

PAULO RENATO PETERSEN BEHAR

**INFLUÊNCIA DA SELEÇÃO DO GRUPO CONTROLE NA ANÁLISE DE
FATORES DE RISCO PARA INFECÇÕES HOSPITALARES POR
Klebsiella pneumoniae PRODUTORA DE β -LACTAMASE DE
ESPECTRO ESTENDIDO**

ORIENTADOR: PROF. DR. PAULO JOSÉ ZIMERMANN TEIXEIRA

Tese apresentada à Universidade Federal do Rio Grande do Sul visando à obtenção do grau de Doutor em Medicina (Pneumologia), orientada pelo Prof. Dr. Paulo José Zimmermann Teixeira.

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul
PORTO ALEGRE
2004**

BEHAR, Paulo Renato Petersen

Influência da seleção do grupo controle na análise de fatores de risco para infecções hospitalares por *Klebsiella pneumoniae* produtora de β -lactamase de espectro estendido. Porto Alegre, UFRGS, 2004.

V, 91p

Tese: Doutor em Medicina (Pneumologia).

- | | |
|-----------------------------------|---------------------------------|
| 1. <i>Klebsiella pneumoniae</i> . | 4. Análise de fatores de risco. |
| 2. Resistência aos antibióticos. | 5. Estudos de caso-controle. |
| 3. Infecção hospitalar. | 6. Teses. |

I-Universidade Federal do Rio Grande do Sul

II-Título

À Mônica,

Ao Pedro,

Aos pacientes.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Paulo Teixeira pela sua preciosa orientação e também pela preciosa amizade.

À Prof^a. Dr^a. Jandyra Maria Guimarães Fachel (Departamento de Estatística, Instituto de Matemática, UFRGS) pelo seu valioso auxílio estatístico.

À Prof^a. Dr^a. Beatriz Meurer Moreira (Departamento de Microbiologia Médica do Instituto de Microbiologia Professor Paulo de Góes, da Universidade Federal do Rio de Janeiro), pelo seu elan científico e pela orientação nos testes de detecção de produção de ESBL e na Tese de Mestrado da qual o presente estudo aproveitou perspectivas.

À Prof^a. Dr^a. Ivonyr T. A. Kader (Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Disciplina de Microbiologia e Virologia da Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre [FFFCMPA]) pela orientação sobre a identificação das amostras de *K. pneumoniae* e colaboração nos testes de produção de ESBL.

À Direção do HNSC e Gerência de Ensino e Pesquisa do GHC.

À Direção da FFFCMPA.

Aos coordenadores da Pós-Graduação.

I – INTRODUÇÃO	1
<i>KLEBSIELLA PNEUMONIAE</i> PRODUTORA DE β-LACTAMASE DE ESPECTRO ESTENDIDO: PATÓGENO EMERGENTE	1
<i>K. PNEUMONIAE</i>: ASPECTOS TAXONÔMICOS, CLÍNICOS E EPIDEMIOLÓGICOS	3
Taxonomia e classificação	3
Infecções causadas por <i>K. pneumoniae</i>	4
Mecanismos de virulência e patogenicidade de <i>K. pneumoniae</i>	7
Mecanismos gerais de resistência em <i>K. pneumoniae</i>	9
β -lactamases de espectro estendido	11
Resistência aos carbapenêmicos em amostras bacterianas produtoras de ESBL	14
Epidemiologia de <i>K. pneumoniae</i>	15
Epidemiologia das ESBLs	19
MÉTODOS MOLECULARES PARA DETECTAR ESBL	21
MÉTODOS FENOTÍPICOS PARA DETECTAR A PRODUÇÃO DE ESBL	22
OBJETIVOS	26
HIPÓTESES	26
II – ARTIGO EM PORTUGUÊS	27
III – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
IV – ANEXOS	69
V – ARTIGO EM INGLÊS	71

I – INTRODUÇÃO

***Klebsiella pneumoniae* produtora de β -lactamase de espectro estendido: patógeno emergente**

A alta prevalência de infecções hospitalares, a grande variedade e a gravidade das síndromes infecciosas que podem ser causadas por *Klebsiella pneumoniae* assim como as elevadas taxas de resistência desse microrganismo em muitos hospitais vem colocando essa bactéria em evidência nas últimas décadas (1). O surgimento da capacidade de *K. pneumoniae* produzir β -lactamases de espectro estendido (ESBL) conferindo a capacidade de inativação de todos os antibióticos β -lactâmicos não carbapenêmicos mediada por plasmídios que geralmente também codificam resistência a antibióticos não β -lactâmicos (2) e fatores de virulência (3-5) e a dificuldade de detecção desta atividade enzimática nos laboratórios clínicos de hospitais até há pouco, coloca esse patógeno na qualidade de emergente (1). A produção de ESBLs não é particularidade de amostras de *K. pneumoniae*, mas este patógeno é reconhecido com uma fonte desta classe de enzimas (6) e é mais relacionado a surtos (7-45) e a níveis endêmicos desse mecanismo de resistência em hospitais, desde a sua identificação até o momento (46-55).

O teste convencional de susceptibilidade aos antibióticos pode não permitir o seu reconhecimento. Conseqüentemente, resultados falso-negativos de susceptibilidade podem ser obtidos e repassados aos médicos assistentes dos pacientes. Por causa disso começaram a surgir propostas de testes que suprissem essa incapacidade de reconhecer a susceptibilidade verdadeira (56-58), mas no ano de 1999 é que os testes de detecção dessa enzima foram padronizados pelo *National Committee for Laboratory Standards* (NCCLS) (59).

O uso prévio de antibióticos (60) e a pouca aderência às recomendações das comissões de controle de infecção hospitalar têm sido responsabilizados pelo desenvolvimento crescente da resistência bacteriana em hospitais (61-63). Os principais reservatórios para a transmissão de *Klebsiella* são o trato gastrointestinal e as mãos dos profissionais de saúde de hospitais e, por causa da sua habilidade de se disseminar rapidamente no ambiente hospitalar, essas bactérias tendem a causar surtos hospitalares (64). Na maioria das vezes, amostras de *K. pneumoniae* produtoras de ESBL são adquiridas em hospitais e os fatores de risco são semelhantes às outras infecções hospitalares. O tempo de permanência no hospital ou em unidade de cuidados intensivos é um fator de maior importância porque a maior permanência está associada a maior gravidade de doença subjacente, realização de procedimentos invasivos e administração de antibióticos (65). Em estudos de caso-controle, os seguintes fatores de risco foram associados à aquisição de microorganismos produtores de ESBL: presença de dispositivos e de procedimentos invasivos, colonização intestinal, tempo de permanência em unidade de cuidados intensivos, tempo de hospitalização, uso prévio de qualquer antibiótico, administração prévia de ceftazidima ou aztreonam assim também como outros fatores (65). Entretanto, para quase cada um desses fatores descritos, um outro estudo poderia ser citado em que a associação não foi encontrada (65). A partir disso, começou-se a investigar possibilidades de vieses nos estudos de análise de fatores de risco para patógenos resistentes a antibióticos e recomendações de refinamento metodológico começaram a ser produzidas para estudos de caso-controle (66-70).

Em vista destes motivos, os fatores de risco para infecções por *K. pneumoniae*, tanto das amostras produtoras quanto das não produtoras de ESBL, estão por serem mais estudados a nível global e também a nível local em cada hospital. Da mesma forma, estudos que avaliem os diferentes aspectos metodológicos de estudos de caso-controle para patógenos resistentes, especialmente, *K. pneumoniae*, também são necessários atualmente.

***K. pneumoniae*: aspectos taxonômicos, clínicos e epidemiológicos**

Taxonomia e classificação

A família Enterobacteriaceae é constituída por um grupo heterogêneo de bactérias Gram-negativas. Esta família agrupa, entre outras, a tribo Klebsielleae, que por sua vez é constituída por quatro gêneros: *Enterobacter*, *Hafnia*, *Klebsiella* e *Serratia* (71).

O gênero *Klebsiella*, nome dado em homenagem ao bacteriologista alemão Edwin Klebs, era tradicionalmente classificado de acordo com as suas reações bioquímicas em *K. pneumoniae*, *Klebsiella ozaenae* e *Klebsiella rhinoscleromatis* (72). Porém, com a introdução de métodos de hibridização do ácido desoxirribonucléico (DNA), ficou demonstrado que aquelas espécies bacterianas apresentavam percentuais elevados de homologia em suas seqüências de DNA (72), mostrando que constituíam uma única espécie: *K. pneumoniae*. As amostras de *K. pneumoniae* passaram, então, a ser classificadas em três subespécies: *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae*, *K. pneumoniae* subsp. *ozaenae* e *K. pneumoniae* subsp. *rhinoscleromatis*. Estudos moleculares adicionais à hibridização do DNA permitiram a descrição de outras espécies do gênero: *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella ornithinolytica*, *Klebsiella planticola* (73) anteriormente designada como *Klebsiella trevisanii*, e *Klebsiella terrigena* (74).

Até 1998, a adoção de uma nomenclatura consistente para amostras do gênero *Klebsiella* vinha sendo dificultada pela existência de diferentes classificações. Na Tabela 1 é apresentada a classificação de espécies do gênero *Klebsiella* de acordo com o sistema taxonômico de Ørskov (75), que passou a ter hegemonia (64). Desta forma, no presente trabalho, amostras da espécie *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae* da classificação de Ørskov serão doravante

referidas, de forma simplificada, como *K. pneumoniae*, conforme a Lista Aprovada de Nomes Bacterianos (76;77).

TABELA 1. Classificação de espécies do gênero *Klebsiella* pelo sistema taxonômico de Ørskov

<i>K. pneumoniae</i>
subsp. <i>pneumoniae</i>
subsp. <i>ozaenae</i>
subsp. <i>rhinoscleromatis</i>
<i>K. oxytoca</i>
<i>K. terrigena</i>
<i>K. planticola</i> (sin. <i>K. trevisanii</i>)
<i>K. ornithinolytica</i>

Amostras de *K. pneumoniae* apresentam-se sobre a superfície do ágar como colônias grandes, elevadas, com diâmetros de 3 a 4 mm, brilhantes, de aspecto mucóide, que adquirem coloração rósea quando cultivadas em ágar MacConkey. À coloração de Gram, são visualizadas como bacilos Gram-negativos grandes, isolados, aos pares ou em cadeias curtas (78). Apresentam-se como bactérias encapsuladas, medindo 0,3 a 1,0 μm de diâmetro e 0,6 a 6,0 μm de comprimento, não esporuladas, imóveis, anaeróbias facultativas, mas que crescem melhor em condições aeróbias, fermentadoras de glicose, não produtoras de ácido sulfídrico (H_2S), capazes de crescerem em meios contendo cianeto de potássio (reação KCN positiva) e de utilizarem o citrato como fonte única de carbono (75). A maioria das amostras é capaz de produzir o butilenoglicol como produto final da fermentação de glicose (reação VP positiva). Podem ou não formar gás a partir da fermentação de glicose e hidrolisam a uréia (75;79).

Infecções causadas por *K. pneumoniae*

K. pneumoniae, bactéria conhecida inicialmente como bacilo de Friedländer, por causa do patologista alemão Karl Friedländer, primeiro

pesquisador que a cultivou em 1882 a partir de pulmão de pacientes que foram a óbito por pneumonia (80), continua a causar infecções da comunidade, mas principalmente infecções hospitalares. Pneumonia de Friedländer continua a causar óbito nos dias atuais, principalmente em pacientes com idade superior a 75 anos onde chega à taxa de mortalidade bruta de 0,3 a 0,9 (81).

Este microrganismo é capaz de causar uma ampla variedade de síndromes clínicas incluindo pneumonia lobar necrosante, particularmente em pacientes idosos (82), com diabetes mellitus (83-108), doença pulmonar crônica pré-existente ou com alcoolismo (89;105;109-116). *K. pneumoniae* está pouco associada à doença no hospedeiro sem doença subjacente, sendo agente etiológico de grande importância em infecções hospitalares e em infecções oportunistas (117-121). Uma variedade grande de síndrome infecciosas hospitalares causadas por *K. pneumoniae* são observadas pelos profissionais de controle de infecção hospitalar. Não são, entretanto, proporcionalmente publicadas, provavelmente porque são abordadas por estes profissionais do ponto de vista epidemiológico em relação a taxas de infecção hospitalar e taxas de resistência bacteriana, estas últimas, por vezes desvinculadas de infecção verdadeira, mescladas com resistência de bactérias colonizantes.

Na Tabela 2, compilada a partir da literatura (13;17;84;87;109;110;122-165), são apresentadas as síndromes clínicas associadas à infecção por *K. pneumoniae* comunitárias e hospitalares.

TABELA 2. Infecções causadas por *Klebsiella pneumoniae* e condições associadas

Infecção/Condição associada Classificação	C	H	NC
Meningite em adultos	X	X	
Meningite em crianças		X	
Meningite recorrente		X	
Abscesso cerebral			X
Ventriculite		X	
Infecção de shunt ventriculoperitoneal		X	
Abscesso epidural espinal			X
Conjuntivite		X	
Panofthalmit			X
Endoftalmite			X
Uveíte aguda anterior			X
Cisto de retina			X
Otite média aguda	X		
Sinusite em crianças com dano neurológico			X
Parotidite supurativa neonatal		X	
Abscesso periapical	X		
Fístula facial secundária a infecção dentária	X		
Abscesso retrofaríngeo	X		
Abscesso parafaríngeo	X		
Epiglotite em adultos	X		
Aneurisma micótico de carótida		X	
Tireoidite supurativa		X	
Mastite			X
Pneumonia lobar	X		
Pneumonia não lobar		X	
Pneumonia em portadores de fibrose cística	X		
Pneumonia associada à ventilação mecânica		X	
Pneumonia congênita		X	
Pneumonia crônica	X		
Gangrena pulmonar maciça			X
Abscesso de pulmão	X		
Pneumatocele	X		
Empiema pleural		X	
Fístula broncoperitoneal		X	
Síndrome da veia cava superior (por pneumonia)			X
Mediastinite	X	X	
Abscesso mediastinal com gás			X
Miopericardite			X
Miocardite aguda			X
Abscesso miocárdico pós infarto agudo do miocárdio		X	
Pericardite purulenta			X
Endocardite	X	X	
Abscesso intraperitoneal em crianças		X	
Hepatite piogênica aguda	X		
Abscesso hepático único, múltiplo, primário ou não	X		
Abscesso hepático associado a endoftalmite	X		
Abscesso hepático com gás	X		
Colangite	X		
Infecção do trato biliar		X	
Abscesso esplênico	X		
Infecção de pseudocisto de pâncreas			X
Gastroenterite	X		

Refinamento de análise de fatores de risco para infecções hospitalares por *Klebsiella pneumoniae* produtora de β -lactamase de espectro estendido: seleção apropriada do grupo controle é suficiente?

Enterocolite necrosante em neonatos		X	
Diarréia	X		
Diarréia em crianças		X	
Diarréia em transplantados de medula óssea		X	
Disenteria	X		
Peritonite bacteriana espontânea	X		
Abscesso supra-renal			X
Pielonefrite			X
Pielonefrite enfisematosa uni e bilateral	X		
Abscesso renal	X		
Infecção de cisto renal	X		
Cistite	X	X	
Cistite enfisematosa	X		
Prostatite crônica	X		
Abscesso de iliopsoas		X	
Abscesso tuboovariano	X		
Endometrite pós-parto		X	
Abscesso de glândula de Bartholin em adultos e crianças	X		
Pseudobacteremia		X	
Bacteremia associada à infusão de solução salina		X	
Sepse neonatal		X	
Sepse em adultos		X	
Sepse recorrente pós inserção de marca passo		X	
Infecção de sítio cirúrgico		X	
Abscesso cutâneo	X		
Complicações sépticas de feridas de guerra			X
Celulite crepitante	X		
Fascite	X		
Mionecrose crepitante	X		
Osteomielite	X		
Osteomielite vertebral enfisematosa	X		
Espondilodiscite			X
Artrite séptica	X	X	
Artrite séptica enfisematosa em adultos e neonatal	X	X	
Artrite séptica	X		
Seqüelas espondiloartropáticas	X		

^aComunitária; ^bHospitalar; ^cNão classificada

Mecanismos de virulência e patogenicidade de *K. pneumoniae*

A invasividade de *K. pneumoniae* foi demonstrada em cultivos de células em monocamadas (166;167) e a pesquisa atual sobre a patogenicidade de *Klebsiella* têm focado os seguintes aspectos: antígenos capsulares, pili, resistência ao soro e lipopolissacarídeos e sideróforos (64). A sua cápsula composta de polissacarídeos apresenta-se como uma camada espessa de estruturas fibrilares que protege a bactéria da fagocitose por polimorfonucleares e dos fatores bactericidas do soro, principalmente da fração do complemento C3b (64). Outro mecanismo de proteção promovido pelos polissacarídeos capsulares é

a inibição da função dos macrófagos. Os antígenos capsulares dos tipos K1 e K2 estão associados à maior virulência em peritonite experimental em camundongos.

Outras estruturas importantes são os pili, adesinas envolvidas na primeira etapa do processo infeccioso. Existem dois tipos predominantes de pili em *Klebsiella* spp., os tipos 1 e 3. Essas estruturas ligam a bactéria ao muco ou ao epitélio urogenital, intestinal e respiratório. Proteínas solúveis contendo manose na saliva também favorecem a colonização do trato respiratório, com conseqüente proliferação de bactérias patogênicas facultativas e invasão tecidual, causando assim, pneumonia principalmente em pacientes sob ventilação mecânica prolongada (64). O pilus tipo 3 permite também adesão à membrana basal tubular, cápsula renal e veias renais e a adesão a cateter urinário.

Tem sido demonstrado que amostras de *Klebsiella* produtoras de ESBL tem sua habilidade de aderir a células epiteliais humanas aumentada, provavelmente devida à produção de adesinas fimbriais ou não fimbriais codificadas em plasmídios (5). Deste modo, é provável que amostras de *Klebsiella* possam se tornar mais virulentas e mais resistentes aos antibióticos no futuro, uma possibilidade que poderia contribuir para a disseminação de certos clones pela sua capacidade de maior resistência a antibióticos e melhor aderência aos tecidos do hospedeiro (5). A fímbria KPF-28, um fator de colonização de *K. pneumoniae* ao intestino humano, tem sido encontrada na maioria das amostras de *K. pneumoniae* produtoras das ESBLs tipo CAZ-5/SHV-4 (3). Outro estudo identificou uma associação de resistência antibiótica múltipla, incluindo resistência a cefalosporinas de espectro estendido, com propriedades adesivas em amostras clínicas de *K. pneumoniae* (4). Amostras clínicas de enterobactérias freqüentemente apresentam resistência ao soro que tem sido correlacionada ao início da infecção e à gravidade dos sintomas. Um estudo recente sugere que amostras de *K. pneumoniae* produtoras de ESBL, por causa da sua resistência aumentada ao soro, tem um maior potencial patogênico que as amostras não produtoras da enzima (5). Quando se consideram as amostras produtoras de

ESBL, as produtoras de TEM apresentam significativa maior resistência ao soro do que as produtoras de SHV, apesar de nenhuma correlação entre a expressão de tipos de ESBL e resistência aos soro ter sido detectada no estudo (5).

Os sideróforos representam um papel secundário na patogenicidade de *Klebsiella* spp., apesar de demonstrada sua correlação com virulência em *K. pneumoniae* em modelo animal. Outros fatores secundários menos demonstrados neste patógeno são citotoxinas, enterotoxinas e hemolisina (64). Apesar da associação da emergência médica neonatal, enterocolite necrosante, com *K. pneumoniae* estar demonstrada (28), a fisiopatogenia não está totalmente esclarecida. Talvez o estudo da participação de enterotoxinas deste patógeno possa esclarecer mais este entendimento no futuro (135).

Mecanismos gerais de resistência em *K. pneumoniae*

Os microrganismos apresentam uma grande capacidade de desenvolver mecanismos de resistência que lhes permitem ultrapassar o desenvolvimento de novos antibióticos. São três os principais mecanismos de resistência aos β -lactâmicos: alteração do sítio alvo de ação que são as proteínas que ligam penicilinas (PLPs), alteração da permeabilidade da membrana externa bacteriana e produção de β -lactamases (168).

A afinidade dos antibióticos às diversas PLPs é variável. Mutações podem alterar PLPs preexistentes, que passam a apresentar baixa afinidade de ligação aos β -lactâmicos, ou levar à produção de PLPs suplementares, também com baixa afinidade aos β -lactâmicos, capazes de substituir as PLPs que se encontram inibidas. Essas novas enzimas não permitem a ligação e a ação dos β -lactâmicos (168).

Alterações da membrana externa podem ocorrer juntamente com a produção de β -lactamases. A perda de um ou mais dos canais da membrana externa pode significar a resistência a antibióticos em níveis elevados, se estiver associada à inativação enzimática. Em *K. pneumoniae*, duas porinas foram

caracterizadas: Ompk35 e Ompk36 (169). A perda da porina Ompk36 está associada com resistência à cefoxitina e ao aumento da concentração inibitória mínima (CIM) de cefalosporinas e de quinolonas (170). A associação entre perda de porinas e resistência ao imipeném foi descrita em *K. pneumoniae* produtora de β -lactamases plasmidiais AmpC (170;171).

O principal mecanismo de resistência das bactérias Gram-negativas aos antibióticos β -lactâmicos é decorrente da produção de β -lactamases, que são enzimas que catalisam a hidrólise do anel β -lactâmico, impossibilitando assim a sua atividade antibacteriana (172). Nas bactérias Gram-negativas, as β -lactamases são secretadas do interior da célula bacteriana para o gel periplásmico (173), onde podem alcançar maiores concentrações e agir de modo mais eficaz sobre os β -lactâmicos que estejam atravessando esse gel para atingir as PLPs (174). Mais de 100 tipos diferentes de β -lactamases plasmidiais já haviam sido descritas em bactérias Gram-negativas até setembro de 1999 (175); em outubro de 2001, mais de 150 tipos (176). Ao contrário do que ocorre com as β -lactamases cromossômicas, as β -lactamases mediadas por plasmídios ou por transposons podem ser transferidas de forma horizontal entre bactérias de uma mesma espécie ou de espécies diferentes. Essas β -lactamases hidrolisam antibióticos como ampicilina e cefalosporinas de primeira geração, mas não são ativas contra cefalosporinas de amplo espectro, monobactâmicos e carbapenêmicos. Os representantes mais comuns desse grupo de β -lactamases são as enzimas TEM-1. Outros representantes do grupo são TEM-2, SHV-1 e PSE-1 (174).

A primeira β -lactamase de bacilo gram-negativo mediada por plasmídio, detectada em *E. coli* isolada a partir de hemocultura da paciente grega Temoniera em 1965, foi denominada, por esta razão, TEM-1 (176). Pelo fato de ser mediada por plasmídio e por transposon, disseminou, e, poucos anos depois, era identificada em outras partes do mundo. Hoje é detectada em muitas diferentes espécies, em Enterobacteriaceae, *Pseudomonas aeruginosa*, *Hemophilus*

influenzae e *Neisseria gonorrhoeae* Outra β -lactamase, SHV-1 (*sulphydryl variable*), foi reconhecida como sendo comum em *K. pneumoniae* e em *E. coli*, sendo codificada no cromossoma da maioria das amostras no primeiro e geralmente mediada por plasmídio no caso do segundo patógeno (176). Por causa deste mecanismo de resistência, a indústria farmacêutica, nos últimos 20 anos, vem desenvolvendo antibióticos desenhados especificamente para resistir à ação hidrolítica destas enzimas, pela introdução do radical metoximino (176). O amplo uso clínico destes novos antibióticos de espectro estendido precipitou a emergência de novas β -lactamases, que foram progressivamente adquirindo maior capacidade de inativar os novos medicamentos, as novas oximino-aminotiazolil cefalosporinas da década de 1980 (cefalosporinas de III geração) e o aztreonam, e, depois as cefalosporinas de IV geração (176). Historicamente, a introdução do uso clínico das cefalosporinas de espectro estendido foi rapidamente seguida da detecção de ESBLs. As primeiras descrições foram em *K. pneumoniae* e em *Serratia marcescens* em 1983 (177) e a SHV-2, em 1985 em *K. ozaenae* (178).

β -lactamases de espectro estendido

ESBLs são enzimas que emergem através de mutações em genes de β -lactamases comuns tais como TEM-1, TEM-2 e SHV-1. Estas enzimas podem conferir resistência a penicilinas, cefalosporinas e aztreonam em amostras clínicas de *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Escherichia coli* e poucos outros gêneros da família Enterobacteriaceae que são geralmente susceptíveis a estes antibióticos. Algumas destas amostras apresentam zona de inibição menor do que a população susceptível normal, mas são ainda interpretadas como susceptíveis através de pontos de corte padrão para algumas cefalosporinas de espectro estendido e para aztreonam. Tais amostras podem ser triadas para a produção potencial de ESBL através do uso dos pontos de corte de triagem do NCCLS (179) (Tabela 4). Outras amostras podem apresentar resultado intermediário ou resistente pelos

pontos de corte padrão a um ou mais antibióticos. Nas amostras com ESBL, os diâmetros das zonas de inibição para um ou mais cefalosporinas de espectro estendido ou aztreonam devem aumentar na presença de ácido clavulânico (Tabela 4). Para todas as amostras produtoras de ESBL, a interpretação do teste deve ser relatada como resistente a todas as penicilinas, cefalosporinas e aztreonam. As recomendações correntes para testagem adicional e descrição do resultado estão disponíveis na Tabela 4, que contém os testes de triagem e os testes confirmatórios para ESBL segundo o NCCLS (179).

As ESBLs estão incluídas no grupo 2be da classificação de Bush, Jacoby & Medeiros (174). São enzimas mediadas por plasmídios que conferem resistência às cefalosporinas de amplo espectro (ex.: cefuroxima, cefotaxima, ceftriaxona e ceftazidima entre outras) e monobactâmicos (aztreonam). Porém, estas enzimas não reconhecem as cefamicinas (ex.: cefoxitina) e os carbapenêmicos (ex.: imipeném) como substratos e, portanto, as bactérias produtoras de ESBL permanecem susceptíveis *in vitro* à ação destas duas classes de antibióticos. Outra característica fenotípica destas enzimas é a susceptibilidade *in vitro* à ação dos inibidores de β -lactamases como o ácido clavulânico, o sulbactam e o tazobactam (51;180-182). Esses inibidores formam um complexo protéico com a β -lactamase, bloqueando desta maneira a atividade de hidrólise dessas enzimas (183). A emergência principalmente, mas também a disseminação das ESBL é consequência da pressão seletiva causada pelo uso em grande escala das cefalosporinas de amplo espectro (184).

A detecção de produção de ESBL representa, no contexto clínico, entretanto, resistência a todos os antibióticos β -lactâmicos não carbapenêmicos. Apesar desta ampla resistência aos β -lactâmicos, a então nova capacidade de inativação dos β -lactâmicos de espectro estendido (oximino-aminotiazolil cefalosporinas) e do aztreonam é que deu nome a essas novas β -lactamases. São exemplos de aminotiazolil cefalosporinas que contém radical oximino: cefotaxima, ceftriaxona e ceftazidima (185).

A detecção da primeira amostra bacteriana produtora de ESBL (TEM-12) data de 1982, embora só tenha sido relatada em 1990 (186). Tratava-se de uma amostra de *K. oxytoca* responsável por um surto ocorrido em uma unidade neonatal em Liverpool, Inglaterra. Em 1983, foi relatado, pela primeira vez, o isolamento de amostras de *K. pneumoniae* e de *S. marcescens* com padrão de resistência à cefotaxima transferível (SHV-2) (177). Depois disso, o isolamento de amostras produtoras de ESBL a partir de espécimes clínicos tem sido descrito em vários países (51;187) inicialmente em hospitais, atualmente se disseminando na comunidade (188). Com o passar dos anos, verificou-se também que as ESBLs são produzidas por amostras pertencentes a outros gêneros e espécies da família Enterobacteriaceae tais como *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, *Morganella morganii*, *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp. (16;181;189;190) e *Salmonella* spp. (191;192). ESBLs têm sido detectadas também em bacilos Gram-negativos não fermentadores como *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* e *Burkholderia cepacia* (193). A produção destas enzimas também foi detectada em *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri* (194), *Capnocytophaga ochracea*, *Aeromonas caviae* (193), *Providencia stuartii* (195), *Kluyvera ascorbata* e *Kluyvera cryoscences* (196). Padronização, entretanto da detecção destas enzimas, por testes fenotípicos, pelo NCCLS existe apenas para *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* e *E. coli* (179).

Através de estudos de hibridização ou da determinação da seqüência de nucleotídeos dos genes que codificam ESBLs, ficou demonstrado que mutações ocorridas nos genes estruturais que codificam as enzimas TEM-1, TEM-2 ou SHV-1, em locais próximos aos seus sítios ativos, causam alterações na seqüência de aminoácidos que originam as novas ESBLs (197). Um único ponto de mutação pode ser suficiente para produzir uma nova enzima, que poderá ter novos substratos preferenciais (197).

As ESBLs podem exibir variações no padrão de resistência *in vitro* aos β -lactâmicos nas amostras que as codificam (172;198). Algumas enzimas conferem

altos níveis de resistência às cefalosporinas (TEM-3 e SHV-2), enquanto que outras, como TEM-7 e TEM-12, conferem baixos níveis de resistência, o que, possivelmente, pode dificultar ainda mais a sua detecção através dos testes de susceptibilidade utilizados na rotina dos laboratórios de microbiologia. Isto é, apesar de amostras produtoras de ESBL serem classificadas como susceptíveis a alguns β -lactâmicos, especialmente cefalosporinas de amplo espectro, o uso destas drogas *in vivo* perde a sua função. Há relatos de falha terapêutica quando pacientes com infecção por bactéria produtora de ESBL são tratados com β -lactâmicos, exceto os carbapenêmicos (199). Como a degradação do β -lactâmico pode ser muito lenta, a resistência a este fármaco pode não ser detectada durante a realização do antibiograma. Além disso, a degradação do β -lactâmico é dependente do inóculo, ou seja, quanto maior o inóculo, mais rápida e eficaz é a degradação. Assim, o inóculo padronizado para testes de susceptibilidade pode não ser suficiente para a detecção da resistência. Há aumento significativo da concentração inibitória mínima quando o inóculo é aumentado (198;199).

Resistência aos carbapenêmicos em amostras bacterianas produtoras de ESBL

Como a produção de ESBL é freqüentemente acompanhada de multirresistência aos antibióticos, as opções terapêuticas para infecções causadas pelos patógenos produtores dessas enzimas se tornam limitadas (64). As amostras de *K. pneumoniae* produtoras de ESBL vinham revelando susceptibilidade aos carbapenêmicos que são as drogas de escolha para o tratamento de infecções causadas por estas cepas. Entretanto, recentemente foram isoladas amostras de *K. pneumoniae* produtora de ESBL com resistência adicional ao imipeném (171). Estas amostras produziam uma β -lactamase do tipo AmpC codificada em plasmídio. Esta resistência deve ser monitorizada atentamente já que a emergência de amostras de *K. pneumoniae* produtoras de ESBL resistentes ao imipeném terá um grande impacto em termos de opções

terapêuticas (64). No Brasil, já desde o início de 2004, começou a haver relatos de *K. pneumoniae* resistente a carbapenêmicos. Uma amostra com este fenótipo foi isolada no programa *Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection* (MYSTIC). Investigação subsequente revelou que a amostra era produtora da ESBL tipo SHV-4 e também tinha perda de uma porina de membrana externa de 36kDa (200). Neste mês corrente, novembro, foram relatados dois casos da cidade de São Paulo, de infecção por *K. pneumoniae* com o fenótipo ESBL tipo CTX-M e de metalo- β -lactamase IMP-1 e carreando os genes *bla*_{IMP} e *bla*_{CTX} (201).

Epidemiologia de *K. pneumoniae*

As bactérias do gênero *Klebsiella* apresentam ubiquidade na natureza, sendo encontradas no solo, em vegetais, na água, em fezes humanas e de outros animais, pois são colonizadoras habituais do trato gastrintestinal de humanos e de animais.

Em humanos, *K. pneumoniae* está presente como microbiota normal na nasofaringe e no trato intestinal. O estado de portador varia em diferentes estudos. A taxa de detecção nas fezes varia de 5 a 38% e na nasofaringe, de 1 a 6% (202-205). Como as condições que permitem a multiplicação ou a colonização na pele humana não são ideais para as bactérias Gram-negativas, *K. pneumoniae* é raramente encontrada neste sítio (206).

O estado de portador pode mudar no ambiente hospitalar onde as taxas de colonização aumentam em proporção direta ao tempo de permanência no hospital. Da mesma forma, taxas elevadas de portadores de *Klebsiella* spp. podem ser detectadas em profissionais da saúde que trabalham em hospitais (207;208). As taxas de detecção de *K. pneumoniae* em pacientes hospitalizados são de aproximadamente 77% nas fezes, 42% nas mãos e 19% na faringe (202;204;209-211). Em um estudo, foi observado um aumento de duas a quatro vezes nas taxas de colonização por *Klebsiella* spp. duas semanas depois da

admissão hospitalar (211). Este aumento ocorreu primariamente em pacientes recebendo antibióticos, especialmente os de amplo espectro ou múltiplos antibióticos. Em ambiente hospitalar, a política local de uso de antibióticos é um importante determinante do padrão de colonização. O significado do aumento da colonização por *Klebsiella* spp. foi ilustrado pela observação de que a taxa de ocorrência de infecção hospitalar em pacientes portadores intestinais deste microorganismo adquirido no ambiente hospitalar foi quatro vezes mais alta do que em pacientes não colonizados (210). Ainda mais, o amplo uso de terapia antimicrobiana tem sido responsabilizado pela ocorrência de cepas de *Klebsiella* spp. multirresistentes em hospitais (210;212).

Na Tabela 3 são apresentados dados relativos às frequências de diferentes infecções hospitalares causadas por *Klebsiella* spp. durante os anos de 1975 a 1996 em diferentes países da Europa e nos Estados Unidos da América (EUA), incluindo também um estudo realizado na Arábia Saudita (64).

TABELA 3. Faixa de freqüência de infecções hospitalares causadas por *Klebsiella* spp. Na Europa, EUA e Arábia Saudita, 1975-1996 (64)

Tipo de Infecção	%	Ordem ^a
ITU	6-17	5-7
Pneumonia	7-14	2-4
Sepse	4-15	3-8
Infecções de ferida	2-4	6-11
IH em UTI	4-17	4-9
Sepse neonatal	3-20	2-8

^a ordem de freqüência de *Klebsiella* spp. comparada a todos outros patógenos bacterianos
ITU: infecção do trato urinário; IH: infecção hospitalar; UTI: unidade de tratamento intensivo

Afora o equipamento médico contaminado devido à não adesão às recomendações de controle de infecção hospitalar e de cuidados com sangue e derivados (25;213), os principais reservatórios para a transmissão de *Klebsiella* spp. no ambiente hospitalar são o trato gastrointestinal de pacientes e as mãos da equipe hospitalar de saúde (117). A capacidade deste microorganismo de se disseminar rapidamente (214) freqüentemente gera surtos de infecção hospitalar, principalmente em unidades neonatais (215). Um trabalho realizado na Enfermaria 34 de Pediatria da Santa Casa de Porto Alegre, descreveu um surto de sepse por *Klebsiella* sp. relacionado à infusão intravenosa de líquidos, que ocorreu em 1979. Já, há 25 anos atrás, este estudo enfatizava a necessidade da obrigatoriedade da existência de comissão de controle de infecção hospitalar (216). Dos 145 surtos de infecção hospitalar relatados na literatura especializada publicada em inglês entre 1983 e 1991, 13 foram causados por *Klebsiella* spp. (217). De acordo com as estatísticas do CDC, obtidas pelo *NATIONAL NOSOCOMIAL INFECTION SURVEILLANCE System* (NNIS) (1996), esse microorganismo foi responsável por 8% das infecções hospitalares endêmicas e 3% dos surtos nos EUA entre 1986 e 1996 (64). São especialmente temidas as infecções hospitalares causadas por cepas multirresistentes. Na década de 70, a resistência decorria principalmente pela disseminação de cepas resistentes aos

aminoglicosídeos (218-220). Desde 1982, cepas produtoras de ESBLs, têm sido detectadas (11;14;16;20;30;33;38;189;221;222). As ESBLs, por serem mediadas por plasmídios, são facilmente transmitidas entre diferentes membros da família Enterobacteriaceae. Os genes que codificam ESBLs estão freqüentemente localizados em grandes plasmídios que também contêm genes de resistência a outros antibióticos, incluindo aminoglicosídeos, tetraciclina, sulfonamidas, trimetoprim e cloranfenicol (2). O acúmulo de genes de resistência tem como conseqüência o surgimento de bactérias multirresistentes. Por esta razão, amostras produtoras de ESBL são resistentes a várias classes de antibióticos. HANSON e colaboradores (2) descreveram uma amostra de *K. pneumoniae* multirresistente e que expressava um mínimo de cinco diferentes β -lactamases, a maioria delas codificadas em um grande plasmídio transferível. Uma das β -lactamases era do tipo *ampC*, mediada por plasmídio. Esse relato demonstrou como pode ser complexa a resistência múltipla em *K. pneumoniae*. A emergência destas cepas de *Klebsiella* spp. multirresistentes é acompanhada de uma alta estabilidade de plasmídios codificadores de ESBLs. A colonização continuada por cepas produtoras de ESBL tem sido observada em pacientes anos após a suspensão do uso de ceftazidima e outras cefalosporinas de amplo espectro (223). Hospitalização prolongada e realização de quaisquer procedimentos invasivos têm sido apontadas como fatores de risco para aquisição destas cepas (224). A necessidade da execução rotineira de testes para detectar a produção de ESBL em cada amostra de *Klebsiella* spp. isolada tem sido avaliada tendo em vista a importância da disseminação deste patógeno. O rastreamento dessas amostras é recomendado na dependência da existência de cepas resistentes à ceftazidima (64).

K. pneumoniae é o segundo patógeno relacionado a infecções do trato urinário de origem hospitalar na América Latina e o terceiro em alguns hospitais brasileiros estudados (225). É o quinto mais freqüentemente isolado em hospitais brasileiros considerando todas as infecções hospitalares, o quinto em pneumonias

associadas à ventilação mecânica e, também, o quinto em bacteremias hospitalares (225). No Brasil, a produção de ESBL por *K. pneumoniae* é listada entre os principais problemas de resistência bacteriana em hospitais (53).

Dados de Porto Alegre são ainda restritos. Há, até o momento, apenas um Resumo apresentado em congresso e uma tese de mestrado. O Resumo, datado de 2001, avalia testes de triagem para a produção de ESBL em *K. pneumoniae* e em *Escherichia coli* (226). A tese, apresentada em 2002, avaliou 299 amostras de *K. pneumoniae* obtidas de 3 hospitais da cidade e demonstrou uma prevalência de 60,9% de colonização e infecção por *K. pneumoniae* produtora de ESBL através do teste de adição de ácido clavulânico (227). Neste estudo, a resistência a não- β -lactâmicos foi também mais elevada nas amostras produtoras da enzima quando comparadas às amostras não-produtoras, com significância estatística (227).

As medidas de controle recomendadas para a prevenção da disseminação hospitalar de *Klebsiella* spp. não diferem daquelas recomendadas para outros patógenos multirresistentes. Adesão estrita às recomendações básicas para manejo de cateteres urinários, cateteres intravenosos, traqueostomias, feridas e escaras, assim como para a manutenção e cuidado dos equipamentos e boas práticas de lavagem das mãos são todas medidas que colaboram na prevenção da disseminação de infecções hospitalares por *Klebsiella* spp. (64). Outra medida recomendada é o controle da prescrição de antibióticos a fim de prevenir o uso incorreto e demasiado destes medicamentos. A vigilância epidemiológica de infecção hospitalar é também necessária para coletar dados que serão utilizados no planejamento de estratégias de prevenção e controle das taxas de infecções hospitalares por *Klebsiella* spp. (64).

Epidemiologia das ESBLs

Há relatos de detecção de amostras produtoras de ESBL em todos os continentes exceto a Antártida. Entretanto, os dados de prevalência são

provavelmente subestimados porque os testes de susceptibilidade utilizados na rotina laboratorial nem sempre permitem detectar a produção de ESBL por estas amostras (228;229). Além disso, a utilização de testes fenotípicos de triagem e confirmatórios não é ainda um trabalho rotineiramente utilizado em todos os hospitais.

A taxa de *K. pneumoniae* resistente a cefalosporinas de III geração é de 10,4% dentre 1.316 amostras testadas nos EUA (230). Na Europa, a frequência de tais amostras é mais alta. Uma percentagem de 14-16% de *K. pneumoniae* produtora de ESBL foi relatada na França e Inglaterra em 1995 (231). Em hospitais de algumas regiões ou em alguns hospitais isolados, a incidência pode alcançar 25 a 40% (232).

No decorrer dos últimos anos, um número crescente de variantes de ESBLs tem sido caracterizado. Este mecanismo de resistência se encontra em franca expansão no planeta. Até setembro de 1999, haviam sido catalogadas 68 ESBLs derivadas das β -lactamases conhecidas como TEM-1 e TEM-2; 22 derivadas de SHV-1 e 8 ESBLs do tipo OXA (175;233), totalizando 98 ESBLs conhecidas. Até 2001 estavam caracterizadas mais de 90 ESBLs tipo TEM, mais de 25 do tipo SHV, 12 do tipo CTX-M, 9 do tipo OXA e mais 9 de outros tipos menos relacionados filogeneticamente às outras previamente descritas somando mais de 150 ESBLs (176;234). No período de 2 anos, de 1999 a 2001, foram catalogadas mais 50 novas ESBLs aproximadamente. A página eletrônica de ESBLs da Clínica Lahey, Burlington, Massachusetts, elaborada por Jacoby & Bush (235;236) que tem catalogado as ESBLs, lista atualmente um total de 301 ESBLs: 130 tipo TEM, 57 SHV, 73 OXA, 40 CTX-M (237).

Inicialmente as enzimas mais restritas a uma determinada área geográfica eram as dos tipos OXA, FOX e CTX; as demais foram descritas em vários países. Na Europa, as β -lactamases de amostras de *Klebsiella* spp. resistentes à ceftazidima são principalmente do tipo SHV-5. Na França, amostras produtoras de

TEM-3 são mais freqüentes que amostras produtoras de TEM-10, TEM-12 e TEM-26. Estas últimas são mais freqüentes nos Estados Unidos da América (229).

Enzimas tipo CTX-M são descritas na Europa, no Japão e na América do Sul (176;238). Na Argentina, 75% das ESBL são do tipo CTX-M-2 (239;240). No Brasil, ESBLs do tipo CTX-M também já foram descritas em enterobactérias, porém não em *K. pneumoniae* (241). Atualmente a ESBL CTX-M está disseminando para a comunidade na Inglaterra através de clones de *E. coli* (188) e também no Canadá (242).

Com relação à importância de amostras de *K. pneumoniae* produtora de ESBL no Brasil, a maior parte dos dados se referem à sua detecção e à sua susceptibilidade. Em um estudo realizado em um hospital da cidade de São Paulo, a susceptibilidade à ciprofloxacina dentre amostras de *K. pneumoniae* produtora de ESBL foi de 94% e à cefepima foi de 92% (46). Em outro estudo brasileiro, foi avaliada a acurácia de testes de detecção de ESBL em amostras de *K. pneumoniae* obtidas de espécimes clínicos. Num total de 66 amostras, 55,5% foram consideradas produtoras de ESBL pelo método escolhido como padrão áureo no estudo: a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) através do E teste utilizando limites para o teste de triagem propostos pelo NCCLS (243). Entretanto, a técnica para determinação de CIM através do teste E não é padronizada pelo NCCLS. No Rio de Janeiro, foram detectadas amostras de *K. pneumoniae* produtora de ESBL relacionadas a um surto de infecção em Unidade de Cuidados Intensivos Neonatal (244). As taxas de *K. pneumoniae* produtora de ESBL relatadas em trabalhos do Congresso Brasileiro de Microbiologia da Sociedade Brasileira de Microbiologia de 2001 vão de 5,5 a 82,4% (226;245-252). Estas taxas não representam dados de prevalência.

Métodos moleculares para detectar ESBL

A presença de ESBL pode ser identificada presuntivamente através de testes fenotípicos como aqueles padronizados pelo NCCLS (179), descritos no

próximo item, para uso em microbiologia clínica de hospitais visando o atendimento de pacientes e a vigilância epidemiológica das infecções. Atualmente, em parte dos hospitais, estes testes estão ainda em processo de implementação.

Porém, a tarefa de identificar qual a ESBL específica que está presente numa amostra clínica é mais complicada do que a avaliação fenotípica (176). No início do estudo das ESBLs, a determinação do ponto isoelétrico era geralmente suficiente, para a identificação da ESBL específica. Entretanto, nos dias atuais, com mais de 100 β -lactamases tipo TEM e muitas delas com o mesmo ponto isoelétrico, este teste diminuiu sua função. Existe uma situação similar em relação às famílias SHV, CTX-M e OXA de ESBLs (176).

A detecção de genes de β -lactamases era inicialmente feita por provas de DNA, específicas para as enzimas TEM e SHV, que podem ser muito trabalhosas. O método molecular mais fácil e mais comum é o *Polymerase Chain Reaction* (PCR) com iniciadores de oligonucleotídeos que são específicos para um gene de β -lactamase. Entretanto, nenhum dos métodos de PCR desenvolvidos discrimina as diferentes variantes de TEM ou de SHV (176). Outro teste, o *Ligase Chain Reaction* (LCR), pôde identificar sete das variantes SHV (176).

Seqüenciamento de nucleotídeos permanece o padrão áureo para a determinação de um gene específico de β -lactamase presente numa determinada amostra bacteriana (176). Entretanto, este teste também pode levar a resultados variáveis dependendo do método utilizado, apesar de que estas variações sejam provavelmente mais devidas a dificuldades técnicas do que a reais diferenças na seqüência (176).

Métodos fenotípicos para detectar a produção de ESBL

A afinidade pelos diferentes substratos β -lactâmicos pode variar muito entre os diferentes grupos de enzima ESBL, o que dificulta a sua detecção. A utilização dos limites de susceptibilidade para cefalosporinas de III geração e

aztreonam nem sempre permite a detecção de amostras produtoras de ESBL (47;172). Esses limites podem deixar de revelar a presença de resistência intermediária ou mesmo elevada às cefalosporinas (228).

A susceptibilidade dessas enzimas a um inibidor de β -lactamase, o ácido clavulânico, tem sido explorada como um indicador da presença de ESBL. Tendo isto como base, vários testes foram propostos para a detecção de amostras produtoras de ESBL. JARLIER *et al.* propuseram, em 1988, o teste de dupla difusão em disco (56), também chamado teste de aproximação em disco. O teste consiste da colocação de discos de cefalosporinas de III geração e um monobactâmico, geralmente ceftriaxona, cefotaxima, ceftazidima e aztreonam distantes 30mm de centro a centro, de um disco de amoxicilina/ácido clavulânico. Após o crescimento da amostra, a observação do aumento da zona de inibição ou áreas de distorção no halo de inibição entre os dois discos seria indicativo da produção de ESBL pela amostra. O aumento do halo de inibição ocorreria pelo fato da enzima ser inibida pelo ácido clavulânico. A distância entre os discos, o armazenamento dos discos contendo clavulanato, a inabilidade do teste em detectar algumas amostras produtoras de ESBL que também produzem cefalosporinases cromossômicas são fatores que podem interferir na sensibilidade do teste (56).

Um método mais prático é a detecção de ESBL através da adição de inibidor de β -lactamase a discos de aztreonam ou cefalosporinas disponíveis comercialmente (47). Um aumento do halo de inibição do antibiótico associado ao inibidor de β -lactamase maior do que 5mm, quando comparado ao halo de inibição do aztreonam ou da cefalosporina isolada, indicaria a produção de ESBL. Este é o método que acabou sendo padronizado pelo NCCLS em 1999 (59). Uma variação do teste anteriormente descrito seria a colocação de um disco contendo somente inibidor de β -lactamase sobre o disco do β -lactâmico (253). O acondicionamento correto dos discos com clavulanato, para que o composto permaneça ativo, pode ser um fator limitante deste método (59;179). O ácido

clavulânico, por enquanto, é disponível apenas por solicitação direta ao fabricante. A substância deve ser dissolvida conforme a orientação do NCCLS (179) e utilizado imediatamente no teste. Pode ser estocado a -80°C por curtos períodos de tempo. A Oxoid disponibilizou comercialmente, em 2001, discos combinados contendo ceftazidima, cefotaxima ou cefpodoxima e ácido clavulânico (254).

Outros testes, não automatizados e automatizados, de boa sensibilidade e especificidade foram propostos e suas técnicas colocadas à disposição para estudos (58;229;255). Cada teste descrito tem seu mérito, mas nenhum deles pode detectar acuradamente todas as amostras produtoras de ESBL (1;176). A partir de janeiro de 1999 o NCCLS padronizou testes fenotípicos de triagem e confirmatórios para a detecção de ESBL, de disco difusão e de determinação da concentração inibitória mínima por diluição em caldo (59). As recomendações padrão atualizadas para realização dos testes e os seus critérios interpretativos do NCCLS (179) estão dispostos na Tabela 4 passando estes testes a vigorar como padrão áureo fenotípico da detecção da produção de ESBL desde 1999 (59) com pequenas modificações posteriores (256).

TABELA 4. Testes fenotípicos de triagem e confirmatórios para a detecção de produção de ESBL em *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca* e *Escherichia coli* (NCCLS, 2004)

Testes de triagem Antimicrobiano	disco difusão (mm)		CIM (μ g/ml)
	<u>Halo de inibição</u>		
	limite de susceptibilidade convencional	pode indicar a produção de ESBL	
cefpodoxima	≥ 16	≤ 17	≥ 8
ceftazidima	≥ 18	≤ 22	≥ 2
aztreonam	≥ 17	≤ 27	≥ 2
cefotaxima	≥ 25	≤ 27	≥ 2
ceftriaxona	≥ 24	≤ 25	≥ 2
Testes confirmatórios	adição de ac^a		adição de ac
ceftazidima e ceftazidima/ac	$\uparrow \geq 5$ com ac		$\downarrow \geq 3$ diluições com ac
cefotaxima e cefotaxima/ac	$\uparrow \geq 5$ com ac		$\downarrow \geq 3$ diluições com ac

CIM: concentração inibitória mínima; ^aac: ácido clavulânico

Diante da escassez de dados sobre os fatores de risco para infecções causadas por *K. pneumoniae* produtora de ESBL a nível global e também em Porto Alegre, Rio Grande do Sul, no presente trabalho foi proposto um estudo para a avaliação das condições clínicas relacionadas a infecções causadas por este patógeno, principalmente sepse e infecção do trato respiratório inferior. E diante da discussão atualmente levantada na literatura sobre os vieses encontrados em estudos de caso-controle publicados que avaliam patógenos resistentes a antibióticos, principalmente no que diz respeito à seleção do grupo controle (58;67-70;229), existe a necessidade de aprimoramento metodológico para este tipo de estudo.

Objetivos

O presente estudo foi delineado para verificar como a seleção do grupo controle influencia no reconhecimento de fatores de risco para infecções hospitalares endêmicas por *K. pneumoniae* produtora de ESBL e sua associação com infecção do trato respiratório e sepse.

Hipóteses

1. Dentre as infecções hospitalares, a sepse e a infecção do trato respiratório inferior, estão mais associadas a *K. pneumoniae* produtora de ESBL do que as infecções em outros sítios.
2. A seleção do grupo controle é capaz de modificar a identificação dos fatores de risco para infecção por *K. pneumoniae* produtora de ESBL.

II – ARTIGO EM PORTUGUÊS

INFLUÊNCIA DA SELEÇÃO DO GRUPO CONTROLE NA ANÁLISE DE FATORES DE RISCO PARA INFECÇÕES HOSPITALARES POR *Klebsiella pneumoniae* PRODUTORA DE β -LACTAMASE DE ESPECTRO ESTENDIDO

Passadas duas décadas do isolamento em 1982 e 1983 (177;257) e das descrições iniciais (177;258;259) dos primeiros microrganismos produtores de β -lactamase de espectro ampliado (ESBL), o conhecimento relacionado aos fatores de risco para infecções causadas por estes patógenos contém ainda vieses (49;66;68;70;260). Mesmo na última década, foram realizados poucos estudos de caso-controle para avaliar fatores de risco em infecções causadas por *K. pneumoniae* produtora de ESBL (9;50;261;262). Como consequência, evidências para medidas de controle de infecções por este patógeno são ainda incompletas. Estes poucos estudos são muito diversos no seu delineamento e tem produzido resultados conflitantes (65;69). Seleção do grupo controle e definição de pacientes-caso tem sido realizados de modo mais refinado atualmente porque estes critérios podem explicar parcialmente as diferenças (70). A primeira descrição deste padrão de resistência foi feita em 1983 (177) e a padronização pelo *National Committee for Laboratory Standards* (NCCLS) ocorreu em 1999 (59). Isto implica em que os critérios de inclusão dos pacientes-caso possa ter variado durante este intervalo de tempo por causa da utilização de diferentes métodos de caracterização da produção de ESBL (56;57;59;263) ao longo destes anos. Estudos também mostram diferenças quanto ao controle de variáveis como

tempo de risco e gravidade da doença, utilização de diferentes técnicas de análise de fatores de risco (68) e problemas como falha em distinguir colonização de infecção verdadeira, pequeno número de pacientes, inclusão de apenas populações específicas de pacientes, limitação da investigação a pacientes de unidades de tratamento intensivo (UTIs) ou durante surtos (49) assim como outras variações.

Há poucos estudos de análise de fatores de risco para a associação de infecção do trato respiratório com *K. pneumoniae* e para a associação de *K. pneumoniae* produtora de ESBL (7;264-267). Entretanto, há vários estudos envolvendo sepse ou bacteremia causada por este patógeno (25;26;33;34;36;40;262;268-285) por razões logísticas mais do que por razões de questão de pesquisa possivelmente, mas os dados são ainda assim limitados (271). Metade destes estudo citados acima são relacionados a amostras produtoras da enzima (7;26;33;34;262;264;268;270;271;275;281;284).

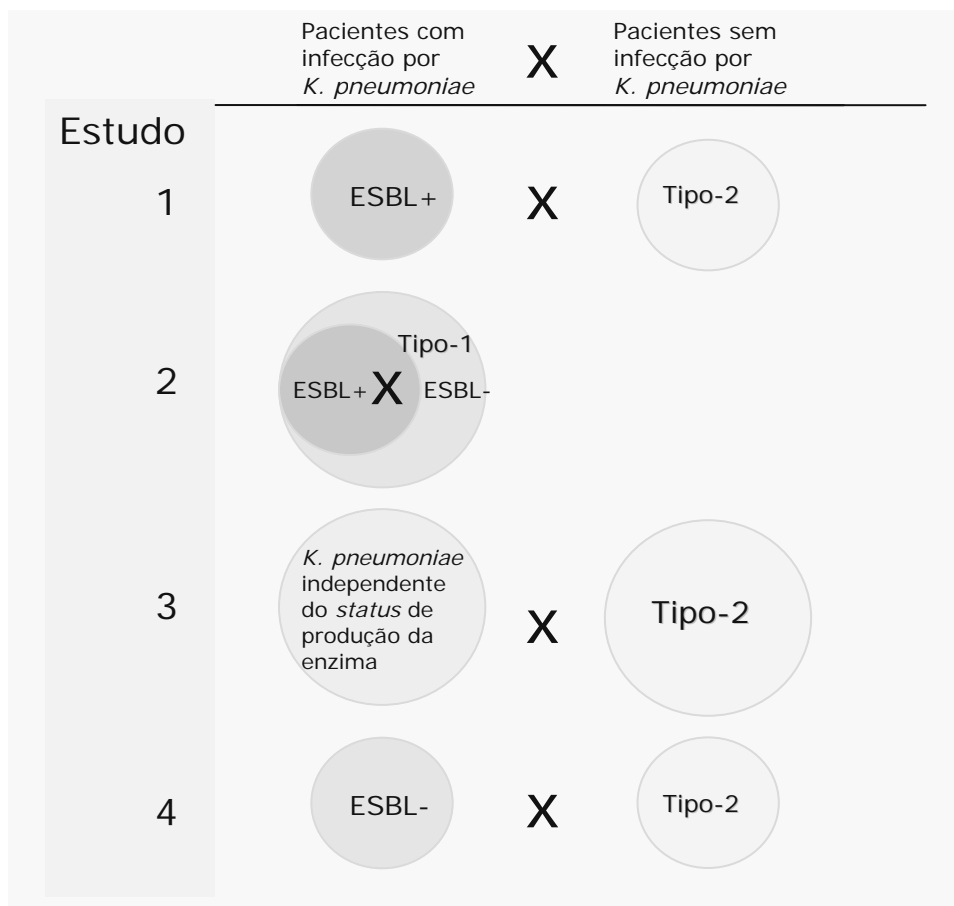
O presente estudo foi delineado a partir do interesse particular em verificar como a seleção do grupo controle influencia no reconhecimento de fatores de risco para infecções hospitalares endêmicas por *K. pneumoniae* produtora de ESBL e sua associação com infecção do trato respiratório e sepse.

Materiais e métodos

Delineamento do estudo

A partir de culturas clínicas positivas para *K. pneumoniae*, quatro estudos de case-controle observacionais paralelos foram realizados com as combinações de três definições de pacientes-caso e dois tipos de grupo controle. Até 48 horas depois da detecção de uma cultura positiva nos laboratórios dos hospitais e da identificação do respectivo paciente, foi realizada revisão do prontuário médico e a aplicação de um questionário abordando aspectos demográficos e clínicos dos pacientes, e, imediatamente após, a mesma conduta foi tomada em relação a outro paciente do mesmo hospital e unidade, sem cultura positiva para *K. pneumoniae* naquele momento. Comunicação com o médico assistente foi também realizada quando necessária com a finalidade de completar minuciosamente os dados delineados para o estudo. Deste modo, os fatores de risco potenciais foram coletados prospectivamente. Este pareamento 1–1 produziu as primeiras subpopulações de pacientes do trabalho (Estudo 3). Somente depois da coleta de todos os dados clínicos de todos os pacientes, os testes de detecção da produção de ESBL foram realizados, produzindo duas novas categorias de pacientes de acordo com a detecção da produção da enzima. Estes conjuntos de pacientes foram analisados em uma abordagem que permitiu que os mesmos pacientes-caso fossem comparados com dois diferentes grupos controle em dois dos estudos realizados como pode ser observado na figura abaixo.

FIGURA. Delineamento: casos e controles dos 4 estudos de caso-controle paralelos



ESBL: β -lactamase de espectro estendido; ESBL+: amostra produtora de ESBL; ESBL-: amostra não produtora de ESBL; Tipo-1: grupo controle Tipo1 (pacientes infectados pela forma susceptível do microrganismo); Tipo-2: grupo controle Tipo-2 (pacientes dentre os quais os pacientes caso se originaram a partir da mesma população fonte).

Ambiente

O estudo foi realizado em três hospitais de ensino, de grande porte e de atendimento de nível terciário da cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil, envolvendo aproximadamente 3.450 leitos. O estudo foi aprovado pelas Comissões de Ética e Pesquisa das instituições.

Microbiologia

Todas amostras consecutivas de *K. pneumoniae*, exceto repetições, correspondendo a um paciente adulto único, entre 01 de maio de 1999 e 30 de novembro do mesmo ano, obtidas a partir de qualquer espécime clínico da rotina de atendimento da população estudada foi submetida ao teste de susceptibilidade e critérios interpretativos do teste fenotípico confirmatório padrão do NCCLS usando discos de ceftazidima e cefotaxima sozinhos e em combinação com ácido clavulânico (59;263). Todas as amostras foram processadas para o teste de produção de ESBL em um dos dois laboratórios de microbiologia de referência do estudo.

Definição de caso

Pacientes-caso foram definidos como aqueles com infecção hospitalar causada por *K. pneumoniae* no estudo 3. Após a detecção da produção de ESBL por estas amostras, estes pacientes foram estratificados em pacientes com amostras produtoras de ESBL (pacientes-caso dos estudos 1 e 2) e pacientes com amostras não produtoras de ESBL (pacientes-caso do estudo 4). Adicionalmente, infecção verdadeira foi considerada através da utilização dos critérios de infecção do *Centers for Disease Control and Prevention's* (CDC) (286). Nos casos de sepse, as definições clínicas padrão (287) foram também usadas. Infecção hospitalar foi definida como se segue: infecção que ocorreu após 48 horas da admissão no hospital; infecção que ocorreu depois de 48 horas da admissão no hospital, para pacientes que estiveram hospitalizados no período compreendido entre duas semanas prévias à admissão; e infecção que ocorreu 48 horas após a admissão no hospital, para pacientes transferidos de outra instituição de saúde.

Definição de grupo controle

Dois diferentes grupos controle entraram no estudo: pacientes com infecção hospitalar causada pela forma susceptível do microrganismo (tipo 1), e pacientes dentre os quais os pacientes-caso foram obtidos a partir da mesma população fonte que os pacientes-caso (tipo 2). Pacientes-caso do estudo 4 foram pacientes do grupo controle tipo 1 no estudo 2.

Fatores de risco investigados

Fatores de risco potenciais para infecção hospitalar por *K. pneumoniae* e para infecção hospitalar por *K. pneumoniae* produtora de ESBL incluíram idade, gênero, hospital, unidade hospitalar (incluindo permanência em unidade de tratamento intensivo [UTI]), tempo de risco (total de dias de hospitalização), espécime clínico (sangue, secreções respiratórias, de cateter, e de sítio cirúrgico, urina, outra), doença infecciosa causada por *K. pneumoniae*, diagnóstico principal e outras condições clínicas. O intervalo de tempo compreendido entre a hospitalização e o isolamento da amostra de *K. pneumoniae*, aqui denominado dias de hospitalização prévios ao isolamento de *K. pneumoniae*, foi também investigado no estudo 2. As seguintes síndromes infecciosas causadas por *K. pneumoniae* foram consideradas: sepse, infecção do trato respiratório baixo incluindo pneumonia e traqueobronquite purulenta, infecção do trato urinário, infecção intraabdominal e infecção de sítio cirúrgico. As outras síndromes como infecção de sítio de inserção de cateter e infecção do sistema nervosa central foram incluídas na mesma categoria. Tempo de risco foi estudado como uma variável binária para o total de dias de hospitalização (menor ou igual e maior do que quatro semanas). No estudo 2, o período em dias de hospitalização prévios ao isolamento de *K. pneumoniae*, foi comparado.

Procedimentos invasivos como uso de cateter venoso central, cateteres urinários, tubo traqueal e ventilação mecânica (todos por mais do que 24 horas);

nutrição parenteral total na semana prévia; diálise, cirurgia ou trauma dentro dos 30 dias prévios da hospitalização foram também registrados. Todos, exceto o primeiro foram agrupados como outro procedimento.

As seguintes condições de imunossupressão foram também documentadas: malignidade, diabetes mellitus, neutropenia, infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), uso de agentes imunossupressores nos 30 dias prévios, história de transplante de órgão e quimioterapia recente. Neutropenia foi definida como uma contagem absoluta de neutrófilos menor do que 500 mm³. Uso de corticosteróide foi definido como administração da dose igual ou maior do que 20 mg por dia de prednisona ou equivalente, por um tempo mínimo de duas semanas prévias.

Aspectos de gravidade de doença foram acessados pela comparação das seguintes variáveis: permanência em UTI, sepse, doenças associadas e condições imunossupressoras (68) em todos os grupos de pacientes dos 4 estudos. No final da hospitalização, o desfecho clínico, recuperação ou óbito, foi também registrado para cada paciente.

Todos os antibióticos recebidos pelos pacientes nos 30 dias prévios foram documentados, exceto os 3 dias prévios ao isolamento da amostra para pacientes com infecção pelo patógeno do estudo ou prévios à coleta dos dados para os pacientes do grupo controle tipo 2. Os antibióticos registrados foram: cefalosporinas, aztreonam, imipeném, outros β -lactâmicos e combinações β -lactâmico/inibidor de β -lactamase, aminoglicosídeos, clindamicina, cloranfenicol, quinolonas, trimetoprim-sulfamethoxazol, macrolídeos, tetraciclina, metronidazol e vancomicina.

Análise estatística

Todas as análises estatísticas foram realizadas usando o programa SPSS, versão 11.0. Foi utilizada a técnica de Regressão Logística Condicional para os dados pareados através de uma modificação do comando do modelo de Riscos

Proporcionais, ou seja, do modelo de Regressão de Cox da Análise de Sobrevida (288). Foram realizadas análises bivariadas separadamente para cada uma das variáveis versus a resposta. Razão de chances (RC) e intervalo de confiança de 95% (IC95%) foram obtidos para as variáveis binárias (o limite do valor de P para incluir a variável na análise multivariada foi $<0,25$); teste do χ^2 , para as variáveis categóricas; e o teste t de Student para variáveis contínuas. Foi conduzido o modelo de Regressão Logística para análise multivariada usando o método Condicional para os três estudos de caso-controle pareados 1, 3 e 4, e o método de Regressão Logística Binário tradicional no estudo 2. Foi utilizado o processo de eliminação retrógrada. Os fatores de risco foram testados para confundimento e colinearidade. Variáveis de confundimento foram excluídas nos modelos multivariados se a inclusão da covariável alterasse o coeficiente de qualquer variável estatisticamente significativa no modelo de Regressão Logística por mais do que 10%. A permanência no hospital (tempo de risco) foi controlada através da sua inclusão como uma variável no modelo de Regressão Logística (69). Todos os testes foram bilaterais, e os valores de P menores ou iguais a 0,05 foram considerados significantes no modelo multivariado.

RESULTADOS

Foram obtidas 186 amostras de *K. pneumoniae* no presente estudo. Os pacientes correspondentes a estas amostras e seu grupo controle tipo 2, pareados 1-1, foram incluídos no estudo 3 totalizando 372 pacientes. A prevalência de *K. pneumoniae* produtora de ESBL como patógeno de infecção hospitalar foi de 61,3%. Este parâmetro permitiu que os pacientes-caso do estudo 3 fossem estratificados em pacientes-caso para os estudos 1 e 2 (114 pacientes infectados por *K. pneumoniae* produtora de ESBL) e pacientes-caso para o estudo 4 (72 pacientes infectados por *K. pneumoniae* não produtora de ESBL). Os pacientes-caso dos estudos 1, 3 e 4 foram comparados com o grupo controle tipo 2, com pareamento 1-1. O estudo 2 comparou 114 pacientes infectados por *K. pneumoniae* produtora de ESBL a 72 pacientes infectados por *K. pneumoniae* não produtora de ESBL.

Os pacientes-caso e o grupo controle foram homogêneos em cada estudo quando os dados demográficos e as outras variáveis descritas na seção Materiais e métodos foram comparadas, com exceção dos fatores de risco identificados e descritos abaixo. Os resultados da análise de fator de risco multivariada dos estudos são apresentadas nas Tabelas 1 a 4. Para efeitos de concisão, somente os dados da análise de regressão logística dos 4 estudos são apresentadas na seção Resultados.

Tempo de risco foi identificado como fator de risco em todos os quatro estudos, com diferentes magnitudes de RC. A média de hospitalização em dias previamente ao isolamento de *K. pneumoniae* foi de $13,24 \pm 17,39$ e $29,80 \pm 28,01$ ($P < 0,001$) para amostras não produtoras e amostras produtoras de ESBL respectivamente (estudo 2). Cateter venoso central foi identificado nos estudos 1, 2 e 3; outro procedimento foi identificado no estudo 1. Uso prévio de antibiótico foi identificado como fator de risco nos estudos 1 e 3.

Tabela 1. Estudo 1. Análise multivariada^a de fatores de risco para infecção hospitalar por *Klebsiella pneumoniae* produtora de ESBL (casos) versus o grupo controle tipo-2^b.

Fator de risco	RC	(IC95%)	P
Idade	1,01	(0,98-1,04)	0,461
Tempo de risco	7,92	(3,22-19,46)	<0,001
Antibiótico prévio	3,36	(1,38-8,22)	0,008
Cateter venoso central	5,80	(1,76-19,14)	0,004
Outro procedimento invasivo	4,24	(1,20-15,00)	0,025
Condição imunossupressora	1,08	(0,47-2,50)	0,862

^a Regressão Logística Condicional; ^b pacientes dentre os quais os pacientes caso se originaram a partir da mesma população fonte

Tabela 2. Estudo 2. Análise multivariada^a de fatores de risco para infecção hospitalar por *Klebsiella pneumoniae* produtora de ESBL (casos) versus o grupo controle tipo-1^b.

Fator de risco	RC	(IC95%)	P
Idade	0,99	(0,97-1,01)	0,339
Tempo de risco	5,18	(2,55-10,50)	<0,001
Antibiótico prévio	1,05	(0,51-2,20)	0,888
Cateter venoso central	2,64	(1,01-6,93)	0,048
Outro procedimento invasivo	1,55	(0,56-4,28)	0,400
Condição imunossupressora	0,74	(0,38-1,46)	0,389
ITRB ^c ou sepse por <i>K. pneumoniae</i>	1,13	(0,56-2,27)	0,726

^a Regressão Logística; ^b pacientes infectados pela forma susceptível do microrganismo;

^c infecção do trato respiratório baixo

Tabela 3. Estudo 3. Análise multivariada^a de fatores de risco para infecção hospitalar por *Klebsiella pneumoniae*^b versus o grupo controle tipo-2^c.

Fator de risco	RC	(IC95%)	P
Idade	1,01	(1,00-1,03)	0,141
Tempo de risco	4,51	(2,59-7,85)	<0,001
Antibiótico prévio	2,39	(1,29-4,42)	0,006
Cateter venoso central	2,37	(1,13-4,97)	0,022
Outro procedimento invasivo	1,72	(0,79-3,77)	0,173
Condição imunossupressora	1,46	(0,84-2,52)	0,176

^a Regressão Logística Condicional; ^b todos os casos, independentemente da condição de produção de ESBL; ^c pacientes dentre os quais os pacientes caso se originaram a partir da mesma população fonte.

Table 4. Estudo 4. Análise multivariada^a de fatores de risco para infecção hospitalar por *Klebsiella pneumoniae* não produtora de ESBL (casos) versus o grupo controle tipo-2^b.

Fator de risco	RC	(IC95%)	P
Idade	1,01	(0,99-1,03)	0,518
Tempo de risco	2,87	(1,24-6,61)	0,013
Antibiótico prévio	1,44	(0,56-2,20)	0,447
Cateter venoso central	1,17	(0,40-3,43)	0,781
Outro procedimento invasivo	0,94	(0,32-2,80)	0,910
Condição imunossupressora	2,05	(0,92-4,56)	0,078

^a Regressão Logística Condicional; ^b pacientes dentre os quais os pacientes caso se originaram a partir da mesma população fonte.

DISCUSSÃO

A principal questão de pesquisa do presente estudo foi avaliar a influência da seleção do grupo controle na identificação de fatores de risco para infecção hospitalar causada por *K. pneumoniae* produtora de ESBL e sua possível associação com infecção do trato respiratório baixo e sepse. Considerando sua alta prevalência, morbidade, mortalidade e elevados custos como infecções hospitalares (289), estas duas síndromes foram avaliadas. Até onde temos conhecimento, o presente trabalho é o primeiro estudo de caso-controle para fatores de risco para infecções por *K. pneumoniae* produtora de ESBL envolvendo toda a gama de infecções hospitalares endêmicas mais frequentemente causada por este patógeno.

O uso de delineamento de caso-controle tem gerado bastante controvérsia entre epidemiologistas por muito tempo (290). Além dessas controvérsias clássicas, vieses específicos relacionados a estudos envolvendo patógenos resistentes a antibióticos têm sido levantados, principalmente ligados à seleção de pacientes do grupo controle. Com a finalidade de diminuir esses problemas metodológicos, refinamento da seleção do grupo controle tem sido recentemente proposto (70). O grupo controle mais apropriado é uma amostra randômica de toda a população hospitalizada, que representa a população fonte a partir da qual os pacientes infectados tanto pela forma susceptível quanto pela forma resistente do patógeno são derivadas (291). Adicionalmente, os membros do grupo controle deveriam ser selecionados independentemente da sua condição de exposição (292). No presente estudo, tal refinamento foi obtido. Pacientes-controle não tiveram cultura clínica positiva no momento da coleta dos dados do estudo. Este fato não garante que os pacientes-controle não estavam colonizados pelo patógeno em estudo porque não foram realizadas culturas de vigilância. Mais ainda, os pacientes-controle podem ter desenvolvido infecção por *K. pneumoniae* posteriormente àquele momento. Estes fatos garantem maior probabilidade de que o grupo controle tenha sido selecionado independentemente do seu *status* de

exposição.

Os estudos 1 e 2 abordaram estas questões mais diretamente. Com a intenção de especificar mais detalhadamente este ponto, o estudo 3, e principalmente, o estudo 4, que analisou os fatores de risco para os pacientes com infecção por amostras não produtoras de ESBL, foram realizados para observar qualquer fator de risco coincidente ou discordante, para as formas susceptíveis ou resistentes do patógeno. O tempo de risco foi coincidente em todos os quatro estudos com diferentes magnitudes das razões de chances obtidas, com valores decrescentes do estudo 1 para o estudo 4 mostrando que não somente para a forma resistente, mas também para a forma susceptível do patógeno, hospitalização prolongada foi associada à infecção hospitalar. Infecções por *K. pneumoniae* produtora de ESBL ocorreram depois de aproximadamente um mês de hospitalização, enquanto que as infecções pelos microrganismos susceptíveis foram observadas na metade deste período. Resultado semelhante a este foi demonstrado em outro estudo (37). Outros fatores de risco como procedimentos invasivos e uso prévio de antibióticos, condições extensamente identificadas para qualquer bactéria resistente (37;49), foram também reconhecidas a partir destes dados. Para todos os fatores de risco identificados, associações mais fortes foram observadas no estudo 1, no qual pacientes infectados por *K. pneumoniae* produtora de ESBL foram comparados com o grupo controle tipo-2. Entretanto, um aspecto do estudo, uso prévio de antibióticos, contrastou com o racional discutido em estudos que analisaram a influência do tipo de grupo controle em estudos de caso-controle. Há vises específicos que podem ocorrer em estudos de caso-controle que analisam fatores de risco para microrganismos resistentes a antibióticos (67-70). Se pacientes a partir dos quais são isoladas bactérias susceptíveis a antibióticos forem utilizados como grupo controle de pacientes com bactérias resistentes a antibióticos, a inferência pode ser que uma amostra bacteriana isolada de um dado paciente emergiu de uma população da mesma bactéria, previamente susceptível naquele indivíduo. Mas na

maioria das vezes, o cenário mais provável é a aquisição de uma amostra resistente. Assim, pacientes infectados com amostras susceptíveis representam somente uma porção da população fonte da qual os pacientes infectados com amostras resistentes surgiram. Quando se utilizam pacientes infectados com amostras susceptíveis a antibióticos como controles, a estimativa do efeito do antibiótico como fator de risco (ou razão de chances) pode conter viés, porque estes pacientes têm menor probabilidade que os pacientes infectados com amostras resistentes de terem sido expostos a um antibiótico ativo contra a amostra susceptível. Nesta situação, uma variável identificada como fator de risco pode, na verdade, proteger contra o isolamento de microrganismo susceptível mais do que conferir risco verdadeiro para o isolamento de microrganismo resistente. Artigos de líderes no assunto têm enfatizado que este delineamento superestima a contribuição do antibiótico definidor de resistência no desenvolvimento de resistência (67-69). Adicionalmente, alguns antibióticos podem ser falsamente implicados como fatores de risco potenciais (70).

De modo contrário a outros (66;69) o uso do controle tipo-1 subestimou a magnitude da razão de chances dos fatores de risco identificados no presente estudo. Razões para isto devem ser mais detalhadamente examinadas. Talvez outras questões metodológicas e outros atributos específicos do patógeno possam explicar este diferente resultado. Quando o controle tipo-1 potencialmente subótimo foi utilizado, até mesmo o uso prévio de antibiótico não pôde ser identificado como um fator de risco para infecção hospitalar por *K. pneumoniae* produtora de ESBL. Provavelmente, os dados coletados prospectivamente do presente estudo, que permitiram classificar mais acuradamente as síndromes infecciosas abriu um espaço não explorado previamente por outros trabalhos e outras questões que não somente as metodológicas têm levado a vieses na identificação de fatores de risco. Pressão antibiótica e resistência bacteriana não são os únicos atributos que um patógeno necessita para colonizar ou para infectar pacientes. Interações patógeno-hospedeiro podem ter um papel na

identificação ou na magnitude dos fatores de risco. Fatores de colonização ou adesinas de *K. pneumoniae* ao intestino humano foram encontrados na maioria das amostras produtoras de CAZ-5/SHV-4 (3). *K. pneumoniae* produtora de ESBL, mais as produtoras de TEM do que as de SHV, por causa da sua resistência ao soro aumentada, tem maior potencial patogênico do que as amostras não produtoras de ESBL (5). Assim, diferenças encontradas em estudos publicados podem se dever em parte a esta razão potencial: falha em distinguir colonização de infecção verdadeira (49;70). Ausência de doença subjacente foi associada a enzima CTX-M-10, mas não a produção das enzimas SHV, TEM, CTX-M-9 ou CTX-M-14 em um estudo (293) mostrando que condições médicas específicas dos pacientes podem estar relacionadas a ESBLs específicas, outra causa de resultados divergentes. Dos estudos listados na Tabela 5, exceto um (262) e o presente trabalho, pacientes colonizados e infectados são estudados ao mesmo tempo sem distinção. Outra possível explicação para as diferenças entre os estudos é a prevalência de diferentes clones de microrganismos produtores de ESBL entre diferentes hospitais ou regiões, e mesmo dentro do mesmo hospital (293). Este fator poderia potencialmente responder por diferenças na magnitude da pressão antibiótica seletiva. Também, a resistência fenotípica detectada aqui e na maioria de outros estudos pode não refletir os múltiplos mecanismos de resistência pelos quais a resistência aos antibióticos pode emergir.

A seleção de estudos apresentada na Tabela 5 foi feita a partir de princípios e recomendações metodológicas que abordam fatores de risco para patógenos resistentes a antibióticos (68). Os estudos que avaliaram *K. pneumoniae* e outros microrganismos produtores de ESBL como *E. coli* ao mesmo tempo não foram incluídos na tentativa de evitar confusões potenciais relacionadas às muitas diferenças entre estes patógenos (6; 11; 177; 189). A visão geral sumarizada nesta Tabela ilustra que há muitas diferenças nos estudos de caso-controle envolvendo *K. pneumoniae* produtora de ESBL. Essas diferenças contribuem para os aparentes resultados contraditórios. Provavelmente algumas

delas podem ser explicadas por diferenças nos ambientes de estudo, nas questões de pesquisa e nos atributos dos patógenos.

Apesar do presente estudo não ter acessado o papel da transmissão paciente a paciente, transferência horizontal e pressão de colonização tem sido demonstrados como elementos importantes (294). Entretanto, é provável que não avaliar a transmissão paciente a paciente levaria a viés direcionado a hipótese nula—ou seja, entre pacientes que adquirem o microrganismo de outro paciente, a importância dos antibióticos como um componente causal possa ser diminuída, porque transmissão paciente a paciente é o principal fator causal segundo alguns autores (69). Por outro lado, um estudo epidemiológico de *K. pneumoniae* produtora de ESBL endêmica, neste particular semelhante ao presente trabalho, detectou que cada microrganismo isolado pertencia a um genótipo diferente, mostrando que transmissão cruzada não foi responsável pelas amostras de *K. pneumoniae* produtoras de ESBL neste ambiente (295). Este estudo concluiu que os seus resultados foram diferentes de outros que abordaram situações de surtos (295).

Refinamento de análise de fatores de risco para infecções hospitalares por *Klebsiella pneumoniae* produtora de β -lactamase de espectro estendido: seleção apropriada do grupo controle é suficiente?

Tabela 5. Estudos de caso-controle de *Klebsiella pneumoniae* produtora de ESBL selecionados pela metodologia (68; 70).

Estudo	Ambiente	Objetivo	Q	Caso	Teste	n	MR1	n	MR2	MR3	Fator de risco ou protetor	MV OR	(95%CI)	P
(261)	Surto de colonização recorrente em UTI, Dijon, França, 1994-1996	Transmissão Colonização/infecção	Q1.1	D1	T1	51	Tipo 2	51	Sim	Sim	Duração da intubação	1,19	ND	0,03
					T5						Inibidor de β -lactamase	0,85	ND	0,04
											OI- β -lactâmicos restritos	0,7	ND	0,003
(262)	Bacteremias C&H, 7 países, 1996-1997	CIP-R Definições do CDC CIP-R/ Kp-ESBL	Q1.3	D3	T4	25	Tipo 1	427	Não	Sim	Quinolona	ND	ND	0,0065
					T5						Amostra produtora de ESBL	ND	ND	0,012
											Centro Turco 18% CIP-R e ESBL-Kp	ND	ND	0,011
(9)	Surto em UTI pediátrica, Madrid, Espanha, 1997-1998	Colonização/infecção ESBL + AG-R	Q1.1	D1	T2	10	Tipo 2	32	Sim	Sim	Idade <12 semanas	12,6	(1,9- 94,9)	ND
											Dias de hospitalização	ND	ND	0,014
											Dias tubo nasogástrico	ND	ND	0,008
											Dias com cateter IV	ND	ND	0,020
											AG prévio	10,2	(1,5- 109)	ND
											CIII prévia	17,8	(1,8-411)	ND
	CIII e AG prévios	21,6	(2,8-240)	ND										

(50)	Amostras de Kp-ESBL endêmicas C&H, Taiwan, 2001	Colonização/infecção Definições do CDC	Q1.1	D1, D3, D4	T4	43	Tipo 1	86	Sim	Não	Ceftazidima prévia	13,40	(1,21-148,85)	0,035
											Traqueostomia	5,13	(1,24-21,1)	0,023
O presente estudo	Infecções hospitalares endêmicas por Kp-ESBL, Porto Alegre, Brasil, 1999	Infecções, definições do CDC e critérios clínicos	Q1.3	D3	T3				Sim	Sim				
				Kp-ESBL		114	Tipo 2	114			Tempo de risco	7,92	(3,22-19,46)	<0,001
											Cateter venoso central	5,80	(1,76-19,14)	0,004
											Outro proced. invasivo	4,24	(1,20-15,00)	0,025
											Antibiótico prévio	3,36	(1,38-8,22)	0,008
				Kp-ESBL		114	Tipo 1	72			Tempo de risco	5,18	(2,55-10,50)	<0,001
											Cateter venoso central	2,64	(1,01-6,93)	0,048
				Kp		186	Tipo 2	186			Tempo de risco	4,51	(2,59-7,85)	<0,001
											Antibiótico prévio	2,39	(1,29-4,42)	0,006
											Cateter venoso central	2,37	(1,13-4,97)	0,022
				Kp não ESBL		72	Tipo 2	72			Tempo de risco	2,87	(1,24-6,61)	0,013

Q – questão da pesquisa: Q1.1 – fatores de risco para aquisição de patógeno resistente a antibiótico entre pacientes hospitalizados; Q1.2 – fatores de risco para colonização por patógeno resistente entre pacientes hospitalizados; Q1.3 – fatores de risco para infecção por patógeno resistente entre pacientes hospitalizados; Q2 – fatores de risco para emergência de resistência em patógeno entre pacientes previamente infectados ou colonizados por patógeno susceptível; MR1 – pacientes drenados da mesma população que os pacientes caso (grupo controle Tipo 2); Tipo 1 – grupo controle tipo 1: pacientes com a forma susceptível do microorganismo; MR2 – ajuste por tempo de risco; MR3 – ajuste por gravidade da doença; RC MV – razão de chances multivariada, IC95% – intervalo de confiança de 95%; D1 – pacientes com qualquer espécime clínico exibindo o fenótipo de resistência sob estudo; D2 – pacientes com amostras significantes inequívocas; D3 – pacientes com infecção definida por critérios clínicos; D4 – pacientes com colonização; Teste – testes de ESBL: T1: teste de sinergia de dupla difusão (Legrand, 1989); T2: teste de sinergia de dupla difusão (Jarlier, 1988); T3: teste fenotípico confirmatório de combinação em disco do NCCLS (teste de adição) (1999); T4: concentração inibitória mínima fenotípica confirmatória do NCCLS (2001); T5: técnicas moleculares; ND – não descrito; OI- β -lactâmicos – oximino- β -lactâmicos; C&H – comunitário & hospitalar; CIP-R: resistente à ciprofloxacina; Kp-ESBL – *K. pneumoniae* produtora de ESBL; AG-R – resistente aminoglicosídeos; CIII – cefalosporinas de

CONCLUSÃO

Não foi detectada associação entre *K. pneumoniae* produtora de ESBL e pacientes com sepse e infecção do trato respiratório baixo quando comparado a outros sítios. A seleção dos pacientes-controle a partir do controle tipo-1, potencialmente inferior em qualidade, subestimou a magnitude da razão de chances dos fatores analisados para infecções por *K. pneumoniae* resistente. Este modelo também não pôde identificar uso prévio de antibiótico e outros procedimentos invasivos que não a presença de cateter venoso central como fatores de risco para infecções hospitalares por *K. pneumoniae* produtora de ESBL. Estes achados contrastam com estudos prévios e com a abordagem metodológica recentemente proposta para estudos envolvendo uso de antibióticos como fator de risco para patógenos resistentes em estudos de caso-controle. Como resultados conflitantes na literatura continuam a ocorrer mesmo quando aspectos metodológicos são refinados, melhora é ainda necessária para a identificação de fatores de risco válidos a alvos apropriados para intervenções visando o controle da emergência crescente da resistência e para diminuir a prevalência e os níveis endêmicos de infecções causadas por *K. pneumoniae* produtora de ESBL.

III – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) Louriá DB, Carbon C. Emerging and re-emerging pathogens and diseases. In: Armstrong D, Cohen J, editors. Infectious Diseases. 1st ed. London: MOSBY Harcourt Publishers Ltd; 1999. p. 5.1-5.12.
- (2) Hanson ND, Thomson KS, Moland ES, Sanders CC, Berthold G, Penn RG. Molecular characterization of a multiply resistant *Klebsiella pneumoniae* encoding ESBLs and a plasmid-mediated AmpC. J Antimicrob Chemother 1999; 44: 377-80.
- (3) Di Martino P, Livrelli V, Sirot D, Joly B, Darfeuille-Michaud A. A new fimbrial antigen harbored by CAZ-5/SHV-4-producing *Klebsiella pneumoniae* strains involved in nosocomial infections. Infect Immun 1996 Jun; 64(6): 2266-73.
- (4) Di Martino P, Sirot D, Joly B, Rich C, Darfeuille-Michaud A. Relationship between adhesion to intestinal Caco-2 cells and multidrug resistance in *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates. J Clin Microbiol 1997 Jun; 35(6): 1499-503.
- (5) Sahly H, Aucken H, Benedi VJ, Forestier C, Fusing V, Hansen DS, et al. Increased Serum Resistance in *Klebsiella pneumoniae* Strains Producing Extended-Spectrum β -Lactamases. Antimicrob Agents Chemother 2004 Sep 1; 48(9): 3477-82.
- (6) Philippon A, Arlet G, Lagrange PH. Origin and impact of plasmid-mediated extended-spectrum beta-lactamases. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1994; 13 Suppl 1: S17-S29.
- (7) Arlet G, Sanson-le Pors MJ, Rouveau M, Fournier G, Marie O, Schlemmer B, et al. Outbreak of nosocomial infections due to *Klebsiella pneumoniae* producing SHV-4 beta-lactamase. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1990 Nov; 9(11): 797-803.
- (8) Arredondo-García JL, Díaz-Ramos R, Solorzano-Santos F, Sosa-González IE, Beltrán-Zuniga M. Neonatal septicaemia due to *K. pneumoniae*. Septicaemia due to *Klebsiella pneumoniae* in newborn infants. Nosocomial outbreak in an intensive care unit. Rev Latinoam Microbiol 1992 Jan; 34(1): 11-6.
- (9) Asensio A, Oliver A, Gonzalez-Diego P, Baquero F, Perez-Diaz JC, Ros P, et al. Outbreak of a multiresistant *Klebsiella pneumoniae* strain in an intensive care unit: antibiotic use as risk factor for colonization and infection. Clin Infect Dis 2000 Jan; 30(1): 55-60.
- (10) Banerjee M, Sahu K, Bhattacharya S, Adhya S, Bhowmick P, Chakraborty P. Outbreak of neonatal septicemia with multidrug resistant *Klebsiella pneumoniae*. Indian J Pediatr 1993 Jan; 60(1): 25-7.

Refinamento de análise de fatores de risco para infecções hospitalares por *Klebsiella pneumoniae* produtora de β -lactamase de espectro estendido: seleção apropriada do grupo controle é suficiente?

- (11) Bauernfeind A, Rosenthal E, Eberlein E, Holley M, Schweighart S. Spread of *Klebsiella pneumoniae* producing SHV-5 β -lactamase among hospitalized patients. *Infection* 1993 Jan;21(1):18-22.
- (12) Branger C, Lesimple AL, Bruneau B, Berry P, Lambert-Zechovsky N. Long-term investigation of the clonal dissemination of *Klebsiella pneumoniae* isolates producing extended-spectrum beta-lactamases in a university hospital. *J Med Microbiol* 1998 Mar;47(3):201-9.
- (13) Cetre JC, Salord H, Vanhems P, Srinivasan A, Perl TM, Schaffner W, et al. Outbreaks of Infection Associated with Bronchoscopes. *N Engl J Med* 2003 May 15;348(20):2039-40.
- (14) Coovadia YM, Johnson AP, Bhana RH, Hutchinson GR, George RC, Hafferjee IE. Multiresistant *Klebsiella pneumoniae* in a neonatal nursery: the importance of maintenance of infection control policies and procedures in the prevention of outbreaks. *J Hosp Infect* 1992 Nov;22(3):197-205.
- (15) Courtney MA, Miller JR, Summersgill J, Melo J, Raff MJ, Streips UN. R-factor responsible for an outbreak of multiply antibiotic-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 1980 Dec;18(6):926-9.
- (16) De Champs C, Rouby D, Guelon D, Sirot J, Sirot D, Beytout D, et al. A case-control study of an outbreak of infections caused by *Klebsiella pneumoniae* strains producing CTX-1 (TEM-3) β -lactamase. *J Hosp Infect* 1991 May;18(1):5-13.
- (17) Deb M, Bhujwala RA, Shriniwas, Singh M. *Klebsiella pneumoniae* as the possible cause of an outbreak of diarrhoea in a neonatal special care unit. *Indian J Med Res* 1980 Mar;71:359-62.
- (18) Facinelli B, Calegari L. A hospital epidemic caused by a multiple antibiotic resistant *Klebsiella pneumoniae*: implication of a conjugative R plasmid. *Boll Ist Sieroter Milan* 1984 May 31;63(2):111-7.
- (19) Flidel-Rimon O, Leibovitz E, Juster-Reicher A, Amitay M, Miskin A, Barak Y, et al. An outbreak of antibiotic multiresistant *Klebsiella* at the Neonatal Intensive Care Unit, Kaplan Hospital, Rehovot, Israel, November 1991 to April 1992. *Am J Perinatol* 1996 Feb;13(2):99-102.
- (20) French GL, Shannon KP, Simmons N. Hospital outbreak of *Klebsiella pneumoniae* resistant to broad-spectrum cephalosporins and β -lactam- β -lactamase inhibitor combinations by hyperproduction of SHV-5 β -lactamase. *J Clin Microbiol* 1996 Feb;34(2):358-63.
- (21) Gaillot O, Maruejols C, Abachin E, Lecuru F, Arlet G, Simonet M, et al. Nosocomial outbreak of *Klebsiella pneumoniae* producing SHV-5 extended-spectrum beta-lactamase, originating from a contaminated ultrasonography coupling gel. *J Clin Microbiol* 1998 May;36(5):1357-60.
- (22) Gazouli M, Kaufmann ME, Tzelepi E, Dimopoulou H, Paniara O, Tzouveleki LS. Study of an outbreak of cefoxitin-resistant *Klebsiella pneumoniae* in a general hospital. *J Clin Microbiol* 1997 Feb;35(2):508-10.
- (23) Gerding DN, Buxton AE, Hughes RA, Cleary PP, Arbaczawski J, Stamm WE. Nosocomial multiply resistant *Klebsiella pneumoniae*: epidemiology of an

- Refinamento de análise de fatores de risco para infecções hospitalares por *Klebsiella pneumoniae* produtora de β -lactamase de espectro estendido: seleção apropriada do grupo controle é suficiente? outbreak of apparent index case origin. *Antimicrob Agents Chemother* 1979 Apr; 15(4):608-15.
- (24) Gniadkowski M, Palucha A, Grzesiowski P, Hryniewicz W. Outbreak of ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae* in a pediatric hospital in Warsaw, Poland: clonal spread of the TEM-47 extended- spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing strain and transfer of a plasmid carrying the SHV-5-like ESBL-encoding gene. *Antimicrob Agents Chemother* 1998 Dec; 42(12): 3079-85.
- (25) Goetz AM, Rihs JD, Chow JW, Singh N, Muder RR. An outbreak of infusion-related *Klebsiella pneumoniae* bacteremia in a liver transplantation unit. *Clin Infect Dis* 1995 Dec; 21(6): 1501-3.
- (26) Gonzalez-Vertiz A, Alcantar-Curiel D, Cuauhtli M, Daza C, Gayosso C, Solache G, et al. Multiresistant extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* causing an outbreak of nosocomial bloodstream infection. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2001 Nov; 22(11): 723-5.
- (27) Gorman LJ, Sanai L, Notman AW, Grant IS, Masterton RG. Cross infection in an intensive care unit by *Klebsiella pneumoniae* from ventilator condensate. *J Hosp Infect* 1993 Jan; 23(1): 27-34.
- (28) Gregersen N, Van Nierop W, Von Gottberg A, Duse A, Davies V, Cooper P. *Klebsiella pneumoniae* with extended spectrum beta-lactamase activity associated with a necrotizing enterocolitis outbreak. *Pediatr Infect Dis J* 1999 Nov; 18(11): 963-7.
- (29) Hobson RP, MacKenzie FM, Gould IM. An outbreak of multiply-resistant *Klebsiella pneumoniae* in the Grampian region of Scotland. *J Hosp Infect* 1996 Aug; 33(4): 249-62.
- (30) Johnson AP, Weinbren MJ, Ayling-Smith B, Du Bois SK, Amyes SG, George RC. Outbreak of infection in two UK hospitals caused by a strain of *Klebsiella pneumoniae* resistant to cefotaxime and ceftazidime. *J Hosp Infect* 1992 Feb; 20(2): 97-103.
- (31) Knight P, Cassady G. Control of infection due to *Klebsiella pneumoniae* in an intensive care nursery. *J Perinatol* 1990 Dec; 10(4): 357-60.
- (32) Markowitz SM, Veazey JM, Jr., Macrina FL, Mayhall CG, Lamb VA. Sequential outbreaks of infection due to *Klebsiella pneumoniae* in a neonatal intensive care unit: implication of a conjugative R plasmid. *J Infect Dis* 1980 Jul; 142(1): 106-12.
- (33) Meyer KS, Urban C, Eagan JA, Berger BJ, Rahal JJ. Nosocomial outbreak of *Klebsiella* infection resistant to late-generation cephalosporins. *Ann Intern Med* 1993 Sep 1; 119(5): 353-8.
- (34) Murphy SA, Lowe B, Maghenda JK, Apollo JG. An outbreak of intravenous cannulae associated nosocomial septicaemia due to multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *East Afr Med J* 1994 Apr; 71(4): 271-2.
- (35) Nouvellon M, Pons JL, Sirot D, Combe ML, Lemeland JF. Clonal outbreaks of extended-spectrum beta-lactamase-producing strains of *Klebsiella pneumoniae* demonstrated by antibiotic susceptibility testing, beta-

Refinamento de análise de fatores de risco para infecções hospitalares por *Klebsiella pneumoniae* produtora de β -lactamase de espectro estendido: seleção apropriada do grupo controle é suficiente?

- lactamase typing, and multilocus enzyme electrophoresis. *J Clin Microbiol* 1994 Oct; 32(10):2625-7.
- (36) Pena C, Pujol M, Ardanuy C, Ricart A, Pallares R, Linares J, et al. An outbreak of hospital-acquired *Klebsiella pneumoniae* bacteraemia, including strains producing extended-spectrum β -lactamase. *J Hosp Infect* 2001 Jan; 47(1):53-9.
- (37) Rebeck JA, Olsen KM, Fey PD, Langnas AN, Rupp ME. Characterization of an outbreak due to extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a pediatric intensive care unit transplant population. *Clin Infect Dis* 2000 Dec; 31(6):1368-72.
- (38) Reish O, Ashkenazi S, Naor N, Samra Z, Merlob P. An outbreak of multiresistant *Klebsiella* in a neonatal intensive care unit. *J Hosp Infect* 1993 Dec; 25(4):287-91.
- (39) Ross BS, Peter G, Dempsey JM, Oh W. *Klebsiella pneumoniae* nosocomial epidemic in an intensive care nursery due to contaminated intravenous fluid. *Am J Dis Child* 1977 Jun; 131(6):712.
- (40) Royle J, Halasz S, Eagles G, Gilbert G, Dalton D, Jelfs P, et al. Outbreak of extended spectrum beta lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* in a neonatal unit. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1999 Jan; 80(1):F64-F68.
- (41) Sadowski PL, Peterson BC, Gerding DN, Cleary PP. Physical characterization of ten R plasmids obtained from an outbreak of nosocomial *Klebsiella pneumoniae* infections. *Antimicrob Agents Chemother* 1979 Apr; 15(4):616-24.
- (42) Shannon K, Stapleton P, Xiang X, Johnson A, Beattie H, El Bakri F, et al. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* strains causing nosocomial outbreaks of infection in the United Kingdom. *J Clin Microbiol* 1998 Oct; 36(10):3105-10.
- (43) Traub WH, Schwarze I, Bauer D. Nosocomial outbreak of cross-infection due to multiple-antibiotic-resistant *Klebsiella pneumoniae*: characterization of the strain and antibiotic susceptibility studies. *Chemotherapy* 2000 Jan; 46(1):1-14.
- (44) Urban C, Meyer KS, Mariano N, Rahal JJ, Flamm R, Rasmussen BA, et al. Identification of TEM-26 beta-lactamase responsible for a major outbreak of ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 1994 Feb; 38(2):392-5.
- (45) van der Zwet WC, Parlevliet GA, Savelkoul PH, Stoof J, Kaiser AM, Koeleman JG, et al. Nosocomial outbreak of gentamicin-resistant *Klebsiella pneumoniae* in a neonatal intensive care unit controlled by a change in antibiotic policy. *J Hosp Infect* 1999 Aug; 42(4):295-302.
- (46) Gales AC, Bolmstrom A, Sampaio J, Jones RN, Sader HS. Antimicrobial Susceptibility of *Klebsiella pneumoniae* Producing Extended-Spectrum beta-lactamase (ESBL) Isolated in Hospitals in Brazil. *Braz J Infect Dis* 1997 Aug; 1(4):196-203.

Refinamento de análise de fatores de risco para infecções hospitalares por *Klebsiella pneumoniae* produtora de β -lactamase de espectro estendido: seleção apropriada do grupo controle é suficiente?

- (47) Jacoby GA, Han P. Detection of extended-spectrum beta-lactamases in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*. J Clin Microbiol 1996 Apr; 34(4): 908-11.
- (48) Jeong SH, Bae IK, Lee JH, Sohn SG, Kang GH, Jeon GJ, et al. Molecular Characterization of Extended-Spectrum Beta-Lactamases Produced by Clinical Isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* from a Korean Nationwide Survey. J Clin Microbiol 2004 Jul 1; 42(7):2902-6.
- (49) Lautenbach E, Patel JB, Bilker WB, Edelstein PH, Fishman NO. Extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: risk factors for infection and impact of resistance on outcomes. Clin Infect Dis 2001 Apr 15; 32(8): 1162-71.
- (50) Lin MF, Huang ML, Lai SH. Risk factors in the acquisition of extended-spectrum beta-lactamase *Klebsiella pneumoniae*: a case-control study in a district teaching hospital in Taiwan. J Hosp Infect 2003 Jan; 53(1):39-45.
- (51) Philippon A, Ben Redjeb S, Fournier G, Ben Hassen A. Epidemiology of extended spectrum β -lactamases. Infection 1989 Sep; 17(5): 347-54.
- (52) Quinteros M, Radice M, Gardella N, Rodriguez MM, Costa N, Korbenfeld D, et al. Extended-Spectrum {beta}-Lactamases in Enterobacteriaceae in Buenos Aires, Argentina, Public Hospitals. Antimicrob Agents Chemother 2003 Sep 1; 47(9):2864-7.
- (53) Sader HS, Gales AC, Pfaller MA, Mendes RE, Zoccoli C, Barth A, et al. Pathogen frequency and resistance patterns in Brazilian hospitals: summary of results from three years of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. Braz J Infect Dis 2001 Aug; 5(4): 200-14.
- (54) Vatopoulos AC, Philippon A, Tzouveleakis LS, Komninou Z, Legakis NJ. Prevalence of a transferable SHV-5 type beta-lactamase in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in Greece. J Antimicrob Chemother 1990 Nov; 26(5): 635-48.
- (55) Winokur PL, Canton R, Casellas JM, Legakis N. Variations in the prevalence of strains expressing an extended-spectrum β -lactamase phenotype and characterization of isolates from Europe, the Americas, and the Western Pacific region. Clin Infect Dis 2001 May 15; 32 Suppl 2: S94-103.
- (56) Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G, Philippon A. Extended broad-spectrum beta-lactamases conferring transferable resistance to newer beta-lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns. Rev Infect Dis 1988 Jul; 10(4): 867-78.
- (57) Legrand P, Fournier G, Bure A, Jarlier V, Nicolas MH, Decre D, et al. Detection of extended broad-spectrum beta-lactamases in Enterobacteriaceae in four French hospitals. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1989 Jun; 8(6): 527-9.
- (58) Cormican MG, Marshall SA, Jones RN. Detection of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing strains by the Etest ESBL screen 23. J Clin Microbiol 1996 Aug; 34(8): 1880-4.
- (59) NCCLS. National Committee for Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility testing: ninth informational

Refinamento de análise de fatores de risco para infecções hospitalares por *Klebsiella pneumoniae* produtora de β -lactamase de espectro estendido: seleção apropriada do grupo controle é suficiente?

supplement. 6th. 1999. Wayne. NCCLS document M100-S9.: Approved Standard M7-A4.

Ref Type: Serial (Book, Monograph)

- (60) Neu HC. Antimicrobial agents: role in the prevention and control of nosocomial infections. In: Wenzel RP, editor. Prevention and Control of nosocomial infections. Baltimore: Williams & Wilkins; 1993. p. 406-19.
- (61) Lucet JC, Decre D, Fichelle A, Joly-Guillou ML, Pernet M, Deblangy C, et al. Control of a prolonged outbreak of extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteriaceae in a university hospital. Clin Infect Dis 1999 Dec;29(6):1411-8.
- (62) Paterson DL, Yu VL. Extended-spectrum β -lactamases: a call for improved detection and control. Clin Infect Dis 1999 Dec;29(6):1419-22.
- (63) Pena C, Pujol M, Ardanuy C, Ricart A, Pallares R, Linares J, et al. Epidemiology and successful control of a large outbreak due to *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum β -lactamases. Antimicrob Agents Chemother 1998 Jan;42(1):53-8.
- (64) Podschun R, Ullmann U. *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. Clin Microbiol Rev 1998 Oct;11(4):589-603.
- (65) Jacoby GA. Epidemiology of extended-spectrum beta-lactamases [editorial; comment]. Clin Infect Dis 1998 Jul;27(1):81-3.
- (66) Bolon MK, Wright SB, Gold HS, Carmeli Y. The Magnitude of the Association between Fluoroquinolone Use and Quinolone-Resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* May Be Lower than Previously Reported. Antimicrob Agents Chemother 2004 Jun 1;48(6):1934-40.
- (67) Harris AD, Samore MH, Carmeli Y. Control group selection is an important but neglected issue in studies of antibiotic resistance. Ann Intern Med 2000 Jul 18;133(2):159.
- (68) Harris AD, Karchmer TB, Carmeli Y, Samore MH. Methodological principles of case-control studies that analyzed risk factors for antibiotic resistance: a systematic review. Clin Infect Dis 2001 Apr 1;32(7):1055-61.
- (69) Harris AD, Samore MH, Lipsitch M, Kaye KS, Perencevich E, Carmeli Y. Control-group selection importance in studies of antimicrobial resistance: examples applied to *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococci*, and *Escherichia coli*. Clin Infect Dis 2002 Jun 15;34(12):1558-63.
- (70) Paterson DL. Looking for risk factors for the acquisition of antibiotic resistance: a 21st-century approach. Clin Infect Dis 2002 Jun 15;34(12):1564-7.
- (71) Ewing WH. Edwards and Ewing's identification of Enterobacteriaceae. 4th ed. New York: Elsevier Science Publishing; 1986.
- (72) Brenner DJ, Steigerwalt AG, Fanning GR. Differentiation of *Enterobacter aerogenes* from *Klebsiellae* by desoxyribonucleic acid reassociation. Int J Syst Bacteriol 1972;22:193-200.

Refinamento de análise de fatores de risco para infecções hospitalares por *Klebsiella pneumoniae* produtora de β -lactamase de espectro estendido: seleção apropriada do grupo controle é suficiente?

- (73) Bagley ST, Seidler RJ, Brenner DJ. *Klebsiella planticola* sp. nov.: a new species of Enterobacteriaceae found in nonclinical environments. *Curr Microbiol* 1981;6:105-9.
- (74) Izard D, Ferragut C, Gavini F, Kersters K, de Ley J, Leclerc H. *Klebsiella terrigena*, a new species from soil and water. *Int J Bacteriol* 1981;31:116-27.
- (75) Ørskov I, Ørskov F. Serotyping of *Klebsiella*. *Meth Microbiol* 1984;14:143-64.
- (76) Skerman VDB, McGowan V, Sneath PHA. Approved lists of bacterial names. *Int J Syst Bacteriol* 1980;30:225-420.
- (77) Holmes B, Aucken HM. *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia* and other members of the Enterobacteriaceae. In: Collier L, Balows A, Sussman M, editors. *Topley & Wilson's Microbiology and microbial infections*. 9th ed. London: Arnold/Holder Headline group; 1998. p. 999-1033.
- (78) Shigei J. Test methods use in identification of commonly isolated aerobic gram-negative bacteria. In: Isenberg HD, editor. *Clinical microbiology procedures handbook*. Washington, DC: ASM Press; 1992. p. 1.19.1-1.19.12.
- (79) Farmer JJ, III. Enterobacteriaceae: introduction and identification. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH, editors. *Manual of clinical microbiology*. 7th ed. Washington, DC: ASM Press; 1999. p. 442-58.
- (80) Sanford JP. *Klebsiella* and other Gram-negative bacterial pneumonias. In: Beeson PB, McDermott W, editors. *Cecil - Loeb Textbook of Medicine*. 13 ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company; 1971. p. 507-9.
- (81) CDC Wonder - Compressed mortality - Cause of death specified by the following ICD-10 code: J15.0 (Pneumonia due to *K. pneumoniae*). <http://wonder.cdc.gov/mortICD10J.html> 2001 [cited 2004 Sep 9]; Available from: URL: <http://wonder.cdc.gov>
- (82) Niederman MS, Fein AM. Pneumonia in the elderly. *Clin Geriatr Med* 1986 May;2(2):241-68.
- (83) Barton EN, Daisley H, Gilbert DT, Roberts L. Diabetes mellitus and *Klebsiella pneumoniae* liver abscess in adults. *Trop Geogr Med* 1991 Jan;43(1-2):100-4.
- (84) Bruno-Murtha LA, Sedghivaziri MA, Arbeit RD. Crepitant myonecrosis caused by *Klebsiella pneumoniae* in an immunocompromised diabetic patient [letter]. *J Infect Dis* 1990 Dec;162(6):1415-6.
- (85) Caputo GM, Cavanagh PR, Ulbrecht JS, Gibbons GW, Karchmer AW. Assessment and Management of Foot Disease in Patients with Diabetes. *N Engl J Med* 1994 Sep 29;331(13):854-60.
- (86) Chen CW, Yang CJ, Huang JJ, Chuang YC, Young C. Gas-forming vertebral osteomyelitis in diabetic patients. *Scand J Infect Dis* 1991;23(2):263-5.

Refinamento de análise de fatores de risco para infecções hospitalares por *Klebsiella pneumoniae* produtora de β -lactamase de espectro estendido: seleção apropriada do grupo controle é suficiente?

- (87) Chen KY, Hsueh PR, Liaw YS, Yang PC, Luh KT. A 10-year experience with bacteriology of acute thoracic empyema: emphasis on *Klebsiella pneumoniae* in patients with diabetes mellitus. *Chest* 2000 Jun; 117(6):1685-9.
- (88) Chou FF, Kou HK. Endogenous endophthalmitis associated with pyogenic hepatic abscess. *J Am Coll Surg* 1996 Jan; 182(1):33-6.
- (89) Feldman C, Smith C, Levy H, Ginsburg P, Miller SD, Koornhof HJ. *Klebsiella pneumoniae* bacteraemia at an urban general hospital. *J Infect* 1990 Jan; 20(1):21-31.
- (90) Fuse H, Ohkawa M, Asamoto T. Infected renal cystic mass associated with bacterial meningitis: a case report. *Int J Urol* 1996 Jul; 3(4):301-3.
- (91) Han SH. Review of hepatic abscess from *Klebsiella pneumoniae*. An association with diabetes mellitus and septic endophthalmitis. *West J Med* 1995 Mar; 162(3):220-4.
- (92) Havunjian RH, Goldberg RA, Hepler RS. Bilateral endogenous endophthalmitis in a patient with diabetes and renal papillary necrosis [letter]. *Am J Ophthalmol* 1991 May 15; 111(5):653-4.
- (93) Joshi N, Caputo GM, Weitekamp MR, Karchmer AW. Infections in Patients with Diabetes Mellitus. *N Engl J Med* 1999 Dec 16; 341(25):1906-12.
- (94) Kelley MA, Wu CL. Case 22-1999- A 68-Year-Old Woman with Multiple Myeloma, Diabetes Mellitus, and an Inflamed Eye. *N Engl J Med* 1999 Jul 22; 341(4):265-73.
- (95) Kennedy DJ, Greenberg RN, Leone LA. A confused diabetic with fever, pain, nausea. *Hosp Pract (Off Ed)* 1985 May 30; 20(5A):19-21.
- (96) Lee CC, Chen CY, Chen FH, Zimmerman RA, Hsiao HS. Septic metastatic endophthalmitis from *Klebsiella pneumoniae* liver abscess: CT and MR imaging characteristics--report of three cases. *Radiology* 1998 May; 207(2):411-6.
- (97) Lee TY, Ko SF, Cheng YF, Wang YL, Chien WY. Primary gas-containing mediastinal abscess in a diabetic patient. *Am J Emerg Med* 1995 Jul; 13(4):427-9.
- (98) Li CC, Wang CH, Tsan KW. Graves' disease and diabetes mellitus associated with acute suppurative thyroiditis: a case report. *Chung Hua I Hsueh Tsa Chih (Taipei)* 1997 Jan; 59(1):59-64.
- (99) Liao HR, Lee HW, Leu HS, Lin BJ, Juang CJ. Endogenous *Klebsiella pneumoniae* endophthalmitis in diabetic patients. *Can J Ophthalmol* 1992 Apr; 27(3):143-7.
- (100) Lu CH, Chang WN, Wu HS. *Klebsiella pneumoniae* meningitis: analysis on clinical features of thirty-two adult patients. *Chung Hua I Hsueh Tsa Chih (Taipei)* 1997 Dec; 60(6):296-302.
- (101) Lu DC, Lei MH, Chang SC. Emphysematous prostatic abscess due to *Klebsiella pneumoniae*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1998 Aug; 31(4):559-61.

Refinamento de análise de fatores de risco para infecções hospitalares por *Klebsiella pneumoniae* produtora de β -lactamase de espectro estendido: seleção apropriada do grupo controle é suficiente?

- (102) McMurray SD, Luft FC, Maxwell DR, Kleit SA. Emphysematous pyelonephritis. *J Urol* 1976 May; 115(5):604-5.
- (103) Sugawa M, Tanaka R, Nakamura M, Isaka N, Nishimura J, Kimura M, et al. A case of infectious pseudoaneurysm of the abdominal aorta associated with infectious spondylitis due to *Klebsiella pneumoniae*. *Jpn J Med* 1989 May; 28(3):402-5.
- (104) Tang LM, Chen ST. *Klebsiella pneumoniae* meningitis: prognostic factors. *Scand J Infect Dis* 1994; 26(1):95-102.
- (105) Tatebe S, Kanazawa H, Yamazaki Y, Aoki E, Sakurai Y. Mycotic aneurysm of the internal iliac artery caused by *Klebsiella pneumoniae*. *Vasa* 1996; 25(2):184-7.
- (106) Tsay RW, Siu LK, Fung CP, Chang FY. Characteristics of bacteremia between community-acquired and nosocomial *Klebsiella pneumoniae* infection: risk factor for mortality and the impact of capsular serotypes as a herald for community-acquired infection. *Arch Intern Med* 2002 May 13; 162(9):1021-7.
- (107) Yang CC, Chen CY, Lin XZ, Chang TT, Shin JS, Lin CY. Pyogenic liver abscess in Taiwan: emphasis on gas-forming liver abscess in diabetics. *Am J Gastroenterol* 1993 Nov; 88(11):1911-5.
- (108) Zenda T, Araki I, Hiraiwa Y, Miyayama S, Masunaga T, Takeda Y, et al. Septic pulmonary emboli secondary to pyogenic liver abscess in a diabetic patient. *Intern Med* 1995 Jan; 34(1):42-5.
- (109) Borowsky SA, Hasse A, Wiedlin R, Lott E. Dental infection in a cirrhotic patient. Source of recurrent sepsis. *Gastroenterology* 1979 Apr; 76(4):836-9.
- (110) Chang KK, Lin XZ, Chen CY, Shin JS, Yang CC, Chen CY. Bacteremia in acute pancreatitis of different etiologies. *J Formos Med Assoc* 1995 Dec; 94(12):713-8.
- (111) Jong GM, Hsiue TR, Chen CR, Chang HY, Chen CW. Rapidly fatal outcome of bacteremic *Klebsiella pneumoniae* pneumonia in alcoholics [see comments]. *Chest* 1995 Jan; 107(1):214-7.
- (112) Korvick JA, Hackett AK, Yu VL, Muder RR. *Klebsiella pneumoniae* in the modern era: clinicoradiographic correlations. *South Med J* 1991 Feb; 84(2):200-4.
- (113) Nechwatal R, Lutz H. [Spontaneous bacterial peritonitis in a patient with decompensated alcoholic cirrhosis of the liver]. *Leber Magen Darm* 1992 Jul; 22(4):156-9.
- (114) Sanders JA. *Klebsiella pneumoniae* osteomyelitis: demonstration by three-phase radionuclide bone imaging. *J Nucl Med* 1989 Aug; 30(8):1412-4.
- (115) Sugawara Y, Sato O, Miyata T, Kimura H, Yamaoka M, Uozaki H, et al. Ruptured abdominal aorta secondary to psoas muscle abscess due to *Klebsiella pneumoniae* in an alcoholic. *J Infect* 1997 Sep; 35(2):185-8.

Refinamento de análise de fatores de risco para infecções hospitalares por *Klebsiella pneumoniae* produtora de β -lactamase de espectro estendido: seleção apropriada do grupo controle é suficiente?

- (116) Carpenter JL. *Klebsiella* pulmonary infections: occurrence at one medical center and review. *Rev Infect Dis* 1990 Jul;12(4):672-82.
- (117) Montgomerie JZ. Epidemiology of *Klebsiella* and hospital-associated infections. *Rev Infect Dis* 1979 Sep;1(5):736-53.
- (118) Hughes WT. Pneumonia in the immunocompromised child. *Semin Respir Infect* 1987 Sep;2(3):177-83.
- (119) McLeod DT, Neill P, Robertson VJ, Latif AS, Emmanuel JC, Els JE, et al. Pulmonary diseases in patients infected with the human immunodeficiency virus in Zimbabwe, Central Africa. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1989 Sep;83(5):694-7.
- (120) Stone RM, Mark EJ, Ferry JA. Case 31-1997- A 67-Year-Old Renal-Transplant-Recipient with Anemia, Leukopenia, and Pulmonary Lesions. *N Engl J Med* 1997 Oct 9;337(15):1065-74.
- (121) Eisenstein BI, Zaleznik DF. Enterobacteriaceae. In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R, editors. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and practice of infectious diseases*. 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2000. p. 2294-310.
- (122) Abid A, Benasser MA, Yassir Z, Rguibi M, Ghorfi I, Chbicheb A, et al. [Mediastinitis caused by *Klebsiella pneumoniae* with a pharyngeal portal]. *Rev Pneumol Clin* 1999 Sep;55(4):219-22.
- (123) Abuekteish F, Daoud AS, Mesmar M, Obeidat A. Nosocomial neonatal septic arthritis. *Eur J Pediatr* 1996 Feb;155(2):102-5.
- (124) Abulafia O, Sherer DM. Bartholin gland abscess: sonographic findings. *J Clin Ultrasound* 1997 Jan;25(1):47-9.
- (125) Abuzarad H, Gadallah MF, Rabb H, Vermess M, Ramirez G. Emphysematous cystitis: possible side-effect of cyclophosphamide therapy [letter]. *Clin Nephrol* 1998 Dec;50(6):394-6.
- (126) Anantharaman P, Abraham G, Shekar U, Moorthy A, Shroff S, Soundararajan P. *Klebsiella* endocarditis in the early post-operative period after renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant* 1998 Oct;13(10):2665-6.
- (127) Andersen J, Grandt A. [*Klebsiella pneumoniae* as the cause of arthritis of the knee]. *Ugeskr Laeger* 1988 May 16;150(20):1231-2.
- (128) Andersen JB. [Emphysematous pyelonephritis. A serious complication of diabetes mellitus]. *Ugeskr Laeger* 1992 May 11;154(20):1419-21.
- (129) Anderson MJ, Janoff EN. *Klebsiella* endocarditis: report of two cases and review. *Clin Infect Dis* 1998 Feb;26(2):468-74.
- (130) Apple JS, Halvorsen RA, Chapman TM, Martinez S. *Klebsiella pneumoniae* arthritis of the hip in a diabetic patient. *South Med J* 1984 Feb;77(2):229-31.

Refinamento de análise de fatores de risco para infecções hospitalares por *Klebsiella pneumoniae* produtora de β -lactamase de espectro estendido: seleção apropriada do grupo controle é suficiente?

- (131) Aung T, Chan TK. Nosocomial *Klebsiella pneumoniae* conjunctivitis resulting in infectious keratitis and bilateral corneal perforation. *Cornea* 1998 Sep; 17(5):558-61.
- (132) Baba S, Takasu T, Motai T. Acute obstructive laryngotracheobronchitis--report of six cases. *Nagoya Med J* 1972 Feb; 17(3):217-22.
- (133) Baert L, Leonard A. Chronic bacterial prostatitis: 10 years of experience with local antibiotics. *J Urol* 1988 Oct; 140(4):755-7.
- (134) Banapurmath CR, Kallinath S, Banapurmath S, Kalliath A, Kesaree N. Congenital pneumonia caused by *Klebsiella pneumoniae*. *Indian Pediatr* 1994 Oct; 31(10):1264-6.
- (135) Bell MJ, Shackelford P, Feigin RD, Ternberg JL, Brotherton T. Epidemiologic and bacteriologic evaluation of neonatal necrotizing enterocolitis. *J Pediatr Surg* 1979 Feb; 14(1):1-4.
- (136) Bello EF, Posalski I, Pitchon H, Bayer AS. Fasciitis and abscesses complicating liposuction. *West J Med* 1988 Jun; 148(6):703-6.
- (137) Berthiaume JT, Pien FD. Acute *klebsiella* epiglottitis: considerations for initial antibiotic coverage. *Laryngoscope* 1982 Jul; 92(7 Pt 1):799-800.
- (138) Brinson RR. "Spontaneous" bacterial peritonitis: transfallopian route of infection confirmed [letter]. *Gastroenterology* 1985 Nov; 89(5):1214-5.
- (139) Brook I, Shah K. Sinusitis in neurologically impaired children. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1998 Oct; 119(4):357-60.
- (140) Brook I, Frazier EH. Aerobic and anaerobic infection associated with malignancy. *Support Care Cancer* 1998 Mar; 6(2):125-31.
- (141) Brook I, Frazier EH. Microbiology of acute purulent pericarditis. A 12-year experience in a military hospital. *Arch Intern Med* 1996 Sep 9; 156(16):1857-60.
- (142) Brook I, Frazier EH. Microbiology of mediastinitis [published erratum appears in *Arch Intern Med* 1996 May 27; 156(10):1112]. *Arch Intern Med* 1996 Feb 12; 156(3):333-6.
- (143) Brook I, Frazier EH. Aerobic and anaerobic microbiology of empyema. A retrospective review in two military hospitals. *Chest* 1993 May; 103(5):1502-7.
- (144) Broom MJ, Beebe RD. Emphysematous septic arthritis due to *Klebsiella pneumoniae*. *Clin Orthop* 1988 Jan; (226):219-21.
- (145) Cameron EW, Whitton ID. Percutaneous drainage in the treatment of *Klebsiella pneumoniae* lung abscess. *Thorax* 1977 Dec; 32(6):673-6.
- (146) Cameron JA, Antonios SR, Cotter JB, Habash NR. Endophthalmitis from contaminated donor corneas following penetrating keratoplasty. *Arch Ophthalmol* 1991 Jan; 109(1):54-9.
- (147) Chatterjee BD, Thawani G, Sanyal SN. Etiology of acute childhood diarrhoea in Calcutta. *Trop Gastroenterol* 1989 Jul; 10(3):158-66.

Refinamento de análise de fatores de risco para infecções hospitalares por *Klebsiella pneumoniae* produtora de β -lactamase de espectro estendido: seleção apropriada do grupo controle é suficiente?

- (148) Chaudhry R, Kalra N, Talwar V, Thakur R. Anaerobic flora in endodontic infections. *Indian J Med Res* 1997 Jun;105:262-5.
- (149) Cheng DL, Liu YC, Yen MY, Liu CY, Wang RS. Septic metastatic lesions of pyogenic liver abscess. Their association with *Klebsiella pneumoniae* bacteremia in diabetic patients. *Arch Intern Med* 1991 Aug;151(8):1557-9.
- (150) Cheng DL, Liu YC, Yen MY, Liu CY, Shi FW, Wang LS. Pyogenic liver abscess: clinical manifestations and value of percutaneous catheter drainage treatment. *J Formos Med Assoc* 1990 Jul;89(7):571-6.
- (151) Cheng DL, Liu YC, Yen MY, Liu CY, Shi FW, Wang LS. Causal bacteria of pyogenic liver abscess. *Taiwan I Hsueh Hui Tsa Chih* 1989 Oct;88(10):1008-11.
- (152) Chevalier X, Marty M, Larget-Piet B. *Klebsiella pneumoniae* septic arthritis of a lumbar facet joint. *J Rheumatol* 1992 Nov;19(11):1817-9.
- (153) Chiu CT, Lin DY, Liaw YF. Metastatic septic endophthalmitis in pyogenic liver abscess. *J Clin Gastroenterol* 1988 Oct;10(5):524-7.
- (154) Cooper K. Spinal epidural abscess: a case report. *Del Med J* 1984 Jun;56(6):343-8.
- (155) Couez D, Libon E, Wasteels M, Derue G, Gilbeau JP. *Klebsiella pneumoniae* liver abscess with septic endophthalmitis. The role of computed tomography. *J Belge Radiol* 1991;74(1):41-4.
- (156) Deusch E, End A, Grimm M, Graninger W, Klepetko W, Wolner E. Early bacterial infections in lung transplant recipients. *Chest* 1993 Nov;104(5):1412-6.
- (157) DiGioia RA, Kane JG, Parker RH. Crepitant cellulitis and myonecrosis caused by *Klebsiella*. *JAMA* 1977 May 9;237(19):2097-8.
- (158) Dubey L, Krasinski K, Hernanz-Schulman M. Osteomyelitis secondary to trauma or infected contiguous soft tissue. *Pediatr Infect Dis J* 1988 Jan;7(1):26-34.
- (159) Ebisuno S, Miyai M. A case of *Klebsiella pneumoniae* endophthalmitis metastasized from prostatitis. *Hinyokika Kyo* 1994 Jul;40(7):625-7.
- (160) Ellis-Pegler RB, Lang SD. Cefoperazone in *Klebsiella* meningitis: a case report. *Drugs* 1981;22 Suppl 1:69-71.
- (161) Ernst EA, Weller P, Karch SB. Bartholin's gland abscess in infancy. *Pediatr Infect Dis J* 1988 Jul;7(7):526-7.
- (162) Fang LJ, Tsau YK, Chen CH, Lee CY. Peritonitis in children with nephrotic syndrome. *Chung Hua Min Kuo Hsiao Erh Ko I Hsueh Hui Tsa Chih* 1991 Sep;32(5):265-71.
- (163) Fawcett C, Chawla JC, Quoraishi A, Stickler DJ. A study of the skin flora of spinal cord injured patients. *J Hosp Infect* 1986 Sep;8(2):149-58.
- (164) Fishbach RS, Rosenblatt JE, Dahlgren JG. Pyogenic vertebral osteomyelitis in heroin addicts. *Calif Med* 1973 Aug;119(2):1-4.

Refinamento de análise de fatores de risco para infecções hospitalares por *Klebsiella pneumoniae* produtora de β -lactamase de espectro estendido: seleção apropriada do grupo controle é suficiente?

- (165) Flora KD, Gordon MD, Lieberman D, Schmidt W. Esophageal intramural pseudodiverticulosis. *Dig Dis* 1997 Jan; 15(1-2): 113-9.
- (166) Fumagalli O, Tall BD, Schipper C, Oelschlaeger TA. N-glycosylated proteins are involved in efficient internalization of *Klebsiella pneumoniae* by cultured human epithelial cells. *Infect Immun* 1997 Nov; 65(11): 4445-51.
- (167) Oelschlaeger TA, Tall BD. Invasion of cultured human epithelial cells by *Klebsiella pneumoniae* isolated from the urinary tract. *Infect Immun* 1997 Jul; 65(7): 2950-8.
- (168) File TM, Jr. Overview of resistance in the 1990s. *Chest* 1999; 115: 3S-8S.
- (169) Alberti S, Rodrigues-Quiñones F, Schirmer T, Rummel G, Tomás JM, Rosenbush JP, et al. A porin from *Klebsiella pneumoniae*: sequence homology, three-dimensional structure, and complement binding. *Infect Immun* 1995; 63: 903-10.
- (170) Martinez-Martinez L, Hernández-Allés S, Alberti S, Tomás JM, Benédi VJ, Jacoby GA. *In vivo* selection of porin-deficient mutants of *Klebsiella pneumoniae* with increased resistance to cefoxitin and expanded-spectrum cephalosporins. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40: 342-8.
- (171) Bradford PA, Urban C, Mariano N, Projan SJ, Rahal JJ, Bush K. Imipenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* is associated with the combination of ACT-1, a plasmid-mediated AmpC β -lactamase, and the loss of an outer membrane protein. *Antimicrob Agents Chemother* 1997 Mar; 41(3): 563-9.
- (172) Livermore DM. β -lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev* 1995; 8: 557-84.
- (173) Graham LL. Freeze-substitution studies of bacteria. *Electron Microsc Rev* 1992; 5: 77-103.
- (174) Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39: 1211-33.
- (175) Jacoby GA, Bush K. Amino acid sequences for TEM, SHV and OXA extended-spectrum and inhibitor resistant β -lactamases. <http://www.lahey.org> 1999 [cited 1999 Sep]; Available from: URL: <http://www.lahey.org>
- (176) Bradford PA. Extended-spectrum β -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev* 2001; 4: 933-51.
- (177) Knothe H, Shah P, Krcmery V, Antal M, Mitsuhashi S. Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection* 1983 Nov; 11(6): 315-7.
- (178) Kliebe C, Nies BA, Meyer JF, Tolxdorff-Neutzling RM, Wiedemann B. Evolution of plasmid-coded resistance to broad-spectrum cephalosporins. *Antimicrob Agents Chemother* 1985 Aug; 28(2): 302-7.
- (179) NCCLS. National Committee for Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility testing; fourteenth

- Refinamento de análise de fatores de risco para infecções hospitalares por *Klebsiella pneumoniae* produtora de β -lactamase de espectro estendido: seleção apropriada do grupo controle é suficiente? informational supplement. 6th[23], 1-159. 2004. Wayne, Pennsylvania. NCCLS document M100-S14. Vol. 24. No. 1. Replaces M100-S13. Ref Type: Serial (Book,Monograph)
- (180) Bush K, Singer SB. Biochemical characteristics of extended broad spectrum β -lactamases. *Infection* 1989;17:429-33.
- (181) Philippon A, Labia R, Jacoby GA. Extended-spectrum β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1989;33:1131-6.
- (182) Jacoby GA, Medeiros AA. More extended-spectrum β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1991;35:1697-704.
- (183) Williams JD. β -lactamase inhibition and in vitro activity of sulbactam and sulbactam/cefoperazone. *Clin Infect Dis* 1997;24:494-7.
- (184) Naumovski L, Quinn JP, Miyashiro D, Patel M, Bush K, Singer SB, et al. Outbreak of ceftazidime resistance due to a novel extended-spectrum β -lactamase in isolates from cancer patients [published erratum appears in *Antimicrob Agents Chemother* 1993 Feb;37(2):375]. *Antimicrob Agents Chemother* 1992 Sep;36(9):1991-6.
- (185) Tavares W. Manual de antibióticos e quimioterápicos anti-infecciosos. 2a. ed. Rio de Janeiro: Atheneu; 1996.
- (186) Payne DJ, Marriot MS, Amyes SGB. Characterization of a unique ceftazidime-hydrolyzing β -lactamase, TEM-2E2. *J Med Microbiol* 1990;32:131-4.
- (187) Jacoby GA. Extended-spectrum β -lactamases and other enzymes providing resistance to oxymino- β -lactams. Tenover FC, McGowan JE, Jr., editors. 875-887. 1997. Philadelphia, W. B. Saunders Company. Ref Type: Serial (Book,Monograph)
- (188) Woodford N, Ward ME, Kaufmann ME, Turton J, Fagan EJ, James D, et al. Community and hospital spread of *Escherichia coli* producing CTX-M extended-spectrum β -lactamases in the UK. *J Antimicrob Chemother* 2004 Oct 1;54(4):735-43.
- (189) De Champs C, Sirot D, Chanal C, Poupart MC, Dumas MP, Sirot J. Concomitant dissemination of three extended-spectrum β -lactamases among different Enterobacteriaceae isolated in a French hospital. *J Antimicrob Chemother* 1991 Apr;27(4):441-57.
- (190) Marriotte S, Nordmann P, Nicolas MH. Extended-spectrum β -lactamases in *Proteus mirabilis*. *J Antimicrob Chemother* 1995;33:925-35.
- (191) Mhand RA, Brahimi N, Moustaqi N, El Mdaghri N, Amarouch H, Grimont F, et al. Characterization of extended-spectrum β -lactamase-producing *Salmonella typhimurum* by typing methods. *J Clin Microbiol* 1999;37(11):3769-73.
- (192) Revathi G, Shannon KP, Stapleton PD, Jain BK, French GL. An outbreak of extended-spectrum β -lactamase-producing *Salmonella senftenberg* in a burns ward. *J Hosp Infect* 1998;40:295-302.

Refinamento de análise de fatores de risco para infecções hospitalares por *Klebsiella pneumoniae* produtora de β -lactamase de espectro estendido: seleção apropriada do grupo controle é suficiente?

- (193) Thomson KS. Controversies about extended-spectrum and AmpC β -lactamases. <http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol7no2/thomson.htm> 2001 [cited 2004 Aug 13];
- (194) Andres P, Petroni A, Faccone D, Pasteran F, Melano R, Rapoport M, et al. Extended-spectrum cephalosporin resistance in *Shigella flexneri* from Argentina: the first report of TOHO-1 outside Japan. Washington, D.C.: American Society for Microbiology; 2004.
- (195) Tumbarello M, Citton R, Spanu T, Sanguinetti M, Romano L, Fadda G, et al. ESBL-producing multidrug resistant *Providencia stuartii* infections in a university hospital. Washington, D.C.: American Society for Microbiology; 2004.
- (196) Boyd DA, Olson AB, Silverman M, McGeer A, Willey BM, Pong-Porter V, et al. Identification of a progenitor of the CTX-M-9 group of ESBLs from *Kluyvera* spp. isolated in Guyana. Washington, D.C.: American Society for Microbiology; 2004.
- (197) Du Bois SK, Marriot MS, Amyes SGB. TEM- and SHV-derived extended-spectrum β -lactamases: relationship between selection, structure, and function. *J Antimicrob Chemother* 1995;35:7-22.
- (198) Jett BD, Ritchie DJ, Reichley R, Bailey TC, Sahm DF. Susceptibility of ESBL-producing organisms. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39:1187-90.
- (199) Rice LB, Yao DC, Klimm K, Eliopoulos GM, Moellering RC, Jr. Efficacy of different β -lactams against an extended-spectrum beta-lactamases-producing *Klebsiella pneumoniae* strain in the intra-abdominal abscess model. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 34, 2193-2199. 1991. Ref Type: Abstract
- (200) Mendes C, Kiffer C, Segura A, Ribeiro J, Turner P. *Klebsiella pneumoniae* with multiple antimicrobial resistance. *Braz J Infect Dis* 2004 Feb;8(1):109-11.
- (201) Grinbaum RS, Adriano Neto A, Guimaraes T, Carballo L, Gales AC, Pignatari AC, et al. IMP-1 producing *Klebsiella pneumoniae* outbreak in a Brazilian teaching hospital. Washington, D.C.: American Society for Microbiology; 2004.
- (202) Rose HD, Schreier J. The effect of hospitalization and antibiotic therapy on gram-negative fecal flora. *Am J Med Sci* 1968;255:228-36.
- (203) Thom BT. *Klebsiella* in faeces. *Lancet* 1970;ii:1033.
- (204) Davis TJ, Matsen JM. Prevalence and characteristics of *Klebsiella* species: relation to association with a hospital environment. *J Infect Dis* 1974 Oct;130(4):402-5.
- (205) Rosenthal S, Tager IB. Prevalence of gram-negative rods in the normal pharyngeal flora. *Ann Intern Med* 1975;83:355-7.
- (206) Kloos WE, Musselwhite MS. Distribution and persistence of *Staphylococcus* and *Micrococcus* species and other aerobic bacteria on human skin. *Appl Microbiol* 1975;30:381-95.

Refinamento de análise de fatores de risco para infecções hospitalares por *Klebsiella pneumoniae* produtora de β -lactamase de espectro estendido: seleção apropriada do grupo controle é suficiente?

- (207) Casewell MW, Phillips I. Hands as a route of transmission for *Klebsiella* species. Br Med J 1977;2:1315-7.
- (208) Casewell MW, Phillips I. Epidemiological patterns of *Klebsiella* colonization and infection in an intensive care ward. J Hyg Camb 1978;80:295-300.
- (209) Johanson WG, Jr., Pierce AK, Sanford JP. Changing pharyngeal bacterial flora of hospitalized patients. Emergence of gram-negative bacilli. N Engl J Med 1969;281:1137-40.
- (210) Selden R, Lee S, Wang WL, Bennet JV, Eickhoff TC. Nosocomial *Klebsiella* infections: intestinal colonization as a reservoir. Ann Intern Med 1971;74:657-64.
- (211) Pollack M, Charache P, Nieman RE, Jett MP, Reimhardt JA, Hardy PH, Jr. Factors influencing colonization and antibiotic-resistance patterns of gram-negative bacteria in hospital patients. Lancet 1972 Sep 30;2(7779):668-71.
- (212) Tullus K, Berglund B, Fryklund B, Kühn I, Burman LG. Epidemiology of fecal strains of the family Enterobacteriaceae in 22 neonatal wards and influence of antibiotic policy. J Clin Microbiol 1988;26:1166-70.
- (213) Jumaa P, Chattopadhyay B. Pseudobacteraemia with multiply-resistant *Klebsiella pneumoniae* resulting from contamination from the blood gas machine on a neonatal unit. J Hosp Infect 1992 Nov;22(3):251-5.
- (214) Kühn I, Ayling-Smith B, Tullus K, Burman LG. The use of colonization rate and epidemic index as tools to illustrate the epidemiology of faecal Enterobacteriaceae strains in Swedish neonatal wards. J Hosp Infect 1993;23:287-97.
- (215) Hart CA. *Klebsiellae* and neonates. J Hosp Infect 1993;23:83-6.
- (216) Pitrez JLB, Santos BA, Martins MLB, Bercini M, Schaun L. Contaminação de líquidos por bactérias do grupo *Klebsiella-Enterobacter-Serratia*. Jornal de Pediatria 1982;52(3):118-20.
- (217) Doebbeling BN. Epidemics: identification and management. In: Wenzel RP, editor. Prevention and control of nosocomial infections. 2nd ed. Baltimore: The Williams & Wilkins Co.; 1993. p. 177-206.
- (218) Martin CM, Ikari NS, Zimmerman J, Waitz JA. A virulent nosocomial *Klebsiella* with a transferable R factor for gentamicin: emergence and suppression. J Infect Dis 1971;12(4):S24-S29.
- (219) Christensen SC, Korner B. An endemic caused by multiresistant *klebsiella* in an urological unit. Scand J Urol Nephrol 1972;6(3):232-8.
- (220) Noriega ER, Leibowitz RE, Richmond AS, Rubinstein E, Schaefer S, Simberkoff MS, et al. Nosocomial infection caused by gentamicin-resistant, spectinomycin-sensitive *Klebsiella*. J Infect Dis 1975;131:S45-S50.
- (221) Gür D, Pitt TL, Hall LM, Akalin HE, Livermore DM. Diversity of *klebsiellae* with extended-spectrum β -lactamases at a Turkish university hospital [letter]. J Hosp Infect 1992 Oct;22(2):163-7.

Refinamento de análise de fatores de risco para infecções hospitalares por *Klebsiella pneumoniae* produtora de β -lactamase de espectro estendido: seleção apropriada do grupo controle é suficiente?

- (222) Medeiros AA. Nosocomial outbreaks of multiresistant bacteria: extended-spectrum β -lactamases have arrived in North America. *Ann Intern Med* 1993 Sep 1; 119(5):428-30.
- (223) Hibbert-Rogers LC, Heritage J, Gascoyne-Binzi DM, Hawkey PM, Todd N, Lewis IJ, et al. Molecular epidemiology of ceftazidime resistant Enterobacteriaceae from patients on a paediatric oncology ward. *J Antimicrob Chemother* 1995 Jul; 36(1):65-82.
- (224) Lucet JC, Chevret S, Decre D, Vanjak D, Macrez A, Bedos JP, et al. Outbreak of multiply resistant enterobacteriaceae in an intensive care unit: epidemiology and risk factors for acquisition. *Clin Infect Dis* 1996 Mar; 22(3):430-6.
- (225) Sader HS, Sampaio JLM, Zoccoli C, Jones RN. Results of the 1997 SENTRY Antimicrobial Surveillance Program in three Brazilian medical centers. *Braz J Infect Dis* 1999; 3(2):63-79.
- (226) d'Azevedo PA, Gonçalves ALS, Dias CAG. Evaluation of the National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) screening test for extended-spectrum β -lactamase (ESBL) production in *Klebsiella* spp. and *Escherichia coli*. 2001. Report No.: Painel IH-049.
- (227) Behar PRP. Fatores de risco para aquisição de *Klebsiella pneumoniae* produtora de β -lactamase de espectro estendido em hospitais de Porto Alegre, Rio Grande do Sul Instituto de Microbiologia Professor Paulo de Góes da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.; 2002.
- (228) Katsanis GP, Spargo J, Ferraro MJ, Sutton L, Jacoby GA. Detection of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* strains producing extended-spectrum β -lactamases. *J Clin Microbiol* 1994 Mar; 32(3):691-6.
- (229) Thomson KS, Prevan AM, Sanders CC. Novel plasmid-mediated β -lactamases in Enterobacteriaceae: emerging problems for β -lactam antibiotics. *Curr Clin Top Infect Dis* 1996; 16:151-63.
- (230) National nosocomial infection study 2000. <http://www.cdc.gov/ncidod/hip/NNIS/DEC2000sar.pdf> 2002 [cited 2002 Jan];
- (231) Sirot D. Extended-spectrum plasmid-mediated β -lactamases. *J Antimicrob Chemother* 1995 Jul; 36 Suppl A:19-34.
- (232) Burwen DR, Banerjee SN, Gaynes RP. Ceftazidime resistance among selected nosocomial gram-negative bacilli in the United States. National Nosocomial Infections Surveillance System. *J Infect Dis* 1994 Dec; 170(6):1622-5.
- (233) Jacoby GA, Bush K. TEM extended-spectrum and inhibitor resistant β -lactamases. <http://www.lahey.org/Studies/temtable.asp> 1999 September [cited 1999 Sep];
- (234) Jacoby GA, Bush K. Amino acid sequences for TEM, SHV and OXA extended-spectrum and inhibitor resistant β -lactamases. <http://www.lahey.org> 2001 [cited 2001 Sep]; Available from: URL: <http://www.lahey.org>

- Refinamento de análise de fatores de risco para infecções hospitalares por *Klebsiella pneumoniae* produtora de β -lactamase de espectro estendido: seleção apropriada do grupo controle é suficiente?
- (235) Jacoby GA, Bush K. Amino Acid Sequences for TEM, SHV and OXA Extended-Spectrum and Inhibitor Resistant β -Lactamases. <http://www.lahey.org/Studies/> 2004 January 14 [cited 2004 Jul 4];
- (236) Jacoby GA, Bush K. TEM Extended-Spectrum and Inhibitor Resistant β -Lactamases. <http://www.lahey.org/Studies/temtable.asp> 2004 January 14 [cited 2004 Jul 4];
- (237) Jacoby GA, Bush K. Amino acid sequences for TEM, SHV and OXA extended-spectrum and inhibitor resistant β -lactamases. <http://www.lahey.org> 2004 September 28 [cited 2004 Sep 30]; Available from: URL: <http://www.lahey.org>
- (238) Radice M, Power P, Di Conza J, Gutkind G, Bonnet R, Sirot D, et al. Early Dissemination of CTX-M-Derived Enzymes in South America. *Antimicrob Agents Chemother* 2002 Feb 1; 46(2):602-4.
- (239) Casellas JM. Resistencia en *Klebsiella pneumoniae*. 1999. Punta Del Este, Uruguay, I Simposio Internacional de Infectologia Aplicada para el Cono Sur. 1999.
Ref Type: Sound Recording
- (240) Casellas JM, Radice M, Quinteros M, Scollo K, Rodriguez M, Pagniez G, et al. CAZ/CAZ-CLA and CTX/CTX-CLA E-test strips effectiveness compared to NCCLS recommendations for ESBLs detection in different b-lactamases combinations in Argentina. 156. 2004. Abstract book of the 9th International Congress on Infectious Diseases.
Ref Type: Serial (Book, Monograph)
- (241) Bonnet R, Sampaio JLM, Labia R, De Champs C, Sirot D, Chanal C, et al. A novel CTX-M β -lactamase (CTX-M-8) in cefotaxime-resistant Enterobacteriaceae isolated in Brazil. *Antimicrob Agents Chemother* 2000 Jul 1; 44(7):1936-42.
- (242) Pitout JDD, Gregson DB, Church DL, Laupland KB, Elsayed S, Hanson ND. Community-wide outbreaks of clonally related *Escherichia coli* producing CTX-M-type β -lactamases in the Calgary Health Region. Washington, D.C.: American Society for Microbiology; 2004.
- (243) Reis AO. Avaliação dos testes laboratoriais para detecção de amostras de *Klebsiella pneumoniae* produtoras de b-lactamases de espectro estendido [Tese de Mestrado] Escola Paulista de Medicina; 1999.
- (244) Pessoa da Silva CL, Moreira BM, Almeida VC, Teixeira LM, Lins MCA, Miranda LEV, et al. Risk factors for acquisition of extended spectrum b-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in an outbreak setting at a neonatal intensive care unit (NICU) in Rio de Janeiro, Brazil. *American Society for Microbiology*; 1998. Report No.: K-75.
- (245) Almeida VC, Moreira BM, Gontijo Filho PP, Teixeira LM, Pessoa da Silva CL. Extended-spectrum β -lactamases producing *Klebsiella pneumoniae* genotypes associated with colonization and infection in a neonatal intensive care unit. 2001. Report No.: Painel IH-077.
- (246) Gomes ACLF, Martinez R. Detecção de enterobactérias produtoras de β -lactamase de espectro estendido em amostras de sangue, cateter e outros

- Refinamento de análise de fatores de risco para infecções hospitalares por *Klebsiella pneumoniae* produtora de β -lactamase de espectro estendido: seleção apropriada do grupo controle é suficiente? materiais biológicos de pacientes do Hospital de Clínicas de Ribeirão Preto. 2001. Report No.: Painel MH-076.
- (247) Gomes ACLF, Martinez R. Prevalência e significado clínico de enterobactérias produtoras de β -lactamase de espectro estendido em amostras de urina de pacientes do Hospital de Clínicas de Ribeirão Preto. 2001. Report No.: Painel MH-077.
- (248) Lopes ACS, Rodrigues JF, Morais MA. Extended-spectrum β -lactamases among nosocomial isolates of *Klebsiella pneumoniae* in Recife, PE, Brazil. 2001. Report No.: Painel MH-154.
- (249) Loureiro MM, Morais BA, Mendonça VLF, Quadra MRR, Pinheiro GS, Asensi MD. Molecular epidemiology of extended-spectrum β -lactamases producing *Klebsiella pneumoniae* isolated from neonatal intensive care unit patients involved in hospital infection cases in Rio de Janeiro City, Brazil. 2001. Report No.: Painel IH-033.
- (250) Oliveira SM, Fernandes MJBC, Almeida D. Extended-spectrum β -lactamase produced by *Klebsiella* spp. from neonatal intensive care unit - a preliminary study. 2001. Report No.: Painel IH-048.
- (251) Ribas RM, Brito DVD, Freitas C, Urzedo JE, Gontijo Filho PP. Fatores de risco e fenótipos de resistência de bactérias gram-negativas associadas a bacteremias hospitalares e comunitárias no HC-UFU. 2001. Report No.: Painel MH-015.
- (252) Santos IB, Xavier DE, Honório LC, Assis AML, Santos Filho L. Resistance profile of Enterobacteriaceae producing extended-spectrum β -lactamases isolated in João Pessoa, PB, Brazil. 2001. Report No.: Painel MH--107.
- (253) Birkenhead D, M'Zali FH, Kerr KG, Hawkey PM. A simple method for detection of extended-spectrum β -lactamases. American Society for Microbiology; 1996. Report No.: Abstract D23.
- (254) Carter MW, Oakton KJ, Warner M, Livermore DM. Detection of extended-spectrum beta-lactamases in klebsiellae with the Oxoid combination disk method. J Clin Microbiol 2000 Nov; 38(11):4228-32.
- (255) Sanders CC, Barry AL, Washington JA, Shubert C, Moland ES, Traczewski MM, et al. Detection of extended-spectrum b-lactamases-producing members of the family Enterobacteriaceae with Vitek ESBL test. J Clin Microbiol 1996; 34:2997-3001.
- (256) NCCLS. National Committee for Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twelfth informational supplement. [22], 1-136. 2002. Wayne. NCCLS document M100-S12. Vol. 22. No. 1.
Ref Type: Serial (Book, Monograph)
- (257) Casellas JM, Goldberg M. Incidence of strains producing extended spectrum β -lactamases in Argentina. Infection 1989 Nov; 17(6):434-6.
- (258) Brun-Buisson C, Legrand P, Philippon A, Montravers F, Ansquer M, Duval J. Transferable enzymatic resistance to third-generation cephalosporins during nosocomial outbreak of multiresistant *Klebsiella pneumoniae*. Lancet 1987 Aug 8; 2(8554):302-6.

Refinamento de análise de fatores de risco para infecções hospitalares por *Klebsiella pneumoniae* produtora de β -lactamase de espectro estendido: seleção apropriada do grupo controle é suficiente?

- (259) Sirot D, Sirot J, Labia R, Morand A, Courvalin P, Darfeuille-Michaud A, et al. Transferable resistance to third-generation cephalosporins in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*: identification of CTX-1, a novel β -lactamase. *J Antimicrob Chemother* 1987 Sep; 20(3): 323-34.
- (260) Bisson G, Fishman NO, Patel JB, Edelstein PH, Lautenbach E. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* species: risk factors for colonization and impact of antimicrobial formulary interventions on colonization prevalence. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2002 May; 23(5): 254-60.
- (261) Piroth L, Aube H, Doise JM, Vincent-Martin M. Spread of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*: are β -lactamase inhibitors of therapeutic value? *Clin Infect Dis* 1998 Jul; 27(1): 76-80.
- (262) Paterson DL, Mulazimoglu L, Casellas JM, Ko WC, Goossens H, Von Gottberg A, et al. Epidemiology of ciprofloxacin resistance and its relationship to extended-spectrum β -lactamase production in *Klebsiella pneumoniae* isolates causing bacteremia. *Clin Infect Dis* 2000 Mar; 30(3): 473-8.
- (263) NCCLS. National Committee for Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility testing: eleventh informational supplement. [21], 40-44. 2001. Wayne. NCCLS document M100-S9.: Approved Standard M7-A4.
Ref Type: Serial (Book, Monograph)
- (264) Pena C, Pujol M, Ricart A, Ardanuy C, Ayats J, Linares J, et al. Risk factors for faecal carriage of *Klebsiella pneumoniae* producing extended spectrum β -lactamase in the intensive care unit. *J Hosp Infect* 1997 Jan; 35(1): 9-16.
- (265) Feldman C, Kallenbach JM, Levy H, Thorburn JR, Hurwitz MD, Koornhof HJ. Comparison of bacteraemic community-acquired lobar pneumonia due to *Streptococcus pneumoniae* and *Klebsiella pneumoniae* in an intensive care unit. *Respiration* 1991; 58(5-6): 265-70.
- (266) Brook I. Recovery of beta-lactamase producing bacteria in pediatric infections. *Can J Microbiol* 1987 Oct; 33(10): 888-95.
- (267) Bryant LR, Trinkle JK, Mobin-Uddin K, Baker J, Griffen WO, Jr. Bacterial colonization profile with tracheal intubation and mechanical ventilation. *Arch Surg* 1972 May; 104(5): 647-51.
- (268) Al Rabea AA, Burwen DR, Eldeen MA, Fontaine RE, Tenover F, Jarvis WR. *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections in neonates in a hospital in the Kingdom of Saudi Arabia. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1998 Sep; 19(9): 674-9.
- (269) Cordero L, Sananes M, Ayers LW. Bloodstream infections in a neonatal intensive-care unit: 12 years' experience with an antibiotic control program. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1999 Apr; 20(4): 242-6.
- (270) Kang CI, Kim SH, Kim DM, Park WB, Lee KD, Kim HB, et al. Risk Factors for Ciprofloxacin Resistance in Bloodstream Infections Due to Extended-Spectrum beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Microb Drug Resist* 2004; 10(1): 71-6.

Refinamento de análise de fatores de risco para infecções hospitalares por *Klebsiella pneumoniae* produtora de β -lactamase de espectro estendido: seleção apropriada do grupo controle é suficiente?

- (271) Schiappa DA, Hayden MK, Matushek MG, Hashemi FN, Sullivan J, Smith KY, et al. Ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* bloodstream infection: a case-control and molecular epidemiologic investigation. *J Infect Dis* 1996 Sep; 174(3):529-36.
- (272) Welbel SF, Schoendorf K, Bland LA, Arduino MJ, Groves C, Schable B, et al. An outbreak of gram-negative bloodstream infections in chronic hemodialysis patients. *Am J Nephrol* 1995; 15(1):1-4.
- (273) Fishman JA, Martell KM, Rubin RH. Infection and T lymphocyte subpopulations: changes associated with bacteremia and the acquired immunodeficiency syndrome. *Diagn Immunol* 1983; 1(3):261-5.
- (274) Garcia dIT, Romero-Vivas J, Martinez-Beltran J, Guerrero A, Meseguer M, Bouza E. *Klebsiella* bacteremia: an analysis of 100 episodes. *Rev Infect Dis* 1985 Mar; 7(2):143-50.
- (275) Green M, Barbadora K. Recovery of ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae* from pediatric liver and intestinal transplant recipients. *Pediatr Transplant* 1998 Aug; 2(3):224-30.
- (276) Haddy RI, Lee M, III, Sangal SP, Walbroehl GS, Hambrick CS, Sarti GM. *Klebsiella pneumoniae* bacteremia in the community hospital. *J Fam Pract* 1989 Jun; 28(6):686-90.
- (277) Hansen DS, Gottschau A, Kolmos HJ. Epidemiology of *Klebsiella* bacteraemia: a case control study using *Escherichia coli* bacteraemia as control. *J Hosp Infect* 1998 Feb; 38(2):119-32.
- (278) Hervas JA, Alomar A, Salva F, Reina J, Benedi VJ. Neonatal sepsis and meningitis in Mallorca, Spain, 1977-1991. *Clin Infect Dis* 1993 May; 16(5):719-24.
- (279) Hurley JC, Russell EG, Harrington G, Spicer WJ. Investigation of an apparent cluster of *Klebsiella pneumoniae* bacteremias using random amplified polymorphic DNA analysis. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1996 Nov; 17(11):743-5.
- (280) Paterson DL, Ko WC, Mohapatra S. *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: impact fo extended-spectrum β -lactamase production in a global study of 216 patients. Program and abstracts 34th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy . 1997.
Ref Type: Abstract
- (281) Siu LK, Lu PL, Hsueh PR, Lin FM, Chang SC, Luh KT, et al. Bacteremia due to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in a pediatric oncology ward: clinical features and identification of different plasmids carrying both SHV-5 and TEM-1 genes. *J Clin Microbiol* 1999 Dec; 37(12):4020-7.
- (282) Wang LS, Lee FY, Cheng DL, Liu CY, Hinthorn DR, Jost PM. *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: analysis of 100 episodes. *J Formos Med Assoc* 1990 Sep; 89(9):756-63.
- (283) Watanakunakorn C, Jura J. *Klebsiella bacteremia*: a review of 196 episodes during a decade (1980- 1989). *Scand J Infect Dis* 1991; 23(4):399-405.

Refinamento de análise de fatores de risco para infecções hospitalares por *Klebsiella pneumoniae* produtora de β -lactamase de espectro estendido: seleção apropriada do grupo controle é suficiente?

- (284) Yinnon AM, Butnaru A, Raveh D, Jerassy Z, Rudensky B. *Klebsiella* bacteraemia: community versus nosocomial infection. QJM 1996 Dec;89(12):933-41.
- (285) Blot SI, Vandewoude KH, Colardyn FA. Clinical impact of nosocomial *Klebsiella* bacteremia in critically ill patients. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2002 Jun;21(6):471-3.
- (286) Garner JS, Jarvis WR, Emori TG, Horan TC, Hughes JM. CDC definitions for nosocomial infections, 1988. Am J Infect Control 1988 Jun;16(3):128-40.
- (287) Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. Chest 1992 Jun 1;101(6):1644-55.
- (288) Hosmer DW, Lemeshow S. Applied Logistic Regression. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, Inc.; 2000.
- (289) The cost of antibiotic resistance: effect of resistance among *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, and *Pseudomonas aeruginosa* on length of hospital stay. Infect Control Hosp Epidemiol 2002 Feb;23(2):106-8.
- (290) Ibrahim MA, Spitzer WO. The case control study: consensus and controversy. J Chronic Dis 1979;32(1-2):1-190.
- (291) Kaye KS, Harris AD, Gold H, Carmeli Y. Risk factors for recovery of ampicillin-sulbactam-resistant *Escherichia coli* in hospitalized patients. Antimicrob Agents Chemother 2000 Apr 1;44(4):1004-9.
- (292) Wacholder S, Silverman DT, McLaughlin JK, Mandel JS. Selection of controls in case-control studies. II. Types of controls. Am J Epidemiol 1992 May 1;135(9):1029-41.
- (293) Garcia San Miguel L, Coque TM, Valverde A, Diz S, Grill F, Baquero F, et al. Epidemiological and clinical factors associated to isolation of ESBL-*Klebsiella pneumoniae*. Washington,D.C.: American Society for Microbiology; 2004.
- (294) Bonten MJ, Slaughter S, Ambergen AW, Hayden MK, van Voorhis J, Nathan C, et al. The role of "colonization pressure" in the spread of vancomycin-resistant enterococci: an important infection control variable. Arch Intern Med 1998 May 25;158(10):1127-32.
- (295) Moreira BM, Martins IS, Pessoa da Silva CL, Rille LW. Epidemiology of endemic extended-spectrum β -lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* at an intensive care unit in Rio de Janeiro, Brazil. Washington,D.C.: American Society for Microbiology; 2004.

IV – ANEXO

FICHA CLÍNICA

No. __ Data: __/__/__

Influência da seleção do grupo controle na análise de fatores de risco para infecções hospitalares por *Klebsiella pneumoniae* produtora de ESBL

1º PASSO: DADOS DO LABORATÓRIO DE BACTERIOLOGIA DOS HOSPITAIS

Nome do Paciente: _____ Idade: ____ Sexo []
 Registro: _____ Leito: _____ Data da internação: __/__/__ e da alta: __/__/__

Amostra de *Klebsiella pneumoniae*

Espécime clínico [] Registro do exame: _____ Data do isolamento: __/__/__

2º PASSO: DADOS CLÍNICOS

Hospital [] Unidade []

Diagnóstico da hospitalização [] Condição imunossupressora []

Antibióticos usados por >3 dias no último mês até antes de tratar a *Klebsiella pneumoniae* ou antes do preenchimento da ficha de paciente controle **não** [] **sim** [] **qual**
 penicilina [] cefalotina [] cefuroxima [] ceftriaxona, cefotaxima ou ceftazidima [] cefepima []
 cefamicina [] imipeném [] aztreonam [] amoxicilina/clavulanato ou ampicilina/sulbactam []
 aminoglicosídeo [] glicopeptídeo [] cloranfenicol, clindamicina ou metronidazol [] quinolona []
 outro []

Procedimento invasivo [] [] [] [] [] [] [] [] [] []

Síndrome por *Klebsiella pneumoniae*

Síndrome []
 Antibiótico usado no tratamento []
 Desfecho clínico []

3º PASSO: RESULTADOS DOS LABORATÓRIOS DE REFERÊNCIA

Disco difusão: AMP [] CFL [] CFO [] CRX [] CRO [] CTX [] CPZ [] CAZ [] CPM [] IPM [] ATM []
 AMC [] GEN [] AMI [] CIP [] SUT []

Teste de Adição de ácido clavulânico []

Itens de preenchimento da ficha clínica

Espécime clínico

1. Sangue
2. Secreção respiratória
3. Secreção de ponta de cateter
4. Secreção de ferida operatória
5. Urina
6. Outro

Hospital

1. Conceição e Cristo Redentor
2. Santa Casa
3. São Lucas (PUC)

Unidade

1. Unidade de Terapia Intensiva
2. Unidade Médica
3. Unidade Cirúrgica
4. Unidade Obstétrica
5. Oncologia-hematologia
6. Outra

Antibiótico usado no tratamento

1. Ampicilina
2. Cefalosporina
3. Aztreonam
4. β -lactâmico/inibidor de β -lactamase
5. Carbapenêmico
6. Aminoglicosídeo
7. Quinolona
8. Outro

Diagnóstico da hospitalização

- | | |
|----|--|
| 1 | Doenças Infecciosas |
| 2 | Complicações da gestação e do puerpério |
| 3 | Doenças do Sistema Nervoso Central (SNC) |
| 4 | Doenças do Aparelho Respiratório |
| 5 | Doenças do Aparelho Digestivo |
| 6 | Doenças Cardiovasculares |
| 7 | Doenças Genitourinárias |
| 8 | Transplante de Órgão |
| 9 | Trauma e Queimadura |
| 10 | Doenças da Pele e do Tecido Celular Subcutâneo |
| 11 | Desordens mentais |
| 12 | Outras |

Síndrome por *K. pneumoniae*

1. Colonização
2. Sepses
3. Infecção respiratória
4. Infecção urinária
5. Infecção intraabdominal
6. Infecção de sítio cirúrgico
7. Outro (inclui infecção relacionada a cateter, exceto da corrente sanguínea)

Procedimento invasivo

1. Diálise
2. Cateter venoso central
3. Tubo traqueal
4. Cateter urinário
5. Cirurgia
6. Outro
7. Número de procedimentos invasivos

Desfecho clínico

1. Cura ou melhora clínica
2. Óbito
3. Não se aplica

Teste de disco difusão

1. Susceptível
2. Intermediário
3. Resistente

Teste de adição

1. Positivo
2. Negativo

Condição imunossupressora

- | | |
|---|-------------------|
| 1 | Infecção pelo HIV |
| 2 | Diabete |
| 3 | Neoplasia |
| 4 | Quimioterapia |
| 5 | Corticoterapia |

TESE DE DOUTORADO

Refinamento de análise de fatores de risco para infecções hospitalares por *Klebsiella pneumoniae* produtora de β -lactamase de espectro estendido: seleção apropriada do grupo controle é suficiente?

V – ARTIGO EM INGLÊS

CONTROL GROUP SELECTION INFLUENCE ON RISK FACTOR ANALYSIS FOR NOSOCOMIAL EXTENDED SPECTRUM β -LACTAMASE-PRODUCING *Klebsiella pneumoniae* INFECTION

Paulo Renato Petersen Behar – Infectious Diseases, Department of Internal Medicine, Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre (FFCMPA) and Antibiotic Management Program, Infection Control Commission, Hospital Nossa Senhora da Conceição / Grupo Hospitalar Conceição, Porto Alegre, RS, Brazil.

Paulo José Zimermann Teixeira – Pavilhão Pereira Filho – Pulmonary Medicine Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e Centro Universitário Feevale de Novo Hamburgo – RS, Brazil.

Jandyra Maria Guimarães Fachel – Department of Statistics, Mathematic Institute, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Corresponding author:

Paulo R. P. Behar, Av. Bagé, 1292/301. Porto Alegre, RS. 90.460-080. Brazil.

Phone: 55 51 91913641; fax: 55 51 33434442, behar@terra.com.br

Background. There are few risk factor studies for nosocomial extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Klebsiella pneumoniae* infections, mainly in the respiratory tract and methodological approaches to ideal case-control studies of resistant pathogens are under discussion, because of conflicting results. **Methods.** In order to evaluate the influence of methodology on the results of risk factor analysis for ESBL-producing *K. pneumoniae* infections, 4 parallel case-control studies were conducted enrolling 364 patients using three sets of case patients and 2 control groups. Patients with ESBL-producing *K. pneumoniae* were compared with different control groups: patients with the susceptible form of the organism (type 1), and patients among whom the case patients arose from the same source population (type 2). **Results.** There was no association between ESBL-producers and respiratory infection. Time at risk was identified as a risk factor in all four studies, with descending magnitudes of odds ratios (ORs) from studies 1 to 4: 7.92, 5.18, 4.51, and 2.87. Central venous catheter was identified in studies that included ESBL-producers. Prior antibiotic use was identified as risk factor in studies 1 and 3. Using control type-1, magnitudes of ORs were lower than when control-type-2 was used: 7.92 x 5.18 for time at risk, and 5.80 x 2.64 for central venous catheter. Prior antibiotic could not be identified as risk factor with the control group type-1. **Conclusions.** Selection of control patients from the potentially suboptimal control type-1 underestimated the ORs and the factors analyzed. Conflicting results continue to occur even when methodological issues are refined.

The first extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing organisms were isolated two decades ago. (1-4). Knowledge regarding to the risk factors involved in infections caused by these organisms is still incomplete (5-9). Few case-control studies searching for risk factors associated to ESBL-producing *K. pneumoniae* infections have been done (10-13). As a consequence, evidence for the optimal control measures for infections caused by this pathogen is still lacking. Also, these studies diverse much in design and have yielded conflicting results (14;15). The appropriate selection of the control group and definition of case patients have been debated and refined in more recent studies (8).

The first description of this pattern of resistance was published in 1983 (2), and standardization by National Committee for Laboratory Standards (NCCLS) occurred in 1999 (16). Therefore, the inclusion criteria for the case patients may have varied during these years because of the different methods used for the characterization of ESBL production (16-20). Studies have also shown differences in controlling for time at risk, severity of illness, and statistical analysis techniques (5). Other problems include the failure to distinguish colonization from true infection, small sample size, and the inclusion of a non-representative patient population, the limiting of the investigation to patients in intensive care units (ICU) or during outbreaks (6) as well as other variations.

The present study was designed to verify how the selection of the control group may affect the detection of risk factors for endemic nosocomial ESBL-producing *K. pneumoniae* infections. We also looked for potential associations between this infection and specific sites of infection.

MATERIALS AND METHODS

Study design.

All nosocomial consecutive isolates of *K. pneumoniae*, except repetitions, corresponding to a unique adult patient, between May 1st, 1999 and November

30, 1999, obtained from any clinical specimen from routine care of the studied population were prospectively collected. Susceptibility testing and interpretative criteria of the standard phenotypic confirmatory test of NCCLS using both ceftazidime and cefotaxime disks alone and in combination with clavulanic acid were performed. (16;19;20). All isolates were processed for ESBL production in one of two reference microbiology laboratories.

Four observational parallel case-control studies were performed. We used three definitions for the cases and two for the control groups. Within 48 hours after detecting a positive culture in the hospital laboratories a revision of inpatient medical records and a questionnaire addressing demographic and clinical issues was performed. Another patient from the same hospital and unit, but with no positive culture for *K. pneumoniae* was evaluated for the control group at the same time period. Communication to the primary physician was also made whenever necessary in order to thoroughly complete the dataset. This 1–1 matching produced the first subpopulations of the study. Only after all clinical data were collected, the tests for detection of ESBL production were performed producing 2 new categories of patients according to the detection of production of the enzyme – the ESBL-producing and the non-ESBL producing groups.

Setting. The study was performed at three large tertiary-care teaching hospitals in Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil, comprising approximately 3,450 beds. The studies were approved by the institutional boards.

Case definition. Cases were defined by the diagnosis of nosocomial acquired infections with *K. pneumoniae*. Additionally, true infection was characterized by utilizing the Centers for Disease Control and Prevention's (CDC) criteria for infection (21). In cases of sepsis, the clinical standard definitions (22) were also used. Nosocomial acquisition of infection was defined as follows: infection that occurred >48 h after admission to the hospital; infection that occurred <48 h after admission to the hospital, for patients who had been hospitalized within the 2 weeks prior to admission; and infection that occurred <48 h after admission to

the hospital, for patients who had transferred from an outside health care institution.

After detection of ESBL production by the isolates, these patients were stratified in patients with "ESBL-producing" isolates (case patients for studies 1 and 2) and patients with "non-ESBL-producing" isolates (case patients for study 4). Case patients for study 3 were defined as those with "nosocomial acquired infection caused by *K. pneumoniae*", independent of the ESBL status.

Control-group definition. Two different control groups were identified for this study: patients with nosocomial infection caused by the "susceptible form" of the organism (type-1 control group), and patients whom arose from the "same source population" as the case-patients and had no positive cultures for *K. pneumoniae* (type-2 control group).

Risk factors. Potential risk factors for nosocomial *K. pneumoniae* infection and for nosocomial ESBL-producing *K. pneumoniae* infection included age, gender, hospital, hospital location (including ICU stay), time at risk (total hospital days), clinical specimen (blood, respiratory secretions, catheter tip, surgical site secretion, urine, other), infectious disease caused by *K. pneumoniae*, and principal diagnosis and other comorbid conditions. The interval of time between hospitalization and isolation of *K. pneumoniae*, here termed hospital days prior to *K. pneumoniae* isolation, was also investigated in study 2. The following infectious syndromes caused by *K. pneumoniae* were considered: sepsis, lower respiratory tract infection including pneumonia and purulent tracheobronchitis, urinary tract infection, intraabdominal infection, and surgical site infection. The other syndromes like catheter insertion site infection, and nervous central system infection were recorded in the same category. Time at risk was studied as a binary variable for total hospital days (\leq or $>$ 4 weeks). In study 2, hospital days in both groups, prior to *K. pneumoniae* isolation, were compared.

Invasive procedures such as more than 24 hours of use of central venous catheters, urinary catheters, tracheal tube and mechanical ventilation; total parenteral nutrition within the previous week; dialysis, surgery or trauma within the previous 30 days of hospitalization were also recorded. All, except the first, were grouped as "other procedures".

In addition, the following immunosuppressing conditions were documented: malignancy, diabetes mellitus, neutropenia, human immunodeficiency virus infection, use of immunosuppressive agents within the previous 30 days, history of organ transplantation, and recent chemotherapy administration. Neutropenia was defined as an absolute neutrophil count of less than 500 mm³. Corticosteroid use was defined as the receipt of prednisone at a dosage of at least 20 mg/d (or equivalent) for at least 2 weeks.

Aspects of severity of illness were assessed by comparing ICU stay, sepsis, comorbid illnesses (5) and immunosuppressive conditions in all groups of patients of the 4 studies. At the end of hospitalization, the clinical outcome, recovery or death, were also recorded for each patient.

All antibiotics received in the previous 30 days were documented, except the 3 days prior to isolation of the organism for patients with infection or until the application of the questionnaire to control group type-2. Antibiotics included cephalosporins, aztreonam, imipenem, other β -lactams and β -lactam/ β -lactamase inhibitor combinations, aminoglycosides, clindamycin, chloramphenicol, quinolones, trimethoprim-sulfamethoxazole, macrolides, tetracyclines, metronidazole, and vancomycin.

Statistical analysis. All statistical analyses were performed using SPSS software, version 11.0. Bivariate analyses were performed separately for each of the variables. Odds ratios (ORs) and 95% confidence intervals (CIs) were obtained for binary variables (the p value cut off to include the variable into the multivariable analysis was $<.25$); χ^2 test, for categorical variables; and Student's *t* test for continuous variables. Logistic regression model for multivariable analysis

was conducted using conditional method for the three paired case-control studies 1, 3 and 4, and traditional binary logistic regression method for study 2. A backward deletion process was used. Risk factors were checked for confounding and collinearity. Confounding variables were included in the multivariable models if covariate inclusion changed the coefficient of any statistically significant variable in the logistic-regression model by $>10\%$. Controlling for length of hospital stay (time at risk) was accomplished by including it as a variable in the logistic-regression model (15). All tests were 2-tailed, and a P value of $\leq .05$ was considered significant in the multivariable model.

RESULTS

In the present study, 186 *K. pneumoniae* isolates were obtained. The corresponding patients and their 1–1 matched control group type-2 were enrolled in study 3 totalizing 372 patients. The prevalence of ESBL-producing *K. pneumoniae* as a pathogen of nosocomial infection was 61.3% (114/186). This result allowed the case patients of study 3 to be subgrouped in case patients for studies 1 and 2 (114 ESBL-producing *K. pneumoniae* infected patients) and case patients for study 4 (72 non-ESBL-producing *K. pneumoniae* infected patients). Case patients for studies 1, 3 and 4 were compared to type-2 control group (same source population) that was 1–1 matched. Study 2 compared 114 ESBL-producing *K. pneumoniae* infected patients (cases) to 72 non-ESBL-producing *K. pneumoniae* infected patients (type-1 control group).

Case patients and control group were homogeneous in each study with respect to demographic data and variables described in Materials and methods section. The results of multivariate risk-factor analysis of the studies are presented in Tables 1 to 4. For concision, only data for the logistic-regression analysis of the four studies are presented in the Results section.

Time at risk was identified as a statistically significant risk factor in all four studies, with descending odds ratio magnitude from study 1 to 4 showing that not

only resistant but also susceptible forms of *K. pneumoniae* were significantly associated with prolonged hospitalization. Mean hospital days prior to *K. pneumoniae* isolation was 13.24 ± 17.39 and 29.80 ± 28.01 ($P < .001$) for non-ESBL and for ESBL-producers respectively (study 2). Central venous catheter was identified as a risk factor in studies 1, 2 and 3. Other invasive procedures were identified in study 1. Prior antibiotic use was identified as risk factor in studies 1 and 3.

DISCUSSION

The main question of the present study was to evaluate the influence of control-group selection on the identification of risk factors for nosocomial acquired ESBL-producing *K. pneumoniae*. To our knowledge, the present work is the first case-control study evaluating the risk factors for all types of endemic nosocomial infections caused by ESBL-producing *K. pneumoniae*.

The use of case-control design has generated substantial controversy among epidemiologists (23). In order to diminish these methodological problems, refinement of selection of control group has been recently proposed (5;15;24). The most appropriate control group appears to be a random sample of all hospitalized patients, which represented the source population from which both resistant and susceptible pathogen infected patients are derived (25). Furthermore, members of a control group should be selected independently of their exposure status (26). In the present study, such refinement was accomplished. The type-2 control group did not have a clinical positive culture at the time of data collection. This fact did not guarantee that control patients were not colonized because no surveillance cultures were performed. Moreover, control patients may have had *K. pneumoniae* infection after that moment. These facts were potential limitations of the current study, but at the same time they ensured that the control group was selected independently of their exposure status.

Studies 1 and 2 addressed these questions more directly. The intention to more thoroughly explore the issue of which is the most adequate control group, study 3 (all *K. pneumoniae* infections), and, study 4, (all non-ESBL producers), were performed to observe any coincident or discordant risk factor identified for the susceptible and for the resistant pathogen's forms. Time at risk was a statistically significant risk factor in all four studies. ESBL-producing *K. pneumoniae* infections occurred after approximately one month of hospitalization, while susceptible organism infections occurred after approximately 2 weeks. This result has been observed in another study (27). Other risk factors like invasive procedures and prior antibiotic use, conditions extensively identified for any resistant bacteria (6;27), were also recognized in these data.

There are specific biases that can occur in case-control studies that analyze risk factors for antibiotic resistant organisms (5;8;15;24). If patients from whom acquired antibiotic-susceptible bacteria were used as a control group for patients from who acquired antibiotic-resistant bacteria, the inference might be that a resistant bacterial isolate in a given patient arose from a previously susceptible population of the same bacteria in that individual, but in most instances, the more likely scenario is the acquisition of a resistant strain according to some authors (25). Therefore, patients infected with susceptible isolates represent only a portion of the source population from which the patients infected with resistant isolates arose. By using patients infected with antibiotic-susceptible isolates as controls, the effect estimates (or odds ratios) of prior use of antibiotic as a risk factor might be biased. These patients are less likely than patients infected with resistant isolates to have been exposed to an antibiotic active against the susceptible strain. In this situation, a variable identified as a risk factor might actually protect against the isolation of a susceptible organism rather than confer true risk for isolation of a resistant organism. Papers by leaders in the subject have emphasized that this design overestimate the contribution of the resistance-defining antibiotic in the development of resistance (5;15;24).

Additionally, some antibiotics may be falsely implicated as potential risk factors (8).

Contrary to other studies (9;15) the use of control type-1 in the present study lead to an underestimation of the magnitude of ORs for the risk factors identified. Maybe other methodological issues and other pathogen specific attributes could explain this different result. When the suboptimal control type-1 was used, even prior antibiotic use could not be identified as a risk factor for nosocomial ESBL-producing *K. pneumoniae* infection. Probably, the prospective collected data of our study using more accurate classification of infectious syndromes opens a gap not explored before other non-methodological issues that could have biased the identification of risk factors. Antibiotic pressure and bacterial resistance are not the only attributes a pathogen needs to colonize or to infect patients. Pathogen-host interactions may play a role in the identification or on the magnitude of risk factors. Colonization factors or adhesins of *K. pneumoniae* to the human gut have been found in the majority of CAZ-5/SHV-4 producers (28). ESBL-producing *K. pneumoniae*, more commonly TEM than SHV-producers, have a greater pathogenic potential than non-ESBL-producing strains (29). In this way, differences found in studies may be in part due to the failure to distinguish colonization from true infection (6;8). Absence of any underlying disease was associated to CTX-M-10 enzyme but not to SHV, TEM, CTX-M-9 or CTX-M-14 producers in one study (30) showing that specific patient medical conditions may be linked to specific ESBLs, another cause of diverse results. In the studies presented in Table 5, except one (12) and the present work, colonized and infected patients are lumped together. Another possible explanation for the differences among studies is the prevalence of different clones of ESBL producers among different hospitals or regions, and even in the same hospital (30). This factor could potentially account for differences in the magnitude of antibiotic selective pressure. Also, the phenotypic resistance detected here and in most of

other studies may not reflect the multiple mechanisms by which antibiotic resistance may arise.

The selected studies in Table 5 fulfilled most of the methodological principles and recommendations for addressing risk factors for resistant pathogens (5). The studies evaluating *K. pneumoniae* and other ESBL-producing organisms like *E. coli* at the same time were not included to avoid confounding introduced by further differences among these pathogens (2; 31-33). The general view summarized illustrates that there are many differences in case-control studies contributing to apparent contradictory results. They can be partially explained by differences in the settings, research questions, or pathogen attributes'.

Although we were unable to assess the role of patient-to-patient transmission, horizontal transfer and colonization pressure have been demonstrated to be important (34). However, it is likely that not accounting for patient-to-patient transmission would bias toward the null—that is, among patients who acquire the organism from another patient, the importance of antibiotics as causal components may be diminished, because patient-to-patient transmission is the principal causal factor (15). Conversely, an epidemiologic study of endemic ESBL-producing *K. pneumoniae*, in this particularity similar to the present work, found that each organism isolated belonged to a different genotype, showing the cross-transmission did not play a role for ESBL-producing *K. pneumoniae* in this setting (35). This study concluded that their results were different from those described by others in outbreak situations (35).

In conclusion, no association with specific sites of infection was detected among patients with ESBL-producing *K. pneumoniae*. The selection of control patients from the potentially suboptimal control type-1 underestimated the ORs magnitude of the factors analyzed for resistant *K. pneumoniae* infections. Our study could not identify prior antibiotic use and invasive procedures other than central venous catheter as risk factors for nosocomial ESBL-producing *K.*

pneumoniae infection. These findings contrast to previous studies and to the recently proposed methodological approach regarding antibiotic use as a risk factor in case-control studies for resistant pathogens. As conflicting results continue to occur even when methodological issues are more refined, improvements are still needed for identification of valid risk factors and appropriate targets for interventions aimed to control the increasing emergence of ESBL-producing *K. pneumoniae*.

Acknowledgments

Beatriz Meurer Moreira – Department of Medical Microbiology, Universidade Federal do Rio de Janeiro - by performing tests for ESBL in part of the isolates.

Ivonyr T. A. Kader e Cícero Dias – Department of Microbiology and Parasitology, Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre - by providing auxiliary support for tests for ESBL performed in part of the isolates.

Directors of Hospital Nossa Senhora da Conceição / Grupo Hospitalar Conceição and Managers of Teaching and Research of the institution.

Financial support

There was no financial support for the present study.

Conflict of interest

Paulo Renato Petersen Behar. No conflict.

Paulo José Zimmermann Teixeira. No conflict.

Jandyra Fachel. No conflict.

Tables

Table 1. Study 1. Multivariable analysis^a of risk factors for nosocomial ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae* infection (cases) versus type-2^b control group.

Risk factor	OR	(95% CI)	<i>P</i>
Age	1.01	(0.98-1.04)	0.461
Time at risk	7.92	(3.22-19.46)	<0.001
Prior antibiotic	3.36	(1.38-8.22)	0.008
Central venous catheter	5.80	(1.76-19.14)	0.004
Other invasive procedure	4.24	(1.20-15.00)	0.025
Immunosuppressive condition	1.08	(0.47-2.50)	0.862

^a Conditional logistic regression. ^b Patients among whom the case patients arose from the same source population.

Table 2. Study 2^a. Multivariable analysis of risk factors for nosocomial ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae* infection (cases) versus type-1^b control group.

Risk factor	OR	(95% CI)	<i>P</i>
Age	0.99	(0.97-1.01)	0.339
Time at risk	5.18	(2.55-10.50)	<0.001
Prior antibiotic	1.05	(0.51-2.20)	0.888
Central venous catheter	2.64	(1.01-6.93)	0.048
Other invasive procedure	1.55	(0.56-4.28)	0.400
Immunosuppressive condition	0.74	(0.38-1.46)	0.389
<i>K. pneumoniae</i> LTRI ^c or sepsis	1.13	(0.56-2.27)	0.726

^a Logistic regression. ^b Patients infected by the susceptible form of the organism. ^c Lower tract respiratory infection

Table 3. Study 3. Multivariable analysis^a of risk factors for nosocomial *Klebsiella pneumoniae* infection^b (cases) versus type-2^c control group.

Risk factor	OR	(95% CI)	P
Age	1.01	(1.00-1.03)	0.141
Time at risk	4.51	(2.59-7.85)	<0.001
Prior antibiotic	2.39	(1.29-4.42)	0.006
Central venous catheter	2.37	(1.13-4.97)	0.022
Other invasive procedure	1.72	(0.79-3.77)	0.173
Immunosuppressive condition	1.46	(0.84-2.52)	0.176

^a Conditional logistic regression. ^b All cases, independent of the ESBL status. ^c Patients among whom the case patients arose from the same source population.

Table 4. Study 4. Multivariable analysis^a of risk factors for nosocomial non-ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae* infection (cases) versus type-2^b control group.

Risk factor	OR	(95% CI)	P
Age	1.01	(0.99-1.03)	0.518
Time at risk	2.87	(1.24-6.61)	0.013
Prior antibiotic	1.44	(0.56-2.20)	0.447
Central venous catheter	1.17	(0.40-3.43)	0.781
Other invasive procedure	0.94	(0.32-2.80)	0.910
Immunosuppressive condition	2.05	(0.92-4.56)	0.078

^a Conditional logistic regression. ^b Patients among whom the case patients arose from the same source population.

Table 5. Case-control studies of ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae* selected by methodological recommendations (5;8).

Study	Setting	Objective	Q	Case	Test	n	MR1	n	MR2	MR3	Risk or protective factor	MV OR	(95%CI)	P
(10)	ICU recurrent colonization outbreak, Dijon, France, 1994-1996	Transmission	Q1.1	D1	T1	51	Type 2	51	Yes	Yes	Duration of intubation	1.19	ND	.03
		Colonization/infection			T5						β -lactam inhibitor therapy	0.85	ND	.04
											Restricted OI- β -lactams	0.7	ND	.003
(12)	C- & H-A bacteremias, 7 countries, 1996-1997	CIP-R	Q1.3	D3	T4	25	Type 1	427	No	Yes	Quinolone	ND	ND	.0065
		CDC definitions			T5						ESBL-producing strain	ND	ND	.012
											Turkish center	ND	ND	.011
		CIP-R/ESBL-Kp									18% CIP-R and ESBL-Kp			
(11)	Pediatric ICU Outbreak, Madrid, Spain, 1997-1998	Colonization/infection	Q1.1	D1	T2	10	Type 2	32	Yes	Yes	Age <12 weeks	12.6	(1.9- 94.9)	ND
		ESBL + AG-R									Days of hospitalization	ND	ND	.014
											Days nasogastric tube	ND	ND	.008
											Days with IV catheter	ND	ND	.020
											Prior AG	10.2	(1.5- 109)	ND
											Prior 3d GC	17.8	(1.8-411)	ND
											Prior 3d GC and AG	21.6	(2.8-240)	ND
(13)	C- & H-A	Colonization/infection	Q1.1	D1, D3, D4	T4	43	Type 1	86	Yes	No	Prior ceftazidime	13.40	(1.21-148.85)	.035

	Endemic ESBL-Kp isolates, Taiwan, 2001	CDC definitions							Tracheostomy	5.13	(1.24-21.1)	.023
Present study	Endemic ESBL-Kp nosocomial infections, Porto Alegre, Brazil, 1999	Infections, CDC definitions and clinical criteria	Q1.3	D3	T3		Yes	Yes				
				ESBL-Kp	114	Type 2	114		Time at risk	7.92	(3.22-19.46)	<.001
									Central venous catheter	5.80	(1.76-19.14)	.004
									Other invasive procedure	4.24	(1.20-15.00)	.025
									Prior antibiotic	3.36	(1.38-8.22)	.008
				ESBL-Kp	114	Type 1	72		Time at risk	5.18	(2.55-10.50)	<.001
									Central venous catheter	2.64	(1.01-6.93)	.048
				Kp	186	Type 2	186		Time at risk	4.51	(2.59-7.85)	<.001
									Prior antibiotic	2.39	(1.29-4.42)	.006
									Central venous catheter	2.37	(1.13-4.97)	.022
				Non-ESBL-Kp	72	Type 2	72		Time at risk	2.87	(1.24-6.61)	.013

Q – research question: Q1.1 – risk factors for acquiring antibiotic-resistant pathogen X among hospitalized patients; Q1.2 – risk factors for colonization with antibiotic-resistant pathogen X among hospitalized patients; Q1.3 – risk factors for infection caused by antibiotic-resistant pathogen X among hospitalized patients; Q2 – risk factors for emergence of antibiotic-resistance in pathogen X among patients previously infected or colonized with antibiotic-susceptible pathogen; MR1 – patients drawn from the same population as case patients (control group type-2); Type-1 – control group type-1: patients with the susceptible form of the organism; MR2 – adjustment for time at risk; MR3 – adjustment for severity of illness; MV OR – multivariate odds ratio, 95% CI – 95% confidence interval; D1 – patients with any clinical specimen exhibiting the resistance phenotype under study; D2 – patients with unequivocal significant isolates; D3 – patients with an infection defined by clinical criteria; D4 – patients with colonization; Test – ESBL tests: T1: double-disk-synergy test (Legrand, 1989); T2: double-disk-synergy test (Jarlier, 1988); T3: NCCLS phenotypic confirmatory combination disk test (1999 and 2002); T4: NCCLS phenotypic confirmatory minimal inhibitory concentration (2002); T5: molecular techniques; ND – not described; OI- β -lactams – oxyimino- β -lactams; C- & H-A – community- & hospital-acquired; CIP-R: ciprofloxacin-resistant; ESBL-Kp – ESBL-producing *K. pneumoniae*; AG-R – aminoglycoside resistant; 3d GC – 3rd generation cephalosporins

References

- (1) Casellas JM, Goldberg M. Incidence of strains producing extended spectrum β -lactamases in Argentina. *Infection* 1989 Nov; 17(6): 434-6.
- (2) Knothe H, Shah P, Krcmery V, Antal M, Mitsuhashi S. Transferable resistance to cefotaxime, ceftazidime, ceftazidime-avibactam and ceftazidime-avibactam in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection* 1983 Nov; 11(6): 315-7.
- (3) Brun-Buisson C, Legrand P, Philippon A, Montravers F, Ansquer M, Duval J. Transferable enzymatic resistance to third-generation cephalosporins during nosocomial outbreak of multiresistant *Klebsiella pneumoniae*. *Lancet* 1987 Aug 8; 2(8554): 302-6.
- (4) Sirot D, Sirot J, Labia R, Morand A, Courvalin P, Darfeuille-Michaud A, et al. Transferable resistance to third-generation cephalosporins in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*: identification of CTX-1, a novel β -lactamase. *J Antimicrob Chemother* 1987 Sep; 20(3): 323-34.
- (5) Harris AD, Karchmer TB, Carmeli Y, Samore MH. Methodological principles of case-control studies that analyzed risk factors for antibiotic resistance: a systematic review. *Clin Infect Dis* 2001 Apr 1; 32(7): 1055-61.
- (6) Lautenbach E, Patel JB, Bilker WB, Edelstein PH, Fishman NO. Extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: risk factors for infection and impact of resistance on outcomes. *Clin Infect Dis* 2001 Apr 15; 32(8): 1162-71.
- (7) Bisson G, Fishman NO, Patel JB, Edelstein PH, Lautenbach E. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* species: risk factors for colonization and impact of antimicrobial formulary interventions on colonization prevalence. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2002 May; 23(5): 254-60.
- (8) Paterson DL. Looking for risk factors for the acquisition of antibiotic resistance: a 21st-century approach. *Clin Infect Dis* 2002 Jun 15; 34(12): 1564-7.
- (9) Bolon MK, Wright SB, Gold HS, Carmeli Y. The Magnitude of the Association between Fluoroquinolone Use and Quinolone-Resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* May Be Lower than Previously Reported. *Antimicrob Agents Chemother* 2004 Jun 1; 48(6): 1934-40.
- (10) Piroth L, Aube H, Doise JM, Vincent-Martin M. Spread of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*: are β -lactamase inhibitors of therapeutic value? *Clin Infect Dis* 1998 Jul; 27(1): 76-80.
- (11) Asensio A, Oliver A, Gonzalez-Diego P, Baquero F, Perez-Diaz JC, Ros P, et al. Outbreak of a multiresistant *Klebsiella pneumoniae* strain in an intensive care unit: antibiotic use as risk factor for colonization and infection. *Clin Infect Dis* 2000 Jan; 30(1): 55-60.

- (12) Paterson DL, Mulazimoglu L, Casellas JM, Ko WC, Goossens H, Von Gottberg A, et al. Epidemiology of ciprofloxacin resistance and its relationship to extended-spectrum β -lactamase production in *Klebsiella pneumoniae* isolates causing bacteremia. Clin Infect Dis 2000 Mar; 30(3): 473-8.
- (13) Lin MF, Huang ML, Lai SH. Risk factors in the acquisition of extended-spectrum beta-lactamase *Klebsiella pneumoniae*: a case-control study in a district teaching hospital in Taiwan. J Hosp Infect 2003 Jan; 53(1): 39-45.
- (14) Jacoby GA. Epidemiology of extended-spectrum beta-lactamases [editorial; comment]. Clin Infect Dis 1998 Jul; 27(1): 81-3.
- (15) Harris AD, Samore MH, Lipsitch M, Kaye KS, Perencevich E, Carmeli Y. Control-group selection importance in studies of antimicrobial resistance: examples applied to *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococci*, and *Escherichia coli*. Clin Infect Dis 2002 Jun 15; 34(12): 1558-63.
- (16) NCCLS. National Committee for Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility testing: ninth informational supplement. 6th. 1999. Wayne. NCCLS document M100-S9.: Approved Standard M7-A4.
Ref Type: Serial (Book, Monograph)
- (17) Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G, Philippon A. Extended broad-spectrum beta-lactamases conferring transferable resistance to newer beta-lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns. Rev Infect Dis 1988 Jul; 10(4): 867-78.
- (18) Legrand P, Fournier G, Bure A, Jarlier V, Nicolas MH, Decre D, et al. Detection of extended broad-spectrum beta-lactamases in Enterobacteriaceae in four French hospitals. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1989 Jun; 8(6): 527-9.
- (19) NCCLS. National Committee for Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility testing: eleventh informational supplement. [21], 40-44. 2001. Wayne. NCCLS document M100-S9.: Approved Standard M7-A4.
Ref Type: Serial (Book, Monograph)
- (20) NCCLS. National Committee for Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twelfth informational supplement. [22], 1-136. 2002. Wayne. NCCLS document M100-S12. Vol. 22. No. 1.
Ref Type: Serial (Book, Monograph)
- (21) Garner JS, Jarvis WR, Emori TG, Horan TC, Hughes JM. CDC definitions for nosocomial infections, 1988. Am J Infect Control 1988 Jun; 16(3): 128-40.
- (22) Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. Chest 1992 Jun 1; 101(6): 1644-55.
- (23) Ibrahim MA, Spitzer WO. The case control study: consensus and controversy. J Chronic Dis 1979; 32(1-2): 1-190.

- (24) Harris AD, Samore MH, Carmeli Y. Control group selection is an important but neglected issue in studies of antibiotic resistance. *Ann Intern Med* 2000 Jul 18; 133(2): 159.
- (25) Kaye KS, Harris AD, Gold H, Carmeli Y. Risk factors for recovery of ampicillin-sulbactam-resistant *Escherichia coli* in hospitalized patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2000 Apr 1; 44(4): 1004-9.
- (26) Wacholder S, Silverman DT, McLaughlin JK, Mandel JS. Selection of controls in case-control studies. II. Types of controls. *Am J Epidemiol* 1992 May 1; 135(9): 1029-41.
- (27) Rebuck JA, Olsen KM, Fey PD, Langnas AN, Rupp ME. Characterization of an outbreak due to extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a pediatric intensive care unit transplant population. *Clin Infect Dis* 2000 Dec; 31(6): 1368-72.
- (28) Di Martino P, Livrelli V, Sirot D, Joly B, Darfeuille-Michaud A. A new fimbrial antigen harbored by CAZ-5/SHV-4-producing *Klebsiella pneumoniae* strains involved in nosocomial infections. *Infect Immun* 1996 Jun; 64(6): 2266-73.
- (29) Sahly H, Aucken H, Benedi VJ, Forestier C, Fussing V, Hansen DS, et al. Increased Serum Resistance in *Klebsiella pneumoniae* Strains Producing Extended-Spectrum β -Lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2004 Sep 1; 48(9): 3477-82.
- (30) Garcia San Miguel L, Coque TM, Valverde A, Diz S, Grill F, Baquero F, et al. Epidemiological and clinical factors associated to isolation of ESBL-*Klebsiella pneumoniae*. Washington, D.C.: American Society for Microbiology; 2004.
- (31) De Champs C, Sirot D, Chanal C, Poupart MC, Dumas MP, Sirot J. Concomitant dissemination of three extended-spectrum β -lactamases among different Enterobacteriaceae isolated in a French hospital. *J Antimicrob Chemother* 1991 Apr; 27(4): 441-57.
- (32) Bauernfeind A, Rosenthal E, Eberlein E, Holley M, Schweighart S. Spread of *Klebsiella pneumoniae* producing SHV-5 β -lactamase among hospitalized patients. *Infection* 1993 Jan; 21(1): 18-22.
- (33) Philippon A, Arlet G, Lagrange PH. Origin and impact of plasmid-mediated extended-spectrum beta-lactamases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1994; 13 Suppl 1: S17-S29.
- (34) Bonten MJ, Slaughter S, Ambergen AW, Hayden MK, van Voorhis J, Nathan C, et al. The role of "colonization pressure" in the spread of vancomycin-resistant enterococci: an important infection control variable. *Arch Intern Med* 1998 May 25; 158(10): 1127-32.
- (35) Moreira BM, Martins IS, Pessoa da Silva CL, Rillely LW. Epidemiology of endemic extended-spectrum β -lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* at an intensive care unit in Rio de Janeiro, Brazil. Washington, D.C.: American Society for Microbiology; 2004.