STUDIU MICROBIOLOGIC AL CALCULILOR URINARI LA PACIENȚI CU UROLITIAZĂ

TUDOR BIANCA[1], MAN ADRIAN[2], MITRANOVICI EMIL[3], TUDOR ADRIAN[4]

[1,2,4]Universitatea de Medicină şi Farmacie Tîrgu-Mureş, [3]Spitalul Judeţean de Urgenţă Deva

Cuvinte cheie: *infecţie de tract urinar, calculi urinari, microorganisme*

Rezumat: *Scop: Scopurile acestui studiu sunt: analiza bacteriologică a calculilor corelată cu infecţiile de tract urinar, studiul rolului infecţiilor de tract urinar în litiaza urinară, precum şi studiul sensibilităţii la antibiotice a bacteriilor izolate din probele de urină şi calculi. Material şi metodă: S-au procesat probe de urină şi calculi urinari provenite de la 320 pacienţi. S-a efectuat studiul bacteriologic al probelor de urină recoltate preoperator şi al calculilor urinari extraşi. Microorganismele izolate s-au identificat folosind tehnici standard, sensibilitatea la antibiotice determinându-se conform standardelor CLSI. Rezultate: Un număr de 252 de tulpini bacteriene au fost izolate din uroculturi şi 188 din calculi urinari. Escherichia coli a fost cea mai frecvent izolată specie, atât din probele de urină cât şi din calculii urinari. Analiza comparativă a rezistenţei faţă de antibiotice a tulpinilor izolate din urină şi din calculi arată o sensibilitate scăzută la majoritatea antibioticelor testate a tulpinilor bacteriene izolate din calculii urinari. Concluzii: Etiologia preponderentă a infecţiilor urinare la pacienţii cu litiază urinară a fost dată de E. coli, Proteus spp., Enterococcus spp. şi Pseudomonas aeruginosa. Microorganismele izolate preponderent din calculi sunt: E. coli, P. aeruginosa, Enterococcus spp. şi Proteus spp. Există o asociere statistic semnificativă în ceea ce priveşte prezenţa calculilor urinari şi evoluţia infecţiilor urinare. Tulpinile bacteriene izolate din calculi au avut o sensibilitate mai scăzută faţă de majoritatea antibioticelor decât tulpinile izolate din uroculturi.*

Keywords: *urinary tract infection, urinary calculi, microorganisms*

Abstract: *Purpose: the investigation of the urinary calculi bacteriology in relation to urinary tract infection, the study of the role of urinary tract infection in urolithiasis and the study of the antimicrobial sensitivity pattern of bacteria isolated from urine and calculi specimens. Material and methods: urine samples and urinary calculi originating from 320 patients were processed. Bacteriological study was conducted on pre-operative urine and operated renal calculi. The isolated organisms were identified by standard techniques and the antibiotic susceptibility was performed according to CLSI standards. Results: a number of 252 bacterial strains were isolated from urocultures and 188 from urinary calculi. Escherichia coli was the most frequent isolated species both from urine and urinary calculi. The comparative antibiotic resistance analysis of the isolated strains from urine and calculi showed a lower susceptibility to most of the tested antibiotics for the bacterial strains isolated from urinary calculi. Conclusions: the preponderant etiology of urinary infections in patients with urolithiasis was given by E. coli, Proteus spp., Enterococcus spp. and Pseudomonas aeruginosa. The preponderant microorganisms found in calculi were: E. coli, P. aeruginosa, Enterococcus spp. and Proteus spp. There is a statistically significant association regarding the presence of urinary calculi and the development of urinary infections. Bacterial isolates from urinary calculi were less sensitive to most of the tested antibiotics than the isolates from uroculture.*

INTRODUCERE

Dovezi privind calculii urinari au fost găsite la o mumie egipteană, veche de 7000 de ani.(1) Asocierea dintre calculi și putrefacție a fost cunoscută încă de pe vremea lui Hipocrate.

Mai mult de 600.000 de pacienți se prezintă anual la serviciul de urgență în Statele Unite pentru acuze de litiază urinară și complicatiile acestei afecțiuni.(2)

Un studiu american recent indică faptul că până la 2 miliarde $ sunt cheltuiți pentru diagnosticarea și tratamentul urolitiazei.(3) Astfel, noi abordări terapeutice și profilactice ar avea un impact economic enorm și beneficial asupra reducerii morbidității. Au fost identificați numeroși factori de risc care contribuie la formarea calculilor, cum ar fi factori de mediu, metabolici, nutriționali, de rasă, gen, patologie urinară obstructivă și infecții de tract urinar.(5) Din cauza riscului crescut de recidive la pacienții cu litiază urinară, este necesară identificarea factorilor de risc cu importanță etiologică și de a formula indicii în prezicerea cursului bolii.

Infecțiile de tract urinar cu unele bacterii joacă un rol important în sinteza calculilor urinari.(6) Bacteriile izolate din urină și cele din calculi diferă în ceea ce privește sensibilitatea la agenți antimicrobieni.(7)

Modificarea continuă a sensibilității microbiene la antibiotice duce la creșterea mortalității și morbidității cauzate

[1]Autor corespondent: Bianca Tudor, Str. Ghe. Marinescu, Nr. 38, Cod 540139, Tîrgu-Mureş, România, E-mail: biancatu@yahoo.com, Tel: +0729 004469
Articol intrat în redacţie în 11.11.2012 şi acceptat spre publicare în 04.02.2013
ACTA MEDICA TRANSILVANICA Iunie 2013;2(2):85-89

de boli infecţioase în general, de infecţiile de tract urinar în special, rezultând o creştere a cheltuielilor sanitare.

SCOP

Studiul nostru a fost creat cu scopul de a evalua compoziţia chimică şi spectrul bacteriologic al calculilor urinari şi a probelor de urină preoperatorii; am investigat de asemenea relaţia dintre sensibilitatea la antibiotice a bacteriilor izolate din urolitiază si infecţiile de tract urinar.

MATERIAL ŞI METODĂ DE LUCRU

Studiul de faţă a fost efectuat pe 320 de pacienţi cu urolitiază, internaţi în secţiile de Urologie şi Chirurgie a Spitalului Judeţean Tîrgu-Mureş pentru rezolvarea calculilor urinari.

Din Decembrie 2008 până în Decembrie 2010, 320 pacienţi diagnosticaţi cu litiază urinară în urma consultului urologic, au fost incluşi în acest studiu. S-a obţinut acordul etic pentru efectuarea cercetării. Acordul a fost obţinut de la toţi participanţii la studiul de faţă. Nu au existat refuzuri de participare. Pacienţilor li s-a înmânat un chestionar pentru a culege date demografice şi informaţii privind anomalii congenitale, litiaza urinară în antecedente, antecedente heredocolaterale de urolitiază, şi obiceiuri alimentare.

Pacienţii au fost examinaţi de un medic specialist urolog; cei cu boala litiazica renală cu insuficienţă renală şi tumori renale au fost excluşi din studiul de faţă.

Un formular special, conţinând informaţii generale despre pacient, semne şi simptome urinare, a fost completat pentru fiecare pacient inclus în acest studiu. După examinarea medicală, fiecare pacient a fost investigat astfel: analiza urinară, metode imagistice, analiza sanguină, compoziţia chimică şi prelucrarea bacteriologică a calculilor.

Analiza bacteriologică a fost efectuată probelor de urină preoperatorii şi calculilor urinari extraşi în urma intervenţiilor chirurgicale. Probele de urină preoperatorii au fost recoltate în condiţii aseptice, pentru examinarea macro şi microscopică. Atât probele de urină preoperatorii, cât şi calculii renali extraşi au fost procesaţi pentru cultivarea bacteriologică.

Urina de dimineaţă, din jetul mijlociu, a fost recoltată în recipiente sterile, după o toaletă riguroasă al organelor genitale externe. Analiza urinei a fost efectuată folosind stripuri biochimice Uric 3.V, Uricon Biotech Korean.

Analiza bacteriologică al urinii (urocultura, izolarea şi identificarea microorganismelor, sensibilitatea la antibiotice) s-a efectuat folosind metode bacteriologice uzuale. Prezenţa a mai mult de 2 specii bacteriene a indicat posibilitatea contaminării probei în timpul emisiei.

Procesarea calculilor pentru cultivarea bacteriologică s-a efectuat conform descrierilor lui Ogata T.(8) Calculii au fost clătiţi în ser fiziologic steril, apoi zdrobiţi într-un mojar steril. Miezul calculilor zdrobiţi s-a cultivat în 5 ml bulion cu tioglicat, incubat la 37°C timp de 18 – 24 ore, apoi s-au subcultivat pe geloză sânge şi mediul MacConkey pentru a izola agentul etiologic.

Microorganismele izolate au fost identificate după tehnicile standard.(9) Analiza chimică a calculilor urinari extraşi s-a efectuat conform descrierilor lui Bradley.(10)

Testarea sensibilităţii la antibiotice a tulpinilor izolate s-a efectuat prin metoda difuzimetrică standardizată Kirby Bauer şi interpretarea rezultatelor conform protocolului CLSI.

REZULTATE

Dintr-un total de 27326 uroculturi efectuate în perioada Decembrie 2008 – Decembrie 2010, 320 au fost incluse în studiul nostru, corespunzând la 320 de cazuri de litiază urinară recoltate după intervenţii chirurgicale aseptice; în ambele cazuri s-a efectuat analiza microbiologică.

Pacienţii au avut vârsta cuprinsă între 26 şi 74 de ani. Media vârstei pacienţilor cu litiază urinară a fost de 58.4 ani cu o mediană de 58, în timp ce vârsta medie a pacienţilor cu boală infecţioasă urinară a fost de 51.4 cu o mediană de 55.6. O frecvenţă crescută a urolitiazei s-a observat la categoria de vârstă de 30 – 49 ani.

În grupul studiat, s-a observat o bacteriurie semnificativă în 252 cazuri (78,75%), efectuându-se analiza microbiologică. O frecvenţă crescută de uroculturi pozitive s-a semnalat la femei (187; 74.2%) comparativ cu bărbaţii (65; 25.8%), în special la categoria de vârstă 30 – 49 ani.

Incidenţa calculilor urinari a fost mai mare la bărbaţi (182; 56.88%), comparativ cu femeile (138; 43.12%), cu un raport de 1.3 : 1.

Uroculturile au identificat *E. coli* ca şi agent microbian predominant (149 tulpini; 59.1% din care 13; 5.15% erau producătoare de ESBL), urmat de *Proteus* spp. (29 de tulpini; 11,5%), *Enterococcus* spp. (28; 11.11%), *Pseudomonas* spp. (14; 5.5%) şi alţii (tabelul nr. 1).

Din cei 320 pacienţi cu calculi urinari, 42 au prezentat infecţie urinară simptomatică. 188 de calculi (58.75%) au avut ca şi origine renală, 48 (15%) vezica urinară şi 84 (26.25%) ureterală. Dintre calculii renali, 175 (90.08%) erau unilaterali. Dintre aceştia, 54(30.85%) erau de partea stângă, în timp ce 121 (69.15%) erau de partea dreaptă. Calculii renali bilaterali erau prezenţi doar în proporţie de 6.92%.

132 (41.25%) din calculi erau sterili, în timp ce 188 (58.75%) au fost infectaţi. *E. coli* a fost microorganismul predominant izolat din calculii urinari (81.43%), din care 11 (5.85%) erau producătoare de ESBL, urmate de *Pseudomonas aeruginosa* (27; 14.36%), *Enterococcus* spp. (26; 13.82%), *Proteus* spp. (25; 13.29%) şi alţii (tabelul nr. 1).

Tabelul nr. 1. Microorganisme izolate din urină şi calculi urinari

Microorganism	Urocultură		Calculi urinari		p
	Nr.	Procentul uroculturilor pozitive	Nr.	Procentul calculilor pozitivi	
Gram negativ	214	84.9%	148	78.72%	0,129
Escherichia coli	149	59.1%	81	43.08%	0,020
E. coli ESBL+	13	5.1%	11	5.85%	1,064
E. coli ESBL -	136	53.9%	70	37.23%	0,023
Proteus spp.	29	11.5%	25	13.29%	1,158
P. mirabilis	21	8.3%	21	11.17%	1,246
P. vulgaris	8	3.17%	4	2.12%	0,918
Klebsiella spp.	9	3,5%	6	3.19%	0,974
K. pneumoniae	8	3.17%	5	2.65%	0,957
K. oxytoca	1	0.39%	1	0.53%	1,012
P. aeruginosa	14	5.5%	27	14.36%	1,604
*Altele **	13	5.15%	9	4.70%	0,962

Gram pozitive	34	13.5%	35	18.61%	1,436
Enterococcus spp.	28	11.11%	26	13.82%	1,237
E. faecalis	24	9.5%	24	12.76%	1,280
E. faecium	4	1.6%	2	1.06%	0,958
Staphylococcus spp.	6	2.38%	9	4.78%	1,188
S. aureus	6	2.38%	6	3.19%	1,068
S. epidermidis	0	0%	3	1.59%	-
Culturi *(Candida spp.)*	4	1.58%	5	2.65%	1,087
* *Citrobacter, Morganella, Acinetobacter*					

Din cele 320 de cazuri studiate am obținut următoarele rezultate:

1. 252 (78.75%) uroculturi pozitive și 68 (21.25%) negative
2. 188 (58.75%) calculi infectați și 132 (41.25%) calculi sterili

Astfel am avut:

a. 180 cazuri (56.25%) cu examen bacteriologic pozitiv, pentru urină și calculii urinari
b. 72 cazuri (22.5%) cu uroculturi pozitive și calculi sterili
c. 60 cazuri (18.75%) cu uroculturi și calculi sterili
d. 8 cazuri (2.5%) cu uroculturi negative și calculi infectați

Există o asociere statistic semnificativă privind prezența calculilor urinari și dezvoltarea infecțiilor urinare (p<0.0001, RR=1.755; 1.498 la 2.057 cu 95% interval de confidență).

Din cele 180 de cazuri cu uroculturi pozitive și calculi infectați, 127 (70.55%) au prezentat același microorganism, în timp ce 53 cazuri (29.45%) au prezentat microorganisme diferite de cele prezente în proba de urina preoperatorie.

Asemănarea dintre agenții microbieni implicați în infecțiile urinare și cele izolate din calculii urinari pe baza sensibilității la antibiotice poate fi urmărită în tabelul nr. 2.

Tabelul nr. 2. Asemănarea dintre agenții microbieni implicați în infecțiile urinare și cele izolate din calculii urinari

Tulpini izolate	Culturi pozitive de calculi urinari n=188	Uroculturi pozitive cu specii bacteriene identice n=127	Patern identic al sensibilității la antibiotice n=46
Escherichia coli	81	68 (83.95%)	23 (28.39%)
Proteus spp.	25	20 (80%)	18 (72%)
Pseudomonas spp.	27	13 (48.14%)	8 (29.62%)
Klebsiella spp.	6	4 (66.66%)	1 (16.66%)
Enterococcus spp.	26	14 (53.84%)	11 (42.3%)
S. aureus	6	3 (50%)	2 (33.33%)
Altele	17	5 (29.41%)	-

Modificarea pH-ului urinar joacă de asemenea un rol important în sinteza calculilor urinari, deoarece în cazul unor calculi, pH-ul este specific. pHul urinar a fost crescut (>7) în 232 de cazuri (72.5%), în timp ce în 88 de cazuri (27.5%) urina a prezentat un pH acid (4-5). De asemenea, în 241 (75.31%) de cazuri, a fost prezentă hematuria micro și macroscopică. În 230 de cazuri (71.87%) a fost prezentă bacteriuria asociată și în 290 de cazuri (65.31%) cristaluria.

Analiza chimică a calculilor urinari ne arată că 31.87% erau calculi de fosfați, 15.93% dihidrat de oxalat, 6.56% calculi de urați, 2.5% dihidrat de oxalat și urați, 1.25% carbonat de calciu, 0.31% oxalat monohidrat și 0.31% cistină.

Proporția de calculi urinari sterili comparativ cu calculii infectați poate fi urmarită în tabelul nr. 3. O diferență semnificativă în proporția dintre calculii sterili și infectați a fost detectată în cazul calculilor de fosfați.

Tabelul nr. 3. Proporția de calculi urinari sterili comparativ cu calculii infectați

Compoziția chimică	Calculi infectați n=188	Calculi sterili n=132	p
Fosfat	102 (54.25%)	27 (20.45%)	0.002
Dihidrat de oxalat	51 (27.12%)	39 (29.54%)	1.200
Urat	21 (11.17%)	31 (23.48%)	1.738
Dihidrat de oxalat și urați	8 (4.25%)	11 (8.33%)	1.276
Carbonat de calciu	4 (2.12%)	14 (10.6%)	1.404
Oxalat monohidrat	1 (0.53%)	10 (7.57%)	1.208
Cistină	1 (0.53%)	0	-

Datorită faptului că microorganismele aparținând familiei Enterobacteriaceae au fost tulpinile cel mai frecvent izolate, am analizat sensibilitatea lor la antibiotice (tabelul nr. 4).

Tabelul nr. 4. Sensibilitatea la antibiotice privind microorganismele Enterobacteriaceae izolate din urină și calculi urinari

Antibiotic	Urină		Calcul		p
	Nr	%	Nr	%	
AMP	19	9,79%	8	7,14%	0,826
GM	125	65,10%	64	57,14%	0,285
AMC	106	55,21%	33	29,46%	**0,010**
CAZ	130	67,71%	53	47,32%	**0,010**
FEP	148	77,08%	62	55,36%	**0,002**
TET	89	46,35%	34	30,36%	0,108
SXT	115	59,90%	43	38,39%	**0,016**
NA	116	60,42%	42	37,50%	**0,011**
CIP	48	25,00%	27	24,11%	0,931
AK	179	93,23%	91	81,25%	**0,003**
IPM	190	98,96%	108	96,43%	0,130

Există diferențe semnificative privind sensibilitatea la antibioticele β-lactamice, sulfonamide, quinolone și aminoglicozide, între enterobacteriile izolate din urină și calculii urinari.

Sensibilitatea la antibiotice a enterobacteriilor izolate din urină şi calculii urinari poate fi urmărită în figurile nr. 1 şi 2.

Figura nr. 1. Sensibilitatea la antibiotice a enterobacteriilor izolate din probe de urină

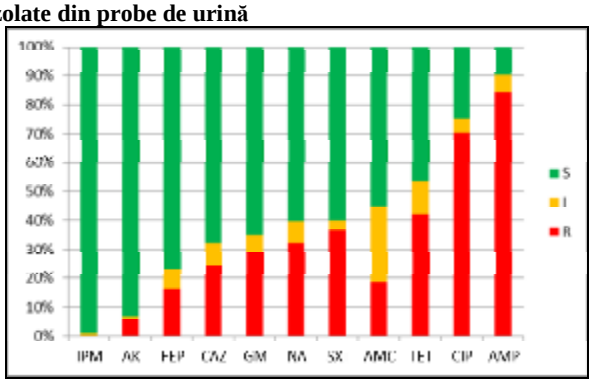
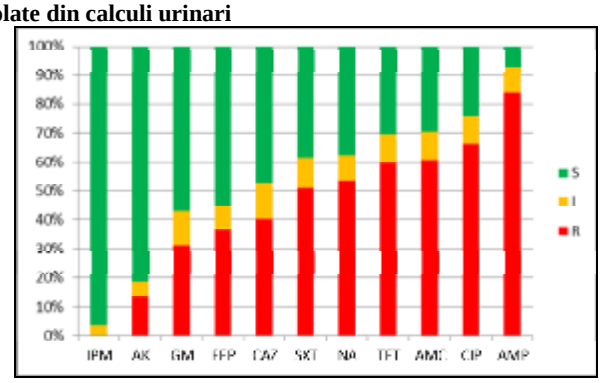


Figura nr. 2. Sensibilitatea la antibiotice a enterobacteriilor izolate din calculi urinari



DISCUŢII

În ciuda terapiilor antibiotice moderne şi a tehnicilor avansate în litotriţie, prezenţa infecţiilor la pacienţi cu calculi urinari, precum şi a calculilor infecţioşi reprezintă încă o importantă cauză de morbiditate şi mortalitate. Nu foarte multe investigaţii noi se concentrează asupra patogenezei şi tratamentului acestor cazuri dificile. Descoperiri recente conduc la mai multe teorii în ceea ce priveşte modul în care infecţia duce la formarea calculilor.

Scopul principal al studiului de faţă a fost descrierea distribuţiei bacteriilor izolate din infecţiile de tract urinar şi calculii infecţioşi urinari, în special dacă există diferenţe semnificativ statistice în sensibilitatea la antibiotic a acestor tulpini bacteriene.

În studiul nostru, pacienţii de sex feminin au fost afectaţi de infecţiile de tract urinar cu o frecvenţă mai crescută faţă de bărbaţi, dar litiaza urinară a fost mai frecventă la pacienţii de sex masculin, în proporţie de 1.3 : 1. Aceste rezultate confirmă şi alte studii care au observat proporţii similare.(11) Acest lucru se poate corela cu efectul inhibitor al hormonilor, aportul alimentar scăzut şi dimensiunea scăzută a corpului.(11) În plus, Weshman şi McGeown au descoperit concentraţii crescute de citrat în urina femeilor incluse în studiu. S-a emis ipoteza că aceasta ar ajuta la protecţia femeilor faţă de urolitiaza calcică, din moment ce citratul inhibă nuclearea cristalelor de oxalat de calciu.(13)

În ceea ce priveşte distribuţia pe grupe de vârstă, rezultatele noastre arată o frecvenţă a urolitiazei la grupul 30 – 49 de ani. Acest rezultat confirmă alte studii care arată o frecvenţă mai crescută a urolitiazei în decada a treia de viaţă.(14)

Deşi se cunosc multe lucruri privind patogeneza calculilor renali, bacteriile implicate în sinteza calculilor rămân incomplet elucidate.(15) *E. coli* este o bacterie care nu produce urează, astfel nu este considerat un microorgansim producător de calculi. Totuşi, studii recente arată ca *E.coli* a fost microorganismul predominant găsit în calculii micşti. Descoperiri recente sunt consecvente cu studiile lui Sahkaee şi Bratell et all (7, 16).

În studiul nostru, majoritatea calculilor erau de partea stângă, bilateral fiind prezenţi în proporţie de 6.92%, observaţii similare au fost semnalate de către Bucholz et al.(17)

Privind tiparul sensibilităţii la antibiotice a bacteriilor, am găsit diferenţe între tulpinile izolate din uroculturi şi cele din calculii infectaţi. Am observat ca enterobacteriile izolate din calculi erau mai puţin sensibile decât bacteriile urinare la majoritatea antibioticelor testate. Această observaţie se explică prin prezenţa bacteriilor aflate în profunzimea calculilor, nefiind inactivate de antibiotice, deşi urina şi suprafaţa calculilor au fost curăţate cu un tratament antibiotic adecvat.(18) Dacă tratamentul antibiotic este oprit în timp ce fragmentul de calcul infectat este încă prezent, infecţia originală va recidiva.(19)

Antibioticele cele mai sensibile împotriva enterobacteriilor izolate din calculii urinari erau aceleaşi ca şi pentru izolatele din urină, subliniind însă gradul de sensibilitate mai scăzut.

Se pare că spectrul bacteriologic izolat din urină nu reflectă întotdeauna bacteriologia calculilor de tract urinar, ceea ce confirmă rezultatele studiilor precedente.(6,20) Această constatare se poate datora eliberării intermitente a unui număr mic de microorganisme din calculi, ce pot fi izolate sau nu din urină.

Explicaţia prezenţei bacteriilor în calculi poate fi datorată bacteriemiei intermitente nesemnificative, de unde bacteriile sunt eliminate în parenchimul renal, şi pot fi un substrat de depozitare a cristalelor, fie prin alterarea stratului de mucus fie, probabil, prin crearea de substrat pentru cristalizarea sărurilor.(11) Astfel începe un cerc vicios, infecţia ducând la formarea calculilor şi calculii produc infecţie.(21,22)

Majoritatea literaturii de specialitate se concentrează asupra patogenezei calculilor urinari infectioşi. Restul literaturii scoate în evidenţă cazurile dificile, rezultatele terapeutice şi recenzii generale asupra subiectului.(23)

Constatări recente duc la mai multe teorii cu privire la modul în care infecţiile favorizează formarea de calculi. Investigaţiile ulterioare sunt necesare pentru a îmbunătăţi prognosticul pacienţilor suferinzi de infecţii cu calculi urinari şi calculi infecţioşi.

Pentru mulţi pacienţi, indiciu cu privire la formarea calculilor se obţine prin căutări amănunţite ale factorilor de risc. Un asemenea prognostic reflectă cu certitudine incompleta înţelegere a formării calculilor, sau a modului de recoltare şi analiză a urinei.

În ciuda deficitelor evidente, este importantă corelarea dintre diferiţi factori de risc descoperiţi printr-o anamneză corespunzătoare cu o examinare radiografică corectă, precum şi analiza calculilor, a sângelui, compoziţiei urinei şi al unui tratament individualizat, eficient.

CONCLUZII

Studiul nostru a relevat următoarele aspecte:

- Incidenţa urolitiazei a fost uşor mai crescută la bărbaţi decât la femei, cu o rată mai crescută a calculilor infecţioşi comparativ cu cei sterili.
- Frecvenţa infecţiei urinare a fost mai crescută la femei comparativ cu bărbaţii.

- Etiologia preponderentă a infecţiilor urinare la pacienţii cu urolitiază a fost dată de următoarele microorganisme: *Escherichia coli, Proteus* spp., *Enterococcus* spp. şi *Pseudomonas aeruginosa*.
- Microorganismele preponderente găsite în calculi au fost: *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Enterococcus* spp. şi *Proteus* spp.
- Există o asociere statistic semnificativă privind prezenţa calculilor urinari şi dezvoltarea infecţiilor urinare.
- Izolatele bacteriene din calculi urinari au prezentat sensibilitate mai scăzută faţă de majoritatea antibioticelor testate, decât izolatele din urocultură.

REFERINŢE

1. Sami U, Chaundary A Ishtiaq, Massod R. A comparison of open vesicolithotomy and cystolithotomy. Pak J Med Sci. 2007;23(1):45-50.
2. Eads ED, Herbst KA, Lee J. Diagnosis and treatment of urolithiasis. Advanced Emergency Nursing Journal. 2007;29(2):98-110.
3. Stamatelou KK, Francis ME, Jones CA, Nyberg LM, Curhan GC. Time trends in reported prevalence of kidney stones in the United States:1976-2004. Kidney Int. 2003 May;63(5):1817-23.
4. Abrahams HM, Stoller ML. Infection and urinary stones. Curr Opin Urol. 2003 Jan;13(1):63-7.
5. Calvert RC, Burgess NA. Urolithiasis and obesity: metabolic and technical considerations. Curr Opin Urol. 2005 Mar;15(2):113-7.
6. Jan H, Akbar I, Kamran H, Khan J. Frequency of renal stone disease in patients with urinary tract infection. J Ayub Med Coll Abbottabad. 2008 Jan-Mar;20(1):60-2.
7. Sakhaee K. Recent advances in the pathophysiology of nephrolithiasis. Kidney Int. 2009 Mar;75(6):585-95
8. Ogata T, Akakura K, Mizoguchi K, Mikami K, Nozumi K, Ito H. Annual changes of the incidence and clinical characteristics of magnesium, ammonium, phosphate urinary stones. Int J Urol. 2003 Jan;10(1):1-5
9. Griffith DP. Infection-induced renal calculi. Kidney Int. 1982 Feb;21(2):422-30.
10. Bradley M, Schumann GB. Examination of urine. In: Clinical diagnosis and management by laboratory method. Todd, Sandford, Davidson.17th ed. Saunders; 1984. p. 339-341.
11. Qaader DS, Yousif SY, Mahdi LK. Prevalence and etiology of urinary stones in hospitalized patients in Baghdad. East Mediterr Health J. 2006 Nov;12(6):853-61.
12. Ryall RL, Harnett RM, Hibberd CM, Mazzachi BC, Mazzachi RD, Marshall VR. Urinary risk factors in calcium oxalate stone disease: comparison of men and women. Br J Urol. 1987 Dec;60(6):480-8.
13. Nicar MJ, Hsu MC, Johnson T, Pak CY. The preservation of urine samples for determination of renal stone risk factors. Lab Med. 1987 Jun;18(6):382-4.
14. Hatt JK, Rather PN. Role of bacterial biofilms in urinary tract infections. Curr Top Microbiol Immunol. 2008;322:163-92.
15. Shiekh FA, Miller VM, Lieske JC. Do calcifying nanoparticles promote nephrolithiasis? A review of the evidence. Clin Nephrol. 2009 Jan;71(1):1-8.
16. Bratell S, Brorson JE, Grenabo 1, Hedelin R, Pettersons S. Bacteriology of operated renal stones. Eur Urol. 1990:17:58-61.
17. Bucholz NPN, Abbas F, Afzal M, Khan R, Rizvi L, Talati J. The prevalence of silent kidney stones. An ultrasonographic study. J Pak Med Assoc. 2003;53(1):24-5.
18. Nickel JC, Emtage J, Costerton JW. Ultrastructural microbial ecology of infection-induced urinary stones. J Urol. 1985 Apr;133(4):622-7.
19. Orson W Moe. Kidney stones: pathophysiology and medical management. The Lancet. 2006;367(9507):333-344.
20. Hatt JK, Rather PN. Role of bacterial biofilms in urinary tract infections. Curr Top Microbiol Immunol. 2008;322:163-92.
21. Naas T, Al-Agili S, Bashir O. Urinary calculi: bacteriological and chemical association. East Mediterr Health J. 2001 Jul-Sep;7(4-5):763-70.
22. Zannetti G, Paparella S, Trinchieri A, Prezioso D, Rocco F, Naber KG. Infections and urolithiasis: current clinical evidence in prophylaxis and antibiotic therapy. Arch Ital Urol Androl. March. 2008;80(1):5-12.
23. Prasongwatana V, Bovornpadungkitti S, Chotikawanich E., Pachitrat K, Suwanatrai S, Sriboonlue P. Chemical components of urinary stones according to age and sex of adult patients. J Med Assoc Thai. 2008;91(10):1589-94.