

Lorenzo Aguilar¹,
María José Giménez¹,
José Barberán²

Heterorresistencia y tolerancia a glucopéptidos en aislados grampositivos en el hospital: ¿fenómenos "invisibles" para el clínico con posible traducción clínica?

¹Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad Complutense, Madrid

²Servicio de Enfermedades Infecciosas, Hospital Central de la Defensa "Gómez Ulla", Madrid

RESUMEN

En este artículo se revisan los fenómenos de heterorresistencia y tolerancia a los glucopéptidos en grampositivos aislados de pacientes hospitalizados. La heterorresistencia (subpoblaciones resistentes, dentro de la población bacteriana total de la cepa, seleccionables por el tratamiento) y la tolerancia (capacidad de sobrevivir pero no crecer en presencia de concentraciones antibióticas normalmente letales) tienen en común varias características: 1) la ausencia de su determinación en rutina por parte del laboratorio, 2) implican una disminución de la actividad antimicrobiana que no queda reflejada en el valor de la CMI (por lo que es "invisible" para el clínico en los informes del laboratorio en la rutina diaria), 3) la disminución de la actividad antimicrobiana puede tener implicaciones clínicas y 4) afectan a un amplio espectro de grampositivos en el hospital (*Staphylococcus aureus*, estafilococos coagulasa-negativo, enterococos y distintas especies de estreptococos). El decremento de la actividad bactericida (absolutamente necesaria en bacteriemias, endocarditis, meningitis e infecciones en el paciente inmunocomprometido) se traduce como persistencia de la bacteriemia, bacteriemia refractaria al tratamiento con glucopéptidos, recurrencia de la infección y aumento de la estancia hospitalaria. Dos estrategias son posibles para contrarrestar estos fenómenos: adición de antibióticos que mediante el sinergismo (requisito indispensable por lo que hay que tener en cuenta las combinaciones antagónicas o el fenómeno de alta resistencia a aminoglicósidos) consigan actividad bactericida, o utilización de compuestos bactericidas frente a los cuales los grampositivos presenten sensibilidad y ausencia de heterorresistencia y tolerancia (a diferencia de los glucopéptidos), como es el caso del lipopéptido daptomicina.

Palabras clave: Heterorresistencia, tolerancia, vancomicina, teicoplanina, daptomicina

Correspondencia:
Lorenzo Aguilar. Departamento de Microbiología,
Facultad de Medicina, Universidad Complutense,
Avda. Complutense s/n, 28040 Madrid.
Tfno: 91 3941505; Fax: 91 3941511;
e-mail: laquilar@med.ucm.es

Glycopeptide heteroresistance and tolerance in hospital grampositive isolates: "invisible" phenomena to the clinician with clinical implications?

ABSTRACT

This article reviews the concepts of heteroresistance and tolerance to glycopeptides in gram-positive bacteria isolated from hospitalised patients. Heteroresistance (resistant subpopulations among the total bacterial population of the strain, that can be selected by the treatment) and tolerance (capability of survival, but not growth, in the presence of usually lethal antibiotic concentrations) have in common several characteristics: 1) the absence of its determination in laboratory daily practice, 2) they implied a decrease in antimicrobial activity not reflected in MIC values (thus being "invisible" to clinicians in daily routine laboratory reports), 3) the decrease in antimicrobial activity may have clinical implications and 4) they affect a wide spectrum of gram positive bacteria in the hospital (*Staphylococcus aureus*, coagulase-negative staphylococci, enterococci and different streptococcal species). The decrease produced in the bactericidal activity (that is critical for the treatment of bacteremias, endocarditis, meningitis and infections in immunocompromised patients) has clinical implications such as persistence of bacteremia, refractory bacteremia, relapse of infections and increased length of stay. Two strategies are possible to overcome tolerance and heteroresistance: addition of antibiotics to obtain bactericidal activity by synergism (key factor for which it should be taken into account antagonic combinations or high resistance to aminoglycosides when choosing the antibiotic regimen), or the use of bactericidal compounds to which gram-positive bacteria show susceptibility and absence of heteroresistance and tolerance (in contrast to glycopeptides), as is the case of lipopeptide daptomycin.

Key words: Heteroresistance, tolerance, vancomycin, teicoplanin, daptomycin

INFECCIONES NOSOCOMIALES POR GRAMPOSITIVOS

En los últimos años ha habido un cambio epidemiológico en las infecciones bacterianas nosocomiales, con un deslizamiento en la etiología por bacterias gramnegativas hacia la producida por grampositivos^{1,2}. En EEUU los microorganismos grampositivos son responsables hasta en un 70% de los casos de las infecciones bacteriémicas³. En nuestro país, con los datos agregados de 1990 a 2006 del Estudio de Prevalencia de las Infecciones Nosocomiales en España (EPINE), la frecuencia de infecciones nosocomiales por grampositivos (*Staphylococcus aureus*, estafilococo coagulasa negativo -SCN- y enterococo) es del 24%, igual a la de las infecciones por enterobacterias (fundamentalmente *Escherichia coli*) y seguida de la de *Pseudomonas* que es el 10,4%⁴. No deben olvidarse las infecciones nosocomiales producidas por *Streptococcus pneumoniae*, que pueden llegar a representar el 25% de las infecciones neumocócicas⁵ y el 2% de las bacteriemias nosocomiales⁶, que ocurren después de un periodo relativamente largo de hospitalización, y suelen ir asociadas a determinados serotipos y fenotipos de resistencia⁷.

EL CIRCULO DE LAS RESISTENCIAS EN GRAMPOSITIVOS: RESISTENCIA Y HETERORRESISTENCIA.

La aparición de resistencias bacterianas ha acompañado al uso en la clínica de diversos antimicrobianos, con una disminución de su actividad antibacteriana frente a cocos grampositivos⁸. La aparición a partir de los años 90 de la sensibilidad disminuida a la vancomicina puede relacionarse con el incremento del consumo de vancomicina tras la difusión de la resistencia a la metilicina en *S. aureus*. La disminución de la sensibilidad a la vancomicina en *S. aureus* resistente a metilicina (SARM) puede manifestarse como heterorresistencia (presencia de resistencia en una pequeña subpoblación seleccionable de la población bacteriana total de la cepa; h-VISA) u homorresistencia intermedia (VISA). Sólo un 10% de los aislados con resistencia intermedia a vancomicina es VISA y el 90% son h-VISA^{9,10}. La prevalencia de h-VISA entre los SARM varía mucho según las distintas publicaciones, pasando del 0% a más del 50%¹¹⁻¹³. Esto es debido a que mientras la homorresistencia intermedia (VISA) y la prácticamente inexistente resistencia completa (VRSA)¹⁴ son detectables en la práctica diaria del laboratorio (aunque se han comunicado errores con métodos automatizados¹⁵, la determinación de heterorresistencia requiere técnicas y condiciones determinadas (para poner de manifiesto las subpoblaciones resistentes) que no se realizan en la práctica diaria de los laboratorios de Microbiología. Esto constituye un problema ya que se ha sugerido incluso la presencia de heterorresistencia en SARM sensibles a vancomicina (punto de corte de sensibilidad ≤ 2 $\mu\text{g/ml}$ de acuerdo con el CLSI¹⁶ pero con concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de vancomicina cercanas al límite de susceptibilidad¹⁷. En un estudio reciente realizado en nuestro país determinando la

sensibilidad de aislados recogidos de infecciones bacteriémicas, se identificaron 34 SARM con CMI a vancomicina ≥ 2 $\mu\text{g/ml}$, de los cuales sólo uno presentaba CMI a vancomicina de 4 $\mu\text{g/ml}$ (resistencia intermedia)¹⁸. De los 34 aislados (de los que 33 eran sensibles de acuerdo con el punto de corte de sensibilidad del CLSI¹⁶, nueve fueron catalogados como h-VISA cuando se investigó la presencia de una subpoblación con resistencia intermedia¹⁸. Estos aislados no se hubieran catalogado como tal si no se hubiera tratado de un estudio y se hubiera seguido la rutina diaria del laboratorio.

La situación se agrava por la extensión del fenómeno de la heterorresistencia y resistencia intermedia a vancomicina a la teicoplanina, por lo que en numerosas comunicaciones se define como heterorresistencia intermedia a glucopéptidos (h-GISA) o resistencia intermedia a glucopéptidos (GISA) (19,20).

Mientras que la resistencia a la metilicina en *S. aureus* es menos frecuente que en SCN (30,5% vs. 61,9%) en nuestro país^{21,22}, la resistencia intermedia a glucopéptidos es menos frecuente en SCN y en este grupo, parece afectar a la teicoplanina (2,2% a 3,8%) pero no a la vancomicina en algunos estudios^{18,23}. De acuerdo con otros estudios, ésta puede ser relativamente elevada²⁴ y llegar hasta el 8,5% tanto a vancomicina como a teicoplanina²⁵. Sin embargo existen pocos estudios (y con pocos aislados) donde se comunica la heterorresistencia a glicopéptidos en SCN, quizá debido a su falta de determinación en la práctica diaria donde se utilizan métodos automatizados.

La presión ejercida por el consumo de vancomicina originó no sólo la resistencia a la vancomicina en estafilococos, sino también la resistencia a vancomicina en los enterococos, que son en la actualidad uno de los principales patógenos nosocomiales¹⁴. En nuestro país la prevalencia de enterococo resistente a vancomicina (ERV) varía entre menos del 5% comunicado en estudios españoles^{23,26} y cifras mucho mayores (14,3%) correspondientes a los aislados españoles en un estudio multicéntrico europeo²¹. También se ha comunicado esporádicamente el aislamiento de cepas de enterococo mostrando heterorresistencia a vancomicina y teicoplanina en cepas catalogadas como sensibles²⁷⁻²⁹. Aunque puede ser un problema anecdótico ya que no hay constancia de este tipo de cepas en colecciones de estudios de vigilancia epidemiológica, es necesario destacar que también es posible que esto ocurra porque no se han realizado las pruebas necesarias para su identificación.

Como contraste a este desarrollo de resistencia intermedia o completa en estafilococos y enterococos, hasta la fecha, no es posible encontrar comunicaciones de resistencia o heterorresistencia a vancomicina en *S. pneumoniae*.

Aunque resulta obvio comentar la ausencia de actividad antimicrobiana derivada del fenómeno de la resistencia, sí podemos recordar que el CLSI define resistencia como ausencia de inhibición de los aislados por concentraciones alcanzables tras la administración de regímenes antibióticos habituales, y/o valores de CMI que impliquen mecanismos de resistencia específicos y/o eficacia clínica no demostrada en infecciones producidas por estos aislados en estudios terapéuticos¹⁶. Asimismo, la categoría intermedia implica tasas de respuesta

esperables menores que en infecciones producidas por aislados sensibles¹⁶. Sin embargo ¿qué significa clínicamente la heterorresistencia? La implicación clínica de la heterorresistencia se ha estudiado poco y se ha comunicado principalmente en infecciones producidas por *S. aureus* donde existen varias comunicaciones y revisiones que describen fracasos del tratamiento con glucopéptidos en pacientes infectados por h-VISA, evidenciados como persistencia de la bacteriemia o duración de la estancia hospitalaria^{9,30-34}.

TOLERANCIA

La tolerancia a glucopéptidos presenta dos características comunes con la heterorresistencia: la ausencia de su determinación en rutina por parte del laboratorio y la disminución de la actividad antimicrobiana que puede tener implicaciones clínicas. Otra característica en común con la heterorresistencia es que la disminución de la actividad antimicrobiana que ambas conllevan no queda reflejada en el valor de la CMI, por lo que, en ausencia de su determinación específica, su presencia no es conocida por el clínico.

La tolerancia puede definirse como la capacidad de las bacterias para sobrevivir pero no crecer, es decir por una ausencia de disminución significativa del número de bacterias por las concentraciones conseguidas tras una dosis normalmente letal de un determinado antibiótico³⁵. Normalmente se considera que existe tolerancia cuando el valor del cociente concentración bactericida mínima (CMB) y la CMI (CMB/CMI) es ≥ 32 ó ≥ 16 (en este caso con una CMB de vancomicina ≥ 32 $\mu\text{g/ml}$)^{36,37}. Esto implica que las concentraciones séricas obtenidas tras dosis estándar superan el valor de la CMI, pudiendo no superar el valor de la CMB.

Las cepas de SARM han respondido a la presión ejercida por el consumo de vancomicina con un abanico de cambios metabólicos que incluye además de la resistencia a vancomicina (en sus distintos fenotipos anteriormente descritos), la tolerancia⁹. En estudios epidemiológicos recientemente publicados, la tolerancia a la vancomicina y teicoplanina fue del 6,1% y 18,8% respectivamente en *S. aureus*³⁷, cifra de tolerancia a vancomicina que alcanza el 20% cuando se analizan aislados de bacteriemias en EEUU³⁸. En un clásico estudio sobre aislados procedentes de endocarditis el 20% y el 40% de *S. aureus* fue tolerante a vancomicina y teicoplanina respectivamente³⁹. Sin embargo, la tolerancia a la vancomicina es mucho mayor en los aislados que presentan heterorresistencia u homorresistencia. Así, puede considerarse que el 100% de los VISA, el 75% de los h-VISA y el 15% de los SARM sensibles a vancomicina son tolerantes a ésta^{3,40}, fenómeno también extensible a la teicoplanina.

En SCN se ha descrito, como fenómeno no infrecuente, la tolerancia a vancomicina y teicoplanina, especialmente en *Staphylococcus lugdunensis*^{35,41,42}, una especie más parecida a *S. aureus* que a un SCN por su virulencia, capacidad de producir infecciones supuradas y su facultad de sintetizar coagulasa ligada a la membrana (a diferencia de otros SCN) pero no coagulasa libre (a diferencia de *S. aureus*)⁴¹. Asimismo, el fe-

nómeno de la tolerancia aparece en el 25% de *S. epidermidis* aislados de endocarditis³⁹.

En el caso de los enterococos se ha descrito tolerancia en prácticamente el 100% de *Enterococcus faecium* y *Enterococcus faecalis*, tanto a vancomicina como a teicoplanina^{39,43}.

La tolerancia a glucopéptidos en *S. pneumoniae* se describió por primera vez en 1999⁴⁴ y desde entonces ha habido varias comunicaciones^{45,46}. En los distintos estudios publicados la prevalencia de tolerancia a vancomicina osciló desde un 1,1%⁴⁷ y un 2,6% de los aislados⁴⁸ hasta un 10,6% en aislados invasivos⁴⁹. En nuestro país, los dos únicos estudios publicados (en los años 2001 y 2003) buscando este fenómeno concluyeron la ausencia de tolerancia a vancomicina en los aislados analizados^{50,51}. En otras especies del género *Streptococcus* pertenecientes al grupo viridans (entre las que se encuentran *S. bovis*, *S. sanguis*, *S. gordonii*, *S. mutans* y *S. oralis*), agentes etiológicos entre otros de endocarditis bacteriana, la tolerancia a vancomicina y teicoplanina se ha descrito en un alto porcentaje de aislados: más del 40% de los aislados estudiados en el caso de vancomicina y más del 60% en el caso de teicoplanina³⁹. La tolerancia a la vancomicina se ha descrito también en cepas de estreptococos pertenecientes al grupo C y G aisladas de infecciones invasivas^{52,53}.

Como puede verse los fenómenos de heterorresistencia y tolerancia no son exclusivos de *S. aureus* y afectan al amplio espectro de grampositivos que se aíslan en pacientes hospitalizados. Ambos fenómenos no se detectan en la rutina hospitalaria y tienen traducción clínica, como queda reflejado en la bibliografía. En el caso de la tolerancia, existe además un ejemplo histórico con vigencia actual: la endocarditis enterocócica. Clásicamente los enterococos han presentado tolerancia a la capacidad de matar de penicilinas y glucopéptidos (54), por ello el tratamiento de las endocarditis enterocócicas es terapia combinada incluyendo un aminoglucósido. Históricamente, cuando esta infección se trataba con monoterapia la tasa de recurrencias era muy alta, hecho que se repite en la actualidad en las endocarditis producidas por enterococos con alto nivel de resistencia a aminoglucósidos⁵⁵, ya que en este caso la actividad antibiótica es exclusivamente debida al compuesto que actúa sobre la pared bacteriana (penicilina o vancomicina) a los que el agente etiológico es tolerante.

El efecto clínico de la tolerancia a la vancomicina en *S. aureus* se refleja en varias comunicaciones sobre la pobre respuesta clínica en bacteriemia o endocarditis producidas por este agente^{9,56-60}. La presencia de tolerancia a vancomicina en aislados de *S. aureus* sensible a la misma se asocia estadísticamente a un decremento de la respuesta clínica de la bacteriemia⁶⁰. Este mismo fenómeno (bacteriemia refractaria por grampositivos) se ha descrito en pacientes con cáncer tratados con vancomicina en infecciones producidas por *S. aureus*, SCN y distintas especies de *Streptococcus* (*S. mitis*, *S. sanguis* y estreptococos del grupo G) tolerantes a vancomicina⁶¹. Por último, en *S. pneumoniae* parece tener también trascendencia clínica el fenómeno de la tolerancia, ya que se ha descrito el recrudescimiento de la meningitis en un paciente tratado con vancomicina y una cefalosporina de tercera generación con un

aislamiento en líquido cefalorraquídeo de una cepa tolerante a la vancomicina⁶².

ESTRATEGIAS/OPCIONES FRENTE A LA TOLERANCIA

La disminución de la actividad bactericida producida, entre otros factores, por la heterorresistencia y/o la tolerancia puede tener consecuencias clínicas en el tratamiento de infecciones en el hospital⁶³.

Conceptualmente el tratamiento que consigue actividad bactericida es preferible al que consigue actividad bacteriostática, aunque esto no haya sido demostrado en ensayos clínicos. Sin embargo, hay indicaciones en las que se considera absolutamente necesaria la consecución de la actividad bactericida como bacteriemias, endocarditis, meningitis e infecciones en pacientes con algún tipo de inmunocompromiso⁶⁴. La actividad bactericida, que fue considerada uno de los beneficios más significativos de las penicilinas, quedó comprometida por el rápido desarrollo de resistencias a las mismas, lo que llevó al uso de agentes con baja actividad bactericida como linezolid y vancomicina^{3,64}. En el caso de la vancomicina la actividad bactericida queda aún más comprometida por los fenómenos de heterorresistencia y tolerancia. Que la actividad bactericida es clínicamente importante quedó demostrado en un clásico estudio llevado a cabo en nuestro país, donde se evidenció una mortalidad significativamente mayor en la bacteriemia producida por *S. aureus* sensibles a la meticilina tratados con vancomicina (47% de 17 pacientes) que en los tratados con cloxacilina (0% de 10 pacientes)⁶⁵, atribuible a la lenta capacidad de la vancomicina de producir la muerte bacteriana a pesar de la sensibilidad a la misma.

Dos estrategias cabe plantearse para soslayar el deterioro de la actividad bactericida derivado de los fenómenos de heterorresistencia o tolerancia: terapia combinada para que, mediante sinergismo, se alcance actividad bactericida o tratamiento con antibióticos bactericidas.

La primera de ellas resultó exitosa en una serie de pacientes con bacteriemia refractaria por microorganismos de distintas especies (no enterococos) tolerantes a vancomicina tratados con este antibiótico, en los que la resolución sólo ocurrió tras la adición posterior de aminoglucósidos⁶¹. Esta estrategia debe plantearse ante una pobre respuesta terapéutica al tratamiento con vancomicina de bacteriemias por *S. aureus*, ya que esta pobre respuesta terapéutica debe ser sospecha clínica del fenómeno de la tolerancia⁶⁰. La elección de los compuestos que se incluyen en la terapia combinada para conseguir el efecto bactericida es importante ya que se han descrito interacciones antagónicas *in vitro* entre linezolid y vancomicina o entre linezolid y gentamicina¹⁴ por una parte, y porque hay que tener en cuenta el fenómeno antes comentado de alta resistencia a aminoglucósidos en enterococo.

La segunda estrategia se basa en la utilización de compuestos bactericidas frente a aislados grampositivos hospitalarios. Hay que tener en cuenta que de los compuestos disponibles, linezolid y tigeciclina son bacteriostáticos frente a *S.*

aureus, microorganismo frente al que quinupristina/dalfopristina es bactericida pero bacteriostática frente a *E. faecium* e inactiva frente a *E. faecalis*⁹. Los compuestos bactericidas a utilizar deben ser aquellos frente a los cuales las bacterias grampositivas presenten sensibilidad y ausencia de tolerancia o heterorresistencia (a diferencia de los glucopéptidos), como es el caso del lipopéptido daptomicina. Así, en diferentes estudios *in vitro*, concentraciones fisiológicas de daptomicina han demostrado actividad bactericida frente a cepas de *S. pneumoniae* multirresistente, SARM h-VISA, *S. aureus* tolerante a la vancomicina, *E. faecium* (por definición tolerante a la vancomicina) y ERV⁶⁶⁻⁶⁸. Los estudios realizados determinaban la actividad de daptomicina en presencia de concentraciones fisiológicas de albúmina humana para evaluar la influencia de su alta unión a proteínas. De los resultados obtenidos (rápida actividad bactericida en presencia de 4 g/dl de albúmina humana) puede confirmarse que las proteínas séricas sólo tienen un pequeño efecto sobre su actividad antibacteriana⁶⁶⁻⁶⁸ ya que, como se ha postulado, su unión a proteínas es muy lábil⁹.

CONCLUSIONES

El fenómeno de disminución de sensibilidad (con sus distintos fenotipos) o tolerancia a la vancomicina no sólo es un fenómeno epidemiológico por exposición a los glucopéptidos a lo largo del tiempo en el ámbito hospitalario⁶⁹, sino también un fenómeno en el ámbito clínico, ya que los aislados de SARM en hemocultivos de pacientes tratados recientemente con vancomicina pueden mostrar sensibilidad reducida y aumento de tolerancia a ésta, asociados con eficacia reducida de este antibiótico⁷⁰. Históricamente la CMI₉₀ de la vancomicina frente a *S. aureus* era 0,5 µg/ml, mientras que actualmente las comunicaciones bibliográficas la sitúan en 1-2 µg/ml^{23,63,71}, valores frente a los que la vancomicina, cuando es bactericida, lo es de forma muy lenta^{71,72} y siempre en tiempos superiores al intervalo de dosificación⁶⁶. Además, en estos rangos de CMI es donde se presentan, como hemos visto, los fenómenos de heterorresistencia y tolerancia y son los valores de CMI que, entre las cepas sensibles, se han asociado a fracaso clínico^{17,60}. A la luz de estos datos se ha sugerido considerar a las cepas con valores de CMI de 1-2 µg/ml como h-VISA o VISA¹⁹. Ya que incluso con los nuevos puntos de corte del CLSI para vancomicina (CMI ≤2 µg/ml) el test de susceptibilidad puede fracasar en diferenciar de forma precisa los casos que potencialmente responderán a la terapia con vancomicina de los que no^{3,40}, también se ha sugerido si, a la vista de los resultados clínicos, debería bajarse aún más el punto de corte hasta valores de 1 µg/ml ó 0,5 µg/ml¹⁹. Lo que no ofrece duda es el valor añadido que se obtendría de aumentar la precisión de los tests de susceptibilidad, incluyendo la medición directa de la actividad bactericida³. Sin embargo, con los métodos actuales su determinación en rutina no es posible por la laboriosidad del procedimiento, por lo que mientras no se modifique la situación actual los fenómenos de decremento de sensibilidad, heterorresistencia y tolerancia en *S. aureus* permanecerán "invisibles" para el clínico a la hora de instaurar un tratamiento, lo cual, como se ha visto anteriormente, tiene implicaciones clínicas.

Los fenómenos de heterorresistencia y tolerancia a la vancomicina no se circunscriben sólo a *S. aureus* (la tolerancia es el paradigma en el género *Enterococcus* con clara traducción clínica), sino que afectan también a otros aislados grampositivos hospitalarios de distintos géneros y especies como las pertenecientes a los grupos de SCN, enterococos, estreptococos de los grupos viridans, C y G, y quizá la tolerancia en *S. pneumoniae*.

Conocer la importancia de estos fenómenos no detectados por el laboratorio en la rutina diaria es importante, porque puede ayudar a elegir la estrategia más adecuada entre las anteriormente comentadas para soslayarlos, o poner en alerta al clínico monitorizando de cerca la evolución del paciente, ante la traducción clínica de estos fenómenos que adquiere importancia en el paciente hospitalizado.

BIBLIOGRAFÍA

- González-Romo F, Rubio M, Betriu C, Picazo JJ; Grupo IGP. Prevalencia y tratamiento de las infecciones por grampositivos en los servicios de medicina interna de hospitales españoles: Estudio IGP. *Rev Esp Quimioter* 2003;16:428-35.
- Bouza E, Finch R. Infections caused by Gram-positive bacteria: situation and challenges of treatment. *Clin Microbiol Infect* 2001;7 Suppl 4:iii.
- Jones RN. Key considerations in the treatment of complicated staphylococcal infections. *Clin Microbiol Infect* 2008;14 Suppl 2:3-9.
- http://www.vhebron.es/ac/preventiva/epine/6_epine_1990_2006.pdf
- García-Leoni ME, Cercenado E, Rodeño P, Bernaldo de Quirós JC, Martínez-Hernández D, Bouza E. Susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* to penicillin: a prospective microbiological and clinical study. *Clin Infect Dis* 1992;14:427-35.
- Eykyn SJ, Gransden WR, Phillips I. The causative organisms of septicaemia and their epidemiology. *J Antimicrob Chemother* 1990;25 Suppl C:41-58.
- Bouza E, Pintado V, Rivera S, Blázquez R, Muñoz P, Cercenado E et al. Nosocomial bloodstream infections caused by *Streptococcus pneumoniae*. *Clin Microbiol Infect* 2005;11:919-24.
- Moellering RC Jr. Problems with antimicrobial resistance in gram-positive cocci. *Clin Infect Dis* 1998;26:1177-8.
- French GL. Bactericidal agents in the treatment of MRSA infections—the potential role of daptomycin. *J Antimicrob Chemother* 2006;58:1107-17.
- Howe RA, Monk A, Wootton M, Walsh TR, Enright MC. Vancomycin susceptibility within methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* lineages. *Emerg Infect Dis* 2004;10:855-7.
- Liu C, Chambers HF. *Staphylococcus aureus* with heterogeneous resistance to vancomycin: epidemiology, clinical significance, and critical assessment of diagnostic methods. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47:3040-5.
- Khosrovaneh A, Riederer K, Saeed S, Tabriz MS, Shah AR, Hanna MM et al. Frequency of reduced vancomycin susceptibility and heterogeneous subpopulation in persistent or recurrent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Clin Infect Dis* 2004;38:1328-30.
- Tenover FC, Moellering RC Jr. The rationale for revising the Clinical and Laboratory Standards Institute vancomycin minimal inhibitory concentration interpretive criteria for *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis* 2007;44:1208-15.
- Lentino JR, Narita M, Yu VL. New antimicrobial agents as therapy for resistant gram-positive cocci. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2008;27:3-15.
- Tenover FC, Weigel LM, Appelbaum PC, McDougal LK, Chaitram J, McAllister S et al. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolate from a patient in Pennsylvania. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48:275-80.
- Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; nineteenth informational supplement. CLSI/NCCLS document M100-S19. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA, 2009.
- Soriano A, Marco F, Martínez JA, Pisos E, Almela M, Dimova VP et al. Influence of vancomycin minimum inhibitory concentration on the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Clin Infect Dis* 2008; 46:193-200.
- Picazo JJ, Betriu C, Culebras E, Rodríguez-Avial I, Gómez M, López F; VIRA Study Group. Activity of daptomycin against staphylococci collected from bloodstream infections in Spanish medical centers. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2009;64:448-51.
- Gould IM. The problem with glycopeptides. *Int J Antimicrob Agents* 2007;30:1-3.
- Garnier F, Chainier D, Walsh T, Karlsson A, Bolmström A, Grelaud C et al. A 1 year surveillance study of glycopeptide-intermediate *Staphylococcus aureus* strains in a French hospital. *J Antimicrob Chemother* 2006;57:146-9.
- Sader HS, Watters AA, Fritsche TR, Jones RN. Daptomycin antimicrobial activity tested against methicillin-resistant staphylococci and vancomycin-resistant enterococci isolated in European medical centers (2005). *BMC Infect Dis* 2007;7:29.
- Cuevas O, Cercenado E, Bouza E, Castellares C, Trincado P, Cabrera R et al. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Spain: a multicentre prevalence study (2002). *Clin Microbiol Infect* 2007;13:250-256.
- Picazo JJ, Betriu C, Rodríguez-Avial I, Culebras E, Gómez M, López F; Grupo VIRA. Vigilancia de resistencias a los antimicrobianos: estudio VIRA 2006. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2006;24:617-28.
- Wong SS, Ho PL, Woo PC, Yuen KY. Bacteremia caused by staphylococci with inducible vancomycin heteroresistance. *Clin Infect Dis* 1999;29:760-7.
- Nunes AP, Schuenck RP, Bastos CC, Magnanini MM, Long JB, Iorio NL et al. Heterogeneous resistance to vancomycin and teicoplanin among *Staphylococcus* spp. isolated from bacteremia. *Braz J Infect Dis* 2007;11:345-50.
- Oteo J, Cuevas O, Navarro C, Aracil B, Campos J; Spanish Group of The European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS). Trends in antimicrobial resistance in 3469 enterococci isolated from blood (EARSS experience 2001-06, Spain): increasing ampicillin resistance in *Enterococcus faecium*. *J Antimicrob Chemother* 2007;59:1044-5.
- Alam MR, Donabedian S, Brown W, Gordon J, Chow JW, Zervos MJ et al. Heteroresistance to vancomycin in *Enterococcus faecium*. *J Clin Microbiol* 2001;39:3379-81.

28. Khan SA, Sung K, Layton S, Nawaz MS. Heteroresistance to vancomycin and novel point mutations in Tn1546 of *Enterococcus faecium* ATCC 51559. *Int J Antimicrob Agents* 2008;31:27-36.
29. Qu TT, Zhang JL, Zhou ZH, Wei ZQ, Yu YS, Chen YG et al. Heteroresistance to teicoplanin in *Enterococcus faecium* harboring the *vanA* gene. *J Clin Microbiol* 2009 Oct 21. [Epub ahead of print].
30. Charles PG, Ward PB, Johnson PD, Howden BP, Grayson ML. Clinical features associated with bacteremia due to heterogeneous vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis* 2004;38:448-51.
31. Ruef C. Epidemiology and clinical impact of glycopeptide resistance in *Staphylococcus aureus*. *Infection* 2004;32:315-27.
32. Howden BP. Recognition and management of infections caused by vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* (VISA) and heterogenous VISA (hVISA). *Intern Med J* 2005;35 Suppl 2:S136-40.
33. Fong RK, Low J, Koh TH, Kurup A. Clinical features and treatment outcomes of vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* (VISA) and heteroresistant vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* (hVISA) in a tertiary care institution in Singapore. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2009;28:983-7.
34. Bae IG, Federspiel JJ, Miró JM, Woods CW, Park L, Rybak MJ et al. Heterogeneous vancomycin-intermediate susceptibility phenotype in bloodstream methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from an international cohort of patients with infective endocarditis: prevalence, genotype, and clinical significance. *J Infect Dis* 2009;200:1355-66.
35. Bourgeois I, Pestel-Caron M, Lemeland JF, Pons JL, Caron F. Tolerance to the glycopeptides vancomycin and teicoplanin in coagulase-negative staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother* 2007;51:740-3.
36. Sader HS, Fritsche TR, Jones RN. Daptomycin bactericidal activity and correlation between disk and broth microdilution method results in testing of *Staphylococcus aureus* strains with decreased susceptibility to vancomycin. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50:2330-6.
37. Traczewski MM, Katz BD, Steenbergen JN, Brown SD. Inhibitory and bactericidal activities of daptomycin, vancomycin, and teicoplanin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates collected from 1985 to 2007. *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53:1735-8.
38. Sader HS, Jones RN, Rossi KL, Rybak MJ. Occurrence of vancomycin-tolerant and heterogeneous vancomycin-intermediate strains (hVISA) among *Staphylococcus aureus* causing bloodstream infections in nine USA hospitals. *J Antimicrob Chemother* 2009;64:1024-8.
39. Perry JD, Jones AL, Gould FK. Glycopeptide tolerance in bacteria causing endocarditis. *J Antimicrob Chemother* 1999;44:121-4.
40. Jones RN. Microbiological features of vancomycin in the 21st century: minimum inhibitory concentration creep, bactericidal/static activity, and applied breakpoints to predict clinical outcomes or detect resistant strains. *Clin Infect Dis* 2006;42 Suppl 1:S13-24.
41. Cercenado E. *Staphylococcus lugdunensis*: un estafilococo coagulasa-negativo diferente de los demás. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2009;27:139-42.
42. Frank KL, Del Pozo JL, Patel R. From clinical microbiology to infection pathogenesis: how daring to be different works for *Staphylococcus lugdunensis*. *Clin Microbiol Rev* 2008;21:111-33.
43. Saribas S, Bagdatli Y. Vancomycin tolerance in enterococci. *Chemotherapy* 2004;50:250-4.
44. Novak R, Henriques B, Charpentier E, Normark S, Tuomanen E. Emergence of vancomycin tolerance in *Streptococcus pneumoniae*. *Nature* 1999 Jun 10;399(6736):590-3.
45. Gillis LM, White HD, Whitehurst A, Sullivan DC. Vancomycin-tolerance among clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* in Mississippi during 1999-2001. *Am J Med Sci* 2005;330:65-8.
46. Hidalgo M, Castaneda E, Arias CA. Tolerance to vancomycin in a multiresistant, Colombian isolate of *Streptococcus pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother* 2003;52:300-2.
47. Sung H, Shin HB, Kim MN, Lee K, Kim EC, Song W et al. Vancomycin-tolerant *Streptococcus pneumoniae* in Korea. *J Clin Microbiol* 2006;44:3524-8.
48. Henriques Normark B, Novak R, Ortvqvist A, Källenius G, Tuomanen E, Normark S. Clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* that exhibit tolerance of vancomycin. *Clin Infect Dis* 2001;32:552-8.
49. Rodriguez CA, Atkinson R, Bitar W, Whitney CG, Edwards KM, Mitchell L et al. Tolerance to vancomycin in pneumococci: detection with a molecular marker and assessment of clinical impact. *J Infect Dis* 2004;190:1481-7.
50. Antón N, Blázquez R, Gómez-Garcés JL, Alós JI. Study of vancomycin tolerance in 120 strains of *Streptococcus pneumoniae* isolated in 1999 in Madrid, Spain. *J Antimicrob Chemother* 2001;47:902-3.
51. Ortega M, Marco F, Soriano A, García E, Martínez JA, Mensa J. Lack of vancomycin tolerance in *Streptococcus pneumoniae* strains isolated in Barcelona, Spain, from 1999 to 2001. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47:1976-8.
52. Rolston KV, Chandrasekar PH, LeFrock JL. Antimicrobial tolerance in group C and group G streptococci. *J Antimicrob Chemother* 1984;13:389-92.
53. Zaoutis T, Schneider B, Steele Moore L, Klein JD. Antibiotic susceptibilities of group C and group G streptococci isolated from patients with invasive infections: evidence of vancomycin tolerance among group G serotypes. *J Clin Microbiol* 1999;37:3380-3.
54. The choice of antibiotic agents. *Med Lett* 1992;34:49-56.
55. Moellering RC Jr. The Garrod Lecture. The enterococcus: a classic example of the impact of antimicrobial resistance on therapeutic options. *J Antimicrob Chemother* 1991;28:1-12.
56. Faville RJ Jr, Zaske DE, Kaplan EL, Crossley K, Sabath LD, Quie PG. *Staphylococcus aureus* endocarditis. Combined therapy with vancomycin and rifampin. *JAMA* 1978;240:1963-5.
57. Sorrell TC, Packham DR, Shanker S, Foldes M, Munro R. Vancomycin therapy for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Ann Intern Med* 1982;97:344-50.
58. May J, Shannon K, King A, French G. Glycopeptide tolerance in *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 1998;42:189-97.
59. Gopal V, Bisno AL, Silverblatt FJ. Failure of vancomycin treatment in *Staphylococcus aureus* endocarditis. In vivo and in vitro observations. *JAMA* 1976;236:1604-6.

60. Sakoulas G, Moise-Broder PA, Schentag J, Forrest A, Moellering RC Jr, Eliopoulos GM. Relationship of MIC and bactericidal activity to efficacy of vancomycin for treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *J Clin Microbiol* 2004;42:2398-402.
61. Safdar A, Rolston KV. Vancomycin tolerance, a potential mechanism for refractory gram-positive bacteremia observational study in patients with cancer. *Cancer* 2006;106:1815-20.
62. McCullers JA, English BK, Novak R. Isolation and characterization of vancomycin-tolerant *Streptococcus pneumoniae* from the cerebrospinal fluid of a patient who developed recrudescence meningitis. *J Infect Dis* 2000;181:369-73.
63. Aguilar L, Barberán J, Prieto J, Giménez M. Optimización de la actividad bactericida en el tratamiento hospitalario de infecciones por grampositivos. *Rev Esp Quimioter* 2008;21:37-44.
64. Alder J, Eisenstein B. The advantage of bactericidal drugs in the treatment of infection. *Curr Infect Dis Rep* 2004;6:251-3.
65. González C, Rubio M, Romero-Vivas J, González M, Picazo JJ. Bacteremic pneumonia due to *Staphylococcus aureus*: A comparison of disease caused by methicillin-resistant and methicillin-susceptible organisms. *Clin Infect Dis* 1999;29:1171-7.
66. Cafini F, Aguilar L, González N, Giménez MJ, Torrico M, Alou L et al. In vitro effect of the presence of human albumin or human serum on the bactericidal activity of daptomycin against strains with the main resistance phenotypes in Gram-positives. *J Antimicrob Chemother* 2007;59:1185-9.
67. Alou L, Aguilar L, Giménez MJ, Torrico M, Sevillano D. Activity of serum concentrations of daptomycin vs. vancomycin against vancomycin-susceptible and resistant *Enterococcus faecium* in the presence of albumin physiological concentrations: an in vitro pharmacodynamic simulation. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2008;27:1009-11.
68. Torrico M, Giménez MJ, González N, Alou L, Sevillano D, Cafini F et al. Bactericidal activity of daptomycin versus vancomycin in the presence of human albumin against vancomycin-susceptible but tolerant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with daptomycin MICs of 1-2 µg/ml. *Int J Antimicrob Agents* (En prensa).
69. Wang G, Hindler JF, Ward KW, Bruckner DA. Increased vancomycin MICs for *Staphylococcus aureus* clinical isolates from a university hospital during a 5-year period. *J Clin Microbiol* 2006;44:3883-6.
70. Moise PA, Smyth DS, El-Fawal N, Robinson DA, Holden PN, Forrest A et al. Microbiological effects of prior vancomycin use in patients with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia. *J Antimicrob Chemother* 2008;61:85-90.
71. Sakoulas G, Gold HS, Cohen RA, Venkataraman L, Moellering RC, Eliopoulos GM. Effects of prolonged vancomycin administration on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in a patient with recurrent bacteraemia. *J Antimicrob Chemother* 2006;57:699-704.
72. Domenech A, Ribes S, Cabellos C, Domínguez MA, Montero A, Liñares J et al. A mouse peritonitis model for the study of glycopeptide efficacy in GISA infections. *Microb Drug Resist* 2004;10:346-53.