

Artigo Original

Recebido em 24/04/2009, aceito em 11/06/2010

Formação de biofilme cristalino de *Proteus mirabilis* em cateter urológico

Formation of crystalline biofilm of Proteus mirabilis in urological catheter

Cássio Antonio Lanfredi dos Santos

Faculdade de Ciências Farmacêuticas / UNESP

Flávio Ferraz de Campos Júnior

Programa de Pós-Graduação Interunidades em Bioengenharia / USP-São Carlos

Antonio Carlos Pizzolitto

Faculdade de Ciências Farmacêuticas / UNESP

Elisabeth Loshchagin Pizzolitto*

Faculdade de Ciências Farmacêuticas / UNESP

Rua Expedicionários do Brasil, 1621

14801-360 Araraquara, SP – Brasil

E-mail: pizzolel@fcfar.unesp.br

Programa de Pós-Graduação Interunidades em Bioengenharia / USP, São Carlos, SP – Brasil

*Autor para correspondência

Resumo

O cateter uretral de longa permanência tem papel de destaque para pacientes com retenção urinária, com obstrução de bexiga, com danos neurológicos e outras doenças. A urina contém sais minerais, que em pH alcalino se precipitam, cristalizam-se e bloqueiam o cateter urológico. A cristalização dos componentes iônicos da urina ocorre em presença de urease, enzima produzida por *Proteus mirabilis*. Esta bactéria tem a capacidade de aderir a superfícies inanimadas e formar biofilme. O objetivo deste estudo foi observar a formação de biofilme cristalino na superfície luminal de cateter urológico de látex siliconizado, por meio de microscópio eletrônico de varredura, após a canalização de urina artificial infectada com *Proteus mirabilis*. O experimento foi realizado *in vitro*, em sistema de fluxo dinâmico. A urina artificial, composta de sais de cálcio, magnésio, fosfatos, uréia e albumina de ovo, foi infectada com *Proteus mirabilis* ATCC 25933. O fluxo da urina canalizada foi interrompido após a cristalização dos componentes iônicos. A cristalização foi observada após a alcalinização da urina. A microscopia eletrônica de varredura demonstrou a presença de cristais e morfologias típicas de bacilos embutidos em massa amorfa. O presente estudo mostrou que a incrustação pode limitar o uso de cateter urológico de longa permanência.

Palavras-chave: Biofilme cristalino, *Proteus mirabilis*, Incrustação de cateter, Urina artificial, Cateter de Foley de látex siliconizado.

Abstract

The indwelling urethral catheter has an important role for patients with urinary retention, bladder obstruction, neurological damage and other diseases. Urine contains minerals which precipitate in alkaline pH, crystallize and block the urological catheter. The crystallization of the ionic components of urine occurs in the presence of urease, an enzyme produced by *Proteus mirabilis*. This bacterium adheres to inanimate surfaces and forms biofilms. The aim of this study was to investigate the formation of crystalline biofilm on the luminal surface of siliconized latex catheters by means of scanning electron microscope, after channeling artificial urine infected with *Proteus mirabilis*. The experiment was performed *in vitro* using a dynamic flow system. The artificial urine compounds were salts of calcium, magnesium, phosphates, urea and egg albumin, and it was infected with *Proteus mirabilis* ATCC 25933. The urine flow was stopped after crystallization of the ionic components. Crystallization was observed after alkalization of urine. Scanning electron microscopy showed the presence of crystals and morphologies typical of bacilli embedded in an amorphous mass on the internal lumen of the catheter. The present study showed that catheter encrustation may limit the use of long-term indwelling catheter.

Keywords: Crystalline biofilm, *Proteus mirabilis*, Encrustation of catheters, Artificial urine, Foley catheter.

Extended Abstract

Introduction

The urological or Foley catheter is widely used to relieve urinary retention, and when used for long periods, becomes a danger to patients which was designed to protect. The risk of urinary tract infection is related to the time of utilization of the catheter. The presence of bacteria in urine is inevitable in elderly and disable patients catheterized for months or years. Crystal formation is associated with the presence of bacteria that produces urease, an enzyme capable of hydrolyzing urea in the urine, producing ammonia and carbonate ions and increase the pH of urine. The catheter is an attractive substrate for bacterial colonization and biofilm formation. The biofilm contributes to the blocking of the catheter and is usually associated with urinary infection caused by *Proteus mirabilis*. The aim of this study was to investigate the formation of crystalline biofilm on the luminal surface of siliconized latex catheters by means of scanning electron microscope, after channeling artificial urine infected with *Proteus mirabilis*.

Material and Methods

The present study employed a Foley siliconized latex catheter #16, two-way (Solidor-Barueri, São Paulo). Artificial urine supplemented with Mueller Hinton broth (BBL, USA) and salts of calcium, magnesium, phosphates, urea and egg albumin, was infected with *Proteus mirabilis* ATCC 25933. The experiment was performed *in vitro* using a dynamic flow system as described by Stickler et al. (1999). It consisted of a glass chamber maintained at a temperature of 37 °C. In the bottom of the chamber the siliconized latex catheter #16 was inserted. The catheter retention balloon was inflated with 10 mL of sterile water and the catheter was connected to a drainage bag. The artificial urine was supplied to the glass chamber by a peristaltic infusion pump (Samtronic, model ST-550T2, Brazil) with a continuous flow (0.5 mL/min) up the drainage hole. The supply of urine was disconnected and 10 ml of artificial urine was removed from the glass chamber and replaced by a similar amount of artificial urine infected with bacteria. This culture was stored for one hour for stabilization and the pump was re-connected to maintain the flow of urine. The pH of urine and the number of viable cells recovered from urine were measured at

the time of the bacteria inoculation, in 1 hour, and after blockage of the catheter. The experiment was performed in duplicate and with a negative control (artificial urine not infected with *Proteus mirabilis*). The catheter was removed from the glass chamber after blockage and sectioned to provide two segments 1 cm long. One segment included the drainage hole of the catheter and the second was just below the drainage hole. The segments were observed in a scanning electron microscope (JEOL JSM T330, model A, Japan) at 20 kV.

Results

The number of viable cells of *Proteus mirabilis* recovered from the urine remained constant until the moment of blockage of the catheter drainage hole, which occurred after 13.5 hours. During this time, the urine pH increased and became alkaline (pH = 9.0). Macroscopic observation of the catheter showed that the drainage hole and the segment below the drainage hole were blocked. Scanning electron microscopy of the blockage area revealed the presence of a crystalline biofilm associated with bacilli and crystals. The negative control artificial urine remained free of crystals, blockage of the catheter drainage hole and changes in pH for over a period of 24 hours.

Discussion

This study, using an *in vitro* model with dynamic flow of urine, demonstrated the formation of a crystalline biofilm. The artificial urine formulation was a suitable environment for the development of *Proteus mirabilis*. Scanning electron microscope (SEM) showed the association of crystals and bacteria on the inner surface of the Foley catheter, demonstrating that the bacteria colonized the surface of the catheter. Occlusion of the catheter drainage hole was observed with the naked eye and SEM. Precipitation of salts occurred concomitantly with the urine becoming alkaline, i.e. pH 5.3 increasing to 9.0. The results of this study are consistent with those of Cox and Hukins (1989), Darouiche (2001), Stickler (2008), Struble et al. (2009), and Tunney et al. (1997), where *Proteus mirabilis* produces urease, alkalize urine, increasing its pH, and hydrolyses urea to ammonia and carbonate.

Introdução

O cateter urológico ou de Foley é amplamente utilizado para aliviar a retenção urinária e quando usado por períodos longos torna-se um perigo aos pacientes, aos quais foi projetado a proteger (Struble *et al.*, 2009). O risco de infecção do trato urinário está relacionado com o tempo de permanência do cateter e, nos pacientes idosos e deficientes cateterizados por meses ou anos, a presença de bactéria na urina é inevitável (Kunin, 1997). Desta forma, o cateter torna-se um substrato atrativo para a colonização bacteriana e formação de biofilme (Stickler, 2008). O biofilme é um material que consiste de bactéria com polissacarídeo extracelular (*slime*) e contém íons de cálcio e magnésio, a proteína Tamm-Horsfall da urina e ocasionalmente estruvita de organismos produtores de urease (Nicolle, 2001). O biofilme contribui para o bloqueio do cateter, o qual está relacionado com a infecção urinária causada por *Proteus mirabilis* (Kunin, 1989; Mobley e Warren, 1987; Stickler, 2008; Stickler *et al.*, 1993; Struble *et al.*, 2009).

Os cateteres de longa permanência tornam-se colonizados por biofilmes extensos, os quais têm efeito profundo na saúde do paciente. O biofilme mais agressivo é o cristalino (Getliffe e Mulhall, 1991). A formação de cristais está associada à presença de bactérias que produzem urease, uma enzima capaz de hidrolizar a uréia presente na urina, produzindo íons de amônia e carbonato, e ainda alcalinizar a urina (Nicolle, 2001; Stickler, 2008). Com a urina alcalina, os fosfatos de magnésio e cálcio precipitam-se na forma de cristais e se acumulam na urina e no biofilme formado sobre a superfície do cateter. O acúmulo constante do biofilme bacteriano cristalino bloqueia o fluxo da urina no cateter, retém a urina na bexiga, pode causar o refluxo da urina infectada, e se o cateter não for trocado, o paciente pode sofrer episódios de pielonefrite e septicemia (Stickler, 2008). Os depósitos cristalinos que bloqueiam o cateter têm composição semelhante aos cálculos renais e a estruvita (fosfato amoníaco magnésiano) e apatita (fosfato de cálcio hidroxilado) são os principais componentes cristalinos (Cox e Hukins, 1989; Stickler, 2008).

Apesar do avanço tecnológico, ainda existem problemas associados com o uso destes dispositivos. Todos os tipos de cateter de Foley disponíveis são vulneráveis à incrustação, o que compromete a drenagem urinária e o resultado é a dor com sofrimento do paciente e necessidade de remoção do cateter (Gorman *et al.*, 2003). Ainda não existem métodos disponíveis para o controle efetivo do problema (Jones *et al.*, 2005b). Devido à importância da incrustação no desempenho dos cateteres urinários, este assunto vem

sendo estudado por Barford *et al.* (2008), Bettio *et al.* (2008a, b), Camargo *et al.* (2005a, b), Jones *et al.* (2005a, b), Lawrence e Turner (2005), Mathur *et al.* (2006), Pizzolitto *et al.* (2002), Santos e Pizzolitto (2007, 2008), Santos *et al.* (2008a, b, c), Shaw *et al.* (2005), Stickler (2008), Stickler *et al.* (1993), Stickler e Morgan (2008) e Tunney *et al.* (1997). O objetivo do presente estudo foi investigar a formação de biofilme cristalino no lúmen interno de cateter urológico.

Material e Métodos

Características do cateter

Na presente pesquisa foi utilizado o cateter de Foley de látex siliconizado, de duas vias, nº 16 (Solidor-Barueri, São Paulo).

Cepa bacteriana

Proteus mirabilis ATCC 25933 (cepa padrão) foi usada no preparo de uma suspensão da ordem de 10^8 ufc/mL (unidades formadoras de colônia) e usada como inóculo.

Urina artificial

A composição da urina artificial continha fosfato de potássio (7,6 g/L), cloreto de magnésio (3,6 g/L), uréia (16,0 g/L), cloreto de cálcio (5,3 g/L), ovalbumina (0,4 g/L), caldo Mueller Hinton (BBL, EUA – 8,0 g/L) (Goto *et al.*, 1999) e água MilliQ (1.000,0 mL). O pH do meio foi ajustado para 5,3 e esterilizado por filtração em membrana com poros de 0,20 µm de diâmetro (Corning, EUA). O caldo Mueller Hinton foi preparado separadamente, autoclavado e adicionado ao meio basal esterilizado para uma concentração final de 1,0 g/L.

Meio de cultura

O ágar deficiente de eletrólitos cisteína-lactose (CLED-Oxoid) foi usado para a enumeração das células viáveis.

Modelo *in vitro* com fluxo constante de urina canalizada

O modelo *in vitro* com fluxo constante de urina foi descrito por Stickler *et al.* (1999). Consiste de uma câmara de vidro esterilizada e mantida à temperatura de 37 °C. Em sua parte inferior foi inserido o cateter de látex siliconizado nº 16. O balão de retenção do cateter foi inflado com 10 mL de água esterilizada e o cateter foi conectado a uma bolsa de drenagem. A urina artificial foi fornecida para a câmara de vidro por meio de uma bomba de infusão peristáltica (Samtronic, modelo ST-550T2, Brasil) com fluxo contínuo e estável (0,5 mL/min) até o nível do orifício de drenagem. O fornecimento de urina foi desligado e 10 mL da urina artificial foram retirados da câmara de vidro e

substituídos por um volume igual de urina infectada com *Proteus mirabilis*. Esta urina infectada ficou então em repouso por uma hora para estabilização e a bomba foi religada para manter o fluxo de urina. O pH da urina e o número de células viáveis recuperadas da urina foram medidos no momento da inoculação da bactéria, em 1 hora e após o bloqueio do cateter. O experimento foi realizado em duplicata e com controle negativo (urina artificial não infectada com *Proteus mirabilis*).

Avaliação da superfície do cateter após canalização da urina por microscópio eletrônico de varredura (MEV)

Do cateter removido da câmara de vidro após o bloqueio, foram obtidos dois segmentos de 1 cm de comprimento. Um segmento incluía o orifício de drenagem do cateter e o segundo imediatamente abaixo do orifício de drenagem. Estes segmentos foram observados em microscópio eletrônico de varredura (JEOL-JSM, modelo T330A, Japão) em 20 kV (Pizzolitto *et al.*, 2002).

Resultados

O número de células viáveis de *Proteus mirabilis* recuperadas da urina permaneceu constante durante o fluxo da urina canalizada e manteve-se constante no período do experimento. O bloqueio do orifício de drenagem do cateter foi observado após um período médio de 13,5 horas. O pH da urina artificial aumentou de 5,3 para 9,0 tornando-a alcalina. O cateter utilizado com a urina artificial não infectada (controle negativo) permaneceu com fluxo de urina por mais de 24 horas e não apresentou formação de cristais, não houve o bloqueio do orifício de drenagem do cateter nem houve alteração do pH, como mostrado na Tabela 1.

A Figura 1 mostra o modelo *in vitro* usado para se obter o fluxo constante de urina.

A observação macroscópica do orifício de drenagem e do segmento abaixo do orifício de drenagem do cateter revelou a existência de uma incrustação visível a olho nu (Figura 2).

A observação por microscópio eletrônico de varredura (Figuras 3 e 4) confirmou a existência de cristais, bloqueio do orifício central de drenagem e aderência à superfície do cateter imediatamente abaixo do orifício de drenagem, por biofilme cristalino, o qual continha bacilos e cristais.

Os depósitos cristalinos no lúmen do cateter de Foley são compatíveis com cristais (Figura 5) e cristais de hidroxiapatita (Figura 6). A massa amorfa sobre a superfície luminal do cateter visualizada na Figura 7 representa o biofilme cristalino.

Tabela 1. Variação do pH após o fluxo da urina artificial infectada com *Proteus mirabilis*. **Table 1.** Change in pH after the flow of artificial urine infected with *Proteus mirabilis*.

Cateter	pH inicial	pH após 1 hora de inoculação	Tempo de formação de cristais (h)	pH após formação dos cristais
1*	5,3	5,3	–	5,3
2	5,3	5,3	16	9,0
3	5,3	5,3	11	9,0

*Controle negativo.

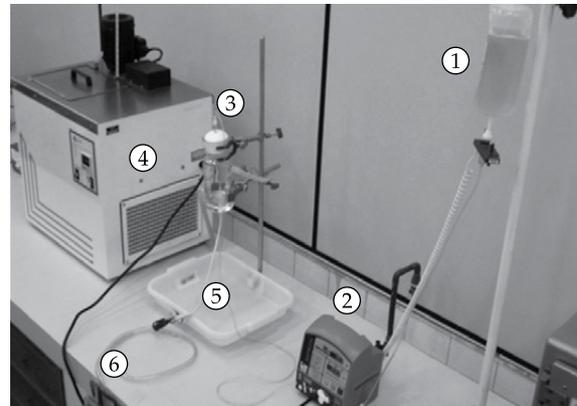


Figura 1. Modelo *in vitro* de fluxo constante de urina (Stickler *et al.*, 1999): (1) frasco de plástico contendo urina artificial; (2) bomba de infusão peristáltica; (3) câmara de vidro; (4) banho ultratermostático; (5) cateter de Foley, duas vias nº 16; (6) bolsa coletora. **Figure 1.** *In vitro* model of continuous flow of urine (Stickler *et al.*, 1999): (1) plastic bottle containing artificial urine; (2) peristaltic infusion pump; (3) glass chamber; (4) ultra-thermostatic bath; (5) two-way Foley catheter #16; (6) collection bag.

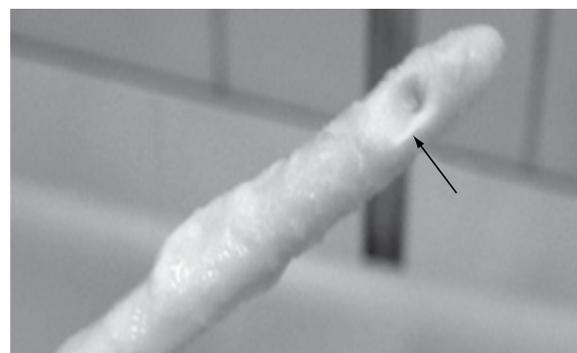


Figura 2. Observação macroscópica do orifício de drenagem do cateter de Foley após 11 horas de fluxo constante de urina artificial infectada com *Proteus mirabilis*. A olho nu pode-se ver a cristalização obstruindo o orifício de drenagem do cateter, indicado pela seta. **Figure 2.** Macroscopic observation of the Foley catheter after 11 hours of constant flow of artificial urine infected with *Proteus mirabilis*. Under naked eye one can see the crystallization blocking the drainage hole of the catheter, as indicated by the arrow.

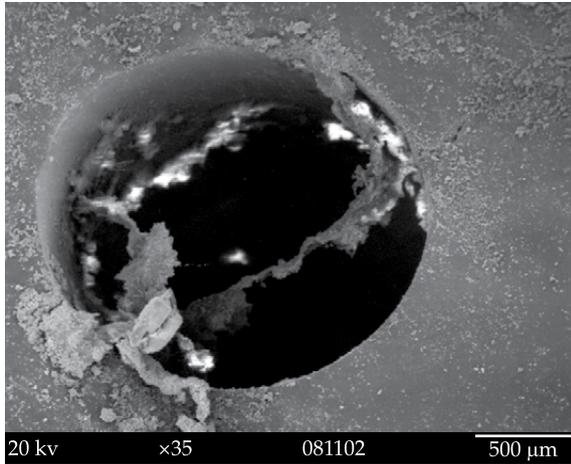


Figura 3. Micrografia eletrônica de varredura (x35) mostrando, cristais aderidos na superfície do segmento imediatamente abaixo do orifício de drenagem, após 11 horas de fluxo constante de urina artificial, infectada com *Proteus mirabilis*. **Figure 3.** Scanning electron micrograph (x35) showing crystals adhered to the surface of the segment just below the drainage hole, after 11 hours of continuous flow of artificial urine infected with *Proteus mirabilis*.

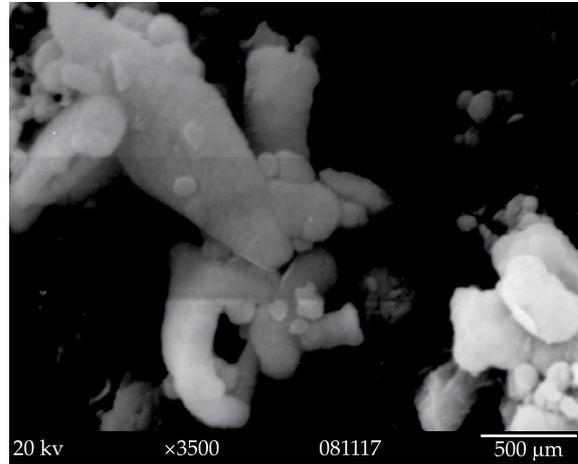


Figura 5. Micrografia eletrônica de varredura (x3,500) após o bloqueio do cateter em 11 horas demonstra cristais que podem ser compatíveis com estruvita (fosfato amoníaco magnésiano), cuja forma clássica é piramidal lembrando um caixão. **Figure 5.** Scanning electron micrograph (x3,500) after the blocking catheter at 11 hours shows crystals which may be compatible with struvite (magnesium ammonium phosphate) whose classical form is pyramidal resembling a coffin.

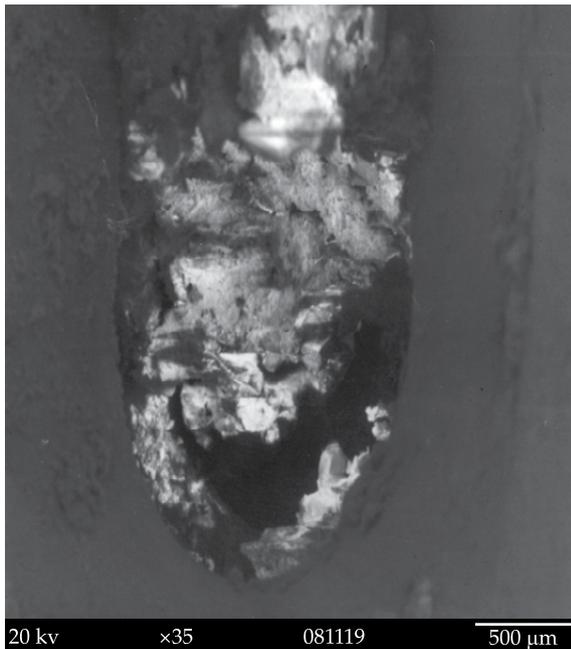


Figura 4. Micrografia eletrônica de varredura (x35) mostrando o bloqueio do orifício de drenagem do cateter em 11 horas, após fluxo contínuo da urina artificial infectada com *Proteus mirabilis*. **Figure 4.** Scanning electron micrograph (x35) showing the blockage of the catheter drainage hole in 11 hours after continuous flow of the artificial urine infected with *Proteus mirabilis*.

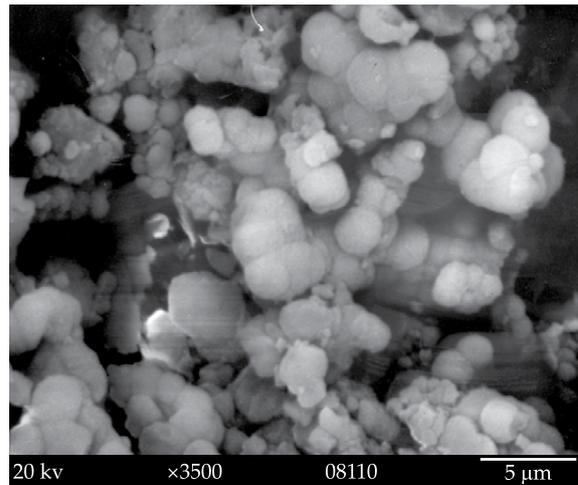


Figura 6. Micrografia eletrônica de varredura (x3,500) mostrando a precipitação dos sais contidos na urina artificial infectada com *Proteus mirabilis* produtor de urease. Após 11 horas de fluxo contínuo houve o bloqueio do cateter de Foley. Os cristais precipitados podem ser compatíveis com apatita (fosfato de cálcio) por serem esféricos. **Figure 6.** Scanning electron micrograph (x3,500) showing the precipitation of salts in the artificial urine infected with *Proteus mirabilis* urease producer, after 11 hours of urine channelization, there was a blockade of the Foley catheter. The crystals may be compatible with apatite (calcium phosphate) as they are spherical.

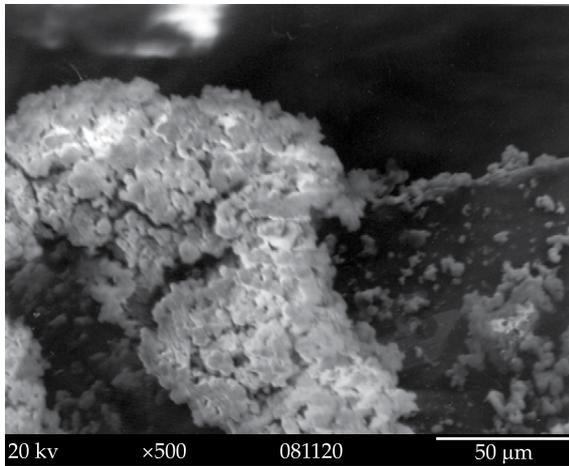


Figura 7. Micrografia eletrônica de varredura ($\times 500$) mostrando massa amorfa de biofilme cristalino no cateter de Foley, após 11 horas de fluxo contínuo da urina artificial infectada com *Proteus mirabilis*. **Figure 7.** Scanning electron micrograph ($\times 500$) showing an amorphous mass of crystalline biofilm on the Foley catheter, after 11 hours of continuous flow of the artificial urine infected with *Proteus mirabilis*.

Discussão

O cateter de Foley foi introduzido há 80 anos e os problemas de infecção, incrustação e bloqueio relacionados ao seu uso permanecem, apesar de todas as tentativas de amenizá-los. Nos últimos 60 anos as características do cateter de Foley pouco mudaram e tentativas têm sido feitas para prevenir a infecção bacteriana e reduzir a incrustação (Morris *et al.*, 1997). A implementação do sistema fechado de drenagem (Saint e Lipsky, 1999) diminuiu a infecção bacteriana de 97% para 15% (Winn, 1996). Apesar deste sucesso, a incrustação e a infecção do trato urinário permanecem como questões significantes (Lawrence e Turner, 2005). A formação de biofilme e a infecção relacionada ao dispositivo médico é questão de suma importância, uma vez que a utilização de biomateriais em urologia aumenta a cada dia (Tenke *et al.*, 2004).

Na presente pesquisa, o fluxo dinâmico da urina, em modelo *in vitro*, permitiu observar a formação de biofilme cristalino e incrustação do cateter urológico. A formulação da urina artificial constituiu-se em ambiente adequado para o desenvolvimento do *Proteus mirabilis*. A observação por microscópio eletrônico de varredura mostrou a associação de cristais e bactérias na superfície interna do cateter de Foley, demonstrando que a bactéria colonizou a superfície do cateter (Figura 7). Os dados obtidos na presente pesquisa são compatíveis com as observações

de pesquisadores como Cox e Hukins (1989) e Tunney *et al.* (1997). Na presente pesquisa observou-se ainda a oclusão do orifício de drenagem do cateter, visível a olho nu (Figura 2) e demonstrada por microscópio eletrônico de varredura (Figuras 3 a 7). Os resultados obtidos no presente estudo são concordantes com Darouiche (2001), Stickler (2008) e Struble *et al.* (2009).

A precipitação dos sais ocorreu quando a urina tornou-se alcalina, com pH passando de 5,3 para 9,0. Stickler (2008) e Struble *et al.* (2009) relataram que *Proteus mirabilis* produz urease, alcaliniza a urina aumentando seu pH e hidroliza a uréia em íons amônia e carbonato. A urease é a força motriz da cristalização e as espécies bacterianas capazes de produzir urease estão predominantemente associadas com a cristalização devido à precipitação de compostos orgânicos e inorgânicos, que levam à formação de cálculos de estruvita. Segundo Struble *et al.* (2009) os cálculos são compostos de uma combinação de fosfato amoníaco magnésiano (estruvita) e carbonato de cálcio (apatita). A formação de cálculo de estruvita ocorre somente quando há aumento de produção de amônia e o elevado pH da urina diminui a solubilidade do fosfato. A produção de amônia e o aumento do pH só ocorre quando a urina está infectada com organismos produtores de urease, como *Proteus mirabilis*. Os resultados obtidos no presente experimento mostraram que o ambiente (urina artificial) foi favorável para sua sobrevivência, produziu urease, aumentou o pH da urina e precipitou fosfatos compatíveis com cristais de estruvita e apatita, os quais bloquearam o orifício de drenagem do cateter.

Conclusão

O presente estudo demonstrou que o cateter de Foley de látex siliconizado é vulnerável à incrustação e formação de biofilme. Outros estudos são necessários para o conhecimento da interação bactéria e superfície de biomateriais usados na manufatura de cateteres de longa permanência, principalmente quando expostos aos íons cálcio e magnésio.

Agradecimentos

Ao setor de Microbiologia Clínica do Centro de Referência Diagnóstica (CRD) do Núcleo de Atendimento à comunidade (NAC), da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, e ao Laboratório de Microscopia Eletrônica de Varredura do Instituto de Química / UNESP, campus de Araraquara, SP.

Referências

- BARFORD, J. M. T.; ANSON, K.; HU, Y.; COATES, A. R. M. A model of catheter-associated urinary tract infection initiated by bacterial contamination of the catheter tip. **British Journal of Urology International**, v. 102, n. 1, p. 67-74, 2008.
- BETTIO, G. S.; PIZZOLITTO, A. C.; PIZZOLITTO, E. L. Análise da aderência de *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans* em sonda de Foley. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE ÓRGÃOS ARTIFICIAIS E BIOMATERIAIS – COLAQB, 5, Ouro Preto. **Anais...** 2008a.
- _____. Formação de biofilme microbiano em cateter de látex siliconizado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA BIOMÉDICA – CBEB, 21, Salvador. **Anais...** 2008b.
- CAMARGO, G. M. P. A.; PIZZOLITTO, A. C.; PIZZOLITTO, E. L. Estudo “in vitro” da formação de incrustações do cateter uretral pelo organismo *Proteus mirabilis*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE INFECTOLOGIA, 14, 2005, Belo Horizonte. **Anais...** 2005a.
- _____. Incrustação e bloqueio de cateteres de látex siliconizado por *Proteus mirabilis*. In: ENCONTRO DE BIOENGENHARIA – ENCOBIO, 5, São Carlos. **Anais...** São Carlos: Escola de Bioengenharia de São Carlos, USP, 2005b.
- COX, A. J.; HUKINS, D. W. Morphology of mineral deposits on encrusted urinary catheters investigated by scanning electron microscopy. **The Journal of Urology**, v. 142, n. 5, p. 1347-1350, 1989.
- DAROUICHE, R. O. Device-associated infections: a macroproblem that starts with microadherence. **Clinical Infectious Diseases**, v. 33, n. 9, p. 1567-1572, 2001.
- GETLIFFE, K. A.; MULHALL, A. B. The encrustation of indwelling catheters. **British Journal of Urology**, v. 67, n. 4, p. 337-341, 1991.
- GORMAN, S. P.; GARVIN, C. P.; QUIGLEY, F.; JONES, D. S. Design and validation of a dynamic flow model simulating encrustation of biomaterials in the urinary tract. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 55, n. 4, p. 461-468, 2003.
- GOTO, T.; NAKAME, Y.; NISHIDA, M.; OHI, Y. Bacterial biofilms and catheters in experimental urinary tract infection. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 11, n. 3-4, p. 227-231, 1999.
- JONES, B. V.; MAHENTHIRALINGAM, E.; SABBUBA, N. A.; STICKLER, D. J. Role of swarming in the formation of crystalline *Proteus mirabilis* biofilms on urinary catheters. **Journal of Medical Microbiology**, v. 54, n. 9, p. 807-813, 2005a.
- JONES, G. L. I.; RUSSELL, A. D.; CALISKAN, Z.; STICKLER, D. J. A strategy for the control of catheter blockage by crystalline *Proteus mirabilis* biofilm using the antibacterial agent triclosan. **European Urology**, v. 48, n. 5, p. 838-845, 2005b.
- KUNIN, C. M. Blockage of urinary catheters: role of microorganisms and constituents of the urine on formation of encrustations. **Journal of Clinical Epidemiology**, v. 42, n. 9, p. 835-842, 1989.
- _____. **Urinary tract infections: detection, prevention and management**. 5th ed. Baltimore: Williams and Wilkins, 1997. 419 p.
- LAWRENCE, E. L.; TURNER, I. G. Materials for urinary catheters: a review of their history and development in the UK. **Medical Engineering & Physics**, v. 27, n. 6, p. 443-453, 2005.
- MATHUR, S.; SULLER, M. T. E.; STICKLER, D. J.; FENELEY, R. C. Factors affecting crystal precipitation from urine in individuals with long-term urinary catheters colonized with urease-positive bacterial species. **Urological Research**, v. 34, n. 3, p. 173-177, 2006.
- MOBLEY, H. L. T.; WARREN, J. W. Urease-positive bacteriuria and obstruction of long-term urinary catheters. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 25, n. 11, p. 2216-2217, 1987.
- MORRIS, N. S.; STICKLER, D. J.; WINTERS, C. Which indwelling urethral catheters resist encrustation by *Proteus mirabilis* biofilms? **British Journal of Urology**, v. 80, n. 1, p. 58-63, 1997.
- NICOLLE, L. E. The chronic indwelling catheter and urinary infection in long-term-care facility residents. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v. 22, n. 5, p. 316-321, 2001.
- PIZZOLITTO, E. L.; CAMARGO, G. M. P. A.; YOKOO, S.; BERNARDI, A. C. A. Scanning electron microscopy of microbial films on Foley catheters. In: AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY GENERAL MEETING – ASM, 102, 2002, Salt Lake City. **Abstracts...** Washington, D.C.: ASM, 2002. p. Q276.
- SAINT, S.; LIPSKY, B. A. Preventing catheter-related bacteriuria: Should we? Can we? How? **Archives of Internal Medicine**, v. 159, n. 8, p. 800-808, 1999.
- SANTOS, C. A. L.; CAMPOS Jr., F. F.; PIZZOLITTO, E. L. Formação de biofilme cristalino em cateter em cateter urológico. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA BIOMÉDICA – CBEB, 21, 2008, Salvador. **Anais...** 2008a.
- SANTOS, C. A. L.; PIZZOLITTO, A. C.; PIZZOLITTO, E. L. In vitro formation of *Proteus mirabilis* crystalline biofilms on Foley catheters. In: AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY GENERAL MEETING – ASM, 108, 2008, Boston. **Abstracts...** Washington, D.C.: ASM, 2008b.
- _____. In vitro formation of *Proteus mirabilis* crystalline biofilms on Foley catheters. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE ÓRGÃOS ARTIFICIAIS E BIOMATERIAIS – COLAQB, 5, 2008, Ouro Preto. **Anais...** 2008c.
- SANTOS, C. A. L.; PIZZOLITTO, E. L. Formação *in vitro* de biofilme cristalino de *Proteus mirabilis* em cateter de Foley. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 2, 2007. **Anais...** Araraquara: Centro Universitário de Araraquara – UNIARA, 2007.
- _____. Incrustação de sonda uretral após canalização de urina artificial contaminada com *Proteus mirabilis*. In: ENCONTRO DE BIOENGENHARIA – ENCOBIO, 6, 2008. **Anais...** São Carlos: Escola de Bioengenharia de São Carlos, USP, 2008.
- SHAW, G. L.; CHOONG, S. K.; FRY, C. Encrustation of biomaterials in the urinary tract. **Urological Research**, v. 33, n. 1, p. 17-22, 2005.

- STICKLER, D. J. Bacterial biofilms in patients with indwelling urinary catheters. **Nature Clinical Practice. Urology**, v. 5, n. 11, p. 598-608, 2008.
- STICKLER, D. J.; GANDERTON, L.; KING, J.; NETTLETON, J.; WINTERS, C. *Proteus mirabilis* biofilms and the encrustation of urethral catheters. **Urological Research**, v. 21, n. 6, p. 407-411, 1993.
- STICKLER, D. J.; MORGAN, S. D. Observations on the development of the crystalline bacterial biofilms that encrust and block Foley catheters. **Journal of Hospital Infection**, v. 69, n. 4, p. 350-360, 2008.
- STICKLER, D. J.; MORRIS, N. S.; WINTERS, C. Simple physical model to study formation and physiology of biofilms on urethral catheters. **Methods in Enzymology**, v. 310, p. 494-501, 1999.
- STRUBLE, K.; BRONZE, M. S.; JACKSON, R. L.; GONZALEZ, G. Proteus infections. **eMedicine Infectious Diseases**. 2009. Disponível em: <<http://emedicine.medscape.com/article/226434-overview>> Acesso em: 20 abr. 2010.
- TENKE, P.; RIEDL, C. R.; JONES, G. L.; WILLIAMS, G. J.; STICKLER, D.; NAGY, E. Bacterial biofilm formation on urologic devices and heparin coating as preventive strategy. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 23, suppl. 1, p. S67-74, 2004.
- TUNNEY, M. M.; KEANE, P. F.; GORMAN, S. P. Assessment of urinary tract biomaterial encrustation using a modified Robbins device continuous flow model. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 38, n. 2, p. 87-93, 1997.
- WINN, C. Basing catheter care on research principles. **Nursing Standard**, v. 10, n. 18, p. 38-40, 1996.