S. aureus* od ostatních stafylokoků, i když v preparátech z něj častěji, než u jiných stafylokoků, vidíme ojedinelé gram labilní koky (Votava et al., 2003).

1.2 Barvení dle Grama

Gramovo barvení, pojmenované podle Hanse Christiana Grama, je technika používaná k rozlišení mezi grampozitivními a gramnegativními bakteriemi. To se provádí barvením buněk pomocí komplexu krystalové violeti a jódu, následovaného kontrastním barvením safraninem. Grampozitivní bakterie zůstávají po ošetření alkoholem zabarveny fialově, zatímco gramnegativní bakterie se odbarví a jsou pak viditelné jako růžové (Coico, 2005).

1.3 Koagulázová reakce

Stafylokoky byly dříve rozděleny do dvou skupin na základě jejich schopnosti srážet krevní plazmu. Koaguláza-pozitivní stafylokoky tvoří nejvíce patogenní druh *S. aureus*. V současnosti je známo, že koaguláza-negativní stafylokoky (CoNS) zahrnují více než 30 dalších druhů. Koaguláza-negativní stafylokoky jsou přítomné jako neškodné bakterie na kůži, ale některé z nich mohou také způsobit infekce (Mandal, 2023).

1.4 Patogeneze

Proces infekce *S. aureus* zahrnuje pět fází. Jsou to (1) kolonizace, (2) lokální infekce, (3) systémová diseminace a/nebo sepse, (4) metastatické infekce a (5) toxinóza (Gnanamani & Hariharan, 2017).

Oportunní patogen *S. aureus* je běžným kolonizátorem lidské kůže, ale jakmile překoná kožní bariéru, může způsobit různé pyogenní a systémové infekce, akutní a chronické infekce a syndromy zprostředkované toxiny jak ve zdravotnictví, tak ve společnosti (Becker, 2017).

Kolonizace přechází v infekci za určitých predisponujících faktorů, jako je prodloužená hospitalizace, potlačení imunity, operace, používání zdravotnických prostředků a chronická metabolická onemocnění (Gnanamani & Hariharan, 2017).

Lokální kožní absces vznikne, když se organismus dostane do kůže z místa nosiče. To se dále může vyvíjet v různé lokalizované infekce, které jsou známé pod pojmy celulitida, impetigo bullosa nebo karbunkul (Gnanamani & Hariharan, 2017).

1.5 Faktory virulence

Na rozdíl od mnoha jiných bakteriálních patogenů, kteří obvykle využívají pouze omezený počet toxinů k vyvolání onemocnění, *S. aureus* má rozsáhlou škálu faktorů virulence. Tato rozmanitost zahrnuje různé typy toxinů a mechanismů imunitního úniku, které umožňují bakteriím kolonizovat hostitele a způsobovat infekci (Cheung et al., 2021).

Pro vniknutí do hostitelského organismu a vyvolání infekce *S. aureus* používá různé virulentní faktory, jako jsou toxiny, enzymy, adheziny a povrchové proteiny. Tyto faktory jsou nezbytné pro přežití patogenu v nepříznivých prostředích a umožňují mu šíření tkáněmi hostitele (Kong et al., 2016).

Patogenita *S. aureus* závisí především na aktivitě více faktorů virulence. Mezi ně patří hemolytické toxiny, včetně α -, β -, γ - a δ -toxinů, které mohou poškodit krevní destičky, narušit lysozomy a způsobit lokální nedostatek kyslíku a nekrózu tkání. Dalším faktorem je Panton-Valentine leukocidin (PVL), toxin tvořící póry, který ničí bílé krvinky a makrofágy. Dále se jedná o osm sérotypů enterotoxinů, včetně A, B, C1, C2, C3, D, E a F, toxin syndromu toxického šoku 1 (TSST-1), koagulázu a stafylokokový protein A (SpA) (Chen et al., 2021).

1.6 MRSA

MRSA je zkratka pro methicilin-rezistentní *Staphylococcus aureus*, typ bakterie, která je odolná vůči několika antibiotikům a je zároveň klinickou hrozbou s vysokou morbiditou a mortalitou (Yu et al., 2023).

V běžné populaci MRSA (CA-MRSA) nejčastěji způsobuje kožní infekce. Kmeny CA-MRSA (Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*) se stále více podílejí na nozokomiálních infekcích a mohou nakonec vytlačit kmeny HA-MRSA (Hospital-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*)

v nemocnicích (Mediavilla et al., 2012). Pokud se infekce MRSA neléčí, mohou se stát závažnými a způsobit sepsi – extrémní reakci těla na infekci (Centers for Disease et al., 2019). Příznaky infekce MRSA závisí na části těla, která je infikována. Lidé s kožními infekcemi MRSA často trpí otoky, zarudnutím a bolestí infikované kůže. Ve většině případů je těžké určit, zda se jedná o infekci způsobenou MRSA nebo jiným typem bakterií. Některé kožní infekce MRSA mohou vykazovat typický vzhled, který se však může snadno zaměnit například s kousnutím pavouka (Centers for disease et al., 2019).

Methicilin rezistentní *S. aureus* byl poprvé popsán v Anglii v roce 1961, krátce po zavedení methicilinu do klinické praxe. Původně byl methicilin široce využíván; nicméně kvůli své toxicitě se nyní již neprodává pro lidské použití a byl většinou nahrazen podobnými, stabilnějšími peniciliny, jako jsou oxacilin, flukloxacilin a dikloxacilin⁶ (Lee et al., 2018).

1.7 Onemocnění

Zánět způsobený zlatým stafylokokem se u nakažených pacientů může objevit v krku, v nose nebo také na kůži a vnitřních orgánech (například zlatý stafylokok v pochvě). Tato bakterie je zodpovědná za vznik různých infekčních onemocnění (Kubešová, 2019). Po požití potravy kontaminované enterotoxiny může navíc dojít k otravě jídlem (Hennekinne, 2017). Jde o tzv. enterotoxigenní kmen bakterie zlatého stafylokoka, který produkuje enterotoxin typu B, který vzniká v nedostatečně tepelně zpracované potravě a způsobuje „otravu jídlem“ způsobující typické břišní křeče a silné průjemy. Toto onemocnění způsobuje toxin, nikoli bakterie samotná (EUC et al., 2021).

1.7.1 Impetigo

Impetigo je vysoce infekční bakteriální onemocnění, postihující především kojence a malé děti. Obvykle se projevuje jako hnisavé puchýřky, které později praskají a na pokožce vytvářejí žlutohnědou krustu. Vředy se vyskytují především kolem nosu a úst (Kubešová, 2021).

Hlavním příznakem impetigo jsou zarudlé boláky. Boláky rychle prasknou, několik dní mokvají a pak vytvoří žlutohnědě zbarvenou krustu. Puchýřky se mohou rozšířit do jiných oblastí těla dotykem, oblečením a ručníky.

Rozeznáváme dvě hlavní formy impetigo: nebulózní (70 %) a bulózní (30 %).

Méně častá forma onemocnění nazývaná bulózní impetigo, zapříčiněna bakterií *S. aureus*, způsobuje větší puchýře na trupu kojenců a malých dětí (Mayoclinic et al., 2023). Nebulózní impetigo je způsobeno *S. aureus* a *S. pyogenes*. Klasický vzhled výrazných medově zbarvených krust napomáhají při diagnostice, která je nejčastěji založena na klinickém obrazu (Johnsonová, 2020). Oby typy obvykle odezní během dvou až tří týdnů bez jizev. Větší komplikace se vyskytují vzácně, přičemž nejzávažnější je poststreptokoková glomerulonefritida (Hartman-Adams et al., 2014).

1.7.2 Folliculitis decalvans (FD)

Folliculitis decalvans (FD) je infekční onemocnění kůže, které se projevuje hnisavými záněty, často v oblasti temene hlavy. Může také postihnout místa, kde rostou chlupy, jako jsou vousy, podpaží, končetiny a pubická oblast. Toto onemocnění vzniká v důsledku rozšířeného zánětu vlasových folikulů, což vede ke ztrátě vlasů na postižených místech a zamezení růstu nových vlasů.

Toto onemocnění se může projevovat souborem příznaků, mezi které patří například mírné svědění, atrofické bílé skvrny, zjizvení a vypadávání vlasů (alopecie), tufting – z jediného vlasového folikulu vystupuje několik vlasových stvolů. To má za následek trvalé komplikace jako je vypadávání vlasů. FD je klinická diagnóza potvrzená na mykologii, bakteriologii nebo histologii – pokud je to požadováno (DermNet et al., 2023).

Příčina FD bývá způsobena reakcí na bakterií *S. aureus*. FD je svou podstatou velmi vzácné onemocnění. Může se objevit u obou pohlaví, ale častěji se vyskytuje u mužů. Obvykle jsou postiženi spíše dospělí než děti. Obecně se FD nepovažuje za nakažlivé onemocnění, a to i přes skutečnost, že se na léčbu tohoto onemocnění používají antibiotika (British association of dermatologists et al., 2022)

1.7.3 Stafylokoková meningitida

Stafylokoková meningitida je závažné infekční onemocnění mozkových obalů, vyskytující se po celém světě (Šín & Váchalová, 2020). Vzniká přenosem bakterií do organismu krví z hnisavých ložisek na těle (např. při nešetrném ošetření ran nebo u narkomanů, kteří si aplikují látky nitrožilně). Stafylokoková meningitida může způsobit smrt pacienta (EUC et al., 2021). U přeživších pacientů jsou časté trvalé následky. Rozhodující je včasné zahájení antibiotické terapie.

Toto závažné onemocnění se diagnostikuje pomocí lumbální punkce, kdy vyšetřovaný vzorek je likvor (Šín & Váchalová, 2020).

1.7.4 **Hordeolum (ječné zrno)**

Jedná se o akutní hnisavý zánět, který svým tvarem a velikostí připomíná drobné zrno ječmene. Tato infekce vzniká z důsledku ucpání mazových nebo potních žlázek u některého z řasových folikulů na horním nebo dolním víčku. Nejčastěji bývají zasaženy Molloyovy nebo Zeisovy žlázy, což má za následek řadu nepříjemných obtíží, které trápí osoby v různé věkové kategorii (Kubešová, 2018). Nejčastějšími příznaky jsou svědění a pocit tlaku na okraji víčka. Následuje otok, zarudnutí a zánět, který dále doprovází zánětlivá infiltrace až hnisavý absces. Zánět se projevuje citlivostí a bolestí při mrkání. Ječné zrno se dá vyléčit pomocí teplých obkladů, které vedou k urychlení zánětu a následně ke spontánnímu vyprázdnění hnisu. Vzácně je třeba uvolnit hnis naříznutím (chirurgickým otevřením). Po vyprázdnění hnisu je doporučena aplikace studených obkladů pro zklidnění víčka (Refrakční centrum et al., 2019).

1.7.5 **Stafylokoková infekce**

Infekce začínají jako malé červené hrbolky, které se mohou rychle změnit v hluboké, bolestivé abscesy, které vyžadují chirurgický zákrok (Mayoclinic et al., 2022).

V momentě, kdy MRSA pronikne hlouběji do organismu či přímo do krve, může způsobit mnohonásobně závažnější stavy, které pacienta mohou ohrozit na životě.

Poměrně častá je i infekce močového traktu, která může postihnout jak ledviny, tak močové cesty. Nebezpečná je také infekční endokarditida, tedy zánět vnitřní výstelky srdce a srdečních chlopní (Tancerová, 2019). Stafylokoková infekce se může přenášet z člověka na člověka nebo z předmětů.

1.7.6 **Stafylokoková pneumonie (zápal plic)**

Stafylokoková pneumonie je chorobný proces vyžadující včasnou diagnózu, protože následky mohou vést ke komplikacím, jako je bakteriémie nebo sepse. Komunitní stafylokoková pneumonie je obvykle pozorována u pacientů, kteří se zotavují z chřipky. Riziková je mladší a starší populace (Clark et al., 2023). Příznaky se projevují náhlým nástupem horečky, tachypnoe, produktivním kašlem s hnisavým sputem, které může být zabarveno krví (Voci et al., 2020).

1.7.7 Bakteriémie *Staphylococcus aureus*

Bakteriémie *S. aureus* (SAB) je závažnou příčinou infekce krevního řečiště spojené s významnou morbiditou a mortalitou (Abraham & Bamberger, 2020). Účinná léčba infekcí krevního řečiště způsobených grampozitivními bakteriemi, včetně *Staphylococcus*, *Streptococcus* a *Enterococcus*, představuje hlavní klinickou výzvu. Infekce krevního řečiště způsobené *S. aureus* patří mezi nejčastější a nejkomplicovanější (Naber, 2009).

Pacienti, kteří trpí bakteriémií způsobenou *S. aureus* (SAB), mají vysoké riziko vzniku infekční endokarditidy (IE). Přibližně u čtvrtiny pacientů s SAB se vyvine infekční endokarditida *S. aureus* (SAIE), která má 30denní hospitalizační mortalitu 25 % až 47 %. Diagnostika SAIE může být obtížná, protože často projevuje nespecifické klinické symptomy. Časná identifikace umožňuje adekvátní antibiotickou terapii a případně chirurgický zákrok (Khan et al., 2020).

1.7.8 Léčba a prevence stafylokokových infekcí

V nemocničním prostředí jsou nezbytná přísná hygienická a izolační opatření, aby se zabránilo šíření těchto bakterií. Antibiotika jsou v současnosti preferovanou léčbou, zejména v časných stádiích infekce. Nedávný výskyt kmenů rezistentních na vankomycin však naznačuje pravděpodobnost nedostatku léčebných možností. Kmeny stafylokoků rezistentní na meticilin neboli MRSA patří mezi nejběžnější bakterie rezistentní na antibiotika v nemocnici a tvoří přibližně 27 % *S. aureus* infekcí (Institut Pasteur et al., 2021).

Vyšetření na přítomnost stafylokoků se provádí výtěrem (z krku či jiného místa, případně kultivací tělních tekutin – hlen, hnis apod.) nebo laboratorním rozbořem krve (průkaz kultivací – např. haemocult). Z odebraných vzorků lékař určí, o jaký kmen bakterie se jedná. Následně testují jeho citlivost na různé druhy antibiotik a teprve potom navrhnou specifickou léčbu. Při vážnějších infekcích se antibiotika aplikují nitrožilně (EUC et al., 2021).

2 Včelí produkty

Včelařství je jedním z nejstarších oborů lidské činnosti. Člověku nejdříve přinášelo včelí produkty, jakými byly med a vosk, později se začalo využívat i příznivých

účinků produktů, tj. mateří kašičky, včelího jedu a pylu. Pro své antibakteriální vlastnosti našel uplatnění i propolis (Veselý et al., 2013).

V poslední době roste zájem o alternativní medicínu, která se zaměřuje na využití přírodních biologicky aktivních látek získaných z včelích produktů. Tyto produkty nejsou používány pouze v léčebných procesech, ale také se stávají klíčovými složkami v kosmetických přípravcích pro péči o pleť. Studie prokázaly pozitivní vliv včelích produktů na pokožku a jejich schopnost urychlit hojení ran, což podtrhuje jejich význam v léčebných aplikacích. Med, propolis, včelí pyl a včelí jed jsou pouze některé z produktů, které jsou široce využívány díky svým léčivým vlastnostem (Górecka & Górecki, 2020).

3 Med

Slovo „honey“ (MED) pochází z germánského kmene slova „hunaga“, což znamená zlatý. Po desetitisíce let byl med v mnoha zemích – jako takřka jediný dostupný zdroj cukru – univerzálním sladidlem (Normanová, 1993). Med je nejznámější a nejrozšířenější včelí produkt. Je to sladká hmota vytvářena včelami z nektaru a medovice (Kamler et al., 1999). Med je přírodní potravinový produkt, který není jen výživný, ale také má cenné terapeutické vlastnosti díky obsahu bioaktivních složek. Obecně lze biologicky aktivní látky v medu rozdělit do dvou hlavních skupin: antibakteriálních a antioxidačních. Tyto složky vzájemně interagují a společně poskytují medu vysoké zdravotní přínosy. Med prokazuje schopnost potlačit růst až usmrcení mnoha lidských patogenů, především grampozitivních bakterií, jakou je například *S. aureus* (Džugan et al., 2018).

Od starověku se med využíval k léčbě infekcí a poranění. S nástupem moderních antibiotik se však jeho užívání spolu s dalšími přírodními léčivy snížilo. V dnešní době, kdy je rezistence mikrobů vůči běžným léčivům rostoucím problémem, se med opět dostává do centra zájmu vědců a lékařů jako antimikrobiální prostředek díky své účinnosti proti rezistentním mikroorganismům (Jodidio & Schwartz, 2024). Antibakteriální schopnosti medu spolu s jeho hustou texturou pomáhají vytvořit ochrannou bariéru, která brání infekcím. Antibakteriální aktivita většiny medů je způsobena enzymatickou produkcí peroxidu vodíku. U neperoxidovaného medu (např. manukový med) je aktivita peroxidu vodíku blokována, avšak vykazuje významné antibakteriální účinky díky jeho nízkému pH a vysokým obsahem cukru, který je dostatečný k zabránění růstu mikrobů (Mandal, 2011). Schopnost medu bojovat proti mikroorganismům závisí na mnoha

faktorech, včetně jeho botanického a geografického původu, zdravotního stavu včel a způsobu zpracování (Almasaudi, 2021).

3.1 **Proces vzniku medu**

Vznik medu je velmi složitý proces, závislý na včelstvu jako celku – jedna včela nemůže z nasátého nektaru či medovice sama med vytvořit. Tím se liší včelí produkty například od mléka, které je produktem mléčné žlázy v zásadě plně ovládané samotným jedincem bez účasti ostatních členů stáda (Gruna et al., 2022) Včely přinášejí sladké šťávy v medném váčku do úlu, kde je předávají úlovým včelám (přijímatelkám sladiny), čímž je sladina zařazena do koloběhu potravy v rámci celého včelstva. Donesená kapka je spolknuta a znovu předávána dál ještě několikrát, než může být jako řídký med uložena do buňky plástu (Přidal, 2013).

Při zpracování je třeba med nejprve přecedit a vyčeřit, aby se z něj odstranily hrubé nečistoty, jako jsou vosk a zbytky včelích tělíček. Čistý med se dále stáčí do sklenic. Většina medů časem přirozeně krystalizuje. Nektarové medy krystalizují rychleji než medovicové, protože mají veliký obsah pylových zrn, jež působí jako krystalizační jádra (Urban, 2019).

3.2 **Fyzikálně-chemické vlastnosti medu**

Existuje několik klíčových fyzikálně-chemických vlastností, jako je pH, obsah vody nebo vlhkost, hydroxy-metyl-furfural (HMF) a antioxidační vlastnosti, které se používají k posouzení kvality medu. Nižší hodnota pH naznačuje menší množství mikroorganismů, protože většina z nich nedokáže přežít v kyselém prostředí. Současně je žádoucí také nízký obsah vlhkosti, protože vyšší obsah vody podporuje fermentaci. HMF slouží k určení čerstvosti medu. Zpracování medu při vyšších teplotách nebo delším skladování může způsobit zvýšenou hodnotu HMF (Rajindran et al., 2022).

Fyzikální vlastnosti medu pozitivně ovlivňují proces hojení ran tím, že vytvářejí prostředí vhodné pro regeneraci tkání. Jeho kyselé pH, obvykle mezi 3,2 až 4,5, podporuje uvolňování kyslíku z hemoglobinu, což je důležité pro hojení ran. Díky vysokému obsahu cukru má med vysokou osmolaritu, což přispívá k hojení tím, že odvádí vodu z lůžka rány. I když by se mohlo zdát, že by to mohlo způsobit dehydrataci tkáně rány, pokud je cirkulace krve dostatečná k nahrazení ztracené tekutiny, osmotický účinek cukru spíše podporuje odtok lymfy, což je pro hojení výhodné (Molan & Rhodes, 2015).

3.2.1 Krystalizace medu

Krystalizace medu je běžným jevem při jeho zpracování, skladování a trvanlivosti, zejména u surového medu, kdy se glukóza přeměňuje na monohydrát glukózy, což je hlavní příčinou tohoto jevu (Ji et al., 2023).

Rychlost krystalizace medu závisí na řadě faktorů, včetně obsahu glukózy, fruktózy a vody, teploty, míry nasycení glukózy, viskozity a přítomnosti již existujících krystalů nebo nečistot (Tappi et al., 2019). Med s vyšším obsahem fruktózy obvykle zůstává tekutý po delší dobu, někdy i několik měsíců nebo let. Naopak, med s větším množstvím glukózy začíná často krystalizovat krátce po sklizni, protože glukóza má nižší rozpustnost ve vodě než fruktóza (Weber et al., 2022).

Mezi nejčastější způsoby prevence krystalizace patří tepelné zpracování při vysokých teplotách (např. metoda pasterizace), ultrazvuková nebo mikrovlnná předúprava, skladování při velmi nízkých teplotách a filtrace na sítích s malými póry (Pasias et al., 2022).

3.3 Složení medu

Med obsahuje jednoduché cukry, jako jsou fruktóza a glukóza a disacharidy, jako jsou sacharóza, oligosacharidy a další cukry, 13 druhů aminokyselin včetně esenciálních, také rostlinné bílkoviny z nektaru rostlin, ale také živočišné – z hltnových žláz včel (včelaři-Nejdek et al., 2016). V medu se nachází řada důležitých biologicky aktivních prvků, které mají významný vliv na lidské tělo. Mezi tyto prvky patří vitamín A (Retinol), vitamín B1 (thiamin), vitamín B2 (riboflavin), vitamín B6, vitamín E (tokoferol), vitamín K (známý také jako antihemoragický vitamín), niacin, flavonoidy, mastné kyseliny, vitamín C (kyselina askorbová), kyselina skořicová, kyselina pantotenová a fenoly. Dále se v medu vyskytují kyselina hydroxybenzoová, kyselina oktadekanová a ethylester, které přispívají k jeho unikátním vlastnostem a zdravotním prospěchům (Dumitru et al., 2022).

3.3.1 Hlavní složky medu

Na rozdíl od běžného cukru dostupného v obchodech, který často obsahuje pouze sacharózu získanou z cukrové řepy, med představuje komplexní směs rozmanitých cukrů, kterou včely dále obohacují přidávkem dalších cenných látek (Lampeitl, 1996).

- fruktóza 38 %
- glukóza 31 %
- sacharóza 1,3 %
- vyšší cukry 1,5 %
- voda 17 %
- enzymy 0,1–0,6 % (glukózooxidáza, fosfatáza, invertáza, diastáza, kataláza)
- vitamíny 0,1 % (B1, B2, B3, biotin, C, kys.pantotenová)
- minerální látky 0,1–1,0 % (draslík, sodík, vápník, hořčík, železo, fosfor, síra, mangan, zinek, měď)
- organické kyseliny 0,1–0,5 % (kys.pyrohroznová, kys.glukonová, kys.jablečná, kys.citronová)
- aminokyseliny 0,1 – 0,5 % (fenylalanin, prolin, alanin, valin)
- hormonální látky (noradrenalin, acetylcholin, adrenalin, dopamin)
- barviva (rutin, kverutin, akacetin)
- vonné látky (diacetyl, acetaldehyd a více než 50 dalších) (Lampeitl, 1996)

Obsah vody je ukazatelem kvality medu a měří se buď určením měrné hmotnosti, nebo refraktometrem. Když množství vody překročí 22 %, začne med kvasit. Nedílnou součástí medu jsou minerální látky, kterých je více v medovicových medech. Jejich množství se určuje měřením měrné vodivosti medu (Urban, 2019).

3.4 Druhy medu

Med můžeme rozdělit podle původu na 3 základní druhy: nektarový – květový (světlý), medovicový – lesní (tmavý) a smíšený.

3.4.1 Medovicový med (lesní)

Medovicový med produkují včely (*Apis mellifera*) ze sekretů živých částí rostlin nebo z exkrementů hmyzu sajícího rostliny. Medovicový med obvykle vykazuje zvýšené hodnoty pH, elektrické vodivosti a procenta popela, spolu s vyšším obsahem disacharidů a trisacharidů a nižším obsahem monosacharidů. Dále má tmavší barvu a vykazuje specifické sensorické vlastnosti ve srovnání s květovými medy (Seraglio et al., 2019).

Stromy, které slouží k produkci medovicového medu, jsou převážně jehličnaté, jako jedle (*Abies alba*) a smrky (*Picea abies*), ale také listnaté, například duby (*Quercus spp.*) a lípy (*Tilia spp.*). Když hmyz saje šťávu z těchto rostlin, absorbují základní živiny a vylučují zbytkovou lepkavou tekutinu s vysokým obsahem cukru, která je známá jako medovice (Tomczyk et al., 2022).

Výzkumy zabývající se antibakteriální aktivitou medovicových medů prokázaly jejich vyšší účinnost v porovnání s nektarovými medy, přičemž některé studie uváděly dokonce silnější účinnost než manukový med. Tuto antibakteriální aktivitu lze převážně přisuzovat tvorbě peroxidu vodíku (Mežnarić et al., 2022).

3.4.2 Květový med (nektarový)

Květový med je přírodní produkt, který vzniká z nektaru květů. Včely sbírají nektar z květů a ukládají ho do medného vaku, kde se začne přeměňovat na med díky enzymům obsaženým ve výměšcích jejich žláz. Poté ho přenášejí do úlu, kde je vytvořený med uchován ve voskových plástech pro pozdější použití. Tento proces zahrnuje opakované sbírání nektaru, zahuštění a uskladnění, až vytvoří konečný produkt – med (Ramsay et al., 2019).

3.4.3 Smíšený med

Smíšený med je kombinací nektarových (květových) a medovicových (lesních) medů. Obsahuje přírodní látky z ovocných stromů a léčivých rostlin, stejně jako cenné minerální látky a stopové prvky z lesních medů. Tím spojuje výhody obou typů medů (Annovino, 2024).

3.5 Účinky medu

Důkazy naznačují, že med má několik pozitivních účinků na zdraví, jako jsou gastroprotektivní, hepatoprotektivní, reprodukční a hypoglykemické vlastnosti. Také působí jako antioxidant, snižuje krevní tlak a má antibakteriální, protiplísňové a protizánětlivé vlastnosti (Erejuwa et al., 2012).

Nejvíce známé jsou hojivé účinky na kůži, a proto je med často součástí kosmetických hydratačních a výživných krémů. Med má vynikající účinky při aplikaci přímo do rány při různých odřeninách nebo popáleninách. Hojení a regenerace jsou velmi rychlé a tvorba jizev či puchýřů je minimalizovaná (Urban, 2019). Med působí jako přírodní obvaz s mnoha biologickými schopnostmi, které spolupracují na urychlení

hojení. Fyzikální vlastnosti medu rovněž přispívají k tomu, že rány léčí rychleji: jeho kyselost podporuje uvolňování kyslíku z hemoglobinu, čímž ztěžuje prostředí rány pro destruktivní enzymy a vysoká osmolarita medu odvádí tekutiny z rány a podporuje odtok lymfy. Med také prokázal široké spektrum antibakteriálních účinků, avšak účinnost se může lišit mezi různými druhy medu (Molan & Rhodes, 2015).

Často se med dává do spojitosti s diabetes. Bylo zjištěno, že hladina inzulínu byla nižší při příjmu určitého množství energie z medu než při příjmu z jiných potravin se stejným množstvím energie, ale krevní cukr byl naopak vyšší. U zdravých jedinců byl při konzumaci medu dokázán nižší obsah cukrů v krvi než při konzumaci obyčejného cukru.

Med na rozdíl od řepného cukru obsahuje navíc dosti Ca a P, jež jsou zapotřebí při metabolismu sacharózy, takže organizmus nemusí tyto prvky brát například ze zubní skloviny a netvoří tak zubní kaz (Gruna et al., 2022).

Antioxidační účinky medu jsou významné při boji proti poškození způsobenému oxidačními látkami, jako jsou kyslík, hydroxylové radikály, superoxidy a lipidové peroxyradikály. Různá onemocnění, jako je rakovina, ateroskleróza a chronická degenerativní onemocnění, jsou citlivá na oxidační stres. Buňky mají obranný systém složený z volných radikálů a dalších ochranných látek, jako je kataláza, peroxidáza, kyselina askorbová, tokoferoly a polyfenoly, který chrání před oxidačním poškozením. Tyto antioxidanty stimulují biomolekuly, jako jsou sacharidy, proteiny, lipidy a nukleové kyseliny, což vyvolává antioxidační odpověď v buňkách. Med prokazuje silnou antioxidační aktivitu, která přispívá k prevenci několika akutních a chronických onemocnění, jako jsou záněty, alergie, trombózy, diabetes, kardiovaskulární problémy a rakovina (Ahmed et al., 2018).

Antibakteriální účinek medu je přisuzován jeho vlastnostem, jako je osmolarita, obsah peroxidu vodíku (H_2O_2), nízké pH, obsah polyfenolických látek, především flavonoidů, fenolických kyselin a jejich derivátů. Různé látky obsažené v medu, jako jsou tetracyklin, mastné kyseliny, peroxidy, kyselina askorbová a amyláza, které přispívají k jeho aktivitě proti patogenním bakteriím. Tyto látky mohou buď zastavit růst bakterií (bakteriostatický účinek) nebo je usmrtit (baktericidní účinek). Všeobecně platí, že doposud nebyl objeven žádný organismus, který by vyvinul odolnost vůči medu (Almasaudi, 2021).

4 Esenciální oleje

Esenciální oleje (EO) neboli silice, jsou látky obsažené ve vyšších rostlinách. Patří mezi rozmanitou skupinu látek, ve vodě velmi špatně rozpustných. EO jsou rozdělené na lipofilní a prchavé. Ve většině případů jde o látky silně aromatické, mohou být však též bez vůně. EO jsou obsaženy v bylinkách, léčivých rostlinách nebo ve stromech. Patří k významným léčivům (Franclová, 2019).

Po staletí byli éterické oleje používány jako účinné prostředky s baktericidními, virucidními, fungicidními, antiparazitárními, insekticidními, léčebnými a kosmetickými účinky. Tento tradiční význam přetrvává i v dnešní době, kdy jsou EO běžně využívány ve farmaceutickém, sanitárním, kosmetickém, zemědělském a potravinářském průmyslu (Bakkali & Averbek, 2008).

EO jsou vytvářené rostlinami jako sekundární metabolity, které definují jejich charakteristickou vůni. Tyto oleje jsou uloženy v různých částech rostlin, jako jsou listy, kůra, květy, pupeny, semena a slupky, a mohou být extrahovány z olejových váček nebo žláz. Jsou to koncentrované směsi těkavých uhlovodíků, které se snadno odpařují za běžných teplot, což jim vysloužilo označení těkavé oleje (Sattayakhom et al., 2023).

4.1 Skořicovník pravý (*Cinnamomum verum*)

Skořice (*Cinnamomum* spp.) je zařazena do čeledi Lauraceae a patří mezi prastaré rody tropických rostlin s přibližně 250 druhy (Ramazani et al., 2020).

Skořicovník pochází z jižní Asie, kde jeho léčivých účinků využívali staří Číňané již kolem roku 2 700 let př. n. l. Tato rostlina byla předepisována na horečky, průjem a menstruační potíže. Ajurvédští léčitelé Indie jej užívali podobným způsobem (Castleman, 2004).

Různé části skořicového stromu, včetně listů, kůry, kořenů, květů a plodů, mají dlouhou historii v tradičním léčení. V těchto částech jsou obsaženy biologicky aktivní látky, jako je cinnamaldehyd (přítomný v kůře), kyselina skořicová a cinnamát. Tyto sloučeniny jsou klíčové pro účinky skořice na lidské zdraví, včetně antidiabetických, protizánětlivých, antioxidačních, protirakovinných, antimikrobiálních a snižujících hladinu lipidů (Ramazani et al., 2020). Kromě těchto účinků, má také účinky proti neurologickým poruchám, jako je Parkinsonova a Alzheimerova choroba (Rao & Gan, 2014).

4.2 **Máta peprná (*Mentha piperita*)**

Máta peprná je trvalá rostlina s hladkými listy a výraznou vůní patřící do čeledi Lamiaceae (Mahendran & Rahman, 2020).

Již v Ebersově papyru, nejstarším dochovaném lékařském textu, byla máta zmiňována pro své uklidňující účinky na žaludek. Z Egypta se máta rozšířila do Palestiny, kde se používala jako platidlo daní. Řekové i Římané přidávali mátu do mléka, aby zabránili jeho zkysnutí a podávali ji po jídle jako prostředek k uklidnění trávení (Castleman, 2004). Máta peprná se pěstuje v mírném podnebném pásu Evropy, Asie, Spojených států, Indie a středomořských zemích kvůli své obchodní hodnotě a výrazné vůni. Kromě tradičního použití při dochucování potravin je máta peprná známá i pro své léčebné účinky. Je používána k léčbě horečky, nachlazení, problémů s trávicím traktem, antivirových a protiplísňových účelů a k léčbě zánětů sliznice dutiny ústní a krku.

Listy máty peprné obsahují až 2 % silic, přičemž nejvíce zastoupenou složkou je silice mentolu a menthonemu (cca 60 %). Kromě toho obsahují vysoké množství menthofuranu, piperitonu, tríslovin, hořčin, flavonoidů a kyseliny octové. Celkem obsahují přibližně čtyřicet účinných látek. Máta má charakteristickou chuť, která je palčivě kořeněná, větrová a chladivá (Štrauchová, 2014).

Máta peprná je křížencem máty vodní a máty klasnaté. V přírodě se vyskytuje spíše výjimečně, obvykle poblíž míst, kde bývala dříve pěstována (Janča & Zentrich, 1995).

4.3 **Tymián obecný (*Thymus vulgaris*)**

Tymián obecný je vytrvalá rostlina, dosahující výšky asi 30 cm. Kvete pozdě na jaře a na začátku léta. Prospívá na slunných místech a preferuje půdu s menším obsahem živin. Tymián obsahuje silici s výraznou vůní obsahující thymol a karvakrol, dále cineol, pinen, linalol a borneol. Tymián působí antibioticky a je výborným desinfekčním prostředkem zejména dýchacích cest, ale taky trávicího ústrojí (Janča & Zentrich, 1997).

V tradiční medicíně se používá k léčbě dyspepsie, chronické gastritidy, průjmu a enurézy. Má antispasmodické, anthelmintické, antibakteriální, antimykotické, antivirové, antiprotozoální, protizánětlivé a antioxidační účinky. Má také antiastmatické, bronchodilatační a expektorační účinky na dýchací systém. V tomto ohledu je široce používán k léčbě onemocnění dýchacího systému, jako jsou bronchopulmonální poruchy (Bolatlí et al., 2023).

4.4 Hřebíčkovec kořený (*Syzygium aromaticum*)

Hřebíčkovec kořený (L.), běžně nazývaný jako hřebíček, je strom z čeledi *Myrtaceae*, který je ceněn pro své léčivé vlastnosti, zejména pro svůj antimikrobiální účinek. Pochází z Indonésie a preferuje teplé a vlhké klima. Tento stálezelený strom může dorůst výšky 12–15 metrů a je charakterizován vejčitě kopinatými listy a bobulemi jako ovocem (Maggini et al., 2024).

Hlavními sloučeninami nalezenými v EO hřebíčku jsou eugenol, acetát eugenolu, β -karyofylen a α -humulen. Eugenol je hlavní bioaktivní složkou hřebíčku a je univerzální sloučeninou s analgetickými, antioxidačními, protizánětlivými, antibakteriálními, protiplísňovými a antivirovými účinky. Eugenol patří do skupiny fenypropenů, která je součástí velké skupiny těkavých fenypropanoidů. Tyto sloučeniny přispívají k vůni a chuti koření, bylin a ovoce a hrají roli v komunikaci rostlin (přitahování opylovačů) a obraně (proti hmyzu, býložravcům a patogenům) (Ouadi et al., 2022).

Hřebíčkový EO (CEO) má bohatou historii v tradiční medicíně, kde se využívá při léčbě popálenin, ran a bolestí spojených se zuby. Již po staletí se hřebíček tradičně používá k léčbě široké škály potíží, včetně zvracení, nadýmání, nevolnosti a poruch trávicího systému. V tropické Asii byly prokázány jeho schopnosti v boji proti různým mikroorganismům, jako jsou svrab, cholera, malárie a tuberkulóza. V Americe je také oblíbený pro své vlastnosti potlačující patogeny přenášené potravinami a pro léčbu různých bakteriálních, virových a parazitárních infekcí (Batiha et al., 2020).

4.5 Vavřín kubébový (*Litsea cubeba*)

Vavřín kubébový, člen čeledi Lauraceae, je rozsáhlým rodem, který zahrnuje více než 400 druhů. Jeho přirozený výskyt je typický pro tropické a subtropické oblasti, jako jsou Indie, jihovýchodní Asie, jižní Čína, Tchaj-wan a Japonsko.

Vavřín je stálezelený, rychle rostoucí a vzácný listnatý strom nebo keř, který může dosahovat výšky asi 8 metrů (Kamle et al., 2019).

EO z Vavřínu (LCEO) je zpravidla získáván destilací plodů této rostliny a obsahuje složky jako trans-citral, cis-citral, d-limonen a další chemické látky (Kowalska-Krochmal et al., 2021). LCEO je světle žlutý a má intenzivní, svěží vůni citronu. Je využíván v kosmetickém průmyslu a má široké farmakologické využití. Jeho chemické složení přispívá k různorodým biologickým vlastnostem, které se mohou lišit podle části rostliny, ze které je olej získán, a také podle období sklizně a místa původu.

Díky svým bioaktivním složkám lze LCEO využít k ochraně potravinových zdrojů a potravinářských výrobků před škodlivými mikroorganismy (Borotová et al., 2022).

4.6 Saturejka horská (*Satureja montana*)

Saturejka horská L., aromatická rostlina dosahující výšky 20–30 cm, se vyskytuje v suchých, teplých a skalnatých oblastech Středomoří a Balkánu. Rod *Satureja* zahrnuje více než 200 druhů jednoletých nebo víceletých aromatických rostlin náležejících do čeledi Lamiaceae. Semena, listy, květy a stonky rostlin tohoto rodu jsou v alternativní medicíně využívány jako analgetika, protizánětlivé a terapeutické látky (Đorđević et al., 2022). Je široce používána ve středomořské stravě a vykazuje známé protizánětlivé, antibakteriální, antifungální a antioxidační vlastnosti (Gomes et al., 2020).

Saturejka horská je rovněž široce využívána jako koření, náhražka pepře a tradiční lék (Kovačević et al., 2021). Je bohatá na EO obsahující fenolické monoterpeny karvakrol a thymol, které jsou její nejvýznamnějšími složkami. Kromě lipofilní frakce obsahuje saturejka také významné bioaktivní složky hydrofilního charakteru, jako jsou fenolové kyseliny (Vladić et al., 2020).

4.7 Česnek (*Allium sativum*)

Česnek (*Allium sativum* L., čeleď Alliaceae) patří mezi nejprozkoumanější a nejprodávanější bylinné produkty na trhu. Po staletí se využíval jako tradiční lék proti různým zdravotním potížím. Zároveň je hojně používán jako koření a afrodiziakum ve stravě. Jeho léčivé vlastnosti jsou důsledkem kombinace různých biologicky aktivních látek, které působí synergicky. Obsažené sloučeniny v česneku se navzájem ovlivňují, což vede k různým terapeutickým účinkům (Majewski, 2014).

Česnek je aromatická rostlina, která se široce používá jako potravina i tradiční lék proti různým onemocněním po celém světě. V tradiční medicíně se mu připisují různé biologické vlastnosti, včetně antikarcinogenních, antioxidačních, antidiabetických, renoprotektivních, antiaterosklerotických, antibakteriálních, antifungálních a antihypertenzních účinků. Obsahuje mnoho fytochemikálií bohatých na síru, jako jsou alliin, allicin, ajoeny, vinylidithiiny a flavonoidy, jako je kvercetin (Batiha et al., 2020). Česnekový EO obsahuje různé organosírové sloučeniny, jako jsou nejrepresentativnější diallyldisulfidy (DADS) a diallyltrisulfidy (DATS), které přitahují velký zájem v

lékařství, potravinářství a zemědělství kvůli jejich bohatým biologickým aktivitám (Huang et al., 2023).

4.8 Dobromysl obecná (*Origanum vulgare*)

Dobromysl obecná L., známé také jako Oregano, patří mezi jedny z nejpopulárnějších aromatických rostlin. Oregano je vytrvalá bylina se zpeřenými listy a fialovými květy, spadající do čeledi Lamiaceae. Pochází z teplých oblastí západní a jihozápadní Eurasie a středomořských oblastí. Jeho využití sahá do různých odvětví, jako je zemědělský, farmaceutický a kosmetický průmysl, kde slouží jako koření, příchut' do jídel, ingredience do alkoholických nápojů a parfémů, a to díky své charakteristické kořenité vůni. Listy a květy obsahují EO (karvakrol, thymol, p-kymen a další), flavonoidy (apigenin, luteolin, salvigenin, cirsimaritin, diosmetin), fenolové kyseliny (rozmarínová, kávová) a antokyany (Benedec et al., 2018). Oregano je také ceněným zdrojem léčivých látek v moderní fytoterapii (Lombrea et al., 2020).

5 Emulgátory

Emulgátory potravin jsou součástí široké škály přísad používaných v potravinářském průmyslu. Spadají do kategorie látek, které slouží k dosažení určitých vlastností potravin, jako je konzistence, chuť a trvanlivost. Mají unikátní strukturu, která zahrnuje jak hydrofobní, tak hydrofilní složky, což umožňuje smíchání látek, které by jinak nebylo možné spojit (Laster et al., 2019).

Mezi hlavními látkami, které slouží jako emulgátory v potravinářských přípravcích, jsou:

- Lecitin [E322], který se hojně vyskytuje v různých typech čokolády.
- Mono- a diglyceridy mastných kyselin [E471], často používané v mražených dezertech a zmrzlinách.
- Guarová guma [E412], která se najde v některých mléčných a sójových produktech.
- Xanthanová guma [E415], běžně používaná v majonézách a náplních do sendvičů.
- Karagenan [E407], využívaný pro ochucené mléčné výrobky a mražené dezerty.
- Různé formy celulózy, včetně karboxymethylcelulózy [E460-E469], často přidávané do vitamínů a dietních doplňků.

- Polysorbáty [E432-436], používané v jedlých olejích, zmrzlině a směsích na dorty a čokoládovém sirupu.
- Dimethylsulfoxid (DMSO), používaný jako rozpouštědlo, konzervační látka nebo aditivum (Bancil et al., 2021).

5.1 **Dimethylsulfoxid (DMSO)**

Dimethylsulfoxid (DMSO) je čirá kapalina bez výrazného zápachu, která se vyrábí jako vedlejší produkt v průmyslu výroby buničiny. Díky svým unikátním chemickým vlastnostem má široké využití při léčbě různých kožních problémů.

DMSO je velmi jednoduchá sloučenina, sloužící jako aprotické rozpouštědlo. Díky své malé a kompaktní struktuře, schopnosti tvořit vodíkové vazby a polární povaze má DMSO schopnost interakce s vodou, proteiny, sacharidy, nukleovými kyselinami, ionty, hormony, enzymy a dalšími buněčnými strukturami (Karim et al., 2023).

Sloučenina byla zvláště podporována jako analgetikum a protizánětlivé činidlo (Murdoch, 1982). DMSO se snadno vstřebává kůží a při lokální aplikaci na bolestivá místa zmírňuje muskuloskeletální bolest (Evans et al., 1993).

Cíle práce

1. Zjistit jaký vliv má fortifikace medu vybranými bioaktivními látkami na jeho antimikrobiální aktivitu.
2. Porovnat MIC a MBC fortifikovaných medů vůči medům nativním.

Hypotéza

Fortifikace medu ovlivňuje antimikrobiální aktivitu vůči gram-pozitivní bakterii *Staphylococcus aureus*.

6 Metodika

Jako hlavní metoda pro testování antimikrobiální aktivity medů byla použita metoda Broth microdilution assay. Stanovení minimální baktericidní koncentrace (MBC) bylo provedeno pomocí přetažení a kultivace bakterie *Staphylococcus aureus* na agarovém médiu. Minimální inhibiční koncentrace (MIC) byla stanovena spektrofotometricky.

6.1 Zkoumané látky

Celkem se pracovalo se čtyřmi vzorky v tripletech.

6.1.1 Vybrané medy

Medy byly získány z univerzitního včelína JU v roce 2023.

- med jarní (květový)
- med pozdně-jarní (smíšený)
- med letní (medovicový)

6.1.2 Vybrané esenciální oleje

- skořice
- máta peprná
- hřebíček
- tymián obecný
- saturejka horská
- dobromysl obecná
- česnek
- vavřín kubébový



Obrázek 1 Vybrané esenciální oleje

6.1.3 Vybrané emulgátory

- dimethylsulfoxid (DMSO)

6.2 Pomůcky a přístroje

Pomůcky

- laboratorní sklo (kádinka, odměrný válec, navažovací sklíčko, skleněné zkumavky, skleněná uzavíratelná láhev)
- očkovací kličky
- Petriho misky
- mikrozukavky Eppendorf (2,0 ml)
- automatické pipety
- multikanálová pipeta
- plastové špičky na pipety
- mikrotitrační destičky (8 řad po 12 jamkách)

Přístroje

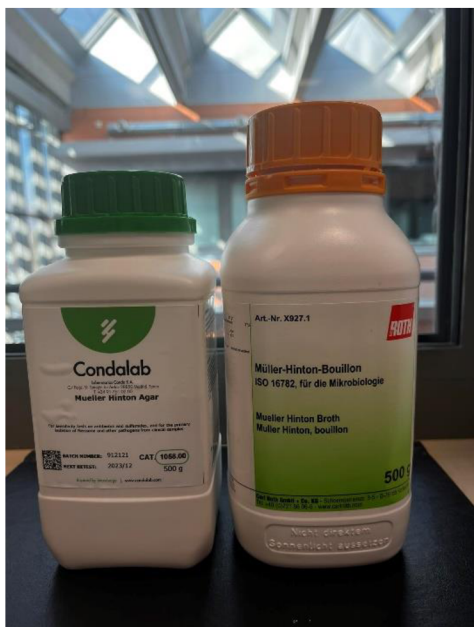
- spektrofotometr
- analytické váhy
- termostat
- denzitometr
- flowbox
- vortex

6.3 Kultivace bakterií

6.3.1 Mueller Hinton agar (MHA)

Mueller Hinton agar (MHA) je kultivační médium, používané při testování antimikrobiální citlivosti bakterií. Toto standardizované pevné médium poskytuje optimální podmínky pro růst klinicky významných bakterií.

Mezi klíčové složky MHA patří hovězí extrakt, kyselý hydrolyzát kaseinu, škrob a agar. Hovězí extrakt a kyselý hydrolyzát kaseinu poskytují základní živiny, jako je dusík, uhlík, síra, aminokyseliny a další nezbytné prvky pro růst bakterií (Redakce MN, 2023).



Obrázek 2 Kultivační média

6.3.2 Příprava Mueller Hinton agaru na kultivační misky

MHA byl použit na kultivaci bakterií a stanovení MBC.

Na analytických vahách bylo naváženo 3,7 g MHA. Navážený obsah byl kvantitativně převeden ke 100 ml destilované vody ve skleněné uzavíratelné láhvi. Objem byl řádně promíchán a následně vařen 30 minut v tlakovém hrnci. Po vychladnutí na cca 50 °C byl takto připravený roztok přelit do Petriho kultivačních misek (cca 20 ml). Po ztuhnutí byly MHA kultivační misky připraveny k použití.

6.3.3 Příprava Mueller Hinton broth (MHB)

Na MHB se sledovala MIC bakterií a rostlinných silic.

Na analytických vahách bylo naváženo 2,1 g Mueller Hinton broth. Navážený obsah byl kvantitativně převeden ke 100 ml destilované vody ve skleněné uzavíratelné láhvi. Objem byl důkladně promíchán a následně byl kvůli sterilizaci převeden k varu v tlakovém hrnci po dobu 30 minut.

6.3.4 Příprava kultury *Staphylococcus aureus* na Mueller Hinton agaru

Pro stanovení MIC a MBC je nutná příprava kultury bakterie *S. aureus*. V této práci byl použit kmen *Staphylococcus aureus* CCM 4516, získaný z České sbírky mikroorganismů v Brně.

Pomocí sterilní kličky bylo odebráno malé množství staré kultury *S. aureus*, které bylo následně přetaženo na Mueller Hintonův agar. Posléze byla takto naočkovaná kultura ponechána k inkubaci v termostatu při 37 °C po dobu 24 hodin.



Obrázek 3 Narostlá kultura *S. aureus*

6.4 Příprava bakteriálního inokula

Inokulum nebo také suspenze bakterií, bylo připraveno z předem narostlých 24hodinových kultur *S. aureus* na MHA.

Sterilní očkovací kličkou bylo odebráno malé množství narostlé kultury *S. aureus* a následně vloženo do připravené skleněné zkumavky se sterilní destilovanou vodou.

Množství odebrané kultury, řádně promíchané ve sterilní destilované vodě, muselo dopovídat hodnotě 0,5 McFarland na denzitometru.

6.5 Příprava vzorků

6.5.1 Příprava vzorků s nativním medem

Na analytických vahách byl navážen $1 \text{ g} \pm 0,001$ medu do mikrozkušavky Eppendorf o objemu 2,0 ml.

Ve flowboxu bylo do těchto mikrozkušavek přidáno 1000 μl připraveného MHB. Doplněné mikrozkušavky byly zvortexovány tak, aby navážený med tvořil homogenní suspenzi s tekutým médiem. Mikrozkušavka byla následně doplněna po rysku 2,0 ml tekutým médiem. Objem byl znovu zvortexován.

Do mikrodestičky byl odpipetován připravený 50 % (w/v) roztok medu s tekutým médiem.

6.5.2 Příprava vzorků s medem obohaceného esenciálními oleji

Na analytických vahách byl navážen $1 \text{ g} \pm 0,001$ medu do mikrozkušavky Eppendorf o objemu 2,0 ml.

Ve flowboxu bylo do těchto mikrozkušavek přidáno 1000 μl připraveného MHB. Doplněné mikrozkušavky byly zvortexovány tak, aby navážený med tvořil homogenní suspenzi s tekutým médiem. Následně bylo do takto připravené suspenze napipetováno 8 μl esenciálního oleje a doplněno po rysku 2,0 ml tekutým médiem. Objem byl znovu zvortexován.

6.5.3 Příprava vzorků s esenciálními oleji a emulgátorem

Do mikrozkušavky Eppendorf o objemu 2,0 ml bylo odpipetováno 20 μl emulgátoru DMSO. Dále bylo do mikrozkušavky odpipetováno 8 μl esenciálního oleje a objem byl doplněn po rysku 2,0 ml připraveným MHB. Mikrozkušavka byla zvortexována.

6.6 Minimální inhibiční koncentrace (MIC)

MIC je nejnižší koncentrace antibakteriálního činidla vyjádřená v mg/l (ppm), která za přísně kontrolovaných podmínek *in vitro* zcela zabraňuje viditelnému růstu testovaného kmene organismu (Kowalská-Krochmal & Dudek-Wicher, 2021).

Mikrotitrační destička je rozdělena do 8 řad po 12 jamkách (96 jamek), které jsou označeny písmeny A-H. Řada H slouží jako negativní kontrola. Řada G slouží jako pozitivní kontrola.

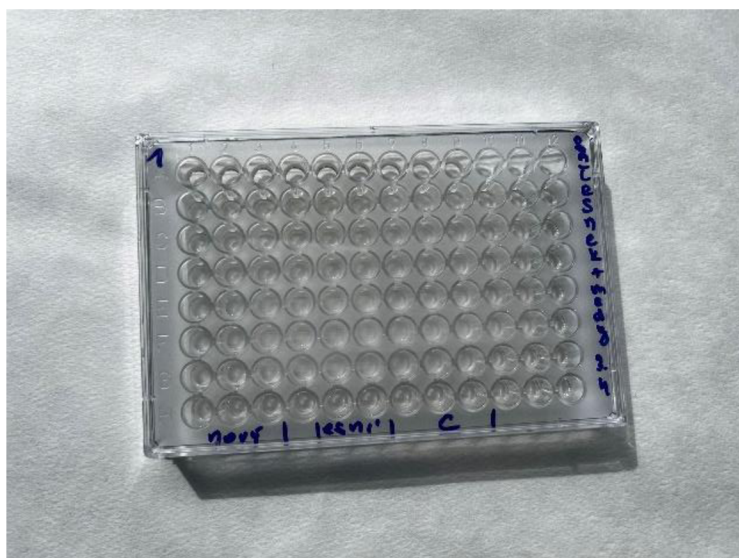
Do řad B-H bylo pomocí automatické pipety napipetováno 100 μ l tekutého média. Do řady A bylo napipetováno 200 μ l připraveného 50 % roztoku medu s tekutým médiem a esenciálním olejem po třech opakováních (4 vzorky EO na jednu destičku).

Z řady A bylo pomocí multikanálové pipety odpipetován objem 100 μ l a převeden do řady B. Z řady B bylo odpipetováno 100 μ l, které bylo převedeno do řady C – toto ředění bylo prováděno až do řady F. Obsah všech jamek byl řádně promíchán pomocí multikanálové pipety (viz Obrázek 5).

Následně bylo do naředěných jamek, kromě řady H (negativní kontrola), napipetováno 10 μ l předem připraveného inokula *S. aurea*.

Takto připravené mikrodestičky byly spektrofotometricky změřeny a ponechány k inkubaci v termostatu při 37 °C po dobu 24 hodin. Po 24 hodinách byly mikrodestičky znovu spektrofotometricky přeměřeny.

MIC byla měřena v 96 jamkových destičkách pomocí spektrofotometrického měření. První fáze měření byla zaměřena na stanovení MIC u jednotlivých typů medů, které následně byly porovnávány s medy obohacenými o EO. Minimální inhibiční koncentrace (MIC) byla stanovena pomocí sériových ředění medu (50 %, 25 %, 12,5 %, 6,25 %, 3,12 %, 1,56 %). Pokud MIC nebyla nalezena ani u nejnižších koncentrací standardního ředění, bylo provedeno nové ředění s nižšími koncentracemi (0,78 %, 0,39 % a 0,20 %).



Obrázek 4 Stanovení MIC

| Koncentrace medu | | Vzorek 1 | Vzorek 2 | Vzorek 3 | Vzorek 4 |
|-------------------------------|---|----------|----------|----------|----------|
| 50,00% | A | | | | |
| 25,00% | B | | | | |
| 12,50% | C | | | | |
| 6,25% | D | | | | |
| 3,12% | E | | | | |
| 1,56% | F | | | | |
| C ⁺ (MHB+inokulum) | G | | | | |
| C (MHB) | H | | | | |

Obrázek 5 Schéma ředění v mikrotitrační destičce

| Koncentrace medu | | Vzorek 1 | Vzorek 2 | Vzorek 3 | Vzorek 4 |
|-------------------------------|---|----------|----------|----------|----------|
| 6,25% | A | | | | |
| 3,12% | B | | | | |
| 1,56% | C | | | | |
| 0,78% | D | | | | |
| 0,39% | E | | | | |
| 0,20% | F | | | | |
| C ⁺ (MHB+inokulum) | G | | | | |
| C (MHB) | H | | | | |

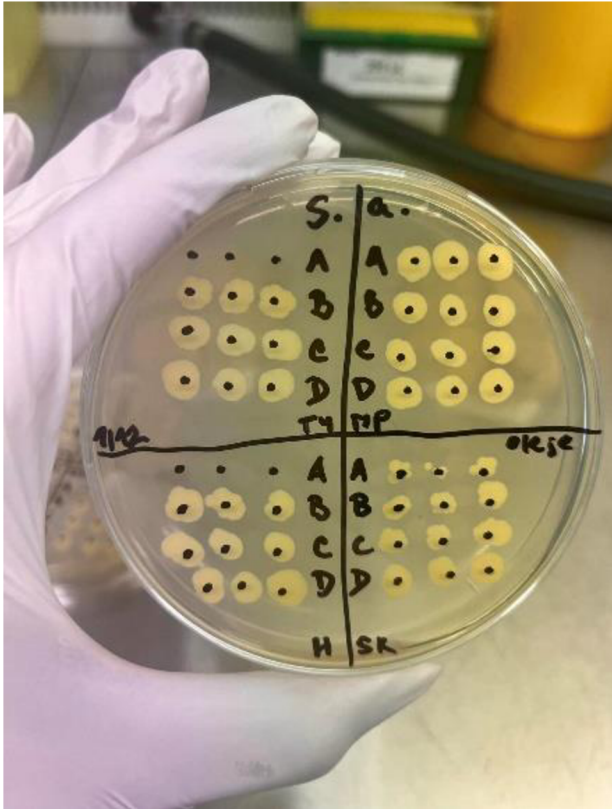
Obrázek 6 Schéma ředění v mikrotitrační destičce (nízké koncentrace)

6.7 Minimální baktericidní koncentrace (MBC)

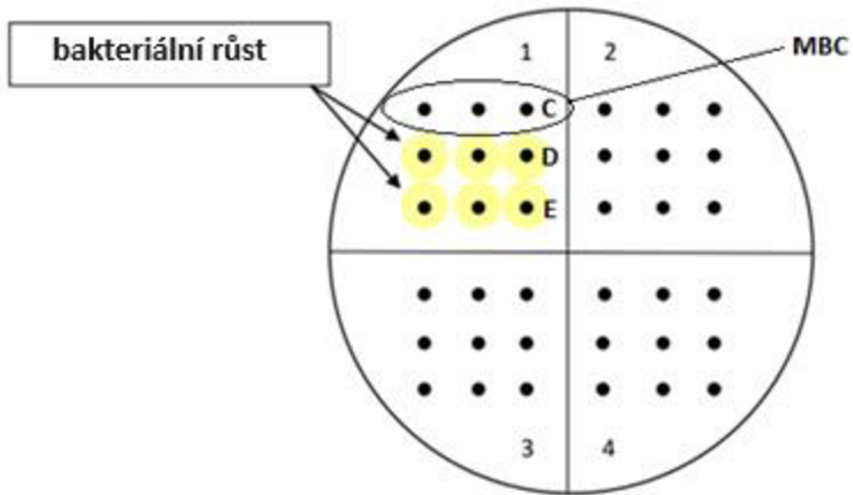
Minimální baktericidní koncentrace (MBC) je nejnižší koncentrace antibakteriální látky, která vede k usmrcení bakterie. MBC se udává v mg/l (ppm).

Po 24 hodinách kultivace byly mikrodestičky přeměřeny na spektrofotometru. Následně byl obsah z jamek pomocí sterilních kliček naočkován na předem připravené Petriho misky s MHA. Misky byly pomocí fixy rozděleny na 4 části, které obsahovaly název esenciálního oleje a koncentrace, které byly přeneseny z jamek mikrodestičky na misku. V mikrotitračních destičkách byly vzorky po třech opakování, proto ke každé koncentraci byly předkresleny 3 tečky.

Sterilní očkovací kličkou bylo z jamky destičky přeneseno přibližně 1 µl vzorku na předkreslené tečky na misce. Následně byly naočkované Petriho misky vloženy do sterilních uzavíratelných sáčků a byly inkubovány v termostatu po dobu 24 hodin při 37 °C. Po 24 hodinách byla odečtena nejnižší koncentrace, kterou bakterie pohltila.



Obrázek 7 Stanovení MBC po 24hodinové inkubaci



Obrázek 8 Schéma stanovení MBC

7 Výsledky

Cílem této studie bylo zjistit, jak obohacení vybranými esenciálními oleji ovlivní schopnost medu potlačit růst bakterie *Staphylococcus aureus*. Tato analýza měla za úkol zjistit nejnižší koncentraci těchto látek, která zabrání růstu bakterií (MIC), a také minimální koncentraci potřebnou k jejich usmrcení (MBC).

Pokus se prováděl v laboratoři na Zdravotně sociální fakultě.

MIC a MBC se stanovovalo u:

- 1) medů nativních
- 2) medů obohacených esenciálními oleji
- 3) esenciálních olejů bez medu

7.1 Stanovení MIC a MBC nativních a obohacených medů

Tabulka 1 Porovnání nativních medů vůči medům fortifikovaným

| | Nativní med | | Tymián | | Skořice | | Máta peprná | | Hřebíček | |
|----------------|----------------|----------|----------|----------|----------|----------|-------------|----------|----------|----------|
| | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC |
| květový med | 50,00% | >50% | 12,50% | 25,00% | 12,50% | 25,00% | 12,50% | 50,00% | 12,50% | 50,00% |
| smíšený med | 50,00% | >50% | 3,12% | 25,00% | 6,25% | 25,00% | 25,00% | 50,00% | 6,25% | 25,00% |
| medovicový med | 12,50% | 25,00% | 3,12% | 6,25% | 3,12% | 6,25% | 6,25% | 6,25% | 3,12% | 12,50% |
| | | | Tymián | | Skořice | | Máta peprná | | Hřebíček | |
| | | | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC |
| | květový med | | 1000 ppm | 2000 ppm | 1000 ppm | 2000 ppm | 1000 ppm | 4000 ppm | 1000 ppm | 4000 ppm |
| | smíšený med | | 250 ppm | 2000 ppm | 500 ppm | 2000 ppm | 2000 ppm | 4000 ppm | 500 ppm | 2000 ppm |
| | medovicový med | | 250 ppm | 500 ppm | 250 ppm | 500 ppm | 500 ppm | 500 ppm | 250 ppm | 1000 ppm |
| DMSO + EO | | 1000 ppm | 1000 ppm | 250 ppm | 2000 ppm | 4000 ppm | 4000 ppm | 1000 ppm | 2000 ppm | |

Tabulka 2 Porovnání nativních medů vůči medům fortifikovaným

| | Nativní med | | Česnek | | Oregáno | | Satujejka horská | | Litsea cubeba | |
|----------------|----------------|---------|----------|---------|----------|---------|------------------|----------|---------------|----------|
| | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC |
| květový med | 50,00% | >50% | 6,25% | 6,25% | 0,78% | 3,12% | 12,50% | 12,50% | 6,25% | 12,50% |
| smíšený med | 50,00% | >50% | 3,13% | 6,25% | 1,56% | 6,25% | 3,12% | 25,00% | 12,50% | 25,00% |
| medovicový med | 12,50% | 25,00% | 0,78% | 6,25% | 0,78% | 3,12% | 3,12% | 6,25% | 6,25% | 6,25% |
| | | | Česnek | | Oregáno | | Satujejka horská | | Litsea cubeba | |
| | | | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC | MIC | MBC |
| | květový med | | 500 ppm | 500 ppm | 62,5 ppm | 250 ppm | 1000 ppm | 1000 ppm | 500 ppm | 1000 ppm |
| | smíšený med | | 250 ppm | 500 ppm | 125 ppm | 500 ppm | 250 ppm | 2000 ppm | 1000 ppm | 2000 ppm |
| | medovicový med | | 62,5 ppm | 500 ppm | 62,5 ppm | 250 ppm | 250 ppm | 500 ppm | 500 ppm | 500 ppm |
| DMSO + EO | | 500 ppm | 2000 ppm | 125 ppm | 500 ppm | 125 ppm | 500 ppm | 500 ppm | 1000 ppm | |

Legenda: Koncentrace medů je uvedena v %, koncentrace EO je uvedena v ppm.

Světle modrá barva → Kombinace látek nevykazuje vyšší antimikrobiální aktivitu oproti jednotlivým látkám.

Červená barva → Kombinace vykazuje vyšší míru antimikrobiální aktivity než samotné medy.

Zelená barva → Synergický efekt (kombinace vykazuje vyšší míru antimikrobiální aktivity než obě testované látky zvlášť).

7.2 Porovnání jednotlivých výsledků

Vzorek medovicového medu v jeho přirozené podobě prokázal největší schopnost zamezit růstu bakterií mezi všemi testovanými přírodními medy (MIC 12,5 % a MBC 25 %). Vzorek květového medu, stejně jako vzorek medu smíšeného, vykazoval nižší antimikrobiální aktivitu (MIC 50 % a MBC >50 %) v porovnání s medem medovicovým. Vzorok všech medů vykazovali výrazné zvýšení antimikrobiální aktivity (MIC i MBC) při kombinaci se všemi testovanými EO.

Vzorek květového medu vykazoval nejvyšší antimikrobiální aktivitu v kombinaci s oreganovým olejem (MIC 0,78 % a MBC 3,12 %). V případě této směsi byl pozorován synergický efekt, protože směs vykazovala dvakrát nižší MIC i MBC než samotný oreganový EO. Synergický efekt byl dále pozorován také v kombinaci medu s česnekem a mátou.

Vzorek medovicového medu vykazoval nejvyšší antimikrobiální aktivitu v kombinaci s oreganovým olejem (MIC 0,78 % a MBC 3,12 %). V případě této směsi byl pozorován synergický efekt, protože směs vykazovala dvakrát nižší MIC i MBC než samotný oreganový EO. Synergický efekt byl dále pozorován v případě kombinací se všemi testovanými EO s výjimkou saturejky horské.

Vzorek smíšeného medu vykazoval nejvyšší antimikrobiální aktivitu v kombinaci s česnekovým olejem (MIC 3,13 % a MBC 6,25 %). V případě této směsi byl pozorován synergický efekt, protože směs vykazovala dvakrát nižší MIC i MBC než samotný oreganový EO. Synergický efekt byl dále pozorován také v kombinaci medu s hřebíčkem, mátou a tymiánem.

Diskuse

Používání medu jako tradičního prostředku proti mikrobiálním infekcím sahá až do starověku. Rozdíly v antimikrobiální účinnosti různých medů mohou být více než stonásobné, a to v závislosti na jejich zeměpisném a botanickém zdroji a také na podmínkách sběru, zpracování a skladování (Sherlock et al., 2010). Antimikrobiální aktivita medu je v posledních letech předmětem rozsáhlých studií (Carina et al., 2014). Barva medu je další charakteristikou spojenou s květinovým zdrojem. Bylo také zjištěno, což se shoduje i se zjištěním v této bakalářské práci, že tmavěji zbarvené medy (medovicové) mají obecně vyšší inhibiční vlastnosti než světlé medy (Carina et al., 2014).

S. aureus je grampozitivní bakterie rozšířená po celém světě. V současné době je tento mikroorganismus jednou z hlavních příčin infekcí spojených s nemocniční péčí. K tomu přispívá skutečnost, že se tento druh vyskytuje jak na kůži, tak na sliznicích člověka, což umožňuje vniknutí do krevního oběhu pacienta přes chirurgické rány, stejně jako přímým nebo nepřímým kontaktem se zdravotnickým personálem (Osés et al., 2016).

Nevhodné používání antibiotik vedlo ke vzniku mnoha forem bakteriální rezistence, čímž se omezilo používání těchto látek u kmenů mikroorganismů rezistentních vůči antibiotikům. Výzkum potenciálně antibakteriálních produktů, jako je med, je velmi zajímavý, protože by se mohly úspěšně používat proti některým kmenům mikroorganismů.

Cílem této studie bylo prozkoumat, jak účinné jsou různé druhy medů, a to jak samotné, tak i v kombinaci s esenciálními oleji nebo samotnými esenciálními oleji, při potlačování růstu bakterií. K dosažení tohoto cíle byla použita metoda stanovení minimální inhibiční koncentrace (MIC), což je nejnižší koncentrace látky, která zabraňuje růstu bakterií. Dále byla použita metoda stanovení minimální baktericidní koncentrace (MBC) určující nejnižší koncentraci látky, která bakterie usmrtí. Pro tuto studii byla zvolena bakterie *S. aureus*. MIC byla určena pomocí bujónové mikro-diluční metody.

Vzorek medovicového medu projevila největší schopnost potlačit růst bakterií mezi všemi testovanými přírodními medy, s minimální inhibiční koncentrací (MIC) 12,5 % a minimální baktericidní koncentrací (MBC) 25 %. Tento med také projevila nejvýraznější účinnost při kombinaci s esenciálními oleji z česneku, hřebíčku a tymiánu. Na druhé straně, esenciální olej z máty peprné vykazoval nejnižší účinnost v rámci MIC i MBC. Oproti tomu, květinový med s tímto olejem interagoval ze všech medů nejlépe. Květinový med projevila nejnižší účinnost v kombinaci s tymiánovým esenciálním olejem, zatímco

medovicový med měl s tímto olejem účinnost nejvyšší. Smíšený med prokázal MIC a MBC kombinaci se skořicovým esenciálním olejem, medovicový med s tímto olejem tvořil nejnižší inhibiční a baktericidní koncentraci. Medovicový med prokázal nejvyšší koncentraci inhibice a baktericidní koncentraci s česnekovým olejem.

Mnoho vědeckých studií se zaměřuje na zkoumání antimikrobiální aktivity EO a medů. Většina těchto studií se však soustředí pouze na inhibiční účinek jednotlivých EO a medů a nezkoumá jejich synergický účinek při kombinaci.

Ku's et al., (2016) se ve své práci zabývali studiem antimikrobiální aktivity 37 druhů polských medů vůči bakterii *S. aureus*, které porovnávali s manukovým medem. Nejaktivnější byly medy chrpové, tymiánové a pohankové při MIC 3,12 % - 25 % a často byla tato hodnota nižší než u manukového medu.

Jestliže porovnáme MIC tymiánového medu ze studie Ku'se et al., (2016), shoduje se s testovaným vzorkem v této práci, tedy medu obohaceného o tymiánový esenciální olej, v mém případě vyšla MIC 3,12 % u smíšeného a medovicového medu.

Osés et al., (2015) se ve své práci zabývali porovnáváním antimikrobiální aktivity 56 druhů medů různého botanického původu vůči bakterii *S. aureus*. Vyšší hodnoty antimikrobiální aktivity vůči *S. aureus* byly zjištěny u medovicových medů při MIC 9,38 % a MBC 18,75 %. Porovnáme-li hodnoty z této studie, nalezneme shodu i s mými výsledky, kdy medovicový med měl MIC 12,5 % a MBC 25 %.

Esenciální oleje jsou v tradiční a lidové medicíně široce využívány pro své různorodé biologické účinky, včetně protizánětlivých, antioxidačních, imunomodulačních, antimikrobiálních (antivirových, antifungálních, antibakteriálních), antirevmatických a sedativních vlastností. EO jsou těkavé sekundární rostlinné metabolity z různých chemických tříd, včetně uhlovodíků (terpenů), které jsou prakticky obsaženy ve všech EO. EO jsou produkovány více než 17 500 druhy specifických rostlin z čeledí krytosemenných, jako jsou Alliaceae, Asteraceae, Umbelliferae, Cruciferae, Myrtaceae, Lamiaceae, Zingiberaceae a Rutaceae. Tyto oleje jsou biosyntetizovány z plodů, květů, listů a kořenů různých aromatických rostlin (Elsebai & Albalawi, 2022). Použití EO jako antimikrobiálních látek je v současnosti předmětem výzkumu a slibným přístupem z hlediska antimikrobiálního působení a přirozené konzervace potravin (Thielmann et al., 2019).

Thielmann et al., (2019), ve své práci posuzují MIC 179 vzorků EO z 86 taxonů. V práci Thielmann et al., (2019) byly jako modely použity bakterie

S. aureus a *Escherichia coli*, kdy *S. aureus* inhibovalo 30 a *E. coli* 12 druhů EO. Jak je popsáno ve studii Thielmann et al., (2019), je známo, že tymián, oregano a některé EO skořice, stejně jako jejich hlavní složky, karvakrol, cinnamaldehyd a thymol, mají vynikající inhibiční potenciál proti grampozitivním a gramnegativním bakteriím, což se ukázalo i v naší studii.

Podle výsledků Thielmann et al., (2019) vykazoval samotný EO máty peprné MIC vůči *S. aureu* 1600-3200 ppm. V mých výsledcích máta peprná bez medů vykazovala hodnotu MIC 4000 ppm, samotný EO tedy disponoval nižší antimikrobiální aktivitou. Nicméně po smíchání s medy byla antimikrobiální aktivita máty navýšena do takové míry, že vykazovala MIC 500-2000 ppm. Antimikrobiální aktivita tedy byla po přidání medů násobně vyšší než samotný mátový olej ve studii Thielmann et al., (2019).

EO hřebíčku podle studie Thielmann et al., (2019) vykazoval hodnotu MIC vůči *S. aureu* 100-1600 ppm. V mých výsledcích hřebíček bez medů vykazoval hodnotu MIC 1000 ppm, nicméně po smíchání s medy byla jeho antimikrobiální aktivita zvýšena na hodnotu MIC 500-1000 ppm. Antimikrobiální aktivita hřebíčku ve studii Thielmann et al., (2019) tedy odpovídá mým výsledkům.

EO oregana v Thielmann et al., (2019) studii vykazoval hodnotu MIC vůči *S. aureu* 50-100 ppm. V mých výsledcích oregano bez medů vykazovalo hodnotu MIC 125 ppm, jeho antimikrobiální aktivita se však zvýšila po smíchání s medy, a to na hodnotu MIC 62,5 -125 ppm. Můžeme tedy říct, že i v tomto případě se výsledky z Thielmann et al., (2019) studie shodují s těmi mými.

EO tymiánu v Thielmann et al., (2019) studii vykazoval hodnotu MIC vůči *S. aureu* 50-200 ppm. V mých výsledcích tymián bez medů vykazoval hodnotu MIC 1000 ppm. Po smíchání s medy se jeho antimikrobiální aktivita zvýšila na hodnotu MIC 250-1000 ppm. Nicméně, v porovnání se studií Thielmann et al., (2019), olej samotný i olej smíchaný s medy disponoval nižší antimikrobiální aktivitou.

EO skořice ze studie Thielmann et al., (2019) vykazovala hodnotu MIC vůči *S. aureu* 50-800 ppm. V mých výsledcích skořice bez medů vykazovala hodnotu MIC 250 ppm. Nic se nezměnilo ani po smíchání s medy, kdy byla hodnota MIC 250-1000 ppm. Antimikrobiální aktivita se tedy po přidání medů nezměnila, v případě kombinace EO skořice s medem květovým byla tato aktivita dokonce nižší (MIC 1000 ppm), než ve studii Thielmann et al., (2019).

EO vavřínu kubébového ze studie Thielmann et al., (2019) vykazoval hodnotu MIC vůči *S. aureu* 50-100 ppm. V mých výsledcích měl vavřín kubébový bez medů hodnotu MIC 500 ppm a po smíchání s medy vykazoval hodnotu MIC 500-1000 ppm. Vavřín kubébový v porovnání se studií Thielmann et al., (2019) tedy disponoval nižší antimikrobiální aktivitou.

Podle výsledků Santos et al., (2019) vykazoval samotný EO saturejky horské hodnotu MIC vůči *S. aureu* 150 ppm. V mých výsledcích saturejka horská bez medů vykazovala MIC 125 ppm, tudíž měla vyšší antimikrobiální aktivitu, než ve studii Santos et al., (2019). Po smíchání saturejky horské s medy se antimikrobiální aktivita snížila na hodnotu MIC 250-1000 ppm.

Podle výsledků Abubakar, (2009) vykazoval samotný EO česneku hodnotu MIC vůči *S. aureu* 50 ppm. V mých výsledcích vykazoval česnek bez medů hodnotu MIC 500 ppm, samotný EO tedy disponoval nižší antimikrobiální aktivitou. Nicméně po smíchání s medy se jeho antimikrobiální aktivita zvýšila na hodnotu MIC 62,5-500 ppm.

Rozdíly mezi antimikrobiální aktivitou testovaných EO v této práci a v práci ostatních autorů jsou pravděpodobně způsobeny testováním jiného kmene *S. aureus* a rozdílným složením EO.

Výsledkem této práce je fakt, že i přes vysokou antimikrobiální aktivitu nativních medů, se přidáním EO může tato aktivita mnohonásobně zvýšit, to platí i v opačném případě, kdy některé EO (máta peprná, hřebíček, oregano, tymián, česnek) dosáhly vyšší antimikrobiální aktivity až po přidání medů.

Závěr

Byl zjištěn vliv obohacených medů vybranými bioaktivními látkami na jeho antimikrobiální aktivitu. Výsledky ukazují, že fortifikace rostlinnými oleji zvyšuje antimikrobiální aktivitu běžných medů vysoko nad hodnoty nejslibnějších nativních medů. Tento trend byl zatím testován pouze vůči *S. aureus*, existuje však předpoklad, že by mohlo být podobných výsledků dosaženo i v případě dalších patogenů.

Vzhledem ke stále rostoucí rezistenci patogenů na běžná antibiotika, právě fortifikované medy představují velmi slibnou možnost řešení tohoto problému. Toto řešení představuje dostupnou a cenově příznivou variantu vůči běžným medikamentům a otevírá nové potencionální možnosti v potravinářství, humánní i veterinární medicíně.

Seznam použitých zdrojů

1. Abraham, L., & Bamberger, D. M. (2020). *Staphylococcus aureus* Bacteremia: Contemporary Management. *Missouri medicine*, 117(4), 341–345.
2. Abubakar, EMM. (2009). Účinnost surových extraktů česneku (*Allium sativum* Linn.) proti nozokomiální *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* a *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3(4), 179-185.
3. Ahmed, S., Sulaiman, SA, Baig, AA, Ibrahim, M., Liaqat, S., Fatima, S., ... & Othman, NH. (2018). Med jako potenciální přírodní antioxidační lék: pohled na jeho molekulární mechanismy účinku. *Oxidativní medicína a buněčná dlouhověkost*, 2018.
4. Almasaudi S. (2021). The antibacterial activities of honey. *Saudi journal of biological sciences*, 28(4), 2188–2196. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.10.017>
5. Annovino. (2024). *Med květový smíšený*. AnnoVino zrozeno v Lednici. Retrieved April 14, 2024, from <https://annovino.cz/eshop/annovino-med-kvetovy-smiseny-650g-detail>
6. Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils--a review. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 46(2), 446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
7. Bancil, A. S., Sandall, A. M., Rossi, M., Chassaing, B., Lindsay, J. O., & Whelan, K. (2021). Food Additive Emulsifiers and Their Impact on Gut Microbiome, Permeability, and Inflammation: Mechanistic Insights in Inflammatory Bowel Disease. *Journal of Crohn's & colitis*, 15(6), 1068–1079. <https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjaa254>
8. Batiha, G. E., Alkazmi, L. M., Wasef, L. G., Beshbishy, A. M., Nadwa, E. H., & Rashwan, E. K. (2020). *Syzygium aromaticum* L. (Myrtaceae): Traditional Uses, Bioactive Chemical Constituents, Pharmacological and Toxicological Activities. *Biomolecules*, 10(2), 202. <https://doi.org/10.3390/biom10020202>
9. Becker, K. (2017). *Staphylococcus aureus*. Elsevier. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/C2015-0-04757-8>
10. Benedec, D., Oniga, I., Cuibus, F., Sevastre, B., Stiuflu, G., Duma, M., Hanganu, D., Iacovita, C., Stiuflu, R., & Lucaci, C. M. (2018). *Origanum vulgare* mediated green synthesis of biocompatible gold nanoparticles simultaneously possessing plasmonic, antioxidant and antimicrobial

properties. *International journal of nanomedicine*, 13, 1041–1058.
<https://doi.org/10.2147/IJN.S149819>

11. Bolatli, G., Taş, F., & Alayunt, N. Ö. (2023). Effects of *Thymus vulgaris* Oil on Sodium Hypochlorite-Induced Damage in Rats. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 28(5), 2164. <https://doi.org/10.3390/molecules28052164>
12. Borotová, P., Galovičová, L., Vukovic, N. L., Vukic, M., Kunová, S., Hanus, P., Kowalczewski, P. L., Bakay, L., & Kačániová, M. (2022). Role of *Litsea cubeba* Essential Oil in Agricultural Products Safety: Antioxidant and Antimicrobial Applications. *Plants (Basel, Switzerland)*, 11(11), 1504. <https://doi.org/10.3390/plants11111504>
13. British Association Of Dermatologists. (2012). *Folliculitis decalvans*. Retrieved October 9, 2023, from <https://www.skinhealthinfo.org.uk/condition/folliculitis-decalvans/>
14. Castleman, M. (2004). *Velká kniha léčivých rostlin: klasický průvodce nejlepšími přírodními léčivy představující ty nejlepší – časem i vědou prověřené - léčivé rostliny*. Columbus.
15. Centers for Disease. (2019). *Methicilin-rezistentní Staphylococcus aureus (MRSA)*. Retrieved October 9, 2023, from <https://www.cdc.gov/mrsa/community/index.html>
16. Clark, S. B., & Hicks, M. A. (2023). *Stafylokoková pneumonie*. Retrieved October 9, 2023, from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559152/>
17. Coico R. (2005). Gram staining. *Current protocols in microbiology, Appendix 3*, <https://doi.org/10.1002/9780471729259.mca03cs00>
18. Český svaz včelařů, z.s. základní organizace Nejdek. (2016). *Složení medu*. Retrieved October 11, 2023, from <https://www.vcelari-nejdek.cz/informace-o-vcelich-produktech/med/slozeni-medu/>
19. Đorđević, N., Karabegović, I., Cvetković, D., Šojić, B., Savić, D., & Danilović, B. (2022). Assessment of Chitosan Coating Enriched with Free and Nanoencapsulated *Satureja montana* L. Essential Oil as a Novel Tool for Beef Preservation. *Foods (Basel, Switzerland)*, 11(18), 2733. <https://doi.org/10.3390/foods11182733>
20. Dumitru, C. D., Neacsu, I. A., Grumezescu, A. M., & Andronesu, E. (2022). Bee-Derived Products: Chemical Composition and Applications in Skin Tissue Engineering. *Pharmaceutics*, 14(4), 750. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14040750>

21. Džugan, M., Tomczyk, M., Sowa, P., & Grabek-Lejko, D. (2018). Antioxidant Activity as Biomarker of Honey Variety. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 23(8), 2069. <https://doi.org/10.3390/molecules23082069>
22. El-Saber Batiha, G., Magdy Beshbishy, A., G Wasef, L., Elewa, Y. H. A., A Al-Sagan, A., Abd El-Hack, M. E., Taha, A. E., M Abd-Elhakim, Y., & Prasad Devkota, H. (2020). Chemical Constituents and Pharmacological Activities of Garlic (*Allium sativum* L.): A Review. *Nutrients*, 12(3), 872. <https://doi.org/10.3390/nu12030872>
23. Elsebai, M. F., & Albalawi, M. A. (2022). Essential Oils and COVID-19. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 27(22), 7893. <https://doi.org/10.3390/molecules27227893>
24. Erejuwa, OO, Sulaiman, SA a Ab Wahab, MS. (2012). Med: nový antioxidant. *Molecules* , 17 (4), 4400-4423.
25. EUC. (2021). *Stafylokoky - příznaky, přenos a léčba*. Retrieved October 9, 2023, from <https://euc.cz/clanky-a-novinky/clanky/stafylokoky-priznaky-prenos-a-lecba/>
26. Evans, M. S., Reid, K. H., & Sharp, J. B., Jr. (1993). Dimethylsulfoxide (DMSO) blocks conduction in peripheral nerve C fibers: a possible mechanism of analgesia. *Neuroscience letters*, 150(2), 145–148. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(93\)90522-m](https://doi.org/10.1016/0304-3940(93)90522-m)
27. Foster, T. J. (2002). *Molekulární lékařská mikrobiologie*. Elsevier. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-012677530-3/50258-0>
28. Franclová, K. (2019). *Silice*. Retrieved January 3, 2024, from <https://botanic.cz/slovník-pojmu/silice>
29. Gnanamani, A., & Satyaseela, M. P. (2017). *Hranice u Staphylococcus aureus*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/67338>
30. Gomes, F., Dias, M. I., Lima, Â., Barros, L., Rodrigues, M. E., Ferreira, I. C. F. R., & Henriques, M. (2020). *Satureja montana* L. and *Origanum majorana* L. Decoctions: Antimicrobial Activity, Mode of Action and Phenolic Characterization. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 9(6), 294. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9060294>
31. Gruna, B., Počuch, M., Přidal, A., & Lstibůrek, J. (2022). *Včelařství*. PSNV.
32. Huang, L., Liu, Z., Wang, J., Fu, J., Jia, Y., Ji, L., & Wang, T. (2023). Bioactivity and health effects of garlic essential oil: A review. *Food science & nutrition*, 11(6), 2450–2470. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3253>

33. Chen, J., Zhou, H., Huang, J., Zhang, R., & Rao, X. (2021). Virulence alterations in staphylococcus aureus upon treatment with the sub-inhibitory concentrations of antibiotics. *Journal of advanced research*, 31, 165–175. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2021.01.008>
34. Cheung, G. Y. C., Bae, J. S., & Otto, M. (2021). Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. *Virulence*, 12(1), 547–569. <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.1878688>
35. Institut Pasteur. (2021). *Stafylokoky*. Retrieved October 9, 2023, from <https://www.pasteur.fr/en/medical-center/disease-sheets/staphylococci?language=fr>
36. Janča, J., & Zentrich, J. A. (1995). *Herbář léčivých rostlin*. Eminent.
37. Janča, J., & Zentrich, J. A. (1997). *Herbář léčivých rostlin*. Eminent.
38. Jenul, C., & Horswill, A. R. (2019). Regulation of *Staphylococcus aureus* Virulence. *Microbiology spectrum*, 7(2), 10.1128/microbiolspec.GPP3-0031-2018. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0031-2018>
39. Ji, P., Liu, X., Yang, C., Wu, F., Sun, J., Cao, W., & Zhao, H. (2023). Natural crystallization properties of honey and seed crystals-induced crystallization process for honey performance enhancing. *Food chemistry*, 405(Pt B), 134972. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134972>
40. Jodidio, M., & Schwartz, R. A. (2024). Honey therapies for dermatological disorders: more than just a sweet elixir. *International journal of dermatology*, 63(4), 422–430. <https://doi.org/10.1111/ijd.16925>
41. Johnson M. K. (2020). Impetigo. *Advanced emergency nursing journal*, 42(4), 262–269. <https://doi.org/10.1097/TME.0000000000000320>
42. Kamle, M., Mahato, D. K., Lee, K. E., Bajpai, V. K., Gajurel, P. R., Gu, K. S., & Kumar, P. (2019). Ethnopharmacological Properties and Medicinal Uses of *Litsea cubeba*. *Plants (Basel, Switzerland)*, 8(6), 150. <https://doi.org/10.3390/plants8060150>
43. Kamler, F., Titěra, D., & Veselý, V. (1999). *Ziskávání a zpracování včelích produktů*. Institut výchovy a vzdělávání Ministerstva zemědělství ČR.
44. Karim, M., Boikess, R. S., Schwartz, R. A., & Cohen, P. J. (2023). Dimethyl sulfoxide (DMSO): a solvent that may solve selected cutaneous clinical challenges. *Archives of dermatological research*, 315(6), 1465–1472. <https://doi.org/10.1007/s00403-022-02494-1>

45. Khan, U. A., Zaidi, S. H., Majeed, H., Lopez, E., Tofighi, D., Andre, P., Schevchuck, A., Garcia, M. E., Sheikh, A. B., Raizada, V., Sheikhar, R., & Sagheer, S. (2022). Clinical Risk Factors for Infective Endocarditis Patients With Staphylococcus Aureus Bacteremia and the Diagnostic Utility of Transesophageal Echocardiogram. *Current problems in cardiology*, 47(11), 101331. <https://doi.org/10.1016/j.cpcardiol.2022.101331>
46. Kong, C., Neoh, H. M., & Nathan, S. (2016). Targeting Staphylococcus aureus Toxins: A Potential form of Anti-Virulence Therapy. *Toxins*, 8(3), 72. <https://doi.org/10.3390/toxins8030072>
47. Kovačević, Z., Kladar, N., Čabarkapa, I., Radinović, M., Maletić, M., Erdeljan, M., & Božin, B. (2021). New Perspective of *Origanum vulgare* L. and *Satureja montana* L. Essential Oils as Bovine Mastitis Treatment Alternatives. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 10(12), 1460. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10121460>
48. Kowalska-Krochmal, B., & Dudek-Wicher, R. (2021). The Minimum Inhibitory Concentration of Antibiotics: Methods, Interpretation, Clinical Relevance. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 10(2), 165. <https://doi.org/10.3390/pathogens10020165>
49. Kubešová, B. (2018). *Ječné zrno je bolestivé, ale většinou samo zmizí. Pacienti by ho neměli vymačkávat.* Retrieved October 9, 2023, from <https://zdravi.euro.cz/clanky/jecne-zrno-v-oku-na-vicku-lecba/>
50. Kubešová, B. (2019). *Zlatý stafylokok může způsobit řadu infekcí. Jaké jsou možnosti léčby?* Retrieved October 11, 2023, from <https://zdravi.euro.cz/clanky/zlaty-stafylokok-priznaky-lecba/>
51. Kurek-Górecka, A., Górecki, M., Rzepecka-Stojko, A., Balwierz, R., & Stojko, J. (2020). Bee Products in Dermatology and Skin Care. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(3), 556. <https://doi.org/10.3390/molecules25030556>
52. Kuś, P. M., Szweda, P., Jerković, I., & Tuberoso, C. I. (2016). Activity of Polish unifloral honeys against pathogenic bacteria and its correlation with colour, phenolic content, antioxidant capacity and other parameters. *Letters in applied microbiology*, 62(3), 269–276. <https://doi.org/10.1111/lam.12541>
53. Lampeitl, F. (1996). *Chováme včely*. BLESK.
54. Laster, J., Bonnes, S. L., & Rocha, J. (2019). Increased Use of Emulsifiers in Processed Foods and the Links to Obesity. *Current gastroenterology reports*, 21(11), 61. <https://doi.org/10.1007/s11894-019-0723-4>
55. Lee, A. S., de Lencastre, H., Garau, J., Kluytmans, J., Malhotra-Kumar, S., Peschel, A., & Harbarth, S. (2018). Methicillin-resistant *Staphylococcus*

aureus. *Nature reviews. Disease primers*, 4, 18033.
<https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.33>

56. Löffler, B., & Tuchscher, L. (2021). *Staphylococcus aureus* Toxins: Promoter or Handicap during Infection?. *Toxins*, 13(4), 287.
<https://doi.org/10.3390/toxins13040287>
57. Lombrea, A., Antal, D., Ardelean, F., Avram, S., Pavel, I. Z., Vlaia, L., Mut, A. M., Diaconeasa, Z., Dehelean, C. A., Soica, C., & Danciu, C. (2020). A Recent Insight Regarding the Phytochemistry and Bioactivity of *Origanum vulgare* L. Essential Oil. *International journal of molecular sciences*, 21(24), 9653.
<https://doi.org/10.3390/ijms21249653>
58. Maggini, V., Semenzato, G., Gallo, E., Nunziata, A., Fani, R., & Firenzuoli, F. (2024). Antimicrobial Activity of *Syzygium aromaticum* Essential Oil in Human Health Treatment. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 29(5), 999.
<https://doi.org/10.3390/molecules29050999>
59. Mahendran, G., & Rahman, L. U. (2020). Ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological updates on Peppermint (*Mentha × piperita* L.)-A review. *Phytotherapy research: PTR*, 34(9), 2088–2139.
<https://doi.org/10.1002/ptr.6664>
60. Majewski M. (2014). *Allium sativum*: facts and myths regarding human health. *Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny*, 65(1), 1–8
61. Mandal, A. (2023). *Mikrobiologie Staphylococcus aureus*. Retrieved October 9, 2023, from <https://www.news-medical.net/health/Staphylococcus-Aureus-Microbiology.aspx>
62. Mandal, M. D., & Mandal, S. (2011). Honey: its medicinal property and antibacterial activity. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 1(2), 154–160. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(11\)60016-6](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(11)60016-6)
63. MayoClinic. (2022). *Infekce MRSA*. Retrieved October 11, 2023, from <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/mrsa/symptoms-causes/syc-20375336>
64. MayoClinic. (2023). *Impetigo*. Retrieved October 11, 2023, from <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/impetigo/symptoms-causes/syc-20352352>
65. Mediavilla, J. R., Chen, L., Mathema, B., & Kreiswirth, B. N. (2012). Global epidemiology of community-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA). *Current opinion in microbiology*, 15(5), 588–595.
<https://doi.org/10.1016/j.mib.2012.08.003>

66. Mežnarić, S., Brčić Karačonji, I., Crnković, G., Lesar, A., Pavlešić, T., Vučković, D., & Gobin, I. (2022). Combined Inhibitory Effect of Fir (*Abies alba* Mill.) Honeydew Honey and Probiotic Bacteria *Lactiplantibacillus plantarum* on the Growth of *Salmonella enterica* Serotype Typhimurium. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, *11*(2), 145. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11020145>
67. Molan, P., & Rhodes, T. (2015). Honey: A Biologic Wound Dressing. *Wounds : a compendium of clinical research and practice*, *27*(6), 141–151.
68. Murdoch L. (1982). Dimethyl sulfoxide (DMSO)--an overview. *The Canadian journal of hospital pharmacy*, *35*(3), 79–85.
69. Naber C. K. (2009). Staphylococcus aureus bacteremia: epidemiology, pathophysiology, and management strategies. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, *48* Suppl 4, S231–S237. <https://doi.org/10.1086/598189>
70. Norman, J. (1993). *Med: přírodní sladidlo z květů, bylin a stromů*. Champagne Avantgarde.
71. Ouadi, S., Sierro, N., Goepfert, S., Bovet, L., Glauser, G., Vallat, A., Peitsch, M. C., Kessler, F., & Ivanov, N. V. (2022). The clove (*Syzygium aromaticum*) genome provides insights into the eugenol biosynthesis pathway. *Communications biology*, *5*(1), 684. <https://doi.org/10.1038/s42003-022-03618-z>
72. Pantuček, R. (2007). *Bakterie Staphylococcus jako častý zdroj nebezpečí pro člověka*. MUNI Journals. Retrieved October 9, 2023, from <https://journals.muni.cz/universitas/article/view/2153>
73. Pasias, I. N., Raptopoulou, K. G., Makrigennis, G., Ntakoulas, D. D., Lembessis, D., Dimakis, V., Katsinas, R., & Proestos, C. (2022). Finding the optimum treatment procedure to delay honey crystallization without reducing its quality. *Food chemistry*, *381*, 132301. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132301>
74. Přidal, A. (2013). *Vznik, získávání, zpracování a kontrola medu: Odborný kurz* [projekt]. Mendelova univerzita v Brně.
75. Rajindran, N., Wahab, R. A., Huda, N., Julmohammad, N., Shariff, A. H. M., Ismail, N. I., & Huyop, F. (2022). Physicochemical Properties of a New Green Honey from Banggi Island, Sabah. *Molecules (Basel, Switzerland)*, *27*(13), 4164. <https://doi.org/10.3390/molecules27134164>
76. Ramazani, E., YazdFazeli, M., Emami, S. A., Mohtashami, L., Javadi, B., Asili, J., & Tayarani-Najaran, Z. (2020). Protective effects of *Cinnamomum verum*, *Cinnamomum cassia* and cinnamaldehyde against 6-OHDA-induced apoptosis in

PC12 cells. *Molecular biology reports*, 47(4), 2437–2445. <https://doi.org/10.1007/s11033-020-05284-y>

77. Ramsay, E. I., Rao, S., Madathil, L., Hegde, S. K., Baliga-Rao, M. P., George, T., & Baliga, M. S. (2019). Honey in oral health and care: A mini review. *Journal of oral biosciences*, 61(1), 32–36. <https://doi.org/10.1016/j.job.2018.12.003>
78. Rao, P. V., & Gan, S. H. (2014). *Skořice: mnohostranná léčivá rostlina*. Retrieved January 4, 2024, from <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2014/642942/>
79. Redakce MN. (2023). *Mueller Hinton Agar (MHA) Složení, princip, příprava*. Retrieved January 25, 2024, from <https://microbiologynote.com/cs/Mueller-Hinton-Agar/>
80. Refrakční centrum. (2019). *Vlčí a ječné zrno*. Retrieved October 9, 2023, from <https://www.refraknicentrum.cz/zakrok/jecne-a-vlci-zrno/>
81. Santos, JD, Coelho, E., Silva, R., Passos, CP, Teixeira, P., Henriques, I., & Coimbra, MA. (2019). Chemické složení a antimikrobiální aktivita vedlejších produktů esenciálních olejů *Satureja montana*. *Technické plodiny a produkty*, 137, 541–548.
82. Sattayakhom, A., Wichit, S., & Koomhin, P. (2023). The Effects of Essential Oils on the Nervous System: A Scoping Review. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 28(9), 3771. <https://doi.org/10.3390/molecules28093771>
83. Seraglio, S. K. T., Silva, B., Bergamo, G., Brugnerotto, P., Gonzaga, L. V., Fett, R., & Costa, A. C. O. (2019). An overview of physicochemical characteristics and health-promoting properties of honeydew honey. *Food research international (Ottawa, Ont.)*, 119, 44–66. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.01.028>
84. Sherlock, O., Dolan, A., Athman, R., Power, A., Gethin, G., Cowman, S., & Humphreys, H. (2010). Comparison of the antimicrobial activity of Ulmo honey from Chile and Manuka honey against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. *BMC complementary and alternative medicine*, 10, 47. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-10-47>
85. Šín, R., & Váchalová, J. (1998). Management pacienta s bakteriální meningitidou na urgentním příjmu. *Urgentní medicína*, 7-13.
86. Štrauchová, L. (2014). *Máta peprná – pomůže na žaludek, nachlazení i kožní problémy*. Retrieved January 4, 2024, from <https://www.mojemedicina.cz/pruvodce-pacienta/zivotni-styl/bylinky-ve-vasi-lekarnice/mata-peprna-pomuze-na-zaludek-nachlazen-i-kozni-problemy.html>

87. Tancerová, T. (2019). *MRSA může zkomplikovat i rutinní zákrok. Pacientům hrozí zápal plic i septický šok*. Retrieved October 11, 2023, from <https://zdravi.euro.cz/clanky/mrsa-infekce/>
88. Thielmann, J., Muranyi, P., & Kazman, P. (2019). Screening essential oils for their antimicrobial activities against the foodborne pathogenic bacteria *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Heliyon*, 5(6), e01860. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01860>
89. Tomczyk, M., Bocian, A., Sidor, E., Miłek, M., Zagała, G., & Dżugan, M. (2022). The Use of HPTLC and SDS-PAGE Methods for Coniferous Honeydew Honey Fingerprinting Compiled with Mineral Content and Antioxidant Activity. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 27(3), 720. <https://doi.org/10.3390/molecules27030720>
90. Urban, M. (2018). *Včelaření od jara do zimy*. Grada Publishing.
91. Vladić, J., Čebović, T., Vidović, S., & Jokić, S. (2020). Evaluation of Anticancer Activity of *Satureja montana* Supercritical and Spray-Dried Extracts on Ehrlich's Ascites Carcinoma Bearing Mice. *Plants (Basel, Switzerland)*, 9(11), 1532. <https://doi.org/10.3390/plants9111532>
92. Voci, S., Rajagopal, S., & Bonnez, W. (2020). *Staphylococcus aureus pneumonia*. Retrieved October 9, 2023, from <https://www.visualdx.com/visualdx/diagnosis/staphylococcus+aureus+pneumonia?diagnosisId=53916&moduleId=25>
93. Votava, M., Černohorská, L., Heroldová, M., Holá, V., Mejzlíková, L., Ondrovčík, P., Růžička, F., Dvořáčková, M., Woznicová, V., & Zahradníček, O. (2003). *Lékařská mikrobiologie speciální*. NEPTUN.
94. Weber, M., Meixner, M., Dasbach, R., Rozhon, W., & Dasbach, M. (2022). Analysis of sugar crystal size in honey. *MethodsX*, 9, 101823. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2022.101823>
95. Yu, M., Shi, H., Shen, H., Chen, X., Zhang, L., Zhu, J., Qian, G., Feng, B., & Yu, S. (2023). Simple and Rapid Discrimination of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Based on Gram Staining and Machine Vision. *Microbiology spectrum*, 11(4), e0528222. <https://doi.org/10.1128/spectrum.05282-22>

Seznam obrázků

| | |
|---|----|
| Obrázek 1 Vybrané esenciální oleje..... | 30 |
| Obrázek 2 Kultivační média | 32 |
| Obrázek 3 Narostlá kultura S.aureus | 33 |
| Obrázek 4 Stanovení MIC | 35 |
| Obrázek 5 Schéma ředění v mikrotitrační destičce | 36 |
| Obrázek 6 Schéma ředění v mikrotitrační destičce (nízké koncentrace)..... | 36 |
| Obrázek 7 Stanovení MBC po 24hodinové inkubaci | 37 |
| Obrázek 8 Schéma stanovení MBC | 37 |

Seznam tabulek

| | |
|--|----|
| Tabulka 1 Porovnání nativních medů vůči medům fortifikovaným | 38 |
| Tabulka 2 Porovnání nativních medů vůči medům fortifikovaným | 38 |