

β -Lactamases de Espectro Ampliado (ESBL) em *Pseudomonas aeruginosa*: Pesadelo ou só Imaginação?

Dra. Renata Cristina Picão¹ • Profa. Dra. Ana Cristina Gales²

INTRODUÇÃO

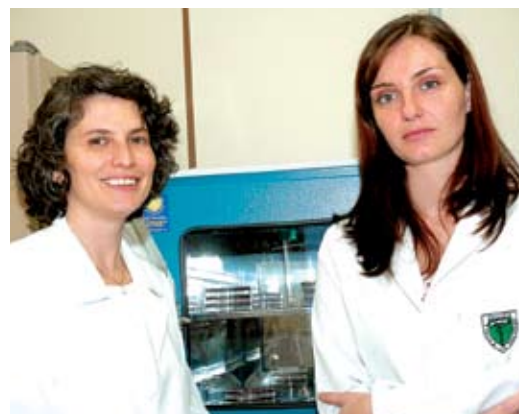
As β -lactamases são enzimas capazes de clivar o anel β -lactâmico e, dessa forma, inativar antimicrobianos β -lactâmicos muitas vezes importantes para o tratamento de doenças bacterianas. Geralmente, essas enzimas são codificadas por genes localizados em plasmídeos conjugativos, capazes de se replicar e disseminar entre bactérias de diferentes espécies, assim como entre gêneros distintos. É por esse motivo que as β -lactamases representam o principal mecanismo de resistência a β -lactâmicos em bactérias Gram-negativas.

A primeira β -lactamase mediada por plasmídeo, TEM-1, foi descoberta na Grécia em 1960 a partir de uma amostra clínica de *Escherichia coli*. Logo em seguida foi descrita TEM-2, muito semelhante a TEM-1, com apenas um aminoácido de diferença na sua seqüência. Ambas as enzimas possuem propriedades bioquímicas muito semelhantes e são consideradas β -lactamases de espectro restrito. Hidrolisam ampicilina e cefalosporinas de primeira geração como cefalotina e cefazolina, mas não apresentam atividade contra cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima, ou cefepima, cefalosporinas de amplo espectro que possuem uma cadeia lateral oximino. TEM-1 e TEM-2 são comumente encontradas em enterobactérias, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae* e *Neisseria gonorrhoeae*,

bactérias Gram-negativas de grande importância clínica.⁽¹⁾

A descrição dessas β -lactamases entre bactérias antes sensíveis a penicilinas representou um marco importante no cenário da resistência bacteriana. Assim, as cefalosporinas de amplo espectro passaram a ser amplamente utilizadas, favorecendo a seleção de bactérias produtoras de β -lactamases de espectro ampliado, conhecidas como ESBLs. Essas novas enzimas apresentam atividade hidrolítica sobre as oximino cefalosporinas, não hidrolisam as cefamicinas e os carbapenems, mas são inibidas pelos inibidores de β -lactamases.

De forma geral, bactérias produtoras de ESBL são resistentes à maioria dos β -lactâmicos, incluindo as penicilinas, cefalosporinas de espectro ampliado e aztreonam. Portanto, entre os agentes da classe dos β -lactâmicos, as opções terapêuticas para o tratamento de infecções causadas por bactérias produtoras de ESBL estão restritas aos carbapenems.^(2;3)



Profa. Dra. Ana Cristina Gales (à esq.) e Dra. Renata Cristina Picão.

1 - Aluna de Mestrado do Programa de Pós-Graduação da Disciplina de Infectologia, Universidade Federal de São Paulo.

2 - Professora Adjunta e Diretora do Laboratório Alerta da Disciplina de Infectologia, Universidade Federal de São Paulo.

Tabela 1. Características bioquímicas das ESBLs descritas em *P. aeruginosa*

ESBL/outras denominações	Data da detecção em <i>P. aeruginosa</i>	Localização	Substratos preferenciais	Perfil de inibição por clavulanato
OXA-4	1986	Plasmidial	Penicilina, piperacilina, cefclidina	sensível
PER-1	1993	Cromossomal	Cefoperazona, cefuroxima, ceftriaxona, ceftazidima	sensível
TEM-42	1996	Plasmidial	Ceftazidima, cefotaxima, aztreonam	sensível
OXA-18	1997	Cromossomal	Cefalotina, ceftazidima, cefotaxima, aztreonam	sensível
OXA-15	1997	Plasmidial	Ceftazidima, ceftriaxona, moxalactam, aztreonam,	resistente
SHV-2a	1999	Plasmidial	Cefotaxima, ceftazidima, ceftriaxona, aztreonam	sensível
OXA-10/PSE-2	1999	Plasmidial	Oxacilina, cloxacilina, cefalotina, ceftazidima	fracamente inibida
TEM-4	1999	Plasmidial	Cefotaxima, ceftazidima, ceftriaxona	sensível
VEB-1	1999	Plasmidial	Ceftriaxona, cefotaxima, cefuroxima	sensível
OXA-17	1999	Plasmidial	Oxacilina, cefotaxima, latamoxefa, cefepima	fracamente inibida
TEM-24	2000	Plasmidial	Ceftazidima, cefotaxima, aztreonam	sensível
SHV-5	2001	Plasmidial	Cefotaxima, ceftazidima, ceftriaxona, aztreonam	sensível
SHV-12/SHV-5-2a	2001	Plasmidial	Cefotaxima, ceftazidima, ceftriaxona	sensível
GES-2	2001	Plasmidial	Cefotaxima, ceftazidima e imipenem	fracamente inibida
GES-8 (IBC-2)	2001	Cromossomal	Ceftazidima, ticarcilina, aztreonam	sensível
OXA-31	2001	Plasmidial	Cefepima e ceftiproma	resistente
TEM-21	2002	Plasmidial	Cefotaxima, ceftazidima, ceftriaxona	sensível
GES-1	2002	Plasmidial	Ceftazidima, cefuroxima, amoxicilina	sensível
OXA-32	2002	Plasmidial	Amoxicilina, ticarcilina e ceftazidima	fracamente inibida
GES-9	2005	Cromossomal	Ceftazidima, cefuroxima, aztreonam	sensível
BEL-1	2005	Cromossomal	Cefalotina, ceftazidima, cefotaxima, aztreonam	sensível
GES-5 (GES-3)	2006	Plasmidial	Penicilinas, ceftazidima, carbapenens	sensível
VEB-3	2006	Cromossomal	Ceftazidima, cefotaxima, cefepima	sensível

Escherichia coli e *Klebsiella* spp são os principais reservatórios hospitalares dos genes responsáveis pela codificação de ESBL. Entretanto, nos últimos anos tem-se observado sua produção também por amostras de *Salmonella* spp, *Proteus* spp, *Enterobacter* spp, *Citrobacter* spp, *Serratia* spp e *Pseudomonas* spp isoladas de ambiente hospitalar.

A existência de *P. aeruginosa* produtora de ESBL representa um grande desafio na prática clínica. Amostras de *P. aeruginosa* apresentam resistência inata a várias classes de drogas; possuem uma notável habilidade em adquirir resistência a quase todos os antimicrobianos de importância clínica, seja através de mutações ou pela aquisição de genes de outras espécies e, freqüentemente, são agentes etiológicos de diversas infecções graves.⁽⁴⁾ Paralelamente, a utilização de imipenem ou meropenem para o tratamento de infecções causadas por *P. aeruginosa* produtoras de ESBL pode estimular a seleção de amostras que apresentem alto grau de resistência a essas drogas, favorecendo assim o surgimento de cepas multirresistentes. Por último, os testes disponíveis para detectar a produção de ESBL no laboratório clínico não apresentam boa acurácia quando aplicados a *P. aeruginosa*. Dessa forma, é provável que sua prevalência nos hospitais seja subestimada.

Embora saibamos que é utópico pôr um fim à resistência bacteriana, seu controle entre as amostras hospitalares é indispensável à qualidade da assistência à saúde. O controle da resistência, por sua vez, depende diretamente da detecção do mecanismo de resistência e da implementação de uma política de uso racional dos antimicrobianos. Assim, o perfil epidemiológico das instituições deve ser estabelecido e utilizado para fundamentar os protocolos terapêuticos, principalmente entre os hospitais de pequeno e médio porte, onde a prevalência de cepas multirresistentes pode ainda ser baixa ou nula.

CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS

Ainda que as ESBLs clássicas compartilhem características bioquímicas, espectro de ação e perfis de inibição semelhantes, existem enzimas que apresentam características distintas das acima descritas. Algumas ESBLs apresentam maior capacidade de hidrolisar um certo substrato, outras não são inibidas pelo ácido clavulânico. Além disso, mutações simples em genes que codificam as ESBLs podem resultar em diferentes espectros de atividade. A tabela 1 resume as principais características das ESBL descritas em *P. aeruginosa*.

EPIDEMIOLOGIA

Existem relatos da ocorrência de amostras de *P. aeruginosa* produtoras de ESBL em todos os continentes, evidenciando a grande disseminação desses determinantes de resistência.

Em 1993, PER-1 foi a primeira ESBL da classe A de Ambler a ser caracterizada em uma amostra de *P. aeruginosa*. Essa enzima foi detectada em amostras provenientes da Turquia. Posteriormente, PER-1 foi encontrada na Síria, Irã, Iraque, Leste Europeu, França, Bélgica e Itália.⁽⁵⁻⁸⁾

As enzimas do tipo TEM e SHV são bastante comuns em enterobactérias e foram identificadas em isolados de *P. aeruginosa* entre 1996 e 2002. SHV-2 foi detectada na França e SHV-5 e 12 na Tailândia.⁽⁹⁻¹¹⁾ Quatro variantes do tipo TEM, TEM-4, TEM-21, TEM-24 e TEM-42 também foram descritas em *P. aeruginosa* na França.^(12,13)

Em 1999, foi observado que 93% das amostras de *P. aeruginosa* resistentes à ceftazidima, isoladas em um hospital tailandês, produziam uma nova ESBL denominada VEB-1.⁽¹⁴⁾ Posteriormente, VEB-1 e VEB-3, uma nova variante, foram isoladas na Índia em 2004 e na China em 2006, respectivamente.^(15,16)

As oxacilinas pertencentes à classe

O primeiro relato de produção de ESBL em P. aeruginosa no Brasil data de junho de 2002. A amostra clínica produtora de GES-1 foi isolada de uma paciente submetida à histerectomia por uma neoplasia de endométrio

D de Ambler são β -lactamases de espectro restrito que hidrolisam preferencialmente oxacilina e cloxacilina. No entanto, algumas enzimas deste grupo podem apresentar atividade de espectro ampliado. Entre as enzimas tipo OXA já descritas em *P. aeruginosa*, OXA-4, -15, -17, -18, -31 e -32 apresentam atividade contra cefalosporinas de amplo espectro, como mostra a tabela 1.

Em 2000, a enzima GES-1 foi identificada de uma amostra de *Klebsiella pneumoniae* isolada na França, em 1998, de uma amostra coletada no primeiro dia de internação de um paciente transferido da Guiana Francesa.⁽¹⁷⁾ O gene *bla*_{GES-1} também foi detectado em amostras de *P. aeruginosa* isoladas na França⁽¹⁸⁾ e em Portugal.⁽¹⁹⁾ Em 2001, uma nova variante de GES-1 foi reportada de uma amostra de *P. aeruginosa* isolada na África do Sul.⁽²⁰⁾ GES-2 possuía uma única alteração de aminoácido quando comparada a GES-1; no entanto, essa alteração ampliou o espectro de atividade da enzima, que passou a hidrolisar imipenem, além das cefalosporinas de amplo espectro. Entre 2004 e 2005, novas variantes de GES foram descritas de amostras clínicas isoladas no Japão,^(21;22) na Grécia⁽²³⁾ e na França.⁽²⁴⁾ Dessas novas variantes, GES-5 e GES-9 já foram descritas em *P. aeruginosa* na China e na França, respectivamente.^(24;25) Assim

como GES-2, GES-4, -5 e -6 apresentam atividade hidrolítica sobre os carbapenems. A ESBL IBC-1 foi isolada de uma amostra clínica de *Enterobacter cloacae* e IBC-2 em um isolado de *Pseudomonas aeruginosa*, na Grécia. Entretanto, por apresentarem similaridade de 99% com GES-1, foram denominadas, posteriormente, GES-7 e GES-8, respectivamente.^(23;26)

Recentemente, a enzima BEL-1 foi caracterizada na França a partir de um isolado de *P. aeruginosa* recuperado de um paciente internado em um hospital da Bélgica.⁽²⁷⁾

Os dados epidemiológicos brasileiros sobre a presença de ESBL entre amostras clínicas de *Pseudomonas aeruginosa* ainda são escassos. No entanto, um estudo publicado por Gales e cols., no qual foram avaliadas amostras de *P. aeruginosa* isoladas de cinco regiões geográficas (Ásia-Pacífico, Canadá, Europa, América Latina e EUA), mostrou que de forma geral as taxas de resistência encontradas na América Latina são elevadas quando comparadas às demais regiões. Os isolados de *P. aeruginosa* da América Latina apresentaram as menores taxas de sensibilidade à ceftazidima e à cefepima. Ainda nesse estudo, quando os resultados de sensibilidade para piperacilina foram comparados aos dados obtidos para esse agente em associação com o inibidor de β -lactamase, tazobactam, foi observado um aumento nas taxas de sensibilidade, sugerindo que a produção de ESBLs poderia ter contribuído para os altos índices de resistência às cefalosporinas de amplo espectro em *P. aeruginosa* nessa região.⁽²⁸⁾

O primeiro relato de produção de ESBL em *P. aeruginosa* no Brasil data de junho de 2002. A amostra clínica produtora de GES-1 foi isolada de uma paciente submetida à histerectomia por uma neoplasia de endométrio e desenvolveu infecção do sítio cirúrgico no Hospital São Paulo da Universidade Federal de São Paulo.⁽²⁹⁾ Um outro estudo em andamento no Laboratório Especializado em Microbiologia Clínica

(LEMC/ALERTA) da Universidade Federal de São Paulo revelou que 15,2% das *P. aeruginosa* isoladas de hemocultura de pacientes internados no Hospital São Paulo eram produtoras de GES, sendo 80% produtoras de GES-1 e 20% produtoras de GES-5, subtipo que apresenta atividade hidrolítica contra carbapenems.

A grande diversidade de enzimas encontradas em países onde as ESBL são comumente estudadas, como na França, por exemplo, pressupõe que a disseminação de GES na América Latina pode ter sido acompanhada pelo surgimento de outras enzimas, de características bioquímicas e prevalência ainda desconhecidas.

DETECÇÃO

O conhecimento da ocorrência de ESBL entre amostras hospitalares é fundamental para que o clínico possa instituir a terapia antimicrobiana adequada. Já que a utilização de cefalosporinas de amplo espectro e monobactams no tratamento das infecções causadas por amostras produtoras de ESBL pode resultar em falência terapêutica.⁽³⁰⁾ Enquanto algumas bactérias produtoras de ESBL apresentam resistência às cefalosporinas, outras podem se mostrar fenotipicamente sensíveis a estes antimicrobianos. Isso ocorre porque os substratos preferenciais podem variar de acordo com a ESBL produzida. Assim, é essencial que o laboratório clínico realize testes que confirmem a produção de ESBL e, em caso positivo, reportem-na no laudo do antibiograma.⁽³¹⁾

De forma geral, as ESBL não hidrolisam a cefoxitina e têm a sua atividade inibida pelos inibidores de serino- β -lactamases, tais como sulbactam, ácido clavulânico e tazobactam. Por isso, os testes fenotípicos empregados no laboratório de rotina para a detecção da produção de ESBL em amostras clínicas se baseiam na reversão da resistência a um substrato β -lactâmico, quando este é associado a um desses inibidores.⁽³¹⁾

O conhecimento da ocorrência de ESBL entre amostras hospitalares é fundamental para que o clínico possa instituir a terapia antimicrobiana adequada

As metodologias disponíveis para a detecção fenotípica de ESBL são disco aproximação e disco adição. Tais testes são realizados em ágar Müller-Hinton previamente inoculado com uma suspensão da bactéria a ser testada, de acordo com as recomendações do CLSI para o teste de disco difusão.⁽³¹⁾ O teste de triagem é recomendado somente para amostras de *E. coli*, *K. pneumoniae* e *P. mirabilis* e consiste em testar os substratos β -lactâmicos como cefpodoxima 10 μ g, ceftazidima 30 μ g, aztreonam 30 μ g, cefotaxima 30 μ g ou ceftriaxona 30 μ g. Redução do halo de inibição destes agentes pode indicar a produção de ESBL. O CLSI recomenda que amostras triadas como produtoras de ESBL tenham este fenótipo de resistência

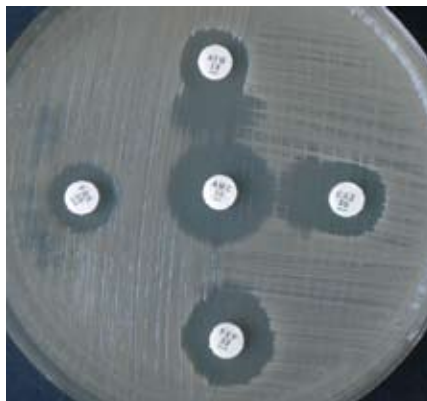


Figura 1. Disco aproximação evidenciando a produção de ESBL por *K. pneumoniae*, cepa ATCC® 700603.

confirmado. O teste confirmatório preconizado pelo CLSI é o disco adição que utiliza ambos os agentes antimicrobianos, cefotaxima e ceftazidima, individualmente e em combinação com ácido clavulânico. O aumento de pelo menos cinco milímetros no diâmetro do halo, para quaisquer dos dois agentes antimicrobianos testados em combinação com ácido clavulânico contra o seu halo testado individualmente, indica a produção de ESBL.⁽³¹⁾

A disco aproximação consiste em posicionar os discos de diferentes substratos β -lactâmicos, como ceftazidima, cefepima, cefotaxima e ceftriaxona a três centímetros de distância de um disco de amoxicilina com ácido clavulânico. A deformação do halo de inibição ou o aparecimento de uma zona fantasma entre o substrato e o inibidor caracteriza fenotipicamente a amostra como produtora de ESBL. A figura 1 mostra o teste de disco aproximação positivo para produção de ESBL em *K. pneumoniae*, cepa ATCC® 700603. Ainda que não seja a técnica padronizada pelo CLSI, a disco aproximação é utilizada como teste de triagem em diversos estudos com o objetivo de investigar a prevalência de produção de ESBL em bactérias isoladas de amostras clínicas.^(27,32)

A descrição de ESBLs em amostras de *P. aeruginosa* é cada vez mais comum e representa um grande desafio ao laboratório clínico, já que o teste utilizado para a sua detecção em enterobactérias não apresenta sensibilidade e especificidade satisfatórias quando aplicado a *P. aeruginosa*.⁽³³⁾

Essa dificuldade é conseqüente a diferentes fatores, como a presença de β -lactamases cromossômicas do tipo AmpC, que inativam as cefalosporinas de amplo espectro e não são inibidas pelos inibidores de β -lactamases. As enzimas AmpC podem mascarar a presença de ESBL favorecendo a ocorrência de resultados falsos-negativos. Tal interferência poderia ser anulada com a adição de um inibidor de AmpC como, por exemplo, a cloxacilina ao meio de cultura.⁽³²⁾ Entretanto,

to, isolados de *Pseudomonas aeruginosa* freqüentemente produzem enzimas do tipo OXA que possuem atividade hidrolítica potente sobre cloxacilina, o que também prejudicaria a interpretação deste teste. Amostras clínicas de *P. aeruginosa* podem possuir diferentes mecanismos de resistência combinados, seja produção de metalo- β -lactamases, hiperexpressão de bombas de efluxo ou perda de porinas. As alterações de permeabilidade da parede celular externa podem influenciar negativamente a sensibilidade do teste. Finalmente, muitas ESBLs não clássicas como GES-2 e algumas oxacilinas apresentam relativa resistência aos inibidores de serino- β -lactamases.⁽³³⁾ A dificuldade para a detecção fenotípica de ESBL em uma amostra de *P. aeruginosa* produtora de GES-5 está evidenciada na figura 2.

Até o momento, não existe um teste fenotípico que apresente boa sensibilidade e especificidade para detectar amostras de *P. aeruginosa* produtoras de ESBL. Recentemente, pesquisadores chineses desenvolveram um estudo no qual foram feitas modificações nos testes fenotípicos para a detecção de ESBL em amostras clínicas de *P. aeruginosa*. Segundo este estudo, a disco adição utilizando ceftazidima como substrato e ácido clavulânico como inibidor, em ágar Müller-Hinton contendo cloxacilina (200 μ g/ml) e o inibidor de bomba de efluxo MC-207,110 (20 μ g/ml) apresentou sensibilidade de 97,06% para detecção de amostras produtoras de ESBL. Entretanto, a enzima mais prevalente neste estudo foi VEB-3, que é inibida pelo ácido clavulânico e, portanto, a acurácia deste teste poderia ser limitada para a detecção de ESBL em amostras de *P. aeruginosa* que produzem enzimas fracamente inibidas pelo ácido clavulânico.⁽¹⁶⁾

Pelas razões acima apresentadas, a prevalência de amostras de *P. aeruginosa* produtoras de ESBL pode estar subestimada, o que dificultaria no julgamento da importância da padronização de um teste fenotípico pelos laboratórios de micro-

biologia para a detecção deste fenótipo de resistência nesta espécie. Por não ser possível, até o momento, a caracterização fenotípica da produção de ESBL em *P. aeruginosa*, a detecção dos genes que codificam as ESBLs através de testes moleculares seria a única maneira de estimar qual a prevalência local de ESBL nesta espécie. Para tal, as metodologias indicadas são reação da polimerase em cadeia (PCR) para a amplificação do gene e o seqüenciamento do mesmo. Porém, a realidade de grande parte dos laboratórios clínicos brasileiros não comporta a implementação de testes genotípicos, muitas vezes caros, laboriosos e que demandam a existência de uma estrutura específica e de técnicos especializados.

TRATAMENTO

Em geral, a resistência às cefalosporinas de terceira geração e a sensibilidade às cefalosporinas de quarta geração em *P. aeruginosa* é atribuída à desrepressão do gene *ampC* que acarretaria a hiperprodução constitutiva de β -lactamases do tipo AmpC. Nestes casos, a cefepima poderia constituir uma opção terapêutica aceitável, já que esta cefalosporina penetra mais rapidamente na célula bacteriana e é mais estável à hidrólise causada pelas enzimas AmpC. Por outro lado, por serem reconhecidas



Figura 2. Disco aproximação com resultados negativos para a presença de ESBL em uma amostra de *P. aeruginosa* produtora de GES-5.

como um substrato pela maioria das ESBLs, as cefalosporinas de quarta geração, como a cefepima, não representam boas opções terapêuticas no tratamento das infecções causadas por bactérias produtoras de ESBL, independente dos resultados dos testes de sensibilidade. Zanetti e cols. (2003) observaram que a resposta a cefepima e a imipenem era semelhante no tratamento de pacientes de terapia intensiva com pneumonia nosocomial, exceto no grupo de pacientes infectados por amostras produtoras de ESBL. Neste grupo, houve falência em quatro dos 13 (30,8%) pacientes tratados com cefepima versus zero dos dez (0%) pacientes que estavam recebendo imipenem. Entretanto, o uso de carbapenens deve ser cauteloso, visto que este grupo de antimicrobianos induz fortemente a produção de β -lactamases AmpC.

Até o momento não existem estudos controlados e randomizados que avaliem a resposta à terapia antimicrobiana no tratamento das infecções causadas por amostras produtoras de ESBL. A maioria dos estudos avalia pequenas séries de casos e indica que os carbapenens constituem a melhor opção terapêutica no tratamento das amostras produtoras de ESBL em termos de sobrevida e cura bacteriológica. Porém, em nosso meio, amostras de *P. aeruginosa* freqüentemente são resistentes aos carbapenens. Nestes casos, as polimixinas restam como uma das únicas alternativas terapêuticas.

O tratamento das infecções por *P. aeruginosa* multirresistentes realmente representa um desafio clínico, já que amostras de *P. aeruginosa* são capazes de adquirir resistência a qualquer antimicrobiano disponível clinicamente. Além disso, não existem novas drogas antimicrobianas em desenvolvimento que possuam atividade contra amostras de *P. aeruginosa* produtoras de metalo- β -lactamases ou que hiperexpressem o sistema de efluxo MexAB-OprM.

AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de agradecer a Danilo Elias Xavier pela revisão do manuscrito. ♦

REFERÊNCIAS

- Jacoby GA, Munoz-Price LS. The new beta-lactamases. *N Engl J Med*. 27-1-2005;352(4):380-91.
- Carmeli Y, Troillet N, Eliopoulos GM, Samore MH. Emergence of antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: Comparison of risks associated with different antipseudomonal agents. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43(6):1379-82.
- Carmeli Y, Eichelberger K, Soja D, Dakos J, Venkataraman L, DeGirolami P, Samore M. Failure of quality control measures to prevent reporting of false resistance to imipenem, resulting in a pseudo-outbreak of imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *J Clin Microbiol*. 1998;36(2):595-7.
- Livermore DM. Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: Our worst nightmare? *Clin Infect Dis*. 1-3-2002;34(5):634-40.
- Claeys G, Verschraegen G, de Baere T, Vaneechoutte M. PER-1 beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* in an intensive care unit. *J Antimicrob Chemother*. 2000;45(6):924-5.
- Pagani L, Mantengoli E, Migliavacca R, Nucleo E, Pollini S, Spalla M, Daturi R, Romero E, Rossolini GM. Multifocal detection of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing the PER-1 extended-spectrum beta-lactamase in northern Italy. *J Clin Microbiol*. 2004;42(6):2523-9.
- Luzzaro F, Mantengoli E, Perilli M, Lombardi G, Orlandi V, Orsatti A, Amicosante G, Rossolini GM, Toniolo A. Dynamics of a nosocomial outbreak of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing the PER-1 extended-spectrum beta-lactamase. *J Clin Microbiol*. 2001;39(5):1865-70.
- Nordmann P, Ronco E, Naas T, Duport C, Michel-Briand Y, Labia R. Characterization of a novel extended-spectrum b-lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1993;37(5):962-9.
- Yan JJ, Ko WC, and Wu JJ. Identification of a Plasmid Encoding SHV-12, TEM-1, and a Variant of IMP-2 Metallo-Beta-Lactamase, IMP-8, From a Clinical Isolate of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001;45(8):2368-71.
- Naas T, Philippon L, Poirel L, Ronco E, Nordmann P. An SHV-derived extended-spectrum b-lactamase in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1999;43(5):1281-4.
- Poirel L, Lebossi E, Castro M, Fevre C, Foustoukou M, Nordmann P. Nosocomial outbreak of extended-spectrum beta-lactamase SHV-5-producing isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in Athens, Greece. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48(6):2277-9.
- Mugnier P, Dubrous P, Casin I, Arlet G, Collatz E. A TEM-derived extended-spectrum beta-lactamase in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1996;40(11):2488-93.
- Marchandin H, Jean-Pierre H, De Champs C, Sirot D, Darbas H, Perigault PF, Carriere C. Production of a TEM-24 plasmid-mediated extended-spectrum beta-lactamase by a clinical isolate of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000;44(1):213-6.
- Girlich D, Poirel L, Leelaporn A, Karim A, Tribuddharat C, Fennwald M, Nordmann P. Molecular epidemiology of the integron-located VEB-1 extended-spectrum beta-lactamase in nosocomial enterobacterial isolates in Bangkok, Thailand. *J Clin Microbiol*. 2001;39(1):175-82.
- Jiang X, Zhang Z, Li M, Zhou D, Ruan F, Lu Y. Detection of extended-spectrum beta-lactamases in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50(9):2990-5.
- Aubert D, Girlich D, Naas T, Nagarajan S, and Nordmann P. Functional and structural characterization of the genetic environment of an extended-spectrum beta-lactamase *Bla*VEB gene from a *Pseudomonas Aeruginosa* isolate obtained in India. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48(9):3284-90.
- Poirel L, Le T.I., Naas T, Karim A, Nordmann P. Biochemical sequence analyses of GES-1, a novel class a extended-spectrum beta-lactamase and the class I integrin *In*52 from *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000;44:662-32.
- Dubois V, Poirel L, Marie C, Arpin C, Nordmann P, Quentin C. Molecular characterization of a novel class 1 integron containing *bla*GES-1 and a fused product of *aac3-ib/aac6'-ib'* gene cassettes in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;46(3):638-45.
- Duarte A, Boavida F, Grosso F, Correia M, Lito LM, Cristino JM. Outbreak of GES-1-lactamase-producing multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* in a University Hospital in Lisbon, Portugal. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003;47:1481-2.
- Poirel L, Woldhagen G.F, Naas T, De Champs C, Dove MG, Nordmann, P. GES-2, a class A - lactamase from *Pseudomonas aeruginosa* with increased hydrolysis of imipenem. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001;45:2598-603.
- Wachino J, Doi Y, Yamane K, Shibata N, Yagi T, Kubota T, Ito H, Arakawa Y. Nosocomial spread of ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains producing a novel class a b-lactamase, GES-3, in a neonatal intensive care unit in Japan. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48(6):1960-7.
- Wachino J, Doi Y, Yamane K, Shibata N, Yagi T, Kubota T, Arakawa Y. Molecular characterization of a cephamycin-hydrolyzing and inhibitor-resistant class A b-lactamase, GES-4, possessing a single G170S substitution in the omega-loop. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48(8):2905-10.
- Vourli S, Giakkoupi P, Miriagou V, Tzelepi E, Vatopoulos AC, Tzouveleakis LS. Novel GES/IBC extended-spectrum b-lactamase variants with carbapenemase activity in clinical enterobacteria. *FEMS Microbiol Lett*. 15-5-2004;234(2):209-13.
- Poirel L, Brinas L, Fortineau N, Nordmann P. Integron-encoded GES-type extended-spectrum beta-lactamase with increased activity toward aztreonam in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49(8):3593-7.
- Wang C, Cai P, Chang D, Mi Z. A *Pseudomonas aeruginosa* isolate producing the GES-5 extended-spectrum beta-lactamase. *J Antimicrob Chemother*. 2006;57(6):1261-2.
- Giakkoupi P, Tzouveleakis LS, Tsakris A, Loukova V, Sofianou D, Tzelepi E. IBC-1, a novel integron-associated class A b-lactamase with extended-spectrum properties produced by an *Enterobacter cloacae* clinical strain. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;44(9):2247-53.
- Poirel L, Brinas L, Verlinde A, Ide L, Nordmann P. BEL-1, a novel clavulanic acid-inhibited extended-spectrum beta-lactamase, the class 1 integron *In*120 in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49(9):3743-8.
- Gales AC, Jones RN, Turnidge J, Rennie R, Ramphal R. Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* isolates: Occurrence rates, antimicrobial susceptibility patterns, and molecular typing in the global SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999. *Clin Infect Dis*. 15-5-2001;32 Suppl 2:S146-S155.
- Castanheira M, Mendes RE, Walsh TR, Gales AC, Jones RN. Emergence of the extended-spectrum beta-lactamase GES-1 in a *Pseudomonas aeruginosa* strain from Brazil: Report from the SENTRY antimicrobial surveillance program. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48(6):2344-5.
- Bradford PA. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev*. 2001;14(4):933-51, table.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 15th informational supplement M100-S15. Wayne, PA: 2005.(CLSI. Document M100-S15).
- Poirel L, Menuteau O, Agoli N, Cattoen C, Nordmann P. Outbreak of extended-spectrum b-lactamase VEB-1-producing isolates of *Acinetobacter baumannii* in a french hospital. *J Clin Microbiol*. 2003;41(8):3542-7.
- Woldhagen GF, Poirel L, Nordmann P. Ambler class A extended-spectrum b-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*: novel developments and clinical impact. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003;47(8):2385-92.

Endereço para correspondência:

Laboratório Alerta, Disciplina de Infectologia,
Universidade Federal de São Paulo
(Unifesp/EPM) - R. Pedro de Toledo, 781
6º andar - Vila Clementino
CEP 04039-032 - São Paulo - SP.