

Estratto da: Vol. XXXIX - N. 1 - gennaio-febbraio 2017

G IORNALE ITALIANO DI OSTETRICA E GINECOLOGIA

DIRETTO DA A.R. GENAZZANI

ORGANO UFFICIALE DI



AIGE

Associazione Italiana
di Ginecologia Endocrinologica



FIGG

FEDERAZIONE ITALIANA DI OSTETRICA
E GINECOLOGIA



AGUI

ASSOCIAZIONE
GINECOLOGI UNIVERSITARI ITALIANI

Sinergia fra Oximacro® (estratto di mirtillo rosso, *Vaccinium macrocarpon* o Cranberry), D-mannosio e *Ononis spinosa* (Ononide) per la riduzione delle infezioni del tratto urinario

M. Maffei



CIC Edizioni Internazionali

Estratto da Giornale Italiano di Ostetricia e Ginecologia
Vol. XXXIX - N. 1 - Gennaio-Febbraio 2017
Autorizzazione Tribunale di Roma n. 17715 del 9-6-1979

© Copyright 2017



CIC Edizioni Internazionali

Lungotevere Michelangelo 9 - 00192 Roma
Tel. 06 8413203 - 06 8412673; Fax 06 8412688
www.gruppocic.com

Tutti i diritti riservati.
È vietato riprodurre, archiviare in un sistema di riproduzione o trasmettere sotto qualsiasi forma o con qualsiasi mezzo, elettronico, meccanico, per fotocopia, registrazione o altro, qualsiasi parte di questa pubblicazione senza l'autorizzazione scritta dell'Editore. È obbligatoria la citazione della fonte.

Finito di stampare nel mese di marzo 2017

Stampa: LITOGRAFTODI Srl - Todi (PG)

Sinergia fra Oximacro® (estratto di mirtillo rosso, *Vaccinium macrocarpon* o Cranberry), D-mannosio e *Ononis spinosa* (Ononide) per la riduzione delle infezioni del tratto urinario

M. MAFFEI

RIASSUNTO: Sinergia fra Oximacro® (estratto di mirtillo rosso, *Vaccinium macrocarpon* o Cranberry), D-mannosio e *Ononis spinosa* (Ononide) per la riduzione delle infezioni del tratto urinario.

M. MAFFEI

Le infezioni del tratto urinario (UTI) colpiscono una parte consistente della popolazione umana, con conseguenti elevati costi sociali. La ricorrenza della UTI è dovuta spesso al ritorno della stessa specie batterica che ha causato infezioni precedenti. La profilassi antibiotica è largamente utilizzata, ma può portare a fattori di resistenza, soprattutto da parte delle specie batteriche più frequenti come i ceppi uropatogeni di *Escherichia coli*. Fra le misure alternative volte a ridurre sia la ricorrenza che la fase acuta dell'UTI hanno un ruolo importante gli estratti di mirtillo rosso (cranberry), come dimostrato da numerosissimi studi clinici. Oximacro® è un estratto di cranberry con la più elevata percentuale di Proantocianidine di tipo A (PAC-A) sul mercato. Queste molecole impediscono l'adesione di *E. coli* e riducono significativamente, se utilizzate a dosaggi stabiliti (36-72 mg/die), la concentrazione di batteri nelle urine. Si è rilevato particolarmente efficace, in associazione con il cranberry, l'uso del D-mannosio. Questo zucchero compete con il sito di legame dei batteri uropatogeni e ne facilita l'espulsione con le urine. In un quadro generale di processo infiammatorio, come è tipico dell'UTI, l'utilizzo di estratti di *Ononis spinosa* (Ononide) permette di sfruttare le proprietà antinfiammatorie dei polifenoli di questa specie, contribuendo, insieme a Oximacro® e D-mannosio, a fornire un valido supporto per la riduzione delle malattie del tratto urinario.

SUMMARY: Synergistic effects of Oximacro® (Cranberry, *Vaccinium macrocarpon*), D-mannose and *Ononis spinosa* (Restharrow) for the reduction of Urinary Tract Infections.

M. MAFFEI

Urinary tract infections (UTIs) affect a significant portion of the human population, causing considerable social costs. The recurrence of UTI is often due to the return of the same bacterial species that caused previous infections. Antibiotic prophylaxis is widely used, but can lead to resistance factors, especially due to the most common bacterial species such as the uropathogenic strains of *Escherichia coli*. Among the alternative measures aimed to reduce both the recurrence and the acute UTI, an important role is played by cranberry extracts, as supported by numerous clinical studies. Oximacro® is a cranberry extract with the highest percentage of A-type proanthocyanidins (PAC-A) on the market. These molecules prevent the adhesion of *E. coli* and significantly reduce - when used in established dosages (36-72 mg/day) - the concentration of bacteria in urine. The use of D-mannose was found particularly effective in association with cranberry. D-mannose competes with the binding site of uropathogenic bacteria and facilitates their expulsion in the urine. In the general inflammatory process context typical of UTI, the use of *Ononis spinosa* (Restharrow) extracts allows to exploit the anti-inflammatory properties of the plant polyphenols, thus contributing, together with Oximacro® and D-mannose, to provide a valid support for the reduction of UTI.

KEY WORDS: Infezioni del tratto urinario - Mirtillo rosso - Oximacro® - D-mannosio - *Ononis spinosa* - Ononide.
Urinary tract infections - Cranberry - Oximacro® - D-mannose - *Ononis spinosa* - Restharrow.

Le infezioni del tratto urinario (UTI)

Le infezioni del tratto urinario (UTI) sono diffuse e riguardano una gran parte della popolazione umana. **Circa 150 milioni di persone in tutto il mondo sviluppano UTI ogni anno, con costi sociali elevati (1).** Negli Stati Uniti il costo per il trattamento dell'UTI supera i 2 miliardi di dollari all'anno. **Si stima che il 40% delle donne sviluppino almeno una UTI durante la loro**

Dipartimento di Scienze della Vita e Biologia dei Sistemi,
Università di Torino, Torino, Italia

Autore per corrispondenza: Massimo Maffei, e-mail: massimo.maffei@unito.it

© Copyright 2016, CIC Edizioni Internazionali, Roma

vita (2) e che l'11% delle donne con più di 18 anni abbia un episodio di UTI all'anno (3, 4). Tuttavia questi dati sono sottostimati; infatti circa il 50% delle UTI non arriva all'attenzione del medico.

L'UTI si riferisce alla presenza di un certo numero di batteri nelle urine (generalmente $>10^5$ /ml) e si può classificare in cistite (o UTI inferiore, con batteri nella vescica), sindrome uretrale e pielonefrite (o UTI superiore, con infezione ai reni) (4). La cistite batterica (definita anche cistite acuta) può verificarsi sia in donne che in uomini e alcune persone sviluppano infezioni del tratto urinario ricorrenti (5). In particolare, l'UTI ricorrente è in genere definita come tre o più infezioni del tratto urinario entro 12 mesi, o due o più ricorrenze entro 6 mesi. La stessa specie batterica che ha causato infezioni precedenti è in genere responsabile di recidive. I germi comunemente isolati dalle uroculture sono *Escherichia coli* (circa il 75%), *Klebsiella pneumoniae* (circa 7%), *Proteus mirabilis* (circa 5%) ed *Enterococcus faecalis*, *E. cloacae*, *Streptococcus bovis* e *Providencia stuartii* (per la rimanente percentuale) (6, 7).

Durante la gravidanza le UTI ricorrenti sono frequenti e possono causare gravi esiti negativi della gravidanza per la madre e per il bambino compresa la nascita pretermine. Gli interventi utilizzati in questi casi possono essere farmacologici (antibiotici) o non-farmacologici (estratti naturali) (8). Nelle donne in pre-menopausa, il rapporto sessuale tre o più volte alla settimana, l'uso di spermicidi, nuovi o più partner sessuali e aver sofferto di UTI prima dei 15 anni di età sono i principali fattori di rischio. Nelle donne in menopausa si è constatato che la terapia ormonale sistemica non è una prevenzione efficace delle infezioni del tratto urinario e che la batteriuria asintomatica durante questo periodo non necessita di trattamento (9). Nelle donne in post-menopausa il rischio è principalmente aumentato da postumi di bassi livelli di estrogeni, che sono spesso associati all'atrofia vaginale (10). In donne di età superiore ai 61-65 anni la metà ha sofferto in genere di disturbi genito-urinari mentre il 29% ha avuto episodi di incontinenza urinaria, tutti sintomi legati a batteriuria (11).

La profilassi dell'UTI

Secondo le linee guida del 2015 della European Association of Urology, **le raccomandazioni per la profilassi di UTI ricorrenti sono prima di tutto rivolte ai cambiamenti comportamentali e subito dopo alle misure non-antibiotiche.** La profilassi antibiotica dovrebbe essere presa in considerazione solo se le prime due raccomandazioni non sono sufficientemente efficaci, al fine di evitare gli eventi avversi e i danni collaterali dell'uso non necessario a lungo termine di anti-

biotici (12). Regimi sostenuti di profilassi antimicrobica per donne con UTI ricorrente comprendono, per esempio, 50 mg o 100 mg di nitrofurantoina una volta al giorno, 100 mg di Trimethoprim (TMP) una volta al giorno, 40/200 mg di TMP/sulfametossazolo (cotrimossazolo) una volta al giorno o tre volte alla settimana, 3 g ogni 10 giorni di fosfomicina trometamolo e, durante la gravidanza, per esempio, 125-250 mg di cefalexina oppure 250 mg di cefaclor una volta al giorno (13). Un'analisi retrospettiva ha individuato nella ciprofloxacina l'antibiotico più utilizzato per terapie empiriche (76% dei casi) (7).

Occorre comunque considerare che, a causa di effetti collaterali ecologici, i fluorochinoloni e le cefalosporine orali non sono più raccomandati di routine, se non in situazioni cliniche specifiche; l'aumento in tutto il mondo di ceppi di *E. coli* resistenti al TMP mette in dubbio l'utilizzo di TMP con o senza una solfonammide come agente profilattico efficace; infine, numerose agenzie governative sconsigliano l'uso profilattico di nitrofurantoina a lungo termine a causa di rari ma gravi effetti avversi polmonari ed epatici (12).

Complessivamente queste osservazioni sottolineano la necessità di riconsiderare la profilassi antibiotica a lungo termine per trattare l'UTI e la necessità di valutare misure di prevenzione alternative.

Misure naturali per la prevenzione dell'UTI

Le bacche del mirtillo rosso (*Vaccinium macrocarpon* Aiton; sinonimi *Oxycoccus macrocarpus*, *O. palustris* var. *macrocarpus*, comunemente noto come Cranberry) sono state utilizzate per centinaia di anni come rimedio per le malattie del tratto urinario e hanno destato attenzione a causa dei loro potenziali benefici per la salute (14-16). Il meccanismo benefico del mirtillo è stato storicamente attribuito agli acidi dei frutti che si ritenevano responsabili dell'effetto batteriostatico nelle urine. Tuttavia, **è stato isolato dai mirtilli rossi un gruppo di proantocianidine con legame di tipo A (PAC-A, vedi oltre) che mostra un'attività di antiaderenza batterica contro entrambi i ceppi, antibiotico-sensibili e resistenti all'azione di batteri uropatogeni P-fimbriati di *Escherichia coli*, compresi i ceppi multiresistenti (17-20).** Ma gli estratti di cranberry non sono solo attivi contro *E. coli*. **Recentemente si è scoperta l'efficacia della combinazione delle proantocianidine di cranberry con la ciprofloxacina.** Questa combinazione ha apportato un miglioramento significativo ($p < 0.05$) dell'azione dell'antibiotico nel ridurre i fattori di virulenza, la motilità e la formazione di biofilm di *Pseudomonas aeruginosa* (21). **Questi ri-**

sultati indicano la possibilità di utilizzare estratti di cranberry ad alto titolo di PAC-A anche nelle fasi acute con la possibilità di un effetto sinergico in associazione con antibiotici.

Efficacia del cranberry: fatti o finzione?

Nonostante il considerevole numero di lavori scientifici e studi clinici a supporto dell'efficacia di estratti di cranberry nel ridurre significativamente le UTI, **l'incoerenza nelle metodologie di meta-analisi e l'eterogeneità clinica** (cioè i partecipanti, il risultato e l'intervento) e **metodologica** (vale a dire il trial design e l'esecuzione, compresi i criteri di inclusione/esclusione) **possono portare a risultati e interpretazioni differenti**, come recentemente dimostrato (22). **A queste problematiche si deve aggiungere** una tematica ancora più ricorrente: **la qualità del cranberry utilizzato e la titolazione dei principi attivi**. In generale le PAC sono distinte in due tipi: PAC di tipo B (PAC-B), presenti in alimenti ricchi di tannini come l'uva e il cioccolato, in cui le epicatechine e catechine sono spesso collegate tramite un unico legame; PAC di tipo A (PAC-A) con un secondo legame etere tra l'anello A dell'unità inferiore e il carbonio in 2 dell'unità superiore (O7 → C2), tipiche del cranberry. **Solo le PAC-A dimostrano un'attività di anti-adesione nei riguardi di *E. coli*** (23).

Una recente indagine sul contenuto di proantocianidine di alcuni prodotti finiti a base di estratti di mirtillo rosso analizzati con il metodo colorimetrico BL-DMAC e identificati tramite HPLC - per maggiori approfondimenti riferirsi a (24) - ha rivelato che i valori di BL-DMAC per il contenuto di PAC per unità erano inferiori a quelli dichiarati dai produttori. **In particolare, in alcuni integratori a base di estratto di cranberry il contenuto di proantocianidine di tipo A (PAC-A) era così basso che non avrebbero avuto alcuna possibilità di fornire benefici per la salute** (25). Quindi, anche se i vantaggi di utilizzare il cranberry per il mantenimento della salute del tratto urinario sono sicuramente garantiti a causa di problemi di resistenza associati con l'uso di antibiotici, **sia i medici che pazienti devono essere consapevoli della variabilità in termini di qualità degli integratori alimentari a disposizione dei consumatori** (26).

Quindi, **un ruolo centrale nell'efficacia degli estratti di cranberry è la determinazione della dose ottimale di PAC-A, che è un requisito essenziale per preparare integratori alimentari come supporto valido alle terapie convenzionali** (27). Recenti studi hanno evidenziato che estratti di cranberry che contengono **72 mg PAC producono un'attiva e significativa antiaderenza batterica nelle urine umane** (2, 20, 28, 29). Chiara-

mente, la percentuale di PAC-A biodisponibile è una questione centrale per l'efficacia del mirtillo rosso.

Oximacro®: la più elevata concentrazione di PAC-A bioattive

Oximacro® è un estratto di cranberry prodotto da Biosfered Srl (www.biosfered.com) con un metodo proprietario. Esso è caratterizzato da un elevato contenuto di PAC totali (> 36% secondo il metodo BL-DMAC; > 80% secondo il metodo Bates-Smith; > 99% secondo la Farmacopea Europea) e dalle **più elevate percentuali di dimeri e trimeri di PAC-A (> 85%, analizzate mediante HPLC accoppiata ad ESI-Tandem Mass Spectrometry) presenti sul mercato**. In particolare si è recentemente scoperto che sono i dimeri ed i trimeri delle PAC-A ad avere il maggior effetto sulle infezioni delle vie urinarie (23, 28, 30-33). La composizione chimica di Oximacro® dimostra che l'estratto è composto da numerose frazioni contenenti, oltre alle già citate PAC, i glicosidi degli antociani delphinidina e cianidina ed i flavonoidi rutina; quercetina e isorammetina (34). Uno studio recente ha evidenziato che oltre alla presenza di PAC, anche i flavonoidi possono agire contro *E. coli* impedendo la formazione di biofilm e riducendo l'aderenza (35).

Di recente è stato dimostrato che **Oximacro® è efficace nella prevenzione e il supporto dell'UTI**. Un campione equilibrato di volontari di sesso femminile (da 19 a oltre 51 anni) e maschile (oltre 51 anni) è stato diviso in due gruppi. Il gruppo sperimentale ha ricevuto 1 capsula contenente Oximacro® (con 36 mg PAC-A) due volte al giorno (mattina e sera) per 7 giorni, e al gruppo placebo è stato dato lo stesso numero di capsule senza PAC. Dopo 7 giorni di somministrazione di Oximacro® si è notata una differenza significativa tra i gruppi placebo e Oximacro® sia per le donne ($p < 0.001$; $N = 60$) che per gli uomini ($P = 0,016$; $N = 10$). Dopo 7 giorni di somministrazione il conteggio delle CFU/ml nelle uroculture era sceso da valori iniziali medi di $1-4 \cdot 10^6$ a valori inferiori a 10.000 CFU/ml nel gruppo dei trattamenti, mostrando una differenza altamente significativa con il gruppo placebo ($p < 0.001$) (36). **Nel confronto diretto fra placebo e Oximacro® si è constatato che il 100% dei soggetti trattati con placebo non ha mostrato segni di recupero, mentre l'80% dei soggetti trattati con Oximacro® ha mostrato il pieno recupero dall'infezione del tratto urinario.**

Proprietà ed efficacia del D-mannosio

Il D-mannosio è uno zucchero semplice estratto dal larice, strettamente imparentato con il glucosio. Il D-man-

nosio è rapidamente assorbito e in circa 30 minuti raggiunge gli organi periferici, infine è escreto dal sistema urinario. Non essendo trasformato in glicogeno questo zucchero non si accumula nell'organismo e un uso prolungato di D-mannosio, in concentrazioni fino al 20%, non hanno mostrato effetti indesiderati sul metabolismo umano (37). Delle lectine specifiche presenti sulla parete dei batteri sono in grado di legare molecole quali D-mannosio e L-fucosio distribuite sulla superficie delle cellule umane; inoltre, le pareti della vescica sono rivestite da numerose proteine mannosilate (come la proteina Tamm-Horsfall, o THP). Queste proteine interferiscono direttamente con i processi di adesione dei batteri uropatogeni. Ad esempio THP si può legare all'*E. coli* con legami che possono essere inibiti dalla somministrazione di D-mannosio esogeno (37). Studi *in vivo* e *in vitro* hanno dimostrato la capacità di molecole come il D-mannosio nel ridurre la carica batterica di 2 volte nel tratto urinario e oltre 4 volte nel comparto intravesicale. Come agente profilattico somministrato per 6 mesi il D-mannosio si è dimostrato un valido supporto anche per la riduzione delle UTI ricorrenti (37, 38). In un recente studio pilota è stata dimostrata la capacità a lungo termine di una associazione di estratto secco di cranberry e del D-mannosio nel migliorare significativamente i sintomi di disagio riportati da donne con cistite acuta. In particolare, dopo 30 e 60 giorni di trattamento, miglioramenti significativi sono stati registrati nella disuria, nella minzione frequente, nell'urgenza e nel dolore sovrapubico. Anche l'ematuria era assente in più della metà dei soggetti trattati (39).

***Ononis spinosa*: un antinfiammatorio naturale**

L'*Ononis spinosa* (Ononide) è stata utilizzata nella medicina popolare per il trattamento delle malattie infiammatorie del tratto urinario inferiore e anche come supporto per la riduzione di calcoli renali (40). I costituenti delle radici sono terpeni (*trans* anetolo, alfa onocerina), steroli, lectine, saponine e flavonoidi (ononina, trifirizina, formononetina, genisteina, biocanina, etc.) Gli

estratti di *Ononis spinosa* hanno attività antibatterica contro batteri sia Gram-positivi che Gram-negativi, rappresentando una fonte interessante come antibiotico naturale (41). In uno studio recente si è constatato che piante medicinali ricche di polifenoli come l'Ononide spesso esercitano un'attività antinfiammatoria che può essere dovuta ad una inibizione della fosfolipasi citosolica $A_2\alpha$ (cPLA $_2\alpha$), che è stata piuttosto trascurata come un obiettivo rilevante per i farmaci antinfiammatori (42).

Conclusione

La caratterizzazione e standardizzazione dei composti bioattivi presenti nel cranberry ha identificato nelle proantocianidine di tipo A (PAC-A) le molecole responsabili delle proprietà antiadesive e antimicrobiche. Oximacro[®], l'unico estratto di cranberry in grado di vantare il più elevato contenuto di PAC-A sul mercato, si è dimostrato in grado di abbattere la carica batterica in cistiti acute in tempi paragonabili a quelli normalmente impiegati dagli antibiotici. L'utilizzo di un prodotto naturale come Oximacro[®] non causa resistenza e riduce la ricorrenza dell'UTI. Il D-mannosio compete con il legame fra i batteri uropatogenici e le proteine a base di mannosio presenti sulla parete della vescica, facilitando l'eliminazione di questi patogeni dalle vie urinarie. I polifenoli dell'Ononide hanno il potere di agire sia da antibiotici che da antinfiammatori contribuendo alla riduzione dell'UTI.

I dati della letteratura qui riportati indicano che l'azione specifica dei principi attivi quali PAC-A, D-mannosio e polifenoli abbia il potenziale non solo di ridurre la carica batterica tipica delle UTI nelle fasi acute, ma che l'uso prolungato a dosi ridotte possa essere efficace anche per il mantenimento dello stato di salute dell'apparato urinario con possibile riduzione delle recidive.

Pertanto, l'associazione di cranberry con D-mannosio e Ononide permette il sinergismo di molecole che hanno dimostrato, con modalità differenti, di raggiungere lo scopo di alleviare l'UTI e fornire un valido supporto per la riduzione delle malattie del tratto urinario.

Bibliografia

1. Flores-Mireles AL, Walker JN, Caparon M, et al. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nat Rev Microbiol.* 2015;13:269-284.
2. Micali S, Isgro G, Bianchi G, et al. Cranberry and Recurrent Cystitis: More than Marketing? *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2014;54:1063-1075.
3. Foxman B, Brown P. Epidemiology of urinary tract infections - Transmission and risk factors, incidence, and costs. *Infectious Disease Clinics of North America.* 2003;17:227-241.
4. Foxman B. Urinary Tract Infection Syndromes Occurrence, Recurrence, Bacteriology, Risk Factors, and Disease Burden. *Infect Dis Clin North Am.* 2014;28:1-13.
5. Fiore DC, Fox CL. Urology and nephrology update: recurrent urinary tract infection. *FP Essent.* 2014;416:30-37.
6. Palou J, Angulo JC, de Fata FR, et al. Randomized Comparative Study

Sinergia fra Oximacro® (estratto di mirtillo rosso, Vaccinium macrocarpon o Cranberry), D-mannosio e Ononis spinosa (Ononide) per la riduzione delle infezioni del tratto urinario

- for the Assessment of a New Therapeutic Schedule of Fosfomycin Trometamol in Postmenopausal Women with Uncomplicated Lower Urinary Tract infection. *Actas Urol Esp.* 2013;37:147-155.
7. Parish A, Holliday K. Long-Term Care Acquired Urinary Tract Infections' Antibiotic Resistance Patterns and Empiric Therapy: A Pilot Study. *Geriatric Nursing.* 2012;33:473-478.
 8. Schneeberger C, Geerlings SE, Middleton P, et al. Interventions for preventing recurrent urinary tract infection during pregnancy. *Cochrane Database of Systematic Reviews.* 2012:26.
 9. Milart P, Wozniakowska E, Wozniak S, et al. Urinary tract infections in the menopausal period: optimal management. *Prz Menopauzalny.* 2013;12:23-28.
 10. Arnold JJ, Hehn LE, Klein DA. Common Questions About Recurrent Urinary Tract Infections in Women. *American Family Physician.* 2016;93:560-569.
 11. Raz R. Postmenopausal women with recurrent UTI. *International Journal of Antimicrobial Agents.* 2001;17:269-271.
 12. Vahlensieck W, Perepanova T, Johansen TEB, et al. Management of Uncomplicated Recurrent Urinary Tract Infections. *Eur Urol Suppl.* 2016;15:95-101.
 13. Grabe M, Bartoletti R, Bjerklund Johansen TE, et al. Guidelines on urological infections. *Eur Assoc Urol.* 2015. http://uroweb.org/wp-content/uploads/19-Urological-infections_LR2pdf.
 14. Jass J, Reid G. Effect of cranberry drink on bacterial adhesion in vitro and vaginal microbiota in healthy females. *Can J Urol.* 2009;16:4901-4907.
 15. Jepson RG, Williams G, Craig JC. Cranberries for preventing urinary tract infections. *Sao Paulo Medical Journal.* 2013;131:363-363.
 16. Maffei ME. *Molecole Bioattive delle Piante.* Rome: Gruppo Editoriale l'Espresso; 2015.
 17. Gupta K, Chou M, Howell A, et al. Cranberry products inhibit adherence of P-fimbriated *Escherichia coli* to primary cultured bladder and vaginal epithelial cells. *J Urol.* 2007;177:2357-2360.
 18. Stapleton AE, Dziura J, Hooton TM, et al. Recurrent Urinary Tract Infection and Urinary *Escherichia coli* in Women Ingesting Cranberry Juice Daily: A Randomized Controlled Trial. *Mayo Clinic Proc.* 2012;87:143-150.
 19. Howell AB, Reed JD, Krueger CG, et al. A-type cranberry proanthocyanidins and uropathogenic bacterial anti-adhesion activity. *Phytochemistry.* 2005;66:2281-2291.
 20. Howell AB, Botto H, Combesure C, et al. Dosage effect on uropathogenic *Escherichia coli* anti-adhesion activity in urine following consumption of cranberry powder standardized for proanthocyanidin content: a multicentric randomized double blind study. *BMC Infect Dis.* 2010;10.
 21. Vadekeetil A, Alexandar V, Chhibber S, et al. Adjuvant effect of cranberry proanthocyanidin active fraction on antiviral property of ciprofloxacin against *Pseudomonas aeruginosa*. *Microb Pathogenesis.* 2016;90:98-103.
 22. Liska DJ, Kern HJ, Maki KC. Cranberries and Urinary Tract Infections: How Can the Same Evidence Lead to Conflicting Advice? *Adv Nutr.* 2016;7:498-506.
 23. Foo LY, Lu YR, Howell AB, et al. A-type proanthocyanidin trimers from cranberry that inhibit adherence of uropathogenic P-fimbriated *Escherichia coli*. *J Nat Prod.* 2000;63:1225-1228.
 24. Maffei ME. Caratterizzazione e quantificazione delle proantocianidine negli estratti di cranberry. *Natural 1.* 2016;16:26-32.
 25. Chrubasik-Hausmann S, Vlachojannis C, Zimmermann BF. Proanthocyanin Content in Cranberry CE Medicinal Products. *Phytother Res.* 2014;28:1612-1614.
 26. Chughtai B, Thomas D, Howell A. (2016) Variability of commercial cranberry dietary supplements for the prevention of uropathogenic bacterial adhesion. *Am J Obstet Gynecol.* 215:122-123.
 27. Gurley BJ. Cranberries as Antibiotics? *Arch Int Med.* 2011;171:1279-1280.
 28. Brigo B. Infezioni Genitourinarie. La risposta naturale per il benessere delle vie urinarie. *Natural 1.* 2016;16:28-35.
 29. Singh I, Gautam LK, Kaur IR. Effect of oral cranberry extract (standardized proanthocyanidin-A) in patients with recurrent UTI by pathogenic E-coli: a randomized placebo-controlled clinical research study. *Int Urol Nephrol.* 2016;48:1379-1386.
 30. Feliciano RP, Meudt JJ, Shanmuganayagam D, et al. Ratio of "A-type" to "B-type" Proanthocyanidin Interflavan Bonds Affects Extra-intestinal Pathogenic *Escherichia coli* Invasion of Gut Epithelial Cells. *J Agric Food Chem.* 2014;62:3919-3925.
 31. Feliciano RP, Shea MP, Shanmuganayagam D, et al. Comparison of Isolated Cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) Proanthocyanidins to Catechin and Procyanidins A2 and B2 for Use as Standards in the 4-(Dimethylamino)cinnamaldehyde Assay. *J Agric Food Chem.* 2012;60:4578-4585.
 32. Zhang L, Wang YJ, Li DX, et al. The absorption, distribution, metabolism and excretion of procyanidins. *Food Funct.* 2016;7:1273-1281.
 33. Wang YF, Singh AP, Hurst WJ, et al. Influence of Degree-of-Polymerization and Linkage on the Quantification of Proanthocyanidins using 4-Dimethylaminocinnamaldehyde (DMAC) Assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 2016;64:2190-2199.
 34. Terlizzi ME, Occhipinti A, Lukanini A, et al. Inhibition of herpes simplex type 1 and type 2 infections by Oximacro (R), a cranberry extract with a high content of A-type proanthocyanidins (PACs-A). *Antivir Res.* 2016;132:154-164.
 35. Rodriguez-Perez C, Quirantes-Pine R, Uberos J, et al. Antibacterial activity of isolated phenolic compounds from cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) against *Escherichia coli*. *Food Funct.* 2016;7:1564-1573.
 36. Occhipinti A, Germano A, Maffei ME. Prevention of urinary tract infections with Oximacro®, a cranberry extract with a high content of type-A proanthocyanidins (PACs-A): A pre-clinical double-blind controlled study. *Urol J.* 2016;13:2640-2649.
 37. Domenici L, Monti M, Bracchi C, et al. D-mannose: a promising support for acute urinary tract infections in women. A pilot study. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences.* 2016;20:2920-2925.
 38. Caretto M, Giannini A, Russo E, et al. Preventing urinary tract infections after menopause without antibiotics. *Maturitas.* 2017;99:43-46.
 39. Vicariotto F. Effectiveness of an Association of a Cranberry Dry Extract, D-mannose, and the Two Microorganisms *Lactobacillus plantarum* LP01 and *Lactobacillus paracasei* LPC09 in Women Affected by Cystitis A Pilot Study. *Journal of Clinical Gastroenterology.* 2014;48:S96-S101.
 40. Yilmaz BS, Ozbek H, Citoglu GS, et al. Analgesic and hepatotoxic effects of *Ononis spinosa*. *Phytotherapy Research.* 2006;20:500-503.
 41. Orhan DD, Ozcelik B, Hosbas S, et al. Assessment of antioxidant, antibacterial, antimycobacterial, and antifungal activities of some plants used as folk remedies in Turkey against dermatophytes and yeast-like fungi. *Turk J Biol.* 2012;36:672-686.
 42. Arnold E, Benz T, Zapp C, et al. Inhibition of Cytosolic Phospholipase A(2)alpha(cPLA(2)alpha) by Medicinal Plants in Relation to Their Phenolic Content. *Molecules.* 2015;20:15033-15048.