



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

GUSTAVO ISSAMU ASAI SAIKAWA

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E ANTIBIOFILME *IN VITRO*  
E APLICAÇÃO EM CATÉTER URINÁRIO DE  
NANOPARTÍCULAS DE PRATA CONTRA *PROTEUS*  
*MIRABILIS* UROPATOGÊNICO**

---

Londrina  
2018

GUSTAVO ISSAMU ASAI SAIKAWA

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E ANTIBIOFILME *IN VITRO*  
E APLICAÇÃO EM CATÉTER URINÁRIO DE  
NANOPARTÍCULAS DE PRATA CONTRA *PROTEUS*  
*MIRABILIS* UROPATOGÊNICO**

Dissertação apresentada ao Departamento de Microbiologia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito para obtenção do título de Mestre em Microbiologia.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Paulo Dejato da Rocha

Londrina  
2018

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Saikawa, Gustavo .

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E ANTIBIOFILME IN VITRO E APLICAÇÃO EM CATETER URINÁRIO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA CONTRA PROTEUS MIRABILIS UROPATOGÊNICO / Gustavo Saikawa. - Londrina, 2018.  
129 f. : il.

Orientador: Sergio Paulo Dejato da Rocha.

Dissertação (Mestrado em Microbiologia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, 2018.  
Inclui bibliografia.

1. Nanopartículas de prata - Tese. 2. Infecção do trato urinário - Tese. 3. Proteus mirabilis - Tese. 4. Polidopamina - Tese. I. Paulo Dejato da Rocha, Sergio. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia. III. Título.

GUSTAVO ISSAMU ASAI SAIKAWA

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E ANTIBIOFILME *IN VITRO* E  
APLICAÇÃO EM CATÉTER URINÁRIO DE NANOPARTÍCULAS DE  
PRATA CONTRA *PROTEUS MIRABILIS* UROPATOGÊNICO**

Dissertação apresentada ao Departamento de Microbiologia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito para obtenção do título de Mestre em Microbiologia.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Paulo Dejato da  
Rocha  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Prof. Dr. Felipe de Almeida La Porta  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná –  
UTFPR

---

Prof. Dr. Admilton Gonçalves de Oliveira Junior  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, Abril de 2018.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, Sérgio Paulo Dejato da Rocha, que me me apresentou e conduziu pelo mundo científico, sempre com disposição e paciência ao ensinar.

À Prof<sup>a</sup>. Jacinta Sanchez Pelayo, que nunca negou apoio e ajuda quando foi preciso.

Ao Prof. Admilton Jr., por toda sapiência e engenhosidade prestada na resolução dos mais diversos percalços encontrados no decorrer dessa etapa.

Ao Laboratório Laboratório de Bacteriologia Básica e Aplicada, em especial ao Prof. Gerson Nakazato e à Sara Scandorieiro, pelo suporte dado e pelo conhecimento compartilhado, sem os quais este trabalho não poderia sequer ser iniciado.

Ao Laboratório de Biologia Molecular de Microrganismos da UEL pelo socorro prestado em diversos momentos.

Ao Laboratório de Micologia e Métodos Alternativos ao Uso de Animais da UEL, à Angelita Aparecida, ao César, e ao Tiago Zaninelli, pela inestimável ajuda em etapas críticas para a realização deste trabalho.

À Central Multiusuária De Laboratórios De Pesquisa da UEL (CMLP) e à Financiadora De Estudos E Projetos (FINEP/CT-INFRA) 01/2011 CONVÊNIO NO 01.13.0049.00 e ao Laboratório de Microscopia Eletrônica e Microanálise da UEL, em especial ao Tiago e ao Osvaldo, pela ajuda prestada nas análises de microscopia.

Aos amigos Carol, Kawana, Matheus, Taynara, Wellington, Anahí e a todos os integrantes do Laboratório de Bacteriologia, pelos momentos divididos e por tornarem os dias de trabalho mais agradáveis.

Por fim, agradeço à toda minha família e amigos que sempre me apoiaram e mantiveram a fé nessa conquista quando nem mesmo eu a mantive, principalmente aos maiores responsáveis por essa realização, meus pais, João e Maria Saikawa, que sempre estiveram ao meu lado, incondicionalmente, nos erros e acertos, aos quais dedico este trabalho.

SAIKAWA, Gustavo Issamu Asai. **Atividade antibacteriana e antibiofilme *in vitro* e aplicação em catéter urinário de nanopartículas de prata contra *Proteus mirabilis* uropatogênico**. 2018. 129 f. Dissertação de Mestrado em Microbiologia – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

## RESUMO

*Proteus mirabilis* é um dos principais agentes causadores de infecções urinárias associadas à catéter. Os tratamentos contra infecções bacterianas têm se tornado cada vez mais ineficazes devido à rápida emergência de bactérias resistentes a antimicrobianos, levando à necessidade crítica de novos agentes antimicrobianos. Nanopartículas de prata (AgNPs) aparecem como candidatas por conta de sua atividade antimicrobiana e baixa toxicidade aos humanos. Este trabalho teve como objetivo verificar a atividade de AgNPs biossintetizadas pelo fungo *Fusarium oxysporum* contra isolado clínico de *P. mirabilis* uropatogênico e verificar a atividade antimicrobiana de catéteres de Foley revestidos com essas AgNPs. As AgNPs foram sintetizadas pela adição de AgNO<sub>3</sub> ao filtrado fúngico. Análise de tamanho, potencial Zeta e morfologia das AgNPs foram determinados por espalhamento de luz dinâmico, laser doppler eletroforese, e microscopia eletrônica de transmissão, respectivamente. Os ensaios de microdiluição em caldo e cinética de tempo de morte foram usados para determinar a atividade antibacteriana das AgNPs. O ensaio de redução do XTT foi utilizado para determinação da atividade antibiofilme. Além disso, fragmentos de catéter foram revestidos com duas e três camadas de AgNPs usando polidopamina como agente ancorante. A caracterização da superfície foi realizada EDX. Pedacos de catéter revestido foram incubados em urina inoculada com *P. mirabilis* e o tempo necessário para incrustação foi determinado. Imagens de MCE foram realizadas para comparar a formação de biofilme entre os catéteres prístino e revestidos. As AgNPs apresentaram formato esférico, com tamanho médio de 126,3 nm e potencial Zeta de -36,86 mV. A CIM foi 62,5 µM, causando inviabilidade celular total após 4 horas de ação. A formação de biofilme foi inibida em 76,4% e o biofilme maduro foi reduzido em 1,9%. A análise por EDX confirmou a presença de prata. A incrustação dos catéteres de 2 e 3 camadas aconteceu após 13 e 20 dias, respectivamente, enquanto o catéter prístino apresentou incrustação no primeiro dia. MCE mostrou que o revestimento do catéter reduziu a intensidade de fluorescência em mais de 98%. Dessa forma, conclui-se que AgNPs biossintetizadas por *F. oxysporum* possuem grande atividade antibacteriana e antibiofilme, sendo uma potencial alternativa ao tratamento com antibióticos em infecções por *P. mirabilis* uropatogênico.

**Palavras-chave:** Infecção urinária. Polidopamina. Antimicrobiano. Nanosilver.

SAIKAWA, Gustavo Issamu Asai. ***In vitro* antibacterial and antibiofilm activity and urinary catheter application of silver nanoparticles against uropathogenic *Proteus mirabilis***. 2018. 129 p. Dissertação de Mestrado em Microbiologia – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

## ABSTRACT

*Proteus mirabilis* is one of the main causative agent of catheter associated urinary tract infection. Treatment of bacterial infections are becoming increasingly inefficient due to the rapid emergence of resistant bacteria, leading to a critical need for new antimicrobial agents. Silver nanoparticles (AgNPs) are promising candidates by its antibacterial activity and low toxicity for humans. This work intended to assess the activity of AgNPs biosynthesized by *Fusarium oxysporum* against a clinical isolate of uropathogenic *P. mirabilis* and assess the antimicrobial activity of Foley catheter coated with those AgNPs. AgNPs were synthesized by adding AgNO<sub>3</sub> to fungal filtrate. AgNPs analysis of size, Zeta potential and morphology were determined by dynamic light scattering, laser doppler electrophoresis and transmission electron microscopy, respectively. Broth microdilution and time-kill kinetics assays were used to determine the antibacterial activity of the AgNPs. The XTT reduction assay was employed to determine the antibiofilm effect. Beyond that, fragments of catheter were coated with two and three AgNPs layers using polydopamine as the surface anchor. Thickness and homogeneity were confirmed by EDX and SEM. Pieces of coated catheter were incubated in urine inoculated with *P. mirabilis* and the time taken for encrustation to occur was recorded. SEM images were taken to compare biofilm formation between pristine and coated catheters. AgNPs showed spherical shape, an average size of 126,3 nm and Zeta potential of -36,86 mV. MIC was found to be 62,5 µM, causing total loss of viability after 4 hours of action. Biofilm formation was 76,4% lower and mature biofilm was reduced by 1,9%. EDX analysis confirmed presence and homogeneity of AgNPs on coating. Encrustation of the two and three AgNPs layers catheters occurred after 13 and 20 days, respectively, while pristine catheter was encrusted on the first day. SEM showed that the coating on catheter was able to reduce the fluorescence intensity by more than 98%. Therefore, it can be concluded that the AgNPs biosynthesized by *F. oxysporum* has great antibacterial and antibiofilm activity, being considered as a potential alternative to antibiotic treatment of infections caused by uropathogenic *P. mirabilis*.

**Key-words:** Urinary tract infection. Polydopamine. Antimicrobial. Nanosilver.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1-</b>	Métodos de síntese de nanopartículas pelas abordagens “ <i>Top-down</i> ” e ,,,,“ <i>Bottom-up</i> ” .....	38
<b>Figura 2-</b>	Mecanismos propostos de síntese de AgNPs por <i>F. oxysporum</i> .....	41
<b>Figura 3-</b>	Sequência ilustrativa para o revestimento da superfície dos fragmentos de cateter com duas camadas (2C) e três camadas (3C) de AgNPs .....	82
<b>Figura 4-</b>	Micrografia de transmissão eletrônica de AgNPs biossintetizadas por <i>F. oxysporum</i> .....	84
<b>Figura 5-</b>	Análise de tamanho e potencial zeta das AgNPs biossintetizadas por <i>F. oxysporum</i> .....	85
<b>Figura 6-</b>	Curva de crescimento e tempo de morte de AgNPs biossintetizadas por <i>F. oxysporum</i> contra <i>P. mirabilis</i> multirresistente isolado de infecção urinária .....	87
<b>Figura 7-</b>	Indicação de polimerização da dopamina pela mudança de cor da solução .....	91
<b>Figura 8-</b>	Influência da agitação no revestimento .....	91
<b>Figura 9-</b>	Resultado do revestimento dos catéteres .....	91
<b>Figura 10-</b>	Elementos presentes no revestimento dos cateteres.....	93
<b>Figura 11-</b>	Ensaio de atividade antibacteriana da PDA .....	94
<b>Figura 12-</b>	Fotomicrografias de transmissão da AgNPs biossintetizadas por <i>F. oxysporum</i> após contato com PDA .....	94
<b>Figura 13-</b>	Efeito dos revestimentos na formação de biofilme de <i>P. mirabilis</i> por microscopia confocal.....	97
<b>Figura 14-</b>	Tempo de incrustação dos cateteres .....	97

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

MCE	Microscopia Confocal Espectral
MET	Microscopia Eletrônica de Transmissão
CIM	Concentração Inibitória Mínima
AgNPs	Nanopartículas de prata
ITU	Infecção do Trato Urinário
ITU-AC	Infecção do Trato Urinário Associada a Cateter
ESBL	Beta-lactamase de Espectro Estendido
EDX	Energy Dispersive X-ray (Energia Dispersiva de Raios-x)
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
MHA	Müeller Hinton Ágar
MHB	Müeller Hinton Broth (Caldo Müeller Hinton)
UFC	Unidade Formadora de Colônia
PDA	Polidopamina

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1. Infecção do trato urinário (ITU) .....	15
2.1.1. Classificação.....	15
2.1.2. Epidemiologia.....	16
2.1.3. Diagnóstico .....	18
2.1.4. Tratamento.....	19
2.2. Infecção do trato urinário associada a cateter (ITU-AC).....	21
2.3. <i>Proteus</i> sp. ....	23
2.4. Resistência a antimicrobianos.....	27
2.5. Biofilme .....	29
2.5.1. Biofilme cristalino .....	32
2.6. Nanotecnologia, Nanociência e Nanopartículas.....	32
2.6.1. Diferenças entre nanopartículas e materiais “ <i>bulk</i> ” .....	36
2.6.2. Síntese de nanopartículas .....	36
2.6.3. Nanopartículas de prata (AgNPs) .....	38
2.6.3.1. Biossíntese de AgNPs por <i>F. oxysporum</i> .....	39
2.6.3.2. Mecanismo de ação antibacteriano .....	40
2.7. Modificações de superfícies de cateteres .....	44
2.7.1. Polidopamina e modificações de superfícies .....	45
2.8. Referências Bibliográficas.....	46

3. OBJETIVOS.....	73
3.1. Objetivo geral .....	73
3.2. Objetivos específicos.....	73
4. ARTIGO CIENTÍFICO .....	74
4.1. Introdução .....	75
4.2. Materiais e Métodos .....	76
4.2.1. Microrganismos.....	76
4.2.2. Biossíntese de AgNPs .....	76
4.2.3. Caracterização das AgNPs .....	77
4.2.4. Atividade antibacteriana das AgNPs .....	77
4.2.4.1. Ensaio de microdiluição em caldo .....	77
4.2.4.1.1. Ajuste do inóculo.....	77
4.2.4.1.2. Preparo das concentrações das AgNPs .....	77
4.2.4.1.3. Inoculação.....	78
4.2.4.1.4. Determinação da CIM .....	78
4.2.5. Curva de tempo de morte .....	78
4.2.5.1. Ajuste do inóculo .....	78
4.2.5.2. Inoculação .....	78
4.2.5.3. Determinação da curva de morte .....	79
4.2.6. Teste de atividade antibiofilme em placa de poliestireno .....	79
4.2.6.1. Ensaio de inibição da formação de biofilme.....	79
4.2.6.2. Ensaio de destruição do biofilme .....	80
4.2.6.3. Determinação da viabilidade celular por XTT .....	80

4.2.7.	Revestimento do catéter .....	81
4.2.7.1.	Caracterização da superfície .....	82
4.2.8.	Ensaio de incrustação .....	82
4.2.9.	Ensaio de inibição da formação de biofilme .....	83
4.3.	Resultados e Discussão.....	83
4.3.1.	Caracterização das AgNPs .....	83
4.3.2.	Atividade antibacteriana das AgNPs .....	86
4.3.2.1.	Ensaio de microdiluição em caldo .....	86
4.3.2.2.	Curva de tempo de morte .....	87
4.3.2.3.	Teste de atividade antibiofilme em placa de poliestireno .....	88
4.3.2.3.1.	Atividade de inibição de biofilme .....	88
4.3.2.3.2.	Destruição do biofilme.....	89
4.3.3.	Revestimento do cateter .....	89
4.3.4.	Caracterização da superfície.....	92
4.3.5.	Ensaio de incrustação .....	95
4.3.6.	Ensaio de inibição da formação de biofilme em cateter .....	96
4.4.	Conclusão .....	98
4.5.	Referências .....	99
5.	CONCLUSÃO.....	129

## 1. INTRODUÇÃO

Infecção do trato urinário (ITU) é uma infecção que acomete qualquer parte do trato urinário sendo, em sua maioria, causada por bactérias. Normalmente, as bactérias atingem o sistema urinário pela via ascendente, quando o ponto de partida é a uretra, e podem migrar, até atingir os rins e, a partir daí, alcançar a corrente sanguínea. O uso de dispositivos médicos como os cateteres é um fator que aumenta as chances da ITU acontecer.

A infecção do trato urinário associada a cateter (ITU-AC) é relacionada ao aumento da morbidade e mortalidade sendo a causa mais comum de infecção secundária da corrente sanguínea, gerando custos de 43-256 milhões de dólares anualmente nos Estados Unidos. Pacientes cateterizados se tornam propensos à infecção por que não possuem o sistema de defesa natural de enchimento e esvaziamento da bexiga, além dos dispositivos servirem como via de inoculação de bactérias.

*Proteus mirabilis* é uma das principais bactérias causadoras de ITU-AC. Este microrganismo possui diversos fatores de virulência que contribuem tanto na colonização do cateter urinário quanto do hospedeiro. Uma característica marcante da ITU-AC envolvendo *P. mirabilis* é a incrustação e o bloqueio da luz do cateter. Essa bactéria é capaz de produzir uma potente urease que degrada a ureia em dióxido de carbono e amônia, causando alcalinização da urina. Dessa forma, cristais de estruvita e apatita se depositam junto ao biofilme em formação gerando um biofilme cristalino, de difícil erradicação, protegendo as bactérias. Por isso, também, pacientes com ITU causada por *P. mirabilis* são frequentemente afetados por cálculos renais. O entupimento do cateter causa o bloqueio do fluxo urinário e, conseqüentemente, a urina fica retida, resultando em distensão da bexiga, o que causa dor e desconforto ao paciente. Além disso, pode ocorrer refluxo da urina para os rins, causando formação de urolitíase e complicações sérias como pielonefrite, sepse, choque e até a morte.

O tratamento de infecções têm se tornado cada vez menos eficazes devido ao rápido aumento na emergência de bactérias resistentes aos tratamentos

convencionais com antibióticos clínicos. Neste cenário, as nanopartículas aparecem como candidatas ao tratamento alternativo por conta de suas propriedades físicas, químicas e biológicas.

Nanopartículas de prata (AgNPs) têm mostrado grande capacidade de inibir o crescimento tanto de bactérias Gram-positivas como Gram-negativas, além de outros microrganismos. Uma de suas aplicações é a possibilidade de imobilização das partículas em superfícies para combater infecções. Dessa forma, se tornam uma potencial alternativa no combate à ITU-AC.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1. Infecção do trato urinário (ITU)**

O trato urinário representa um sítio frequente de infecções tanto em pacientes da comunidade como em pacientes internados em unidades hospitalares, sendo comuns em todas as idades, e estão entre as causas que mais requerem tratamento ambulatorial (MASSON et al., 2009; RORIZ-FILHO et al., 2010). A infecção do trato urinário (ITU) é definida como uma resposta inflamatória do urotélio à invasão por microrganismos, geralmente associada à bacteriúria e piúria, e é associada a uma alta taxa de morbidade e mortalidade. Pode acometer tanto a porção superior do sistema urinário, composto pelos rins, pelve renal e ureteres, quanto a porção inferior, que compreende a bexiga urinária e a uretra (DIELUBANZA; SCHAEFFER, 2011; FATIMA; MUSSAED, 2018).

A ITU, geralmente, é bacteriana, mas fungos, vírus e parasitas também são agentes causadores. Em condições normais, o trato urinário é estéril e a infecção acontece apenas quando a virulência do patógeno supera os mecanismos de defesa do hospedeiro (SHEERIN, 2011). Os microrganismos podem atingir o sistema urinário pela via ascendente, quando o ponto de partida é a uretra, ou pela via descendente, tendo proveniência de outros locais e instalando-se a nível dos rins. (RODRIGUES; BARROSO, 2011).

Na via ascendente, os uropatógenos podem invadir o urotélio, produzindo toxinas e proteases para liberar nutrientes das células do hospedeiro, e sintetizar sideróforos para obtenção de ferro. Dessa forma, a bactéria pode ascender aos rins e colonizar o epitélio renal. Consequentemente, são capazes de cruzar o epitélio tubular e atingir a corrente sanguínea, dando início à bacteremia (FLORES-MEIRELES et al., 2015). Já a rota descendente, chamada de hematógena, acontece quando bactérias presentes na circulação sanguínea atingem os rins. Esse tipo de infecção é incomum em indivíduos sadios (FATIMA; MUSSAED, 2018).

#### **2.1.1. Classificação**

A ITU pode ser classificada de acordo com o local de infecção, como cistite, quando na bexiga, pielonefrite, quando nos rins, e bacteriúria, quando há

presença de bactérias na urina. Esta enfermidade pode ser assintomática ou sintomática, tendo ampla variação de sintomas que vão desde leve irritação ao urinar, sepse, podendo até mesmo levar à morte (MASSON et al., 2009; FOXMAN, 2002).

Podem, ainda, ser classificadas como não-complicadas, quando ocorrem em pacientes não grávidas, com trato geniturinário normal e sem necessidade de instrumentação, como sonda vesical de demora (FOXMAN, 2002, 2010; GONZALEZ; SCHAEFFER, 1999; NICOLLE, 2002), por exemplo, ocorrendo em mulheres jovens sexualmente ativas, sendo associados com fatores genéticos e comportamentais (NICOLLE, 2002) e, geralmente, adquirida fora do ambiente hospitalar (HEILBERG; SCHOR, 2003), ou complicadas, quando ocorrem em casos associados à anormalidade funcional ou estrutural do trato geniturinário, incluindo obstrução urinária, retenção urinária causada por doença neurológica, imunossupressão, falência ou transplante renal, gravidez, presença de cálculos e cateter (FLORES-MIRELES et al., 2015; WAGENLEHNER et al., 2012), ou qualquer paciente com pielonefrite (GONZALEZ; SCHAEFFER, 1999), não tendo especificidade de idade ou sexo (NICOLLE, 2002).

### **2.1.2. Epidemiologia**

As ITUs afetam cerca de 150 milhões de pessoas no mundo (FLORES-MIRELES et al., 2015) ocupando lugar de destaque entre as infecções nosocomiais (SILVA E SOUZA et al., 2017).

O “Ambulatory Care Visits to Physician Offices, Hospital Outpatient Departments, and Emergency Departments”, de 2006, que apresenta dados de 2001 e 2002 do “National Ambulatory Medical Care Surveys” (NAMCS) e do “National Hospital Ambulatory Medical Care Surveys” (NHAMCS) os quais, juntos, produzem uma estimativa anual de cuidados ambulatoriais nos Estados Unidos, estima que as ITU correspondam a mais de 7 milhões de consultas anuais (SCHAPPERT; BURT, 2006), ocupando lugar de destaque entre as infecções nosocomiais (SILVA E SOUZA et al., 2017). No Brasil, estudos mostram que ITU também encabeça entre as principais infecções adquiridas em hospitais (BARROS et al., 2012; LISBOA et al., 2007; OLIVEIRA; KOVNER; SILVA, 2010; PADRÃO et al., 2010; SALES JÚNIOR et al., 2006), assim como em países europeus (ILIC; MARKOVIĆ-DENIĆ,

2009; VAQUÉ et al., 1996) e de outros continentes (RAZINE et al., 2012; TASBAKAN et al., 2013)

A epidemiologia da infecção urinária varia com a idade, sexo, e presença de diversas anormalidades no trato geniturinário (NICOLLE, 2002) que influenciam de modo diferente na recidiva, reinfecção e frequência da infecção (NICOLLE, 2001). Infecção urinária recorrente, seja por recidiva (infecção por microrganismo semelhante ao encontrado antes da terapia, geralmente devido à persistência do organismo no trato urinário) ou reinfecção (nova infecção com um microrganismo diferente) é comum em pacientes que sofrem de infecção urinária complicada (NICOLLE, 2005), principalmente do sexo feminino (FOXMAN, 2002). Se a anormalidade no trato urinário for corrigida, infecções subsequentes podem ser evitadas. Porém, caso isso não seja possível, pode-se esperar ocorrência de reinfecção, que pode chegar a uma taxa de, aproximadamente, 50% dentro de quatro a seis semanas (NICOLLE, 2001).

Apesar de todos estarem sujeitos à ITU, existem subpopulações com risco aumentado desta infecção incluindo crianças (BECKNELL et al., 2015), grávidas (MATUSZKIEWICZ-ROWIŃSK; MAŁYSZKO; WIELICZKO, 2015), idosos (ROWE; JUTHANI-MEHTA, 2014), diabéticos (NITZAN et al., 2015), pacientes com lesão medular (PANNEK, 2011), e pacientes cateterizados (TAN; CHLEBICKI, 2016).

Exceto nos primeiros meses de vida, o sexo feminino é mais vulnerável à ITU do que o masculino. Antes do primeiro ano de vida, as ITUs acometem principalmente crianças do sexo masculino (MASSON et al., 2009) devido ao maior número de malformações congênitas, especialmente na válvula de uretra posterior. Depois desse período, principalmente na fase pré-escolar, as meninas são acometidas 10 a 20 vezes mais do que os meninos. Na vida adulta, a incidência de ITU no sexo feminino se eleva, em torno de 30 vezes mais que os homens, com picos de maior acometimento no início ou relacionado à atividade sexual, durante a gestação ou na menopausa. Isso se deve ao fato de que os organismos infectantes são derivados da própria microbiota fecal. Portanto, a susceptibilidade das mulheres à ITU está relacionada à uretra mais curta e a maior proximidade do ânus com o vestíbulo vaginal e a uretra em relação ao sexo masculino. Assim sendo, cerca de

40% das mulheres desenvolvem ITU em algum momento da vida (HEILBERG; SCHOR, 2003; SHEERIN, 2011; TAN; CHLEBICKI, 2016). Contudo, casos de ITU se acentuam em homens adultos com prostatite (LIPSKY, 1999; SHEERIN, 2011).

Em casos de gestação, a dilatação da pelve renal e do ureter, redução do tônus da musculatura lisa com diminuição da peristalse ureteral, relaxamento do esfíncter ureteral, aumento da pressão intravesical pela compressão do útero sobre a bexiga, e aumento do pH urinário, são fatores de risco que contribuem para a ITU (AL-BADR; AL-SHAIKH, 2013; MATUSZKIEWICZ-ROWIŃSK; MAŁYSZKO; WIELICZKO, 2015).

Em casos de menopausa, os níveis de estrógeno estão mais baixos, o que resulta em uma baixa população de lactobacilos e, assim, uma menor acidez vaginal, facilitando a infecção (RAZ, 2011; ROWE; JUTHANI-MEHTA, 2014).

A prevalência de bactérias é variável, sendo dependente de fatores como idade, sexo, gravidez, instrumentação e local da aquisição da infecção, se intra ou extra-hospitalar. Porém, de maneira geral, *Escherichia coli* uropatogênica (UPEC) se apresenta como a bactéria mais frequente, tanto em casos de ITU complicada como não complicada (FLORES-MEIRELLES et al., 2015) sendo responsável por 70-85% das infecções do trato urinário adquiridas na comunidade. Apesar de continuar sendo a mais prevalente em casos de ITU complicada e nosocomial, a expressividade de *E. coli* diminui nesses casos (40-70%) e outras bactérias como *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosae* ganham maior destaque. (CORNEJO-DÁVILA et al., 2015; RORIZ-FILHO et al., 2010; SHEERIN, 2011).

### **2.1.3. Diagnóstico**

O padrão ouro para diagnóstico de ITU é a detecção do patógeno na urina na presença de sintomas clínicos (SCHMIEMANN et al., 2010). A recomendação da Sociedade de Doenças Infecciosas da América (IDSA) é de que, para mulheres assintomáticas, a bacteriúria deve ser definida como 2 amostras de urina consecutivas com isolamento da mesma cepa bacteriana com contagem  $\geq 10^5$  UFC/ml. Para homens, uma única amostra de urina com  $\geq 10^5$  UFC/ml de uma espécie bacteriana isolada identifica bacteriúria assintomática. Para se definir ITU-

CA, é necessária presença de sintomas e sinais compatíveis com ITU com contagem  $\geq 10^3$  ufc/ml de pelo menos 1 espécie de bactéria em uma única amostra de urina em paciente que teve o cateter removido nas últimas 48 h (HOOTON et al., 2010; NICOLLE et al., 2005).

Geralmente, a contagem de unidades formadoras de colônia (UFC) em infecção aguda deve ser  $\geq 10^5$  UFC/ml (HICKLING; TUNG-TIEN; XUE-RU, 2015). Entretanto, contagem acima de  $10^3$  UFC/ml pode ser significativa em presença de sintomas típicos, bem como qualquer contagem em aspirado suprapúbico (SHEERIN, 2011).

Em casos de ITU associada a cateter (ITU-CA), é indicado que se considere um número de colônias 100 UFC/ml, uma vez que um baixo nível de bacteriúria pode progredir rapidamente para altas contagens, com um número de UFC/ml maior que  $10^5$  (STAMM; COUTINHO, 1999; STARK; MAKI, 1984). Todavia, segundo nota técnica da ANVISA (SANTOS et al., 2017), para diagnóstico de ITU-CA, a contagem continua sendo  $\geq 10^5$  UFC/ml. É proposto, ainda, que achados de aproximadamente  $10^3$  UFC/ml defina bacteriúria significativa em cistite aguda não complicada,  $10^4$  UFC/ml em pielonefrite aguda não complicada e ITU em homens (GRABE et al., 2011; RUBIN et al.; 1992) e, caso o limite de  $10^5$  UFC/ml tenha sido ultrapassado em duas amostras consecutivas com ausência de sinais clínicos, o diagnóstico será bacteriúria assintomática (SCHMIEMANN et al., 2010).

Outros parâmetros também são usados no auxílio do diagnóstico, como presença de hematúria, piúria, e nitrito. Nitrito é formado pela conversão do nitrato presente na urina, reação a qual a maioria das enterobactérias são capazes de realizar. Porém, nem todas as bactérias o fazem, de forma que a ausência de nitrito não deve ser usada para descartar ITU (SHEERIN, 2011; SILVA E SOUSA et al., 2017).

#### **2.1.4. Tratamento**

A comprovação de bacteriúria significativa é necessária para diagnóstico de ITU, porém os resultados da urocultura e antibiograma demoram em torno de 4 dias. Dessa forma, a terapia antimicrobiana inicial costuma ser empírica, levando-se em consideração a prevalência dos organismos mais frequentes para as

características do paciente, como faixa etária e sexo. Posteriormente, de acordo com as informações de susceptibilidade antimicrobiana, o tratamento pode ser adaptado (LO et al., 2013; PIETRUCHA-DILANCHIAN; HOOTON, 2016). Entretanto, essa prática pode levar ao uso abusivo de antibióticos, o que pode causar aumento do surgimento de casos de resistência antimicrobiana (ROWE; JUTHANI-MEHTA, 2014).

O principal objetivo do tratamento é reduzir os sintomas da ITU, tais como aumento da frequência e urgência de urinar, e disúria. Assim, ITU assintomática não necessita de tratamento a não ser em casos de gravidez, transplantados de rim, crianças com refluxo vesicoureteral, pacientes com cálculos infectados e pacientes submetidos a cirurgias urológicas (BARDSLEY, 2017; PIETRUCHA-DILANCHIAN; HOOTON, 2016; SILVA E SOUZA et al., 2017). Além disso, o tratamento de bacteriúria assintomática em casos de ITU recorrente levou ao desenvolvimento de ITU sintomática dentro de um ano. O tratamento equivocado desse tipo de infecção também está relacionado ao aumento de isolados multirresistentes (CAI et al., 2012).

Uma grande variedade de agentes antimicrobianos é efetiva no tratamento de ITU complicada e são usados, normalmente, por 7 a 14 dias (LICHTENBERGER; HOOTON, 2008; NICOLLE, 2001), porém, a duração pode ser variável. Casos de mulheres com primeira ITU não complicada em trato urinário inferior podem ser tratados com dose única com fosfomicina trometanol (3 g) contra *E. coli*, por exemplo. Tratamento de 3 dias são indicados no tratamento da ITU “baixa”, com invasão superficial da mucosa, não complicada. Tratamentos de 7 dias para ITU em homens e para pacientes com tratamento pregresso e alta probabilidade de ITU por microrganismos resistentes. Para ITU alta ou complicada por outros fatores, o tratamento recomendado é de 10 a 14 dias. Para casos de cistite não complicada, vários agentes antimicrobianos de via oral podem ser utilizados como, por exemplo, as sulfonamidas, nitrofurantoína, quinolonas e cefalosporinas. Já para pielonefrite não complicada, é indicado tratamento parenteral e, quando o paciente deixar de apresentar febre por um período de 24 horas, entra-se com terapia oral sem predileções por tipos de antimicrobianos, desde que possam ser administrados pelas vias indicadas, como altas doses de aminoglicosídeos seguido de ciprofloxacina via oral, por exemplo. Em casos de ITU

complicada, é difícil se estabelecer um padrão de antimicrobianos, uma vez que essa condição depende das alterações apresentadas no trato urinário, como obstrução ou uso de cateter, e do microrganismo envolvido. De maneira geral, utiliza-se cefalosporinas de 1ª, 2ª, 3ª, e 4ª gerações (HEILBERG; SCHOR, 2003).

Em estudo comparativo entre norfloxacina e ciprofloxacina realizado com pacientes adultos que sofriam de ITU complicada, foi demonstrado que não há diferença significativa na taxa de cura entre esses dois medicamentos, indicando eficácia e tolerância comparável entre ambos (SCHAEFFER; ANDERSON, 1992).

A prevalência de bactérias é variável, sendo dependente de fatores como idade, sexo, gravidez, instrumentação e local da aquisição da infecção, se intra ou extra-hospitalar. Porém, de maneira geral, *E. coli* se apresenta como a bactéria mais frequente (DARZE; BARROSO; LORDELO, 2011; LO et al., 2010, 2013; MARQUES et al., 2012; MORAES et al., 2014; RIYUZO; MACEDO; BASTOS, 2007; TASBAKAN et al., 2013). As demais bactérias apresentam uma frequência variável sendo, as espécies de *Proteus*, muitas vezes citadas entre as maiores responsáveis pelas frequências de infecção (HANNAN, 2012; KHAWCHAROENPORN; VASOO; SINGH, 2013; MARQUES et al., 2012; MODY; JUTHANI-MEHTA, 2014), comuns especialmente em pacientes com dispositivos urológicos internos e/ou anormalidades anatômicas do trato urinário (CHEN et al., 2012; NICOLLE, 2005).

## **2.2. Infecção do trato urinário associada a cateter (ITU-AC)**

A ITU-AC é a infecção nosocomial mais comum dentre todas, e representa mais de 80% das ITU nosocomiais (JACOBSEN et al., 2008; RICHARDS et al., 1999). ITU-AC são associadas ao aumento da morbidade e mortalidade e são, coletivamente, a causa mais comum de infecção secundária de sangue (FLORES-MEIRELES et al., 2015).

A ITU se desenvolve em 25% dos pacientes que requerem uso de cateter por, pelo menos, 7 dias (SHEERIN, 2011). Pacientes cateterizados são vulneráveis à infecção por que o dispositivo reduz a defesa de uma bexiga normal. O enchimento e esvaziamento da bexiga saudável ajuda na limpeza do trato urinário, o que não ocorre com esses pacientes, onde a urina apenas escorre para o saco coletor. Isso permite que ocorra a migração bacteriana da pele contaminada no sítio

de inserção. Na bexiga, ocorre um sistema de cultura contínuo, onde as bactérias invadem o reservatório de urina reabastecido pelos rins, o que permite rápida multiplicação gerando cerca de  $10^8$  bactérias/ml (STICKLER, 2014). Ademais, torneiras de drenagem dos sacos de urina geralmente tornam-se contaminadas durante o uso e sua abertura regular serve para acesso das bactérias, que migram para o tubo de drenagem, o cateter e bexiga, logo depois (TENKE et al., 2008).

A maioria dos patógenos causadores de ITU tem origem fecal ou são residentes da pele da própria microbiota nativa dos pacientes. A entrada dessas bactérias pode acontecer no momento da inserção do cateter, através da luz do cateter, ou ao longo da interface entre o dispositivo e a uretra (JACOBSEN et al., 2008).

*P. mirabilis* não é conhecido por causar infecções em pacientes sadios com frequência, sendo mais relacionado à ITU complicada, principalmente relacionada à cateter, causando 10-44% ITU-CA de longo prazo (definido como cateterização por um período >28 dias), gerando custos de 43-256 milhões de dólares anualmente nos Estados Unidos (CHEN et al., 2012; HOLLING et al., 2014; SCHAFFER; PEARSON, 2015) Além disso, espécies de *Proteus* spp. são as mais prevalentes bactérias isoladas de cálculos renais e vesicais, atingindo 70% dos casos (DRZEWIECKA, 2016).

Este microrganismo possui diversos fatores de virulência que contribuem tanto na colonização do cateter urinário quanto do hospedeiro. Em todo genoma bacteriano são conhecidos 16 operons de fimbrias; na ITU, são descritas quatro adesinas diferentes que auxiliam na ligação à superfícies bióticas e abióticas. Esta bactéria pode expressar uma cápsula de exopolissacarídeos que a protege contra as defesas do hospedeiro. É capaz, também, de secretar  $\alpha$ -hemolisinas, proteínas de captura de ferro, proteases e aminoácido desaminases, as quais são importantes para aquisição de nutrientes dos tecidos e fluidos. Uma protease de imunoglobulina (Ig) A é produzida e degrada IgA secretada no muco das superfícies epiteliais. Além disso, produzem uma potente urease e conseguem migrar rapidamente sobre superfícies sólidas (STICKLER, 2014).

A urease produzida por *P. mirabilis* é muito potente, sendo capaz de hidrolisar a ureia muito mais rápido do que as ureases de outros microrganismos

(STICKLER; FENELEY, 2010) com conseqüente formação de amônia. Por isso, as espécies de *Proteus* estão comumente envolvidas com formação de cálculos no trato urinário, pois cristais de estruvita e apatita são formados quando ocorre alcalinização da urina pelo hidróxido de amônia (GRIFFITH; MUSER, 1976) por causar cristalização de fosfato de magnésio e amônio ( $Mg(NH_4)PO_4$ ), e de fosfato de cálcio ( $Ca_3(PO_4)_2$ ), respectivamente (STICKLER; ZIMAKOFF, 1994). Braude e Siemienski (1960) encontraram que 22% dos ratos infectados por *Proteus* apresentaram cálculos renais (BRAUDE; SIEMIENSKI, 1960). Em estudo realizado com ratos infectados com bactérias isoladas de ITU em humanos, Braude, Shapiro e Siemienski (1959) demonstraram que *Proteus* não somente produziu uma pielonefrite mais grave em comparação a outras bactérias, como também foi responsável por formação de cálculos em mais de 10% dos animais (BRAUDE; SHAPIRO; SIEMIENSKI, 1959).

Os primeiros estágios de infecção renal por *Proteus* acontecem pela proliferação dentro do epitélio tubular, onde se presume haver alta concentração de ureia. Colônias de *P. mirabilis* foram localizadas nas células tubulares dentro de 18 a 24 horas após a inoculação, se desenvolvendo no citoplasma. O crescimento levou à necrose das células tubulares (BRAUDE, SIEMIENSKI, 1960).

### **2.3. *Proteus* sp.**

O gênero *Proteus* pertence à família Enterobacteriaceae e é composto por bactérias em forma de bastonete, Gram-negativas, móveis e com flagelos peritríquios (BREED; MURRAY; SMITH, 1957). São encontradas em solo e água contaminada, sendo indicadores de contaminação fecal, uma vez que fazem parte da microbiota fecal natural de humanos. Além disso, vários animais são reservatórios dessas bactérias, incluindo mamíferos, aves, répteis e anfíbios (DRZEWIECKA, 2016).

Foi primeiramente descrito por Hauser, em 1885, para descrever uma bactéria isolada de carnes apodrecidas que tinha capacidade de mudar de forma, baseando a nomenclatura no personagem Proteus, da Odisséia de Homero, o qual tinha capacidade de mudar de forma para despistar aqueles que o perseguiam a fim

de capturá-lo, uma vez que podia prever o futuro àqueles que conseguissem tal proeza (ARMBRUSTER; MOBLEY, 2012). Tal capacidade de mudança de forma bacteriana se refere à capacidade de diferenciação de uma forma vegetativa, curta, chamada “*swimmer cell*” para uma forma alongada e altamente flagelada chamada “*swarmer cell*”, característica desse organismo (SELLATURAY et al., 2012). Hauser descreveu três espécies no gênero *Proteus*: *Proteus vulgaris*, que liquefazia gelatina e formava zooglo no meio, *P. mirabilis*, que também tinha essas características, porém era menos ativo, e *Proteus zenkeri*, que não liquefazia gelatina e era relativamente inativo (WENNER; RETTGER, 1919), mas que foi rescindido pelo próprio autor 7 anos depois (O'HARA; BRENNER; MILLER, 2000). A principal forma de diferenciação era, aparentemente, a ação em gelatina (WENNER; RETTGER, 1919) porém, simples observações como a liquefação de gelatina e fermentação de glicose e sacarose, e não de maltose, não são suficientes para delinear o gênero. Produção de urease e pequena produção de gás por fermentação são dois critérios fisiológicos do gênero para todas as espécies (RUSTIGIAN; STUART, 1945).

Atualmente, o gênero *Proteus* é composto por quatro espécies: *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *P. penneri* e *P. myxofaciens* (MANOS; BELAS, 2006), não sendo relacionada, a última, com infecções em humanos (O'HARA; BRENNER; MILLER, 2000). Clinicamente, a espécie mais importante do gênero é *P. mirabilis*, responsável por cerca de 90% de toda infecção causada por *Proteus* spp. (DRZEWIECKA, 2016).

*P. myxofaciens* foi descrito por Cosenza e Podgwaite (1966), quando isolaram uma nova espécie de *Proteus* produtora de lodo (slime-producing) isolada de larvas vivas e mortas de mariposa-cigana e que apresentava características comuns a vários membros do gênero *Proteus*, como a motilidade, forma de bastonete Gram-negativo, fermentação de glicose, mas não lactose, oxidase-negativa, hidrólise de ureia, desaminação de fenilalanina e produção de H<sub>2</sub>S. Além da produção de lodo, algumas séries bioquímicas diferenciavam de outros membros do gênero, o que justificou a proposta de uma nova espécie (COSENZA; PODGWAITE, 1966).

*P. penneri* era considerado integrante da espécie *P. vulgaris*, chamado de *P. vulgaris* biogrupo 1, até que Hickman et. al. (1982) propuseram, formalmente, a

criação de uma nova espécie, pela baixa correlação de hibridização do DNA e pelas diferenças fenotípicas sendo, a nova espécie, caracterizada pelos testes bioquímicos indol<sup>-</sup>, salicina<sup>-</sup> e esculina<sup>-</sup>, além das características gerais do gênero como hidrólise de ureia, fenilalanina desaminase, hidrólise de gelatina, produção de H<sub>2</sub>S, swarming em ágar sangue, teste negativo para fermentação de D-manose, e resistência a colistina, continuando o *P. vulgaris* biogrupo 2 como indol<sup>+</sup>, salicina<sup>+</sup> e esculina<sup>+</sup>, e biogrupo 3 como indol<sup>+</sup>, salicina<sup>-</sup> e esculina<sup>-</sup>. Os testes salicina<sup>-</sup>, esculina<sup>-</sup>, ornitina descarboxilase negativa, e maltose<sup>+</sup> a diferenciariam de *P. vulgaris* e *P. mirabilis*. O nome foi dado em homenagem a John L. Penner, microbiologista canadense que contribuiu para o estudo de três gêneros da tribo *Proteeae* (HICKMAN et al., 1982).

Apesar de serem comuns em infecções de trato urinário, os membros do gênero *Proteus* podem ser amplamente encontrados em outras diferentes situações. *P. mirabilis* pode ser encontrado em bacteremia (CHEN et al., 2012; WATANAKUNAKORN; PERNI, 1994), meningite e meningoencefalite neonatal (GRAHNQUIST; LUNDBERG ; TULLUS, 1992; PHAN; LEHMAN, 2012), empiema (PÉREZ; SUÁREZ; GILART, 2008; PINE; HOLLMAN, 1983), osteomielite (CARVALHO, 2013; MARX et al., 1988), pneumonia (LYSY et al., 1985; WU et al., 2006). *P. penneri* foi implicado em bacteremia com concomitante infecção subcutânea em casos de neutropenia com leucemia linfocítica aguda (ENGLER; TROY; BOTTONE, 1990), urosepsia nosocomial em paciente diabético (LATUSZYNSKI et al., 1998), ferida abdominal após ressecção intestinal (KRAJDEN et al., 1987), e meningite (LIASSINE et al., 2002). *P. vulgaris* foi encontrado em empiema (ISENSTEIN; HONIG, 1990), septicemia (COOK, 1946) e bacteremia (LARSSON, 1980)

Os bacilos de *Proteus* são dimórficos. Quando crescem em meio líquido, se apresentam como “*swimming cells*”, com uma morfologia distinta, sendo móveis, com 6 a 10 flagelos peritríquios por célula, com 1.0 a 2.0 µm de comprimento. Quando entram em contato com meio sólido, adquirem forma de “*swarmer cells*”, formando um fenômeno chamado “*swarming*” (ARMITAGE; SMITH; ROWBURY, 1979; KOTELKO, 1986; MOBLEY; BELAS, 1995; WILLIAMS; SCHWARZHOF, 1978). Essas células são multinucleadas, não septadas, de 20 a 80 µm de comprimento, com aumento de 50 a 500 vezes no número de flagelos, que são

compostos da mesma proteína dos flagelos das “*swimmer cells*” (RÓZALSKI; SIDORCZYK; KOTELKO, 1997)

No “*swarming*”, ocorre formação de populações multicelulares estruturadas capazes de comportamentos específicos e de interação entre diferentes partes da colônia, o que forma um “terraço” e, quando esse processo se repete, acaba por gerar o padrão de “*swarming*” característico (RAUPRICH et al., 1996). Conforme as bactérias vão se multiplicando em ágar, a zona inoculada fica preenchida, desenvolvendo uma estrutura onde se formam células multinucleadas, hiperflageladas, que migram para as bordas da colônia (HOENIGE, 1964). Então, as células se movem tangencialmente, se tornam mais ativas, se associam em grupo e sincronizam seus movimentos flagelares até que se formam “*rafts*” de “*swarmer cells*” que migram para fora de todo perímetro da periferia, sendo um fenômeno cooperativo entre cada “*raft*”. Esse movimento continua até começar a desacelerar. Conforme as “*swarmer cells*” completam a primeira fase de migração, uma onda de divisão celular e crescimento se espalha a partir da zona central de inoculação e cobre a superfície colonizada. Quando a onda atinge a borda da colônia, uma segunda fase de “*swarm*” começa, ainda mais organizada que a anterior. O contorno do terraço formado por esse ciclo não é formado pelas “*swarmer cells*” iniciais, mas sim pela fase de multiplicação que segue (SHAPIRO; TRUBATCH, 1991).

No que diz respeito à importância da diferenciação em “*swarmer cell*” no estabelecimento da infecção urinária, existem resultados conflitantes em estudos onde, às vezes, é dito que a forma hiperflagelada é fundamental para a virulência de *P. mirabilis* sendo, a migração de populações dessas células, importante para a ascensão da infecção no trato urinário (ALLISON et al., 1994) e, outras vezes sendo dito que a forma predominante na ascensão da infecção é a forma curta “*swimmer cell*”, sendo atribuídas essas diferenças, provavelmente ao tempo e via de infecção (JANSEN et al., 2003).

## **2.4. Resistência a antimicrobianos**

A resistência a antimicrobianos é um problema no mundo todo. Apenas um microrganismo, *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina, é capaz de matar mais americanos por ano que enfisema, HIV/AIDS, doença de Parkinson, e homicídio juntos (GUIDOS, 2011). Segundo a revisão independente sobre resistência antimicrobiana encomendada pelo Primeiro Ministro britânico, David Cameron, a estimativa é de que, até 2050, a resistência antimicrobiana será responsável por mais de 300 milhões de mortes, causando mais mortes que câncer, cólera, acidentes de trânsito, sarampo e tétano juntos. Isso levaria a uma perda de produto interno bruto de cerca de 100 trilhões de dólares, equivalente a cerca de um ano inteiro de toda produção econômica global (O'NEILL, 2014, 2016).

O problema é tão grande que levou a Organização Mundial da Saúde a publicar o “*Global Action Plan On Antimicrobial Resistance*”, em 2015, um relatório que propõem estratégias coordenadas entre vários setores para combate à resistência antimicrobiana (WHO, 2015). Em 2016, a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) também publicou plano de ação, chamado “*The FAO Action Plan on Antimicrobial Resistance*”, onde considera a resistência à antimicrobianos a principal ameaça à saúde humana e de animais (FAO, 2016). O assunto também foi considerado uma das maiores ameaças globais pelo Fórum Econômico Mundial em 2013, na oitava edição de seu relatório anual “*Global risks: an initiative of the Risk Response Network*” (WEF, 2013).

Uma ampla gama de mecanismos fisiológicos e bioquímicos pode levar à resistência. A resistência associada a fatores genéticos pode ser intrínseca, que é característica de uma bactéria em particular e depende da sua biologia, ou adquirida, que ocorre por: (a) aquisição de genes exógenos por plasmídeo (conjugação/transformação), transposons (conjugação), integrons e bacteriófagos (transdução), (b) mutação de genes da célula, e (c) uma combinação desses fatores. A resistência por mecanismos bioquímicos pode acontecer por: inativação ou modificação do antibiótico como, por exemplo, na hidrólise realizada pelas  $\beta$ -lactamases, uma enzima capaz de hidrolisar praticamente todos os  $\beta$ -lactâmicos com ligação éster ou amida; por modificação do alvo, como a alteração da estrutura de peptidoglicanos, modificando proteínas ligantes de penicilina, o que leva à

redução da afinidade dos  $\beta$ -lactâmico; por bomba de efluxo, que são proteínas de membrana que exportam o antibiótico da célula, ou por inibição extracorpórea do antibiótico, onde a bactéria produz um alvo alternativo, geralmente uma enzima, que é resistente à inibição pelo antibiótico (GIEDRAITIENĖ et al., 2011).

Em estudo realizado em hospitais de Taiwan, isolados de *P. mirabilis* foram coletados bienalmente entre os anos de 2002 e 2012. Nessa década, a susceptibilidade à cefotaxima, ceftazidima e ciprofloxacina caiu significativamente sendo, a baixa taxa de susceptibilidade à cefotaxima, associada à prevalência elevada de produtores de  $\beta$ -lactamase de amplo espectro e de AmpC  $\beta$ -lactamase. Quanto à baixa susceptibilidade da ciprofloxacina, a razão é atribuída ao aumento de consumo de fluoroquinolonas no país (WANG et al., 2014).

Em outro estudo *in vitro* com *P. mirabilis* isolados de urinas de pacientes do Centro de Oncologia Swietokrzyskie, na Polônia, em 2002, de coleção de isolados de pacientes com ITU do Departamento de Microbiologia Clínica do Hospital Karolinska, na Suécia, entre outubro de 1999 e janeiro de 2000, e de coleção de laboratório da Czech National Collection of Type Cultures do Instituto de Epidemiologia e Microbiologia, na República Tcheca, a maioria das cepas apresentou resistência aos antibióticos testados. 60% das cepas polonesas foram resistentes à cefuroxima e quase 50% foram resistentes à carbenicilina, ampicilina, imipenema e aztreonam, não tendo sido, nenhum medicamento sozinho, um agente bactericida efetivo (ADAMUS-BIALEK et al., 2013).

Duarte e colaboradores (2002) relataram que cepas de *P. mirabilis* isoladas de grávidas com diagnóstico clínico de pielonefrite tem percentual de sensibilidade de 100% para Ácido Nalidíxico, 0,0% para Nitrofurantoína, 100% para Ampicilina, 100% para Cefalotina, 100% Ciprofloxacina, 100% para Norfloxacina, 100% para Amicacina, 66,7% para Sulfametoxazol/Trimetoprima, 100% para Cefuroxima, 100% para Ceftazidima, 100% para Cefoxitina, e 66,7% para Gentamicina (DUARTE et al., 2002).

Em estudo realizado por Pires e colaboradores. (2007), *P. mirabilis* uropatogênicos apresentaram-se altamente sensíveis a aminoglicosídeos e quinolonas, com perfil de sensibilidade para Ampicilina de 50%, Amicacina de 96,4%, Cefalotina de 72,5%, Ciprofloxacina de 94,3%, Gentamicina de 91,4,

Norfloxacina de 94,3, Nitrofurantoina de 11,3 e Sulfametoxazol+trimetoprima de 62,4 (PIRES et al., 2007).

## **2.5. Biofilme**

Biofilme foi primeiramente descrito por Antonie van Leeuwenhoek e permanece como objeto de grande interesse para muitos pesquisadores. A teoria geral da predominância geral do biofilme só foi promulgada em 1978 (COSTERTON; GEESEY; CHENG, 1978) e diz que a maioria das bactérias cresce em uma matriz fechada de polissacarídeos aderidos à superfície em todos os ecossistemas aquáticos que tenham nutrientes suficientes, onde as bactérias sésseis diferem profundamente de suas contrapartes planctônicas (DONLAN; COSTERTON, 2002).

O crescimento do biofilme é governado por um número de processos físicos, químicos e biológicos. A ligação da célula ao substrato é chamada de adesão, enquanto a ligação célula-a-célula é chamada de coesão. A camada condicionante é onde o biofilme cresce, e pode ser composta de muitas partículas orgânicas e inorgânicas. Qualquer coisa que possa estar presente no fluido de crescimento pode passar pela força gravitacional ou fluxo de movimento em direção ao substrato e se tornar parte dessa camada, que modifica o substrato facilitando a acessibilidade da bactéria. O substrato provê ancoragem e nutrientes, aumentando o crescimento da comunidade bacteriana (GARRETT; BHAKOO; ZHANG, 2008).

A formação do biofilme acontece, inicialmente, quando uma bactéria planctônica adere a uma superfície na presença de forças de cisalhamento que excedam o número de Reynolds de 5,000 (CHARACKLIS; MARSHALL, 1990). O número de Reynolds descreve a turbulência em um fluxo líquido. Quanto mais alto for esse número, maior a turbulência do fluxo. Quanto mais baixo, a tendência é que prevaleça o fluxo laminar. Engenheiros especulam que a turbulência aumente a adesão bacteriana e a formação de biofilme por aumentar a colisão das células planctônicas com a superfície. Quando o biofilme se forma em ambientes pouco turbulentos, apresentam baixa força de tensão e quebram facilmente, mas quando se formam em ambientes turbulentos, apresentam alta resistência mecânica. Assim, os biofilmes se formam preferencialmente em locais de alto cisalhamento em sistemas naturais e industriais (DONLAN; COSTERTON, 2002).

A ligação inicial é chamada de adesão reversível, e é mediada por atração eletrostática e forças físicas, mas não químicas, e pelos apêndices da bactéria como os flagelos. Fatores como energia disponível, funcionalidade da superfície, orientação bacteriana, temperatura e pressão são variáveis que interferem na adesão. Se as forças de repulsão forem maiores que as de atração, as células se desprenderão (GARRETT; BHAKOO; ZHANG, 2008).

As forças físicas associadas à adesão das bactérias incluem as forças de van der Waals, interações estéricas, e eletrostáticas, coletivamente conhecidas como forças DVLO (Derjaguin, Verwey, Landau and Overbeek). As forças DVLO descrevem uma rede de interações entre uma célula e uma superfície plana em um balanço entre forças atrativas de van der Waals, e repulsivas da sobreposição entre as forças elétricas da membrana celular e o substrato. Algumas dessas células aderidas reversivelmente começam uma preparação formando estruturas que podem se ligar permanentemente à superfície dentro das próximas horas. Essas células originam células filhas, formando microcolônias na superfície e começam a produzir matriz polimérica em um passo irreversível (PARAJE, 2011). Nesse contexto, os apêndices físicos da bactéria como flagelos, fímbrias e pili se sobressaem às forças repulsivas (GARRETT; BHAKOO; ZHANG, 2008).

A matriz polimérica, denominada substância polimérica extracelular (EPS) mantém unidas as bactérias na microcolônia de biofilme e é composta por polissacarídeos, ácidos nucléicos e proteínas (HALL-STOODLEY; STOODLEY, 2002). Conforme as células estacionárias se dividem, vão se espalhando para fora e para cima para formar aglomerados a partir do ponto de fixação, dando forma de cogumelos à estrutura e o biofilme maduro permite que os canais formados se preencham de água que carregam nutrientes, os quais são aprisionados e concentrados pelo EPS, que atua como um sistema de troca iônica. Essa matriz pode compor cerca de 75-95% do biofilme, enquanto as células bacterianas ocupam 5-25% (GARRETT; BHAKOO; ZHANG, 2008; PARAJE, 2011).

A comunidade séssil pode originar bactérias planctônicas individuais flutuantes que podem rapidamente se multiplicar e se dispersar. Essas bactérias se expõem a agentes deletérios no ambiente, inclusive agentes antimicrobianos de uso clínico, contribuindo para o alto número de infecções crônicas envolvendo biofilmes

bacterianos, os quais são de difícil tratamento por terapia convencional com antibióticos (COSTERTON; STEWART; GREENBERG, 1999).

Em um biofilme, há um processo de comunicação célula-a-célula chamado de “quorum sensing” mediado por pequenas moléculas produzidas pelas próprias bactérias que, em uma população com suficiente densidade, esses sinais atingem concentrações necessárias para ativação de genes (DAVIES et al., 1998). Essas moléculas regulam (*up* ou *down regulation*) a expressão de cerca de 40-60% do genoma procariontes. Essa sinalização permite o monitoramento do ambiente pelas bactérias e uma modificação na expressão gênica, adquirindo vantagens competitivas (LAZAR, 2011).

O biofilme protege o crescimento bacteriano e permite que as bactérias sobrevivam em um ambiente hostil. As células em diferentes regiões do biofilme exibem diferentes padrões de expressão gênica. Recentemente, o número de infecções associadas a bactérias resistentes a antibióticos aumentou, onde muitas dessas são causadas por microrganismos que crescem em biofilmes (MARKOWSKA; GRUDNIAK; WOLSKA, 2013). Um mecanismo de resistência dos biofilmes aos agentes antimicrobianos é a dificuldade criada pelas substâncias poliméricas que constituem a matriz para a penetração do antibiótico, retardando sua difusão (COSTERTON; STEWART; GREENBERG, 1999). Uma segunda explicação seria que, ao menos parte das células em um biofilme existe em um estado de baixo crescimento. Células com baixo ou nenhum crescimento não são muito susceptíveis a vários agentes antimicrobianos (BROWN; ALLISON; GILBERT, 1988; COSTERTON; STEWART; GREENBERG, 1999).

Tanto bactérias Gram-positivas como Gram-negativas podem formar biofilmes em dispositivos médicos de demora como cateteres, válvulas cardíacas mecânicas e articulações protéticas (MARKOWSKA; GRUDNIAK; WOLSKA, 2013). As bactérias formadoras de biofilme mais comumente associadas a doenças humanas são *E. faecalis*, *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus viridans*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis* e *P.aeruginosa*. Esses organismos podem ser originários da pele de pacientes ou dos profissionais da saúde, água de torneira, ou outras fontes do meio. Biofilmes podem ser compostos por um ou múltiplas espécies de bactérias. O biofilme em cateter urinário pode, inicialmente,

ser composto de uma única espécie, mas exposições mais prolongadas, inevitavelmente, levam a um biofilme de múltipla espécie (DONLAN, 2001).

### **2.5.1. Biofilme cristalino**

Uma característica da ITU-CA causada por *P. mirabilis* é a incrustação e o bloqueio da luz dos cateteres urinários. Os cristais de estruvita e apatita formados pela ação da enzima urease ficam presos no biofilme em formação. A própria matriz do biofilme atrai os íons de cálcio e magnésio, o que acelera e estabiliza o crescimento dos cristais. Assim, o processo resulta na mineralização do biofilme, o que protege as células bacterianas e as tornam difíceis de erradicar (HOLLING et al., 2014; NORSWORTHY; PEARSON, 2017).

Estudos *in vitro* mostram que essa espécie é capaz de basificar o pH urinário em valores mais elevados quando comparados com outras bactérias produtoras de urease, além de bloquear o fluxo de urina em menos de 24 horas (BROOMFIELD et al., 2009; JONES et al., 2006; MILO et al., 2016).

O entupimento da luz do cateter causa o bloqueio do fluxo urinário. Conseqüentemente, a urina fica retida, resultando em distensão da bexiga, o que causa dor e desconforto ao paciente. Além disso, pode ocorrer refluxo da urina para os rins, causando formação de cálculos vesicais e renais e complicações sérias como pielonefrite, septicemia, choque e até a morte do paciente (HOLLING et al., 2014; NORSWORTHY; PEARSON, 2017; STICKLER, 2014).

## **2.6. Nanotecnologia, Nanociência e Nanopartículas**

O prefixo “nano” deriva do grego “*nanos*”, que significa anão, e nanômetro, enquanto unidade de medida do sistema métrico, corresponde à bilionésima parte de um metro, ou  $10^{-9}$  metros (BUZEA; PACHECO; ROBBIE, 2007). Apesar do termo “nanotecnologia” ter sido empregado apenas em 1974 por Norio Taniguchi, o conceito teórico de manipulação de matéria em escala nanométrica foi primeiramente apresentado em 1959 pelo físico Richard Feynman, durante sua palestra “*There's Plenty of Room at the Bottom: An Invitation to Enter a New Field of Physics*”, onde Feynman contempla a possibilidade de, por exemplo, criar objetos em tamanho tão pequeno quanto as moléculas produzidas pelas células, ou de transcrever os 24 volumes da Enciclopédia Britânica na cabeça de um alfinete, tudo

através da capacidade de rearranjar propositalmente os átomos (FEYNMAN, 1960; ROYAL SOCIETY AND ROYAL ACADEMY OF ENGINEERING, 2004; TAN et al., 2016).

A descoberta de novos materiais, processos e fenômenos em nanoescala permitiu o desenvolvimento de nanosistemas e nanomateriais inovadores (BHUSHAN, 2016). Desde o discurso de Feynman até os dias atuais, a nanotecnologia tem evoluído, sendo estudada e aplicada em diversas áreas como, por exemplo, indústria alimentícia (SINGH; JAIRATH; AHLAWAT, 2016), ambiental (SHARMA et al., 2009), eletroeletrônica (CHAN et al., 2008; JOHLIN et al., 2016), agroindustrial (MUKHOPADHYAY, 2014), farmacêutica (DEBBAGE, 2009; WEISSIG; PETTINGER; MURDOCK, 2014), cosmética (RAJ et al., 2012) e biomédica (RAMOS et al., 2017).

As definições de termos relacionados à nanotecnologia não são consoantes na literatura. É chamada nanotecnologia qualquer tecnologia feita em nanoescala e que tenha aplicação no mundo real (BHUSHAN, 2016). A Iniciativa Nacional de Nanotecnologia (NNI) do Governo Federal Norte-americano, responsável por coordenar a pesquisa e o desenvolvimento de ciência, engenharia e tecnologia em nanoescala, define nanotecnologia como a compreensão e o controle da matéria em dimensões entre, aproximadamente, 1-100 nm, onde fenômenos únicos nessa escala de tamanho permitem novas aplicações (NATIONAL SCIENCE AND TECHNOLOGY COUNCIL, 2014). Já a Real Sociedade e a Academia Real de Engenharia de Londres ampliam o limite para dimensões entre 0,2-100 nm, sendo, a nanociência, responsável por estudar as tais novas propriedades adquiridas pelos materiais (ROYAL SOCIETY AND ROYAL ACADEMY OF ENGINEERING, 2004).

Os nanomateriais são os materiais produzidos em nanoescala de tamanho (BHUSHAN, 2016). São definidos como materiais com qualquer dimensão externa, ou com estrutura interna ou de superfície em nanoescala (ISO, 2012, 2017). Materiais que apresentam uma dimensão em nanoescala são as camadas, tais quais os filmes ou o revestimento de superfícies. Materiais com duas dimensões em nanoescala incluem nanofios e nanotubos. Já os materiais que estão em nanoescala nas três dimensões incluem as nanopartículas (ROYAL SOCIETY AND ROYAL ACADEMY OF ENGINEERING, 2004).

Muitos trabalhos trazem a definição de nanopartículas como sendo partículas com dimensões entre 1-100 nm (CHALOUPKA; MALAM; SEIFALIAN, 2010; DREADEN et al., 2012; GATOO et al., 2014; PASUPULETI et al., 2013), o que é condizente com a recomendação da IUPAC, que define nanopartículas como sendo partículas de qualquer forma com dimensões entre  $1 \times 10^{-9}$  e  $1 \times 10^{-7}$  (VERT et al., 2012). Nanopartículas são, ainda, encontradas sob a definição de partículas com pelo menos uma dimensão abaixo de 100 nm (PRASAD; ELUMALAI, 2011; VERMA et al., 2010), diferente da definição apresentada pela Organização Internacional de Normalização (ISO) de que nanopartículas são nano-objetos com todas as três dimensões externas em nanoescala, a qual, por sua vez, é definida como escala de tamanho variando, aproximadamente, de 1 a 100 nm (ISO, 2012, 2017; POTOČNIK, 2011).

Outras definições de nanopartículas encontradas na literatura incluem limites entre 10-100 nm (RAMALINGAM et al., 2018), 1-300 nm (MCNEIL, 2011) e 10-500 nm, raramente excedendo 700 nm (MODY et al., 2010). Entretanto, alguns autores adotam outra nomenclatura para partículas entre 100-999 nm, que passam a ser chamadas de partículas submícrons, e não mais nanopartículas (FAUST et al., 2016; JOHNSON et al., 2018; VASUDEV; MATHEW; AFONINA, 2015).

Outros autores, ainda, diferenciam nanopartículas de partículas ultrafinas (UFPs). Por não haver uma definição formal de UFP (BALDAUF et al., 2016), os parâmetros comparativos também variam na literatura. Alguns trabalhos se referem à ambas como partículas menores que 100 nm, com a diferença que as UFP seriam partículas incidentalmente geradas no ambiente, geralmente como produtos de combustão de combustíveis fósseis, condensação de substâncias semi-voláteis ou emissão industrial, enquanto as nanopartículas seriam produzidas através de processos controlados para proveito de suas qualidades em relação à materiais mais volumosos (materiais “*bulk*”) (LI et al., 2016; STONE et al., 2017). Porém, também pode-se encontrar definições dessas partículas como sendo, as nanopartículas, menores que 10 nm, que podem dar origem às UFPs, de tamanho entre 10-100 nm (WATSON et al., 2006). Quando se trata de partículas semi- ou não-voláteis, é proposto que nanopartículas sejam definidas como partículas menores que 30 nm, enquanto UFPs sejam partículas abaixo de 500 nm (BALDAUF et al., 2016).

Como visto, há certo consenso no limite superior de 100 nm para um material ser considerado uma nanopartícula (POTOČNIK, 2011). Tal delimitação é justificada pelo fato de que as propriedades das nanopartículas deixam de ser únicas e passam a se assemelhar às dos materiais “*bulk*” quando ultrapassam esse tamanho. Exemplo disso é que algumas considerações matemáticas para as propriedades ópticas se aplicam à partículas nessa faixa de tamanho (MAIER, 2007). Além disso, o método de síntese “*bottom-up*” faz uso de métodos como a dinâmica molecular que, geralmente, considera menos que um milhão de átomos para manter o tempo de cálculo dentro de valores razoáveis. Isso limita o tamanho da nanoestrutura até valores em torno de 100 nm (GUISBIERS, 2010).

Entretanto, ainda que as propriedades físicas, químicas e biológicas possam mudar com o tamanho, não há justificativa científica para se delimitar um tamanho único associado à essas mudanças que possa ser aplicado de forma universal a todos os nanomateriais. O comportamento toxicocinético e a interação partícula-célula não são rigidamente relacionados a um limiar de tamanho, sendo dose-dependentes, por exemplo, e podem continuar ocorrendo mesmo quando as partículas que compõem o nanomaterial apresentarem tamanho acima de 100 nm. Além do tamanho, outras propriedades como composição química, morfologia, propriedades de superfície, cristalinidade, solubilidade, dentre outros, precisam ser considerados. Uma definição mais apropriada estenderia esse limite superior de tamanho para 1 µm, sendo a faixa submicron classificada como nano (BUZEA; PACHECO; ROBBIE, 2007; EFSA, 2018; VERT et al., 2012).

Atualmente, a nanotecnologia permite a síntese de nanopartículas de diferentes tamanho e formas geométricas, como cubos (XIAO et al., 2018), bipirâmides (ZHANG et al., 2016), triângulos (JEBALI et al., 2014; JIA et al., 2006), bastões (MIRANDA-ANDRADES et al., 2017; YAO et al., 2015) e esferas (SCANDORIEIRO et al., 2016). Tais características também conferem propriedades aos nanomateriais que, outrora, em sua contraparte “*bulk*”, não existiam (EUSTIS; EL-SAYED, 2006).

### 2.6.1. Diferença entre nanopartículas e materiais “bulk”

Apesar da falta de padronização na definição, é consenso que nanopartículas são partículas em escala nanométricas que, de fato, adquirem propriedades diferentes às do material “*bulk*” (GATOO et al., 2014). Essas propriedades se devem ao fato de que os nanomateriais possuem maior razão de superfície de área sobre o volume, e pelo aparecimento de efeitos quânticos em nanoescala (GUISBIERS, 2010).

A matéria em nanoescala não obedece às leis da física Newtoniana, mas sim à mecânica quântica, afetando as propriedades ópticas, elétricas e magnéticas. Os nanomateriais possuem uma área de superfície relativamente maior quando comparados aos materiais “*bulk*”. Quanto menor o tamanho da partícula, maior a proporção de átomos de superfície, o que leva ao aumento da reatividade devido ao maior número de sítios ativos. A auto-montagem é um processo que se baseia na organização de componentes, produzindo um padrão ou estrutura ordenada. Isso reflete na forma, carga, polarização, determinando as interações atrativas ou repulsivas (KUMAR; KUMBHAT, 2016).

### 2.6.2. Síntese de nanopartículas

Vários métodos são utilizados para síntese de nanopartículas e podem ser classificados em duas categorias: “*Top-down*” e “*Bottom-up*”. Métodos “*Top-down*” se referem aos métodos que quebram o materiais “*bulk*” até que atinjam o tamanho de nanoescala, fazendo uso da termodinâmica clássica, enquanto o “*Bottom-up*” sintetiza as nanopartículas começando a partir de átomos ou moléculas, utilizando métodos computacionais como a dinâmica molecular. Geralmente, a dinâmica molecular considera menos que um milhão de átomos para manter o tempo de cálculo em valores aceitáveis. Esse fator limita o tamanho da nanopartícula em torno de 100 nm (GUISBIERS, 2010; PACIONI et al., 2015). A Figura 1 mostra as duas abordagens de produção de nanopartículas e seus diferentes componentes. Os métodos que compõem essas categorias podem ser químicos, físicos, ou biológicos.

Vários métodos químicos são usados na produção de nanopartículas, tais como redução química, técnicas eletroquímicas, métodos químicos assistidos por irradiação, pirolise, dentre outros (KHAN et al., 2018). No entanto, muitos métodos

químicos de produção são potencialmente perigosos para o meio ambiente e os organismos vivos por usarem reagentes químicos no processo de síntese, o que torna o nanomaterial inapropriado para aplicação no campo médico (DHAS et al., 2014).

Comparado aos métodos químicos, os métodos físicos são mais vantajosos por conta da ausência de contaminação com solventes e pela possibilidade de preparar filmes de nanopartículas finos e uniformemente distribuídos. Porém, a síntese física consome grande quantidade de energia e leva muito tempo para atingir estabilidade térmica (IRAVANI et al., 2014).

Alternativas aos agentes redutores e estabilizantes agressivos ao meio ambiente, chamadas de “síntese verde”, são propostas e incluem síntese biogênica utilizando extratos de plantas, bactérias e fungos (VIMBELA et al., 2017). Os microrganismos são importantes para a detoxificação de metais, onde a via biológica pode ser explorada para a biossíntese de nano partículas (POULOSE et al., 2014). Microrganismos produzem materiais inorgânicos tanto intra como extracelularmente, geralmente em dimensões de nano escala. Além do efluxo de íons da célula por proteínas de membrana que funcionam tanto como ATPase ou como anti-transportadores quimiosmóticos de cátions ou prótons, a detoxificação química também permite que o microrganismo seja resistente à maioria dos metais pesados. Assim, o sistema microbiano pode detoxificar os íons metálicos por redução e/ou precipitação de íons inorgânicos solúveis tóxicos a nanoaglomerados metálicos insolúveis atóxicos. Isso pode ocorrer tanto por biomineralização, biossorção, complexação, ou precipitação extracelular, ou por bioacumulação intracelular (NARAYANAN; SAKTHIVEL, 2010; SIDDIQI; HUSEN; RAO, 2018). Porém, a principal limitação da biossíntese é a baixa reprodutibilidade, sendo necessária caracterização das nanopartículas antes da avaliação antimicrobiana (DURÁN; NAKAZATO; SEABRA, 2016).

Vale ressaltar que as nanopartículas possuem tendência a formar agregados. Para evitar a aglomeração, estabilizadores orgânicos e inorgânicos são usados (KĘDZIORA et al., 2018). Na biossíntese de nanopartículas por microrganismos, os agentes químicos redutores e estabilizantes dão lugar a biomoléculas, como

proteínas e carboidratos, produzidas pelos próprios microrganismos (KHAN et al., 2018).

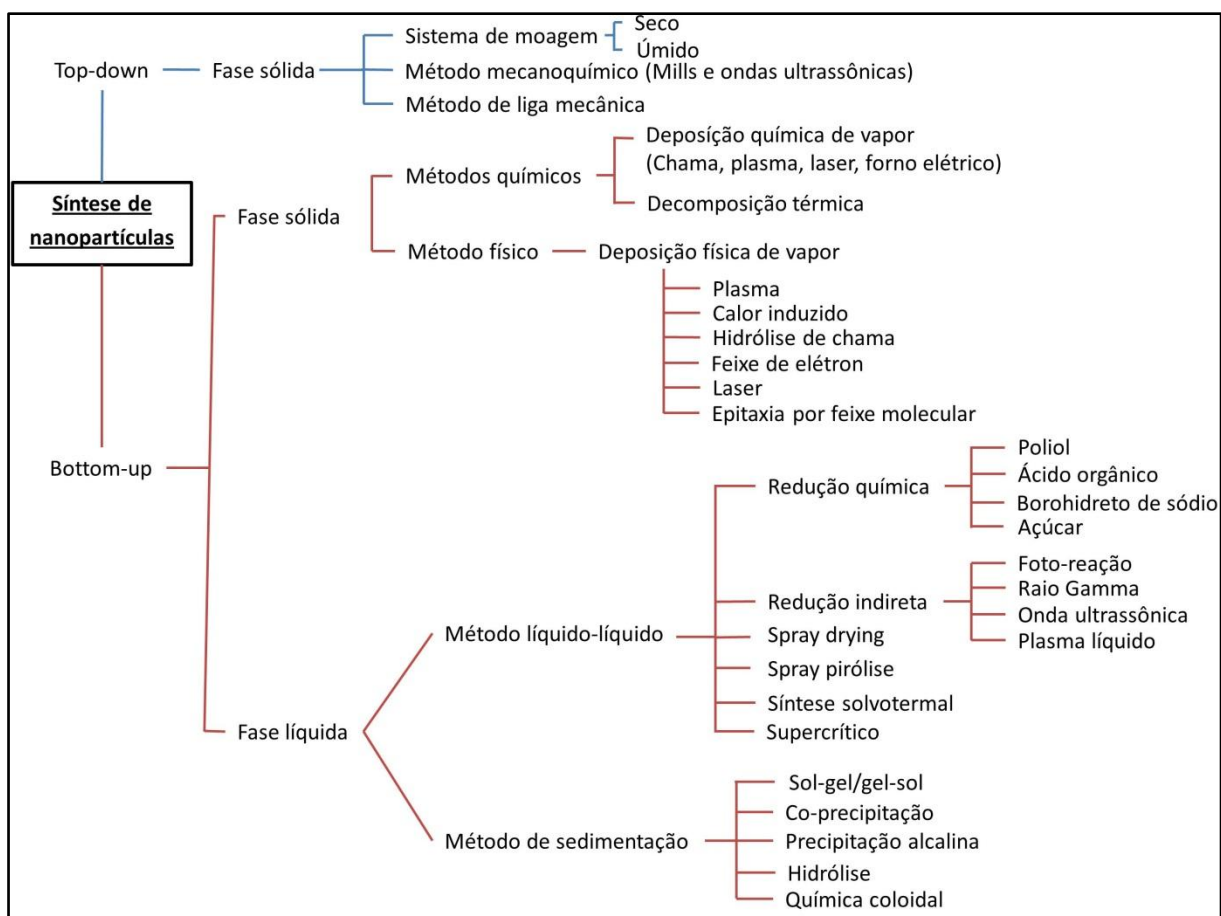


Figura 1- Métodos de síntese de nanopartículas pelas abordagens “Top-down” e “Bottom-up”. Adaptado de HORIKOSHI; SERPONE, 2013.

### 2.6.3. Nanopartículas de prata

Prata tem sido usada há muito tempo por conta da sua atividade antimicrobiana. Os Fenícios já utilizavam recipientes de prata para preservar alimentos. Em 1881, um médico chamado Crede usava compostos de prata para prevenir a transmissão de gonorreia da mãe para os filhos (ARVIZO et al., 2012.).

O primeiro relato sobre AgNPs foi feito por Lea (1889) (NOWACK; KRUG; HEIGHT, 2011), mas acredita-se que seja usado desde o antigo Egito (REIDY et al., 2013). Produtos comerciais contendo AgNPs são usados em diversas aplicações como pigmentos, filtro de água (NOWACK et al., 2011), indústria alimentícia (CUSHEN et al., 2012), desodorantes e outros cosméticos (REIDY et al., 2013).

Além disso, AgNPs tem sido estudadas com diversos fins na área da saúde, incluindo tratamento de câncer de mama (RODRÍGUEZ-RAZÓN et al., 2018), dispositivos ortopédicos (CASTIGLIONI et al., 2017) e biomateriais dentários (CORRÊA et al., 2015). Entretanto, dentre os diversos tipos de nanopartículas de metais, as de prata têm sido mais estudadas por conta de sua forte atividade antimicrobiana e relativa baixa toxicidade aos humanos (LEE et al., 2008).

### 2.6.3.1. Biosíntese de AgNPs por *Fusarium oxysporum*

A biossíntese de AgNPs é um dos métodos de síntese “*bottom up*” eco-amigável mais populares (KĘDZIORA et al., 2018). *F. oxysporum* é, na verdade, um complexo de espécies fúngicas fitopatogênicas e toxigênicas com mais de 150 hospedeiros específicos, causando várias doenças em quase todas as espécies de plantas de importância comercial (DONG et al., 2017; NIRMALADEVI et al., 2016).

A capacidade de síntese de AgNPs por *F. oxysporum* é extensamente relatada na literatura (AHMAD et al., 2003; ALMEIDA; DE OLIVEIRA; DURÁN et al., 2005; HOTZA, 2017; ANIL KUMAR et al., 2007; BIRLA et al., 2013; GHOLAMI-SHABANI et al., 2014; ISHIDA et al., 2014; KORBKANDI et al., 2013). Apesar disso, o mecanismo para a redução de  $\text{Ag}^+$  em  $\text{Ag}^0$  por microrganismos ainda é pouco conhecido (ALMEIDA; DE OLIVEIRA; HOTZA, 2017).

De maneira geral, microrganismos são utilizados na remediação de metais tóxicos, que acontece pela redução dos íons metálicos (AHMAD et al., 2003). A síntese de nanopartículas por microrganismos pode acontecer tanto intra como extracelularmente (ANIL KUMAR et al., 2007). No caso de *F. oxysporum*, a redução de  $\text{Ag}^+$  ocorre extracelularmente. É proposto que esse fungo secreta uma enzima extracelular que reduz os íons à nanopartículas de prata metálica (ALMEIDA; DE OLIVEIRA; HOTZA, 2017). Para demonstrar que a redução de  $\text{Ag}^+$  acontece extracelularmente, Ahmad e colaboradores (2003) imergiram a biomassa de *F. oxysporum* em água por 72 horas e filtraram os componentes aquosos. À solução, foi adicionado  $\text{AgNO}_3$  e observaram que a solução, outrora incolor, adquiria coloração marrom em 24 horas, indicando redução dos íons. No mesmo estudo, uma enzima redutase dependente de NADH foi identificada, sendo proposto que fosse a responsável pela ação redutora. Ainda, verificaram que proteínas secretadas

pelo fungo poderiam agir como agentes estabilizantes para as AgNPs (AHMAD et al., 2003).

DURÁN e colaboradores (2005) identificaram que a redução do íon  $\text{Ag}^+$  e formação de AgNPs ocorre por conta da atividade da redutase em associação com quinona, um transportador de elétrons, ambos produzidos pelo próprio fungo (Figura 2). Além disso, as AgNPs também eram estabilizadas por proteínas produzidas pelo fungo (DURÁN et al., 2005).

Anil Kumar e colaboradores (2007) isolaram e purificaram a nitrato redutase produzida por *F. oxysporum* e a testaram na presença e ausência de NADPH, mostrando que a formação de AgNPs acontecia somente na presença da coenzima. Além do mais, constataram que a formação de AgNPs também não acontecia quando hidroxiquinolina era removida da reação, mostrando que esse agente transportador de elétrons é necessário para a oxiredução do NADPH (ANIL KUMAR et al., 2007).

No estudo de Yin e colaboradores (2016), o NADPH também mostrou ser importante para a oxidação do  $\text{O}_2$ , com consequente formação de superóxido extracelular. A inativação do superóxido levou à diminuição na formação de AgNPs por *F. oxysporum*, mostrando ter papel na redução de  $\text{Ag}^+$ . Os autores não descartam a hipótese dos outros trabalhos, que mostram que a nitrato redutase é a responsável pela redução de  $\text{Ag}^+$ . Para eles, o papel da nitrato redutase também seria reduzir  $\text{O}_2$  a superóxido, o que corroboraria o papel do superóxido como redutor (YIN et al., 2016).

### **2.6.3.2. Mecanismos de ação antibacteriana**

Dentre os diversos tipos de nanopartículas metálicas, as AgNPs tem sido mais estudadas por conta de sua atividade antimicrobiana de amplo espectro e por sua baixa toxicidade aos humanos (LEE et al., 2008; LOK et al., 2006; RAI et al., 2012). Apesar da atividade antibacteriana das AgNPs ser bastante relatada na literatura, o mecanismo de ação pelo qual exerce tal atividade ainda não é completamente esclarecido (DAKAL et al., 2016; FRANCI et al., 2015).

É sabido que íons de prata ( $\text{Ag}^+$ ) possuem atividade antibacteriana e que são liberados pelas AgNPs na presença de oxigênio (DURÁN et al., 2016; LANSDOWN, 2006; POTERA, 2012). Evidências mostram que a liberação de íons

são o mecanismo antibacteriano mais importante das AgNPs. Entretanto, estudos demonstram que tanto as propriedades das nanopartículas quanto os íons liberados estão relacionados ao modo de ação.

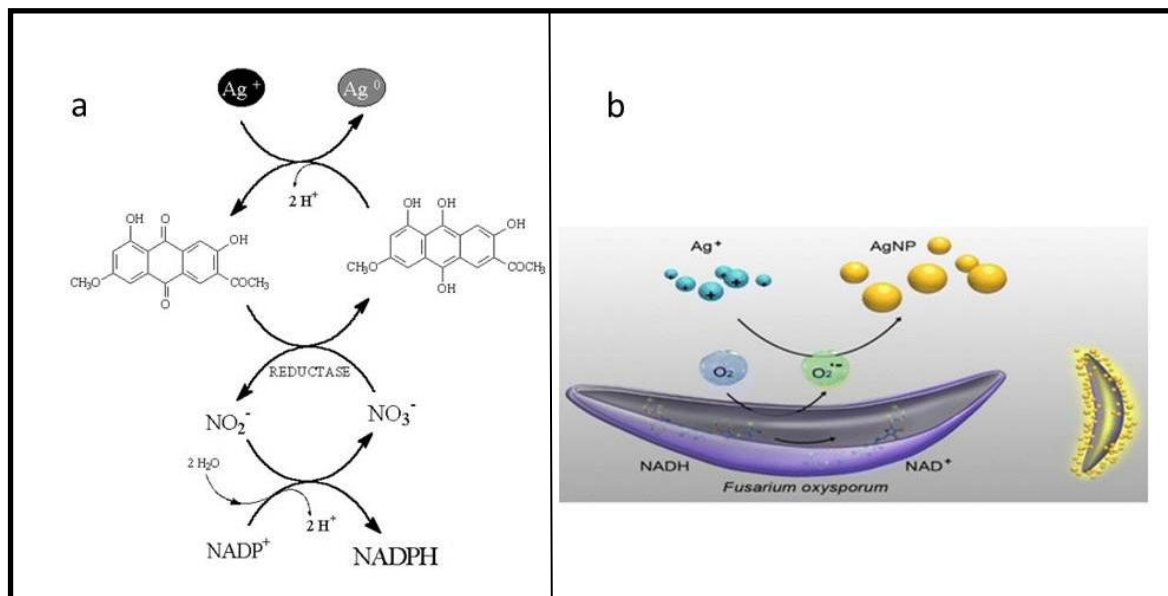


Figura 2- Mecanismos propostos de síntese de AgNPs por *F. oxysporum*. (a) Redução de  $Ag^+$  por ação da enzima redutase associada a quinona. Fonte: DURÁN et al., 2005. (b) redução de  $Ag^+$  pelo radical superóxido. Fonte: YIN et al., 2016.

Íons  $Ag^+$  são potentes antibacterianos, porém são facilmente sequestrados por cloretos, fosfatos, proteínas (albumina, por exemplo) e outros componentes celulares, causando significativa redução da atividade. As AgNPs são menos susceptíveis a essas interceptações e podem ser imobilizadas, impregnadas, usadas como revestimento, e fazer parte da composição de compósitos (KĘDZIORA et al., 2018; POTERA, 2012; VIMBELA et al., 2017).

#### - Ação na parede bacteriana

Para exercer efeito antibacteriano, as AgNPs precisam interagir com a bactéria (WANG; HU; SHAO, 2017). O primeiro estágio de interação é a ancoragem à parede bacteriana, possivelmente em locais ricos em grupos funcionais negativamente carregados, causando danos à parede por formação de perfurações. Esse efeito pode ser observado tanto em bactérias Gram-negativas como em Gram-positivas (MIRZAJANI et al., 2011; SHRIVASTAVA et al., 2007)

Em bactérias Gram-negativas, as AgNPs se ligam aos lipopolissacarídeos (PRABHU; POULOSE, 2012; SHRIVASTAVA et al., 2007; SONDI; SALOPEK-

SONDI, 2004). No caso das Gram-positivas, as AgNPs interagem com a grossa camada de peptidoglicano. Depois, se acumulam e começam a se conectar com as camadas mais profundas, rompem a ligação glicosídica  $\beta$  1,4 entre o ácido-N-acetilmurâmico e N-acetilglicosamina causando ruptura da peptidoglicana e liberação de aminoaçúcares e ácido murâmico (MIRZAJANI et al., 2011).

#### - Membrana celular

Após interação com a parede celular, as AgNP interagem com a membrana celular. Sondi e Salopek-Sondi (2004) mostraram que AgNPs se acumulam na membrana celular de *E. coli*, levando ao aumento da permeabilidade e afetando a regulação de transporte através da membrana plasmática (SONDI; SALOPEK-SONDI, 2004). Morones e colaboradores (2005) sugerem que AgNPs afetam a cadeia respiratória e a divisão celular por que a prata reage com proteínas sulfuradas na membrana da bactéria (MORONES et al., 2005)

Lok e colaboradores (2006), encontraram que o tratamento com AgNP desestabiliza as membranas externa e citoplasmática, com perda do potencial de membrana, necessário para a translocação e conversão à formas maduras de precursores de proteínas do envelope celular. A curta exposição à concentrações antibacterianas de AgNPs resultaram em acúmulo de precursores de proteínas do envelope no citoplasma (LOK et al., 2006).

A exposição de *S. aureus* à AgNPs por duas horas levou à redução na expressão da proteína ligante de ATP do transportador ABC. O transportador ABC é uma proteína integral de membrana necessária para captação de nutrientes essenciais. Dessa forma, AgNPs reduzem a capacidade de captação de nutrientes (LI et al., 2011).

#### - Efeitos no DNA

As AgNPs danificam a parede e a membrana celular e são encontradas no interior das bactérias (SONDI; SALOPEK-SONDI, 2004; SHRIVASTAVA et al., 2007). Uma vez dentro, elas interagem com proteínas sulfuradas e compostos fosfatados, como o DNA (LOK et al., 2006; MORONES et al., 2005; MUHSIN; HACHIM, 2014; SONDI; SALOPEK-SONDI, 2004).

Em estudo com *S. aureus*, Li et al. (2011) mostraram que o DNA se condensava após exposição às AgNPs. Observaram, também, uma redução da

proteína Recombinase A, uma enzima essencial no reparo do DNA plasmidial e cromossomal em bactérias (LI et al., 2011).

Além disso, a integridade do DNA bacteriano também é prejudicada. Eletroforese de DNA de *B. subtilis* após tratamento com AgNPs mostrou significativa degradação do DNA cromossomal (HSUEH et al., 2015). Resultado parecido foi obtido com plasmídeo isolado de *E. coli* DH5 $\alpha$  (CHOWDHURY; BASU; KUNDU, 2014).

#### - Espécies reativas de oxigênio (EROs)

O estresse oxidativo induzido por EROs é um importante mecanismo de nanopartículas. EROs é um termo genérico para moléculas e intermediários reativos que possuem forte potencial redox. Os tipos de EROs são o radical superóxido ( $O_2^-$ ), o radical hidroxila ( $\cdot OH$ ), o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), e o oxigênio singlete ( $O_2$ ) (WANG; HU; SHAO, 2017).

EROs ocorrem naturalmente em células aeróbias, mas estas mantêm uma forte defesa contra o estresse oxidativo. Entretanto, a ocorrência de oxigênio ativo pode superar a capacidade da defesa em certas ocasiões (BANERJEE et al., 2010). Células sujeitas ao estresse oxidativo sofrem vários danos na membrana lipídica, em proteínas, no DNA, e na cadeia respiratória, podendo resultar na morte do microrganismo (QUINTEROS et al., 2016).

As AgNPs podem formar EROs com água. Em estudo realizado por Zhang e colaboradores (2013), suspensão aquosa de AgNPs sob irradiação UV gerou radicais superóxido e hidroxila, diferente de nanopartículas de ouro, níquel e silício, que geraram apenas oxigênio singlete (ZHANG et al., 2013).

A formação de EROs pode causar inibição da enzima lactato desidrogenase, enzima da cadeia respiratória responsável por oxidar o lactato em piruvato (SOO-HWAN et al., 2011). Su e colaboradores (2009) encontraram que EROs são gerados intracelularmente quando *E. coli* são tratadas com AgNPs e são responsáveis pela perda de integridade da membrana. A produção de EROs pode ser causada pelo impedimento do transporte de elétrons pela cadeia respiratória (SU et al., 2009). Já no trabalho de Choi e colaboradores (2008), EROs gerados intracelularmente em bactérias nitrificantes não geraram danos em membrana, sugerindo que a toxicidade de AgNPs está relacionada com processo de morte intracelular mediado por EROs, como dano ao DNA e indução de apoptose (CHOI; HU, 2008).

Outro mecanismo relacionado com a cadeia respiratória é o aumento ou a redução na expressão de proteínas. Tem sido mostrado que a expressão de piruvato formato liase é aumentada em *S. aureus* após exposição à AgNPs, implicando uma condição aeróbica na qual o oxigênio não pode ser usado como acceptor final de elétrons. Além disso, a expressão de glicerol-3-fosfato desidrogenase indica que as células de *S. aureus* realizam fermentação anaeróbia (LI et al., 2011).

Além disso, estudos tem mostrado que, tanto o tamanho quanto o formato das AgNPs são partes importantes na ação antibacteriana (DHAS et al., 2014; MARTÍNEZ-CASTAÑÓN et al., 2008; PAL; TAK; SONG, 2007). O tamanho nanométrico garante uma área de superfície significativamente grande, melhorando o contato com a bactéria. Considerando um caso hipotético de partículas esféricas de tamanho uniforme, a redução no tamanho da partícula de 10  $\mu\text{m}$  para 10 nm aumenta a superfície de contato em  $10^9$  (PAL; TAK; SONG, 2007). O tamanho é um dos fatores que permite a conexão com a parede celular para a formação das perfurações (MIRZAJANI et al., 2011). AgNPs triangulares mostraram maior atividade em relação à partículas circulares e nanobastões (PAL; TAK; SONG, 2007). Para Xiu e colaboradores, as propriedades morfológicas são fatores indiretos, agindo através da melhor liberação de  $\text{Ag}^+$  (XIU et al., 2012).

## **2.7. Modificações de superfície de cateteres**

A modificação e funcionalização de superfícies tem um papel central no controle das propriedades e conferem novas funcionalidades ao material, o que é especialmente importante nos campos de biomateriais, engenharia de tecidos e diagnóstico médico (DING; FLOREN; TAN, 2016).

Uma vez que o primeiro passo para a bactéria formar o biofilme é aderir firmemente à superfície, impedir esse estágio pode reduzir os riscos de infecção. O mecanismo utilizado pode liberar o antimicrobiano ou apresentar o composto ligado à superfície para agir quando a bactéria entrar em contato. A liberação do composto ativo é benéfica não apenas por agir nos microrganismos associados à superfície, mas também os patógenos nas áreas adjacentes. Entretanto, o controle da liberação

geralmente é inapropriado, sendo liberado no início em altas quantidades, seguido de um período de liberação diminuída, expondo as bactérias à concentrações sub-inibitórias, o que leva ao aumento da resistência das bactérias (SWARTJES et al., 2015).

O uso de cateteres impregnados com antimicrobianos não deve ser usado rotineiramente (LO et al., 2014). Segundo a recomendação em vigência do Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) se a ITU-AC não regredir após implementação de estratégias tais quais seguir as recomendações prioritárias para uso de cateter e inserção e manutenção asséptica, o uso de cateteres impregnados com antimicrobianos deve ser considerado (GOULD, 2010). Já a recomendação da Infectious Diseases Society of America (IDSA), pacientes com cateterização de curto prazo, cateteres urinários revestidos com liga de prata ou antibióticos podem ser considerados para reduzir a bacteriúria associada a cateter (HOOTON et al., 2010).

O látex foi o primeiro material usado na fabricação de cateteres Foley, mas existem problemas associados a esse material incluindo baixa biocompatibilidade e susceptibilidade à infecções e incrustações, o que levou à aplicação de diversos revestimentos de superfície como, por exemplo, poli (2-hidroxietilmetacrilato), politetraflouroetileno e silicone, considerado uma das substâncias mais biocompatíveis (VERMA et al., 2016).

Entretanto, no caso de cateteres revestidos por prata, a deposição de cristais sobre o revestimento de prata permite a adesão e proliferação bacteriana, impedindo o contato com a prata subjacente. Então, se o antimicrobiano for incorporado ao cateter com o objetivo de prevenir a incrustação, ele deve difundir do cateter e impedir que a bactéria eleve o pH da urina (STICKLER; FENELEY, 2010).

### **2.7.1. Polidopamina e modificação de superfícies**

A possibilidade da polidopamina (PDA) ser usada como agente de revestimento foi percebida através da observação de mexilhões, que conseguem se prender a, virtualmente, qualquer tipo de superfície, orgânica ou inorgânica, mesmo que de baixo d'água, inclusive podendo se ligar a materiais de difícil adesão como poli(tetrafluoroetileno) (LEE et al., 2007).

Os mexilhões produzem proteínas contendo 3,4-dihidroxi-L-fenilalanina (DOPA) e lisina, levando à hipótese de que a coexistência dos grupos catecol e amina, presentes na DOPA e na lisina, respectivamente, seja um fator crucial para alcançar uma forte adesão. A PDA possui ambos os grupos (DING; FLOREN; TAN, 2016; SILEIKA et al., 2011) e, assim como nos mexilhões, podem ser ligar a substratos orgânicos e inorgânicos, incluindo superfícies superhidrofóbicas. Assim, a PDA abriu um novo caminho para a modificação de vários substratos (LIU; AI; LU, 2014).

A polidopamina é formada pela polimerização oxidativa do cloridrato de dopamina em pH > 7,5. Em condições alcalinas e na presença de oxigênio, a dopamina forma finos filmes aderentes de PDA (DING; FLOREN; TAN, 2016; SILEIKA et al., 2011). A camada de PDA adere intimamente à superfície por fortes interações covalentes e não covalentes, resultando em um revestimento altamente estável (KARKHANECHI; TAKAGI; MATSUYAMA, 2014). Essa característica permite que a PDA atue como um agente de ancoragem, ligando um antimicrobiano a uma superfície (SU et al., 2016; WANG et al., 2015).

## **2.8. Referências Bibliográficas**

ADAMUS-BIALEK, W.; ZAJAC, E.; PARNIEWSKI, P.; KACA, W. Comparison of antibiotic resistance patterns in collections of *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis* uropathogenic strains. **Molecular Biology Reports**, v. 40, n. 4, p. 3429–3435, 2013

AGARWALA, M., BARMAN, T., GOGOI, D., CHOUDHURY, B., PAL, A.R., YADAV, R.N. Highly effective antibiofilm coating of silver-polymer nanocomposite on polymeric medical devices deposited by one step plasma process. **J Biomed Mater. Res. B: Appl. Biomater.** 1223-35. 2014

AHMAD, A.; MUKHERJEE, P.; SENAPATI, S.; MANDAL, D.; KHAN, M. I.; KUMAR, R.; SASTRY, M. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Fusarium oxysporum*. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 28, n. 4, p. 313-18, 2003.

AL-BADR, A.; AL-SHAikh, G. Recurrent urinary tract infections management in women. A review. **Sultan Qaboos University Medical Journal**, v. 13, n. 3, p. 359–367, 2013.

ALLAKER, R. P. The use of nanoparticles to control oral biofilm formation. **Journal of Dental Research**, n. 11, v. 89, p. 1175-86, 2010.

ALLISON, C.; EMÖDY, L.; COLEMAN, N.; HUGHES, C. The role of swarm cell differentiation and multicellular migration in the uropathogenicity of *Proteus mirabilis*. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 169, n. 5, p. 1155-1158, 1994.

ALMEIDA, É. S.; DE OLIVEIRA, D.; HOTZA, D. Characterization of silver nanoparticles produced by biosynthesis mediated by *Fusarium oxysporum* under different processing conditions. **Bioprocess Biosyst Eng**. 2017 Sep;40(9):1291-1303. doi: 10.1007/s00449-017-1788-9. Epub 2017 May 24.

ANIL KUMAR, S.; ABYANEH, M. K.; GOSAVI, S. W.; KULKARNI, S. K.; PASRICHA, R.; AHMAD, A.; KHAN, M. I. Nitrate reductase-mediated synthesis of silver nanoparticles from AgNO<sub>3</sub>. **Biotechnol. Lett.**, v. 29, n. 3, p. 439-45, mar. 2007.

ARMBRUSTER, C. E.; MOBLEY, H. L. T. Merging mythology and morphology: the multifaceted lifestyle of *Proteus mirabilis*. **Nature Reviews Microbiology**, v. 10, n. 11, p. 743–754, 2012.

ARMITAGE, J. P.; SMITH, D. G.; ROWBURY, R. J. Alteration in the cell envelope composition of *Proteus mirabilis* during development of swarmer cells. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 584, n. 3, p. 389–397, 1979.

ARVIZO, R. R.; BHATTACHARYYA, S.; KUDGUS, R.; GIRI, K.; BHATTACHARYA, R.; MUKHERJEE, P. Intrinsic Therapeutic Applications of Noble Metal Nanoparticles: Past, Present and Future. **Chem Soc Rev**. 2012 Apr 7; 41(7): 2943–2970.

BALDAUF, R. W.; DEVLIN, R. B.; GEHR, P.; GIANNELLI, R.; HASSETT-SIPPLE, B.; JUNG, H.; MARTINI, G.; MCDONALD, J.; SACKS, J. D.; WALKER, K. Ultrafine Particle Metrics and Research Considerations: Review of the 2015 UFP Workshop **Int J Environ Res Public Health**. 2016 Nov; 13(11): 1054.

BANERJEE, M.; MALLICK, S.; PAUL, A.; CHATTOPADHYAY, A.; GHOSH, S. S. Heightened Reactive Oxygen Species Generation in the Antimicrobial Activity of a Three Component Iodinated Chitosan-Silver Nanoparticle Composite. **Langmuir**, 26, 5901–5908, 2010.

BARDSLEY, A. Diagnosis, prevention and treatment of urinary tract infections in older people. **Nursing Older People**. 2017 Feb 28;29(2):32-38.

BARROS, L. M.; BENTO, J. N. C.; CAETANO, J. A.; MOREIRA, R. A. N.; PEREIRA, F. G. F.; FROTA, N. M.; ARAÚJO, T. M.; SOARES, E. Prevalência de micro-organismo e sensibilidade antimicrobiana de infecções hospitalares em

unidade de terapia intensiva de hospital público no Brasil. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 33, n. 3, p. 429-435, 2012.

BECKNELL, B.; SCHOBBER, M.; KORBEL, L.; SPENCER, J. D. The Diagnosis, Evaluation and Treatment of Acute and Recurrent Pediatric Urinary Tract Infections. **Expert Review of Anti-infective Therapy**. 2015 Jan; 13(1): 81–90.

BHUSHAN, B. Introduction to Nanotechnology: History, Status, and Importance of Nanoscience and Nanotechnology Education. In: WINKELMANN, K.; BHUSHAN, B (eds). **Global Perspectives of Nanoscience and Engineering Education**. Science Policy Reports. 1. ed. Switzerland: Springer International Publishing, 2016. p. 1-31.

BIRLA, S. S.; GAIKWAD, S. C.; GADE, A. K.; RAI, M. K. Rapid synthesis of silver nanoparticles from *Fusarium oxysporum* by optimizing physicochemical conditions. **ScientificWorldJournal**, 2013 Oct 10;2013:796018. doi: 10.1155/2013/796018. eCollection 2013.

BRAUDE, A. I.; SHAPIRO, A. P.; SIEMIENSKI, J. Hematogenous pyelonephritis in rats III. Relationship of bacterial species to the pathogenesis of acute pyelonephritis. **Journal of Bacteriology**, v. 77, n. 3, p. 270–280, 1959.

BRAUDE, A. I.; SIEMIENSKI, J. Role of bacterial urease in experimental pyelonephritis. **Journal of Bacteriology**, v. 80, n. 2, p. 171-179, 1960.

BREED, R.S.; MURRAY, E.G.D.; SMITH, N.R. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. 7. ed. Baltimore: Williams & Wilkins Co., 1957. 1094 pg.

BROOMFIELD, R. J.; MORGAN, S. D.; KHAN, A.; STICKLER, D. J. Crystalline bacterial biofilm formation on urinary catheters by urease-producing urinary tract pathogens: a simple method of control. **J Med Microbiol.**, 58 (Pt 10):1367-75, out. 2009.

BROWN, M. R.; ALLISON, D. G.; GILBERT, P. Resistance of bacterial biofilms to antibiotics: a growth-rate related effect? **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, n. 22, v. 6, p. 777-80, 1988.

BUZEA, C.; PACHECO, I. I.; ROBBIE, K. Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity. **Biointerphases**. 2007 Dec;2(4):MR17-71.

CAI, T.; MAZZOLI, S.; MONDAINI, N.; MEACCI, F.; NESI, G.; D'ELIA, C.; MALOSSINI, G.; BODDI, V.; BARTOLETTI, R. The Role of Asymptomatic Bacteriuria in Young Women With Recurrent Urinary Tract Infections: To Treat or Not to Treat? **Clinical Infectious Diseases**, Volume 55, Issue 6, 15 September 2012, Pages 771–777

CARVALHO, V. C. **Osteomielite Por Bacilos Gram-Negativos: Estudo Comparativo Das Características Clínico-Microbiológicas E Fatores De Risco Com As Infecções Por *Staphylococcus aureus***. São Paulo, 2013 [Monografia de Conclusão Residência Médica – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP].

CASTIGLIONI, S.; CAZZANIGA, A.; LOCATELLI, L.; MAIER, J. A. M. Silver Nanoparticles in Orthopedic Applications: New Insights on Their Effects on Osteogenic Cells. **Nanomaterials (Basel)**. 2017 Jun; 7(6): 124.

CHALOUPKA, K.; MALAM, Y.; SEIFALIAN, A. M. Nanosilver as a new generation of nanoparticle in biomedical applications. **Trends Biotechnol.** 2010 Nov;28(11):580-8.

CHAN, C. K.; PENG, H.; LIU, G.; MCILWRATH, K.; ZHANG, X. F.; HUGGINS, R. A.; CUI, Y. High-performance lithium battery anodes using silicon nanowires. **Nature Nanotechnology** volume 3, pages 31–35 (2008).

CHARACKLIS, W. G.; MARSHALL, K. C. **Biofilms**. John Wiley & Sons, Inc., New York, N.Y, 796 pgs, 1990.

CHEN, C. Y.; CHEN, Y. H.; LU, P. L.; LIN, W. R.; CHEN, T. C.; LIN, C.Y. *Proteus mirabilis* urinary tract infection and bacteremia: risk factors, clinical presentation, and outcomes. **Journal of Microbiology, Immunology, And Infection**, v. 45, n. 3, p. 228-236, 2012.

CHERNOUSOVA, S.; EPPLE, M. Silver as antibacterial agent: ion, nanoparticle, and metal. **Angew Chem Int**, 4;52(6):1636-53, 2013

CHOI, O.; HU, Z. Size Dependent and Reactive Oxygen Species Related Nanosilver Toxicity to Nitrifying Bacteria. **Environ. Sci. Technol.** 4583–4588, 2008.

CHOWDHURY, S.; BASU, A.; KUNDU, S. Green synthesis of protein capped silver nanoparticles from phytopathogenic fungus *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid with antimicrobial properties against multidrug-resistant bacteria. **Nanoscale Res Lett.** 9(1): 365, 2014.

CLOGSTON, J. D.; PATRI, A. K. Zeta potential measurement. **Methods Mol Biol.** 2011;697:63-70.

COOK, G. T. *Proteus vulgaris* septicaemia treated with penicillin. **British Medical Journal**, v. 1, n. 4459, p. 955, 1946.

CORNEJO-DÁVILA, V.; PALMEROS-RODRÍGUEZ, M. A.; MENESES, I. U-T. DE; MAYORGA-GÓMEZ, E.; GARZA-SÁINZ, G.; OSORNIO-SÁNCHEZ, V.;

TRUJILLO-ORTIZ, L.; SEDANO-BASILIO, J. E.; CANTELLANO-OROZCO, M.; MARTÍNEZ-ARROYO, C.; MORALES-MONTOR, J. G.; PACHECO-GAHLER, C. Management of complicated urinary tract infections in a referral center in Mexico. **International Urology and Nephrology** (2015) 47:229–233

CORRÊA, J. M.; MORI, M.; SANCHES, H. L.; DA CRUZ, A. D.; POIATE, JR. E.; POIATE, I. A. V. P. Silver Nanoparticles in Dental Biomaterials **Int J Biomater.** 2015; 2015: 485275.

COSENZA, B. J.; PODGWAITE, J. D. . A new species of *Proteus* isolated from larvae of the gypsy moth *Porthetria dispar* (L.). **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 32, n. 2, p. 187-191, 1966.

COSTERTON, J. W.; GEESEY, G. G.; CHENG, G. K. How bacteria stick. **Scientific American**, n. 238, v. 1, p. 86-95, 1978.

COSTERTON, J. W.; STEWART, P. S.; GREENBERG, E.P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. **Science**, n. 284, v. 5418, p. 1318-22, mai. 1999.

CUSHEN, M.; KERRY, J.; MORRIS, M.; CRUZ-ROMERO, M.; CUMMINS, E. Nanotechnologies in the food industry - recent developments, risks and regulation. **Trends Food Sci. Tech.** 24, 30–46. 2012.

DAKAL, T. C.; KUMAR, A.; MAJUMDAR, R. S.; YADAV, V. Mechanistic Basis of Antimicrobial Actions of Silver Nanoparticles. **Front Microbiol.** 7: 1831. 2016.

DARZE, O. I. S. P.; BARROSO, U.; LORDELO, M. Preditores clínicos de bacteriúria assintomática na gestação. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 33, n. 8, p. 196-200, 2011.

DAVIES, D. G.; PARSEK, M. R.; PEARSON, J. P.; IGLEWSKI, B. H.; COSTERTON, J. W.; GREENBERG, E. P. The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm. **Science**, n. 280, v. 5361, p. 295-8, 1998.

DEBBAGE, P. Targeted drugs and nanomedicine: present and future. **Curr Pharm Des.** 2009;15(2):153-72.

DHAS, S. P.; JOHN, S. P.; MUKHERJEE, A.; CHANDRASEKARAN, N. Autocatalytic growth of biofunctionalized antibacterial silver nanoparticles. **International Union of Biochemistry and Molecular Biology.** 61, 322–332, mai.-jun. 2014

DIELUBANZA, E. J.; SCHAEFFER, A. J. Urinary tract infections in women. **Med. Clin. North Am.**, v. 95, n. 1, p. 27-41, jan. 2011.

DING, Y. H.; FLOREN, M.; TAN, W. Mussel-inspired polydopamine for bio-surface functionalization. **Biosurface and Biotribology**. v. 2, n. 4, p. 21–136, dez. 2016.

DONG, Z.; HSIANG, T.; LUO, M.; XIANG, M. Draft Genome Sequence of an Isolate of *Fusarium oxysporum* f. sp. melongenae, the Causal Agent of Fusarium Wilt of Eggplant. **Genome Announc.**, 5(7): e01597-16, 2017.

DONLAN, R. M. Biofilms and device-associated infections. **Emerging Infectious Diseases**, n. 7, v. 2, p. 277-81, 2001.

DONLAN, R. M.; COSTERTON, J. W. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. **Clinical Microbiology Reviews**, n. 15, v. 2, p. 167–93, 2002.

DREADEN, E. C.; ALKILANY, A. M.; HUANG, X.; MURPHY, C. J.; EL-SAYED, M. A. The golden age: gold nanoparticles for biomedicine. **Chem. Soc. Rev.**, 2012, 41, 2740–2779.

DRZEWIECKA, D. Significance and Roles of *Proteus* spp. Bacteria in Natural Environments. **Microb Ecol.** 2016; 72(4): 741–758.

DUARTE, G.; MARCOLIN, A. C.; GONÇALVES, C. V.; QUINTANA, S. M.; BEREZOWSKI, A. T.; NOGUEIRA, A. A.; CUNHA, S. P. Infecção urinária na gravidez: análise dos métodos para diagnóstico e do tratamento. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 7, p. 471-477, 2002.

DURÁN, N.; DURÁN, M.; DE JESUS, M. B.; SEABRA, A. B.; FÁVARO, W. J.; NAKAZATO, G. Silver nanoparticles: A new view on mechanistic aspects on antimicrobial activity. **Nanomedicine.**, v. 12, n. 3, p. 789-99, abr. 2016.

DURÁN, N.; MARCATO, P. D.; ALVES, O. L.; DE SOUZA, G. I. H.; ESPOSITO, E. Mechanistic aspects of biosynthesis of silver nanoparticles by several *Fusarium oxysporum* strains. **Journal of Nanobiotechnology**, v.3, n. 8, jul. 2005.

DURÁN, N.; NAKAZATO, G.; SEABRA, A. B. Antimicrobial activity of biogenic silver nanoparticles, and silver chloride nanoparticles: an overview and comments. **Appl. Microbiol. Biotechnol**, v. 100, n. 15, p. 6555-6570, ago. 2016.

EFSA (European Food Safety Authority) Scientific Committee, HARDY, A.; BENFORD, D.; HALLDORSSON, T.; JEGER, M. J.; KNUTSEN, H. K.; MORE, S.; NAEGELI, H.; NOTEBORN, H.; OCKLEFORD, C.; RICCI, A.; RYCHEN, G.; SCHLATTER, J. R.; SILANO, V.; SOLECKI, R.; TURCK, D.; YOUNES, M.; CHAUDHRY, Q.; CUBADDA, F.; GOTT, D.; OOMEN, A.; WEIGEL, S.; KARAMITROU, M.; SCHOONJANS, R.; MORTENSEN, A. Guidance on risk

assessment of the application of nanoscience and nanotechnologies in the food and feed chain: Part 1, human and animal health. **EFSA Journal** 2018. Disponível em <https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/engage/180112.pdf>.

ENGLER, H. D.; TROY, K.; BOTTONNE, E. J. Bacteremia and subcutaneous abscess caused by *Proteus penneri* in a neutropenic host. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 28, n. 7, p. 1645-1646, 1990.

EUSTIS, S.; EL-SAYED, M. A. Why gold nanoparticles are more precious than pretty gold: noble metal surface plasmon resonance and its enhancement of the radiative and nonradiative properties of nanocrystals of different shapes. **Chem Soc Rev.** 2006 Mar;35(3):209-17.

FAO - **Food And Agriculture Organization Of The United Nations**. The FAO Action Plan on Antimicrobial Resistance 2016-2020 - Supporting the food and agriculture sectors in implementing the Global Action Plan on Antimicrobial Resistance to minimize the impact of antimicrobial resistance. Rome, 2016.

FATIMA, S. S.; MUSSAED, E. A. Urinary Tract Infection. In: \_\_\_\_\_. **Bacterial Identification and Drug Susceptibility Patterns in Pregnant and Non Pregnant UTI Patients**. 1. ed. Singapore: Springer Nature Singapore Pte Ltd, 2018. p. 1-22.

FAUST, J. J.; DOUDRICK, K.; YANG, Y.; CAPCO, D. G.; WESTERHOFF, P. A Facile Method for Separating and Enriching Nano and Submicron Particles from Titanium Dioxide Found in Food and Pharmaceutical Products. **PLoS One**. 2016 Oct 31;11(10):e0164712. doi: 10.1371/journal.pone.0164712. eCollection 2016.

FEYNMAN, R. P. There's plenty of room at the bottom. *Eng Sci.* 1960;23:22–36.

FLORES-MIRELES, A. L.; WALKER, J. N.; CAPARON, M.; HULTGREN, S. J. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. **Nat. Rev. Microbiol.**, v. 13, n. 5, p. 269–284, mai. 2015.

FOXMAN, B. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. **Am. J. Med.**, v. 8, n. 113, Suppl 1A:5S-13S, jul. 2002.

FOXMAN, B. The epidemiology of urinary tract infection. **Nat. Rev. Urol.**, v. 7, n. 12, p. 653-60, dez. 2010.

FRANCI, G.; FALANGA, A.; GALDIERO, S.; PALOMBA, L.; RAI, M.; MORELLI, G.; GALDIERO, M. Silver nanoparticles as potential antibacterial agentes. **Molecules**, 18;20(5):8856-74, 2015.

GARRETT, T R.; BHAKOO, M.; ZHANG, Z. Bacterial adhesion and biofilms on surfaces. **Progress in Natural Science**, n. 18, p. 1049–1056, 2008.

GATOO, M. A.; NASEEM, S.; ARFAT, M. Y.; DAR, A. M.; QASIM, K.; ZUBAIR, S. Physicochemical Properties of Nanomaterials: Implication in Associated Toxic Manifestations. **Biomed Res Int.** 2014; 2014: 498420.

GHOLAMI-SHABANI, M.; AKBARZADEH, A.; NOROUZIAN, D.; AMINI, A.; GHOLAMI-SHABANI, Z.; IMANI, A.; CHIANI, M.; RIAZI, G.; SHAMS-GHAHFAROKHI, M.; RAZZAGHI-ABYANEH, M. Antimicrobial activity and physical characterization of silver nanoparticles green synthesized using nitrate reductase from *Fusarium oxysporum*. **Appl. Biochem. Biotechnol.**, v. 172, n. 8, p. 4084-98, abr. 2014.

GIEDRAITIENĖ, A.; VITKAUSKIENĖ, A.; NAGINIENĖ, R.; PAVILONIS, A. Antibiotic resistance mechanisms of clinically important bacteria. **Medicina (Kaunas)**, v. 47, n. 3, p. 137-46, 2011.

GONZALEZ, C. M.; SCHAEFFER, A. J. Treatment of urinary tract infection: what's old, what's new, and what works. **World J. Urol.**, v. 17n. 6, p. 372-82, dez. 1999.

GOULD, C. V.; UMSCHIED, C. A.; AGARWAL, R. K.; KUNTZ, G.; PEGUES, D. A.; HEALTHCARE INFECTION CONTROL PRACTICES ADVISORY COMMITTEE (HICPAC). Guideline For Prevention Of Catheter associated Urinary Tract Infections – 2009. **Infect Control Hosp Epidemiol.** 31(4):319-26, abr. 2010.

GRABE, M.; BJERKLUND-JOHANSEN, T. E.; BOTTO, H.; WULLT, B.; ÇEK, M.; NABER, K. G.; PICKARD, R. S.; TENKE, P.; WAGENLEHNER, F. Guidelines on urological infections. Arnhem, The Netherlands: **European Association of Urology (EAU)**, p. 224-241, 2011.

GRAHNQUIST, L.; LUNDBERG, B.; TULLUS, K. Neonatal *Proteus* meningoencephalitis. Case report. **Acta Pathologica, Microbiologica, et Immunologica Scandinavica**, v. 100, n. 8, p. 734-736, 1992.

GRIFFITH, D. P.; MUSER, D. M. Urease: principal cause of infection stones. **Urolithiasis Research**, v. 13, n. 5, p. 451-454, mar. 1976.

GUIDOS, R. J.; INFECTIOUS DISEASES SOCIETY OF AMERICA (IDSA). Combating Antimicrobial Resistance: Policy Recommendations to Save Lives. **Clin Infect Dis.** 2011 May;52 Suppl 5:S397-428

GUISBIERS, G. Size-Dependent Materials Properties Toward a Universal Equation. **Nanoscale Res Lett.**, 5(7): 1132–1136, 2010.

HALL-STOODLEY, L.; STOODLEY, P. Developmental regulation of microbial biofilms. **Current Opinion in Biotechnology**, n. 13, v. 3, p. 228-33, 2002.

HANNAN, T. J.; TOTSIKA, M.; MANSFIELD, K. J.; MOORE, K. H.; SCHEMBRI, M. A.; HULTGREN, S. J. Host-pathogen checkpoints and population bottlenecks in persistent and intracellular uropathogenic *E. coli* bladder infection. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 36, n. 3, p. 616–648, 2012.

HEILBERG, I. P.; SCHOR, N. Abordagem diagnóstica e terapêutica na infecção do trato urinário – Itu. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 49, n. 1, p. 109-116, 2003.

HICKLING, D. R.; TUNG-TIEN, S.; XUE-RU, W. Anatomy and Physiology of the Urinary Tract: Relation to Host Defense and Microbial Infection. **Microbiol Spectr**. 2015 Aug; 3(4): 10.1128/microbiolspec.UTI-0016-2012

HICKMAN, F. W.; STEIGERWALT, A. G.; FARMER III, J. J.; BRENNER, D. J. Identification of *Proteus penneri* sp. nov., formerly known as *Proteus vulgaris* indole negative or as *Proteus vulgaris* biogroup 1. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 15, n. 6, p. 1097-1102, 1982.

HOENIGE, J. F. M. Cellular changes accompanying the swarming of *Proteus mirabilis*. I. Observations of living cultures. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 10, n. 1, p. 113-123, 1964.

HOLLING, N.; LEDNOR, D.; TSANG, S.; BISSELL, A.; CAMPBELL, L.; NZAKIZWANAYO, J.; DEDI, C.; HAWTHORNE, J. A.; HANLON, G.; OGILVIE, L. A.; SALVAGE, J. P.; PATEL, B. A.; BARNES, L. M.; JONES, B. V. Elucidating the genetic basis of crystalline biofilm formation in *Proteus mirabilis*. **Infection and Immunity**, v. 82, n. 4, p. 1616-26, abr. 2014.

HOOTON, T. M.; BRADLEY, S. F.; CARDENAS, D. D.; COLGAN, R.; GEERLINGS, S. E.; RICE, J. C.; SAINT, S.; SCHAEFFER, A. J.; TAMBAYH, P. A.; TENKE, P.; NICOLLE, L. E. Diagnosis, Prevention, and Treatment of Catheter-Associated Urinary Tract Infection in Adults: 2009 International Clinical Practice Guidelines from the Infectious Diseases Society of America. **Clinical Infectious Diseases**, 50:625–663, 2010.

HOOTON, T. M.; BRADLEY, S. F.; CARDENAS, D. D.; COLGAN, R.; GEERLINGS, S. E.; RICE, J. C.; SAINT, S.; SCHAEFFER, A. J.; TAMBAYH, P. A.; TENKE, P.; NICOLLE, L. E.; INFECTIOUS DISEASES SOCIETY OF AMERICA. Diagnosis, prevention, and treatment of catheter-associated urinary tract infection in adults: 2009 International Clinical Practice Guidelines from the Infectious Diseases Society of America. **Clin Infect Dis**. 1;50(5):625-63, mar, 2010.

HORIKOSHI, S.; SERPONE, N. Introduction to Nanoparticles. In: \_\_\_\_\_. **Microwaves in Nanoparticle Synthesis: Fundamentals and Applications**. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, p. 1-24, 2013.

HSUEH, Y.-H.; LIN, K.-S.; KE, W.-J.; HSIEH, C. -T.; CHIANG, C. -L.; TZOU, D. -Y.; LIU, S. -T. The Antimicrobial Properties of Silver Nanoparticles in *Bacillus subtilis* Are Mediated by Released Ag<sup>+</sup> Ions. **PLoS One**, 10(12), 2015.

ILIĆ, M.; MARKOVIĆ-DENIĆ, L. Nosocomial infections prevalence study in a Serbian university hospital. **Vojnosanitetski Pregled**, v. 66, n. 11, p. 868-75, 2009.

IRAVANI, S.; KORBKANDI, H.; MIRMOHAMMADI, S. V.; ZOLFAGHARI, B. Synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical and biological methods. **Research in Pharmaceutical Sciences**, n. 9, v. 6, p. 385–406, 2014.

ISENSTEIN, D.; HONIG, E. *Proteus vulgaris* empyema and increased pleural fluid pH. **Chest**, v. 97, n. 2, p. 511, 1990.

ISO - **International Organization for Standardization**. ISO/TR 10993-22:2017. Biological evaluation of medical devices — Part 22: Guidance on nanomaterials. Disponível em <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:tr:10993:-22:ed-1:v1:en> Acessado em 09/03/2018.

ISO - **International Organization for Standardization**. ISO/TR 13014. Nanotechnologies — Guidance on physico-chemical characterization of engineered nanoscale materials for toxicologic assessment. Geneva, 2012.

IVASK, A.; KURVET, I.; KASEMETS, K.; BLINOVA, I.; ARUOJA, V.; SUPPI, S.; VIJA, H.; KÄKINEN, A.; TITMA, T.; HEINLAAN, M.; VISNAPUU, M.; KOLLER, D.; KISAND, V.; KAHRU, A. Size-dependent toxicity of silver nanoparticles to bacteria, yeast, algae, crustaceans and mammalian cells in vitro. **PLoS One**. 2014 Jul 21;9(7):e102108.

JACOBSEN, S. M.; STICKLER, D. J.; MOBLEY, H. L. T.; SHIRTLIFF, M. E. Complicated catheter-associated urinary tract infections due to *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 21, n. 1, p. 26–59, 2008.

JANSEN, A. M.; LOCKATELL, C. V.; JOHNSON, D. E.; MOBLEY, H. L. T. Visualization of *Proteus mirabilis* morphotypes in the urinary tract: the elongated swarmer cell is rarely observed in ascending urinary tract infection **Infection and Immunity**, v. 71, n. 6, p. 3607–3613, 2003.

JEBALI, A.; HAJJAR, F. H.; HEKMATIMOUGHADDAM, S.; KAZEMI, B.; DE LA FUENTE, J. M.; RASHIDI, M. Triangular gold nanoparticles conjugated with peptide ligands: a new class of inhibitor for *Candida albicans* secreted aspartyl proteinase. **Biochem Pharmacol**. 2014 Aug 15;90(4):349-55.

JIA, H.; XU, W.; AN, J.; LI, D.; ZHAO B. A simple method to synthesize triangular silver nanoparticles by light irradiation. **Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.** 2006 Jul;64(4):956-60.

JOHLIN, E.; SOLARI, J.; MANN, S. A.; WANG, J.; SHIMIZU, T. S.; GARNETT, E. C. Super-resolution imaging of light–matter interactions near single semiconductor nanowires. **Nat Commun.** 2016; 7: 13950.

JOHNSON, D. R.; BOYD, R. E.; BEDNAR, A. J.; WEISS, C. A.; HULL, M. S.; COLEMAN, J. G.; KENNEDY, A. J.; BANKS, C. J.; STEEVENS, J. A. Effects of Soot By-Product from the Synthesis of Engineered Metallofullerene Nanomaterials on Terrestrial Invertebrates. **Environ Toxicol Chem.** 2018 Feb 23. doi: 10.1002/etc.4118.

JONES, G. L.; MULLER, C. T.; O'REILLY, M.; STICKLER, D. J. Effect of triclosan on the development of bacterial biofilms by urinary tract pathogens on urinary catheters. **J Antimicrob Chemother**, 57(2):266-72, fev. 2006.

KANDI, V.; KANDI, S. Antimicrobial properties of nanomolecules: potential candidates as antibiotics in the era of multi-drug resistance. **Epidemiology and Health**, v. 37, n. p. 1-5, 2015.

KARKHANECHI, H.; TAKAGI, R.; MATSUYAMA, H. Biofouling resistance of reverse osmosis membrane modified with polydopamine. **Desalination**, v. 336, p. 87–96, mar. 2014.

KĘDZIORA, A.; SPERUDA, M.; KRZYŻEWSKA, E.; RYBKA, J.; ŁUKOWIAK, A.; BUGLA-PŁOSKOŃSKA, G. Similarities and Differences between Silver Ions and Silver in Nanoforms as Antibacterial Agents. **Int J Mol Sci.** Feb; 19(2): 444, 2018.

KHAN, S. U.; SALEH, T. A.; WAHAB, A.; KHAN, M. H. U.; KHAN, D.; KHAN, W. U.; RAHIM, A.; KAMAL, S.; KHAN, F. U.; FAHAD, S. Nanosilver: new ageless and versatile biomedical therapeutic scaffold. **Int J Nanomedicine**, 13: 733–762, 2018.

KHAWCHAROENPORN, T.; VASOO, S.; SINGH, K. Urinary tract infections due to multidrug-resistant Enterobacteriaceae: prevalence and risk factors in a Chicago emergency department. **Emergency Medicine International**, v. 2013, p. 1-7, 2013.

KITTEL, C. **Introduction to Solid State Physics.** 8. ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 2005. 680 p.

KON, K.; RAI, M. Metallic nanoparticles: mechanism of antibacterial action and influencing factors. **Journal of Comparative Clinical Pathology Research**, n. 2, v. 1, p. 160 -174, 2013.

KORBKANDI, H.; ASHARI, Z.; IRAVANI, S.; ABBASIC, S. Optimization of Biological Synthesis of Silver Nanoparticles using *Fusarium oxysporum*. **Iran J Pharm Res**. 2013 Summer; 12(3): 289–298.

KOTEŁKO, K. *Proteus mirabilis*: taxonomic position, peculiarities of growth, components of the cell envelope. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, v. 129, p. 181–215, 1986.

KRAJDEN, S.; FUKSA, M.; PETREA, C.; CRISP, L. J.; PENNER, J. L. Expanded clinical spectrum of infections caused by *Proteus penneri*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 25, n. 3. p. 578-579, 1987.

KREIBIG, U.; VOLLMER, M. **Optical Properties of Metal Clusters**. 1. ed. New York: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1995. 535 p.

KUMAR, N.; KUMBHAT, S. Unique Properties. In: \_\_\_\_\_. **Essentials in Nanoscience and Nanotechnology**. 1. ed. New Jersey : John Wiley & Sons, Inc., 2016. p. 326-60.

LANSDOWN, A. B. Silver in health care: antimicrobial effects and safety in use. **Curr Probl Dermatol**. 33:17-34, 2006.

LARSSON, P. O antigens of *Proteus mirabilis* and *Proteus vulgaris* strains isolated from patients with bacteremia. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 12, n. 4, p. 490-492, 1980.

LATUSZYNSKI, D. K.; SCHOCH, P.; QADIR, M. T.; CUNHA, B. A. *Proteus penneri* urosepsis in a patient with diabetes mellitus. **Heart Lung**, v. 27, n. 2, p. 146-148, 1998.

LAVAKUMAR, V.; MASILAMANI, K.; RAVICHANDIRAN, V.; VENKATESHAN, N.; SAIGOPAL, D. V. R.; KUMAR, C. K. A.; SOWMYA, C. Promising upshot of silver nanoparticles primed from *Gracilaria crassa* against bacterial pathogens. **Chemistry Central Journal** (2015) 9:42

LAZAR, V. Quorum sensing in biofilms - how to destroy the bacterial citadels or their cohesion/power? **Anaerobe**, n. 17, v. 6, p. 280-5, 2011.

LEA, M.C. On allotropic forms of silver. **Am. J. Sci.** 37, 476–491. 1889

LEE, C.; KIM, J. Y.; LEE, W. I.; NELSON, K. L.; YOON, J.; SEDLAK, D. L. Bactericidal effect of zero-valent iron nanoparticles on *Escherichia coli*. **Environmental Science and Technology**, n. 42, v. 13, p. 4927-33, jul. 2008.

LEE, H.; DELLATORE, S. M.; MILLER, W. M.; MESSERSMITH, P. B. Mussel-Inspired Surface Chemistry for Multifunctional Coatings. **Science**, n. 318, v. 5849, p. 426–430, out. 2007.

LEMIRE, J. A.; HARRISON, J. J.; TURNER, R. J. Antimicrobial activity of metals: mechanisms, molecular targets and applications. **Nature Reviews Microbiology**, n. 11, p. 371–384, 2013.

LI, N.; GEORAS, S.; ALEXIS, N.; FRITZ, P.; XIA, T.; WILLIAMS, M. A.; HORNER, E.; NEL, A. A Work Group Report on Ultrafine Particles (AAAAI) Why Ambient Ultrafine and Engineered Nanoparticles Should Receive Special Attention for Possible Adverse Health Outcomes in Humans. **J Allergy Clin Immunol**. 2016 Aug; 138(2): 386–396.

LI, W. R.; XIE, X. B.; SHI, Q. S.; DUAN, S. S.; OUYANG, Y. S.; CHEN, Y. B. Antibacterial effect of silver nanoparticles on *Staphylococcus aureus*. **Biometals**. 24, 135–141, 2011.

LI, W. R.; XIE, X. B.; SHI, Q. S.; ZENG, H. Y.; OU-YANG, H. S.; CHEN, Y. B. Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticles on *Escherichia coli*. **Appl Microbiol Biotechnol**. 85, 1115–1122, 2010.

LIASSINE, N.; MADEC, S.; NINET, B.; METRAL, C.; FOUCHEREAU-PERON, M.; LABIA, R.; AUCKENTHALER, R. Postneurosurgical meningitis due to *Proteus penneri* with selection of a ceftriaxone-resistant isolate: analysis of chromosomal class a  $\beta$ -lactamase HugA and its LysR-type regulatory protein HugR. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 46, n. 1, p. 216–219, 2002.

LICHTENBERGER, P.; HOOTON, T. M. Complicated urinary tract infections. **Current Infectious Disease Reports**, v. 10, n. 6, p. 499-504, 2008.

LICHTENBERGER, P.; HOOTON, T. M. Complicated urinary tract infections. **Current Infectious Disease Reports**, v. 10, n. 6, p. 499-504, 2008.

LINK, S.; EL-SAYED, M. A. Optical Properties And Ultrafast Dynamics Of Metallic Nanocrystals. **Annu. Rev. Phys. Chem.** 2003. 54:331–66.

LIPSKY, B. A. Prostatitis and urinary tract infection in men: what's new; what's true? **The American Journal of Medicine**, v. 106, n. 3, p. 327-34, 1999.

LISBOA, T.; FARIA, M.; HOHER, J. A.; BORGES, L. A. A.; GÓMEZ, J.; SCHIFELBAIN, L.; DIAS, F. S.; LISBOA, J.; FRIEDMAN, G. Prevalência de infecção nosocomial em unidades de terapia intensiva do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, São Paulo, v. 19, n. 4, p. 414-420, 2007

LIU, X.; SWIHART, M. T. Heavily-doped colloidal semiconductor and metal oxide nanocrystals: an emerging new class of plasmonic nanomaterials. **Chem. Soc. Rev.**, 2014, 43, 3908

LIU, Y.; AI, K.; LU, L. Polydopamine and Its Derivative Materials: Synthesis and Promising Applications in Energy, Environmental, and Biomedical Fields. **Chem. Rev.**, v. 114, n. 9, p. 5057-115, mai. 2014.

LO, D. S.; RAGAZZI, S. L. B.; GILIO, A. E.; MARTINEZ, M. B. Infecção urinária em menores de 15 anos: etiologia e perfil de sensibilidade antimicrobiana em hospital geral de pediatria. **Revista Paulista de Pediatria**, São Paulo, v. 28, n. 4, p. 299-303, 2010.

LO, D. S.; SHIEH, H. H.; RAGAZZI, S. L. B.; KOCH, V. H. K.; MARTINEZ, M. B.; GILIO, A. E. Infecção urinária comunitária: etiologia segundo idade e sexo. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, São Paulo, v. 35, n. 2, p. 93-98. 2013.

LO, E.; NICOLLE, L. E.; COFFIN, S. E.; GOULD, C.; MARAGAKIS, L. L.; MEDDINGS, J.; PEGUES, D. A.; PETTIS, A. M.; SAINT, S.; YOKOE, D. S. Strategies to prevent catheter-associated urinary tract infections in acute care hospitals: 2014 update. **Infect Control Hosp Epidemiol.** 35(5):464-79, mai. 2014.

LOK, C. N.; HO, C. M.; CHEN, R.; HE, Q. Y.; YU, W. Y.; SUN, H.; TAM, P. K.; CHIU, J. F.; CHE, C. M. Proteomic Analysis of the Mode of Antibacterial Action of Silver Nanoparticles. **Journal of Proteome Research.** 5, 916-24, 2006.

LOK, C. N.; HO, C. M.; CHEN, R.; HE, Q.Y.; YU, W. Y.; SUN, H.; TAM, P. K.; CHIU, J. F.; CHE, C. M. Proteomic Analysis of the Mode of Antibacterial Action of Silver Nanoparticles. **Journal of Proteome Research.** 5, 916-24, 2006.

LONGHI, C.; SANTOS, J. P.; MOREY, A. T.; MARCATO, P. D.; DURÁN, N.; PINGE-FILHO, P.; NAKAZATO, N.; YAMADA-OGATTA, S. F.; YAMAUCHI, L. M. Combination of fluconazole with silver nanoparticles produced by *Fusarium oxysporum* improves antifungal effect against planktonic cells and biofilm of drug-resistant *Candida albicans*. **Medical Mycology**, Volume 54, Issue 4, 1 May 2016, Pages 428–432

LU, Z.; RONG, K.; LI, J.; YANG, H.; CHEN, R. Size-dependent antibacterial activities of silver nanoparticles against oral anaerobic pathogenic bacteria. **J Mater Sci Mater Med.** 2013 Jun;24(6):1465-71.

LUO, K.; JUNG, S.; PARK, K. H.; KIM, Y. R. Microbial Biosynthesis of Silver Nanoparticles in Different Culture Media. **J Agric Food Chem.** 31;66(4):957-962, 2018.

LYSY, J.; WERCZBERGER, A.; GLOBUS, M.; CHOWERS, I. Pneumatocele formation in a patient with *Proteus mirabilis* pneumonia. **Postgraduate Medical Journal**, v. 61, n. 713, p. 255–257, 1985.

MAIER, S. A. Electromagnetics of metals. In: \_\_\_\_\_. **Plasmonics: fundamentals and applications**. 1. ed. New York: Springer Science+Business Media LLC, 2007. p. 5-19,

MANOS, J.; BELAS, R. The genera *Proteus*, *Providencia*, and *Morganella*. **Prokaryotes**, v. 6, p. 245–269, 2006.

MARKOWSKA, K.; GRUDNIAK, A. M.; WOLSKA, K. I. Silver nanoparticles as an alternative strategy against bacterial biofilms. **Acta Biochimica Polonica**, n. 4, v. 60, p. 523–30, 2013.

MARQUES, L. P. J.; FLORES, J. T.; BARROS JUNIOR, O. O.; RODRIGUES, G. B.; MOURÃO, C. M.; MOREIRA, R. M. P. Epidemiological and clinical aspects of urinary tract infection in community-dwelling elderly women. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 16, n. 5, p. 436-41, 2012.

MARTÍNEZ-CASTAÑÓN, G. A.; NIÑO-MARTÍNEZ, N.; MARTÍNEZ-GUTIERREZ, F.; MARTÍNEZ-MENDOZA, J. R.; RUIZ, F. Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles with different sizes. **Journal of Nanoparticle Research**, n. 8, v. 10, p. 1343–1348, 2008.

MARX, A. C.; HARTSHORNE, M. F.; STULL, M. A.; TRUWIT, C. L. Case report 496: intraosseous gas in *Proteus mirabilis* osteomyelitis complicating bone infarcts in sickle cell disease. **Skeletal Radiology**, v. 17, n. 7, p.510-513, 1988.

MASSON, P.; MATHESON, S.; WEBSTER, A. C.; CRAIG, J. C. Meta-analyses in prevention and treatment of urinary tract infections. **Infect. Dis. Clin. North Am.**, v. 23, n. 2, p. 355–385, jun. 2009.

MATUSZKIEWICZ-ROWIŃSKA, J.; MAŁYSZKO, J.; WIELICZKO, M. Urinary tract infections in Pregnancy: old and new unresolved diagnostic and therapeutic problems. **Archives of Medical Science**. 2015 Mar 16; 11(1): 67–77.

MCNEIL, Scott E. Unique Benefits of Nanotechnology to Drug Delivery and Diagnostics. In: \_\_\_\_\_. **Characterization of Nanoparticles Intended for Drug Delivery**. 1. ed. New York: Humana Press, 2011. p. 3-8

MILO, S.; THET, N. T.; LIU, D.; NZAKIZWANAYO, J.; JONES, B. V.; JENKINS, A. T. A. An in-situ infection detection sensor coating for urinary catheters. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 81, p. 166–172, jul. 2016.

MIRANDA-ANDRADES, J. R.; PÉREZ-GRAMATGES, A.; PANDOLI, O.; ROMANI, E. C.; AUCÉLIO, R. Q.; DA SILVA, A. R. Spherical gold nanoparticles and gold nanorods for the determination of gentamicin. **Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc**. 2017 Feb 5;172:126-134

MIRZAJANI, F.; GHASSEMPOUR, A.; ALIAHMADI, A.; ESMAEILI, M. A. Antibacterial effect of silver nanoparticles on *Staphylococcus aureus*. **Research in Microbiology**. 162, 542-549, 2011.

MOBLEY, H. L. T.; BELAS, R. Swarming and pathogenicity of *Proteus mirabilis* in the urinary tract. **Trends in Microbiology**, v. 3, n. 7, p. 280-284, 1995.

MODY, V. V.; SIWALE, R.; SINGH, A.; MODY, H. R. Introduction to metallic nanoparticles. **J Pharm Bioallied Sci**. 2010 Oct-Dec; 2(4): 282–289.

MORAES, D.; BRAOIOS, A.; ALVES, J. L. B.; COSTA, R. M. Prevalence of uropathogens and antimicrobial susceptibility profile in outpatient from Jataí-GO. **Jornal Brasileiro De Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 50, n. 3, p. 200-204, 2014.

MORONES, J. R.; ELECHIGUERRA, J. L.; CAMACHO, A.; HOLT, K.; KOURI, J. B.; RAMÍRE, J. T.; YACAMAN, M. J. The bactericidal effect of silver nanoparticles. **Nanotechnology**. 16, 2346–2353, 2005.

MOUSAVI, B.; TAFVIZI, F.; ZAKER BOSTANABAD, S. Green synthesis of silver nanoparticles using *Artemisia turcomanica* leaf extract and the study of anti-cancer effect and apoptosis induction on gastric cancer cell line (AGS). **Artif Cells Nanomed Biotechnol**, 23:1-12, 2018.

MUHSIN, T. M., HACHIM, A. K. Mycosynthesis and characterization of silver nanoparticles and their activity against some human pathogenic bacteria. **World J Microbiol Biotechnol**. 30(7):2081-90, 2014.

MUKHOPADHYAY, S. S. Nanotechnology in agriculture: prospects and constraints. **Nanotechnol Sci Appl**. 2014; 7: 63–71.

NARAYANAN, K. B.; SAKTHIVEL, N. Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes. **Advances in Colloid and Interface Science**, n.1-2, v. 156, p. 1-13, 2010.

NASEEM, T.; FARRUKH, M. A. Antibacterial activity of green synthesis of iron nanoparticles using *Lawsonia inermis* and *Gardenia jasminoides* leaves Extract. **Journal of Chemistry**, v. 2015, p. 1-7, 2015.

NATIONAL SCIENCE AND TECHNOLOGY COUNCIL; COMMITTEE ON TECHNOLOGY; SUBCOMMITTEE ON NANOSCALE SCIENCE, ENGINEERING, AND TECHNOLOGY. **National Nanotechnology Initiative - Strategic Plan**. Washington, DC. 2014.

NICOLLE, L. E. A practical guide to antimicrobial management of complicated urinary tract infection. **Drugs & Aging**, v. 18, n. 4, p. 243-254, 2001.

NICOLLE, L. E. Catheter associated urinary tract infections. **Antimicrob Resist Infect Control**. 2014; 3: 23.

NICOLLE, L. E. Complicated urinary tract infection in adults. **The Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology**, v. 16, n. 6, p. 349–360, 2005.

NICOLLE, L. E. Epidemiology of urinary tract infections. **Clinical Microbiology Newsletter**, v. 24, n. 18, p. 135–140, 2002.

NICOLLE, L. E.; BRADLEY, S.; COLGAN, R.; RICE, J. C.; SCHAEFFER, A.; HOOTON, T. M. Infectious Diseases Society of America Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Asymptomatic Bacteriuria in Adults. **Clinical Infectious Diseases**, 40:643–54, 2005.

NIRMALADEVI, D.; VENKATARAMANA, M.; SRIVASTAVA, R. K.; UPPALAPATI, S. R.; GUPTA, V. K.; YLI-MATTILA, T.; CLEMENT TSUI, K. M.; SRINIVAS, C.; NIRANJANA, S. R.; CHANDRAB, N. S. Molecular phylogeny, pathogenicity and toxigenicity of *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici. **Sci Rep.**, 6: 21367, 2016.

NITZAN, O.; ELIAS, M.; CHAZAN, B.; SALIBA. Urinary tract infections in patients with type 2 diabetes mellitus: review of prevalence, diagnosis, and management. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity**. 2015; 8: 129–136.

NORSWORTHY, A. N.; PEARSON, M. M. From Catheter to Kidney Stone: The Uropathogenic Lifestyle of *Proteus mirabilis*. **Trends in microbiology**, v. 25, n. 4, p. 304–15, abr. 2017.

NOWACK, B., KRUG, H. F., HEIGHT, M., 2011. 120 Years of Nanosilver History: Implications for Policy Makers. **Environ. Sci. Technol.** 45, 1177–1183.

O'NEILL, JIM . Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations - **The Review on Antimicrobial Resistance Chaired by Jim O'Neill**. 2014.

O'NEILL, JIM. Tackling Drug-Resistant Infections Globally: Final Report And Recommendations - **The Review On Antimicrobial Resistance Chaired by Jim O'Neill**. 2016.

O'HARA, C. M.; BRENNER, F. W.; MILLER, J. M. Classification, identification, and clinical significance of *Proteus*, *Providencia*, and *Morganella*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 13, n. 4, p. 534–546, 2000.

OLIVEIRA, A. C.; KOVNER, C. T.; SILVA, R. S. Nosocomial infection in an intensive care unit in a brazilian university hospital. **Revista Latino-Americana De Enfermagem**, Ribeirão Preto, v. 18, n. 2, p. 233-239, 2010.

PACIONI, N. L.; BORSARELLI, C. D.; REY, V.; VEGLIA, A. V. Synthetic Routes for the Preparation of Silver Nanoparticles - A Mechanistic Perspective. In: ALARCON, EMILIO, GRIFFITH, MAY, UDEKWU, KLAS I. **Silver Nanoparticle Applications - In the Fabrication and Design of Medical and Biosensing Devices**. Springer International Publishing, p. 13-46, 2015

PADRÃO, M. C.; MONTEIRO, M. L.; MACIEL, N. R.; VIANA, F. F. C. F.; FREITAS, N. A. Prevalência de infecções hospitalares em unidade de terapia intensiva. **Revista da Sociedade Brasileira de Clínica Médica**, v. 8, n. 2, p. 125-8, 2010.

PAL, S.; TAK, Y. K.; SONG, J. M. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the Gram-negative bacterium *Escherichia coli*. **Applied and environmental microbiology**, n. 73, v. 6, p. 1712-20, 2007.

PANNEK, J. Treatment of urinary tract infection in persons with spinal cord injury: guidelines, evidence, and clinical practice - A questionnaire-based survey and review of the literature. **The Journal of Spinal Cord Medicine**, v. 34, n. 1, p. 11–15, 2011.

PARAJE, M. G. Antimicrobial resistance in biofilms. In: Méndez-Vilas, A., editor. **Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances**, Microbiology book series, Badajoz, Espanha, v. 2, p. 736-44, 2011.

PASUPULETI, V. R.; PRASAD, T. N.; SHIEKH, R. A.; BALAM, S. K.; NARASIMHULU, G.; REDDY, C. S.; AB RAHMAN, I.; GAN, S.H. Biogenic silver nanoparticles using *Rhinacanthus nasutus* leaf extract: synthesis, spectral analysis, and antimicrobial studies. **Int J Nanomedicine**. 2013;8:3355-64.

PÉREZ, J. M. H.; SUÁREZ, P. M. R.; GILART, J. F. Pleural empyema secondary to pyonephrosis. **Archivos de Bronconeumología**, v. 44, n. 5, p. 285, 2008.

PHAN, H.; LEHMAN, D. Cerebral abscess complicating *Proteus mirabilis* meningitis in a newborn infant. **Journal of Child Neurology**, v. 27, n. 3, p. 405-407, 2012.

PIETRUCHA-DILANCHIAN, P.; HOOTON, T. M. Diagnosis, Treatment, and Prevention of Urinary Tract Infection. **Microbiology Spectrum**, 2016 Dec;4(6)

PINE, J. R.; HOLLMAN, J. L. Elevated pleural fluid pH in *Proteus mirabilis* empyema. **Chest**, v. 84, n. 1, p. 109-111, 1983.

PIRES, M. C. S.; FROTA, K. S.; JUNIOR, P. O. M.; CORREIA, A. F.; CORTEZ-ESCALANTE, J. J.; SILVEIRA, C. A. Prevalence and bacterial susceptibility of

community acquired urinary tract infection in University Hospital of Brasília, 2001 to 2005. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. 6, 2007.

POTERA, C. Understanding the Germicidal Effects of Silver Nanoparticles. **Environ Health Perspect.** Oct; 120(10): a386, 2012.

POTOČNIK, J. **Official Journal of the European Union – RECOMMENDATIONS - COMMISSION RECOMMENDATION** of 18 October 2011 on the definition of nanomaterial. Brussels, 2011.

POULOSE, S.; PANDA, T.; NAIR, P. P.; THÉODORE, T. Biosynthesis of silver nanoparticles. **American Scientific Publishers**, n. 2, v. 14, p. 2038–2049, 2014.

PRABHU, S.; POULOSE, E. K. Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. **International Nano Letters**. v. 2, n. 32, 2012.

PRASAD, T. N. V. K. V.; ELUMALAI, E; K; Biofabrication of Ag nanoparticles using *Moringa oleifera* leaf extract and their antimicrobial activity. **Asian Pac J Trop Biomed**. 2011 Dec; 1(6): 439–442.

QUINTEROS, M. A.; CANO ARISTIZÁBAL, V.; DALMASSO, P. R.; PARAJE, M. G.; PÁEZ, P. L. Oxidative stress generation of silver nanoparticles in three bacterial genera and its relationship with the antimicrobial activity. **Toxicol In Vitro**, Oct;36:216-223, 2016.

RAI, M.; KON, K.; INGLE, A.; DURAN, N.; GALDIERO, S.; GALDIERO, M. Broad-spectrum bioactivities of silver nanoparticles: the emerging trends and future prospects. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 98, 1951–1961, 2012.

RAJ, S.; JOSE, S.; SUMOD, U. S.; SABITHA, M. Nanotechnology in cosmetics: Opportunities and challenges. **J Pharm Bioallied Sci.** 2012 Jul-Sep; 4(3): 186–193.

RAMALINGAM, V.; VARUNKUMAR, K; RAVIKUMAR, V.; RAJARAM R. Target delivery of doxorubicin tethered with PVP stabilized gold nanoparticles for effective treatment of lung cancer . **Sci Rep**. 2018; 8: 3815.

RAMOS, A. P.; CRUZ, M. A. E.; TOVANI, C. B.; CIANCAGLINI, P. Biomedical applications of nanotechnology. **Biophys Rev**. 2017 Apr; 9(2): 79–89.

RATHI SER, P. R.; REKA, M.; POOVAZHAGI, R.; ARUL KUMAR, M.; MURUGESAN, K. Antibacterial and cytotoxic effect of biologically synthesized silver nanoparticles using aqueous root extract of *Erythrina indica* lam. **Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.** 2015 Jan 25;135:1137-44.

RAUPRICH, O.; MATSUSHITA, M.; WEIJER, C. J.; SIEGERT, F.; ESIPOV, S. E.; SHAPIRO, J. A. Periodic phenomena in *Proteus mirabilis* swarm colony development. **Journal of Bacteriology**, v. 178, n. 22, p. 6525–6538, 1996.

RAZ, R. Urinary tract infection in postmenopausal women. **Korean Journal of Urology**, v. 52, n. 12, p. 801–808, 2011.

RAZINE, R.; AZZOUZI, A.; BARKAT, A.; KHOUDRI, I.; HASSOUNI, F.; CHEFCHAOUNI, A. C.; ABOUQAL, R. Prevalence of hospital-acquired infections in the university medical center of Rabat, Morocco. **International Archives of Medicine**, v. 5, n. 26, 2012.

REIDY, B., HAASE, A., LUCH, A., DAWSON, K. A., LYNCH, I., 2013. Mechanisms of Silver Nanoparticle Release, Transformation and Toxicity: A Critical Review of Current Knowledge and Recommendations for Future Studies and Applications. **Materials**. 6, 2295-2350.

RICHARDS, M. J.; EDWARDS, J. R.; CULVER, D. H.; GAYNES, R. P. Nosocomial infections in medical intensive care units in the United States. National Nosocomial Infections Surveillance System. **Critical Care Medicine**, v. 27, n. 5, p. 887-92, 1999.

RIYUZO, M. C.; MACEDO, C. S.; BASTOS, H. D. Fatores associados à recorrência da infecção do trato urinário em crianças. **Revista Brasileira De Saúde Materno Infantil**, Recife, v. 7, n. 2, 2007.

RODRIGUES, F. J. B.; BARROSO, A. P. D. Etiologia e sensibilidade bacteriana em infecções do tracto urinário. **Revista Portuguesa de Saúde Pública**. v. 29, n. 2, p. 123-131, 2011.

RODRIGUES, F. J. B.; BARROSO, A. P. D. Etiologia e sensibilidade bacteriana em infecções do tracto urinário. **Revista Portuguesa de Saúde Pública**. v. 29, n. 2, p. 123-131, jul.-dez. 2011.

RODRÍGUEZ-RAZÓN, C. M.; YAÑEZ-SÁNCHEZ, I.; RAMOS-SANTILLAN, V. O.; VELÁSQUEZ-ORDÓÑEZ, C.; GUTIÉRREZ-RUBIO, S. A.; GARCÍA-GARCÍA, M. R.; LÓPEZ-ROA, R. I.; SÁNCHEZ-HERNÁNDEZ, P. E.; DANERI-NAVARRO, A.; GARCÍA-IGLESIAS, T. Adhesion, proliferation, and apoptosis in different molecular portraits of breast cancer treated with silver nanoparticles and its pathway-network analysis. **Int J Nanomedicine**. 2018; 13: 1081–1095

RORIZ-FILHO, J. S.; VILAR, F. C.; MOTA, L. M.; LEAL, C. L.; PISI, P. C. B. Infecção do trato urinário. **Medicina (Ribeirão Preto)**, v. 43, n. 2, p. 118-25, 2010.

ROWE, T. A.; JUTHANI-MEHTA, M. Diagnosis and Management of Urinary Tract Infection in Older Adults. **Infectious Disease Clinics of North America**. 2014; 28(1): 75–89.

ROYAL SOCIETY AND ROYAL ACADEMY OF ENGINEERING. Nanoscience and nanotechnologies: opportunities and uncertainties. London, 2004. Disponível em [https://royalsociety.org/~media/Royal\\_Society\\_Content/policy/publications/2004/9693.pdf](https://royalsociety.org/~media/Royal_Society_Content/policy/publications/2004/9693.pdf). Acessado em 17 mar. 2018.

RÓZALSKI, A.; SIDORCZYK, Z.; KOTEŁKO, K. Potential virulence factors of *Proteus* bacilli. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 61, n. 1, p. 65–89, 1997.

RUBIN, R. H.; SHAPIRO, E. D.; ANDRIOLE, V. T.; DAVIS, R. J.; STAMM, W. E. Evaluation of new anti-infective drugs for the treatment of urinary tract infection. Infectious diseases society of America and the food and drug administration. **Clinical Infectious Diseases**, v. 15, n. 1, p. 216-227, 1992.

RUSTIGIAN, R.; STUART, C. A. The biochemical and serological relationships of the organisms of the genus *Proteus*. **Journal of Bacteriology**, v. 49, n. 5, p. 419–436, 1945.

SAHAL, G.; NASSERI, B.; BILKAY, I. S.; PISKIN, E. Anti-biofilm effect of nanometer scale silver (NmSAg) coatings on glass and polystyrene surfaces against *P. mirabilis*, *C. glabrata* and *C. tropicalis* strains. **J Appl Biomater Funct Mater** 2015 Dec 18;13(4):e351-5

SALES JÚNIOR, J. A. L.; DAVID, C. M.; HATUM, R.; SOUZA, P. C. S. P.; JAPIASSÚ, A.; PINHEIRO, C. T. S.; FRIEDMAN, G.; SILVA, O. B.; DIAS, M. D.; KOTERBA, E.; DIAS, F. S.; PIRAS, C., Grupo de Estudo de Sepse do Fundo AMIB; LUIZ, R. R. An epidemiological study of sepsis in intensive care units. Sepsis brazil study. **Revista Brasileira Terapia Intensiva**, v. 18, n. 1, 2006

SANTOS, A. C. R. B. dos; CARVALHO, A. A.; RIBEIRO, C. F. M.; SOUSA, F. C. de; SANTANA, H. T.; SIQUEIRA, H. N.; MOURA, H. L. C. A. de; BARROS, L. S.; MORELO, L. T.; GONÇALVES, M. R. S.; NOGUEIRA, M. D. S. P. NOTA TÉCNICA GVIMS/GGTES Nº 02/2017 - Critérios Diagnósticos das Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde para Notificação dos Indicadores Nacionais. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, p. 21-22, 2017.

SCANDORIEIRO, S.; DE CAMARGO, L. C.; LANCHEROS, C. A. C.; YAMADA-OGATTA, S. F.; NAKAMURA, C. V.; DE OLIVEIRA, A. G.; ANDRADE, C. G. T. J.; DURAN, N.; NAKAZATO, G.; KOBAYASHI, R. K. T. Synergistic and Additive Effect of Oregano Essential Oil and Biological Silver Nanoparticles against Multidrug-Resistant Bacterial Strains. **Front Microbiol.**, v. 7, n. 760. mai. 2016.

SCHAEFFER, A. J.; ANDERSON, R.U. Efficacy and tolerability of norfloxacin vs. ciprofloxacin in complicated urinary tract infection. **Urology**, v. 40, n. 5, p. 446-449, 1992.

SCHAFFER, J. N.; PEARSON, M. M. *Proteus mirabilis* and Urinary Tract Infections. **Microbiol Spectr.**, v. 3, n. 5, out. 2015.

SCHAPPERT, S. M.; BURT, C.W. Ambulatory care visits to physician offices, hospital outpatient departments, and emergency departments: United States, 2001–02. **National Center for Health Statistics. Vital and Health Statistics**, Washington, s. 13, n. 159, 2006.

SCHMIEMANN, G.; KNIEHL, E.; GEBHARDT, K.; MATEJCZYK, M. M.; HUMMERS-PRADIER, E. The diagnosis of urinary tract infection: a systematic review. **Deutsches Ärzteblatt International**, v. 107, n. 21, p. 361–67, 2010.

SELLATURAY, S. V.; NAIR, R.; DICKINSON, I. K.; SRIPRASAD, S. *Proteus*: mythology to modern times. **Indian Journal of Urology**, v. 28, n. 4, p. 388–391, 2012.

SHAPIRO, J. A.; TRUBATCH, D. Sequential events in bacterial colony morphogenesis. **Physica D: Nonlinear Phenomena**, v. 49, p. 214-223, 1991.

SHARMAA, Y. C.; SRIVASTAVA, V.; SINGH, V. K.; KAUL, S. N.; WENG, C. H. Nano-adsorbents for the removal of metallic pollutants from water and wastewater. **Environ. Technol.**, 30: 583–609, 2009.

SHEERIN, N. S. Urinary tract infection, **Medicine**, v. 39, n. 7, p. 384-389, jul. 2011.

SHRIVASTAVA, S.; BERA, T.; ROY, A.; SINGH, G.; RAMACHANDRARAO, P.; DASH, D. Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles. **Nanotechnology**. v. 18, n. 22, 2007.

SIDDIQI, K. S.; HUSEN, A.; RAO, R. A. K. A review on biosynthesis of silver nanoparticles and their biocidal properties. **J Nanobiotechnology**, 16: 14, 2018.

SILEIKA, T. S.; KIM, H. –D. MANIAK, P.; MESSERSMITH P. B. Antibacterial Performance of Polydopamine-Modified Polymer Surfaces Containing Passive and Active Components. **Appl. Mater. Interfaces**, n. 3, v.12, p. 4602–4610, dez. 2011.

SILVA E SOUZA, A. C.; CAIS, D. P.; KRUMMENAUER, E. C.; TRENCH, F. J. P; MACHADO, J. A. A.; CARNEIRO, M.; BALTIERI, S. Infecção do trato urinário. In: Critérios Diagnósticos de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA**, v. 2, p. 107-119, 2017.

SINGH, P. K.; JAIRATH, G.; AHLAWAT, S. S. Nanotechnology: a future tool to improve quality and safety in meat industry. **J Food Sci Technol**. 2016 Apr; 53(4): 1739–1749.

SONDI, I.; SALOPEK-SONDI, B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. **Journal of Colloid and Interface Science**. 275, 177–182, 2004.

SOO-HWAN, K.; LEE, H. S.; RYU, D. S.; CHOI, S. J.; LEE, D. S. Antibacterial Activity of Silver-nanoparticles Against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **Korean J. Microbiol. Biotechnol**. 39, 77–85, 2011.

STAMM, A. M. N. de F.; COUTINHO, M. S. S. de A. Infecção do trato urinário relacionada ao cateter vesical de demora: incidência e fatores de risco. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 45, n. 1, p. 27-33, 1999.

STARK, R. P.; MAKI, D. G. Bacteriuria in the catheterized patient — what quantitative level of bacteriuria is relevant? **New England Journal of Medicine**, v. 311, p. 560-564, 1984.

STICKLER, D. J. Clinical complications of urinary catheters caused by crystalline biofilms: something needs to be done. **Journal of Internal Medicine**, v. 276, n. 2, p. 120-9, ago. 2014.

STICKLER, D. J.; FENELEY, R. C. L. The encrustation and blockage of long-term indwelling bladder catheters: a way forward in prevention and control. **Spinal Cord**, v. 48, n. 11, p. 784–790, nov. 2010.

STICKLER, D. J.; ZIMAKOFF, J. Complications of urinary tract infections associated with devices used for long-term bladder management. **Journal of Hospital Infection**, v. 28, n. 3, p. 177-194, 1994.

STONE, V.; MILLER, M. R.; CLIFT, M. J. D.; ELDER, A.; MILLS, N. L.; MØLLER, P.; SCHINS, R. P. F.; VOGEL, U.; KREYLING, W. G.; ALSTRUP JENSEN, K.; KUHLBUSCH, T. A. J.; SCHWARZE, P. E.; HOET, P.; PIETROIUSTI, A.; DE VIZCAYA-RUIZ, A.; BAEZA-SQUIBAN, A.; TEIXEIRA, J. P.; TRAN, C. L.; CASSEE, F. R. Nanomaterials Versus Ambient Ultrafine Particles: An Opportunity to Exchange Toxicology Knowledge. **Environ Health Perspect**. 2017 Oct 10;125(10):106002. doi: 10.1289/EHP424.

SU, H. L.; CHOU, C. C.; HUNG, D. J.; LIN, S. H.; PAO, I. C.; LIN, J. H.; HUANG, F. L.; DONG, R. X.; LIN, J. J. The disruption of bacterial membrane integrity through ROS generation induced by nanohybrids of silver and clay. **Biomaterials**. 30, 5979–5987, 2009.

SU, L.; YU, Y.; ZHAO, Y.; LIANG, F.; ZHANG, X. Strong Antibacterial Polydopamine Coatings Prepared by a Shaking-assisted Method. **Scientific Reports**, v. 6, n. 24420, abr. 2016.

SWARTJES, J. J.; SHARMA, P. K.; VAN KOOTEN, T. G.; VAN DER MEI, H. C.; MAHMOUDI, M.; BUSSCHER, H. J.; ROCHFORD, E. T. Current Developments in Antimicrobial Surface Coatings for Biomedical Applications. **Curr Med Chem**. 2015;22(18):2116-29.

TAN, A; CHAWLA, R.; NATASHA, G.; MAHDIBEIRAGHDAR, S.; JEYARAJ, R.; RAJADAS, J.; HAMBLIN, M. R.; SEIFALIAN, A. M. Nanotechnology and regenerative therapeutics in plastic surgery: The next frontier. **J Plast Reconstr Aesthet Surg**. 2016 Jan; 69(1): 1–13.

TAN, C. W.; CHLEBICKI, M. P. Urinary tract infections in adults. **Singapore Medical Journal**, 2016 Sep; 57(9): 485–490.

TASBAKAN, M. I.; DURUSOY, R.; PULLUKCU, H.; SIPAHI, O. R.; ULUSOY, S. Hospital-acquired urinary tract infection point prevalence in Turkey: Differences in risk factors among patient groups. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 12, p. 31, 2013.

TENKE, P.; KOVACS, B.; JOHANSEN, T. E. B.; MATSUMOTO, T.; TAMBYAH, P. A.; NABER, K. G. European and asian guidelines on management and prevention of catheter-associated urinary tract infections. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 31, n. 1, p. 68–78, 2008

VAQUÉ, J.; ROSSELLÓ, J.; TRILLA, A.; MONGE, V.; GARCÍA-CABALLERO, J.; ARRIBAS, J. L.; BLASCO, P.; SÁENZ-DOMÍNGUEZ, J. R.; ALBERO, I.; CALBO, F.; BARRIO, J.; HERRUZO, R.; SÁENZ-GONZÁLEZ, C.; ARÉVALO, J. M.; EPINE Working Group. Nosocomial infections in Spain: results of five nationwide serial prevalence surveys (EPINE Project, 1990–1994). **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 17, n. 5, p. 293-297, 1996.

VASUDEV, R.; MATHEW, S.; AFONINA, N. Characterization of submicron (0.1-1  $\mu\text{m}$ ) particles in therapeutic proteins by nanoparticle tracking analysis. **J Pharm Sci**. 2015 May;104(5):1622-31.

VERMA, A.; BHANI, D.; TOMAR, V.; BACHHIWAL, R.; YADAV, S. Differences in Bacterial Colonization and Biofilm Formation Property of Uropathogens between the Two most Commonly used Indwelling Urinary Catheters. **J Clin Diagn Res**. 10(6): PC01–PC03, jun. 2016.

VERMA, S. K.; PRABHAT, K. C.; GOYAL, L.; RANI, M.; JAIN, A. A critical review of the implication of nanotechnology in modern dental practice. **Natl J Maxillofac Surg**. 2010 Jan-Jun; 1(1): 41–44.

VERT, M.; DOI, Y.; HELLWICH, K-H.; HESS, M.; HODGE, P.; KUBISA, P.; RINAUDO, M.; SCHUÉ, F. Terminology for biorelated polymers and applications (IUPAC Recommendations 2012). **Pure Appl. Chem.**, Vol. 84, No. 2, pp. 377–410, 2012.

VIMBELA, G. V.; NGO, S. M.; FRAZE, C.; YANG, L.; STOUT, D. A. Antibacterial properties and toxicity from metallic nanomaterials. **Int J Nanomedicine**. v. 24, n. 12, p. 3941-3965, mai. 2017.

WAGENLEHNER, F.M.; CEK, M.; NABER, K.G.; KIYOTA, H.; BJERKLUND-JOHANSEN, T. E. Epidemiology, treatment and prevention of healthcare-associated urinary tract infections. **World Journal Of Urology**, v. 30, n. 1, p. 59-67, 2012.

WANG, J. T.; CHEN, P. C.; CHANG, S. C.; SHIAU, Y. R.; WANG, H. Y.; LAI, J. F.; HUANG, I. W.; TAN, M. C.; LAUDERDALE, T. L. Y.; TSAR HOSPITALS. Antimicrobial susceptibilities of *Proteus mirabilis*: a longitudinal nationwide study from the Taiwan surveillance of antimicrobial resistance (TSAR) program. **BMC Infectious Diseases**, v. 14, p. 486, 2014.

WANG, L.; HU, C.; SHAO, L. The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future. **Int J Nanomedicine**. 12: 1227–1249, fev. 2017.

WANG, R.; NEOH, K. G.; KANG, E. T.; TAMBYAH, P. A.; CHIONG, E. Antifouling coating with controllable and sustained silver release for long-term inhibition of infection and encrustation in urinary catheters. **J Biomed Mater Res B Appl Biomater**, v. 103, n. 3, p. 519-28, abr. 2015.

WATANAKUNAKORN, C.; PERNI S. C. *Proteus mirabilis* bacteremia: a review of 176 cases during 1980–1992. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, v. 26, n. 4, p. 361-367, 1994.

WATSON, J. G.; CHOW, J. C.; PARK, K.; LOWENTHAL, D. H.; PARK, K. Nanoparticle and Ultrafine Particle Events at the Fresno Supersite. **Journal of the Air & Waste Management Association**, 56:4, 417-430, 2006. DOI: 10.1080/10473289.2006.10464526.

WEF – World Economic Forum. Global Risks 2013 Eighth Edition - An Initiative of the Risk Response Network. Geneva, 2013.

WEISSIG, V.; PETTINGER, T. K.; MURDOCK, N. Nanopharmaceuticals (part 1): products on the market. **Int J Nanomedicine**. 2014 Sep 15;9:4357-73. doi: 10.2147/IJN.S46900. eCollection 2014.

WENNER, J. J.; RETTGER, L. F. A systematic study of the *Proteus* group of bacteria. **Journal of Bacteriology**, vol. 4 , n. 4, p. 331-353, 1919.

WHO. **World Health Organization** - GLOBAL ACTION PLAN ON ANTIMICROBIAL RESISTANCE. Geneva, 2015.

WILDING, L. A.; BASSIS, C. M.; WALACAVAGE, K.; HASHWAY, S.; LEROUEIL, P. R.; MORISHITA, M.; MAYNARD, A. D.; PHILBERT, M. A.; BERGINA, I. L. Repeated dose (28 day) administration of silver nanoparticles of varied size and coating does not significantly alter the indigenous murine gut microbiome. **Nanotoxicology**. 2016; 10(5): 513–520.

WILLIAMS, F. D.; SCHWARZHOF, R. H. Nature of the swarming phenomenon in *Proteus*. **Annual Review of Microbiology**, v. 32, p. 101–122, 1978.

WU, L. T.; WU, H. J.; CHUNG, J. G.; CHUANG, Y. C.; CHENG, K. C.; YU, W. L. Dissemination of *Proteus mirabilis* isolates harboring CTX-M-14 and CTX-M-3 beta-lactamases at 2 hospitals in Taiwan. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 54, n. 2, p. 89-94, 2006.

XIAO, D.; WU, Z.; SONG, M.; CHUN, J.; SCHENTER, G. K.; LI, D. Silver Nanocube and Nanobar Growth via Anisotropic Monomer Addition and Particle Attachment Processes. **Langmuir**. 2018 Jan 30;34(4):1466-1472.

XIU, Z. M.; ZHANG, Q. B.; PUPPALA, H. L.; COLVIN, V. L.; ALVAREZ, P. J. Negligible particle-specific antibacterial activity of silver nanoparticles. **Nano Lett.** 8;12(8):4271-5, 2012.

YAO, D.; SONG, T.; ZHENG, B.; XIAO, S.; HUANG, F.; LIANG, H. The combination of gold nanorods and nanoparticles with DNA nanodevices for logic gates construction. **Nanotechnology**. 2015 Oct 23;26(42):425601.

YIN, Y.; YANG, X.; HU, L.; TAN, Z.; ZHAO, L.; ZHANG, Z.; LIU, J.; JIANG, G. Superoxide-Mediated Extracellular Biosynthesis of Silver Nanoparticles by the Fungus *Fusarium oxysporum*. **Environ. Sci. Technol. Lett.**, 3 (4), pp 160–165, 2016.

ZHANG, H.; SHE, Z.; SU, H.;KERMAN, K; KRAATZ, H. B. Effects of bipyramidal gold nanoparticles and gold nanorods on the detection of immunoglobulins. **Analyst**. 2016 Oct 17;141(21):6080-6086.

ZHANG, W.; LI, Y.; NIU, J.; CHEN, Y. Photogeneration of reactive oxygen species on uncoated silver, gold, nickel, and silicon nanoparticles and their antibacterial effects. **Langmuir**, 16; 29(15):4647-51, 2013.

ZHANG, Y.; YANG, M.; PORTNEY, N. G.; CUI, D.; BUDAK, G.; OZBAY, E.; OZKAN, M.; OZKAN, C. S. Zeta potential: a surface electrical characteristic to probe the interaction of nanoparticles with normal and cancer human breast epithelial cells. **Biomedical Microdevices** 2008, Volume 10, Issue 2, pp 321–328.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo geral**

Avaliar a atividade antibacteriana e antibiofilme de AgNPs biossintetizadas por *F. oxysporum* contra isolado uropatogênico de *P. mirabilis* e verificar a capacidade de cateteres urinários revestidos por essas AgNPs, utilizando PDA como agente de ancoragem, em inibir a incrustação.

#### **3.2. Objetivos específicos**

- Averiguar a atividade antibacteriana das AgNPs;
- Realizar a cinética de ação;
- Verificar a capacidade das AgNPs de inibir a formação de biofilme em microplacas de poliestireno;
- Averiguar a capacidade das AgNPs de eliminar biofilmes maduros em microplacas de poliestireno;
- Revestir cateteres Foley com as AgNPs;
- Determinar a capacidade anti-incrustante do revestimento dos cateteres

#### 4. ARTIGO CIENTÍFICO

### USO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA NA PREVENÇÃO DA COLONIZAÇÃO DE CATETER URINÁRIO POR *PROTEUS MIRABILIS* UROPATOGÊNICO MULTIRRESISTENTE.

SAIKAWA, G. I. A.<sup>1</sup>; ROCHA, S. P. D.<sup>1\*</sup>

1- Departamento de Microbiologia – Universidade Estadual de Londrina (UEL)

\* Autor correspondente, email: rochaspd@uel.br

#### Resumo

*Proteus mirabilis* é um dos principais agentes causadores de infecção urinária associada à cateter, sendo associado ao entupimento do cateter e à urolitíase. A funcionalização de superfícies com antimicrobianos tem sido usada para redução de infecções. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas por *Fusarium oxysporum* contra isolado clínico de *P. mirabilis* uropatogênico. As AgNPs foram sintetizadas pela adição de AgNO<sub>3</sub> ao filtrado fúngico. Análise de tamanho, potencial Zeta e morfologia das AgNPs foram determinados por espalhamento de luz dinâmico, laser doppler eletroforese, e microscopia eletrônica de transmissão, respectivamente. Os ensaios de microdiluição em caldo e cinética de tempo de morte foram usados para determinar a atividade antibacteriana. O ensaio de redução do XTT foi utilizado para determinação da atividade antibiofilme. Além disso, fragmentos de catéter foram revestidos com duas (2C) e três (3C) camadas de AgNPs usando PDA como agente ancorante. A superfície modificada foi caracterizada por EDX. Os cateteres foram testados quanto ao tempo de inibição de incrustação e a inibição de formação de biofilme foi analisada por microscopia confocal espectral (MCE). As AgNPs apresentaram formato esférico, com tamanho médio de 126,3 nm e potencial Zeta de -36,86 mV. A CIM foi 62,5 µM, causando inviabilidade celular total após 4 horas de ação. A formação de biofilme foi inibida em 76,4% e o biofilme maduro foi reduzido em 1,9%. A análise por EDX confirmou a presença e homogeneidade da prata no revestimento. A incrustação dos catéteres 2C e 3C aconteceu após 13,5 ±

0,7 e  $21 \pm 1,4$  dias, respectivamente. A MCE mostrou que o revestimento do catéter reduziu a intensidade de fluorescência em mais de 98%. Dessa forma, conclui-se que AgNPs biossintetizadas por *F. oxysporum* possuem grande atividade antibacteriana e antibiofilme, sendo uma potencial alternativa ao tratamento de *P. mirabilis* uropatogênico.

#### 4.1. INTRODUÇÃO

*Proteus mirabilis* é uma espécie de bactéria Gram-negativa pertence à família Enterobacteriaceae (BREED; MURRAY; SMITH, 1957) conhecido por ser um dos principais agentes etiológicos na infecção do trato urinário associado a cateter (ITU-AC) (SCHAFFER; PEARSON, 2015). É capaz de produzir uma urease muito potente, capaz de hidrolisar a ureia muito mais rápido do que as ureases de outros microrganismos (STICKLER; FENELEY, 2010) com consequente formação de amônia, levando à formação de cristais de estruvita e apatita (GRIFFITH; MUSHER, 1976). Esses cristais ficam presos no biofilme em formação resultando na mineralização do biofilme, causando bloqueio do cateter com consequente retenção da urina na bexiga. Isso leva à complicações como o refluxo da urina para os rins, favorecendo a urolitíase, e problemas mais sérios como como pielonefrite, septicemia, choque e até a morte do paciente (HOLLING et al., 2014; NORSWORTHY; PEARSON, 2017; STICKLER, 2014).

Superfícies com propriedades antimicrobianas tem sido empregadas na tentativa de reduzir as taxas de infecções nosocomiais (CAMPOS et al., 2016). A polidopamina (PDA) tem sido usada neste contexto, uma vez que é capaz de se ligar a, virtualmente, qualquer superfície (LEE et al., 2007). A PDA é formada pela polimerização oxidativa do cloridrato de dopamina em  $\text{pH} > 7,5$ . Em condições alcalinas e na presença de oxigênio, a dopamina forma finos filmes aderentes de PDA (DING; FLOREN; TAN, 2016; SILEIKA et al., 2011). A camada de PDA adere intimamente à superfície por fortes interações covalentes e não covalentes, resultando em um revestimento altamente estável (KARKHANECHI; TAKAGI; MATSUYAMA, 2014). Essa característica permite que a PDA atue como um agente de ancoragem, ligando um agente antimicrobiano à uma superfície (SU et al., 2016; WANG et al., 2015)

Nanopartículas de prata (AgNPs) tem sido muito estudadas por conta de sua forte atividade antimicrobiana e relativa baixa toxicidade aos humanos (LEE et al., 2008). Diversos métodos de síntese de AgNPs são conhecidos (HORIKOSHI; SERPONE, 2013) e podem ser classificados em químicos, físicos e biológicos. Dentre esses, a síntese biológica apresenta as vantagens de não utilizar agentes redutores e estabilizantes prejudiciais presentes nos outros métodos (VIMBELA et al., 2017). Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antibacteriana de AgNPs biossintetizadas pelo fungo *F. oxysporum* contra isolado uropatogênico de *P. mirabilis* e verificar a eficiência de cateteres urinários revestidos com AgNPs, utilizando PDA como agente de ancoragem, em inibir a incrustação.

## **4.2. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.2.1. Microrganismos**

O isolado de *P. mirabilis* uropatogênico é proveniente de urina de paciente masculino internado na enfermaria do Hospital Universitário de Londrina no ano de 2015 e foi escolhido para os testes de atividade antibacteriana devido ao fato de ser patogênico e produtor de ESBL com resistência a múltiplos antimicrobianos (amicacina, gentamicina, amoxicilina+ácido clavulânico, ampicilina, aztreonan, cefalotina, cefuroxima, ceftazidima, ceftriaxona, cefepime, ciprofloxacina, norfloxacina, ácido nalidixico, sulfametoxazol+trimetoprim). *F. oxysporum*, cepa 551, da coleção de cultura do Laboratório de Genética Molecular da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" -USP (Piracicaba, São Paulo, Brazil) foi utilizada para a síntese de AgNPs.

### **4.2.2. Biossíntese de AgNPs**

A biossíntese de AgNP foi realizada utilizando o fungo *F. oxysporum*, cepa 551, oriundo da coleção de cultura do Laboratório de Genética Molecular da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" -USP (Piracicaba, São Paulo, Brazil) por um processo descrito por Durán e colaboradores (2005), com modificações (DURÁN et al., 2005).

O fungo foi cultivado em ágar Malte (Acumedia<sup>®</sup>) com 0,5% (m/v) de extrato de levedura (Kasvi<sup>®</sup>) por 7 dias, a 28 °C. A biomassa de fungo gerada foi pesada e suspensa em água destilada esterilizada a 0,1 g/ml. O crescimento fúngico

em líquido correu por 3 dias a 28 °C em agitação a 150 rpm. Em seguida, foram realizadas 4 filtrações distintas consecutivas, em gaze, papel filtro 42 (125mm Ø) e membrana de bomba à vácuo (poros 8 µm). À esse filtrado foi adicionado AgNO<sub>3</sub>.10 mM (NUCLEAR) e a solução foi incubada por 15 dias a 28 °C no escuro. O indicativo da produção das nanopartículas foi a mudança de cor da solução, de amarelado para marrom escuro.

#### **4.2.3. Caracterização das AgNPs**

O diâmetro das AgNPs biossintetizadas foi determinado por espectroscopia de correlação de fótons e o potencial Zeta por laser doppler eletroforese, usando o ZetaSizer NanoZS (Malvern) para ambos.

A morfologia das AgNPs foi determinada por microscopia eletrônica de transmissão (MET), através do microscópio eletrônico de transmissão FEI Tecnai 12.

#### **4.2.4. Atividade antibacteriana das AgNPs**

##### **4.2.4.1. Ensaio de microdiluição em caldo**

A análise da concentração inibitória mínima (CIM) foi realizada através do método de microdiluição em caldo, seguindo as orientações preconizadas pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2015).

##### **4.2.4.1.1. Ajuste do inóculo**

O isolado de *P. mirabilis* foi cultivado em ágar Müeller Hinton (MHA) (Difco™) por 18-24h a 36°C em estufa bacteriológica. O inóculo foi preparado pelo método de suspensão direta de colônias, onde as colônias previamente isoladas em ágar foram suspensas em solução salina NaCl 0,9%, esterilizada, até que atingisse a turbidez equivalente à escala 0.5 McFarland, resultando em densidade celular aproximada de 1-2x10<sup>8</sup> UFC/ml. Em seguida, foi feita uma diluição em caldo Müeller Hinton (MHB) para atingir uma densidade celular de 1x10<sup>6</sup> UFC/ml.

##### **4.2.4.1.2. Preparo das concentrações de AgNPs**

Foram testadas sete concentrações (500, 250, 125, 62.5, 31.2, 15.6, e 7.8 µM) em triplicatas. O preparo, inicialmente, foi feito com o dobro das concentrações

finais (1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.2, e 15.6  $\mu\text{M}$ ), levando-se em conta o volume adicionado de inóculo posteriormente. O estoque de AgNP foi diluído em MHB para atingir a primeira concentração de 1000  $\mu\text{M}$  e, a partir dele, seguiu-se uma diluição seriada para atingir as demais concentrações.

#### **4.2.4.1.3. Inoculação**

A determinação da CIM foi feita em microplacas de poliestireno de 96 poços. Cinquenta microlitros do composto a 1000  $\mu\text{M}$  foram adicionados em três poços (triplicata). Em seguida, 50  $\mu\text{L}$  do inóculo de densidade celular  $1 \times 10^6$  UFC/ml foi adicionada em cada poço, diluindo a concentração do composto para 500  $\mu\text{M}$  e a densidade celular do inóculo para  $5 \times 10^5$  UFC/ml. O controle positivo foi feito com 50  $\mu\text{L}$  do inóculo em 50  $\mu\text{L}$  de MHB e o controle negativo foi feito apenas com MHB. O mesmo se repetiu para as outras concentrações. Depois, a placa foi incubada a  $37^\circ\text{C}$  por 18-24h.

#### **4.2.4.1.4. Determinação da CIM**

Após o tempo de incubação, os poços dos tratamentos foram comparados com os poços controles. A determinação da CIM foi feita visualmente e foi acatada como sendo a menor concentração de AgNPs capaz de inibir completamente o crescimento do microorganismo, onde não foi observada turvação, apresentando conteúdo límpido.

#### **4.2.5. Curva de tempo de morte**

A curva de tempo de morte foi feita seguindo as orientações preconizadas pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 1999). O teste foi realizado em intervalos de 0', 15', 30', 60', 2h, 4h, 8h, 12h, e 24h de incubação. As colônias foram contadas para construção de um gráfico de  $\log_{10}$  UFC/ml x Tempo.

##### **4.2.5.1. Ajuste do inóculo**

O preparo do inóculo para obtenção de  $10^6$  UFC/ml neste ensaio foi realizado da mesma forma como descrito no item 4.4.1.1.

##### **4.2.5.2. Inoculação**

Um volume final de 6 ml contendo AgNPs em concentração referente à CIM e com inóculo atingindo concentração final de, aproximadamente,  $5 \times 10^5$  UFC/ml

foi preparado. O controle positivo foi feito de maneira similar, porém sem adição de AgNP.

#### **4.2.5.3. Determinação da curva de morte**

As soluções preparadas no item 4.5.2. foram incubadas a 36°C e alíquotas foram coletadas nos tempos pré-determinados. Foram feitas diluições de acordo com a necessidade para tornar possível a contagem de colônias. Assim feito, foram plaqueadas alíquotas de 50 µL em MHA e as placas foram incubadas por 18-24 horas. Após esse período, foi contado o número de colônias formadas.

Para se determinar o número de bactérias no inóculo inicial, levou-se em consideração a compensação da diluição e da alíquota, multiplicando-se o número de colônias contadas x fator de diluição x fator da alíquota a fim de se obter o número de UFC em um ml do inóculo inicial. A curva foi construída através de um gráfico de  $\log_{10}$  UFC/ml x tempo.

#### **4.2.6. Teste de atividade antibiofilme em placa de poliestireno**

##### **4.2.6.1. Ensaio de inibição da formação de biofilme**

O cultivo da bactéria foi feito em MHA por 18-24 horas a 37°C para formação de colônias. As colônias formadas foram suspensas em caldo MHB na turvação padrão 0,5 da escala de McFarland. Em seguida, o inóculo foi diluído em MHB para, aproximadamente,  $10^6$  UFC/ml.

A capacidade de inibição da formação de biofilme de *P. mirabilis* pelas AgNPs foi testada na concentração de CIM, supra-CIM e sub-CIM. Assim sendo, foi preparada uma solução de AgNPs a 250 µM, seguida de diluição seriada para atingir as concentrações de 125 e 62,5 µM. Em seguida, 100 µL foram pipetados em cinco poços para cada uma das concentrações (quintuplicata), juntamente com 100 µL do inóculo, gerando concentrações finais de 125, 62,5, e 31,25 µM de AgNP e  $10^5$  UFC/ml. O controle negativo foi composto apenas por 200 µL MHB e o controle positivo por 100 µL de MHB e 100 µL de inóculo. A placa foi incubada por 24 horas a 37°C.

#### 4.2.6.2. Ensaio de destruição do biofilme

Um inóculo ajustado na turvação padrão 0,5 MacFarland foi feito de maneira semelhante ao descrito anteriormente. Em seguida, o inóculo foi diluído para, aproximadamente,  $5 \times 10^5$  UFC/ml em MHB e 200  $\mu$ L foram transferidos para poços em microplacas de poliestireno. A placa foi incubada a 37 °C por 24 horas para permitir a formação do biofilme. Depois desse período, os poços foram lavados 3 vezes com 200  $\mu$ L de PBS ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0,115%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,02%, NaCl 0,8%, KCl 0,02%, pH 7.4) para remoção das células não aderidas.

Soluções nas concentrações de CIM, supra-CIM, e sub-CIM de AgNPs foram preparadas em MHB e 200  $\mu$ L de cada solução foram pipetados sobre o biofilme formado. Em seguida, a placa foi incubada novamente por 24 horas a 37 °C. O teste foi realizado em quintuplicata.

#### 4.2.6.3. Determinação da viabilidade celular por XTT

O XTT é um sal tetrazólio, composto orgânico heterocíclico, que substitui o aceptor final natural no processo redox biológico (MELETIADIS et al., 2001). Assim, células vivas reduzem o anel tetrazol convertendo o XTT em formazan, substância colorida solúvel em água, que pode ser visualizado e quantificado em espectrofotometria (KNIGHT; DANCIS, 2006; MELETIADIS et al., 2001). O valor da absorbância é proporcional ao número de células ativas. Nas bactérias, ocorre transferência de hidrogênio, mediada por flavoproteínas, do substrato das desidrogenases da cadeia respiratória localizadas na membrana citoplasmática para o sal, causando essa redução. A menadiona atua como um substituto da flavoproteína, atuando como transportador artificial de elétrons, aumentando a reação (HASHIMOTO; KALUZA; BURSTONE, 1964; MELETIADIS et al., 2001; PEETERS; NELIS; COENYE, 2008).

A atividade metabólica das células que compunham o biofilme foi determinada pelo ensaio de redução do XTT (2,3-bis(2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxanilide) tanto no teste de inibição quanto no teste de destruição do biofilme, descrito por Bazargani e Rohloff (BAZARGANI; ROHLOFF, 2016). A solução de XTT foi preparada em PBS em concentração de 1 mg/ml, esterilizada por filtração e armazenada a -20 °C. Solução de menadiona a 1

mM foi preparada em acetona. Uma solução de trabalho de XTT/menadiona foi preparada antes de cada ensaio em proporção de 12,5:1 (v/v).

Após o período de incubação dos ensaios de inibição e destruição do biofilme, os poços foram esvaziados e lavados 3 vezes com PBS. Em seguida, 100 µl de PBS e 13,5 µL de solução de XTT-menadiona foram adicionados em cada poço. A placa foi incubada por 4 horas a 37 °C no escuro e a leitura foi feita em espectrofotômetro a 490 nm. O valor de absorbância do controle negativo foi subtraído dos valores dos poços testes para eliminar resultados falsos por interferência de fundo. O cálculo de porcentagem de inibição foi feito de acordo com trabalho previamente descrito (CHAIEB et al., 2011), onde % inibição de biofilme =  $[(OD \text{ controle} - OD \text{ amostra}) / OD \text{ controle}] \times 100$ .

#### **4.2.7. Revestimento do catéter**

O revestimento de cateteres de Foley de látex siliconado de três vias (SOLIDOR<sup>®</sup>, N<sup>o</sup> 24) foi baseado no descrito por Wang e colaboradores (2015), com modificações. O uso da polidopamina (PDA) como agente de ancoragem permite que se produzam camadas alternadas de PDA e AgNPs. Sendo assim, dois tipos de cateteres foram preparados; um cateter contendo duas camadas e um cateter com três camadas de AgNPs biossintetizadas. O controle do número de camadas permite a manipulação da quantidade de prata, com consequente melhora na ação antibacteriana e anti-incrustante. (WANG et al., 2015).

Para o procedimento, os cateteres prístinos foram cortados em pedaços de 6 cm. Os segmentos de cateteres foram revestidos, primeiramente, com uma camada de PDA. Para tal, 10 ml de solução de dopamina (2 mg/ml) foram preparados em um tubo de centrifugação de 15 ml, adicionando 20 mg de cloridrato de dopamina (Sigma-Aldrich) em 10 ml de Tampão Tris (10 mM • pH 8,5). Esses fragmentos foram incubados por 24 horas em temperatura ambiente com agitação de 250 rpm. Após incubação, os fragmentos foram deixados secar por uma hora em cabine de fluxo laminar. Depois disso, os segmentos foram imersos em 10 ml de solução de AgNPs biossintetizadas (10 mM) e foram incubados novamente nas mesmas condições para revestimento com a primeira camada de AgNPs.

Os procedimentos de revestimento dos segmentos se repetiram até que o cateter estivesse revestido com duas camadas de AgNPs e três camadas de polidopamina (Figura 3). Esse catéter foi chamado de cateter 2C. A partir desse

fragmento, mais uma camada de AgNPs foi depositada, finalizando com uma última camada de PDA, originando o cateter 3C, com três camadas de AgNPs e quatro camadas de PDA.

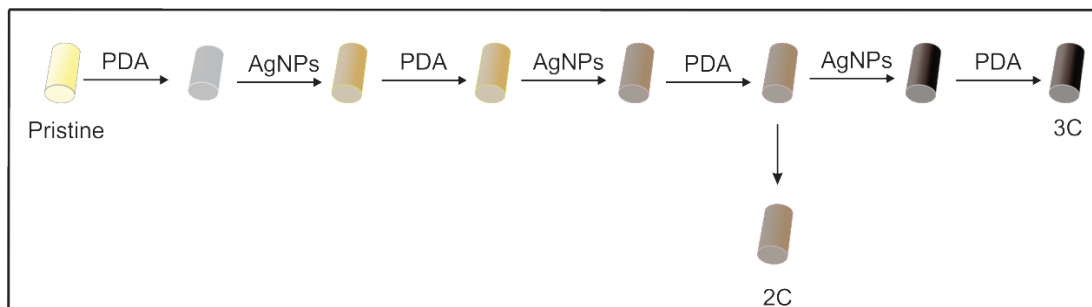


Figura 3- Sequência ilustrativa para o revestimento da superfície dos fragmentos de cateter com duas camadas (2C) e três camadas (3C) de AgNPs.

Para verificar se o revestimento de PDA possuía atividade inibitória contra o isolado de *P. mirabilis*, um centímetro do cateter revestido com PDA foi incubado em 1 ml de MHB inoculado com  $10^5$  UFC/ml por 24 horas ( $37^\circ\text{C} \cdot 100$  rpm). Um centímetro de cateter revestido com PDA imerso em MHB não inoculado foi usado como controle negativo. Após o período de incubação, o MHB do controle negativo também foi inoculado para averiguar se a PDA total liberada durante esse período mostraria atividade antimicrobiana devido à maior concentração em relação à liberação gradual. Além disso, imagens de MET foram realizadas a fim de verificar se ocorreriam alterações morfológicas das AgNPs após o contato com a PDA.

#### 4.2.7.1. Caracterização da superfície

Os cateteres 2C e 3C foram submetidos à análise por espectroscopia por dispersão de energia de raios-X (EDX) para caracterização da superfície. Para isso, fragmentos de um centímetro de cada cateter foram analisados em três pontos distintos para verificar homogeneidade pela extensão dos cateteres utilizando dois canais, de sódio a escândio e de titânio a urânio. Os picos foram gerados pelo software Origin Pro 8.

#### 4.2.8. Ensaio de incrustação

A capacidade dos cateteres 2C e 3C em inibir a incrustação foi avaliada. Os segmentos foram cortados em pedaços de 1 cm e foram imersos em tubos de centrifugação de 15 ml com 2 ml urina artificial formulada (Cloreto de cálcio

(0.049%), Cloreto de magnésio hexahidratado (0.065%), Cloreto de sódio (0,46%), Sulfato dissódico (0,23%), Citrato trissódico dihidratado (0.065%) Oxalato dissódico (0.002%), Dihidrogenofosfato de potássio (0,28%), Cloreto de potássio (0,16%), Cloreto de amonio (0,1%), Uréia (2,5%), TSB (0,1%), gelatina (0,5%)) inoculada com  $5 \times 10^5$  UFC/ml do isolado de *P. mirabilis*. Os tubos foram incubados a 37°C em agitação de 100 rpm por 24 horas.

Após cada 24 horas, os fragmentos foram imersos em nova urina inoculada. O controle negativo foi composto por um fragmento de cateter pristino imerso em urina, sem inoculação, e o controle positivo foi composto por um fragmento de cateter pristino imerso em urina inoculada. O tempo levado para a incrustação dos fragmentos foi determinado com base na turvação da urina causada pela formação de estruvita e apatita, significando o início do processo de incrustação (WANG et al., 2015)

#### **4.2.9. Ensaio de inibição da formação de biofilme**

Um centímetro dos fragmentos 2C e 3C foram imersos em tubos de centrifugação de 15 ml com 2 ml de MHB inoculados com  $5 \times 10^5$  UFC/ml do isolado de *P. mirabilis*. O controle positivo consistiu em um fragmento de cateter pristino imerso em MHB inoculado, e o controle negativo consistiu apenas em cateter pristino imerso em MHB, sem presença de bactérias. Os tubos foram incubados em agitação de 100 rpm por 24 horas a 37°C.

Após o período de incubação, os fragmentos foram lavados com solução salina e foi feito o tratamento com o marcador LIVE/DEAD™ BacLight™ L7007 (Invitrogen) para visualização da viabilidade celular por MCE (Leica, TCS SP8) nos biofilmes formados.

### **4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **4.3.1. Caracterização das AgNPs**

A morfologia das AgNPs analisadas por MET mostraram partículas de formato esférico (Figura 4). Esse é o formato típico encontrado na biossíntese de AgNPs por *F. oxysporum* (DURÁN et al., 2005; ISHIDA et al., 2014; KORBKANDI

et al., 2013; SCANDORIEIRO et al., 2016). É mostrado na literatura que a enzima nitrato redutase é responsável pela redução dos íons  $\text{Ag}^+$ , formando AgNPs (ANIL KUMAR et al., 2007; DURÁN et al., 2005). Dessa forma, trabalhos mostram que a enzima purificada de *F. oxysporum* (GHOLAMI-SHABANI et al., 2014) e a enzima produzida por outros microrganismos (KHODASHENAS; GHORBANI, 2016) também resultam em AgNPs de formato esférico.

Os dados obtidos por espectroscopia de correlação de fótons apontaram um tamanho médio de  $126,3 \pm 36,9$  nm para as AgNPs biossintetizadas e a análise do potencial zeta mostrou uma média de potencial de  $-36,86 \pm 0,06$  mV (Figura 5).

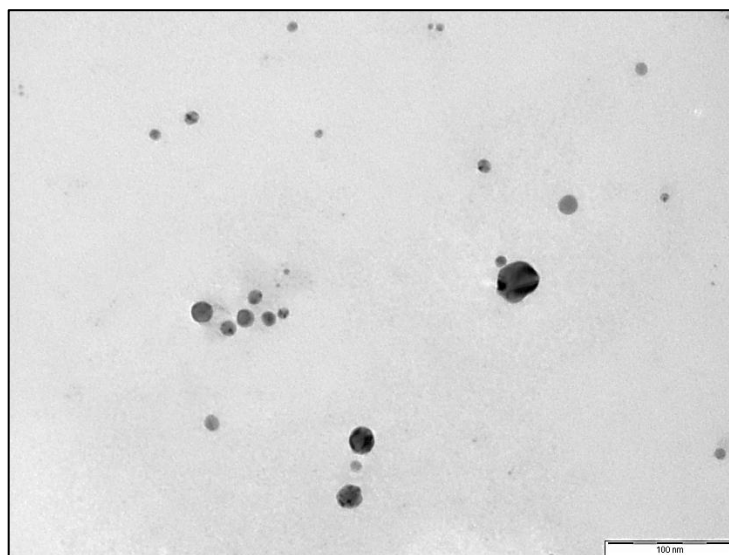


Figura 4- Micrografia de transmissão eletrônica de AgNPs biossintetizadas por *F. oxysporum*. Aumento de 135kx. Barra de escala de 100 nm.

A síntese de AgNPs por *F. oxysporum* em protocolos similares ao utilizado neste trabalho resultaram em tamanhos menores, com média, por exemplo, de 77.68 nm (SCANDORIEIRO et al., 2016) e de 57.6 nm (FANTI et al., 2018). A síntese de nanopartículas por redução química permite o controle do tamanho das partículas através do uso de co-redução, da mudança dos agentes redutores e dispersantes, tempo de reação e temperatura (AGNIHOTRI; MUKHERJI.; MUKHERJI, 2014; HORIKOSHI; SERPONE 2013). Por outro lado, apesar das muitas vantagens que a síntese biológica apresenta, a sua principal limitação é a baixa reprodutibilidade, refletindo a inconsistência de tamanho (DURÁN; NAKAZATO; SEABRA, 2016; SHAH et al., 2015).

O potencial Zeta das AgNPs também varia na literatura, mesmo com a utilização de protocolos similares, sendo encontrados valores de -34.6 mV (SCANDORIEIRO et al., 2016), próximo ao encontrado neste trabalho, e de -14.3 mV (FANTI et al., 2018). O potencial Zeta é importante, pois está correlacionado à estabilidade da nanopartícula. Altos potenciais, positivos ou negativos, são indicativos de emulsões estáveis, enquanto potenciais baixos correspondem à instabilidade, resultando em aglomeração ou floculação. Entretanto, apesar de haver uma classificação de dispersão de nanopartículas com potencial Zeta de  $\pm 0-10$  mV como altamente instável,  $\pm 10-20$  mV como relativamente estável,  $\pm 20-30$  mV moderadamente estável, e  $> \pm 30$  mV como altamente estável, o potencial Zeta fornece informações de forças eletrostáticas repulsiva, apenas, mas é sabido que forças de van der Waals também precisam ser consideradas para indicar estabilidade em um colóide, de forma que existam colóides estáveis com baixo potencial Zeta e colóides instáveis com alto potencial Zeta (BHATTACHARJEE, 2016)

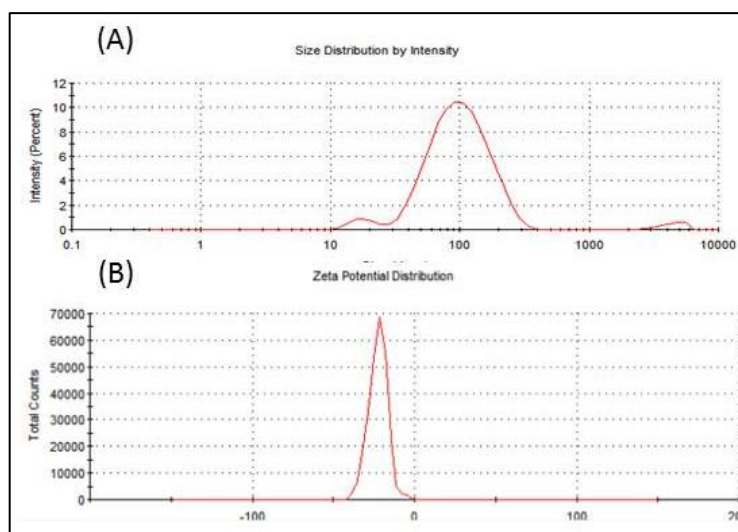


Figura 5- Análise de tamanho e potencial zeta das AgNPs biossintetizadas por *F. oxysporum*. (A) Análise da distribuição de tamanho das AgNPs biossintetizadas por *F. oxysporum* feita por espectroscopia de correlação de fótons. (B) Distribuição do potencial Zeta das AgNPs por laser doppler eletroforese. ZetaSizer NanoZS (Malvern) foi usado para ambos.

### **4.3.2. Atividade antibacteriana das AgNPs**

#### **4.3.2.1. Ensaio de microdiluição em caldo**

O teste de atividade antimicrobiana por microdiluição em caldo mostrou que a concentração inibitória mínima de AgNPs biossintetizadas para o isolado de *P. mirabilis* foi 62,5  $\mu\text{M}$  (6,7  $\mu\text{g/ml}$ ).

Trabalhos envolvendo a atividade de AgNPs biossintetizadas por *F. oxysporum* contra *P. mirabilis* são escassos. Entretanto, levando em consideração AgNPs sintetizadas por outras vias, a concentração obtida está dentro do esperado, uma vez que os resultados encontrados na literatura contra *P. mirabilis* variam de 32  $\mu\text{g/ml}$  até 1,25  $\mu\text{g/ml}$  (DHAS et al., 2014; SKŁADANOWSKI et al., 2016; SRINIVASAN et al., 2017). Da mesma forma, do ponto de vista da performance antibacteriana das AgNPs, a CIM encontrada é satisfatória, visto que conseguiram inibir o crescimento de *P. mirabilis* em concentração abaixo à encontrada quando usadas em outras bactérias (SCANDORIEIRO et al., 2016).

Além disso, resultado se mostra satisfatório à medida que se analisa a carência de alternativas ao tratamento dessa bactéria. O isolado de *P. mirabilis* testado apresentou resistência a diversos antimicrobianos de uso clínico, inclusive os utilizados como primeira linha de tratamento de infecção urinária, como ciprofloxacina, trimetoprim, fluoroquinolonas e cefalosporinas de terceira geração (BIDELL et al., 2016; KLINE; LEWIS, 2016). A associação de sulfametoxazol+trimetoprim é recomendada para tratamento de cistite aguda não-complicada e fluoroquinolonas são indicadas como alternativa à essa associação (SCHAFFER; PEARSON, 2015). Amicacina tem sido reportada como tratamento de primeira linha contra infecção urinária febril em crianças (POEY et al., 2017). Entretanto, essas e outras alternativas clínicas relevantes não se mostraram eficazes, de acordo com o perfil de sensibilidade antimicrobiana apresentado pelo isolado.

Ainda, vale ressaltar que outros trabalhos trazem a atividade de AgNPs contra esse patógeno, mas a maior parte deles faz uso de outros ensaios antibacterianos, tais como disco-difusão e poço-difusão (CHAUDHARI et al., 2012; KALAM et al., 2017; LAVAKUMAR et al., 2015; PRASAD et al., 2017). O fato de a

maioria dos trabalhos não serem relatados em termos de CIM dificulta a interpretação e a comparação entre os resultados, além de que, as características das nanopartículas e as cepas testadas influenciam na atividade antimicrobiana (DURÁN et al., 2016; RUPARELIA et al., 2008).

#### 4.3.2.2. Curva de tempo de morte

A atividade temporal das AgNPs na CIM (62,5  $\mu\text{M}$ ) contra o isolado de *P. mirabilis* uropatogênico é mostrado na Figura 6. O gráfico apresenta o  $\text{Log}_{10}$  de UFC contadas após início do tratamento com as AgNPs em função do tempo.

De acordo com o documento M26-A (CLSI, 1999), a atividade bactericida pode ser notada quando houver redução  $\geq 3\text{log}_{10}$  (99,9%) na contagem de UFC/mL. Dessa forma, a ação bactericida das AgNPs acontece entre 2 e 4 horas de tratamento, visto que a perda total de viabilidade celular foi notada em 4 horas.

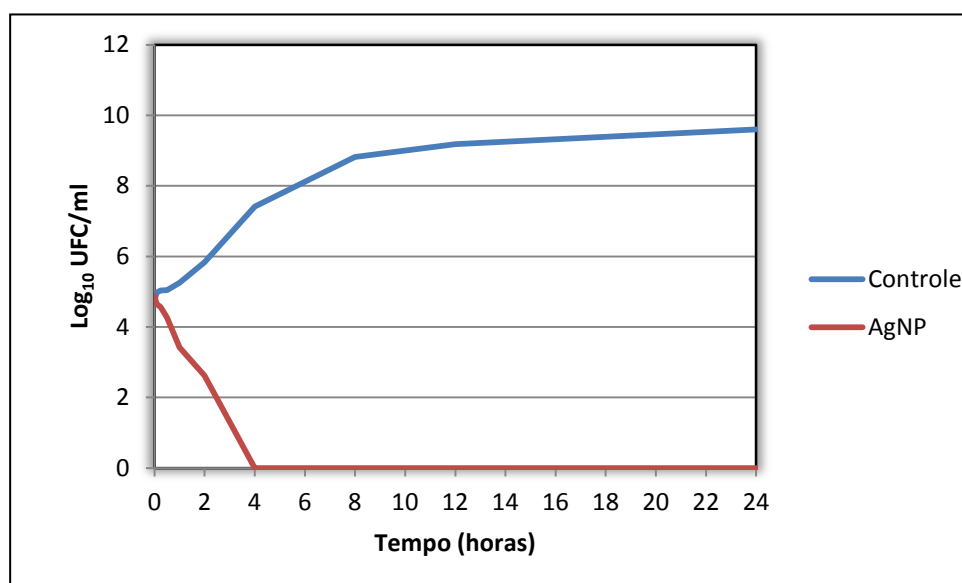


Figura 6- Curva de crescimento e tempo de morte de AgNPs biossintetizadas por *F. oxysporum* contra *P. mirabilis* multirresistente isolado de infecção urinária.

O tempo para ação bactericida das AgNPs biossintetizadas por *F. oxysporum* está consoante com o tempo encontrado por Scandorieiro e colaboradores (2016) para AgNPs sintetizadas de maneira similar às AgNPs usadas neste trabalho contra bactérias Gram-negativas multirresistentes. Nas CIMs de 62,5  $\mu\text{M}$  para *E. coli* ATCC 25922 e de 125  $\mu\text{M}$  para *E. coli* multiresistente produtora de carbapenemase isolada de infecção urinária, o tempo necessário para perda total de viabilidade também foi de 4 horas (SCANDORIEIRO et al., 2016).

### 4.3.2.3. Teste de atividade antibiofilme em placa de poliestireno

#### 4.3.2.3.1 Atividade de inibição de biofilme

O teste foi realizado em quintuplicata e os dois valores que mais divergiram foram descartados. Com os três valores mais confiáveis, foi tirada a média para chegar ao valor final. Assim, o valor de leitura do controle positivo, formado sem adição de AgNPs, foi de 0,157. O valor de leitura para o tratamento foi de  $0,037 \pm 0$  em concentração de CIM,  $0,043 \pm 0,0045$  em supra-CIM, e  $0,177 \pm 0,0042$  em sub-CIM.

Para calcular o porcentagem de inibição, foi usada a seguinte fórmula:

$$\% \text{ inibição de biofilme} = \frac{(\text{OD controle} - \text{OD amostra}) \times 100}{\text{OD controle}}$$

Assim, determinou-se que a CIM foi capaz de inibir 76,4% do biofilme de *P. mirabilis*, a supra-CIM inibiu 76% e a sub-CIM apresenta um valor mais alto do que o controle, indicando que o tratamento com concentrações abaixo da CIM pode ter estimulado a formação de biofilme. Essa hipótese pode acontecer, uma vez que os biofilmes são formados em resposta ao estresse do ambiente, tais como temperatura, falta de nutrientes e presença de altas concentrações de metais (LANDINI, 2009).

De fato, alguns estudos demonstram que alguns antibióticos induzem a formação de biofilme em concentrações sub-inibitórias (BAGGE et al., 2004; HOFFMAN et al., 2005; SAILER; MEBERG; YOUNG, 2003). Esse processo tem relevância clínica, porque as bactérias são expostas à sub-CIM de antibióticos no começo e ao fim do regime de tratamento, entre as doses, ou continuamente durante terapia de baixas dosagens (LÁZARO-DÍEZ et al., 2016).

Uma outra possibilidade é o fato do estresse oxidativo também induzir a formação de biofilme (GAMBINO; CAPPITELLI, 2016). Como um dos principais mecanismos aceitos para a atividade antibacteriana das AgNPs é a geração de EROs, com consequente estresse oxidativo (WANG; HU; SHAO, 2017), essa hipótese também pode ser plausível para o entendimento do resultado obtido no teste.

Ademais, a capacidade das AgNPs sintetizadas por *F. oxysporum* em inibir o biofilme de *P. mirabilis* mostrou melhor capacidade de inibição de biofilme quando comparadas com AgNPs sintetizadas via extrato de *Piper betle*, que inibiu em 69% e 53% a formação de biofilme das cepas padrões *P. mirabilis* MTCC e ATCC, respectivamente, com uma concentração maior (10 µg/ml) do que a usada no presente trabalho (SRINIVASAN et al., 2017).

#### **4.3.2.3.2. Destruição do biofilme**

O valor de leitura do biofilme formado sem adição de AgNPs foi de 0,157. O valor de leitura para o tratamento foi de  $0,154 \pm 0,011$  em concentração de CIM,  $0,138 \pm 0,005$  para supra-CIM, e  $0,127 \pm 0,010$  para sub-CIM. O cálculo foi feito usando a mesma fórmula anterior. Assim, a CIM eliminou apenas 1,9% do biofilme, a supra-CIM eliminou 12,1%, e a sub-CIM eliminou 19,1%.

Alguns estudos mostram que AgNPs biossintetizadas possuem a capacidade de eliminar biofilmes maduros tanto de bactérias Gram-negativas quanto Gram-positivas. Entretanto, as concentrações utilizadas para tal foram bastante elevadas, chegando a ultrapassar 2000 µg/ml (GAIDHANI et al., 2013; SALUNKE et al., 2014)

Um dos motivos para o menor desempenho em relação à inibição do biofilme pode ser a camada de EPS que funcionaria como uma barreira física, impedindo o contato das AgNPs com as células (COSTERTON; STEWART; GREENBERG, 1999). O tratamento de biofilme misto formado no primeiro estágio de uma estação de tratamento de água com AgNPs comercialmente disponível (SkySpring Nanomaterials, Inc. Houston, USA) não resultou em alteração significativa após 24 horas de tratamento, mesmo em altas concentrações de 200 mg/L. Entretanto, quando realizada a remoção do EPS fracamente aderido, a mesma concentração de AgNPs foi capaz de reduzir a viabilidade do biofilme (SHENG; LIU, 2011).

#### **4.3.3. Revestimento do catéter**

O revestimento do catéter foi realizado utilizando a polidopamina como agente ancorante. Primeiramente, pedaços de cateter foram imersos em solução de dopamina. Ao adicionar o cloridrato de dopamina no ambiente alcalino do tampão

Tris (pH 8,5) a solução, inicialmente incolor, rapidamente começou a adquirir coloração amarronzada, culminando em uma solução de forte cor marrom (Figura 7). Essa mudança de cor foi a indicação da polimerização do cloridrato de dopamina em polidopamina (LIU; AI; LU, 2014)

Os pedaços de cateteres foram incubados a 26°C em agitação de 250 rpm durante 24 horas. Como pode ser visto na Figura 8, a quantidade de agitação influencia na homogeneidade da dispersão de polidopamina. Agitações baixas permitem a precipitação da polidopamina à medida em que a polimerização ocorre (SU et al., 2016).

É relatado na literatura que a PDA forma finos filmes nas superfícies (DING; FLOREN; TAN, 2016; SILEIKA et al., 2011). Mesmo com a forte coloração da solução, o filme formado alterou levemente a cor do cateter (Figura 9 (A) e (B)). Após incubação com AgNPs, o cateter mostrou uma coloração escura, confirmando o revestimento da prata (Figura 9 (C)). As etapas se repetiram até a conclusão das duas ou três camadas de AgNPs.

Estudos mostram que a polidopamina possui baixa atividade antibacteriana, apresentando alta CIM de 100 mg/mL (IQBAL; LAI; AVIS, 2012; SU et al., 2016). Para verificar se o revestimento de PDA possuía atividade inibitória contra o isolado de *P. mirabilis*, 1 cm do cateter revestido com PDA foi incubado em 1 ml de MHB inoculado com  $10^5$  UFC/ml por 24 horas a 37°C em agitação de 100 rpm. A Figura 11 (A) mostra que a PDA presente no cateter não impediu o crescimento bacteriano, evidenciado pela turvação do meio (A1), enquanto o controle negativo, composto pelo cateter revestido com PDA em MHB sem inóculo, se manteve límpido (A2). Como a PDA liberada se acumulou no MHB do controle negativo, a solução foi inoculada com  $10^5$  UFC/ml para verificar se a concentração alteraria a resposta antibacteriana. Entretanto, como mostra a Figura 11 (B), a solução permitiu o crescimento de bactérias após incubação, mostrando que a PDA presente no revestimento não é liberada em quantidade suficiente para atividade inibitória.

A análise por MET das AgNPs em contato com a PDA não mostrou nenhuma alteração morfológica manifesta após interação (Figura 12). Entretanto, um fato interessante a ser notado é a presença de uma matriz de PDA que envolve todas as AgNPs. Sabe-se que a PDA possui afinidade por, virtualmente, qualquer

superfície (LEE et al., 2007) podendo, inclusive, revestir AgNPs (DUMRI; ANH, 2014). Isso mostra o potencial que a PDA possui na ancoragem das nanopartículas ao material revestido.

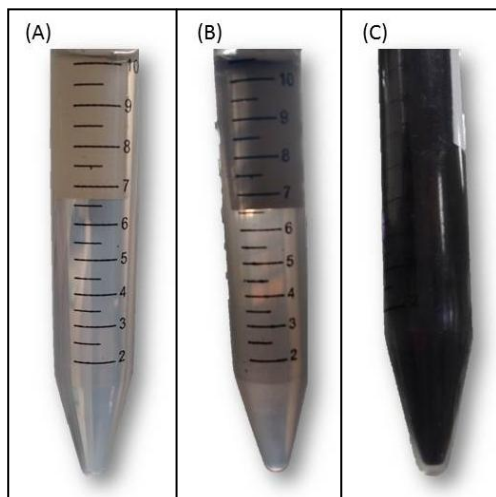


Figura 7- Indicação de polimerização da dopamina pela mudança de cor da solução. (A) Solução recém preparada. (B) Solução após 5 minutos de reação. (C) Solução após 24 horas.

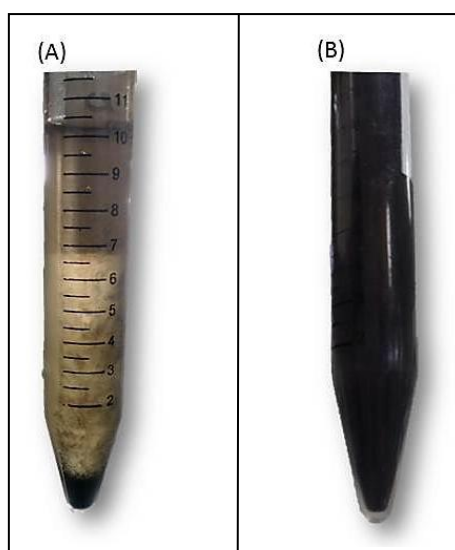


Figura 8- Influência da agitação no revestimento. (A) agitação de 100 rpm. (B) agitação de 250 rpm.

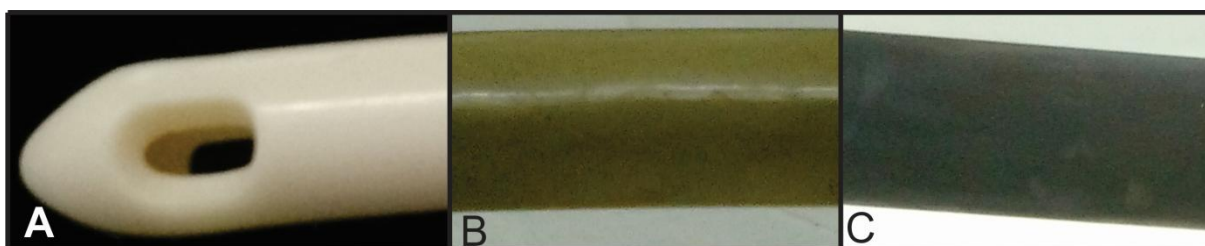


Figura 9- Resultado do revestimento dos catéteres. (A) cateter pristino. (B) cateter revestido com PDA. (C) cateter revestido com PDA+AgNPs.

#### 4.3.4. Caracterização da superfície

Os cateteres revestidos foram submetidos à análise por EDX para identificação dos elementos que compunham a superfície (Figura 10). Fragmentos de 1 cm de cada tipo de cateter foram analisados em três pontos distintos. A análise por EDX mostrou que a prata está presente em ambos tratamentos e ausente no controle, indicando homogeneidade nas medidas de diferentes pontos dos cateteres analisados.

A análise do exterior dos cateteres por EDX indicou que o cateter 2C apresentou uma média de  $8,1 \pm 2,1$  % (m/m) enquanto o cateter 3C mostrou média de  $22,03 \pm 3,6$  % (m/m) (Tabela. 1). O aumento na porcentagem de prata indica que a estratégia de revestimento por camadas foi bem sucedida.

Tabela 1- Análise dos elementos por EDX

Elemento	Porcentagem (m/m)		
	Pristino	2C	3C
Zn	29,245 ± 0,45	31,507 ± 1,11	32,091 ± 3,9
S	33,892 ± 0,27	26,405 ± 2,4	18,74 ± 3,4
Ti	15,46 ± 0,4	14,71 ± 0,91	14,882 ± 1,37
Ag	-	8,109 ± 2,7	20,02 ± 3,6
Ca	9,736 ± 0,55	7,833 ± 0,25	7,742 ± 2,17
K	5,998 ± 0,37	7,831 ± 0,39	5,415 ± 1,14
Cu	0,327 ± 0,05	0,361 ± 0,07	0,395 ± 0,003

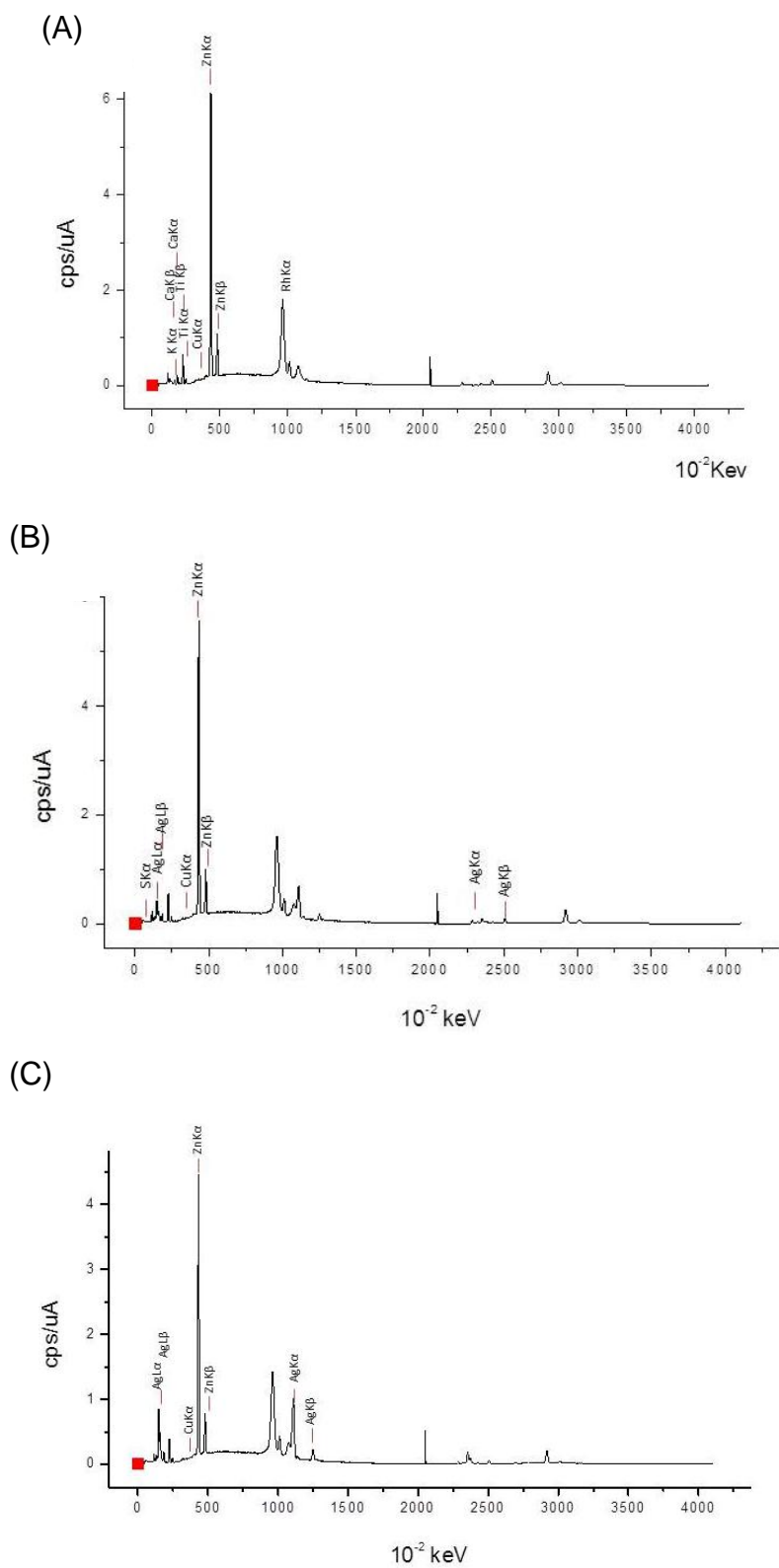


Figura 10- Análise da superfícies dos cateteres por EDX. (A) Cateter pristino. (B) Cateter 2C. (C) Cateter 3C.

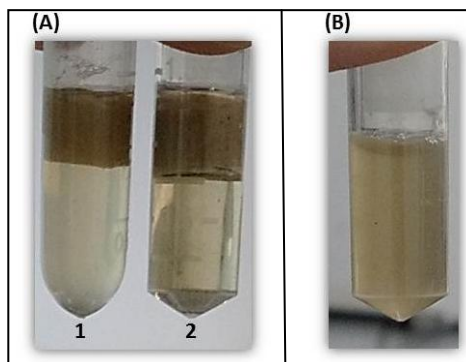


Figura 11- Ensaio de atividade antibacteriana da PDA. (A) 1: um centímetro de cateter revestido com PDA imerso em MHB inoculado com  $10^5$  UFC/ml após 24 horas de incubação a  $37^\circ\text{C}$  e 100 rpm. (A) 2: Controle negativo. (B) Solução do controle negativo inoculado mostrando que a PDA liberada não inibiu o crescimento de *P. mirabilis*.

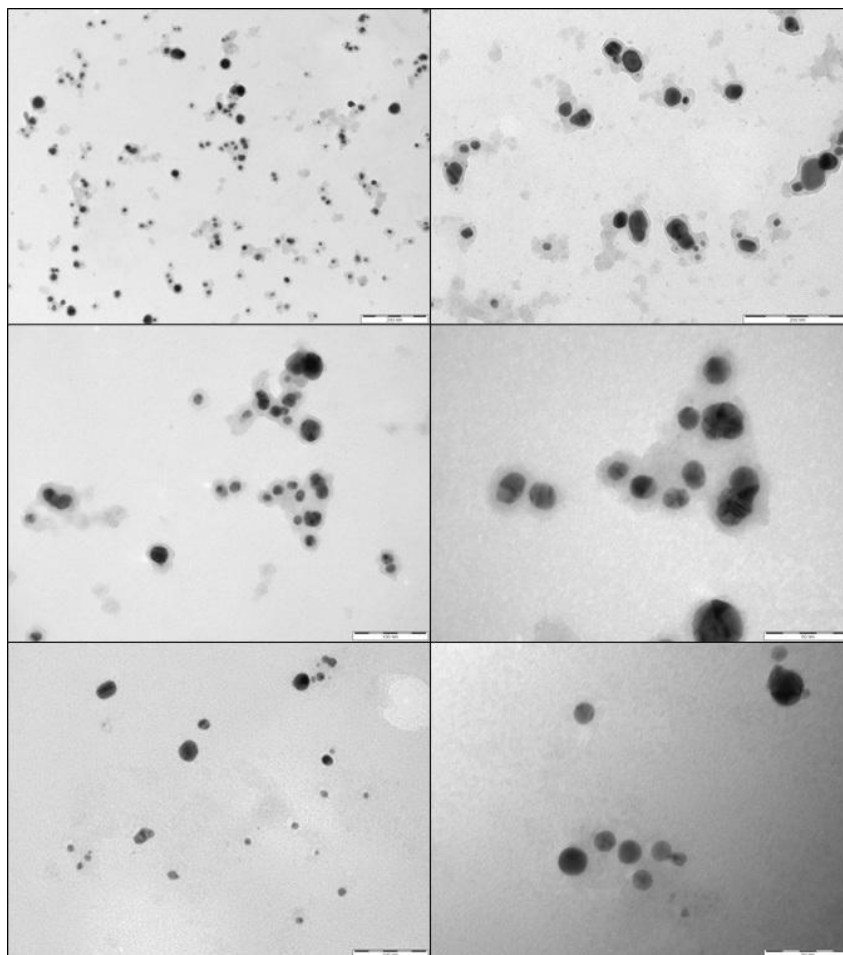


Figura 12- Fotomicrografias de transmissão da AgNPs biossintetizadas por *F. oxysporum* após contato com PDA. (A)-(D) AgNPs envolvidas pela matriz de PDA em diferentes campos e aumentos. (E)-(F) AgNPs antes do contato com PDA mostrando ausência de matriz. Aumentos e barras de escala de (A) 59kx, 200 nm; (B) 97kx, 200 nm; (C) 135 kx, 100 nm; (D) 310 kx, 50 nm; (E) 135kx, 100 nm; (F) 360 kx, 50 nm.

#### **4.3.5. Ensaio de incrustação**

O ensaio de incrustação correu até o tempo do cateter 3C permitir incrustação. Os testes foram feitos em triplicata e os tempos levados para incrustação foram marcados. O cateter pristino usado como controle sofreu incrustação já no primeiro dia (Figura 14). O cateter 2C foi capaz de inibir a incrustação por  $13,5 \pm 0,7$  dias, enquanto o cateter 3C inibiu a incrustação por  $21 \pm 1,4$  dias.

Esses resultados atendem à necessidade de uso, tendo em vista que indicam o tempo que os cateteres inibiram o início da incrustação e que alguns estudos *in vitro* mostram que *P. mirabilis* chega a causar o bloqueio total do fluxo de urina em menos de 24 horas, com a devida ressalva das diferenças de diâmetro de luz dos cateteres entre os diversos estudos (BROOMFIELD et al., 2009; JONES et al., 2006; MILO et al., 2016).

Além disso, cateteres comercialmente disponíveis contendo prata não tem mostrado desempenho satisfatório. O cateter Dover<sup>TM</sup> inibiu incrustação por menos de 7 dias em experimento similar ao realizado no presente trabalho (WANG ET AL., 2015). Já o cateter Bardex<sup>®</sup> I.C.<sup>TM</sup> com revestimento de liga de prata Bacti-Guard<sup>®</sup> sofreu bloqueio total em 4,4 dias (RANI et al., 2016). Dados *in vivo* também se mostram insatisfatórios, mostrando que em 11 dias esse cateter já se apresenta completamente obstruído (MORGAN; RIGBY; STICKLER, 2009). Em ensaio clínico multicêntrico randomizado, Pickard e colaboradores (2012) concluíram que esse cateter não é efetivo na redução da incidência de ITU-AC sintomática, sugerindo que cerca de mil pessoas precisariam receber esse cateter para evitar uma ITU-AC (PICKARD et al., 2012).

Assim, mesmo que a cateterização de longo prazo seja definida como acima de 28 dias, as evidências mostram que a incrustação pode acontecer bem antes disso, o que torna o resultado obtido neste trabalho satisfatório. Entretanto, os resultados podem ser melhorados com o uso de outras substâncias, aproveitando a capacidade de ancoragem da PDA. Wang e colaboradores (2015) produziram um cateter de maneira similar à utilizada neste trabalho, com AgNPs produzidas usando a própria PDA como agente redutor. O uso de poli(sulfobetaina metacrilato-co-acrilamida) (poly(SBMA-co-AAm)) como última camada melhorou a performance,

atingindo 45 dias livres de incrustação. Essa diferença entre os resultados possivelmente acontece por conta a atividade anti-incrustante da poly(SBMA-co-AAm), dada como responsável por inibir a adesão das bactérias à superfície do catéter (WANG et al., 2015).

#### **4.3.6. Ensaio de inibição da formação de biofilme em cateter**

O resultado do ensaio de formação de biofilme nos catéteres é apresentado na Figura 13. Após o tempo para a formação do biofilme, os catéteres foram lavados com solução salina para remoção das células não aderidas. Em seguida, os cateteres foram tratados com o marcador LIVE/DEAD<sup>®</sup>, que consiste em dois corantes de ácidos nucleicos: o SYTO 9, que consegue atravessar a membrana das bactérias, resultando em fluorescência verde, e o iodeto de propídeo, que não penetra as células intactas por ser altamente carregado, mas consegue penetrar se as membranas estiverem danificadas, resultando em fluorescência vermelha. Assim, as células mortas fluorescem vermelho e as células viáveis fluorescem verde.

A diminuição de células viáveis nos cateteres revestidos com AgNPs é notória (Figura 13). A análise da intensidade da fluorescência mostrou redução de 98,1% e de 99,3% na fluorescência da face externa e no lúmen, respectivamente, do cateter 2C em relação ao controle. Para o cateter 3C, a redução foi de 98,31% na face externa e de 99,99% no lúmen (Quadro 1).

Chua e colaboradores testaram a atividade antibiofilme *in vitro* do cateter comercializado Dover<sup>TM</sup>, revestido por prata e hidrogel, e não notaram capacidade de redução de biofilme de *E. coli* (CHUA et al., 2017). Já AgNPs biossintetizadas por extrato de *Spirulina platensis* foram usadas para revestir cateteres Foley. Quando usados em ratos, mostraram capacidade de redução de 83%, mas quando revestidos com nitrofurantoína e amicacina em conjunto, a redução de biofilme passou a ser próxima à encontrada neste trabalho, de 98% (MALA et al., 2017). Em estudo *in vitro*, a impregnação de cateteres com AgNPs sintetizadas por bactérias resultou em redução próxima de 90% para cepas de *Staphylococcus haemolyticus* e *S. epidermidis* (THOMAS et al., 2015). Dessa forma, nota-se que o revestimento utilizado neste trabalho apresentou capacidade adequada de redução de biofilme, mesmo para o cateter 2C, que possui menor quantidade de prata.

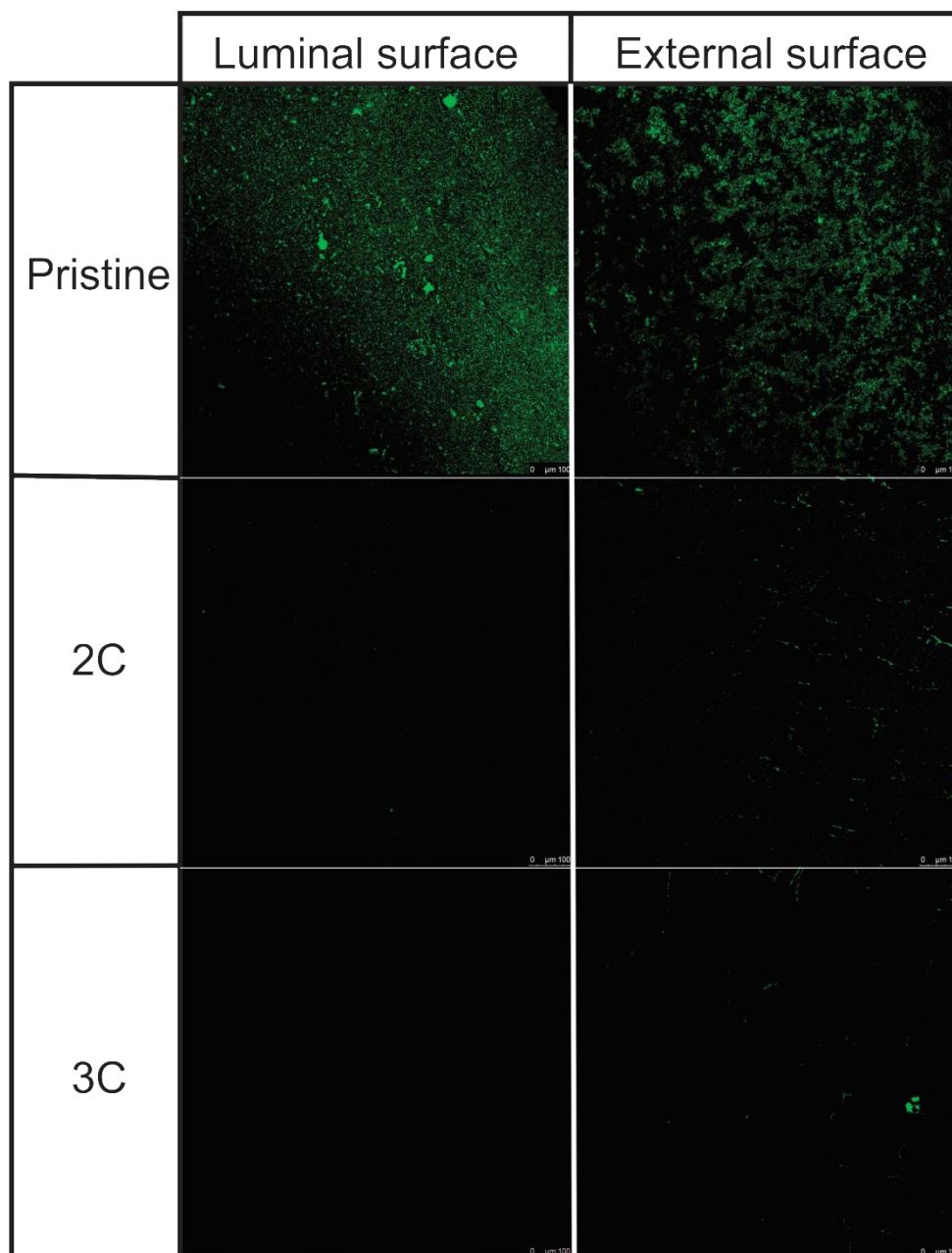


Figura 13- Efeito dos revestimentos na formação de biofilme de *P. mirabilis* por microscopia confocal. Aumento 10x.

Quadro 1. Análise da intensidade de fluorescência por MCE\*

	Controle positivo				Controle negativo		2 C				3	
	Externo		Interno		Externo	Interno	Externo		Interno		Externo	Interno
	1	2	1	2	1	1	1	2	1	1	2	1
1	35,88	21,55	17,47	40,17	0,56	0,02	0,63	0,15	0,1	0,15	0,86	0,01
2	49,01	38,93	15,72	54,01	2,08	0,08	1,32	0,26	0,27	0,39	1,13	0
3	73,73	29,11	35,14	56,79	1,06	0,03	1,6	0,08	0,25	0,1	0,73	0
4	16,62	9,33	0,15	9,41	0,19	0,01	0,26	0,06	0,05	1,03	0,01	0
5	19,49	21,23	0,37	39,41	0,89	0,04	0,86	0,14	0,07	0,05	0,15	0
6	47,23	24,28	3,12	69,54	1,05	0,15	1,61	0,07	0,33	1,91	0,03	0
Média	32,19		28,44		0,97	0,055	0,587		0,178	0,545		0,0016

\*Escala de cinza. Área analisada = 64413.21  $\mu\text{m}^2$ .

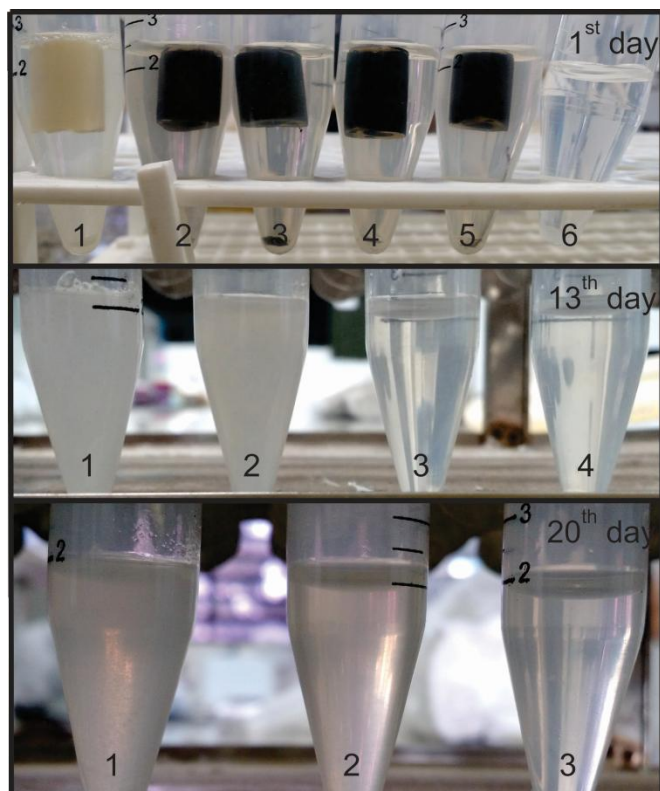


Figura 14- Tempo de incrustação dos cateteres. Dia 1: 1- controle positivo, 2- 2C, 3- 2C, 4- 3C, 5- 3C, 6- controle negativo. Dia 13: 1- controle positivo, 2- 2C, 3- 3C, 4- controle negativo. Dia 20: 1- controle positivo, 2- 3C, 3- controle negativo. A incrustação é caracterizada pela turvação da urina.

#### 4.4. Conclusão

Os resultados obtidos com AgNPs biossintetizadas por *F. oxysporum* mostraram grande capacidade de inibição de crescimento células planctônicas de *P. mirabilis*, além de inibir a formação de biofilme, tanto em placas de poliestireno quanto em aplicação em cateter. Tendo em vista a grande resistência apresentada pelo isolado contra antibióticos de uso clínico, apesar da pouca capacidade apresentada na destruição do biofilme maduro, as AgNPs se mostram como uma potencial alternativa ao tratamento de infecções por *P. mirabilis* uropatogênico.

#### 4.5. Referências

- ADAMUS-BIALEK, W.; ZAJAC, E.; PARNIEWSKI, P.; KACA, W. Comparison of antibiotic resistance patterns in collections of *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis* uropathogenic strains. **Molecular Biology Reports**, v. 40, n. 4, p. 3429–3435, 2013
- AGARWALA, M., BARMAN, T., GOGOI, D., CHOUDHURY, B., PAL, A.R., YADAV, R.N. Highly effective antibiofilm coating of silver-polymer nanocomposite on polymeric medical devices deposited by one step plasma process. **J Biomed Mater. Res. B: Appl. Biomater.** 1223-35. 2014
- AGNIHOTRI, S.; MUKHERJI, S.; MUKHERJI, S. Size-controlled silver nanoparticles synthesized over the range 5–100 nm using the same protocol and their antibacterial efficacy. **SC Adv.**, 4, 3974-3983, 2014.
- AHMAD, A.; MUKHERJEE, P.; SENAPATI, S.; MANDAL, D.; KHAN, M. I.; KUMAR, R.; SASTRY, M. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Fusarium oxysporum*. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 28, n. 4, p. 313-18, 2003.
- AL-BADR, A.; AL-SHAikh, G. Recurrent urinary tract infections management in women. A review. **Sultan Qaboos University Medical Journal**, v. 13, n. 3, p. 359–367, 2013.
- ALLAKER, R. P. The use of nanoparticles to control oral biofilm formation. **Journal of Dental Research**, n. 11, v. 89, p. 1175-86, 2010.
- ALLISON, C.; EMÖDY, L.; COLEMAN, N.; HUGHES, C. The role of swarm cell differentiation and multicellular migration in the uropathogenicity of *Proteus mirabilis*. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 169, n. 5, p. 1155-1158, 1994.
- ALMEIDA, É. S.; DE OLIVEIRA, D.; HOTZA, D. Characterization of silver nanoparticles produced by biosynthesis mediated by *Fusarium oxysporum* under different processing conditions. **Bioprocess Biosyst Eng.** 2017 Sep;40(9):1291-1303. doi: 10.1007/s00449-017-1788-9. Epub 2017 May 24.
- ANIL KUMAR, S.; ABYANEH, M. K.; GOSAVI, S. W.; KULKARNI, S. K.; PASRICHA, R.; AHMAD, A.; KHAN, M. I. Nitrate reductase-mediated synthesis of silver nanoparticles from AgNO<sub>3</sub>. **Biotechnol Lett.**, 29(3):439-45, 2007.
- ARMBRUSTER, C. E.; MOBLEY, H. L. T. Merging mythology and morphology: the multifaceted lifestyle of *Proteus mirabilis*. **Nature Reviews Microbiology**, v. 10, n. 11, p. 743–754, 2012.

ARMITAGE, J. P.; SMITH, D. G.; ROWBURY, R. J. Alteration in the cell envelope composition of *Proteus mirabilis* during development of swarmer cells. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 584, n. 3, p. 389–397, 1979.

ARVIZO, R. R.; BHATTACHARYYA, S.; KUDGUS, R.; GIRI, K.; BHATTACHARYA, R.; MUKHERJEE, P. Intrinsic Therapeutic Applications of Noble Metal Nanoparticles: Past, Present and Future. **Chem Soc Rev.** 2012 Apr 7; 41(7): 2943–2970.

BAGGE, N.; SCHUSTER, M.; HENTZER, M.; CIOFU, O.; GIVSKOV, M.; GREENBERG, E. P.; HØIBY, N. *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms Exposed to Imipenem Exhibit Changes in Global Gene Expression and  $\beta$ -Lactamase and Alginate Production. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 48, n. 4, p. 1175–1187, abr. 2004.

BALDAUF, R. W.; DEVLIN, R. B.; GEHR, P.; GIANNELLI, R.; HASSETT-SIPPLE, B.; JUNG, H.; MARTINI, G.; MCDONALD, J.; SACKS, J. D.; WALKER, K. Ultrafine Particle Metrics and Research Considerations: Review of the 2015 UFP Workshop **Int J Environ Res Public Health**. 2016 Nov; 13(11): 1054.

BANERJEE, M.; MALLICK, S.; PAUL, A.; CHATTOPADHYAY, A.; GHOSH, S. S. Heightened Reactive Oxygen Species Generation in the Antimicrobial Activity of a Three Component Iodinated Chitosan-Silver Nanoparticle Composite. **Langmuir**, 26, 5901–5908, 2010.

BARDSLEY, A. Diagnosis, prevention and treatment of urinary tract infections in older people. **Nursing Older People**. 2017 Feb 28;29(2):32-38.

BARROS, L. M.; BENTO, J. N. C.; CAETANO, J. A.; MOREIRA, R. A. N.; PEREIRA, F. G. F.; FROTA, N. M.; ARAÚJO, T. M.; SOARES, E. Prevalência de micro-organismo e sensibilidade antimicrobiana de infecções hospitalares em unidade de terapia intensiva de hospital público no Brasil. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 33, n. 3, p. 429-435, 2012.

BAZARGANI A, M. M.; ROHLOFF, J. Antibiofilm activity of essential oils and plant extracts against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* biofilms. **Food Control** v. 61, p. 156-64, mar. 2016

BECKNELL, B.; SCHOBER, M.; KORBEL, L.; SPENCER, J. D. The Diagnosis, Evaluation and Treatment of Acute and Recurrent Pediatric Urinary Tract Infections. **Expert Review of Anti-infective Therapy**. 2015 Jan; 13(1): 81–90.

BHATTACHARJEE, S. DLS and zeta potential – What they are and what they are not? **Journal of Controlled Release** Volume 235, 10 August 2016, Pages 337-351

BHUSHAN, B. Introduction to Nanotechnology: History, Status, and Importance of Nanoscience and Nanotechnology Education. In: WINKELMANN, K.; BHUSHAN, B (eds). **Global Perspectives of Nanoscience and Engineering Education**. Science Policy Reports. 1. ed. Switzerland: Springer International Publishing, 2016. p. 1-31.

BIDELL, M. R.; PALCHAK, M.; MOHR, J.; LODISE, T. P. Fluoroquinolone and Third-Generation-Cephalosporin Resistance among Hospitalized Patients with Urinary Tract Infections Due to *Escherichia coli*: Do Rates Vary by Hospital Characteristics and Geographic Region? **Antimicrob. Agents Chemother**, v. 60, n. 5, p. 3170-3173, mai. 2016.

BIRLA, S. S.; GAIKWAD, S. C.; GADE, A. K.; RAI, M. K. Rapid synthesis of silver nanoparticles from *Fusarium oxysporum* by optimizing physiocultural conditions. **ScientificWorldJournal**, 2013 Oct 10;2013:796018. doi: 10.1155/2013/796018. eCollection 2013.

BRAUDE, A. I.; SHAPIRO, A. P.; SIEMIENSKI, J. Hematogenous pyelonephritis in rats III. Relationship of bacterial species to the pathogenesis of acute pyelonephritis. **Journal of Bacteriology**, v. 77, n. 3, p. 270–280, 1959.

BRAUDE, A. I.; SIEMIENSKI, J. Role of bacterial urease in experimental pyelonephritis. **Journal of Bacteriology**, v. 80, n. 2, p. 171-179, 1960.

BREED, R.S.; MURRAY, E.G.D.; SMITH, N.R. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. 7. ed. Baltimore: Williams & Wilkins Co., 1957. 1094 pg.

BROOMFIELD, R. J.; MORGAN, S. D.; KHAN, A.; STICKLER, D. J. Crystalline bacterial biofilm formation on urinary catheters by urease-producing urinary tract pathogens: a simple method of control. **J Med Microbiol.**, 58 (Pt 10):1367-75, out. 2009.

BROWN, M. R.; ALLISON, D. G.; GILBERT, P. Resistance of bacterial biofilms to antibiotics: a growth-rate related effect? **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, n. 22, v. 6, p. 777-80, 1988.

BUZEA, C.; PACHECO, I. I.; ROBBIE, K. Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity. **Biointerphases**. 2007 Dec;2(4):MR17-71.

CAI, T.; MAZZOLI, S.; MONDAINI, N.; MEACCI, F.; NESI, G.; D'ELIA, C.; MALOSSINI, G.; BODDI, V.; BARTOLETTI, R. The Role of Asymptomatic Bacteriuria in Young Women With Recurrent Urinary Tract Infections: To Treat or Not to Treat? **Clinical Infectious Diseases**, Volume 55, Issue 6, 15 September 2012, Pages 771–777

CARVALHO, V. C. **OSTEOMIELEITE POR BACILOS GRAM-NEGATIVOS: ESTUDO COMPARATIVO DAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-MICROBIOLÓGICAS E FATORES DE RISCO COM AS INFECÇÕES POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS***. São Paulo, 2013 [Monografia de Conclusão Residência Médica – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP].

CASTIGLIONI, S.; CAZZANIGA, A.; LOCATELLI, L.; MAIER, J. A. M. Silver Nanoparticles in Orthopedic Applications: New Insights on Their Effects on Osteogenic Cells. **Nanomaterials (Basel)**. 2017 Jun; 7(6): 124.

CHAIEB, K.; KOUIDHI, B.; JRAH, H.; MAHDOUANI, K.; BAKHROUF, A. Antibacterial activity of Thymoquinone, an active principle of *Nigella sativa* and its potency to prevent bacterial biofilm formation. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, n. 11, v. 29, p. 1-6, abr. 2011.

CHALOUPKA, K.; MALAM, Y.; SEIFALIAN, A. M. Nanosilver as a new generation of nanoparticle in biomedical applications. **Trends Biotechnol.** 2010 Nov;28(11):580-8.

CHAN, C. K.; PENG, H.; LIU, G.; MCILWRATH, K.; ZHANG, X. F.; HUGGINS, R. A.; CUI, Y. High-performance lithium battery anodes using silicon nanowires. **Nature Nanotechnology** volume 3, pages 31–35 (2008).

CHARACKLIS, W. G.; MARSHALL, K. C. **Biofilms**. John Wiley & Sons, Inc., New York, N.Y, 796 pgs, 1990.

CHAUDHARI, P. R.; MASURKAR, S. A.; SHIDORE, V. B.; KAMBLE, S. P. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Saccharum officinarum* and its antimicrobial activity. **Micro & Nano Letters**, 2012, Vol. 7, Iss. 7, pp. 646 –650.

CHEN, C. Y.; CHEN, Y. H.; LU, P. L.; LIN, W. R.; CHEN, T. C.; LIN, C.Y. *Proteus mirabilis* urinary tract infection and bacteremia: risk factors, clinical presentation, and outcomes. **Journal of Microbiology, Immunology, And Infection**, v. 45, n. 3, p. 228-236, 2012.

CHERNOUSOVA, S.; EPPLE, M. Silver as antibacterial agent: ion, nanoparticle, and metal. **Angew Chem Int**, 4;52(6):1636-53, 2013

CHOI, O.; HU, Z. Size Dependent and Reactive Oxygen Species Related Nanosilver Toxicity to Nitrifying Bacteria. **Environ. Sci. Technol.** 4583–4588, 2008.

CHOWDHURY, S.; BASU, A.; KUNDU, S. Green synthesis of protein capped silver nanoparticles from phytopathogenic fungus *Macrophomina phaseolina*

(Tassi) Goid with antimicrobial properties against multidrug-resistant bacteria. **Nanoscale Res Lett.** 9(1): 365, 2014.

CHUA, R.Y.R.; LIM, K.; LEONG, S.S.J.; TAMBYAH, P. A.; HO, B. An in vitro urinary catheterization model that approximates clinical conditions for evaluation of innovations to prevent catheter associated urinary tract infections. **J Hosp Infect.**, v. 97, n. 1, p. 66-73, set. 2017.

CLOGSTON, J. D.; PATRI, A. K. Zeta potential measurement. **Methods Mol Biol.** 2011;697:63-70.

CLSI. Methods for determining bactericidal Activity of antimicrobial Agents; approved guideline. **CLSI document M26-A.** Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 1999.

CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard - 10th Edition. **CLSI document M07-A10.** Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2015.

COOK, G. T. *Proteus vulgaris* septicaemia treated with penicillin. **British Medical Journal**, v. 1, n. 4459, p. 955, 1946.

CORNEJO-DÁVILA, V.; PALMEROS-RODRÍGUEZ, M. A.; MENESES, I. U-T. DE; MAYORGA-GÓMEZ, E.; GARZA-SÁINZ, G.; OSORNIO-SÁNCHEZ, V.; TRUJILLO-ORTIZ, L.; SEDANO-BASILIO, J. E.; CANTELLANO-OROZCO, M.; MARTÍNEZ-ARROYO, C.; MORALES-MONTOR, J. G.; PACHECO-GAHLER, C. Management of complicated urinary tract infections in a referral center in Mexico. **International Urology and Nephrology** (2015) 47:229–233

CORRÊA, J. M.; MORI, M.; SANCHES, H. L.; DA CRUZ, A. D.; POIATE, JR. E.; POIATE, I. A. V. P. Silver Nanoparticles in Dental Biomaterials **Int J Biomater.** 2015; 2015: 485275.

COSENZA, B. J.; PODGWAITE, J. D. . A new species of *Proteus* isolated from larvae of the gypsy moth *Porthetria dispar* (L.). **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 32, n. 2, p. 187-191, 1966.

COSTERTON, J. W.; GEESEY, G. G.; CHENG, G. K. How bacteria stick. **Scientific American**, n. 238, v. 1, p. 86-95, 1978.

COSTERTON, J. W.; STEWART, P. S.; GREENBERG, E.P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. **Science**, n. 284, v. 5418, p. 1318-22, 1999.

CUSHEN, M.; KERRY, J.; MORRIS, M.; CRUZ-ROMERO, M.; CUMMINS, E. Nanotechnologies in the food industry - recent developments, risks and regulation. **Trends Food Sci. Tech.** 24, 30–46. 2012.

DAKAL, T. C.; KUMAR, A.; MAJUMDAR, R. S.; YADAV, V. Mechanistic Basis of Antimicrobial Actions of Silver Nanoparticles. **Front Microbiol.** 7: 1831. 2016.

DARZE, O. I. S. P.; BARROSO, U.; LORDELO, M. Preditores clínicos de bacteriúria assintomática na gestação. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 33, n. 8, p. 196-200, 2011.

DAVIES, D. G.; PARSEK, M. R.; PEARSON, J. P.; IGLEWSKI, B. H.; COSTERTON, J. W.; GREENBERG, E. P. The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm. **Science**, n. 280, v. 5361, p. 295-8, 1998.

DEBBAGE, P. Targeted drugs and nanomedicine: present and future. **Curr Pharm Des.** 2009;15(2):153-72.

DHAS, S. P.; JOHN, S. P.; MUKHERJEE, A.; CHANDRASEKARAN, N. Autocatalytic growth of biofunctionalized antibacterial silver nanoparticles. **International Union of Biochemistry and Molecular Biology.** 61, 322–332, mai.-jun. 2014

DIELUBANZA, E. J.; SCHAEFFER, A. J. Urinary tract infections in women. **Med Clin North Am**, 95(1):27-41, 2011.

DING, Y. H.; FLOREN, M.; TAN, W. Mussel-inspired polydopamine for bio-surface functionalization. **Biosurface and Biotribology.** v. 2, n. 4, p. 21–136, dez. 2016.

DONG, Z.; HSIANG, T.; LUO, M.; XIANG, M. Draft Genome Sequence of an Isolate of *Fusarium oxysporum* f. sp. melongenae, the Causal Agent of Fusarium Wilt of Eggplant. **Genome Announc.**, 5(7): e01597-16, 2017.

DONLAN, R. M. Biofilms and device-associated infections. **Emerging Infectious Diseases**, n. 7, v. 2, p. 277-81, 2001.

DONLAN, R. M.; COSTERTON, J. W. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. **Clinical Microbiology Reviews**, n. 15, v. 2, p. 167–93, 2002.

DREADEN, E. C.; ALKILANY, A. M.; HUANG, X.; MURPHY, C. J.; EL-SAYED, M. A. The golden age: gold nanoparticles for biomedicine. **Chem. Soc. Rev.**, 2012, 41, 2740–2779.

DRZEWIECKA, D. Significance and Roles of *Proteus* spp. Bacteria in Natural Environments. **Microb Ecol.** 2016; 72(4): 741–758.

DUARTE, G.; MARCOLIN, A. C.; GONÇALVES, C. V.; QUINTANA, S. M.; BEREZOWSKI, A. T.; NOGUEIRA, A. A.; CUNHA, S. P. Infecção urinária na gravidez: análise dos métodos para diagnóstico e do tratamento. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 7, p. 471-477, 2002.

DUMRI, K.; ANH, D. H. Immobilization of Lipase on Silver Nanoparticles via Adhesive Polydopamine for Biodiesel Production. **Enzyme Res.**, 2014: 389739, 2014.

DURÁN, N.; DURÁN, M.; DE JESUS, M. B.; SEABRA, A. B.; FÁVARO, W. J.; NAKAZATO, G. Silver nanoparticles: A new view on mechanistic aspects on antimicrobial activity. **Nanomedicine**. Apr;12(3):789-799, 2016.

DURÁN, N.; MARCATO, P. D.; ALVES, O. L.; DE SOUZA, G. I. H.; ESPOSITO, E. Mechanistic aspects of biosynthesis of silver nanoparticles by several *Fusarium oxysporum* strains. **Journal of Nanobiotechnology**, v.3, n. 8, jul. 2005

DURÁN, N.; NAKAZATO, G.; SEABRA, A. B. Antimicrobial activity of biogenic silver nanoparticles, and silver chloride nanoparticles: an overview and comments. **Appl. Microbiol. Biotechnol**, v. 100, n. 15, p. 6555-6570, ago. 2016.

EFSA (European Food Safety Authority) Scientific Committee, HARDY, A.; BENFORD, D.; HALLDORSSON, T.; JEGER, M. J.; KNUTSEN, H. K.; MORE, S.; NAEGELI, H.; NOTEBORN, H.; OCKLEFORD, C.; RICCI, A.; RYCHEN, G.; SCHLATTER, J. R.; SILANO, V.; SOLECKI, R.; TURCK, D.; YOUNES, M.; CHAUDHRY, Q.; CUBADDA, F.; GOTT, D.; OOMEN, A.; WEIGEL, S.; KARAMITROU, M.; SCHOONJANS, R.; MORTENSEN, A. Guidance on risk assessment of the application of nanoscience and nanotechnologies in the food and feed chain: Part 1, human and animal health. **EFSA Journal** 2018. Disponível em <https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/engage/180112.pdf>.

ENGLER, H. D.; TROY, K.; BOTTONE, E. J. Bacteremia and subcutaneous abscess caused by *Proteus penneri* in a neutropenic host. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 28, n. 7, p. 1645-1646, 1990.

EUSTIS, S.; EL-SAYED, M. A. Why gold nanoparticles are more precious than pretty gold: noble metal surface plasmon resonance and its enhancement of the radiative and nonradiative properties of nanocrystals of different shapes. **Chem Soc Rev.** 2006 Mar;35(3):209-17.

FANTI, J. R.; TOMIOTTO-PELLISSIER, F., MIRANDA-SAPLA, M. M.; CATANEO, A. H. D.; ANDRADE, C. G. T. J.; PANIS, C.; RODRIGUES, J. H. D. S.; WOWK, P.

F.; KUCZERA, D.; COSTA, I. N.; NAKAMURA, C. V.; NAKAZATO, G.; DURÁN, N.; PAVANELLI, W. R.; CONCHON-COSTA, I. Biogenic silver nanoparticles inducing *Leishmania amazonensis* promastigote and amastigote death in vitro. **Acta Trop.** 178:46-54, 2018.

FAO - **Food And Agriculture Organization Of The United Nations**. The FAO Action Plan on Antimicrobial Resistance 2016-2020 - Supporting the food and agriculture sectors in implementing the Global Action Plan on Antimicrobial Resistance to minimize the impact of antimicrobial resistance. Rome, 2016.

FATIMA, S. S.; MUSSAED, E. A. Urinary Tract Infection. In: \_\_\_\_\_. **Bacterial Identification and Drug Susceptibility Patterns in Pregnant and Non Pregnant UTI Patients**. 1. ed. Singapore: Springer Nature Singapore Pte Ltd, 2018. p. 1-22.

FAUST, J. J.; DOUDRICK, K.; YANG, Y.; CAPCO, D. G.; WESTERHOFF, P. A Facile Method for Separating and Enriching Nano and Submicron Particles from Titanium Dioxide Found in Food and Pharmaceutical Products. **PLoS One**. 2016 Oct 31;11(10):e0164712. doi: 10.1371/journal.pone.0164712. eCollection 2016.

FEYNMAN, R. P. There's plenty of room at the bottom. *Eng Sci.* 1960;23:22–36.

FLORES-MIRELES, A. L.; WALKER, J. N.; CAPARON, M.; HULTGREN, S. J. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. **Nature Reviews Microbiology**. 2015 May; 13(5): 269–284.

FOXMAN, B. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. **The American Journal Of Medicine**, v. 113, n. 1, p. 5–13, 2002.

FOXMAN, B. The epidemiology of urinary tract infection. **Nature Reviews. Urology**, v. 12, p. 653-660, 2010.

FRANCI, G.; FALANGA, A.; GALDIERO, S.; PALOMBA, L.; RAI, M.; MORELLI, G.; GALDIERO, M. Silver nanoparticles as potential antibacterial agentes. **Molecules**, 18;20(5):8856-74, 2015.

GAIDHANI, S.; SINGH, R.; SINGH, D.; PATEL, U.; SHEVADE, K.; YESHVEKAR, R.; CHOPADE, B. A. Biofilm disruption activity of silver nanoparticles synthesized by *Acinetobacter calcoaceticus* PUCM 1005. **Materials Letters**, v. 108, p. 324-327, out. 2013.

GAMBINO, M.; CAPPITELLI, F. Mini-review: Biofilm responses to oxidative stress. **Biofouling**, v. 32, n. 2, p. 167-78, 2016.

GARRETT, T R.; BHAKOO, M.; ZHANG, Z. Bacterial adhesion and biofilms on surfaces. **Progress in Natural Science**, n. 18, p. 1049–1056, 2008.

GATOO, M. A.; NASEEM, S.; ARFAT, M. Y.; DAR, A. M.; QASIM, K.; ZUBAIR, S. Physicochemical Properties of Nanomaterials: Implication in Associated Toxic Manifestations. **Biomed Res Int**. 2014; 2014: 498420.

GHOLAMI-SHABANI, M.; AKBARZADEH, A.; NOROUZIAN, D.; AMINI, A.; GHOLAMI-SHABANI, Z.; IMANI, A.; CHIANI, M.; RIAZI, G.; SHAMS-GHAHFAROKHI, M.; RAZZAGHI-ABYANEH, M. Antimicrobial activity and physical characterization of silver nanoparticles green synthesized using nitrate reductase from *Fusarium oxysporum*. **Appl Biochem Biotechnol**. 2014 Apr;172(8):4084-98.

GIEDRAITIENĖ, A.; VITKAUSKIENĖ, A.; NAGINIENĖ, R.; PAVILONIS, A. Antibiotic resistance mechanisms of clinically important bacteria. **Medicina (Kaunas)**, v. 47, n. 3, p. 137-46, 2011.

GONZALEZ, C. M.; SCHAEFFER, A. J. Treatment of urinary tract infection: what's old, what's new, and what works. **World Journal Of Urology**, v. 17, n. 6, p. 372-382, 1999.

GOULD, C. V.; UMSCHIED, C. A.; AGARWAL, R. K.; KUNTZ, G.; PEGUES, D. A.; HEALTHCARE INFECTION CONTROL PRACTICES ADVISORY COMMITTEE (HICPAC). Guideline For Prevention Of Catheter associated Urinary Tract Infections – 2009. **Infect Control Hosp Epidemiol**. 31(4):319-26, abr. 2010.

GRABE, M.; BJERKLUND-JOHANSEN, T. E.; BOTTO, H.; WULLT, B.; ÇEK, M.; NABER, K. G.; PICKARD, R. S.; TENKE, P.; WAGENLEHNER, F. Guidelines on urological infections. Arnhem, The Netherlands: **European Association of Urology (EAU)**, p. 224-241, 2011.

GRAHNQUIST, L.; LUNDBERG, B.; TULLUS, K. Neonatal *Proteus* meningoencephalitis. Case report. **Acta Pathologica, Microbiologica, et Immunologica Scandinavica**, v. 100, n. 8, p. 734-736, 1992.

GRIFFITH, D. P.; MUSER, D. M. Urease: principal cause of infection stones. **Urolithiasis Research**, v. 13, n. 5, p. 451-454, mar. 1976.

GUIDOS, R. J.; INFECTIOUS DISEASES SOCIETY OF AMERICA (IDSA). Combating Antimicrobial Resistance: Policy Recommendations to Save Lives. **Clin Infect Dis**. 2011 May;52 Suppl 5:S397-428

GUISBIERS, G. Size-Dependent Materials Properties Toward a Universal Equation. **Nanoscale Res Lett.**, 5(7): 1132–1136, 2010.

HALL-STOODLEY, L.; STOODLEY, P. Developmental regulation of microbial biofilms. **Current Opinion in Biotechnology**, n. 13, v. 3, p. 228-33, 2002.

HANNAN, T. J.; TOTSIKA, M.; MANSFIELD, K. J.; MOORE, K. H.; SCHEMBRI, M. A.; HULTGREN, S. J. Host-pathogen checkpoints and population bottlenecks in persistent and intracellular uropathogenic *E. coli* bladder infection. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 36, n. 3, p. 616–648, 2012.

HASHIMOTO, T.; KALUZA, J. S.; BURSTONE, M. S. The effect of menadione and phenazine methosulfate on the tetrazolium reduction system under histochemical conditions. **J Histochem Cytochem**. 1964 Nov;12:797-804.

HEILBERG, I. P.; SCHOR, N. Abordagem diagnóstica e terapêutica na infecção do trato urinário – Itu. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 49, n. 1, p. 109-116, 2003.

HICKLING, D. R.; TUNG-TIEN, S.; XUE-RU, W. Anatomy and Physiology of the Urinary Tract: Relation to Host Defense and Microbial Infection. **Microbiol Spectr**. 2015 Aug; 3(4): 10.1128/microbiolspec.UTI-0016-2012

HICKMAN, F. W.; STEIGERWALT, A. G.; FARMER III, J. J.; BRENNER, D. J. Identification of *Proteus penneri* sp. nov., formerly known as *Proteus vulgaris* indole negative or as *Proteus vulgaris* biogroup 1. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 15, n. 6, p. 1097-1102, 1982.

HOENIGE, J. F. M. Cellular changes accompanying the swarming of *Proteus mirabilis*. I. Observations of living cultures. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 10, n. 1, p. 113-123, 1964.

HOFFMAN, L. R.; D'ARGENIO, D. A.; MACCOSS, M. J.; ZHANG, Z.; JONES, R. A.; MILLER, S. I. Aminoglycoside antibiotics induce bacterial biofilm formation. **Nature**, v. 436, n.7054, p. 1171-5, ago. 2005.

HOLLING, N.; LEDNOR, D.; TSANG, S.; BISSELL, A.; CAMPBELL, L.; NZAKIZWANAYO, J.; DEDI, C.; HAWTHORNE, J. A.; HANLON, G.; OGILVIE, L. A.; SALVAGE, J. P.; PATEL, B. A.; BARNES, L M.; JONES, B. V. Elucidating the genetic basis of crystalline biofilm formation in *Proteus mirabilis*. **Infection and Immunity**, v. 82, n. 4, p. 1616-26, abr. 2014.

HOOTON, T. M.; BRADLEY, S. F.; CARDENAS, D. D.; COLGAN, R.; GEERLINGS, S. E.; RICE, J. C.; SAINT, S.; SCHAEFFER, A. J.; TAMBAYH, P. A.; TENKE, P.; NICOLLE, L. E. Diagnosis, Prevention, and Treatment of Catheter-Associated Urinary Tract Infection in Adults: 2009 International Clinical Practice Guidelines from the Infectious Diseases Society of America. **Clinical Infectious Diseases**, 50:625–663, 2010.

HOOTON, T. M.; BRADLEY, S. F.; CARDENAS, D. D.; COLGAN, R.; GEERLINGS, S. E.; RICE, J. C.; SAINT, S.; SCHAEFFER, A. J.; TAMBAYH, P. A.; TENKE, P.; NICOLLE, L. E.; INFECTIOUS DISEASES SOCIETY OF AMERICA. Diagnosis, prevention, and treatment of catheter-associated urinary tract infection in adults: 2009 International Clinical Practice Guidelines from the Infectious Diseases Society of America. **Clin Infect Dis.** 1;50(5):625-63, mar, 2010.

HORIKOSHI, S.; SERPONE, N. Introduction to Nanoparticles. In: \_\_\_\_\_. **Microwaves in Nanoparticle Synthesis: Fundamentals and Applications.** Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, p. 1-24, 2013.

HSUEH, Y.-H.; LIN, K.-S.; KE, W.-J.; HSIEH, C. -T.; CHIANG, C. -L.; TZOU, D. -Y.; LIU, S. -T. The Antimicrobial Properties of Silver Nanoparticles in *Bacillus subtilis* Are Mediated by Released Ag<sup>+</sup> Ions. **PLoS One**, 10(12), 2015.

ILIĆ, M.; MARKOVIĆ-DENIĆ, L. Nosocomial infections prevalence study in a Serbian university hospital. **Vojnosanitetski Pregled**, v. 66, n. 11, p. 868-75, 2009.

IQBAL, Z.; LAI, E. P. C.; AVIS, T. J. Antimicrobial effect of polydopamine coating on *Escherichia coli*. **J. Mater. Chem.**, 22, 21608, 2012.

IRAVANI, S.; KORBOKANDI, H.; MIRMOHAMMADI, S. V.; ZOLFAGHARI, B. Synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical and biological methods. **Research in Pharmaceutical Sciences**, n. 9, v. 6, p. 385–406, 2014.

ISENSTEIN, D.; HONIG, E. *Proteus vulgaris* empyema and increased pleural fluid pH. **Chest**, v. 97, n. 2, p. 511, 1990.

ISHIDA, K.; CIPRIANO, T. F.; ROCHA, G. M.; WEISSMÜLLER, G.; GOMES, F.; MIRANDA, K.; ROZENTAL, S. Silver nanoparticle production by the fungus *Fusarium oxysporum*: nanoparticle characterisation and analysis of antifungal activity against pathogenic yeasts. **Mem Inst Oswaldo Cruz**. 2014 Apr; 109(2): 220–228.

ISO - **International Organization for Standardization**. ISO/TR 10993-22:2017. Biological evaluation of medical devices — Part 22: Guidance on nanomaterials. Disponível em <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:tr:10993:-22:ed-1:v1:en> Acessado em 09/03/2018.

ISO - **International Organization for Standardization**. ISO/TR 13014. Nanotechnologies — Guidance on physico-chemical characterization of engineered nanoscale materials for toxicologic assessment. Geneva, 2012.

IVASK, A.; KURVET, I.; KASEMETS, K.; BLINOVA, I.; ARUOJA, V.; SUPPI, S.; VIJA, H.; KÄKINEN, A.; TITMA, T.; HEINLAAN, M.; VISNAPUU, M.; KOLLER, D.; KISAND, V.; KAHRU, A. Size-dependent toxicity of silver nanoparticles to bacteria, yeast, algae, crustaceans and mammalian cells in vitro. **PLoS One**. 2014 Jul 21;9(7):e102108.

JACOBSEN, S. M.; STICKLER, D. J.; MOBLEY, H. L. T.; SHIRTLIFF, M. E. Complicated catheter-associated urinary tract infections due to *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 21, n. 1, p. 26–59, 2008.

JANSEN, A. M.; LOCKATELL, C. V.; JOHNSON, D. E.; MOBLEY, H. L. T. Visualization of *Proteus mirabilis* morphotypes in the urinary tract: the elongated swarmer cell is rarely observed in ascending urinary tract infection **Infection and Immunity**, v. 71, n. 6, p. 3607–3613, 2003.

JEBALI, A.; HAJJAR, F. H.; HEKMATIMOGHADDAM, S.; KAZEMI, B.; DE LA FUENTE, J. M.; RASHIDI, M. Triangular gold nanoparticles conjugated with peptide ligands: a new class of inhibitor for *Candida albicans* secreted aspartyl proteinase. **Biochem Pharmacol**. 2014 Aug 15;90(4):349-55.

JIA, H.; XU, W.; AN, J.; LI, D.; ZHAO B. A simple method to synthesize triangular silver nanoparticles by light irradiation. **Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc**. 2006 Jul;64(4):956-60.

JOHLIN, E.; SOLARI, J.; MANN, S. A.; WANG, J.; SHIMIZU, T. S.; GARNETT, E. C. Super-resolution imaging of light–matter interactions near single semiconductor nanowires. **Nat Commun**. 2016; 7: 13950.

JOHNSON, D. R.; BOYD, R. E.; BEDNAR, A. J.; WEISS, C. A.; HULL, M. S.; COLEMAN, J. G.; KENNEDY, A. J.; BANKS, C. J.; STEEVENS, J. A. Effects of Soot By-Product from the Synthesis of Engineered Metallofullerene Nanomaterials on Terrestrial Invertebrates. **Environ Toxicol Chem**. 2018 Feb 23. doi: 10.1002/etc.4118.

JONES, G. L.; MULLER, C. T.; O'REILLY, M.; STICKLER, D. J. Effect of triclosan on the development of bacterial biofilms by urinary tract pathogens on urinary catheters. **J Antimicrob Chemother**, 57(2):266-72, fev. 2006.

KALAM, A.; AL-SEHEMI, A. G.; ALRUMMAN, S.; DU, G.; PANNIPARA, M.; ASSIRI, M.; ALMALKI, H.; MOUSTAFA, M. F. Colorimetric Sensing of Toxic Metal and Antibacterial Studies by Using Bioextract Synthesized Silver Nanoparticles. **J Fluoresc**. 2017 Nov;27(6):2045-2050. doi: 10.1007/s10895-017-2143-x. Epub 2017 Jul 26.

KANDI, V.; KANDI, S. Antimicrobial properties of nanomolecules: potential candidates as antibiotics in the era of multi-drug resistance. **Epidemiology and Health**, v. 37, n. p. 1-5, 2015.

KARKHANECHI, H.; TAKAGI, R.; MATSUYAMA, H. Biofouling resistance of reverse osmosis membrane modified with polydopamine. **Desalination**, v. 336, p. 87–96, mar. 2014.

KĘDZIORA, A.; SPERUDA, M.; KRZYŻEWSKA, E.; RYBKA, J.; ŁUKOWIAK, A.; BUGLA-PŁOSKOŃSKA, G. Similarities and Differences between Silver Ions and Silver in Nanoforms as Antibacterial Agents. **Int J Mol Sci**. Feb; 19(2): 444, 2018.

KHAN, S. U.; SALEH, T. A.; WAHAB, A.; KHAN, M. H. U.; KHAN, D.; KHAN, W. U.; RAHIM, A.; KAMAL, S.; KHAN, F; U.; FAHAD, S. Nanosilver: new ageless and versatile biomedical therapeutic scaffold. **Int J Nanomedicine**, 13: 733–762, 2018.

KHAWCHAROENPORN, T.; VASOO, S.; SINGH, K. Urinary tract infections due to multidrug-resistant Enterobacteriaceae: prevalence and risk factors in a Chicago emergency department. **Emergency Medicine International**, v. 2013, p. 1-7, 2013.

KHODASHENAS, B.; GHORBANI, H. R. Optimisation of nitrate reductase enzyme activity to synthesise silver nanoparticles. **IET Nanobiotechnol**, Jun;10(3):158-61, 2016.

KITTEL, C. **Introduction to Solid State Physics**. 8. ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 2005. 680 p.

KLINE, K. A.; LEWIS, A. L. Gram-Positive Uropathogens, Polymicrobial Urinary Tract Infection, and the Emerging Microbiota of the Urinary Tract. **Microbiol Spectr.**, v. 4, n. 2, abr. 2016.

KNIGHT, S. A. B.; DANCIS, A. Reduction of 2,3-bis(2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxanilide inner salt (XTT) is dependent on CaFRE10 ferric reductase for *Candida albicans* grown in unbuffered media. **Microbiology** (2006), 152, 2301–2308

KON, K.; RAI, M. Metallic nanoparticles: mechanism of antibacterial action and influencing factors. **Journal of Comparative Clinical Pathology Research**, n. 2, v. 1, p. 160 -174, 2013.

KORBKANDI, H.; ASHARI, Z.; IRAVANI, S.; ABBASIC, S. Optimization of Biological Synthesis of Silver Nanoparticles using *Fusarium oxysporum*. **Iran J Pharm Res**. 2013 Summer; 12(3): 289–298.

KOTEŁKO, K. *Proteus mirabilis*: taxonomic position, peculiarities of growth, components of the cell envelope. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, v. 129, p. 181–215, 1986.

KRAJDEN, S.; FUKSA, M.; PETREA, C.; CRISP, L. J.; PENNER, J. L. Expanded clinical spectrum of infections caused by *Proteus penneri*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 25, n. 3. p. 578-579, 1987.

KREIBIG, U.; VOLLMER, M. **Optical Properties of Metal Clusters**. 1. ed. New York: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1995. 535 p.

KUMAR, N.; KUMBHAT, S. Unique Properties. In: \_\_\_\_\_. **Essentials in Nanoscience and Nanotechnology**. 1. ed. New Jersey : John Wiley & Sons, Inc., 2016. p. 326-60.

LANDINI, P. Cross-talk mechanisms in biofilm formation and responses to environmental and physiological stress in *Escherichia coli*. **Res Microbiol.**, v. 160, n. 4, p. 259-66, 2009.

LANSDOWN, A. B. Silver in health care: antimicrobial effects and safety in use. **Curr Probl Dermatol**. 33:17-34, 2006.

LARSSON, P. O antigens of *Proteus mirabilis* and *Proteus vulgaris* strains isolated from patients with bacteremia. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 12, n. 4, p. 490-492, 1980.

LATUSZYNSKI, D. K.; SCHOCH, P.; QADIR, M. T.; CUNHA, B. A. *Proteus penneri* urosepsis in a patient with diabetes mellitus. **Heart Lung**, v. 27, n. 2, p. 146-148, 1998.

LAVAKUMAR, V.; MASILAMANI, K.; RAVICHANDIRAN, V.; VENKATESHAN, N.; SAIGOPAL, D. V. R.; KUMAR, C. K. A.; SOWMYA, C. Promising upshot of silver nanoparticles primed from *Gracilaria crassa* against bacterial pathogens. **Chemistry Central Journal** (2015) 9:42

LAZAR, V. Quorum sensing in biofilms - how to destroy the bacterial citadels or their cohesion/power? **Anaerobe**, n. 17, v. 6, p. 280-5, 2011.

LÁZARO-DÍEZ, M.; REMUZGO-MARTÍNEZ, S.; RODRÍGUEZ-MIRONES, C.; ACOSTA, F.; ICARDO, J. M.; MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, L.; RAMOS-VIVAS, J. Effects of Subinhibitory Concentrations of Ceftaroline on Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Biofilms. **PLoS One**, v. 11, n. 1, e0147569, jan. 2016

LEA, M.C. On allotropic forms of silver. **Am. J. Sci.** 37, 476–491. 1889

LEE, C.; KIM, J. Y.; LEE, W. I.; NELSON, K. L.; YOON, J.; SEDLAK, D. L. Bactericidal effect of zero-valent iron nanoparticles on *Escherichia coli*. **Environmental Science and Technology**, n. 42, v. 13, p. 4927-33, jul. 2008.

LEE, H.; DELLATORE, S. M.; MILLER, W. M.; MESSERSMITH, P. B. Mussel-Inspired Surface Chemistry for Multifunctional Coatings. **Science**, n. 318, v. 5849, p. 426-430, oct. 2007

LEMIRE, J. A.; HARRISON, J. J.; TURNER, R. J. Antimicrobial activity of metals: mechanisms, molecular targets and applications. **Nature Reviews Microbiology**, n. 11, p. 371-384, 2013.

LI, N.; GEORAS, S.; ALEXIS, N.; FRITZ, P.; XIA, T.; WILLIAMS, M. A.; HORNER, E.; NEL, A. A Work Group Report on Ultrafine Particles (AAAAI) Why Ambient Ultrafine and Engineered Nanoparticles Should Receive Special Attention for Possible Adverse Health Outcomes in Humans. **J Allergy Clin Immunol**. 2016 Aug; 138(2): 386-396.

LI, W. R.; XIE, X. B.; SHI, Q. S.; DUAN, S. S.; OUYANG, Y. S.; CHEN, Y. B. Antibacterial effect of silver nanoparticles on *Staphylococcus aureus*. **Biometals**. 24, 135-141, 2011.

LI, W. R.; XIE, X. B.; SHI, Q. S.; ZENG, H. Y.; OU-YANG, H. S.; CHEN, Y. B. Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticles on *Escherichia coli*. **Appl Microbiol Biotechnol**. 85, 1115-1122, 2010.

LIASSINE, N.; MADEC, S.; NINET, B.; METRAL, C.; FOUCHEREAU-PERON, M.; LABIA, R.; AUCKENTHALER, R. Postneurosurgical meningitis due to *Proteus penneri* with selection of a ceftriaxone-resistant isolate: analysis of chromosomal class a  $\beta$ -lactamase HugA and its LysR-type regulatory protein HugR. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 46, n. 1, p. 216-219, 2002.

LICHTENBERGER, P.; HOOTON, T. M. Complicated urinary tract infections. **Current Infectious Disease Reports**, v. 10, n. 6, p. 499-504, 2008.

LICHTENBERGER, P.; HOOTON, T. M. Complicated urinary tract infections. **Current Infectious Disease Reports**, v. 10, n. 6, p. 499-504, 2008.

LINK, S.; EL-SAYED, M. A. Optical Properties And Ultrafast Dynamics Of Metallic Nanocrystals. **Annu. Rev. Phys. Chem.** 2003. 54:331-66.

LIPSKY, B. A. Prostatitis and urinary tract infection in men: what's new; what's true? **The American Journal of Medicine**, v. 106, n. 3, p. 327-34, 1999.

LISBOA, T.; FARIA, M.; HOHER, J. A.; BORGES, L. A. A.; GÓMEZ, J.; SCHIFELBAIN, L.; DIAS, F. S.; LISBOA, J.; FRIEDMAN, G. Prevalência de

infecção nosocomial em unidades de terapia intensiva do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, São Paulo, v. 19, n. 4, p. 414-420, 2007

LIU, X.; SWIHART, M. T. Heavily-doped colloidal semiconductor and metal oxide nanocrystals: an emerging new class of plasmonic nanomaterials. **Chem. Soc. Rev.**, 2014, 43, 3908

LIU, Y.; AI, K.; LU, L. Polydopamine and Its Derivative Materials: Synthesis and Promising Applications in Energy, Environmental, and Biomedical Fields. **Chem. Rev.**, v. 114, n. 9, p. 5057-115, mai. 2014.

LO, D. S.; RAGAZZI, S. L. B.; GILIO, A. E.; MARTINEZ, M. B. Infecção urinária em menores de 15 anos: etiologia e perfil de sensibilidade antimicrobiana em hospital geral de pediatria. **Revista Paulista de Pediatria**, São Paulo, v. 28, n. 4, p. 299-303, 2010.

LO, D. S.; SHIEH, H. H.; RAGAZZI, S. L. B.; KOCH, V. H. K.; MARTINEZ, M. B.; GILIO, A. E. Infecção urinária comunitária: etiologia segundo idade e sexo. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, São Paulo, v. 35, n. 2, p. 93-98. 2013.

LO, E.; NICOLLE, L. E.; COFFIN, S. E.; GOULD, C.; MARAGAKIS, L. L.; MEDDINGS, J.; PEGUES, D. A.; PETTIS, A. M.; SAINT, S.; YOKOE, D. S. Strategies to prevent catheter-associated urinary tract infections in acute care hospitals: 2014 update. **Infect Control Hosp Epidemiol.** 35(5):464-79, mai. 2014.

LOK, C. N.; HO, C. M.; CHEN, R.; HE, Q. Y.; YU, W. Y.; SUN, H.; TAM, P. K.; CHIU, J. F.; CHE, C. M. Proteomic Analysis of the Mode of Antibacterial Action of Silver Nanoparticles. **Journal of Proteome Research.** 5, 916-24, 2006.

LOK, C. N.; HO, C. M.; CHEN, R.; HE, Q.Y.; YU, W. Y.; SUN, H.; TAM, P. K.; CHIU, J. F.; CHE, C. M. Proteomic Analysis of the Mode of Antibacterial Action of Silver Nanoparticles. **Journal of Proteome Research.** 5, 916-24, 2006.

LONGHI, C.; SANTOS, J. P.; MOREY, A. T.; MARCATO, P. D.; DURÁN, N.; PINGE-FILHO, P.; NAKAZATO, N.; YAMADA-OGATTA, S. F.; YAMAUCHI, L. M. Combination of fluconazole with silver nanoparticles produced by *Fusarium oxysporum* improves antifungal effect against planktonic cells and biofilm of drug-resistant *Candida albicans*. **Medical Mycology**, Volume 54, Issue 4, 1 May 2016, Pages 428–432

LU, Z.; RONG, K.; LI, J.; YANG, H.; CHEN, R. Size-dependent antibacterial activities of silver nanoparticles against oral anaerobic pathogenic bacteria. **J Mater Sci Mater Med.** 2013 Jun;24(6):1465-71.

LUO, K.; JUNG, S.; PARK, K. H.; KIM, Y. R. Microbial Biosynthesis of Silver Nanoparticles in Different Culture Media. **J Agric Food Chem.** 31;66(4):957-962, 2018.

LYSY, J.; WERCZBERGER, A.; GLOBUS, M.; CHOWERS, I. Pneumatocele formation in a patient with *Proteus mirabilis* pneumonia. **Postgraduate Medical Journal**, v. 61, n. 713, p. 255–257, 1985.

MAIER, S. A. Electromagnetics of metals. In: \_\_\_\_\_. **Plasmonics: fundamentals and applications**. 1. ed. New York: Springer Science+Business Media LLC, 2007. p. 5-19,

MALA, R.; ANNIE AGLIN, A.; RUBY CELSIA, A.; GEERTHIKA, S.; KIRUTHIKA, N.; VAZAGAPRIYA, C.; SRINIVASA KUMAR, K. Foley catheters functionalised with a synergistic combination of antibiotics and silver nanoparticles resist biofilm formation. **IET Nanobiotechnol**, v.11, n. 5, p. 612-620, ago. 2017.

MANOS, J.; BELAS, R. The genera *Proteus*, *Providencia*, and *Morganella*. **Prokaryotes**, v. 6, p. 245–269, 2006.

MARKOWSKA, K.; GRUDNIAK, A. M.; WOLSKA, K. I. Silver nanoparticles as an alternative strategy against bacterial biofilms. **Acta Biochimica Polonica**, n. 4, v. 60, p. 523–30, 2013.

MARQUES, L. P. J.; FLORES, J. T.; BARROS JUNIOR, O. O.; RODRIGUES, G. B.; MOURÃO, C. M.; MOREIRA, R. M. P. Epidemiological and clinical aspects of urinary tract infection in community-dwelling elderly women. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 16, n. 5, p. 436-41, 2012.

MARTÍNEZ-CASTAÑÓN, G. A.; NIÑO-MARTÍNEZ, N.; MARTÍNEZ-GUTIERREZ, F.; MARTÍNEZ-MENDOZA, J. R.; RUIZ, F. Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles with different sizes. **Journal of Nanoparticle Research**, n. 8, v. 10, p. 1343–1348, 2008.

MARX, A. C.; HARTSHORNE, M. F.; STULL, M. A.; TRUWIT, C. L. Case report 496: intraosseous gas in *Proteus mirabilis* osteomyelitis complicating bone infarcts in sickle cell disease. **Skeletal Radiology**, v. 17, n. 7, p.510-513, 1988.

MASSON, P.; MATHESON, S.; WEBSTER, A. C.; CRAIG, J. C. Meta-analyses in prevention and treatment of urinary tract infections. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 23, n. 2, p. 355–385, 2009.

MATUSZKIEWICZ-ROWIŃSKA, J.; MAŁYSZKO, J.; WIELICZKO, M. Urinary tract infections in Pregnancy: old and new unresolved diagnostic and therapeutic problems. **Archives of Medical Science**. 2015 Mar 16; 11(1): 67–77.

MCNEIL, Scott E. Unique Benefits of Nanotechnology to Drug Delivery and Diagnostics. In: \_\_\_\_\_. **Characterization of Nanoparticles Intended for Drug Delivery**. 1. ed. New York: Humana Press, 2011. p. 3-8

MELETIADIS, J.; MOUTON, J. W.; MEIS, J. F.; BOUMAN, B. A.; DONNELLY, J. P.; VERWEIJ, P. E.; EUROFUNG Network. Colorimetric assay for antifungal susceptibility testing of *Aspergillus* species. **J Clin Microbiol**. 2001 Sep;39(9):3402-8.

MILO, S.; THET, N. T.; LIU, D.; NZAKIZWANAYO, J.; JONES, B. V.; JENKINS, A. T. A. An in-situ infection detection sensor coating for urinary catheters. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 81, p. 166–172, jul. 2016.

MIRANDA-ANDRADES, J. R.; PÉREZ-GRAMATGES, A.; PANDOLI, O.; ROMANI, E. C.; AUCÉLIO, R. Q.; DA SILVA, A. R. Spherical gold nanoparticles and gold nanorods for the determination of gentamicin. **Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc**. 2017 Feb 5;172:126-134

MIRZAJANI, F.; GHASSEMPOUR, A.; ALIAHMADI, A.; ESMAEILI, M. A. Antibacterial effect of silver nanoparticles on *Staphylococcus aureus*. **Research in Microbiology**. 162, 542-549, 2011.

MOBLEY, H. L. T.; BELAS, R. Swarming and pathogenicity of *Proteus mirabilis* in the urinary tract. **Trends in Microbiology**, v. 3, n. 7, p. 280-284, 1995.

MODY, V. V.; SIWALE, R.; SINGH, A.; MODY, H. R. Introduction to metallic nanoparticles. **J Pharm Bioallied Sci**. 2010 Oct-Dec; 2(4): 282–289.

MORAES, D.; BRAOIOS, A.; ALVES, J. L. B.; COSTA, R. M. Prevalence of uropathogens and antimicrobial susceptibility profile in outpatient from Jataí-GO. **Jornal Brasileiro De Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 50, n. 3, p. 200-204, 2014.

MORGAN, S. D.; RIGBY, D.; STICKLER, D. J. A study of the structure of the crystalline bacterial biofilms that can encrust and block silver Foley catheters. **Urol Res**, v. 37, n. 2, p. 89-93, abr.2009.

MORONES, J. R.; ELECHIGUERRA, J. L.; CAMACHO, A.; HOLT, K.; KOURI, J. B.; RAMÍRE, J. T.; YACAMAN, M. J. The bactericidal effect of silver nanoparticles. **Nanotechnology**. 16, 2346–2353, 2005.

MOUSAVI, B.; TAFVIZI, F.; ZAKER BOSTANABAD, S. Green synthesis of silver nanoparticles using *Artemisia turcomanica* leaf extract and the study of anti-cancer effect and apoptosis induction on gastric cancer cell line (AGS). **Artif Cells Nanomed Biotechnol**, 23:1-12, 2018.

MUHSIN, T. M., HACHIM, A. K. Mycosynthesis and characterization of silver nanoparticles and their activity against some human pathogenic bacteria. **World J Microbiol Biotechnol.** 30(7):2081-90, 2014.

MUKHOPADHYAY, S. S. Nanotechnology in agriculture: prospects and constraints. **Nanotechnol Sci Appl.** 2014; 7: 63–71.

NARAYANAN, K. B.; SAKTHIVEL, N. Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes. **Advances in Colloid and Interface Science**, n.1-2, v. 156, p. 1-13, 2010.

NASEEM, T.; FARRUKH, M. A. Antibacterial activity of green synthesis of iron nanoparticles using *Lawsonia inermis* and *Gardenia jasminoides* leaves Extract. **Journal of Chemistry**, v. 2015, p. 1-7, 2015.

NATIONAL SCIENCE AND TECHNOLOGY COUNCIL; COMMITTEE ON TECHNOLOGY; SUBCOMMITTEE ON NANOSCALE SCIENCE, ENGINEERING, AND TECHNOLOGY. **National Nanotechnology Initiative - Strategic Plan.** Washington, DC. 2014.

NICOLLE, L. E. A practical guide to antimicrobial management of complicated urinary tract infection. **Drugs & Aging**, v. 18, n. 4, p. 243-254, 2001.

NICOLLE, L. E. Catheter associated urinary tract infections. **Antimicrob Resist Infect Control.** 2014; 3: 23.

NICOLLE, L. E. Complicated urinary tract infection in adults. **The Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology**, v. 16, n. 6, p. 349–360, 2005.

NICOLLE, L. E. Epidemiology of urinary tract infections. **Clinical Microbiology Newsletter**, v. 24, n. 18, p. 135–140, 2002.

NICOLLE, L. E.; BRADLEY, S.; COLGAN, R.; RICE, J. C.; SCHAEFFER, A.; HOOTON, T. M. Infectious Diseases Society of America Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Asymptomatic Bacteriuria in Adults. **Clinical Infectious Diseases**, 40:643–54, 2005.

NIRMALADEVI, D.; VENKATARAMANA, M.; SRIVASTAVA, R. K.; UPPALAPATI, S. R.; GUPTA, V. K.; YLI-MATTILA, T.; CLEMENT TSUI, K. M.; SRINIVAS, C.; NIRANJANA, S. R.; CHANDRAB, N. S. Molecular phylogeny, pathogenicity and toxigenicity of *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici. **Sci Rep.**, 6: 21367, 2016.

NITZAN, O.; ELIAS, M.; CHAZAN, B.; SALIBA. Urinary tract infections in patients with type 2 diabetes mellitus: review of prevalence, diagnosis, and management. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity.** 2015; 8: 129–136.

NORSWORTHY, A. N.; PEARSON, M. M. From Catheter to Kidney Stone: The Uropathogenic Lifestyle of *Proteus mirabilis*. **Trends in microbiology**, v. 25, n. 4, p. 304–15, abr. 2017.

NOWACK, B., KRUG, H. F., HEIGHT, M., 2011. 120 Years of Nanosilver History: Implications for Policy Makers. **Environ. Sci. Technol.** 45, 1177–1183.

O'NEILL, JIM . Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations - **The Review on Antimicrobial Resistance Chaired by Jim O'Neill**. 2014.

O'NEILL, JIM. Tackling Drug-Resistant Infections Globally: Final Report And Recommendations - **The Review On Antimicrobial Resistance Chaired by Jim O'Neill**. 2016.

O'HARA, C. M.; BRENNER, F. W.; MILLER, J. M. Classification, identification, and clinical significance of *Proteus*, *Providencia*, and *Morganella*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 13, n. 4, p. 534–546, 2000.

OLIVEIRA, A. C.; KOVNER, C. T.; SILVA, R. S. Nosocomial infection in an intensive care unit in a brazilian university hospital. **Revista Latino-Americana De Enfermagem**, Ribeirão Preto, v. 18, n. 2, p. 233-239, 2010.

PACIONI, N. L.; BORSARELLI, C. D.; REY, V.; VEGLIA, A. V. Synthetic Routes for the Preparation of Silver Nanoparticles - A Mechanistic Perspective. In: ALARCON, EMILIO, GRIFFITH, MAY, UDEKWU, KLAS I. **Silver Nanoparticle Applications - In the Fabrication and Design of Medical and Biosensing Devices**. Springer International Publishing, p. 13-46, 2015

PADRÃO, M. C.; MONTEIRO, M. L.; MACIEL, N. R.; VIANA, F. F. C. F.; FREITAS, N. A. Prevalência de infecções hospitalares em unidade de terapia intensiva. **Revista da Sociedade Brasileira de Clínica Médica**, v. 8, n. 2, p. 125-8, 2010.

PAL, S.; TAK, Y. K.; SONG, J. M. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the Gram-negative bacterium *Escherichia coli*. **Applied and environmental microbiology**, n. 73, v. 6, p. 1712-20, 2007.

PANNEK, J. Treatment of urinary tract infection in persons with spinal cord injury: guidelines, evidence, and clinical practice - A questionnaire-based survey and review of the literature. **The Journal of Spinal Cord Medicine**, v. 34, n. 1, p. 11–15, 2011.

PARAJE, M. G. Antimicrobial resistance in biofilms. In: Méndez-Vilas, A., editor. **Science against microbial pathogens: communicating current research and**

**technological advances**, Microbiology book series, Badajoz, Espanha, v. 2, p. 736-44, 2011.

PASUPULETI, V. R.; PRASAD, T. N.; SHIEKH, R. A.; BALAM, S. K.; NARASIMHULU, G.; REDDY, C. S.; AB RAHMAN, I.; GAN, S.H. Biogenic silver nanoparticles using *Rhinacanthus nasutus* leaf extract: synthesis, spectral analysis, and antimicrobial studies. **Int J Nanomedicine**. 2013;8:3355-64.

PEETERS, E.; NELIS, H. J.; COENYE, T. Comparison of multiple methods for quantification of microbial biofilms grown in microtiter plates. **Journal of Microbiological Methods** 72 (2008) 157–165

PÉREZ, J. M. H.; SUÁREZ, P. M. R.; GILART, J. F. Pleural empyema secondary to pyonephrosis. **Archivos de Bronconeumología**, v. 44, n. 5, p. 285, 2008.

PHAN, H.; LEHMAN, D. Cerebral abscess complicating *Proteus mirabilis* meningitis in a newborn infant. **Journal of Child Neurology**, v. 27, n. 3, p. 405-407, 2012.

PICKARD, R.; LAM, T.; MACLENNAN, G.; STARR, K.; KILONZO, M.; MCPHERSON, G.; GILLIES, K.; MCDONALD, A.; WALTON, K.; BUCKLEY, B.; GLAZENER, C.; BOACHIE, C.; BURR, J.; NORRIE, J.; VALE, L.; GRANT, A.; N'DOW, J. Antimicrobial catheters for reduction of symptomatic urinary tract infection in adults requiring short-term catheterisation in hospital: a multicentre randomised controlled trial. **Lancet.**, v. 380, n. 9857, p.1927-35, dez. 2012.

PIETRUCHA-DILANCHIAN, P.; HOOTON, T. M. Diagnosis, Treatment, and Prevention of Urinary Tract Infection. **Microbiology Spectrum**, 2016 Dec;4(6)

PINE, J. R.; HOLLMAN, J. L. Elevated pleural fluid pH in *Proteus mirabilis* empyema. **Chest**, v. 84, n. 1, p. 109-111, 1983.

PIRES, M. C. S.; FROTA, K. S.; JUNIOR, P. O. M.; CORREIA, A. F.; CORTEZ-ESCALANTE, J. J.; SILVEIRA, C. A. Prevalence and bacterial susceptibility of community acquired urinary tract infection in University Hospital of Brasília, 2001 to 2005. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. 6, 2007.

POEY, N.; MADHI, F.; BISCARDI, S.; BÉCHET, S.; COHEN, R. Aminoglycosides Monotherapy as First-Line Treatment for Febrile Urinary Tract Infection in Children. **Pediatr Infect Dis J.**, v. 36, n. 11, p. 1104-1107, nov. 2017.

POTERA, C. Understanding the Germicidal Effects of Silver Nanoparticles. **Environ Health Perspect.** Oct; 120(10): a386, 2012.

POTOČNIK, J. **Official Journal of the European Union** – RECOMMENDATIONS - COMMISSION RECOMMENDATION of 18 October 2011 on the definition of nanomaterial. Brussels, 2011.

POULOSE, S.; PANDA, T.; NAIR, P. P.; THÉODORE, T. Biosynthesis of silver nanoparticles. **American Scientific Publishers**, n. 2, v. 14, p. 2038–2049, 2014.

PRABHU, S.; POULOSE, E. K. Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. **International Nano Letters**. v. 2, n. 32, 2012.

PRASAD, T. N. V. K. V.; ELUMALAI, E; K; Biofabrication of Ag nanoparticles using *Moringa oleifera* leaf extract and their antimicrobial activity. **Asian Pac J Trop Biomed**. 2011 Dec; 1(6): 439–442.

QUINTEROS, M. A.; CANO ARISTIZÁBAL, V.; DALMASSO, P. R.; PARAJE, M. G.; PÁEZ, P. L. Oxidative stress generation of silver nanoparticles in three bacterial genera and its relationship with the antimicrobial activity. **Toxicol In Vitro**, Oct;36:216-223, 2016.

RAI, M.; KON, K.; INGLE, A.; DURAN, N.; GALDIERO, S.; GALDIERO, M. Broad-spectrum bioactivities of silver nanoparticles: the emerging trends and future prospects. **Appl. Microbiol. Biotechnol**. 98, 1951–1961, 2012.

RAJ, S.; JOSE, S.; SUMOD, U. S.; SABITHA, M. Nanotechnology in cosmetics: Opportunities and challenges. **J Pharm Bioallied Sci**. 2012 Jul-Sep; 4(3): 186–193.

RAMALINGAM, V.; VARUNKUMAR, K; RAVIKUMAR, V.; RAJARAM R. Target delivery of doxorubicin tethered with PVP stabilized gold nanoparticles for effective treatment of lung cancer . **Sci Rep**. 2018; 8: 3815.

RAMOS, A. P.; CRUZ, M. A. E.; TOVANI, C. B.; CIANCAGLINI, P. Biomedical applications of nanotechnology. **Biophys Rev**. 2017 Apr; 9(2): 79–89.

RANI, S. A.; CELERI, C.; NAJAFI, R.; BLEY, K.; DEBABOV, D. Irrigation with N,N-dichloro-2,2-dimethyltaurine (NVC-422) in a citrate buffer maintains urinary catheter patency in vitro and prevents encrustation by *Proteus mirabilis*. **Urolithiasis**, v. 44, n. 3, p. 247-56, jun. 2016.

RATHI SER, P. R.; REKA, M.; POOVAZHAGI, R.; ARUL KUMAR, M.; MURUGESAN, K. Antibacterial and cytotoxic effect of biologically synthesized silver nanoparticles using aqueous root extract of *Erythrina indica* lam. **Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc**. 2015 Jan 25;135:1137-44.

RAUPRICH, O.; MATSUSHITA, M.; WEIJER, C. J.; SIEGERT, F.; ESIPOV, S. E.; SHAPIRO, J. A. Periodic phenomena in *Proteus mirabilis* swarm colony development. **Journal of Bacteriology**, v. 178, n. 22, p. 6525–6538, 1996.

RAZ, R. Urinary tract infection in postmenopausal women. **Korean Journal of Urology**, v. 52, n. 12, p. 801–808, 2011.

RAZINE, R.; AZZOUZI, A.; BARKAT, A.; KHOUDRI, I.; HASSOUNI, F.; CHEFCHAOUNI, A. C.; ABOUQAL, R. Prevalence of hospital-acquired infections in the university medical center of Rabat, Morocco. **International Archives of Medicine**, v. 5, n. 26, 2012.

REIDY, B., HAASE, A., LUCH, A., DAWSON, K. A., LYNCH, I., 2013. Mechanisms of Silver Nanoparticle Release, Transformation and Toxicity: A Critical Review of Current Knowledge and Recommendations for Future Studies and Applications. **Materials**. 6, 2295-2350.

RICHARDS, M. J.; EDWARDS, J. R.; CULVER, D. H.; GAYNES, R. P. Nosocomial infections in medical intensive care units in the United States. National Nosocomial Infections Surveillance System. **Critical Care Medicine**, v. 27, n. 5, p. 887-92, 1999.

RIYUZO, M. C.; MACEDO, C. S.; BASTOS, H. D. Fatores associados à recorrência da infecção do trato urinário em crianças. **Revista Brasileira De Saúde Materno Infantil**, Recife, v. 7, n. 2, 2007.

RODRIGUES, F. J. B.; BARROSO, A. P. D. Etiologia e sensibilidade bacteriana em infecções do tracto urinário. **Revista Portuguesa de Saúde Pública**. v. 29, n. 2, p. 123-131, 2011.

RODRÍGUEZ-RAZÓN, C. M.; YAÑEZ-SÁNCHEZ, I.; RAMOS-SANTILLAN, V. O.; VELÁSQUEZ-ORDÓÑEZ, C.; GUTIÉRREZ-RUBIO, S. A.; GARCÍA-GARCÍA, M. R.; LÓPEZ-ROA, R. I.; SÁNCHEZ-HERNÁNDEZ, P. E.; DANERI-NAVARRO, A.; GARCÍA-IGLESIAS, T. Adhesion, proliferation, and apoptosis in different molecular portraits of breast cancer treated with silver nanoparticles and its pathway-network analysis. **Int J Nanomedicine**. 2018; 13: 1081–1095

RORIZ-FILHO, J. S.; VILAR, F. C.; MOTA, L. M.; LEAL, C. L.; PISI, P. C. B. Infecção do trato urinário. **Medicina (Ribeirão Preto)**, v. 43, n. 2, p. 118-25, 2010.

ROWE, T. A.; JUTHANI-MEHTA, M. Diagnosis and Management of Urinary Tract Infection in Older Adults. **Infectious Disease Clinics of North America**. 2014; 28(1): 75–89.

ROYAL SOCIETY AND ROYAL ACADEMY OF ENGINEERING. Nanoscience and nanotechnologies: opportunities and uncertainties. London, 2004. Disponível em

[https://royalsociety.org/~media/Royal\\_Society\\_Content/policy/publications/2004/9693.pdf](https://royalsociety.org/~media/Royal_Society_Content/policy/publications/2004/9693.pdf). Acessado em 17 mar. 2018.

RÓZALSKI, A.; SIDORCZYK, Z.; KOTEŁKO, K. Potential virulence factors of *Proteus* bacilli. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 61, n. 1, p. 65–89, 1997.

RUBIN, R. H.; SHAPIRO, E. D.; ANDRIOLE, V. T.; DAVIS, R. J.; STAMM, W. E. Evaluation of new anti-infective drugs for the treatment of urinary tract infection. Infectious diseases society of America and the food and drug administration. **Clinical Infectious Diseases**, v. 15, n. 1, p. 216-227, 1992.

RUPARELIA, J. P.; CHATTERJEE, A. K.; DUTTAGUPTA, S. P.; MUKHERJI, S. Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles. **Acta Biomater**. 2008 May;4(3):707-16.

RUSTIGIAN, R.; STUART, C. A. The biochemical and serological relationships of the organisms of the genus *Proteus*. **Journal of Bacteriology**, v. 49, n. 5, p. 419–436, 1945.

SAHAL, G.; NASSERI, B.; BILKAY, I. S.; PISKIN, E. Anti-biofilm effect of nanometer scale silver (NmSAg) coatings on glass and polystyrene surfaces against *P. mirabilis*, *C. glabrata* and *C. tropicalis* strains. **J Appl Biomater Funct Mater** 2015 Dec 18;13(4):e351-5

SAILER, F. C.; MEBERG, B. M.; YOUNG, K. D. beta-Lactam induction of colanic acid gene expression in *Escherichia coli*. **FEMS Microbiol Lett.**, v. 226, n. 2, p. 245-9, set. 2003.

SALES JÚNIOR, J. A. L.; DAVID, C. M.; HATUM, R.; SOUZA, P. C. S. P.; JAPIASSÚ, A.; PINHEIRO, C. T. S.; FRIEDMAN, G.; SILVA, O. B.; DIAS, M. D.; KOTERBA, E.; DIAS, F. S; PIRAS, C., Grupo de Estudo de Sepse do Fundo AMIB; LUIZ, R. R. An epidemiological study of sepsis in intensive care units. Sepsis brazil study. **Revista Brasileira Terapia Intensiva**, v. 18, n. 1, 2006

SALUNKE, G. R.; GHOSH, S; KUMAR, R. J. S.; KHADE, S.; VASHISTH, P.; KALE, T.; CHOPADE, S.; PRUTHI, V.; KUNDU, G.; BELLARE, J. R.; CHOPADE, B. A. Rapid efficient synthesis and characterization of silver, gold, and bimetallic nanoparticles from the medicinal plant *Plumbago zeylanica* and their application in biofilm control. **Int J Nanomedicine**, 9: 2635–2653, mai. 2014.

SANTOS, A. C. R. B. dos; CARVALHO, A. A.; RIBEIRO, C. F. M.; SOUSA, F. C. de; SANTANA, H. T.; SIQUEIRA, H. N.; MOURA, H. L. C. A. de; BARROS, L. S.;

MORELO, L. T.; GONÇALVES, M. R. S.; NOGUEIRA, M. D. S. P. NOTA TÉCNICA GVIMS/GGTES Nº 02/2017 - Critérios Diagnósticos das Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde para Notificação dos Indicadores Nacionais. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, p. 21-22, 2017.

SCANDORIEIRO, S.; DE CAMARGO, L. C.; LANCHEROS, C. A. C.; YAMADA-OGATTA, S. F.; NAKAMURA, C. V.; DE OLIVEIRA, A. G.; ANDRADE, C. G. T. J.; DURAN, N.; NAKAZATO, G.; KOBAYASHI, R. K. T. Synergistic and Additive Effect of Oregano Essential Oil and Biological Silver Nanoparticles against Multidrug-Resistant Bacterial Strains. **Front Microbiol.**, v. 7, n. 760. mai. 2016.

SCHAEFFER, A. J.; ANDERSON, R.U. Efficacy and tolerability of norfloxacin vs. ciprofloxacin in complicated urinary tract infection. **Urology**, v. 40, n. 5, p. 446-449, 1992.

SCHAFFER, J. N.; PEARSON, M. M. *Proteus mirabilis* and Urinary Tract Infections. **Microbiol Spectr.**, v. 3, n. 5, oct. 2015.

SCHAPPERT, S. M.; BURT, C.W. Ambulatory care visits to physician offices, hospital outpatient departments, and emergency departments: United States, 2001–02. **National Center for Health Statistics. Vital and Health Statistics**, Washington, s. 13, n. 159, 2006.

SCHMIEMANN, G.; KNIEHL, E.; GEBHARDT, K.; MATEJCZYK, M. M.; HUMMERS-PRADIER, E. The diagnosis of urinary tract infection: a systematic review. **Deutsches Ärzteblatt International**, v. 107, n. 21, p. 361–67, 2010.

SELLATURAY, S. V.; NAIR, R.; DICKINSON, I. K.; SRIPRASAD, S. *Proteus*: mythology to modern times. **Indian Journal of Urology**, v. 28, n. 4, p. 388–391, 2012.

SHAH, M.; FAWCETT.; SHARMA, S.; TRIPATHY, S. K.; POINERN, G. E. J. Green Synthesis of Metallic Nanoparticles via Biological Entities. **Materials (Basel)**. 8(11): 7278–7308, 2015.

SHAPIRO, J. A.; TRUBATCH, D. Sequential events in bacterial colony morphogenesis. **Physica D: Nonlinear Phenomena**, v. 49, p. 214-223, 1991.

SHARMA, Y. C.; SRIVASTAVA, V.; SINGH, V. K.; KAUL, S. N.; WENG, C. H. Nano-adsorbents for the removal of metallic pollutants from water and wastewater. **Environ. Technol.**, 30: 583–609, 2009.

SHEERIN, N. S. Urinary tract infection, **Medicine**, v. 39, n. 7, p. 384-389, 2011

SHENG, Z.; LIU, Y. Effects of silver nanoparticles on wastewater biofilms. **Water research** 45 (2011) 6039 e6050

SHRIVASTAVA, S.; BERA, T.; ROY, A.; SINGH, G.; RAMACHANDRARAO, P.; DASH, D. Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles. **Nanotechnology**. v. 18, n. 22, 2007.

SIDDIQI, K. S.; HUSEN, A.; RAO, R. A. K. A review on biosynthesis of silver nanoparticles and their biocidal properties. **J Nanobiotechnology**, 16: 14, 2018.

SILEIKA, T. S.; KIM, H. –D. MANIAK, P.; MESSERSMITH P. B. Antibacterial Performance of Polydopamine-Modified Polymer Surfaces Containing Passive and Active Components. **Appl. Mater. Interfaces**, n. 3, v.12, p. 4602–4610, dez. 2011.

SILVA E SOUZA, A. C.; CAIS, D. P.; KRUMMENAUER, E. C.; TRENCH, F. J. P; MACHADO, J. A. A.; CARNEIRO, M.; BALTIERI, S. Infecção do trato urinário. In: Critérios Diagnósticos de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA**, v. 2, p. 107-119, 2017.

SINGH, P. K.; JAIRATH, G.; AHLAWAT, S. S. Nanotechnology: a future tool to improve quality and safety in meat industry. **J Food Sci Technol**. 2016 Apr; 53(4): 1739–1749.

SKŁADANOWSKI, M.; GOLINSKA, P.; RUDNICKA, K.; DAHM, H.; RAI, M. Evaluation of cytotoxicity, immune compatibility and antibacterial activity of biogenic silver nanoparticles. **Med Microbiol Immunol.**, v. 205, n. 6, p. 603–613, dez. 2016.

SONDI, I.; SALOPEK-SONDI, B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. **Journal of Colloid and Interface Science**. 275, 177–182, 2004.

SOO-HWAN, K.; LEE, H. S.; RYU, D. S.; CHOI, S. J.; LEE, D. S. Antibacterial Activity of Silver-nanoparticles Against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **Korean J. Microbiol. Biotechnol**. 39, 77–85, 2011.

SRINIVASAN, R.; VIGNESHWARI, L.; RAJAVEL, T.; DURGADEVI, R.; KANNAPPAN, A.; BALAMURUGAN, K.; PANDIMA DEVI, K.; VEERA RAVI, A. Biogenic synthesis of silver nanoparticles using Piper betle aqueous extract and evaluation of its anti-quorum sensing and antibiofilm potential against uropathogens with cytotoxic effects: an in vitro and in vivo approach. **Environ Sci Pollut Res Int.**, p. 1-17 dez. 2017. doi: 10.1007/s11356-017-1049-0.

STAMM, A. M. N. de F.; COUTINHO, M. S. S. de A. Infecção do trato urinário relacionada ao cateter vesical de demora: incidência e fatores de risco. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 45, n. 1, p. 27-33, 1999.

STARK, R. P.; MAKI, D. G. Bacteriuria in the catheterized patient — what quantitative level of bacteriuria is relevant? **New England Journal of Medicine**, v. 311, p. 560-564, 1984.

STICKLER, D. J. Clinical complications of urinary catheters caused by crystalline biofilms: something needs to be done. **Journal of Internal Medicine**, v. 276, n. 2, p. 120-9, ago. 2014.

STICKLER, D. J.; FENELEY, R. C. L. The encrustation and blockage of long-term indwelling bladder catheters: a way forward in prevention and control. **Spinal Cord**, v. 48, n. 11, p. 784–790, nov. 2010.

STICKLER, D. J.; ZIMAKOFF, J. Complications of urinary tract infections associated with devices used for long-term bladder management. **Journal of Hospital Infection**, v. 28, n. 3, p. 177-194, 1994.

STONE, V.; MILLER, M. R.; CLIFT, M. J. D.; ELDER, A.; MILLS, N. L.; MØLLER, P.; SCHINS, R. P. F.; VOGEL, U.; KREYLING, W. G.; ALSTRUP JENSEN, K.; KUHNBUSCH, T. A. J.; SCHWARZE, P. E.; HOET, P.; PIETROIUSTI, A.; DE VIZCAYA-RUIZ, A.; BAEZA-SQUIBAN, A.; TEIXEIRA, J. P.; TRAN, C. L.; CASSEE, F. R. Nanomaterials Versus Ambient Ultrafine Particles: An Opportunity to Exchange Toxicology Knowledge. **Environ Health Perspect.** 2017 Oct 10;125(10):106002. doi: 10.1289/EHP424.

SU, H. L.; CHOU, C. C.; HUNG, D. J.; LIN, S. H.; PAO, I. C.; LIN, J. H.; HUANG, F. L.; DONG, R. X.; LIN, J. J. The disruption of bacterial membrane integrity through ROS generation induced by nanohybrids of silver and clay. **Biomaterials**. 30, 5979–5987, 2009.

SU, L.; YU, Y.; ZHAO, Y.; LIANG, F.; ZHANG, X. Strong Antibacterial Polydopamine Coatings Prepared by a Shaking-assisted Method. **Scientific Reports**, v. 6, n. 24420, abr. 2016.

SWARTJES, J. J.; SHARMA, P. K.; VAN KOOTEN, T. G.; VAN DER MEI, H. C.; MAHMOUDI, M.; BUSSCHER, H. J.; ROCHFORD, E. T. Current Developments in Antimicrobial Surface Coatings for Biomedical Applications. **Curr Med Chem.** 2015;22(18):2116-29.

TAN, A; CHAWLA, R.; NATASHA, G.; MAHDIBEIRAGHDAR, S.; JEYARAJ, R.; RAJADAS, J.; HAMBLIN, M. R.; SEIFALIAN, A. M. Nanotechnology and regenerative therapeutics in plastic surgery: The next frontier. **J Plast Reconstr Aesthet Surg.** 2016 Jan; 69(1): 1–13.

TAN, C. W.; CHLEBICKI, M. P. Urinary tract infections in adults. **Singapore Medical Journal**, 2016 Sep; 57(9): 485–490.

TASBAKAN, M. I.; DURUSOY, R.; PULLUKCU, H.; SIPAHI, O. R.; ULUSOY, S. Hospital-acquired urinary tract infection point prevalence in Turkey: Differences in risk factors among patient groups. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 12, p. 31, 2013.

TENKE, P.; KOVACS, B.; JOHANSEN, T. E. B.; MATSUMOTO, T.; TAMBYAH, P. A.; NABER, K. G. European and asian guidelines on management and prevention of catheter-associated urinary tract infections. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 31, n. 1, p. 68–78, 2008

THOMAS, R.; SOUMYA, K. R.; MATHEW, J.; RADHAKRISHNAN, E. K. Inhibitory effect of silver nanoparticle fabricated urinary catheter on colonization efficiency of Coagulase Negative Staphylococci. **J Photochem Photobiol B**. 149:68-77, ago. 2015.

VAQUÉ, J.; ROSSELLÓ, J.; TRILLA, A.; MONGE, V.; GARCÍA-CABALLERO, J.; ARRIBAS, J. L.; BLASCO, P.; SÁENZ-DOMÍNGUEZ, J. R.; ALBERO, I.; CALBO, F.; BARRIO, J.; HERRUZO, R.; SÁENZ-GONZÁLEZ, C.; ARÉVALO, J. M.; EPINE Working Group. Nosocomial infections in Spain: results of five nationwide serial prevalence surveys (EPINE Project, 1990–1994). **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 17, n. 5, p. 293-297, 1996.

VASUDEV, R.; MATHEW, S.; AFONINA, N. Characterization of submicron (0.1-1  $\mu\text{m}$ ) particles in therapeutic proteins by nanoparticle tracking analysis. **J Pharm Sci**. 2015 May;104(5):1622-31.

VERMA, A.; BHANI, D.; TOMAR, V.; BACHHIWAL, R.; YADAV, S. Differences in Bacterial Colonization and Biofilm Formation Property of Uropathogens between the Two most Commonly used Indwelling Urinary Catheters. **J Clin Diagn Res**. 10(6): PC01–PC03, jun. 2016.

VERMA, S. K.; PRABHAT, K. C.; GOYAL, L.; RANI, M.; JAIN, A. A critical review of the implication of nanotechnology in modern dental practice. **Natl J Maxillofac Surg**. 2010 Jan-Jun; 1(1): 41–44.

VERT, M.; DOI, Y.; HELLWICH, K-H.; HESS, M.; HODGE, P.; KUBISA, P.; RINAUDO, M.; SCHUÉ, F. Terminology for biorelated polymers and applications (IUPAC Recommendations 2012). **Pure Appl. Chem.**, Vol. 84, No. 2, pp. 377–410, 2012.

VIMBELA, G. V.; NGO, S. M.; FRAZE, C.; YANG, L.; STOUT, D. A. Antibacterial properties and toxicity from metallic nanomaterials. **Int J Nanomedicine**. v. 24, n. 12, p. 3941-3965, mai. 2017.

WAGENLEHNER, F.M.; CEK, M.; NABER, K.G.; KIYOTA, H.; BJERKLUND-JOHANSEN, T. E. Epidemiology, treatment and prevention of healthcare-

associated urinary tract infections. **World Journal Of Urology**, v. 30, n. 1, p. 59-67, 2012.

WANG, J. T.; CHEN, P. C.; CHANG, S. C.; SHIAU, Y. R.; WANG, H. Y.; LAI, J. F.; HUANG, I. W.; TAN, M. C.; LAUDERDALE, T. L. Y.; TSAR HOSPITALS. Antimicrobial susceptibilities of *Proteus mirabilis*: a longitudinal nationwide study from the Taiwan surveillance of antimicrobial resistance (TSAR) program. **BMC Infectious Diseases**, v. 14, p. 486, 2014.

WANG, L.; HU, C.; SHAO, L. The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future. **Int J Nanomedicine**. 12: 1227–1249, fev. 2017.

WANG, R.; NEOH, K. G.; KANG, E. T.; TAMBYAH, P. A.; CHIONG, E. Antifouling coating with controllable and sustained silver release for long-term inhibition of infection and encrustation in urinary catheters. **J Biomed Mater Res B Appl Biomater**, v. 103, n. 3, p. 519-28, abr. 2015.

WATANAKUNAKORN, C.; PERNI S. C. *Proteus mirabilis* bacteremia: a review of 176 cases during 1980–1992. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, v. 26, n. 4, p. 361-367, 1994.

WATSON, J. G.; CHOW, J. C.; PARK, K.; LOWENTHAL, D. H.; PARK, K. Nanoparticle and Ultrafine Particle Events at the Fresno Supersite. **Journal of the Air & Waste Management Association**, 56:4, 417-430, 2006. DOI: 10.1080/10473289.2006.10464526.

WEF – World Economic Forum. Global Risks 2013 Eighth Edition - An Initiative of the Risk Response Network. Geneva, 2013.

WEISSIG, V.; PETTINGER, T. K.; MURDOCK, N. Nanopharmaceuticals (part 1): products on the market. **Int J Nanomedicine**. 2014 Sep 15;9:4357-73. doi: 10.2147/IJN.S46900. eCollection 2014.

WENNER, J. J.; RETTGER, L. F. A systematic study of the *Proteus* group of bacteria. **Journal of Bacteriology**, vol. 4 , n. 4, p. 331-353, 1919.

WHO. **World Health Organization** - GLOBAL ACTION PLAN ON ANTIMICROBIAL RESISTANCE. Geneva, 2015.

WILDING, L. A.; BASSIS, C. M.; WALACAVAGE, K.; HASHWAY, S.; LEROUEIL, P. R.; MORISHITA, M.; MAYNARD, A. D.; PHILBERT, M. A.; BERGINA, I. L. Repeated dose (28 day) administration of silver nanoparticles of varied size and coating does not significantly alter the indigenous murine gut microbiome. **Nanotoxicology**. 2016; 10(5): 513–520.

WILLIAMS, F. D.; SCHWARZHOF, R. H. Nature of the swarming phenomenon in *Proteus*. **Annual Review of Microbiology**, v. 32, p. 101–122, 1978.

WU, L. T.; WU, H. J.; CHUNG, J. G.; CHUANG, Y. C.; CHENG, K. C.; YU, W. L. Dissemination of *Proteus mirabilis* isolates harboring CTX-M-14 and CTX-M-3 beta-lactamases at 2 hospitals in Taiwan. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 54, n. 2, p. 89-94, 2006.

XIAO, D.; WU, Z.; SONG, M.; CHUN, J.; SCHENTER, G. K.; LI, D. Silver Nanocube and Nanobar Growth via Anisotropic Monomer Addition and Particle Attachment Processes. **Langmuir**. 2018 Jan 30;34(4):1466-1472.

XIU, Z. M.; ZHANG, Q. B.; PUPPALA, H. L.; COLVIN, V. L.; ALVAREZ, P. J. Negligible particle-specific antibacterial activity of silver nanoparticles. **Nano Lett.** 8;12(8):4271-5, 2012.

YAO, D.; SONG, T.; ZHENG, B.; XIAO, S.; HUANG, F.; LIANG, H. The combination of gold nanorods and nanoparticles with DNA nanodevices for logic gates construction. **Nanotechnology**. 2015 Oct 23;26(42):425601.

YIN, Y.; YANG, X.; HU, L.; TAN, Z.; ZHAO, L.; ZHANG, Z.; LIU, J.; JIANG, G. Superoxide-Mediated Extracellular Biosynthesis of Silver Nanoparticles by the Fungus *Fusarium oxysporum*. **Environ. Sci. Technol. Lett.**, 3 (4), pp 160–165, 2016.

ZHANG, H.; SHE, Z.; SU, H.; KERMAN, K.; KRAATZ, H. B. Effects of bipyramidal gold nanoparticles and gold nanorods on the detection of immunoglobulins. **Analyst**. 2016 Oct 17;141(21):6080-6086.

ZHANG, W.; LI, Y.; NIU, J.; CHEN, Y. Photogeneration of reactive oxygen species on uncoated silver, gold, nickel, and silicon nanoparticles and their antibacterial effects. **Langmuir**, 16; 29(15):4647-51, 2013.

ZHANG, Y.; YANG, M.; PORTNEY, N. G.; CUI, D.; BUDAK, G.; OZBAY, E.; OZKAN, M.; OZKAN, C. S. Zeta potential: a surface electrical characteristic to probe the interaction of nanoparticles with normal and cancer human breast epithelial cells. **Biomedical Microdevices** 2008, Volume 10, Issue 2, pp 321–328.

## 5. CONCLUSÃO

O isolado de *P. mirabilis* uropatogênico com múltipla resistência aos antimicrobianos de uso clínico se mostrou sensível ao tratamento com as AgNPs biossintetizadas por *F. oxysporum*. Da mesma forma, a CIM apresentou grande capacidade de inibição da formação de biofilme.

A metodologia de revestimento da superfície de cateteres mostrou resultados satisfatórios de inibição de biofilme e permitiu um tempo livre de incrustação superior ao tempo usual de incrustação por *P. mirabilis in vivo* e *in vitro*.

Dessa forma, conclui-se que o uso das AgNPs sintetizadas pelo fungo *F. oxysporum* apresentam características necessárias para o combate e prevenção de ITU-AC, sendo necessários mais estudos em relação à sua toxicidade aos seres humanos e aplicação *in vivo*.