

Uma revisão sobre metalo- β -lactamases

Claudia de Mello Bertoncheli¹, Rosmari Hörner^{2*}

¹Departamento de Análises Clínicas, Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal de Santa Maria,

²Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria

A emergência e disseminação da resistência aos antimicrobianos são problemas de grande importância mundial, particularmente entre patógenos nosocomiais de importância clínica como os bacilos Gram negativos não fermentadores e membros da família Enterobacteriaceae. O principal mecanismo de resistência desses patógenos é a produção de β -lactamases, que são enzimas que hidrolisam o anel β -lactâmico impedindo assim a ação dos antimicrobianos β -lactâmicos. As β -lactamases foram divididas em quatro classes de acordo com a sua estrutura primária e podem também ser classificadas dentro de dois grupos com base no seu mecanismo catalítico, isto é, serina- β -lactamases (Classes A, C e D) e metalo- β -lactamases (Classe B). As metalo- β -lactamases (M β L) utilizam íons divalentes, comumente zinco, como co-fator para sua atividade catalítica e são atualmente uma das classes que mais merece destaque, devido à sua capacidade de hidrolisar todos os antimicrobianos β -lactâmicos, incluindo os carbapenems. Estes antimicrobianos são utilizados no tratamento de infecções causadas por bactérias Gram-negativas multirresistentes e conseguem se manter estáveis frente às serina- β -lactamases. A detecção de microrganismos produtores de M β L tem por finalidade auxiliar a Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH) na prevenção da disseminação desse mecanismo de resistência no ambiente hospitalar e impedir que ele chegue até a comunidade, bem como enfatizar o uso racional dos antimicrobianos disponíveis para uso clínico, pois, atualmente, há poucos investimentos da indústria farmacêutica na pesquisa de novos agentes antimicrobianos.

Unitermos

- Resistência bacteriana
- β -lactamases
- Metalo- β -lactamases
- Bacilos Gram negativos/resistência

*Correspondência:

R. Hörner
Departamento de Análises Clínicas e
Toxicológicas
Centro de Ciências da Saúde
Universidade Federal de Santa Maria
97110-970 - Santa Maria - RS, Brasil
E-mail: rosmari.ufsm@gmail.com

INTRODUÇÃO

A introdução dos agentes antimicrobianos, na prática clínica, representou um dos grandes avanços na medi-

na para o tratamento dos mais diversos tipos de doenças infecciosas. No entanto, desde a introdução do primeiro antimicrobiano a resistência bacteriana a estes agentes vem sendo descrita e, atualmente, vem emergindo em ampla

variedade de patógenos tanto de origem nosocomial quanto comunitária (Powers, 2004). A emergência e disseminação de inúmeros microrganismos resistentes resultam da combinação de múltiplos fatores, tais como: mutações dos genes de resistência que aumentam seu espectro de atividade; troca de informações genéticas nas quais os genes de resistência são transferidos para novos microrganismos; pressão seletiva exercida pelas condições do meio que favorece a emergência e disseminação de microrganismos resistentes; proliferação e disseminação de clones multiresistentes as quais podem ocorrer em nível global (Tenover, 2001).

A resistência bacteriana pode ser definida como um conjunto de mecanismos de adaptação das bactérias contra os efeitos nocivos ou letais aos quais estão sendo expostas (Livermore, 1995). Um dos primeiros e mais efetivos mecanismos de resistência bacteriana conhecidos é a produção de β -lactamases, que são enzimas que catalisam a hidrólise do anel beta-lactâmico, inativando o antimicrobiano e impedindo, assim que ele apresente atividade contra as enzimas responsáveis pela síntese da parede celular bacteriana (Bush, 1988; Livermore, 1995; Rossolini, 2005). Os β -lactâmicos representam a classe de antimicrobianos mais utilizada clinicamente, sendo composta por: penicilinas, cefalosporinas, monobactâmicos e carbapenêmicos (Murray *et al.*, 2004).

A primeira β -lactamase foi descrita em 1940 por Abraham e Chain antes mesmo do uso da penicilina para o tratamento de infecções bacterianas (Bush, 1989). Desde então, inúmeras β -lactamases foram identificadas e vários esquemas de classificação foram propostos para agrupar estas enzimas de acordo com suas características bioquímicas e pela análise de suas estruturas moleculares (Bush, 1989, 2001; Livermore, 1995). As β -lactamases foram divididas de acordo com suas estruturas primárias em quatro classes (A a D), segundo Ambler (1980). E, de acordo com as diferenças em seus mecanismos catalíticos, estas classes ainda podem ser classificadas dentro de dois grupos: serina- β -lactamases (classes A, C e D) e metalo- β -lactamases (classe B) (Ambler, 1980; Bush, 1995; Rossolini, 2005).

Os carbapenens apresentam amplo espectro de atividade e constituem a terapia de escolha para pacientes com infecções hospitalares graves ou para aquelas infecções causadas por microrganismos resistentes às penicilinas e cefalosporinas disponíveis, devido à sua elevada afinidade pelas proteínas ligadoras de penicilina do tipo 2 (PBP2), estabilidade à frente de muitas β -lactamases, incluindo as de espectro ampliado (ESBL) e as cromossômicas (AmpC) e excelente permeabilidade através da membrana externa bacteriana (Gales *et al.*, 2002; Jones *et al.*, 2005).

As β -lactamases que hidrolisam os carbapenens pertencem às classes A (penicilinas), B (metalo- β -lactamase) e D (oxacilinas) segundo Ambler (1980), e possuem a propriedade de hidrolisar pelo menos parcialmente, os carbapenens juntamente com outros β -lactâmicos (Nordmann, Poirel, 2002; Poirel *et al.*, 2004; Rasmussen, Bush, 1997). As M β L são caracterizadas por: hidrolisar todos os β -lactâmicos disponíveis comercialmente, com exceção do aztreonam; necessitarem de íons zinco ou outros cátions divalentes como cofator para a sua atividade catalítica; não ser inibidas pelos β -lactamases disponíveis comercialmente, mas podem ser inibidas por agentes quelantes como EDTA e derivados de tiol (Bush, 1995, 1998, 2001). Como todas as β -lactamases, as M β L podem ser codificadas cromossomicamente ou transmitidas através de elementos genéticos móveis (Walsh *et al.*, 2005a).

A primeira M β L foi descrita em 1966 em isolado de *Bacillus cereus*, sendo codificada cromossomicamente (Sabath, Abraham, 1966; Kuwabara, Abraham, 1967; Hussain *et al.*, 1985). Devido ao surgimento das M β L mediadas por plasmídeos em patógenos de importante relevância clínica, como *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. e membros da família *Enterobacteriaceae* em vários países, este mecanismo de resistência tem se tornado um sério problema, pois limita as opções de tratamento para infecções causadas por estes patógenos. Além disso, não há inibidor de β -lactamase para uso clínico capaz de inibir eficientemente essas enzimas (Bush, 2001; Jones *et al.*, 2005; Rossolini, 2005; Walsh *et al.*, 2005a). Esta revisão tem por objetivo descrever as principais M β L relatadas na literatura, bem como as metodologias utilizadas para a detecção destas enzimas, principais inibidores das mesmas, epidemiologia e as opções de tratamento das infecções causadas por BGN-NF produtores de M β L.

CLASSIFICAÇÃO DAS METALO- β -LACTAMASES

As M β L pertencem à classe molecular B, de acordo com a classificação proposta por Ambler (1980). Segundo o esquema de classificação das β -lactamases proposto por Bush em 1989, as M β L foram classificadas no grupo 3 com base nas suas propriedades bioquímicas, condição que foi reforçada em 1995 com a classificação funcional de Bush, Jacobi, Medeiros (1995). Com o aumento da identificação de novas M β L, Rasmussen e Bush (1997) propuseram a divisão do grupo 3, de acordo com o perfil de hidrólise para os carbapenens e outros β -lactâmicos, em 3 novos subgrupos: o subgrupo 3a, que inclui as M β L com amplo espectro de atividade, o subgrupo 3b, que compreende as enzimas que hidrolisam preferencialmente os carbapenens

e o subgrupo 3c, composto pelas enzimas que hidrolisam fracamente os carbapenems (Rasmussem, Bush, 1997, 1998).

Com a obtenção da seqüência genética das M β L, Galleni *et al.* (2001) propuseram um esquema de classificação numérico e subdividiram o grupo 3 em 3 subclasses: B1, B2, e B3. Este esquema foi atualizado por Garau *et al.* (2004) após a elucidação da estrutura tridimensional de algumas M β L, representantes de cada subclasse, no entanto, este esquema de classificação, segundo Walsh *et al.* (2005a), não é adequado para acomodar todas as M β L.

METALO- β -LACTAMASES INTRÍNSECAS (CROMOSSÔMICAS)

As M β L podem ser produzidas intrinsecamente por alguns microrganismos encontrados no meio ambiente e por alguns patógenos oportunistas, que com exceção da *Stenotrophomonas maltophilia* e do *Bacillus anthracis*, raramente causam infecções graves (Payne *et al.*, 1994; Chen *et al.*, 2003; Walsh *et al.*, 2005a). A primeira M β L codificada cromossomicamente foi descrita em 1966, numa amostra de *Bacillus cereus*, sendo recuperada de um isolado (Sabath, Abraham, 1966; Kuwabara, Abraham, 1967; Hussain *et al.*, 1985). A segunda M β L foi descrita em 1982 em *Stenotrophomonas maltophilia* (Saino *et al.*, 1982; Payne *et al.*, 1994; Crowder *et al.*, 1998; Avison *et al.*, 2001). Pouco tempo depois, outras bactérias foram identificadas como produtoras M β L cromossômicas, tais como: *Aeromonas* spp. (Iaconis, Sanders, 1990; Walsh *et al.*, 1997), *Aeromonas hydrophila* (Massida, Rossolini, Satta, 1991), *Aeromonas sobria* (Walsh *et al.*, 1996), *Bacillus anthracis* (Chen *et al.*, 2003); *Caulobacter crescentus* (Docquier *et al.*, 2002; Simm *et al.*, 2001) *Chryseobacterium meningosepticum* (Bellais *et al.*, 2000a; Woodford *et al.*, 2000; Rossolini *et al.*, 1998), *Chryseobacterium indologenes* (Bellais *et al.*, 2000b), *Chryseobacterium gleum* (Bellais, Naas, Nordmann, 2002a), *Flavobacterium johnsoniae* (Naas, Bellais, Nordmann, 2003), *Janthinobacterium lividum* (Docquier *et al.*, 2004; Rossolini *et al.*, 2001) *Legionella gormanii* (Fujii *et al.*, 1986; Boschi *et al.*, 2000), *Myroides odoratus* (Sato *et al.*, 1985; Mammeri, Bellais, Nordmann, 2002), *Myroides odoratimimus* (Mammeri, Bellais, Nordmann, 2002), *Serratia fonticola* (Saavedra *et al.*, 2003).

METALO- β -LACTAMASES MÓVEIS OU ADQUIRIDAS

Até o início dos anos 90, as M β L não possuíam muita importância clínica, pois eram produzidas cromossomica-

mente por alguns microrganismos de pouca relevância clínica os quais estavam, às vezes, associados com infecções oportunistas. A primeira M β L adquirida foi encontrada em *Bacteroides fragilis*, a qual foi classificada como cromossômica. No entanto, após a caracterização do gene *cfiA* (ou *CcrA*) observou-se que esta enzima era mediada por elementos genéticos móveis (Yamazoe *et al.*, 1999).

Posteriormente, no Japão, foi descrito um isolado de *Pseudomonas aeruginosa* resistente ao imipenem e a outros antimicrobianos antipseudomonas, também produtor de M β L móvel (Watanabe *et al.*, 1991). Desde então, inúmeras M β L foram identificadas e atualmente são conhecidas 5 subclasses: IMP (imipenemase) (Watanabe *et al.*, 1991, Osano *et al.*, 1994), VIM (Verona imipenemase) (Lauretti *et al.*, 1999), SPM (São Paulo metallo- β -lactamase) (Toleman *et al.*, 2002), GIM (German imipenemase) (Castanheira *et al.*, 2004) e SIM (Seoul imipenemase) (Lee *et al.*, 2005a). Os genes que codificam as M β L móveis já foram observados em vários patógenos clinicamente importantes, tais como os bacilos não fermentadores *P. aeruginosa* (Senda *et al.*, 1996a) e *Acinetobacter* spp. (Takahashi *et al.*, 2000; Yum *et al.*, 2002a), e em várias espécies da família *Enterobacteriaceae* como: *Serratia marcescens* (Ito *et al.*, 1995; Osano *et al.*, 1994), *E. coli* (Miriagou *et al.*, 2003), *Proteus mirabilis* (Vourli *et al.*, 2006), *Proteus vulgaris* (Arakawa *et al.*, 2000), *Klebsiella pneumoniae* (Ikonomidis *et al.*, 2005; Yan *et al.*, 2001b), *Klebsiella oxytoca* (Shibata *et al.*, 2003), *Morganella morganii* (Shibata *et al.*, 2003), *Shigella flexneri* (Iyobe *et al.*, 2000), *Enterobacter cloacae* (Yan *et al.*, 2002), *Enterobacter aerogenes* (Arakawa *et al.*, 1995), *Citrobacter freundii* (Yan *et al.*, 2002) e *Citrobacter young* (Hawkey *et al.*, 2001).

Por muitos anos, achou-se que as M β L estavam restritas ao Japão, onde o primeiro gene de resistência foi encontrado, no entanto, hoje as M β L constituem problema mundial e sua ocorrência já foi descrita em vários países tais como: Itália (Lauretti *et al.*, 1999), França (Poirel *et al.*, 2000), Grécia (Tsakris *et al.*, 2000), Alemanha (Castanheira *et al.*, 2004), Portugal (Cardoso *et al.*, 2002), Espanha (Prats *et al.*, 2002), Inglaterra (Tysall *et al.*, 2002), Suécia (Giske, Rylander, Kronvall, 2003), Polônia (Patzner *et al.*, 2004), Turquia (Bahar *et al.*, 2004), Hungria (Libisch *et al.*, 2004), Croácia (Sardelic *et al.*, 2003), Malásia (Ho *et al.*, 2002), Taiwan (Yan *et al.*, 2001a), Coréia (Yum *et al.*, 2002a), Cingapura (Koh, Wang, Sng 2004), Hong Kong (Chu *et al.*, 2001), China (Hawkey *et al.*, 2001), Índia (Hemalatha, Sekar, Kamat, 2005), Austrália (Peleg *et al.*, 2004), Canadá (Gibb *et al.*, 2002), Estados Unidos (Toleman *et al.*, 2004), Colômbia (Crespo *et al.*, 2004), Argentina (Pasteran *et al.*, 2005) e no Brasil (Toleman *et al.*, 2002).

As M β L adquiridas são codificadas por elementos genéticos móveis, os quais podem ser transferidos de um microrganismo para outro (Walsh *et al.*, 2005b), facilitando assim a sua disseminação. Os genes que codificam as M β L dos tipos IMP, VIM, GIM-1 e SIM-1 foram encontrados em integrons de classe 1 (Castanheira *et al.*, 2004; Iyobe *et al.*, 2000; Lauretti *et al.*, 1999; Lee *et al.*, 2005a; Poirel *et al.*, 2000), no entanto, M β L do tipo IMP também foram encontradas em integrons de classe 3 (Arakawa *et al.*, 1995, Walsh *et al.*, 2005a). Integrons são elementos genéticos capazes de capturar genes que fazem parte de cassetes gênicos, via uma recombinação sítio-específico entre dois sítios: um localizado no integron e outro, no cassete (Bennett, 1999). Os cassetes gênicos são pequenas moléculas de DNA que podem estar na forma livre, circular ou não replicada, que se deslocam de um sítio genético para outro, se inserindo em grandes moléculas de DNA, tais como os plasmídeos ou o cromossomo bacteriano. Os integrons foram descobertos a partir da análise dos plasmídeos de resistência e dos transposons que transportam vários genes de resistência; assim, um integron pode carrear genes de resistência para mais de uma classe de antimicrobiano (Bennett, 1999; Walsh *et al.*, 2005b). O gene que codifica a M β L SPM-1 (Tolemann *et al.*, 2002), a qual até o momento é restrita ao Brasil, está associado com dois tipos diferentes de elementos CR (regiões comuns), o qual foi identificado como CR4 (Poirel *et al.*, 2004). No entanto, conhece-se muito pouco sobre os elementos CR, principalmente como eles transportam os genes de resistência (Walsh *et al.*, 2005b).

Metalo- β -lactamases da subclasse IMP

Três anos após Watanabe *et al.* (1991) descreverem a primeira M β L adquirida em *P. aeruginosa*, Osano *et al.* (1994) caracterizaram uma M β L, que foi denominada de IMP-1 em amostra de *Serratia marcescens*, a qual foi isolada em 1991 de um paciente com infecção do trato urinário no Hospital de Aichi, Okazaki, Japão. Alguns estudos realizados em hospitais japoneses demonstraram a disseminação de IMP-1 em várias regiões do Japão. Em estudo realizado em 1993 foram avaliados 105 isolados *S. marcescens* de 7 hospitais japoneses e identificou-se 4 isolados com gene similar a *bla*_{IMP-1} (Ito *et al.*, 1995). Senda *et al.* (1996a) avaliaram 3700 isolados de *P. aeruginosa* obtidas de 17 hospitais japoneses, entre os anos de 1992 e 1994, e encontraram o gene *bla*_{IMP-1} em 15 dos 132 isolados selecionados para a pesquisa deste gene. Ao avaliar o MIC para o imipenem dos isolados positivos para M β L, observaram que apenas a aquisição de genes para M β L nem sempre estava associada com níveis elevados de resistência aos

carbapenens. Outro estudo em hospitais japoneses, realizado entre 1991 a 1996, avaliou 933 isolados de bacilos Gram negativos resistentes a ceftazidima, destes 80 possuíam o gene *bla*_{IMP-1} (Hirakata *et al.*, 1998).

Por anos, acreditou-se que bactérias produtoras de M β L do tipo IMP estavam restritas ao Japão. Esta convicção mudou com a identificação de IMP-2 e IMP-5 em *Acinetobacter baumannii* na Itália e em Portugal, em 1997 e 1998, respectivamente (Riccio *et al.*, 2000; Silva *et al.*, 2002). Atualmente, são conhecidas 23 variantes pertencentes à subclasse IMP (Lahey, 2007), as quais foram identificadas em diferentes microrganismos e em diversos países. A Tabela I contém os dados das principais variantes de IMP relatadas até o momento.

Metalo- β -lactamases da subclasse VIM

O segundo grupo dominante de M β L adquiridas é a subclasse VIM, também conhecida como M β L européia, devido à prevalência desta enzima nos países do continente europeu (Walsh *et al.*, 2005a). Atualmente, são conhecidas 18 variantes identificadas em diferentes microrganismos e relatadas em vários países por todo o mundo (Tabela II) (Lahey, 2007). VIM-1 foi a primeira variante a ser identificada em *P. aeruginosa*, isolada de ferida cirúrgica de um paciente da CTI no Hospital Universitário de Verona na Itália, em 1997 (Lauretti *et al.*, 1999). Logo em seguida, Cornaglia *et al.* (2000) relataram um surto de *P. aeruginosa* resistente aos carbapenens e produtora de VIM-1, nesta mesma instituição. Neste estudo, dos 541 isolados de *P. aeruginosa* obtidos entre 1997 e 1998, 35 foram suspeitos de produzir M β L e essa suspeita foi confirmada em 8 isolados que possuíam o gene *bla*_{VIM-1}.

A segunda variante desta subclasse, a VIM-2, foi identificada na França em isolado de *P. aeruginosa* obtido a partir de cultura de sangue de uma paciente com leucemia (Poirel *et al.*, 2000). VIM-2 é a variante predominante das M β L do tipo VIM e, já foi relatada em várias regiões geográficas em diferentes espécies bacterianas, sendo responsável por surtos como o que ocorreu em um hospital grego (Mavroidi *et al.*, 2000).

Metalo- β -lactamases da subclasse SPM

A terceira subclasse de M β L adquirida foi descrita em amostra de *P. aeruginosa* obtida a partir de cultura de urina de uma paciente com leucemia linfoblástica aguda hospitalizada no Complexo Hospitalar São Paulo, São Paulo, Brasil em 2001. Passados cinco dias, um isolado de *P. aeruginosa*, com o mesmo perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos, foi obtido a partir da hemocultura. A pa-

TABELA I – Dados referentes às principais variantes da subclasse IMP descritas até o momento

Variante	Microrganismo	País	Referência
IMP-1	<i>Serratia marcescens</i>	Japão	Osano <i>et al.</i> , 1994
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Japão	Senda <i>et al.</i> , 1996
	<i>Alcaligenes xylosoxidans</i>	Japão	Senda <i>et al.</i> , 1996b
	<i>Pseudomonas putida</i>	Japão	Senda <i>et al.</i> , 1996b
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Japão	Senda <i>et al.</i> , 1996b
	<i>Citrobacter freundii</i>	Japão	Hirakata <i>et al.</i> , 1998
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Japão	Hirakata <i>et al.</i> , 1998
	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	Japão	Hirakata <i>et al.</i> , 1998
	<i>Acinetobacter</i> spp.	Japão	Arakawa <i>et al.</i> , 2000
	<i>Enterobacter cloacae</i>	Japão	Arakawa <i>et al.</i> , 2000
	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Japão	Arakawa <i>et al.</i> , 2000
	<i>Escherichia coli</i>	Japão	Arakawa <i>et al.</i> , 2000
	<i>Proteus vulgaris</i>	Japão	Arakawa <i>et al.</i> , 2000
	<i>Pseudomonas putida</i>	Taiwan	Yan <i>et al.</i> , 2001a
	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	Taiwan	Yan <i>et al.</i> , 2001a
	<i>Acinetobacter junii</i>	Inglaterra	Tysall <i>et al.</i> , 2002
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Japão	Shibata <i>et al.</i> , 2003
	<i>Burkholderia cepacia</i>	Japão	Shibata <i>et al.</i> , 2003
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	Japão	Shibata <i>et al.</i> , 2003
	<i>Providencia rettgeri</i>	Japão	Shibata <i>et al.</i> , 2003
	<i>Alcaligenes faecalis</i>	Japão	Shibata <i>et al.</i> , 2003
	<i>Morganella morganii</i>	Japão	Shibata <i>et al.</i> , 2003
	<i>Acinetobacter</i> spp.	Coréia	Lee <i>et al.</i> , 2003a
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Brasil	Filho <i>et al.</i> , 2003	
<i>Pseudomonas putida</i>	Cingapura	Koh <i>et al.</i> , 2004	
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Brasil	Sader <i>et al.</i> , 2005a	
<i>Acinetobacter</i> spp.	Brasil	Sader <i>et al.</i> , 2005a	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Brasil	Lincopan <i>et al.</i> , 2005	
IMP-2	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Itália	Riccio <i>et al.</i> , 2000
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Japão	Shibata <i>et al.</i> , 2003
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Japão	Shibata <i>et al.</i> , 2003
	<i>Acinetobacter lwoffii</i>	Japão	Shibata <i>et al.</i> , 2003
IMP-3	<i>Shigella flexneri</i>	Japão	Iyobe <i>et al.</i> , 2000
IMP-4	<i>Acinetobacter</i> spp.	Hong Kong	Chu <i>et al.</i> , 2001
	<i>Citrobacter youngae</i>	China	Hawkey <i>et al.</i> , 2001
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Austrália	Peleg <i>et al.</i> , 2004
	<i>Serratia marcescens</i>	Austrália	Peleg <i>et al.</i> , 2005
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Austrália	Peleg <i>et al.</i> , 2005
	<i>Escherichia coli</i>	Austrália	Peleg <i>et al.</i> , 2005
	<i>Enterobacter cloacae</i>	Austrália	Peleg <i>et al.</i> , 2005
IMP-5	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Portugal	Silva <i>et al.</i> , 2002
IMP-6	<i>Serratia marcescens</i>	Japão	Yano <i>et al.</i> , 2001
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Brasil	Gales <i>et al.</i> , 2003a
IMP-7	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Canadá	Gibb <i>et al.</i> , 2002
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Malásia	Ho <i>et al.</i> , 2002

TABELA I – (continuação)

Variante	Microrganismo	País	Referência
IMP-8	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Taiwan	Yan <i>et al.</i> , 2001
	<i>Enterobacter cloacae</i>	Taiwan	Yan <i>et al.</i> , 2002
IMP-9	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	China	Xiong <i>et al.</i> , 2006
IMP-10	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Japão	Iyobe <i>et al.</i> , 2002
	<i>Alcaligenes xylosoxidans</i>	Japão	Iyobe <i>et al.</i> , 2002
IMP-11	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Japão	Iyobe, S. <i>et al.</i>
IMP-12	<i>Pseudomonas putida</i>	Itália	Docquier <i>et al.</i> , 2003
IMP-13	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Itália	Toleman <i>et al.</i> , 2003
IMP-16	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Brasil	Mendes <i>et al.</i> , 2004a
IMP-18	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Estados Unidos	Hanson <i>et al.</i> , 2006
IMP-19	<i>Aeromonas caviae</i>	França	Neuwirth <i>et al.</i> , 2007

TABELA II - Dados referentes às principais variantes da subclasse VIM descritas até o momento

Variante	Microrganismo	País	Referência
VIM-1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Itália	Lauretti <i>et al.</i> , 1999
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Grécia	Tsakris <i>et al.</i> , 2000
	<i>Achromobacter xylosoxydans</i>	Itália	Riccio <i>et al.</i> , 2001
	<i>Pseudomonas putida</i>	Itália	Lombardi <i>et al.</i> , 2002
	<i>Escherichia coli</i>	Grécia	Miriagou <i>et al.</i> , 2003
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Grécia	Giakkoupi <i>et al.</i> , 2003
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	França	Lartigue <i>et al.</i> , 2004
	<i>Escherichia coli</i>	Espanha	Tórtola <i>et al.</i> , 2005
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Espanha	Tórtola <i>et al.</i> , 2005
	<i>Proteus mirabilis</i>	Grécia	Vourli <i>et al.</i> , 2006
VIM-2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	França	Poirel <i>et al.</i> , 2000
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Grécia	Mavroidi <i>et al.</i> , 2000
	<i>Pseudomonas putida</i>	Taiwan	Yan <i>et al.</i> , 2001a
	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	Taiwan	Yan <i>et al.</i> , 2001a
	<i>Serratia marcescens</i>	Coréia	Yum <i>et al.</i> , 2002b
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Espanha	Prats <i>et al.</i> , 2002
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Portugal	Cardoso <i>et al.</i> , 2002
	<i>Citrobacter freundii</i>	Taiwan	Yan <i>et al.</i> , 2002
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Coréia	Yum <i>et al.</i> , 2002a
	<i>Acinetobacter genomospecies 3</i>	Coréia	Yum <i>et al.</i> , 2002
	<i>Enterobacter cloacae</i>	Coréia	Jeong <i>et al.</i> , 2003
	<i>Pseudomonas putida</i>	Coréia	Lee <i>et al.</i> , 2003a
	<i>Acinetobacter spp.</i>	Coréia	Lee <i>et al.</i> , 2003a
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Japão	Shibata <i>et al.</i> , 2003
	<i>Pseudomonas putida</i>	Japão	Shibata <i>et al.</i> , 2003
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Polônia	Walsh <i>et al.</i> , 2003
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Croácia	Sardelic <i>et al.</i> , 2003

TABELA II - (continuação)

Variante	Microrganismo	País	Referência
VIM-2	<i>Pseudomonas</i> spp.	Chile	Mendes <i>et al.</i> , 2004
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Chile	Mendes <i>et al.</i> , 2004
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Venezuela	Mendes <i>et al.</i> , 2004
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Brasil	Sader <i>et al.</i> , 2005
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Colômbia	Villegas <i>et al.</i> , 2006
	<i>Pseudomonas putida</i>	Polônia	Fiett <i>et al.</i> , 2006
	<i>Acinetobacter genomospecies 3</i>	Polônia	Fiett <i>et al.</i> , 2006
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Argentina	Pagniez <i>et al.</i> , 2006
VIM-3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Taiwan	Yan <i>et al.</i> , 2001a
VIM-4	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Grécia	Pounaras <i>et al.</i> , 2002
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Suécia	Giske <i>et al.</i> , 2003
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Polônia	Patzer <i>et al.</i> , 2004
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Hungria	Libisch <i>et al.</i> , 2004
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Itália	Luzzaro <i>et al.</i> , 2004
	<i>Enterobacter cloacae</i>	Itália	Luzzaro <i>et al.</i> , 2004
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Tunísia	Ktari <i>et al.</i> , 2006
VIM-5	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Turquia	Bahar <i>et al.</i> , 2004
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Turquia	Bahar <i>et al.</i> , 2004
VIM-6	<i>Pseudomonas putida</i>	Cingapura	Koh <i>et al.</i> , 2004
VIM-7	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Estados Unidos	Toleman <i>et al.</i> , 2004
VIM-8	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Colômbia	Crespo <i>et al.</i> , 2004
VIM-9	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Reino Unido	Walsh <i>et al.</i> , 2005a
VIM-10	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Reino Unido	Walsh <i>et al.</i> , 2005a
VIM-11	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Argentina	Pasteran <i>et al.</i> , 2005
VIM-12	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Grécia	Pournaras <i>et al.</i> , 2005

ciente veio a óbito devido a um quadro de choque séptico (Toleman, 2002). Essa M β L foi denominada de SPM-1 e hidrolisa todos os antimicrobianos β -lactâmicos, preferencialmente cefalosporinas, sendo incapaz de hidrolisar aztreonam, ticarcilina e ácido clavulânico (Murphy, 2003). Até o momento, SPM-1 só foi encontrada em *P. aeruginosa* e esta enzima parece estar restrita ao Brasil, pois não há relatos de cepas produtoras de M β L do tipo SPM-1 em outros países.

A disseminação epidêmica de *P. aeruginosa* produtora de M β L do tipo SPM-1 já foi evidenciada em vários Estados brasileiros (Gales, 2003). Em um estudo realizado no Recife, foram avaliados 19 isolados de *P. aeruginosa* e 11 foram identificados como produtores de M β L. A análise genotípica destes isolados demonstrou que eles possuíam o gene *bla*_{SPM-1} (Poirel, 2004). Zavascki *et al.* (2005) avaliaram 35 amostras de *P. aeruginosa* resistentes aos

carbapenens isoladas no Hospital São Lucas (Porto Alegre, RS), entre janeiro e outubro de 2004, para a produção de M β L sendo que 27 isolados foram positivos e destes 21 transportavam o gene *bla*_{SPM-1}. Este foi o primeiro surto por *P. aeruginosa* produtora de SPM-1 descrito no Sul do Brasil.

Metallo- β -lactamases da subclasse GIM

Em 2002, cinco isolados de *P. aeruginosa* multirresistentes foram obtidos de diferentes pacientes em Dusseldorf, Alemanha. Estes isolados foram provenientes do trato respiratório e apresentaram resistência a todos os antimicrobianos β -lactâmicos, aminoglicosídeos e quinolonas, sendo sensíveis apenas a polimixina B. Os testes fenotípicos indicaram a produção de M β L e a análise genotípica revelou um novo gene de M β L denominado

*bla*_{GIM-1}, representando a quarta subclasse de MβL adquirida a ser identificada. GIM-1 possui amplo perfil de hidrólise, mas não possui substrato específico, e também não hidrolisa aztreonam e os inibidores de β-lactamases. Assim como a maioria dos genes que codificam as MβL, *bla*_{GIM-1} é encontrado em integron de classe 1, o qual contém, além desse gene, genes que codificam resistência aos aminoglicosídeos e um gene para a oxacilinase *bla*_{OXA-2} (Castanheira, 2004). Até o momento, este é único relato de amostras produtoras de GIM-1.

Metallo-β-lactamases da subclasse SIM

SIM-1 foi a quinta subclasse de MβL a ser identificada. Esta nova MβL foi encontrada em 7 isolados de *A. baumannii* obtidos de pacientes com pneumonia e infecção do trato urinário, internados em um hospital em Seul, Coréia, no período entre 2003-2004. Esses isolados possuíam MICs baixos para o imipenem e o meropenem (8 a 16 mg/mL) e tinham um fenótipo de multirresistência. Todos os isolados foram sensíveis a ciprofloxacino, mas resistentes ou intermediário para outros antimicrobianos, incluindo cefalosporinas de amplo espectro, ampicilina, sulbactam e todos os aminoglicosídeos testados. O gene que codifica a SIM-1 está localizado em um integron de classe 1, e esta MβL é mais relacionada com as enzimas do tipo IMP do que com qualquer outra MβL (Lee *et al.*, 2005a).

MECANISMO DE HIDRÓLISE DAS MβL

As β-lactamases inativam os antimicrobianos β-lactâmicos através da hidrólise da ligação C-N do anel β-lactâmico. Este mecanismo de hidrólise difere entre as serina-β-lactamases e as MβL (Walsh *et al.*, 2005a). As MβL possuem diferentes aminoácidos que definem a estrutura do seu sítio ativo o qual é coordenado por pelo menos 1 ou 2 íons zinco, estes, por sua vez, coordenam duas moléculas de água que servem como nucleófilos e hidrolisam a ligação amida do anel β-lactâmico (Page, 2002; Paul-Soto *et al.*, 1999; Walsh *et al.*, 2005a). A seqüência HXHDX (histidina-X-histidina-X-ácido aspártico) facilita a coordenação dos íons zinco no sítio ativo (Walsh, 2005b).

O mecanismo de hidrólise das MβL é complexo e varia de uma MβL para outra, por este motivo ele não está completamente esclarecido apesar da elucidação da estrutura tridimensional de algumas MβL (Concha *et al.*, 1996; Garau *et al.*, 2005). O mecanismo proposto sugere que o sítio ativo orienta e polariza o anel β-lactâmico para facilitar o ataque nucleofílico pela ligação do íon zinco a água e/ou hidroxila (Walsh *et al.*, 2005a). As MβL possuem um sítio ativo de amplo encaixe que pode acomodar diferentes

substratos β-lactâmicos, o que facilita muito seu espectro de atividade (Walsh, 2005b).

A elucidação da estrutura tridimensional e a compreensão dos mecanismos de hidrólise são ferramentas úteis para o desenvolvimento de novos fármacos ou inibidores efetivos clinicamente capazes de inibir essas enzimas e proteger a atividade de antimicrobianos de amplo espectro, como os carbapenens (Concha *et al.*, 1996; Garau *et al.*, 2005).

INIBIDORES DE MβL

As MβL não são inibidas pelos inibidores de serina-β-lactamases, como ácido clavulânico, tazobactam e sulbactam. O desenvolvimento de um inibidor de MβL, que seja efetivo para o uso clínico, não é tarefa fácil, devido às variações nos sítios ativos dessas enzimas, os quais foram observados pelas estruturas tridimensionais elucidadas, dificultando assim o desenvolvimento de um único inibidor que seja ativo para todas as MβL (Concha *et al.*, 1996; Garau *et al.*, 2005; Walsh *et al.*, 2005a).

Inúmeros compostos foram sintetizados e avaliados como inibidores de MβL, incluindo: derivados tioéster (Payne *et al.*, 1997), álcool trifluór metil e cetonas (Walter *et al.*, 1996), tióis (Arakawa *et al.*, 2000; Mollard *et al.*, 2001; Siemann *et al.*, 2003), sulfonil hidrazonas (Siemann *et al.*, 2002), produtos naturais tricíclicos (Payne *et al.*, 2002), derivados do ácido succínico (Toney *et al.*, 2001), derivados do 1β-metilcarbapenem (Nagano *et al.*, 1999), bifênil tetrazole (Toney *et al.*, 1999), inibidores do peptídeo cistenil (Bounaga *et al.*, 2001) e hidroximatos (Walter *et al.*, 1999). No entanto, os estudos que avaliaram estes inibidores foram realizados em bactérias que codificavam MβL cromossômicas ou produziam a enzima IMP-1, não incluindo as outras MβL como as do tipo VIM, SPM, GIM, SIM e as outras variantes do tipo IMP. São necessários mais estudos, incluindo todas as MβL conhecidas, além da elucidação da estrutura tridimensional das MβL das quais não se conhece a estrutura tridimensional, para o desenvolvimento de um inibidor efetivo clinicamente para todos os tipos de MβL.

DETECÇÃO LABORATORIAL DE AMOSTRAS PRODUTORAS DE MβL

A disseminação de genes que codificam MβL representa uma importante ameaça para a terapia antimicrobiana com β-lactâmicos, portanto, a identificação de bactérias produtoras de MβL pelo laboratório de microbiologia é necessária para evitar a disseminação destes genes de resistência e auxiliar na escolha da terapia antimicrobiana

adequada. Até o momento, nem o CLSI nem os outros comitês internacionais, sugerem um teste para a detecção de amostras produtoras de M β L (Pitout *et al.*, 2005).

Entretanto, com o aumento de relatos de cepas produtoras de M β L em várias partes do mundo, houve a necessidade do desenvolvimento de metodologias para a detecção dessas cepas. Os testes genotípicos são os mais seguros e eficazes para a detecção destas enzimas, no entanto, requerem reagentes e equipamentos de custo mais elevado e pessoal altamente treinado, sendo inviável para a rotina do laboratório clínico. Aproveitando-se do fato de que essas enzimas possuem zinco no seu sítio ativo e são inibidas por agentes quelantes como EDTA e derivados de ésteres de tióis, vários testes fenotípicos foram desenvolvidos com o auxílio desses agentes quelantes (Pitout *et al.*, 2005). Esses testes incluem: o teste de sinergismo de disco aproximação usando EDTA com imipenem (IMI) e ceftazidima (CAZ), e o ácido 2-mercaptopropiônico com IMI e CAZ (Arakawa *et al.*, 2000; Lee *et al.*, 2001; Lee *et al.*, 2003b); o teste de Hodge modificado (Lee *et al.*, 2001; Lee *et al.*, 2003b); teste do disco combinado de IMI ou CAZ acrescido de EDTA (Yong *et al.*, 2002); as tiras de Etest M β L (Arroyo *et al.*, 2005; Lee *et al.*, 2005b; Walsh *et al.*, 2002); o método de microdiluição usando EDTA e 1,10-fenantrolina com IMI (Migliavacca *et al.*, 2002) o ensaio microbiológico Imipenem-EDTA (Marchiaro *et al.*, 2005) e o teste fenotípico utilizando o ácido dipicolínico como inibidor de M β L (Kimura, Ishii, Yamaguchi, 2005a).

O teste de disco-aproximação é o teste fenotípico mais utilizado, por apresentar boa sensibilidade, especificidade, baixo custo e ser de fácil execução, no entanto, as M β L variam em seu nível de inibição com certos inibidores e, também, variam em sua habilidade de conferir resistência para alguns substratos como ceftazidima e imipenem. Os membros da família *Enterobacteriaceae* que possuem o gene para M β L podem ser sensíveis ou intermediários a esses substratos, dificultando assim o estabelecimento de critérios para a seleção de microrganismos suspeitos de portar esse mecanismo de resistência (Walsh *et al.*, 2005a). Segundo Franklin *et al.* (2006), o método fenotípico mais adequado para a detecção de microrganismos M β L que apresentam sensibilidade *in vitro* aos carbapenens é o teste do disco combinado, e propõe que o teste fenotípico seja realizado nos microrganismos resistentes para ceftazidima ou ticarcilina/ácido clavulânico. O teste do disco combinado demonstrou ser adequado para a detecção de M β L em isolados de *K. pneumoniae*, reforçando o estudo anterior (Petropoulou *et al.*, 2006). No entanto, o teste do disco combinado deve ser interpretado com cautela, pois os resultados podem variar conforme a preparação dos discos (Andrade *et al.*, 2007).

As fitas de Etest também podem ser utilizadas para a detecção M β L, tanto cromossômica quanto plasmidial; estas fitas são impregnadas em uma extremidade com imipenem e imipenem+EDTA na outra extremidade. É uma metodologia de fácil execução e interpretação, no entanto, possui alto custo (Walsh *et al.*, 2002). Segundo Lee *et al.* (2005b) as fitas de Etest M β L possuem alta sensibilidade e especificidade para a detecção de *Acinetobacter* spp. e *Pseudomonas* spp. produtores de M β L. No entanto, o resultado obtido pode ser influenciado pelo nível de resistência ao imipenem e por outras condições do teste, como o armazenamento da cepa antes da realização do teste, pois as cepas armazenadas por muito tempo à temperatura ambiente podem perder o gene que codifica M β L e apresentar um resultado falso negativo (Lee *et al.*, 2005b). Nesse estudo, os autores propõem a modificação das fitas de Etest M β L para detecção de isolados produtores de M β L com MIC < 4 mg/mL. Em estudo realizado na África do Sul, 49 isolados de *A. baumannii* foram avaliados para a presença de M β L com a fita de Etest M β L, a qual indicou a presença desta β -lactamase. A análise molecular dessas amostras detectou a presença de oxacilinase demonstrando que as fitas de Etest devem ser interpretadas com cautela em isolados de *A. baumannii*, sendo necessária a análise molecular para a correta identificação (Segal, Elisha, 2005).

EPIDEMIOLOGIA NO BRASIL E NO MUNDO

A ocorrência de M β L mediando resistência em vários patógenos tem sido responsável por vários surtos nosocomiais em diferentes partes do mundo, demonstrando a necessidade de práticas apropriadas de controle de infecção. Na Grécia, a disseminação de M β L do tipo VIM já foi evidenciada por vários estudos (Giakkoupi *et al.*, 2003; Ikonomidis *et al.*, 2005; Tsakris *et al.*, 2000). Em amplo estudo realizado na Coreia, verificou-se que 60,7% dos isolados eram produtores de M β L, com maior prevalência de *P. aeruginosa* produtora de M β L do que em outros países e observou-se crescente aumento no número de *Acinetobacter* spp. produtor de M β L (Lee *et al.*, 2003a). Na Itália, 20% dos isolados de *P. aeruginosa* de um hospital ao Norte do país possuíam M β L do tipo VIM e 70% dos isolados eram resistentes aos carbapenens (Lagatolla *et al.*, 2004). Outro estudo realizado em 3 hospitais italianos de diferentes regiões demonstrou a ocorrência de *P. aeruginosa* multirresistente e produtora de M β L, indicando a sua disseminação em diferentes regiões do país (Toleman *et al.*, 2005). No Japão, a resistência aos carbapenens aumentou de 19,3% em 1998 para 38% em 2002 (Fritsche *et al.*, 2005). Kimura *et al.* (2005b) demonstraram em seu estudo a disseminação clonal de *P. aeruginosa* em 60 hos-

pitais japoneses. Na Austrália, o primeiro surto causado por isolados produtores de M β L foi relatado em 2005, evidenciando a ampla disseminação desses genes ao redor do mundo (Peleg *et al.*, 2005).

Na América Latina, a maior concentração de microrganismos produtores de M β L está no Brasil e na Argentina. Dentre os países participantes do programa SENTRY entre os anos de 1997-2001, o Brasil contribuiu com 90% dos isolados de *P. aeruginosa* MDR. Segundo dados deste mesmo programa no período de 2001-2003, 70% dos isolados de *P. aeruginosa* do Brasil e 73% dos isolados de *Acinetobacter* spp. da Argentina eram produtores de M β L (Sader *et al.*, 2005a).

No Brasil, o primeiro relato de cepas produtoras de M β L ocorreu em 2002, em isolados de *P. aeruginosa* obtidos do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho no Rio de Janeiro (Pellegrino *et al.*, 2002). Dados do SENTRY indicam que 44,8% dos isolados de *P. aeruginosa* brasileiros são resistentes ao imipenem e destes, 43,9% são produtores de M β L (Fritsche *et al.*, 2005). A partir da identificação e caracterização da subclasse SPM-1, em 2001, amostras produtoras dessa enzima têm sido identificadas em vários centros brasileiros, tais como São Paulo, Rio de Janeiro, Salvador, Londrina, Brasília, Santo André, Fortaleza, Maringá e Curitiba (Gales *et al.*, 2003b). No Recife, das 24 amostras de *P. aeruginosa* avaliadas, 15 foram produtoras de M β L do tipo SPM-1 (Magalhães, Lins, Magalhães, 2005). Em estudo realizado em 3 hospitais de Porto Alegre, RS, 49 (81,7%) dos 60 isolados de *P. aeruginosa* analisados foram produtores de M β L e possuíam M β L dos tipos SPM-1 ou IMP-1 (Gaspareto *et al.*, 2007). No Rio de Janeiro, em um hospital universitário, 13 (20%) dos 65 isolados de *P. aeruginosa* resistentes ao imipenem foram produtores de M β L do tipo SPM-1, sendo que este clone foi o mesmo identificado em outros Estados do Brasil, e a disseminação dele parece ter ocorrido via comunidade (Carvalho, 2006). Em 2005, identificou-se o primeiro isolado de *K. pneumoniae* produtora de M β L do tipo IMP-1 do Brasil e da América Latina (Lincopan *et al.*, 2005), evidenciando ampla disseminação desse mecanismo de resistência em vários patógenos nos hospitais brasileiros.

TRATAMENTO

O aumento da diversidade das M β L e a sua ocorrência em vários microrganismos tem limitado as opções terapêuticas utilizadas para o tratamento das infecções causadas pelos mesmos. Como alternativas, têm-se utilizado combinações de agentes antimicrobianos, na tentativa de obter-se sinergismo entre os fármacos que sozinhos seriam ineficazes, ou ainda, a administração de antimicrobianos

antigos, como as polimixinas. No entanto, a terapia antimicrobiana adequada para o tratamento de infecções causadas por microrganismos produtores de M β L continua desconhecida (Walsh *et al.*, 2005a,b). Estratégias para prevenção e terapia incluem medidas de controle de infecção e modificações no uso de antimicrobianos. A co-resistência com outros antimicrobianos, como os aminoglicosídeos, limita ainda mais as opções terapêuticas indicando a necessidade do desenvolvimento de novos e mais potentes agentes antimicrobianos com novos mecanismos de ação (Walsh, 2005b).

Embora em alguns estudos os carbapenems continuem ativos, sua utilidade clínica para infecções causadas por microrganismos produtores de M β L continua incerta (Walsh *et al.*, 2005a). Altas doses de aztreonam demonstraram ser uma terapia útil para o tratamento de pneumonia por *P. aeruginosa* produtora do M β L em ratos (Bellais *et al.*, 2002b). Em outro estudo, o ciprofloxacino demonstrou ser o antimicrobiano mais eficaz para o tratamento de bacteremia endógena por *P. aeruginosa*, portadora do gene *bla*_{IMP} (Aoki *et al.*, 2004).

A última alternativa terapêutica útil pode ser as polimixinas, que são antimicrobianos polipeptídicos que se tornaram disponíveis para o uso clínico no início dos anos de 1950 e 1960. As polimixinas agem na parede celular bacteriana deslocando íons Ca²⁺ e Mg²⁺ e esse processo resulta em aumento da permeabilidade na membrana citoplasmática, ocasionando, conseqüentemente a morte celular (Falagas, Kasiakou, 2005). As duas formas de polimixina disponíveis comercialmente são a Colistina (Polimixina E) e a Polimixina B; essas formulações foram gradualmente sendo abandonadas, no início dos anos 80, devido aos seus efeitos adversos (nefrotoxicidade, ototoxicidade e bloqueio neuromuscular) e ao surgimento de agentes antimicrobianos mais seguros, como as cefalosporinas (Falagas, Kasiakou, 2005; Tam *et al.*, 2005). O uso clínico das polimixinas ficou limitado a formulações tópicas e para a prevenção de infecções em pacientes neutropênicos ou com fibrose cística (Falagas, Kasiakou, 2005).

Estudos recentes demonstraram a eficácia das polimixinas para o tratamento de infecções causadas por bacilos Gram negativos multirresistentes e apresentando susceptibilidade apenas a este antimicrobiano. Estes estudos também revelaram que as polimixinas não são tão tóxicas quanto se imaginava (Catchpole *et al.*, 1997; Levin *et al.*, 1999; Katragkou, Roilides, 2005; Michalopoulos *et al.*, 2005; Sader *et al.*, 2006). Em estudo em que foram avaliados 60 pacientes tratados com Polimixina B, 14% tiveram falência renal, mas esta condição clínica não foi associada exclusivamente ao uso da polimixina, pois outros

antimicrobianos e fármacos nefrotóxicos foram administrados, concomitantemente (Ouderkerk *et al.*, 2003). Esses estudos têm demonstrado que a toxicidade das polimixinas não difere muito dos outros antimicrobianos utilizados e que a função renal pode ser recuperada com a retirada do fármaco (Sader *et al.*, 2006).

A emergência de resistência para este agente é preocupante, uma vez que estes fármacos muitas vezes são os únicos eficazes no tratamento de infecções causadas por cepas de BGN-NF multirresistentes. Por enquanto, a maioria dos microrganismos continua sensível às polimixinas, no entanto, já há relatos de cepas resistentes (Landman *et al.*, 2005; Li *et al.*, 2006). No Brasil, 5 isolados de *A. baumannii* resistentes à polimixina foram identificados no Complexo Hospitalar São Paulo, em 2003. O aparecimento dessas cepas resistentes às polimixinas pode ter sido devido à pressão seletiva e à disseminação clonal. Uma maneira para prevenção da resistência às polimixinas é a utilização de terapia combinada de polimixina com rifampicina e/ou imipenem e, possivelmente, azitromicina. Entretanto, o uso clínico dessas combinações necessita de mais estudos (Landman *et al.*, 2005).

A ausência de novos agentes antimicrobianos que sejam ativos contra os microrganismos produtores de M β L e a disseminação dos genes que codificam M β L podem conduzir à falha terapêutica. Isso será mais preocupante se os genes que codificam essa enzima se disseminarem para a comunidade. Esta condição reforça a importância da detecção precoce de microrganismos produtores de M β L, de forma a auxiliar a Comissão de Controle de Infecção Hospitalar na implementação de medidas para a prevenção da disseminação desses genes de resistência (Walsh *et al.*, 2005a).

CONCLUSÃO

As M β L representam séria ameaça devido à sua capacidade de hidrolisar todos os antimicrobianos β -lactâmicos, com exceção do monobactâmico aztreonam, e não ser inibida pelos inibidores de serina- β -lactamases disponíveis para o uso clínico. Além disso, os genes que codificam essas enzimas também codificam resistência para outras classes de antimicrobianos, reduzindo ainda mais as opções terapêuticas. Em adição, estes genes estão localizados em elementos genéticos móveis, o facilita grandemente a sua disseminação.

Com o aumento do número de relatos de cepas produtoras de M β L em diferentes regiões geográficas e a expansão da disseminação desses genes de resistência para ampla variedade de microrganismos, a detecção das M β L torna-se importante para que medidas de controle de infecção hospitalar possam ser implementadas com o intuito de

prevenir a disseminação desse tipo de resistência e para a orientação da terapia antimicrobiana. A inexistência de terapia antimicrobiana adequada, a ausência de inibidor M β L efetivo clinicamente e as poucas perspectivas de novos antimicrobianos ressaltam ainda mais a importância da detecção destas β -lactamases.

ABSTRACT

A review on metallo- β -lactamases

The emergence and dissemination of antimicrobial resistance are problems of great importance worldwide, particularly between nosocomial pathogens of clinical importance such as nonfermentative Gram-negative bacilli and members of the family Enterobacteriaceae. The main mechanism of resistance these pathogens is the production of β -lactamases, which are enzymes that hydrolyzing the ring β -lactam hindering the action of antimicrobial β -lactam. The β -lactamases were classified into four classes of according its primary structure and may also be classified in two groups based on their catalytic mechanism, that is, serine- β -lactamases (Classes A, C and D) e metallo- β -lactamases (Class B). The metallo- β -lactamases (M β L) using ions divalentes, commonly zinc, as co-factor for its catalytic activity and currently represent one the most important class of enzymes, due of their ability to hydrolyze all antimicrobial β -lactam, including carbapenems, which are used in the treatment of Gram-negative bacteria multidrug-resistant and to remain stable before the serine- β -lactamases. The detection of samples producing of M β L helps infection control practioners to prevent the dissemination of this mechanism of resistance in the nosocomial environment and to prevent it come to the community, and emphasize the rational use of antimicrobial currently available for clinical use, since there are few investments in the pharmaceutical industry in search of new antimicrobial agents.

UNITERMS: Antimicrobial resistance. β -lactamases. Metallo- β -lactamases. Gram negative bacilli/resistance.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, S.S.; PICÃO, R.C.; CAMPANA, E.H.; NICOLETTI, A.G.; PIGNATARI, A.C.C.; GALES, A.C. Influence of disk preparation on detection of metallo- β -lactamase-producing isolates by the combined disk assay. *J. Clin. Microbiol.*, v.45, n.6, p.2058-2060, 2007.
- AMBLER, R.P. The structure of β -lactamase. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B. Sci.*, v.289, n.36, p.321-331, 1980.

- AOKI, S.; HIRAKATA, Y.; KONDOH, A.; GOTOH, N.; YANAGIHARA, K.; MIYAZAKI, Y.; TOMONO, K.; YAMADA, Y.; KOHNO, S.; KAMIHIRA, S. Virulence of metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* in vitro and in vivo. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.48, n.5, p.1876-1878, 2004.
- ARAKAWA, Y.; MURAKAMI, M.; SUZUKI, K.; ITO, H.; WACHAROTAYANKUN, R.; OHSUKA, S.; KATO, N.; OHTA, M. A novel integron-like element carrying the metallo- β -lactamase gene *bla*_{IMP}. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.39, n.7, p.1612-1615, 1995.
- ARAKAWA, Y.; SHIBATA, N.; SHIBAYAMA, K.; KUROKAWA, H.; YAGI, T.; FUJIWARA, H.; GOTO, M. Convenient test for screening metallo- β -lactamase-producing gram-negative bacteria by using thiol compounds. *J. Clin. Microbiol.*, v.38, n.1, p.40-43, 2000.
- ARROYO, L.A.; GARCÍA-CURIEL, A.; PACHÓN-IBAÑEZ, M.E.; LLANOS, A.C.; RUIZ, M.; PACHÓN, J.; AZNAR, J. Reliability of the E-test method for detection of colistin resistance in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *J. Clin. Microbiol.*, v.43, n.2, p.903-905, 2005.
- AVISON, M.B.; HIGGINS, C.S.; HELDREICH, C.J.; BENNETT, P.M.; WALSH, T.R. Plasmid location and molecular heterogeneity of the L1 and L2 β -lactamase genes of *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.45, n.2, p.413-419, 2001.
- BAHAR, G.; MAZZARIOL, A.; KONCAN, R.; MERT, A.; FONTANA, R.; ROSSOLINI, G.M.; CORNAGLIA, G. Detection of VIM-5 metallo- β -lactamase in a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate from Turkey. *J. Antimicrob. Chemother.*, v.54, p.282-283, 2004.
- BELLAIS, S.; AUBERT, D.; NAAS, T.; NORDMANN, P. Molecular and biochemical heterogeneity of class B carbapenem-hydrolyzing β -lactamases in *Chryseobacterium meningosepticum*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.44, n.7, p.1878-1886, 2000.
- BELLAIS, S.; POIREL, L.; LÉOTARD, S.; NAAS, T.; NORDMANN, P. Genetic diversity of carbapenem-hydrolyzing metallo- β -lactamases from *Chryseobacterium (Flavobacterium) indologenes*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.44, n.11, p.3028-3034, 2000.
- BELLAIS, S.; MIMOZ, O.; LÉOTARD, S.; JACOLOT, A.; PETITJEAN, O.; NORDMANN, P. Efficacy of β -lactams for treating experimentally induced pneumonia due to a carbapenem-hydrolyzing metallo- β -lactamase-producing strain of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.46, n.6, p.2032-2034, 2002.
- BELLAIS, S.; NAAS, T.; NORDMANN, P. Genetic and biochemical characterization of CGB-1, an Ambler class B carbapenem-hydrolyzing β -lactamase from *Chryseobacterium gleum*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.46, n.9, p.2791-2796, 2002.
- BENNETT, P. Integrons and gene cassettes: a genetic construction kit for bacteria. *J. Antimicrob. Chemother.*, v.43, p.1-4, 1999.
- BOSCHI, L.; MERCURI, P.S.; RICCIO, M.L.; AMICOSANTE, G.; GALLEN, M.; FRÈRE, J.M.; ROSSOLINI, G.M. The *Legionella (Fluoribacter) gormanii* metallo- β -lactamase: a new member of the highly divergent lineage of molecular-subclass B3 β -lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.44, n.6, p.1538-1543, 2000.
- BOUNAGA, S.; GALLEN, M.; LAWS, A.P.; PAGE, M.I. Cysteinyl peptide inhibitors of *Bacillus cereus* zinc β -lactamase. *Bioorg. Med. Chem.*, v.9, n.2, p.503-510, 2001.
- BUSH, K. β -lactamase inhibitors from laboratory to clinic. *Clin. Microbiol. Rev.*, v.1, n.1, p.109-123, 1988.
- BUSH, K. Characterization of β -lactamase. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.33, n.3, p.259-263, 1989.
- BUSH, K.; JACOBI, G.A.; MEDEIROS, A.A. A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.39, n.6, p.1211-1233, 1995.
- BUSH, K. Metallo- β -lactamases: A class apart. *Clin. Infect. Dis.*, v.27, suppl.1, p.48-S53, 1998.
- BUSH, K. New β -lactamases in gram-negative bacteria: diversity and impact on the selection of antimicrobial therapy. *Clin. Infect. Dis.*, v.32, p.1085-1089, 2001.

- CARDOSO, O.; LEITÃO, R.; FIGUEIREDO, A.; SOUSA, J.C.; DUARTE, A.; PEIXE, L.V. Metallo- β -lactamase VIM-2 in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from Portugal. *Microb. Drug Resist.*, v.8, n.2, p.93-97, 2002.
- CARVALHO, A.P.D.; ALBANO, R.M.; OLIVEIRA, D.N.; CIDADE, D.A.P.; TEIXEIRA, L.M.; MARQUES, E.A. Characterization of an epidemic carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing SPM-1 metallo- β -lactamase in a hospital located in Rio de Janeiro, Brazil. *Microb. Drug Resist.*, v.12, n.2, p.103-108, 2006.
- CASTANHEIRA, M.; TOLEMAN, M.; JONES, R.N.; SCHMIDT, F.J.; WALSH, T.R. Molecular characterization of a β -lactamase gene, *bla*_{GIM-1}, encoding a new subclass of metallo- β -lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.48, n.12, p.4654-4661, 2004.
- CATCHPOLE, C. R.; ANDREWS, J.M.; BRENWALD, N.; WISE, R. A reassessment of the in-vitro activity of colistin sulphomethate sodium. *J. Antimicrob. Chemother.*, v.39, p.255-260, 1997.
- CHEN, Y.; SUCCI, J.; TENOVER, F.C.; KOEHLER, T.M. β -lactamase genes of the penicillin-susceptible *Bacillus anthracis* Sterne strain. *J. Bacteriol.*, v.185, n.3, p.823-830, 2003.
- CHU, Y.W.; AFZAL-SHAH, M.; HOUANG, E.T.S.; PALEPOU, M.F.I.; LYON, D.J.; WOODFORD, N.; LIVERMORE, D.M. IMP-4, a novel metallo- β -lactamase from nosocomial *Acinetobacter* spp. collected in Hong Kong between 1994 and 1998. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.45, n.3, p.710-714, 2001.
- CONCHA, N.O.; RASMUSSEN, B.A.; BUSH, K.; HERZBERG, O. Crystal structure of the wide-spectrum binuclear zinc β -lactamase from *Bacteroides fragilis*. *Structure*, v.4, p.823-836, 1996.
- CORNAGLIA, G.; MAZZARIOL, A.; LAURETTI, L.; ROSSOLINI, G.M.; FONTANA, R. Hospital outbreak of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing VIM-1, a novel transferable metallo- β -lactamase. *Clin. Infect. Dis.*, v.31, p.1119-1125, 2000.
- CRESPO, M. P.; WOODFORD, N.; SINCLAIR, A.; KAUFMANN, M.E.; TURTON, J.; GLOVER, J.; VELEZ, J.D.; CASTAÑEDA, C.R.; RECALDE, M.; LIVERMORE, D.M. Outbreak of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing VIM-8, a novel metallo- β -lactamase, in a tertiary care center in Cali, Colombia. *J. Clin. Microbiol.*, v.42, n.11, p.5094-5101, 2004.
- CROWDER, M.W.; WALSH, T.R.; BANOVIC, L.; PETTIT, M.; SPENCER, J. Overexpression, purification, and characterization of the cloned metallo- β -lactamase L1 from *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.42, n.4, p.921-926, 1998.
- DOCQUIER, J.D.; PANTANELLA, F.; GIULIANI, F.; THALLER, M.C.; AMICOSANTE, G.; GALLEN, M.; FRÈRE, J.M.; BUSH, K.; ROSSOLINI, G.M. CAU-1, a subclass B3 metallo- β -lactamase of low substrate affinity encoded by an ortholog present in the *Caulobacter crescentus* chromosome. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.46, n.6, p.1823-1830, 2002.
- DOCQUIER, J.D.; RICCIO, M.L.; MUGNAIOLI, C.; LUZZARO, F.; ENDIMIANI, A.; TONIOLO, A.; AMICOSANTE, G.; ROSSOLINI, G.M. IMP-12, a new plasmid-encoded metallo- β -lactamase from a *Pseudomonas putida* clinical isolate. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.47, n.5, p.1522-1528, 2003.
- DOCQUIER, J.D.; LOPIZZO, T.; LIBERATORI, S.; PRENNA, M.; THALLER, M.C.; FRÈRE, J.M.; ROSSOLINI, G.M. Biochemical characterization of the THIN-B metallo- β -lactamase of *Janthinobacterium lividum*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.48, n.12, p.4778-4783, 2004.
- FALAGAS, M.E.; KASIAKOU, S.K. Colistin: the revival of polylyxins for the management of multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *Clin. Infect. Dis.*, v.40, n.1, p.1333-1341, 2005.
- FIETT, J.; BARANIAK, A.; MRÓWKA, A.; FLEISCHER, M.; DRULIS-KAWA, Z.; NAUMIUK, L.; SAMET, A.; HRYNIEWICZ, W.; GNIADKOWSKI, M. Molecular epidemiology of acquired-metallo- β -lactamase-producing bacteria in Poland. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.50, n.3, p.880-886, 2006.

- FILHO, L.S.; SANTOS, I.B.; XAVIER, D.E.; MENEZES, L.C. Tipagem molecular de amostras de *Pseudomonas aeruginosa* produtoras de metalo- β -lactamases isoladas em João Pessoa/PB. *Rev. Bras. Anal. Clin.*, v.35, n.3, p.127-131, 2003.
- FRANKLIN C.; LIOLIOS, L.; PELEG, A.Y. Phenotypic detection of carbapenem-susceptible metallo- β -lactamase-producing gram-negative bacilli in the clinical laboratory. *J. Clin. Microbiol.*, v.44, n.9, p.3139-3144, 2006.
- FRITSCH, T.R.; SADER, H.S.; TOLEMAN, M.A.; WALSH, T.R.; JONES, R.N. Emerging metallo- β -lactamase-mediated resistances: a summary report from the worldwide SENTRY antimicrobial surveillance program. *Clin. Infect. Dis.*, v.41, suppl.4, p.S276-S278, 2005.
- FUJII, T.; SATO, K.; MIYATA, K.; INOUE, M.; MITSUHASHI, S. Biochemical properties of β -lactamase produced by *Legionella gormanii*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.29, n.5, p.925-926, 1986.
- GALES, A.C.; MENDES, R.E.; RODRIGUES, J.; SADER, H.S. Comparação das atividades antimicrobianas de meropenem e imipenem/cilastina: o laboratório necessita testar rotineiramente os dois antimicrobianos? *J. Bras. Patol. Med. Lab.*, v.38, n.1, p.13-20, 2002.
- GALES, A.G.; TOGNIM, M. C.B.; REIS, A.O.; JONES, R.N.; SADER, H.S. Emergence of an IMP-like metallo-enzyme in an *Acinetobacter baumannii* clinical strain from a Brazilian teaching hospital. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, v.45, p.77-79, 2003a.
- GALES, A. C.; MENEZES, L.C.; SILBERT, S.; SADER, H.S. Dissimination in distinct Brazilian regions of an epidemic carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing SPM metallo- β -lactamase. *J. Antimicrob. Chemother.*, v.52, p.699-702, 2003b.
- GALLEN, M.; LAMOTTE-BRASSEUR, J.; ROSSOLINI, G.M.; SPENCER, J.; DIDEBERG, O.; FRÈRE, J.M.; THR METALLO- β -LACTAMASE WORKING GROUP. Standard numbering scheme for class B β -lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.45, n.3, p.660-663, 2001.
- GARAU, G.; GARCÍA-SÁEZ, I.; BEBRONE, C.; ANNE, C.; MERCURI, P.; GALLEN, M.; FRÈRE, J.M.; DIDEBERG, O. Update of the standard numbering scheme for class B β -lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.48, n.7, p.2347-2349, 2004.
- GARAU, G.; BEBRONE, C.; ANNE, C.; GALLEN, M.; FRÈRE, J.M.; DIDEBERG, O. A metallo- β -lactamase enzyme in action: crystal structures of the monozinc carbapenemase CphA and its complex with biapenem. *J. Mol. Biol.*, v.345, p.785-795, 2005.
- GASPARETO, P.B.; MARTINS, A.F.; ZAVASCKI, A.P.; BARTH, A.L. Occurrence of BLA_{SPM-1} and BLA_{IMP-1} genes of metallo- β -lactamases in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from three university hospitals in the city of Porto Alegre, Brazil. *Braz. J. Microbiol.*, v.38, p.108-109, 2007.
- GIAKKOUP, P.; XANTHAKI, A.; KANELOPOULOU, M.; VLAHAKI, A.; KONTOU, S.; PAPAFRAGGAS, E.; MALAMOU-LADA, H.; TZOUVELEKIS, L.S.; LEGAKIS, N.J.; VATOPOULOS, A.C. VIM-1 metallo- β -lactamases-producing *Klebsiella pneumoniae* strains in Greek Hospitals. *J. Clin. Microbiol.*, v.41, n.8, p.3893-9896, 2003.
- GIBB, A.P.; TRIBUDDHARAT, C.; MOORE, R.A.; LOUIE, T.J.; KRULICKI, W.; LIVERMORE, D.M.; PAÇEPOU, M.F.I.; WOODFORD, N. Nosocomial outbreak of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* with a new bla_{IMP} allele, bla_{IMP-7} . *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.46, n.1, p.255-258, 2002.
- GISKE, C.G.; RYLANDER, M.; KRONVALL, G. VIM-4 in a carbapenem-resistant strain of *Pseudomonas aeruginosa* isolated in Sweden. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.47, n.9, p.3034-3035, 2003.
- HANSON, N.D.; HOSSAIN, A.; BUCK, L.; MOLAND, E.S.; THOMSON, K.S. First occurrence of a *Pseudomonas aeruginosa* isolate in the United States producing an IMP metallo- β -lactamase, IMP-18. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.50, n.6, p.2272-2273, 2006.
- HAWKEY, P. M.; XIONG, J.; YE, H.; LI, H.; M'ZALI, F.H. Occurrence of a new metallo- β -lactamase IMP-4 carried on a conjugative plasmid in *Citrobacter youngae* from the people's republic of China. *FEMS Microbiol. Lett.*, v.194, n.1, p.53-57, 2001.

- HEMALATHA, V.; SEKAR, U.; KAMAT, V. Detection of metallo betalactamases producing *Pseudomonas aeruginosa* in hospitalized patients. *Indian J. Med. Res.*, p.48-152, 2005.
- HIRAKATA, Y.; IZUMIKAWA, K.; YAMAGUCHI, T.; TAKEMURA, H.; TANAKA, H.; YOSHIDA, R.; MATSUDA, J.; NAKANO, M.; TOMONO, K.; MAESAKI, S.; KAKU, M.; YAMADA, Y.; KAMIHIRA, S.; KOHNO, S. Rapid detection and evaluation of clinical characteristics of emerging multiple-drug-resistant gram-negative rods carrying the metallo- β -lactamase. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.42, n.8, p.2006-2011, 1998.
- HO, S.E.; SUBRAMANIAM, S.; NAVARATNAM, P. Carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in Malaysia producing IMP-7 β -lactamase. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.46, n.10, p.3286-3287, 2002.
- HUSSAIN, M.; CARLINO, A.; MADONNA, M.J.; LAMPEN, J.O. Cloning and sequencing of the metallothioprotein β -lactamase II gene of *Bacillus cereus* 569/H in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.*, v.164, n.1, p.223-229, 1985.
- IACONIS, J.P.; SANDERS, C.C. Purification and characterization of inducible β -lactamases in *Aeromonas* spp.. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.34, n.1, p.44-51, 1990.
- IKONOMIDIS, A.; TOKATLIDOU, D.; KRISTO, I.; SOFIANOU, D.; TSAKRIS, A.; MANTZANA, P.; POURNARAS, S.; MANIATIS, A.N. Outbreaks in distinct regions due to a single *Klebsiella pneumoniae* clone carrying a *bla*_{VIM-1} metallo- β -lactamase gene. *J. Clin. Microbiol.*, v.43, n.10, p.5344-5347, 2005.
- ITO, H.; ARAKAWA, Y.; OHSUKA, S.; WACHAROTAYANKUN, R.; KATO, N.; OHTA, M. Plasmid-mediated dissemination of the metallo- β -lactamase gene *bla*_{IMP} among clinically isolated strains of *Serratia marcescens*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.39, n.4, p.824-829, 1995.
- IYOBE, S. KUSADOKORO, H.; OZAKI, J.; MATSUMURA, N.; MINAMI, S.; HARUTA, S.; SAWAI, T.; O'HARA, K. Amino acid substitutions in a variant of IMP-1 metallo- β -lactamase. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.44, n.8, p.2023-2027, 2000.
- IYOBE, S.; KUSADOKORO, H.; TAKAHASHI, A.; YOMODA, S.; OKUBO, T.; NAKAMURA, A.; O'HARA, K. Detection of a variant metallo- β -lactamase, IMP-10, from two unrelated strains of *Pseudomonas aeruginosa* and *Alcaligenes xylosoxidans* strain. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.46, n.6, p.2014-2016, 2002.
- JEONG, S.H.; LEE, K.; CHONG, Y.; YUM, J.H.; LEE, S.H.; CHOI, H.J.; KIM, J.M.; PARK, K.H.; HAN, B.H.; LEE, S.W.; JEONG, T.S. Characterization of a new integron containing VIM-2, a metallo- β -lactamase gene cassette, in a clinical isolate of *Enterobacter cloacae*. *J. Antimicrob. Chemother.*, v.51, p.397-400, 2003.
- JONES, R.N. et al. Emerging epidemic of metallo- β -lactamase-mediated resistance. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, v.51, p.77-84, 2005.
- KATRAGKOU, A.; ROILIDES, E. Successful treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* central nervous system infections with colistin. *J. Clin. Microbiol.*, v.43, n.9, p.4916-4917, 2005.
- KIMURA, S.; ISHII, Y.; YAMAGUCHI, K. Evaluation of dipicolinic acid for detection of IMP- or VIM-tipe metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, v.51, p.241-244, 2005a.
- KIMURA, S.; ALBA, J.; SHIROTO, K.; SANO, R.; NIKI, Y.; MAESAKI, S.; AKIZAWA, M.; KAKU, M.; WATANUKI, Y.; ISHII, Y.; YAMAGUCHI, K. Clonal diversity of metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* in geographically diverse regions of Japan. *J. Clin. Microbiol.*, v.43, n.1, p.458-461, 2005b.
- KOH, T.H.; WANG, G.C.Y.; SNG, L.H. IMP-1 and a novel metallo- β -lactamase, VIM-6, in fluorescent pseudomonads isolated in Singapore. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.48, n.6, p.2334-2336, 2004.
- KTARI, S.; ARLET, G.; MNIF, B.; GAUTIER, V.; MAHJOUBI, F.; JMEAA, M.B.; BOUAZIZ, M.; HAMMAMI, A. Emergence of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates producing VIM-4 metallo- β -lactamase, CTX-M-15 extended-spectrum β -lactamase, and CMY-4 AmpC- β -lactamase in a Tunisian University Hospital. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.50, n.12, p.4198-4201, 2006.

- KUWABARA, S.; ABRAHAM, E.P. Some properties of two extracellular β -lactamases from *Bacillus cereus* 569/H. *Biochem. J.*, v.103, p.27c-30c, 1967.
- LAGATOLLA, C.; TONIN, E.A.; MONTI-BRAGADIN, C.; DOLZANI, L.; GOMBAC, F.; BEARZI, C.; EDALUCCI, E.; GIONECHETTI, F.; ROSSOLINI, G.M. Endemic carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* with acquired metallo- β -lactamase determinants in european hospital. *Emerg. Infect. Dis.*, v.10, n.3, p.535-538, 2004.
- LAHEY CLINIC. Amino Acid Sequences for TEM, SHV and OXA Extended-Spectrum and Inhibitor Resistant β -Lactamases. Disponível em: <<http://www.lahey.org/studies/other.asp#table1>>. Acesso em: 15 out. 2007.
- LANDMAN, D.; BRATU, S.; ALAM, M.; QUALE, J. Citywide emergence of *Pseudomonas aeruginosa* strains with reduced susceptibility to polymyxin B. *J. Antimicrob. Chemother.*, v.55 n., p.954-957, 2005.
- LARTIGUE, M.F.; POIREL, L.; NORDMAN, P. First detection of a carbapenem-hydrolyzing metalloenzyme in an *Enterobacteriaceae* isolate in France. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.48, n.12, p.4929-4930, 2004.
- LAURETTI, L.; RICCIO, M.L.; MAZZARIOL, A.; CORNAGLIA, G.; AMICOSANTE, G.; FONTANA, R.; ROSSOLINI, G.M. Cloning and characterization of *bla*_{VIM}, a new integron-borne metallo- β -lactamase gene from *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.43, n.7, p.1584-1590, 1999.
- LEE, K.; CONG, Y.; SHIN, H.B.; KIM, Y.A.; YUM, J.H. Modified Hodge and EDTA-disk synergy tests to screen metallo- β -lactamase-producing strains of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* species. *Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, v.7, n.2, p.87-91, 2001.
- LEE, K.; LEE, W.G.; UH, Y.; HA, G.Y.; CHO, J.; CHONG, Y.; KOREAN NATIONWIDE SURVEILLANCE OF ANTIMICROBIAL RESISTANCE GROUP. VIM- and IMP-type metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. in Korean hospitals. *Emerg. Infect. Dis.*, v.9, n.7, p.868-871, 2003a.
- LEE, K.; YONG, L.D.; YUM, J.H.; CHONG, Y. Evaluation of the Hodge test and the Imipenem-EDTA double-disk synergy test for differentiating metallo- β -lactamase-producing isolates of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. *J. Clin. Microbiol.*, v.41, n.10, p.4623-4629, 2003b.
- LEE, K.; YUM, J.H.; YONG, D.; LEE, H.M.; KIM, H.D.; DOCQUIER, J.D.; ROSSOLINI, G.M.; CHONG, Y. Novel acquired metallo- β -lactamase gene, *bla*_{SIM-1}, in a class 1 integron from *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from Korea. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.49, n.11, p.4485-4491, 2005a.
- LEE, K.; YONG, D.; YUM, J.H.; LIM, Y.S.; BOLMSTRÖM, A.; QWÄRNSTRÖM, A.; KARLSSON, A.; CHONG, Y. Evaluation of Etest MBL for detection of *bla*_{IMP-1} and *bla*_{VIM-2} allele-positive clinical isolates of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp.. *J. Clin. Microbiol.*, v.43, n.2, p.942-944, 2005b.
- LEVIN, A.S.; BARONE, A.A.; PENÇO, J.; SANTOS, M.V.; MARINHO, I.S.; ARRUDA E.A.G.; MANRIQUE, E.I.; COSTA, S.F. Intravenous colistin as therapy for nosocomial infections caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. *Clin. Infect. Dis.*, v.28, n. p.1008-1011, 1999.
- LI, J.; RAYNER, C.R.; NATION, R.L.; OWEN, R.J.; SPELMAN, D.; TAN, K.E.; LIOLIOS, L. Heteroresistance to colistin in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.50, n.9, p.2946-2950, 2006.
- LIBISCH, B.; GACS, M.; CSISZÁR, K.; MUZSLAY, M.; RÓKUSZ, L.; FÜZI, M. Isolation of an integron-borne *bla*_{VIM-4} type metallo- β -lactamase gene from a carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate in Hungary. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.48, n.9, p.3576-3578, 2004.
- LINCOPAN, N.; McCULLOCH, J.A.; REINERT, C.; CASSETTARI, V.C.; GALES, A.C.; MAMIZUKA, E.M. First isolation of metallo- β -lactamase-producing multiresistant *Klebsiella pneumoniae* from a patient in Brazil. *J. Clin. Microbiol.*, v.43, n.1, p.516-519, 2005.
- LIVERMORE, D. M. β -lactamase in laboratory and clinical resistance. *Clin. Microbiol. Rev.*, v.8, n.4, p.557-584, 1995.

- LOMBARDI, G.; LUZZARO, F.; DOCQUIER, J.D.; RICCIO, M.L.; PERILLI, M.; COLI, A.; AMICOSANTE, G.; ROSSOLINI, G.M.; TONIOLO, A. Nosocomial infections caused by multidrug-resistant isolates of *Pseudomonas putida* producing VIM-1 metallo- β -lactamase. *J. Clin. Microbiol.*, v.40, n.11, p.4051-4055, 2002.
- LUZZARO, F.; DOCQUIER, J.D.; COLINON, C.; ENDIMIANI, A.; LOMBARDI, G.; AMICOSANTE, G.; ROSSOLINI, G.M.; TONIOLO, A. Emergence in *Klebsiella pneumoniae* and *Enterobacter cloacae* clinical isolates of the VIM-4 metallo- β -lactamase encoded by a conjugative plasmid. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.48, n.2, p.648-650, 2004.
- MAGALHÃES, V.; LINS, A.K.; MAGALHÃES, M. Metallo- β -lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated in hospitals in Recife, PE, Brazil. *Braz. J. Microbiol.*, v.36, p.123-125, 2005.
- MAMMERI, H.; BELLAIS, S.; NORDMANN, P. Chromosome-encoded β -lactamases TUS-1 and MUS-1 from *Myroides odoratus* and *Myroides odoratimimus* (formerly *Flavobacterium odoratum*), new members of the lineage of molecular subclass B1 metalloenzymes. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.46, n.11, p.3561-3567, 2002.
- MARCHIARO, P.; MUSSI, M.A.; BALLERINI, V.; PASTERAN, F.; VIALE, A.M.; VILA, A.J.; LIMANSKY, A.S. Sensitive EDTA-based microbiological assays for detection of metallo- β -lactamases in nonfermentative Gram-negative bacteria. *J. Clin. Microbiol.*, v.43, n.11, p.5648-5652, 2005.
- MASSIDA, O.; ROSSOLINI, G.M.; SATTA, G. The *Aeromonas hydrophila* *cphA* gene: molecular heterogeneity among class B metallo- β -lactamases. *J. Bacteriol.*, v.173, n.15, p.4611-4617, 1991.
- MAVROIDI, A.; TSAKRIS, A.; TZELEPI, E.; POURNARAS, S.; LOUKOVA, V.; TZOUVELEKIS, L.S. Carbapenem-hydrolysing VIM-2 metallo- β -lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* from Greece. *J. Antimicrob. Chemother.*, v.46, n. p.1037-1046, 2000.
- MENDES, R.E.; TOLEMAN, M.A.; RIBEIRO, J.; SADER, H.S.; JONES, R.N.; WALSH, T.R. Integron carrying a novel metallo- β -lactamase gene, *bla*_{IMP-16'}, and a fused form of aminoglycoside-resistant gene *aac(6')-30/aac(6')-Ib'*: report from the SENTRY antimicrobial surveillance program. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.48, n.12, p.4693-4702, 2004a.
- MENDES, R.E.; CASTANHEIRA, M.; GARCIA, P.; GUZMAN, M.; TOLEMAN, M.A.; WALSH, T.R.; JONES, R.N. First isolation of *bla*_{VIM-2} in Latin America: report from the SENTRY antimicrobial surveillance program. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.48, n.4, p.1433-1434, 2004b.
- MICHALOPOULOS, A.S.; TSIODRAS, S.; RELLOS, K.; MENTZELOPOULOS, S.; FALAGAS, M.E. Colistin treatment in patients with ICU-acquired infections caused by multiresistant Gram-negative bacteria: The renaissance of an old antibiotic. *Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, v.11, n. p.115-121, 2005.
- MIGLIAVACCA, R.; DOCQUIER, J.D.; MUGNAIOLI, C.; AMICOSANTE, G.; DATURI, R.; LEE, K.; ROSSOLINI, G.M.; PAGANI, L. Simple microdilution test for detection of metallo- β -lactamase production in *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Clin. Microbiol.*, v.40, n.11, p.4388-4390, 2002.
- MIRIAGOU, V.; TZELEPI, E.; GIANNELI, D.; TZOUVELEKIS, L.S. *Escherichia coli* with a self-transferable, multiresistant plasmid coding for metallo- β -lactamase VIM-1. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.47, n.1, p.395-397, 2003.
- MOLLARD, C.; MOALI, C.; PAPAMICHAEL, C.; DAMBLON, C.; VESSILIER, S.; AMICOSANTE, G.; SCHOFIELD, C.J.; GALLEN, M.; FRÉRE, J.M.; ROBERTS, G.C.K. Thiomandelic acid, a broad spectrum inhibitor of zinc β -lactamases. *J. Biol. Chem.*, v.276, n.48, p.45015-45023, 2001.
- MURPHY, T.A.; SIMM, A.M.; TOLEMAN, M.A.; JONES, R.N.; WALSH, T.R. Biochemical characterization of the acquired metallo- β -lactamase SPM-1 from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.47, n.2, p.582-587, 2003.
- MURRAY, P.R.; ROSENTHAL, K.S.; KOBAYASHI, G.S.; PFALLER, M.A. *Microbiologia médica*. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 776p.

- NAAS, T.; BELLAIS, S.; NORDMANN, P. Molecular and biochemical characterization of a carbapenem-hydrolyzing β -lactamase from *Flavobacterium johnsoniae*. *J. Antimicrob. Chemother.*, v.51, n. p.267-273, 2003.
- NAGANO, R.; ADACHI, Y.; IMAMURA, H.; YAMADA, K.; HASHIZUME, T.; MORISHIMA, H. Carbapenem derivatives as potential inhibitors of various β -lactamase, including class B metallo- β -lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.43, n.10, p.2497-2503, 1999.
- NEUWIRTH, C.; SIEBOR, E.; ROBIN, F.; BONNET, R. First occurrence of an IMP metallo- β -lactamase in *Aeromonas caviae*: IMP-19 in a French isolate. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.51, n.12 p.4486-4488, 2007.
- NORDMANN, P.; POIREL, L. Emerging carbapenemases in gram negative aerobes. *Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, v.8, n. p.321-331, 2002.
- OSANO, E.; ARAKAWA, Y.; WACHAROTAYANKUN, R.; OHTA, M.; HORII, T.; ITO, H.; YOSHIMURA, F.; KATO, N. Molecular characterization of an enterobacterial metallo- β -lactamase found in a clinical isolate of *Serratia marcescens* that shows imipenem resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.38, n.1, p.71-78, 1994.
- OUDEKIRK, J.P.; NORD, J.A.; TURETT, G.S.; KISLAK, W. Polymyxin B nephrotoxicity and efficacy against nosocomial infections caused by multiresistant Gram-negative bacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.47, n.8, p.2659-2662, 2003.
- PAGE, M. L. Understanding metallo β -lactamase. *ASM News*, v.68, n.5, p.217-221, 2002.
- PAGNIEZ, G.; RADICE, M.; CUIROLO, A.; RODRÍGUEZ, O.; RODRÍGUES, H.; VAY, C.; FAMILIETTI, A.; GUTKIND, G. Prevalencia de metalo- β -lactamases en *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapenemes en un Hospital Universitario de Buenos Aires. *Rev. Argent. Microbiol.*, v.38, n. p.33-37, 2006.
- PASTERAN, F.; FACCONI, D.; PETRONI, A.; RAPOPORT, M.; GALAS, M.; VÁSQUEZ, M.; PROCOPIO, A. Novel variant (bla_{VIM-11}) of the metallo- β -lactamase bla_{VIM} family in a GES-1 extend-spectrum- β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate in Argentina. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.49, n.1, p.474-475, 2005.
- PATZER, J.; TOLEMAN, M.A.; DESHPANDE, L.M.; KAMINSKA, W.; DZIERZANOWSKA, D.; BENNETT, P. M.; JONES, R. N.; WALSH, T.R. *Pseudomonas aeruginosa* strains harbouring an unusual bla_{VIM-4} gene cassette isolated from hospitalized children in Poland (1998-2001). *J. Antimicrob. Chemother.*, v.53, n. p.451-456, 2004.
- PAUL-SOTO, R.; BAUER, R.; FRÈRE, J.M.; GALLEN, M.; MEYER-KLAUCKE, W.; NOLTING, H.; ROSSOLINI, G.M.; SENY, S.; HERNANDEZ-VALLADARES, M.; ZEPPEZAUER, M.; ADOLPH, H.W. Mono- and binuclear Zn^{2+} - β -lactamase. *J. Biol. Chem.*, v.274, n.19, p.13242-13249, 1999.
- PAYNE, D.J.; CRAMP, R.; BATESON, J.H.; NEALE, J.; KNOWLES, D. Rapid identification of metallo and serine β -lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.38, n.5, p.991-996, 1994.
- PAYNE, D.J.; BATESON, J.H.; GASSON, B.C.; PROCTOR, D.; KHUSHI, T.; FARMER, T.H.; TOLSON, D.A.; BELL, D.; SKETT, P.W.; MARSHALL, A.C.; REID, R.; GHOSEZ, L.; COMBRET, Y.; MARCHAND-BRYNAERT, J. Inhibition of metallo- β -lactamases by a series of mercaptoacetic acid thiol ester derivatives. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.41, n.1, p.135-140, 1997.
- PAYNE, D.J.; HUESCO-RODRÍGUES, J.A.; BOYD, H.; CONCHA, N.O.; JANSON, C.A.; GILPIN, M.; BATESON, J.H.; CHEEVER, C.; NICONOVICH, N.L.; PEARSON, S.; RITTENHOUSE, S.; TEW, D.; DÍEZ, E.; PÉREZ, P.; FUENTE, J.; REES, M.; RIVERA-SAGREDO, A. Identification of a series of tricyclic natural products as potent broad-spectrum inhibitors of metallo- β -lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.46, n.6, p.1880-1886, 2002.
- PELEG, A.Y.; FRANKLIN, C.; BELL, J.; SPELMAN, D.W. Emergence of IMP-4 metallo- β -lactamase in a clinical isolate from Australia. *J. Antimicrob. Chemother.*, v.54, n. p.699-700, 2004.

- PELEG, A.Y.; FRANKLIN, C.; BELL, J.M.; SPELMAN, D.W. Dissemination of metallo- β -lactamase gene *bla*_{IMP-4} among gram-negative pathogens in a clinical setting in Australia. *Clin. Infect. Dis.*, v.41, n. p.1549-1556, 2005.
- PELLEGRINO, F.L.P.C.; TEIXEIRA, L.M.; CARVALHO, M.G.S.; NOUÉR, S.A.; OLIVEIRA, M.P.; SAMPAIO, J.L.M.; FREITAS, A.A.F.; FERREIRA, A.L.P.; AMORIM, E.L.T.; RILEY, L.W.; MOREIRA, B.M. Occurrence of a multidrug-resistance *Pseudomonas aeruginosa* clone in different hospitals in Rio de Janeiro, Brazil. *J. Clin. Microbiol.*, v.40, n.7, p.2420-2424, 2002.
- PETROPOULOU, D.; TZANETOU, K.; SYRIOPOULOU, V.P.; DAIKOS, G.L.; GANTERIS, G.; MALAMOULADA, E. Evaluation of imipenem/imipenem+EDTA disk method for detection of metallo- β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolated from blood cultures. *Microb. Drug Resist.*, v.12, n.1, p.39-43, 2006.
- PITOUT, J.D.D.; GREGSON, D.B.; POIREL, L.; McCLURE, J.A.; LE, P.; CHURCH, D.L. Detection of *Pseudomonas aeruginosa* producing metallo- β -lactamases in a large centralized laboratory. *J. Clin. Microbiol.*, v.43, n.7, p.3129-3135, 2005.
- POIREL, L.; NORDMANN, P. Acquired Carbapenem-hydrolyzing beta-lactamases and their genetic support. *Curr. Pharm. Biotechnol.*, v.3, n. p.117-127, 2002.
- POIREL, L.; MAGALHÃES, M.; LOPES, M.; NORDMANN, P. Molecular analysis of metallo- β -lactamase gene *bla*_{SPM-1}-surrounding sequences from disseminated *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Recife, Brazil. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.48, n.4, p.1406-1409, 2004.
- POUNARAS, S.; TSAKRIS, A.; MANIATI, M.; TZOUVELEKIS, L.S.; MANIATIS, A.N. Novel variant (*bla*_{VIM-4}) of the metallo- β -lactamase gene *bla*_{VIM-1} in a clinical strain of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.46, n.12, p.4026-4028, 2002.
- POUNARAS, S.; IKONOMIDIS, A.; TZOUVELEKIS, L.S.; TOKATLIDOU, D.; SPANAKIS, N.; MANIATIS, A.N.; LEGAKIS, N.J.; TSAKRIS, A. VIM-12 a novel plasmid-mediated metallo- β -lactamase from *Klebsiella pneumoniae* that resembles a VIM-1/VIM-2 hybrid. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.49, n.12, p.5153-5156, 2005.
- POWERS, J.H. Antimicrobial drug development – the past, the present, and the future. *Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, v.10, suppl.4, p.23-31, 2004.
- PRATS, G.; MIRO, E.; MIRELIS, B.; POIREL, L.; BELLAIS, S.; NORDMANN, P. First isolation of a carbapenem-hydrolyzing β -lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* in Spain. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.46, n.3, p.932-933, 2002.
- RASMUSSEN, B.A.; BUSH, K. Carbapenem-hydrolyzing- β -lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.41, n.2, p.223-232, 1997.
- REIS, A.O.; LUZ, D.A.M.; TOGNIM, M.C.B.; SADER, H.S.; GALES, A.C. Polymyxin-resistant *Acinetobacter* spp. isolates: what is next? *Emerg. Infect. Dis.*, v.9, n.8, p.1025-1027, 2003.
- RICCIO, M.L.; FRANCESCHINI, N.; BOSCHI, L.; CARAVELLI, B.; CORGNALIA, G.; FONTANA, R.; AMICOSANTE, G.; ROSSOLINI, G.M. Characterization of the metallo- β -lactamase determinant of *Acinetobacter baumannii* AC-54/97 reveals the existence of *bla*_{IMP} allelic variants carried by gene cassettes of different phylogeny. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.44, n.5, p.1229-1235, 2000.
- RICCIO, M.L.; PALLECCHI, L.; FONTANA, R.; ROSSOLINI, G.M. In70 of plasmid pAX22, a *bla*_{VIM-1}-containing integron carrying a new aminoglycoside phosphotransferase gene cassette. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.45, n.4, p.1249-1253, 2001.
- ROSSOLINI, G.M.; FRANCESCHINI, N.; RICCIO, M.L.; MERCURI, P.S.; PERILLI, M.; GALLEN, M.; FRERE, J.M.; AMICOSANTE, G. Characterization and sequence of the *Chryseobacterium (Flavobacterium) meningosepticum* carbapenemase: a new molecular class B β -lactamase showing a broad substrate profile. *Biochem. J.*, v.332, n. p.145-152, 1998.
- ROSSOLINI, G.M.; CONDEMI, M.A.; PANTANELLA, F.; DOCQUIER, J.D.; AMICOSANTE, G.; THALLER, M.C. Metallo- β -lactamase producers in environmental microbiota: new molecular class B enzyme in *Janthinobacterium lividum*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.45, n.3, p.837-844, 2001.

- ROSSOLINI, G.M. Acquired metallo- β -lactamases: an increasing clinical threat. *Clin. Infect. Dis.*, v.41, n. p.1557-1558, 2005.
- SAAVEDRA, M.J.; PEIXE, L.; SOUSA, J.C.; HENRIQUES, I.; ALVES, A.; CORREIA, A. Sfh-I, a subclass B2 metallo- β -lactamase from a *Serratia fonticola* environmental isolate. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.47, n.7, p.2330-2333, 2003.
- SABATH, L.D.; ABRAHAM, E.P. Zinc as a cofactor for cephalosporinase from *Bacillus cereus* 569. *Biochem. J.*, v.98, n. p.11c-13c, 1966.
- SADER, H.S.; CASTANHEIRA, M.; MENDES, R.E.; TOLEMAN, M.; WALSH, T.R.; JONES, R.N. Dissemination and diversity of metallo- β -lactamases in Latin America: report from the SENTRY antimicrobial surveillance program. *Int. J. Antimicrob. Agents*, v.25, n. p.57-61, 2005a.
- SADER, H.S.; REIS, A.O.; SILBERT, S.; GALES, A.C. IMPs, VIMs and SPMs: the diversity of metallo- β -lactamases produced by carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in a brazilian hospital. *Clin. Microbiol. Infect.*, v.11, n.1, p.73-76, 2005b.
- SADER, H.S. Polimixinas: menos tóxicas e mais necessárias que imaginávamos. *Prática Hospitalar.*, n.46, p.216-220, 2006.
- SAINO, Y.; KOBAYASHI, F.; INOUE, M.; MITSUHASHI, S. Purification and properties of inducible penicillin- β -lactamase isolated from *Pseudomonas maltophilia*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.22, n.4, p.564-570, 1982.
- SARDELIC, S.; PALLECCHI, L.; PUNDA-POLIC, V.; ROSSOLINI, G.M. Carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*-carrying VIM-2 metallo- β -lactamase determinants, Croatia. *Emerg. Infect. Dis.*, v.9, n.8, p.1022-1023, 2003.
- SATO, K.; FUJII, T.; OKAMOTO, R.; INOUE, M.; MITSUHASHI, S. Biochemical properties of β -lactamase produced by *Flavobacterium odoratum*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.27, n.4, p.612-614, 1985.
- SEGAL, H.; ELISHA, B.G. Use of Etest MBL strips for the detection of carbapenemases in *Acinetobacter baumannii*. *J. Antimicrob. Chemother.*, v.56, n. p.598, 2005.
- SENDA, K.; ARAKAWA, Y.; NAKASHIMA, K.; ITO, H.; ICHIYAMA, S.; SHIMOKATA, K.; KATO, N.; OHTA, M. Multifocal outbreaks of metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* resistant to broad-spectrum β -lactams, including carbapenems. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.40, n.2, p.349-353, 1996a.
- SENDA, K.; ARAKAWA, Y.; ICHIYAMA, S.; NAKASHIMA, K.; ITO, H.; OHSUKA, S.; SHIMOKATA, K.; KATO, N.; OHTA, M. PCR detection of metallo- β -lactamase gene (*bla*_{IMP}) in gram-negative rods resistant to broad-spectrum β -lactams. *J. Clin. Microbiol.*, v.34, n.12, p.2909-2913, 1996b.
- SHIBATA, N.; DOI, Y.; YAMANE, K.; YAGI, T.; KUROKAWA, H.; SHIBAYAMA, K.; KATO, H.; KAI, K.; ARAKAWA, Y. PCR typing of genetic determinants for metallo- β -lactamases and integrases carried by gram-negative bacteria isolated in Japan, with focus on the class 3 integron. *J. Clin. Microbiol.*, v.41, n.12, p.5407-5413, 2003.
- SIEMANN, S.; EVANOFF, D.P.; MARRONE, L.; CLARKE, A.J.; VISWANATHA, T.; DMITRIENKO, G.I. N-arylsulfonyl hydrazones as inhibitors of IMP-1 metallo- β -lactamase. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.46, n.8, p.2450-2457, 2002.
- SIEMANN, S.; CLARKE, A.J.; VISWANATHA, T.; DMITRIENKO, G.I. Thiols as classical and slow-binding inhibitors of IMP-1 and other binuclear metallo- β -lactamases. *Biochemistry*, v.42, n.6, p.1673-1683, 2003.
- SILVA, D.J.; CORREIA, M.; VITAL, C.; RIBEIRO, G.; SOUSA, J.C.; LEITÃO, R.; PEIXE, L.; DUARTE, A. Molecular characterization of *bla*_{IMP-57}, a new integron-borne metallo- β -lactamase gene from an *Acinetobacter baumannii* nosocomial isolate in Portugal. *FEMS Microbiol. Lett.*, v.215, n.1, p.33-39, 2002.
- SIMM, A.M.; HIGGINS, C.S.; PULLAN, S.T.; AVISON, M.B.; NIUMSUP, P.; ERDOZAIN, O.; BENNETT, P.M.; WALSH, T.R. A novel metallo- β -lactamase, Mbl1b, produced by the environmental bacterium *Caulobacter crescentus*. *FEBS Lett.*, v.509, n. p.350-354, 2001.

- TAKAHASHI, A.; YOMODA, S.; KOBAYASHI, I.; OKUBO, T.; TSUNODA, M.; IYOBE, S. Detection of carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* in a hospital. *J. Clin. Microbiol.*, v.38, n.2, p.526-529, 2000.
- TAM, V.H.; SCHILLING, A.N.; VO, G.; KABBARA, S.; KWA, A.L.; WIEDERHOLD, N.P.; LEWIS, R.E. Pharmacodynamics of polymyxin B against *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.49, n.9, p.3624-3630, 2005.
- TENOVER, F.C. Development and spread of bacterial resistance to antimicrobial agents: an overview. *Clin. Infect. Dis.*, v.33, suppl.3, p.S108-S115, 2001.
- TOLEMAN, M.A.; SIMM, A.M.; MURPHY, T.A.; GALES, A.C.; BIEDENBACH, D.J.; JONES, R.N.; WALSH, T.R. Molecular characterization of SPM-1, a novel metallo- β -lactamase isolated in latin America: report from the SENTRY antimicrobial surveillance programme. *J. Antimicrob. Chemother.*, v.50, n. p.673-679, 2002.
- TOLEMAN, M.A.; BIEDENBACH, D.; BENNETT, D.; JONES, R.N.; WALSH, T.R. Genetic characterization of a novel metallo- β -lactamase gene, *bla*_{IMP-13}, harboured by a novel Tn5051-type transposon disseminating carbapenemase genes in Europe: report from the SENTRY worldwide antimicrobial surveillance programme. *J. Antimicrob. Chemother.*, v.52, n. p.583-590, 2003.
- TOLEMAN, M.A.; ROLSTON, K.; JONES, R.N.; WALSH, T.R. *bla*_{VIM-7}, an evolutionarily distinct metallo- β -lactamase gene in a *Pseudomonas aeruginosa* isolate from the United States. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.48, n.1, p.329-332, 2004.
- TOLEMAN, M.A.; BIEDENBACH, D.; BENNETT, D.M.; JONES, R.N.; WALSH, T.R. Italian metallo- β -lactamases: a national problem? Report from the SENTRY antimicrobial surveillance programme. *J. Antimicrob. Chemother.*, v.55, n. p.61-70, 2005.
- TONEY, J.H.; CLEARY, K.A.; HAMMOND, G.G.; YUAN, X.; MAY, W.J.; HUTCHINS, S.M.; ASHTON, W.; VANDERWALL, D.E. Structure-activity relationships of biphenyl tetrazoles as metallo- β -lactamase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, v.9, n.18, p.2741-2746, 1999.
- TONEY, J.H.; HAMMOND, G.G.; FITZGERALD, P.M.D.; SHARMA, N.; BALKOVEC, J.M.; ROUEN, G.P.; OLSON, S.H.; HAMMOND, M.L.; GREENLEE, M.L.; GAO, Y.D. Succinic acids as potent inhibitors of plasmid-borne IMP-1 metallo- β -lactamase. *J. Biol. Chem.*, v.276, n.34, p.31913-31918, 2001.
- TÓRTOLA, M.T.; LAVILLA, S.; MIRÓ, E.; GONZÁLEZ, J.J.; LARROSA, N.; SABATÉ, M.; NAVARRO, F.; PRATS, G. First detection of a carbapenem-hydrolyzing metalloenzyme in two *Enterobacteriaceae* isolates in Spain. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.49, n.8, p.3492-3494, 2005.
- TSAKRIS, A.; POURNARAS, S.; WOODFORD, N.; PALEPOU, M.F.I.; BABINI, G.S.; DOUBOYAS, J.; LIVERMORE, D.M. Outbreak of infections caused by *Pseudomonas aeruginosa* producing VIM-1 carbapenemase in Greece. *J. Clin. Microbiol.*, v.38, n.3, p.1290-1292, 2000.
- TYSALL, L.; STOCKDALE, W.; CHADWICK, P.R.; PALEPOU, M.F.I.; TOWNER, K.J.; LIVERMORE, D.M.; WOODFORD, N. IMP-1 carbapenemase detected in an *Acinetobacter* clinical isolate from the UK. *J. Antimicrob. Chemother.*, v.49, n. p.217-218, 2002.
- VILLEGAS, M.V.; LOLANS, K.; OLIVERA, M.R.; SUAREZ, C.J.; CORREA, A.; QUEENAN, A.M.; QUINN, J.P.; COLOMBIAN NOSOCOMIAL RESISTANCE STUDY GROUP. First detection of metallo- β -lactamase VIM-2 in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Colombia. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.50, n.1, p.226-229, 2006.
- VOURLI, S.; TSORLINI, H.; KATSIFA, H.; POLEMIS, M.; TZOUVELEKIS, L.S.; KONTODIMOU, A.; VATOPOULOS, A.C. Emergence of *Proteus mirabilis* carrying the *bla*_{VIM-1} metallo- β -lactamase gene. *Clin. Microbiol. Infect.*, v.22, n.7, p.691-694, 2006.
- XIONG, J.; HYNES, M.F.; YE, H.; CHEN, H.; YANG, Y.; M'ZALI, F.; HAWKEY, P.M.; GUANGZHOU ANTIBIOTIC RESISTANCE STUDY GROUP. *bla*_{IMP-9} and its association with large plasmids carried by *Pseudomonas aeruginosa* isolates from the people's republic of China. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.50, n.1, p.355-358, 2006.

- WALSH, T.R.; GAMBLIN, S.; EMERY, D.C.; MACGOWAN, A.P.; BENNETT, P.M. Enzyme kinetics and biochemical analysis of ImiS, the metallo- β -lactamase from *Aeromonas sobria* 163a. *J. Antimicrob. Chemother.*, v.47, n. p.423-431, 1996.
- WALSH, T.R.; STUNT, R.A.; NABI, J.A.; MACGOWAN, A.P.; BENNETT, P.M. Distribution and expression of β -lactamase genes among *Aeromonas* spp.. *J. Antimicrob. Chemother.*, v.40, n. p.171-178, 1997.
- WALSH, T.R.; BOLMSTRÖM, A.; QWÄRNSTRÖM, A.; GALES, A. Evaluation of a new Etest for detecting metallo- β -lactamase in routine clinical testing. *J. Clin. Microbiol.*, v.40, n.8, p.2755-2759, 2002.
- WALSH, T.R.; TOLEMAN, M.A.; HRYNIEWICZ, W.; BENNETT, P.M.; JONES, R.N. Evolution of an integron carrying *bla*_{VIM-2} in eastern Europe: report from the SENTRY antimicrobial surveillance program. *J. Antimicrob. Chemother.*, v.52, n. p.116-119, 2003.
- WALSH, T.R.; TOLEMAN, M.A.; POIREL, L.; NORDMANN, P. Metallo- β -lactamases: the quiet before the storm? *Clin. Microbiol. Rev.*, v.18, n.2, p.306-325, 2005a.
- WALSH, T.R. The emergence and implications of metallo- β -lactamases in Gram-negative bacteria. *Clin. Microbiol. Infect.*, v.11, suppl.6, p.2-9, 2005b.
- WALTER, M.W.; FELICI, A.; GALLEN, M.; PAULSOTO, R.; ADLINGTON, R.M.; BALDWIN, J.E.; FRÈRE, J.M.; GOLOBOV, M.; SCHOFIELD, C.J. Trifluoromethyl alcohol and ketone inhibitors of metallo- β -lactamases. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, v.6, n.20, p.2455-2458, 1996.
- WALTER, M.W.; VALLADARES, M.H.; ADLINGTON, R.M.; AMICOSANTE, G.; BALDWIN, J.E.; FRÈRE, J.M.; GALLEN, M.; ROSSOLINI, G.M.; SCHOFIELD, C.J. Hydroxamate inhibitors of *Aeromonas hydrophyla* AE036 metallo- β -lactamase. *Bioorg. Chem.*, v.27, n.1, p.35-40, 1999.
- WATANABE, M.; IYOBE, S.; INOUE, M.; MITSUHASHI, S. Transferable imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.35, n.1, p.147-151, 1991.
- WOODFORD, N.; PALEPOU, M.F.; BABINI, G.S.; HOLMES, B.; LIVERMORE, D.M. Carbapenemases of *Chryseobacterium (Flavobacterium) meningosepticum*: distribution of *blaB* and characterization of a novel metallo- β -lactamase gene, *blaB3*, in the type strain, NCTC 10016. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.44, n.6, p.1448-1452, 2000.
- YAMAZOE, K.; KATO, N.; KATO, H.; TANAKA, K.; KATAGIRI, Y.; WATANABE, K. Distribution of the *cfiA* gene among *Bacteroides fragilis* strains in Japan and relatedness of *cfiA* to imipenem resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.43, n.11, p.2808-2810, 1999.
- YAN, J.J.; HSUEH, P.R.; KO, W.C.; LUH, K.T.; TSAI, S.H.; WU, H.M.; WU, J.J. Metallo- β -lactamases in clinical *Pseudomonas* isolates in Taiwan and identification of VIM-3, a novel variant of the VIM-2 enzyme. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.45, n.8, p.2224-2228, 2001a.
- YAN, J.J.; KO, W.C.; WU, J.J. Identification of a plasmid encoding SHV-12, TEM-1, and a variant of IMP-2 metallo- β -lactamase, IMP-8, from a clinical isolate of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.45, n.8, p.2368-2371, 2001b.
- YAN, J.J.; KO, W.C.K.; CHUANG, C.L.; WU, J.J. Metallo- β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* isolates in a university hospital in Taiwan: prevalence of IMP-8 in *Enterobacter cloacae* and first identification of VIM-2 in *Citrobacter freundii*. *J. Microbiol. Chemother.*, v.50, n. p.503-511, 2002.
- YANO, H.; KUGA, A.; OKAMOTO, R.; KITASATO, H.; KOBAYASHI, T.; INOUE, M. Plasmid-encoded metallo- β -lactamase (IMP-6) conferring resistance to carbapenems, especially meropenem. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.45, n.5, p.1343-1348, 2001.
- YONG, D.; LEE, K.; YUM, J.H.; SHIN, H.B.; ROSSOLINI, G.M.; CHONG, Y. Imipenem-EDTA disk method for differentiation of metallo- β -lactamase-producing clinical isolates of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. *J. Clin. Microbiol.*, v.40, n.10, p.3798-3801, 2002.
- YOTSUJI, A.; MINAMI, S.; INOUE, M.; MITSUHASHI, S. Properties of novel β -lactamase produced by *Bacteroides fragilis*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.24, n.6, p.925-929, 1983.

- YUM, J.H.; YI, K.; LEE, H.; YONG, D.; LEE, K.; KIM, J.M.; ROSSOLINI, G.M.; CHONG, Y. Molecular characterization of metallo- β -lactamase-producing *Acinetobacter baumannii* and *Acinetobacter* genomospecies 3 from Korea: identification of two new integrons carrying the *bla*_{VIM-2} gene cassettes. *J. Antimicrob. Chemoter.*, v.49, n. p.837-840, 2002a.
- YUM, J.H.; YONG, D.; LEE, K.; KIM, H.S.; CHONG, Y. A new integron carrying VIM-2 metallo- β -lactamase gene cassette in a *Serratia marcescens* isolate. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, v.42, n.3, p.217-219, 2002b.
- ZAVASCKI, A.P.; GASPARETO, P.B.; MARTINS, A.F.; GONCALVES, A.L.; BARTH, A.L. Outbreak of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing SPM-1 metallo- β -lactamase in a teaching hospital in southern Brazil. *J. Antimicrob. Chemoter.*, v.56, n. p.1148-1151, 2005.

Recebido para publicação em 11 de janeiro de 2008

Aceito para publicação em 24 de julho de 2008