THÈSE

Pour l'obtention du grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE POITIERS
UFR de médecine et de pharmacie
Laboratoire pharmacologie des anti-infectieux (Poitiers)
(Diplôme National - Arrêté du 7 août 2006)

École doctorale : Biologie-santé - Bio-santé (Limoges)
Secteur de recherche : Médecine

Présentée par :
Denis Frasca

Étude de la distribution cérébrale de deux antibiotiques chez des patients de réanimation

Directeur(s) de Thèse :
Sandrine Marchand, Claire Dahyot-Fizelier

Soutenue le 04 octobre 2013 devant le jury

Jury :

Président	**Olivier Mimoz**	Professeur, CHU de Poitiers
Rapporteur	**Gérard Audibert**	Professeur, CHU de Nancy
Rapporteur	**Thomas Geeraerts**	Professeur, CHU de Toulouse
Membre	**Sandrine Marchand**	Professeur, CHU de Poitiers
Membre	**Claire Dahyot-Fizelier**	Docteur, CHU de Poitiers
Membre	**Xavier Declèves**	Professeur, Université René Descartes, Paris 5
Membre	**Bernard Vigué**	Praticien hospitalier, CHU de Bicêtre

Pour citer cette thèse :
Denis Frasca. *Étude de la distribution cérébrale de deux antibiotiques chez des patients de réanimation* [En ligne]. Thèse Médecine. Poitiers : Université de Poitiers, 2013. Disponible sur Internet <http://theses.univ-poitiers.fr>

UNIVERSITE DE POITIERS
FACULTE DE MEDECINE ET PHARMACIE

Année 2013 Thèse n°

THESE

Pour l'obtention du Grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE POITIERS

Faculté de Médecine et Pharmacie

(Diplôme National – Arrêté du 7 août 2006)

Ecole Doctorale : n°524 Bio-santé du PRES Limousin-Poitou-Charentes

Secteur de Recherche : Médecine

Présentée par

Denis FRASCA

Etude de la distribution cérébrale de deux antibiotiques chez des patients de réanimation

---

Directeurs de Thèse

Professeur Sandrine MARCHAND

Docteur Claire DAHYOT-FIZELIER

Soutenue le 4 octobre 2013
devant la Commission d'Examen

JURY

Professeur Olivier MIMOZ	Examinateur
Professeur Gérard AUDIBERT	Rapporteur
Professeur Thomas GEERAERTS	Rapporteur
Professeur Xavier DECLEVES	Examinateur
Docteur Bernard VIGUE	Examinateur

UNIVERSITE DE POITIERS

Faculté de Médecine et de Pharmacie

Le Doyen,

Année universitaire 2013 - 2014

LISTE DES ENSEIGNANTS DE MEDECINE

Professeurs des Universités-Praticiens Hospitaliers

1. AGIUS Gérard, bactériologie-virologie
2. ALLAL Joseph, thérapeutique
3. BATAILLE Benoît, neurochirurgie
4. BENSADOUN René-Jean, cancérologie - radiothérapie
5. BRIDOUX Frank, néphrologie
6. BURUCOA Christophe, bactériologie - virologie
7. CARRETIER Michel, chirurgie générale
8. CHEZE-LE REST Catherine, biophysique et médecine nucléaire
9. CHRISTIAENS Luc, cardiologie
10. CORBI Pierre, chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
11. DAGREGORIO Guy, chirurgie plastique et reconstructrice
12. DEBAENE Bertrand, anesthésiologie réanimation
13. DEBIAIS Françoise, rhumatologie
14. DORE Bertrand, urologie **(suraombre)**
15. DROUOT Xavier, physiologie
16. DUFOUR Xavier, Oto-Rhino-Laryngologie
17. EUGENE Michel, physiologie **(suraombre)**
18. FAURE Jean-Pierre, anatomie
19. FRITEL Xavier, gynécologie-obstétrique
20. GAYET Louis-Etienne, chirurgie orthopédique et traumatologique
21. GICQUEL Ludovic, pédopsychiatrie
22. GILBERT Brigitte, génétique
23. GOMBERT Jean-Marc, immunologie
24. GOUJON Jean-Michel, anatomie et cytologie pathologiques
25. GUILHOT-GAUDEFFROY François, hématologie et transfusion
26. GUILLET Gérard, dermatologie
27. GUILLEVIN Rémy, radiologie et imagerie médicale
28. HADJADJ Samy, endocrinologie et maladies métaboliques
29. HAUET Thierry, biochimie et biologie moléculaire
30. HERPIN Daniel, cardiologie
31. HOUETO Jean-Luc, neurologie
32. INGRAND Pierre, biostatistiques, informatique médicale
33. IRANI Jacques, urologie
34. JABER Mohamed, cytologie et histologie
35. JAYLE Christophe, chirurgie thoracique t cardio-vasculaire
36. KARAYAN-TAPON Lucie, cancérologie
37. KEMOUN Gilles, médecine physique et réadaptation **(de septembre à décembre)**
38. KITZIS Alain, biologie cellulaire
39. KLOSSEK Jean-Michel, Oto-Rhino- Laryngologie
40. KRAIMPS Jean-Louis, chirurgie générale
41. LECRON Jean-Claude, biochimie et biologie moléculaire
42. LEVARD Guillaume, chirurgie infantile
43. LEVEZIEL Nicolas, ophtalmologie
44. LEVILLAIN Pierre, anatomie et cytologie pathologiques
45. MACCHI Laurent, hématologie
46. MARCELLI Daniel, pédopsychiatrie **(suraombre)**
47. MARECHAUD Richard, médecine interne
48. MAUCO Gérard, biochimie et biologie moléculaire
49. MENU Paul, chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
50. MEURICE Jean-Claude, pneumologie
51. MIMOZ Olivier, anesthésiologie - réanimation
52. MORICHAU-BEAUCHANT Michel, hépato-gastro-entérologie
53. NEAU Jean-Philippe, neurologie
54. ORIOT Denis, pédiatrie
55. PACCALIN Marc, gériatrie
56. PAQUEREAU Joël, physiologie
57. PERAULT Marie-Christine, pharmacologie clinique
58. PERDRISOT Rémy, biophysique et médecine nucléaire
59. PIERRE Fabrice, gynécologie et obstétrique
60. POURRAT Olivier, médecine interne
61. PRIES Pierre, chirurgie orthopédique et traumatologique
62. RICCO Jean-Baptiste, chirurgie vasculaire
63. RICHER Jean-Pierre, anatomie
64. ROBERT René, réanimation
65. ROBLOT France, maladies infectieuses, maladies tropicales
66. ROBLOT Pascal, médecine interne
67. RODIER Marie-Hélène, parasitologie et mycologie
68. SENON Jean-Louis, psychiatrie d'adultes
69. SILVAIN Christine, hépato-gastro- entérologie
70. SOLAU-GERVAIS Elisabeth, rhumatologie
71. TASU Jean-Pierre, radiologie et imagerie médicale
72. TOUCHARD Guy, néphrologie
73. TOURANI Jean-Marc, cancérologie
74. WAGER Michel, neurochirurgie

Maîtres de Conférences des Universités-Praticiens Hospitaliers

1. ARIES Jacques, anesthésiologie - réanimation
2. BEBY-DEFAUX Agnès, bactériologie - virologie
3. BEN-BRIK Eric, médecine du travail
4. BOURMEYSTER Nicolas, biologie cellulaire
5. CASTEL Olivier, bactériologie - virologie - hygiène
6. CATEAU Estelle, parasitologie et mycologie
7. CREMNITER Julie, bactériologie - virologie
8. DAHYOT-FIZELIER Claire, anesthésiologie - réanimation
9. DIAZ Véronique, physiologie
10. FAVREAU Frédéric, biochimie et biologie moléculaire
11. FRASCA Denis, anesthésiologie - réanimation
12. HURET Jean-Loup, génétique
13. JAAFARI Nematollah, psychiatrie d'adultes
14. LAFAY Claire, pharmacologie clinique
15. MIGEOT Virginie, santé publique
16. ROY Lydia, hématologie
17. SAPANET Michel, médecine légale
18. SCHNEIDER Fabrice, chirurgie vasculaire
19. THILLE Arnaud, réanimation
20. TOUGERON David, hépato-gastro-entérologie

Professeur des universités de médecine générale

GOMES DA CUNHA José

Professeur associé des disciplines médicales

MILLOT Frédéric, pédiatrie, oncologie pédiatrique

Professeur associé de médecine générale

VALETTE Thierry

Maîtres de Conférences associés de médecine générale

BINDER Philippe
BIRAULT François
FRECHE Bernard
GIRARDEAU Stéphane
GRANDCOLIN Stéphanie
PARTHENAY Pascal
VICTOR-CHAPLET Valérie

Enseignants d'Anglais

DEBAIL Didier, professeur certifié
LILWALL Amy, maître de langues étrangères

Maître de conférences des disciplines pharmaceutiques enseignant en médecine

MAGNET Sophie, microbiologie, bactériologie

Professeurs émérites

1. DABAN Alain, cancérologie radiothérapie
2. FAUCHERE Jean-Louis, bactériologie - virologie
3. GIL Roger, neurologie
4. MAGNIN Guillaume, gynécologie-obstétrique

Professeurs et Maîtres de Conférences honoraires

1. ALCALAY Michel, rhumatologie
2. BABIN Michèle, anatomie et cytologie pathologiques
3. BABIN Philippe, anatomie et cytologie pathologiques
4. BARBIER Jacques, chirurgie générale (ex émérite)
5. BARRIERE Michel, biochimie et biologie moléculaire
6. BECQ-GIRAUDON Bertrand, maladies infectieuses, maladies tropicales (ex émérite)
7. BEGON François, biophysique, Médecine nucléaire
8. BOINOTCatherine, hématologie - transfusion
9. BONTOUX Daniel, rhumatologie (ex émérite)
10. BURIN Pierre, histologie
11. CASTETS Monique, bactériologie -virologie – hygiène
12. CAVELLIER Jean-François, biophysique et médecine nucléaire
13. CHANSIGAUD Jean-Pierre, biologie du développement et de la reproduction
14. CLARAC Jean-Pierre, chirurgie orthopédique
15. DESMAREST Marie-Cécile, hématologie
16. DEMANGE Jean, cardiologie et maladies vasculaires
17. FONTANEL Jean-Pierre, Oto-Rhino Laryngologie (ex émérite)
18. GOMBERT Jacques, biochimie
19. GRIGNON Bernadette, bactériologie
20. JACQUEMIN Jean-Louis, parasitologie et mycologie médicale
21. KAMINA Pierre, anatomie (ex émérite)
22. LAPIERRE Françoise, neurochirurgie (ex émérite)
23. LARSEN Christian-Jacques, biochimie et biologie moléculaire
24. MAIN de BOISSIERE Alain, pédiatrie
25. MARILLAUD Albert, physiologie
26. MORIN Michel, radiologie, imagerie médicale
27. POINTREAU Philippe, biochimie
28. REISS Daniel, biochimie
29. RIDEAU Yves, anatomie
30. SULTAN Yvette, hématologie et transfusion
31. TALLINEAU Claude, biochimie et biologie moléculaire
32. TANZER Joseph, hématologie et transfusion (ex émérite)
33. VANDERMARCQ Guy, radiologie et imagerie médicale

Remerciements

A Madame le Professeur Sandrine MARCHAND

Merci pour tes conseils avisés, ta rigueur scientifique et ton aide précieuse au cours de ce travail mais aussi depuis le premier jour où j'ai franchi la porte du laboratoire en 2006.

A Madame le Docteur Claire DAHYOT-FIZELIER

Pour avoir été l'initiatrice de ce projet, m'avoir guidé dans son aboutissement avec persévérance et application. Sois assurée de toute ma reconnaissance.

A Monsieur le Professeur Olivier MIMOZ

Parce que depuis mes premiers pas en anesthésie-réanimation, tu as toujours su me guider sur le chemin de la progression et de l'excellence. Travailler à tes côtés est une chance et un immense plaisir. Sois assuré de mon profond respect.

A Monsieur le Professeur Gérard AUDIBERT

Au cours du D.U. de neuroréanimation j'ai apprécié votre enseignement. C'est pour moi un honneur que vous ayez accepté d'être rapporteur de ce travail.

A Monsieur le Professeur Thomas GEERAERTS

Je vous remercie d'être rapporteur de ce travail et suis très honoré que vous ayez accepté de faire le voyage pour participer à ce jury.

A Monsieur le Professeur Xavier DECLEVES

Pour me faire l'honneur d'avoir accepté de juger ce travail, soyez assuré de toute ma reconnaissance.

A Monsieur le Docteur Bernard VIGUE

En acceptant de juger ce travail, vous me faites un grand honneur. Soyez assuré de ma profonde reconnaissance.

A Monsieur le Professeur Bertrand DEBAENE

Chaque jour, sans relâche vous travaillez pour le bien commun avec des valeurs et des principes qui pour nous tous sont un exemple. J'espère ne jamais démériter de votre confiance. Soyez assuré de mon profond respect.

A Monsieur le Professeur William COUET

Ce travail est une petite pierre de plus à l'édifice que nous construisons à vos cotés. Merci pour votre accueil, votre disponibilité et l'aide que vous m'avez toujours apportée.

A mes amis co-doctorants,

A toute l'équipe de l'Unité INSERM 1070,

A Isabelle LAMARCHE,

A Monsieur le Professeur Gérard MAUCO, A Madame BIAIS de l'Ecole Doctorale 524 BIOSANTE

A l'équipe de réanimation neurochirugicale,

A l'équipe du bloc opératoire Jean-Francois Risse,

A mes collègues et amis, Anesthésiste-Réanimateurs du CHU de Poitiers,

A Laurence et Isabelle,

A mes collègues de la Faculté de Médecine et aux étudiants dont j'ai la charge.

A mes Parents,

A Jérôme et Géraldine, A ma Famille,

A Julien,

A Isabel,

A mes Amis.

A ma tante Anna, *In Memoriam,*

A mes Grands-Parents, *In Memoriam,*

A ma tante Marie, *In Memoriam.*

« Que ta soif d'absolu soit suivie d'actions enthousiastes,
que tes aspirations soient imprégnés d'amour,
que ta vie signifie : agir ! »

Wolfgang von Goethe

Table des matières

Introduction 9

1 Les barrières cérébrales 11

Anatomie fonctionnelle 12

La barrière hémato-encéphalique 13

Le LCR et la barrière hémato-liquidienne 15

Physiologie des échanges entre le sang et les différents compartiments intracrâniens 18

Transport passif physiologique 19

Transport actif physiologique 22

Transport des médicaments 22

· *Transport passif des médicaments* 23

· *Transport actif des médicaments* 27

Métabolisme et dégradation enzymatique 33

Modifications physiopathologiques des barrières 34

Conclusion 36

2 Le céfotaxime et le métronidazole 37

Indications des deux antibiotiques en neuroréanimation 37

Méningite 38

Ventriculite et infections liées au drainage ventriculaire 40

Abcès cérébraux et empyèmes 41

Physiopathologie 43
Traitement antibiotique 46
Traitement préventif 46
Traitement curatif 48
Pharmacologie des deux antibiotiques 52
Céfotaxime 52
· *Pharmacocinétique* 52
· *Pharmacodynamique* 53
· *Effets indésirables et toxicité* 55
Métronidazole 56
· *Pharmacocinétique* 56
· *Pharmacodynamique* 58
· *Effets indésirables et toxicité* 59
Conclusion 60
3 Méthodes d'étude de la distribution des antibiotiques dans le système nerveux central 61
L'optimisation posologique des antibiotiques 61
Paramètres d'étude de la distribution 63
Vitesse de distribution 63
Etendue de la distribution 64
Méthodes d'études dans le tissu cérébral et le LCR 66
Techniques à partir de tissu cérébral 66
Technique d'imagerie, tomographie par émission de positons 67
Le prélèvement de liquide céphalorachidien 68
La Microdialyse cérébrale 70
Conclusion 77
4 Etude de la distribution du céfotaxime 78
Microdialysis study of cefotaxime cerebral distribution in patients with acute brain injury 79
Brain microdialysis distribution study of cefotaxime in a patient with traumatic brain injury 100

Pharmacocinétique du céfotaxime dans le liquide céphalorachidien de patients porteurs d'une dérivation ventriculaire externe 105

5 Etude de la distribution du métronidazole 119

Metronidazole And Hydroxy-Metronidazole Central Nervous System Distribution 120

Microdialysis Assessment Of Brain Extracellular Fluid Concentrations In Patients With Acute Brain Injury 120

Cerebrospinal fluid concentrations measurements in patients with external ventricular drain 142

6 Discussion générale et perspectives 155

Conclusion 169

Références bibliographiques 170

Liste des figures 195

Liste des Tableaux 196

Résumé 197

Abstract 198

Introduction

La thématique de l'Unité INSERM 1070 est l'optimisation du traitement pharmacologique des infections notamment nosocomiales. La collaboration de pharmacocinéticiens, de galénistes, d'ingénieurs analystes, de spécialistes en modélisation, de microbiologistes et de cliniciens permet une recherche translationnelle propice à l'élaboration de modèles pharmacocinétiques-pharmacodynamiques (PK-PD). Ces modèles ont pour but d'optimiser les posologies des médicaments anti-infectieux, en fonction de l'indication du traitement, du germe visé et des particularités pharmacologiques de diffusion de la molécule utilisée, tout en diminuant la survenue des effets indésirables. L'élaboration de modèles PK-PD nécessite l'obtention de données pharmacocinétiques (PK) dans les différents tissus. Au cours des dernières années, notre unité a acquis une reconnaissance internationale dans le domaine de la technique de microdialyse pour l'étude de la distribution des antibiotiques dans les tissus, chez l'animal d'abord puis chez l'homme, et notamment dans le tissu cérébral grâce à la possibilité de monitorer les patients en réanimation neurochirurgicale.

Le système nerveux central en général et le cerveau en particulier, sont des tissus pour lesquels la distribution de médicament est limitée en raison de la présence des barrières physiologiques hémato-encéphalique (BHE) et hémato-liquidienne (BHL). La présence de mécanismes actifs d'efflux contribue également à diminuer les concentrations cérébrales des médicaments, qui sont souvent inférieures à celle du plasma ou d'autres tissus. L'exemple des antibiotiques est intéressant car ce sont des médicaments qui peuvent être à la fois destinés à diffuser dans le tissu cérébral pour traiter une infection mais également provoquer des effets indésirables lors de leur usage, quelque soit l'infection tissulaire traitée. Les concentrations

plasmatiques des antibiotiques ne sont qu'un reflet partiel des concentrations tissulaires et ne peuvent se substituer aux concentrations tissulaires (Mouton et al. 2008). De même, le liquide céphalo-rachidien a souvent été utilisé comme un substitut pour la mesure des concentrations cérébrales d'antibiotiques y compris lors d'infectons parenchymateuses, mais la présence des BHE et BHL de natures différentes compromet cette comparaison (Nau et al. 2010).

Il est donc important de décrire et comprendre les processus qui régissent l'exposition cérébrale à un médicament dans le but d'optimiser l'usage et même la conception de nouveaux traitements pharmacologiques (Misra et al. 2003; Hammarlund-Udenaes et al. 2009). Connaître les caractéristiques physico-chimiques d'un médicament ne suffit pas pour déterminer sa distribution dans le tissu cérébral, il est nécessaire d'avoir des informations PK tissulaires précises (de Lange 2013). Un obstacle à cette étape a longtemps été le manque de méthodes expérimentales pour mesurer réellement les concentrations libres de médicament au niveau cérébral. Les méthodes d'étude anciennes ont le plus souvent été limitées à la mesure de la concentration totale du médicament dans un échantillon tissulaire. Les techniques de microdialyse et de prélèvement de liquide céphalo-rachidien (LCR) permettent chez des patients de réanimation, l'estimation et la comparaison des concentrations libres de médicament dans le liquide extracellulaire cérébral (LEC) et le LCR.

Ce travail constitue une étude de la distribution dans le plasma et deux tissus du système nerveux central : le LCR et le LEC cérébral de deux antibiotiques couramment utilisés en réanimation pour le traitement d'infections neuroméningées : le céfotaxime et le métronidazole. Les objectifs sont d'explorer la distribution active et passive des antibiotiques à travers les barrières physiologiques et de comparer les distributions du céfotaxime et du métronidazole dans le LCR et le LEC pour notamment déterminer si les concentrations dans le LCR sont un bon reflet des concentrations dans le LEC.

1 Les barrières cérébrales

Chez l'homme, le cerveau ne représente que 2 % du poids corporel alors que ses besoins énergétiques sont de 20 % de la dépense totale d'un individu (Strelnikov 2010). Contrairement aux autres organes, le cerveau ne dispose que de très peu de réserves énergétiques (glucose et oxygène) et ses apports doivent être rigoureusement régulés. Les fonctions complexes du cerveau sont liées à des processus biochimiques très sensibles, qui ne peuvent se dérouler que dans un milieu où l'homéostasie est complètement régulée. Les variations de pH sanguin ne doivent pas se répercuter sur le fonctionnement cérébral et une modification trop rapide du milieu pourrait provoquer des dommages irréversibles aux neurones. De même, les variations des concentrations en potassium par exemple, changeraient le potentiel de membrane neuronal. Les différentes hormones et autres neurotransmetteurs transportés par le sang ne doivent pas non plus pénétrer dans le système nerveux central au risque de perturber l'activité synaptique et neuronale. Par ailleurs, le cerveau en tant qu'organe de commande central de toutes les fonctions de l'organisme, doit être protégé de l'influence de substances étrangères, telles que les xénobiotiques (dont les médicaments) ou les agents infectieux.

C'est donc pour protéger le système nerveux central de ces contraintes internes et externes, qu'il existe deux types de barrières isolant le milieu sanguin du milieu cérébral : la BHE et la barrière hémato-liquidienne (BHL).

Anatomie fonctionnelle

Les deux types de barrières cérébrales sont constitués de structures anatomiques différentes (Barlow 1964; Levin 1977). La barrière hémato-encéphalique est principalement formée par l'endothélium microvasculaire cérébral entre le sang et les éléments du parenchyme cérébral (cellules, liquide extracellulaire). La barrière hémato-liquidienne est formée par l'épithélium des plexus choroïdes entre le sang et le liquide céphalorachidien (LCR) ventriculaire.

Les premières expériences démontrant l'existence de barrières cérébrales ont été réalisées par Paul Ehrlich, à la fin du 19ème siècle. Lors de l'injection d'un colorant d'aniline dans le sang d'animaux de laboratoire, il a remarqué que tous les organes à l'exception du cerveau étaient colorés (Ehrlich 1885). Des expériences complémentaires avaient exploré la fonction des barrières cérébrales hémato-encéphalique et hémato-liquidienne: l'injection intrathécale (dans le LCR) de 30 mg de ferrocyanide de sodium provoquait des convulsions, alors que l'injection par voie intraveineuse de doses deux fois plus élevées ne provoquaient pas ces symptômes. Au début du 20ème siècle, un élève d'Ehrlich, Edwin Goldmann a montré qu'il existait plus d'un type de barrière (Goldmann 1909). Après avoir injecté par voie intraveineuse à des animaux du bleu trypan, le colorant avait marqué les plexus choroïdes et la dure-mère, mais n'avait pas atteint le LCR. A l'inverse, après l'injection directe de bleu trypan dans le LCR, le cerveau et la moelle épinière ont été colorés, reflet d'une barrière peu étanche entre LCR et le tissu cérébral.

La compréhension actuelle de la structure de base de la BHE est ancienne et fondée sur les vues histologiques en microscopie électronique de cerveaux de souris, réalisées à la fin des années 1960. Reese et Karnovsky ont injecté par voie intraveineuse à des animaux la peroxydase de raifort (HRP), une enzyme hydrophile de haut poids moléculaire. Ils n'ont retrouvé l'enzyme, au microscope électronique, que dans la lumière des capillaires et dans des vésicules de pinocytose au sein des cellules endothéliales. Ils n'ont pas trouvé de HRP à l'extérieur des cellules endothéliales, dans la matrice extracellulaire. Les auteurs ont conclu

que les jonctions serrées entre les cellules endothéliales empêchent le passage vers le cerveau de la HRP, faisant de cela une des principales caractéristiques de la BHE : l'imperméabilité vasculaire (Karnovsky 1967).

La barrière hémato-encéphalique

La barrière hémato-encéphalique est la structure histologique qui protège directement l'encéphale des agents pathogènes, des toxines et de certaines hormones circulant dans le sang. Elle constitue un filtre extrêmement sélectif, à travers lequel passent les nutriments nécessaires au fonctionnement cérébral et par lequel les « déchets » du métabolisme sont éliminés. Ce processus d'alimentation et d'élimination est réalisé par un ensemble de mécanismes de transport à travers une structure très étanche (Terasaki et al. 1999; Pardridge 2005).

La BHE (***figure 1***) est une barrière essentiellement vasculaire, formée par le système cellulaire constitué des cellules endothéliales, de péricytes, des astrocytes, de macrophages, et d'une lame basale (Bradbury 1985). La lame basale supporte et entoure les cellules endothéliales. Les astrocytes projettent leurs pieds sur cette membrane basale en regard de chaque cellule endothéliale cérébrale (Del Zoppo 2006).

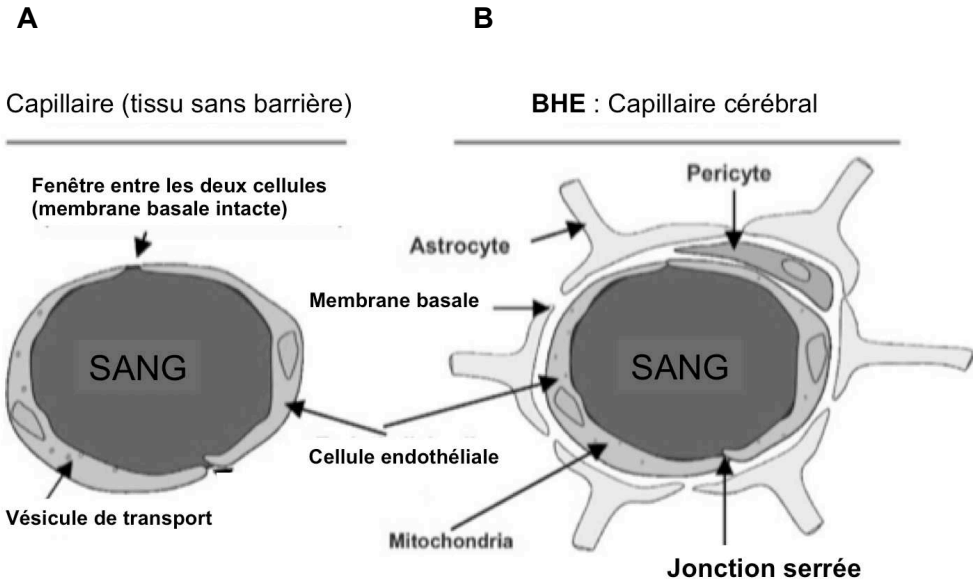


Figure 1. Schéma d'un capillaire de tissu (A) sans barrière et d'un capillaire de la BHE avec jonctions endothéliales serrées (B) (Löscher et al. 2005).

Des études montrent que les astrocytes produisent et libèrent divers médiateurs : les prostaglandines, l'oxyde nitrique (NO) et l'acide arachidonique, qui peuvent augmenter ou réduire le diamètre des vaisseaux sanguins et ainsi réguler la circulation sanguine en fonction de l'activité cérébrale (Sofroniew et al. 2009). Les cellules endothéliales sont reliées entre elles par des jonctions cellulaires serrées, assurant une stricte étanchéité de l'ensemble.

Autour des cellules endothéliales cérébrales et des astrocytes, des péricytes et des macrophages assurent des fonctions de régulation de la BHE (Wolburg et al. 2009). Les péricytes sont des cellules contractiles qui entourent les capillaires par de longs prolongements, et joueraient un rôle dans le contrôle de la croissance des cellules endothéliales. En raison de leur contact étroit avec les cellules endothéliales, les péricytes influenceraient l'intégrité des capillaires et donc l'étanchéité de la BHE. Ils auraient également la capacité de phagocyter certains éléments ayant franchit la BHE afin d'en limiter le transport vers le parenchyme cérébral (Weiss et al. 2009a). Dans certaines portions de l'encéphale, notamment les zones péri-ventriculaires (area postrema, éminence médiane, neurohypophyse, glande pinéale), la BHE est caractérisée par la présence de capillaires sanguins fenêtrés, permettant le passage libre de grosses molécules telles que certains acides aminés ou protéines : vitamines, hormones et facteurs de croissance (Weiss et al. 2010).

La BHE n'est pas uniquement une barrière anatomique mais également une barrière dynamique exprimant de nombreux enzymes et systèmes de transports actifs. Ainsi, certaines petites molécules capables de passer facilement à travers les membranes lipidiques, telles que les catécholamines et les neuropeptides, sont inactivées par des cytochromes P450 ou la monoamine oxydase, afin de ne pas perturber le bon fonctionnement cérébral (Ohtsuki 2004; Westerhout et al. 2011). En outre, la présence de nombreuses mitochondries dans les cellules endothéliales de la BHE est en adéquation avec l'intense activité métabolique pour maintenir l'homéostasie des milieux et favoriser les systèmes de transport actif.

Le LCR et la barrière hémato-liquidienne

La BHL sépare le sang d'un secteur liquidien encéphalique et médullaire, le LCR. Elle est essentiellement constituée par les plexus choroïdes (Sakka et al. 2011). Il faut distinguer la BHL (sang/LCR) de l'interface constitué par l'épendyme ventriculaire et la pie mère entre le LCR et le parenchyme cérébral, qui est un site d'échanges non sélectifs, sans autre restriction que le gradient de concentration d'une molécule, expliquant que l'on n'emploie pas le terme de « barrière ».

De l'extérieur vers l'intérieur, les méninges comportent la dure-mère, l'arachnoïde et la pie-mère. La dure-mère est séparée des autres méninges par l'espace sous dural. L'arachnoïde est reliée à la pie-mère par un système de trabécules délimitant des cavités qui constituent les espaces sous-arachnoïdiens, remplis de LCR. Dans certaines régions, l'arachnoïde perfore la dure-mère pour entrer en rapport avec les sinus veineux. Ces formations sont les villosités arachnoïdiennes dont le rôle est de transférer les éléments du LCR vers le sang, et plus généralement de résorber le LCR. Le LCR protège le système nerveux central et maintient une stabilité hydraulique, s'opposant en particulier aux variations de pression artérielle sanguine. Il assure le transport des éléments nutritifs des neurones et l'élimination des déchets liés au métabolisme cérébral. Le LCR est sécrété par l'épithélium du plexus choroïde (***figure 2***). Ces organes de production du LCR sont présents dans tous les ventricules cérébraux (ventricules latéraux, la partie postérieure du troisième ventricule, le toit du quatrième ventricule). La structure particulière des plexus choroïdes est à l'origine du concept de BHL.

L'unité fonctionnelle de chaque plexus choroïde est constituée par un capillaire sanguin dont les cellules endothéliales sont fenêtrées (***figure 2A***), facilitant les échanges avec l'espace interstitiel. Ce capillaire est enveloppé d'un épithélium épendymaire, dont les cellules possèdent à leur partie apicale de nombreuses microvillosités au contact du LCR et des jonctions serrées intercellulaires comparables à celles de l'endothélium cérébral existent entre les cellules épithéliales épendymaires des plexus choroïdes et entre les cellules de l'arachnoïde assurant l'étanchéité de la BHL.

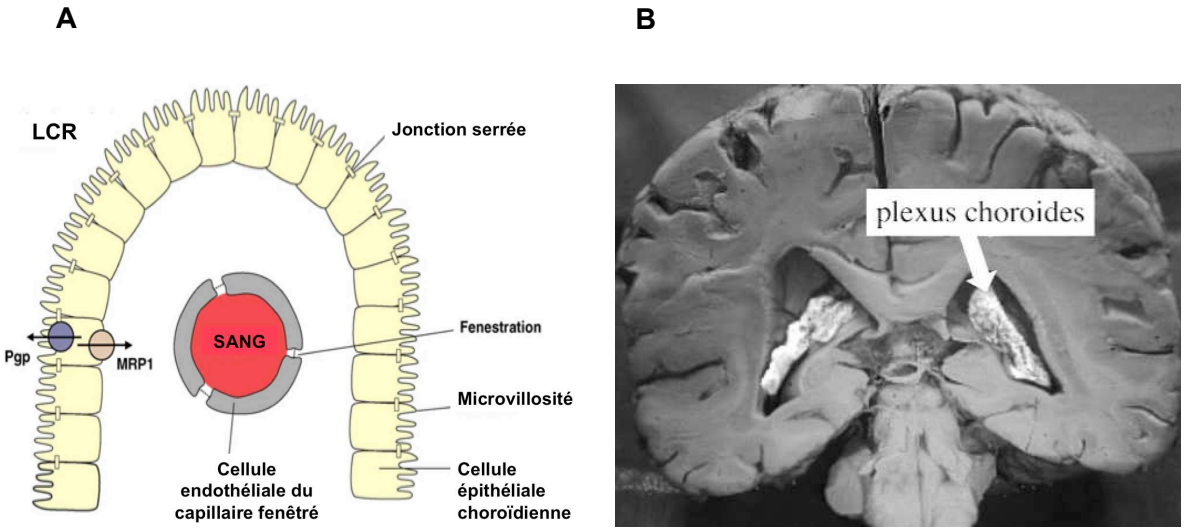


Figure 2. Plexus choroïde (Löscher et al. 2005): schéma histologique de l'épithélium (A) et localisation anatomique dans les ventricules latéraux sur une coupe coronale de l'encéphale (B).

La production de LCR (***tableau 1***) est une sécrétion et non un dialysat ou un ultrafiltrat du plasma. Les concentrations en ions sodium, chlore et magnésium sont supérieures à celles du plasma alors que les concentrations en potassium et calcium y sont inférieures (Sakka et al. 2011). Environ deux tiers du LCR sont produits par les plexus choroïdes. Un tiers du LCR provient du liquide extracellulaire (LEC) cérébral et la moelle épinière. Il existe un flux continu (*Bulk Flow*) entre le LEC cérébral et le LCR qui lutte contre l'équilibre des concentrations des médicaments ayant diffusé dans le parenchyme cérébral. Chez un sujet sain, le LCR est produit à un débit de 0,4 mL/min. Le volume total de LCR est approximativement de 140 mL, expliquant ainsi un renouvellement total du volume liquidien toutes les 6 heures (soit 560 mL/24h). Chez le rat, le renouvellement est plus rapide. Le débit de production est de 2,2 µL/min pour un volume total d'environ 250 mL donc un renouvellement toutes les 2 heures (Sakka et al. 2011).

Les cellules épithéliales des plexus choroïdes possèdent des systèmes de transport d'ions qui sont en majeure partie responsables de la sécrétion de LCR. La pompe Na^+/K^+-ATPase est présente dans les microvillosités apicales de l'épithélium choroïde permettant le maintien d'un taux de sodium intracellulaire bas. L'échange facilité de HCO_3^-/Cl^- est lui réalisé au

niveau du pôle basal des cellules épithéliales, correspondant au système d'échange d'anions du sang vers le LCR, le plus important. Les mouvements ioniques entrainent un gradient électrochimique entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule, à l'origine d'un transfert osmotique équivalent en eau. La surface totale estimée des plexus choroïdes chez l'homme est d'environ 0,021 m^2, ce qui est environ 5000 fois inférieur à la surface de l'endothélium capillaire du cerveau formant la BHE. Même si elle est moins sélective que la BHE, la BHL comporte aussi des systèmes de transport actif qui peuvent limiter la distribution (par des mécanismes d'efflux) dans le LCR puis le parenchyme cérébral, de molécules qui pourraient diffuser de façon passive à travers l'épithélium choroïde (Wolburg et al. 2009).

Tableau 1. Paramètres physiologiques des volumes et production de LEC et LCR chez l'homme et le rat.

Paramètre	Homme	Rat
Volume LEC cérébral	240 mL	290 µL
Débit de production LEC cérébral	0,15-0,20 mL/min	0,20-0,50 µL/min
Volume LCR	140 mL	250 µL
Débit de production LCR	0,4 mL/min	2,2 µL/min
Débit sanguin cérébral	700 mL/min (14% DC)	1,1 mL/min (2,5 % DC)

DC : débit cardiaque

La circulation du LCR s'effectue des ventricules vers l'espace sous-arachnoïdien. Le LCR passe des ventricules latéraux au troisième ventricule par les foramens inter-ventriculaires (***figure 3***). Il passe ensuite à travers l'aqueduc de Sylvius dans le quatrième ventricule, d'où il s'échappe à travers les trous de Magendie et Lushka, ouvertures médiane et latérales du quatrième ventricule, pour rejoindre la citerne cérébello-médullaire. De là, une partie se dirige dans l'espace sous-arachnoïdien du cervelet vers la citerne de la grande veine cérébrale. Une autre partie passe dans les espaces sous-arachnoïdiens encéphaliques et médullaires. Le LCR

est absorbé dans le sinus longitudinal supérieur pour être résorbé à travers les villosités arachnoïdiennes (Sakka et al. 2011).

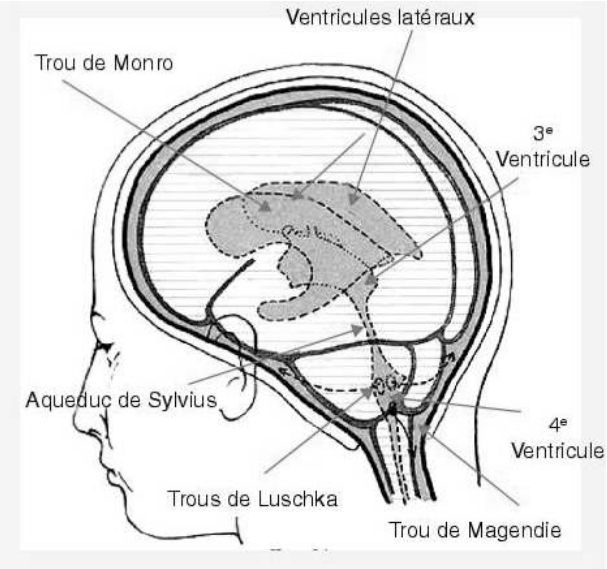


Figure 3. Schéma anatomique du système ventriculaire chez l'homme (Tabaouti et al. 2009).

Physiologie des échanges entre le sang et les différents compartiments intracrâniens

En dépit de leur imperméabilité, la diffusion des molécules à travers chacune des barrières permet les échanges (***figure 4***) entre les compartiments sanguins et encéphaliques (Ooie et al. 1997). Il existe plusieurs mécanismes de transport passif ou actif réalisant les échanges physiologiques.

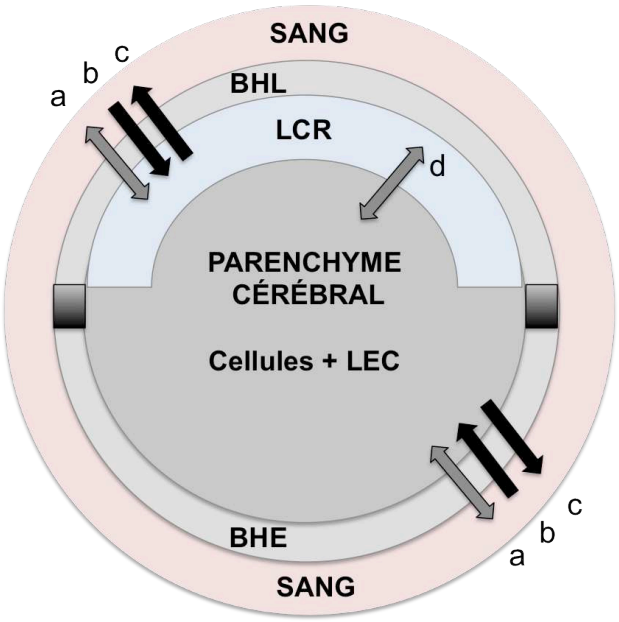


Figure 4. Représentation schématique des compartiments cérébraux. BHL : barrière hémato-liquidienne ; BHE : barrière hémato-encéphalique ; LCR : liquide céphalorachidien. Echanges entre compartiments = a : diffusion passive ; b : transport actif d'influx ; c : transport actif d'efflux ; d : transport passif sans barrière (d'après Bickel 2005).

Transport passif physiologique

- *Transport paracellulaire*

Seules certaines petites molécules peuvent passer à travers les jonctions serrées de l'endothélium capillaire cérébral, par exemple, l'eau (***figure 5***). Ce mode de diffusion est permanent, non saturable mais limité par la surface d'échange. La demi-vie d'échange de l'eau varie entre 12 et 25 secondes en fonction de la vascularisation de la région étudiée (Weiss et al. 2009a).

- *Diffusion libre transcellulaire*

Il s'agit d'un processus de diffusion à travers la membrane cellulaire des cellules endothéliales, selon le gradient de concentration. La diffusion libre ou passive, tend à établir un équilibre de concentration ou de potentiel électrochimique des molécules. Ce mode de diffusion ne requiert aucune énergie. Le débit est proportionnel à la différence de potentiel électrochimique et n'est

pas contrôlable. Les petites molécules peuvent franchir la membrane par des orifices correspondant à des déformations locales de la bicouche de phospholipides constituant la membrane. Les orifices sont mobiles, et peuvent donc accompagner la molécule dans son trajet à travers la membrane. Ce processus ne concerne que les petites molécules lipophiles. Les gaz tels que l'oxygène, le CO_2, le N_2O et les anesthésiques halogénés diffusent rapidement, de façon passive à travers les barrières (Weiss et al. 2009a).

- *Passage par un canal*

C'est un autre mode de diffusion pour les molécules polaires, comme l'eau, qui ne peuvent pas diffuser à travers les membranes lipidiques. Il existe dans la membrane cellulaire un grand nombre de protéines qui jouent le rôle de canal spécialisé pour le passage rapide et en grande quantité de l'eau : les aquaporines (Fukuda et al. 2012). Elles offrent une grande perméabilité à l'eau, dans les deux sens selon la différence de pression osmotique, tout en empêchant les transferts d'ions. Il existe de nombreux autres types de canaux, plus ou moins spécialisés, qui peuvent être ouverts ou fermés sous l'influence d'agents physiques. Mais tous ces canaux partagent la propriété de passivité : ouverts, ils laissent passer les molécules dans le sens du gradient de concentration.

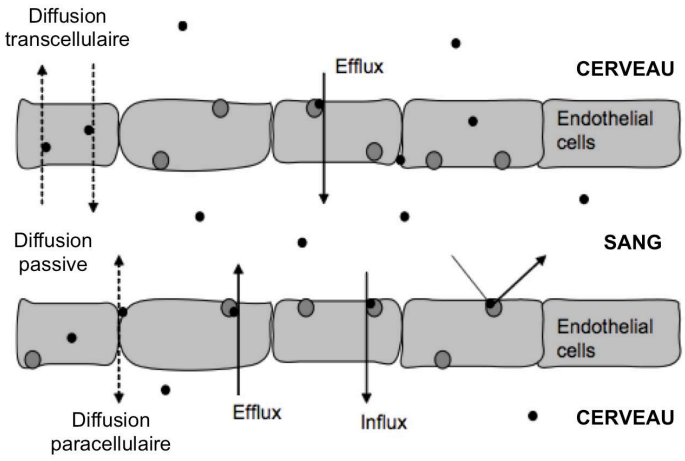


Figure 5. Mécanismes de transport sur la BHE. Les flèches en trait pointillé représentent des mécanismes de diffusion passive. Les flèches en trait plein représentent les mécanismes actifs d'influx et d'efflux.

- *Diffusion facilitée*

Des molécules indispensables sur le plan métabolique telles que le glucose et certains acides aminés ne peuvent pas passer par un canal en raison notamment de leur poids moléculaire. Il existe des transporteurs membranaires pour chaque molécule nécessaire au métabolisme cérébral. Les transporteurs des faces opposées d'une cellule sont généralement les même et les solutés ne se déplacent pas contre un gradient de concentration. Les protéines membranaires de transport peuvent fonctionner comme uniport (une molécule à la fois), comme symport (deux molécules ou plus dans le même sens) ou comme antiport (deux molécules ou plus en sens contraires) (Smith 2003). Le transport du glucose, substrat énergétique essentiel du cerveau, est réalisé par les transporteurs stéréospécifiques GLUT-1. Leur activité permet le passage de deux à trois fois plus de molécules que la quantité métabolisée.

- *Transport vésiculaire*

Les grosses molécules ou les complexes moléculaires (protéines, protéoglycanes) qui ne peuvent pas utiliser de protéine membranaire de transport sont incorporées dans la cellule endothéliale par endocytose : la bicouche lipidique cellulaire se déforme autour de la molécule à incorporer, puis se soude, et la membrane recouvre son intégrité, tandis que l'objet est enfermé dans une vésicule. La vésicule peut traverser la cellule et s'ouvrir sur la face opposée par un mécanisme inverse, et libérer son contenu.

  - *Transcytose par récepteur*

Des récepteurs membranaires sur la face luminale des cellules endothéliales cérébrales lient spécifiquement une molécule visée et le transport s'effectue par une vésicule de transcytose vers la face basale (vers le parenchyme cérébral). C'est le cas de grosses molécules comme la lipoprotéine de basse densité (LDL), l'insuline, et d'autres hormones peptidiques (Ohtsuki 2004). Ce processus de transport permet également la migration et le transport de certaines cellules tels que les lymphocytes (Weiss et al. 2009a).

- *Transcytose par adsorption*

La sélection de la molécule à transporter se fait par la charge et concerne les molécules chargées positivement (les cations), d'où la dénomination de « transport cationique ». Elle permet un plus grand débit que la transcytose par récepteur.

Transport actif physiologique

Certaines substances doivent être transportées contre le gradient de concentration. Ceci n'est possible qu'en échange d'une consommation d'énergie pour actionner des systèmes de transport actif ou « pompes ». Le transport de molécules depuis le sang vers le cerveau est nommé « influx », et en sens inverse « efflux » (Suzuki et al. 1997; Golden et al. 2003). Ces systèmes de transport actif sont spécifiques d'un ou plusieurs substrats (molécules en solution) à transporter, qui peuvent d'ailleurs entrer en compétition pour leur transport. Les transporteurs sont saturables et peuvent être inhibés. Certains de ces transporteurs sont très spécifiques et identifient les molécules par leur structure. Ils distinguent les formes énantiomères gauche et droite. Par exemple, la D-asparagine, un acide aminé nécessaire pour la synthèse de certaines hormones, bénéficie d'un transporteur actif d'influx. En revanche, la L-asparagine, un acide aminé stimulant dont l'accumulation dans le cerveau serait nocive, est éliminée par un transport actif d'efflux. Les transporteurs actifs d'efflux sont souvent peu spécifiques, leur rôle étant d'éliminer des déchets de nature parfois imprévisible. Tous les types de transporteurs actifs n'ont pas encore été clairement identifiés.

Transport des médicaments

Plusieurs paramètres entrent en compte pour la distribution des médicaments de part et d'autre de chacune des barrières. Comme pour les molécules physiologiques, il existe des mécanismes de transport passif et de transport actif.

- *Transport passif des médicaments*

C'est le principal mode de transport permettant le passage des médicaments du sang vers le cerveau. Les modes de transports facilités ou actifs sont souvent trop spécifiques pour favoriser l'entrée d'un médicament dans le parenchyme cérébral.

  - *Facteurs anatomiques et physiologiques*

Le débit sanguin cérébral (0,5 mL/g/min) est très supérieur au débit sanguin d'autres tissus (dix fois supérieur à celui des muscles). La diffusion à travers la BHE non altérée dépend de façon proportionnelle de la surface d'échange capillaire et d'un coefficient de perméabilité, et de façon inversement proportionnelle au débit sanguin cérébral. Les modifications de la perméabilité de la BHE (méningite, inflammation, maladie d'Alzheimer, tumeur) favorisent la diffusion intracérébrale de certains médicaments (Weiss et al. 2009b; Blakeley et al. 2009).

  - *Facteurs physicochimiques*

Ils conditionnent le passage des barrières selon la concentration plasmatique d'une substance et ses caractéristiques propres. Il s'agit des paramètres de la loi de diffusion de Fick (poids moléculaire, ionisation, liposolubilité, liaison aux protéines plasmatiques).

    - *Poids moléculaire*

La diffusion d'une molécule à travers une membrane ou dans un liquide tel que le LCR dépend de l'inverse de la racine carrée de la masse moléculaire (Bradbury 1985; Sakka et al. 2011). La masse moléculaire critique (*cut-off*) semble se situer autour de 5000 Da pour la BHL alors qu'elle serait plus faible pour la BHE. Bien que la pénétration dans le LCR de molécules hydrophiles de haut poids moléculaire soit faible (on y trouve quand même des protéines), il n'y a pas de seuil absolu de poids moléculaire connu. Les plus grosses molécules présentes dans le LCR normal sont les IgM à 1/1 000 de leur concentration plasmatique. L'encombrement stérique et le rayon moléculaire, tout comme la liposolubilité doivent également être pris en compte.

- *Ionisation*

Une résistance électrique élevée s'oppose à la diffusion à travers les barrières des substances polaires, fortement ionisées. Cette résistance est mesurée pour les capillaires de la BHE entre 1000 et 2000 ohms.cm^2, par rapport à la résistance électrique dans capillaires périphériques qui est généralement à 10 ohms.cm^2. Cette résistance électrique élevée dans les capillaires du cerveau est due aux différences dans la composition des protéines de liaison intercellulaires, et notamment la forte expression d'occludines (Ramirez et al. 2013). Les molécules non ionisées (électriquement neutres) pénètrent plus facilement à travers les membranes lipidiques. Pour les molécules dont les formes ionisée et non ionisée sont en équilibre (c'est le cas des antibiotiques), la diffusion dans le système nerveux central est dépendante du pH du milieu et du pKa de la molécule en fonction de l'équation de Henderson-Hasselbach. Les molécules acides faibles (pKa<7) sont majoritairement ionisées au pH plasmatique physiologique (7,4) (***tableau 2***). Le pH sanguin des sujets sains (7,4) est plus élevé que celui du LCR (7,3) qui peut descendre jusqu'à 7,0 lors d'une méningite bactérienne. Pour des antibiotiques acides faibles tels que les pénicillines et les céphalosporines, la fraction de médicament non ionisée est alors plus élevée dans le LCR que dans le plasma. Cela implique théoriquement que les bêta-lactamines diffusent plus facilement depuis le compartiment cérébral vers le sang que l'inverse (Nau et al. 2010).

Tableau 2. Classification des principaux antibiotiques selon le pKa.

Acide faible	**Base faible**
Penicillines (2,5 à 7,0)	Macrolides (8,0 à 9,0)
Cephalosporines (2,5 à 4,0)	Aminosides (7,2)
Tetracyclines (3,3 à 7,3)	Trimethoprime (6,4)
Rifampicine (1,7)	
Fluoroquinolones (6,0 à 7,0)	
Sulfamethoxazole (5,6)	
Metronidazole (2,7)	

- *Liposolubilité*

La pénétration à travers la BHE dépend proportionnellement de la liposolubilité des molécules, estimée par le coefficient de partage octanol/eau ou Log P. Le Log P est d'autant plus élevé que la substance est liposoluble (Nau et al. 1994). En simplifiant, on peut considéré que l'ensemble du système nerveux central est entouré par une double couche lipidique représentée par les membranes cellulaires (endothéliale ou épithéliale) liées par des jonctions serrées. La liposolubilité d'une molécule détermine sa capacité à pénétrer les membranes. Pour les céphalosporines, une relation significative a été démontrée entre la liposolubilité et la diffusion à travers la BHE chez le rat. Il faut noter que les molécules très liposolubles ayant tendance à être fortement liées aux protéines et à se fixer aux membranes lipidiques, le coefficient de partage octanol/eau idéal au pH 7,4 pour la diffusion du plasma vers le LCR est d'environ 1 à 10, correspondant à un log P de 0 à 1.

- *Liaison aux protéines plasmatiques*

Dans la circulation systémique, les médicaments tels que les antibiotiques peuvent se lier à des protéines plasmatiques. Parmi les nombreuses protéines plasmatiques, celles qui sont impliquées dans la fixation des médicaments sont l'albumine, l'α1-glycoprotéine acide et les lipoprotéines. Les médicaments neutres ou acides sont habituellement liés à l'albumine, tandis que les médicaments basiques sont liés à l'α1-glycoprotéine acide et aux lipoprotéines. Deux formes d'un médicament et notamment des antibiotiques, existent en équilibre (association-dissociation) dans le plasma dans des proportions variables : une forme libre de toute liaison protéique et une forme liée aux protéines plasmatiques (***tableau 3***).

Tableau 3. Classification des antibiotiques en fonction de la liaison aux proteines plasmatiques.

Liaison forte (80-100%)	Liaison moyenne (50-80%)	Liaison faible (<50%)
Penicilline V	*Penicilline*	*Ampicilline*
Oxacilline	*Céphalotine*	*Amoxicilline*
Cloxacilline	*Céfapirine*	*Méticilline*
Ceftriaxone	*Céfamandole*	*Céfotaxime*
Céfazoline	*Minocycline*	*Céfaléxine*
Doxycilline	*Trimethoprime*	*Aminosides*
Erythromycine		*Colistine*
Lincomycine		*Vancomycine*
		Métronidazole

Les médicaments liés aux protéines ne peuvent pas traverser la BHE ou la BHL. Seule la fraction libre est diffusible à travers les barrières et les concentrations plasmatiques de cette forme libre déterminent en partie la vitesse et la quantité d'un médicament susceptible de traverser la BHE ou la BHL et de se retrouver dans le parenchyme cérébral ou le LCR. Dans une étude chez l'homme, la pénétration dans le LCR de la ceftriaxone (liaison aux protéines plasmatiques, 90 à 95%) estimée par le rapport des surfaces sous-courbes (SSC) SSC_{LCR}/ SSC_{plasma} était 10 fois plus faible que celui du céfotaxime (liaison aux protéines plasmatiques inférieure à 40%) (Nau et al. 1993). Cependant, le taux fixation protéique n'est pas suffisant pour prédire la distribution des médicaments dans le cerveau ou le LCR. L'association et la dissociation des médicaments aux protéines plasmatiques sont des processus dynamiques, des informations sur la cinétique de liaison aux protéines plasmatiques sont également utiles pour prédire la vitesse et l'ampleur de la distribution des médicaments dans le cerveau ou le LCR.

- *Transport actif des médicaments*

Le transport actif des médicaments concerne essentiellement les mécanismes d'efflux. Les médicaments pénètrent dans le cerveau essentiellement par la diffusion transcellulaire passive. Cependant, grâce aux transporteurs actifs d'efflux tels que les transporteurs ATP-binding casette (ABC), la BHE est capable de diminuer la concentration (et donc la distribution) dans le cerveau de molécules pharmacologiquement actives ou toxiques. Seuls l'existence et les fonctions de quelques transporteurs sur le pôle luminal ou le pôle basal des cellules endothéliales cérébrales (***figure 6***) et des cellules endothéliales des plexus choroïdes ont été démontrées (Westerhout et al. 2011; Li et al. 2013).

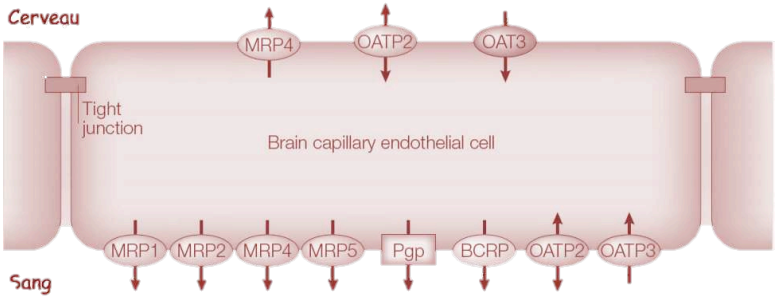


Figure 6. Principaux transporteurs actifs présents sur la BHE (Löscher et al. 2005).

- *Transporteurs ABC*

Les transporteurs ABC constituent une famille de protéines impliquées dans le transport de différentes molécules endogènes ou de xénobiotiques et comportent plusieurs domaines transmembranaires. Les gènes codant pour les transporteurs ABC sont regroupés en sous-familles selon l'organisation de leurs domaines. Chez l'homme, sept sous-familles ont été identifiées (ABCA à ABCG). Selon le transporteur, ils possèdent un (ABCG2), deux (ABCB1, ABCC4, ABCC5) ou trois (ABCC1, ABCC2, ABCC3) domaines transmembranaires (***figure 7***). Ils présentent également un ou deux sites intracellulaires de liaison à l'ATP, dont ils utilisent l'énergie par l'hydrolyse pour fonctionner. Ils agissent ainsi comme des transporteurs actifs s'opposant au gradient de concentration et permettant

l'efflux de leurs substrats hors de la cellule, ce qui a pour conséquence une diminution de la concentration intracellulaire (De Lange 2004; Jones et al. 2004).

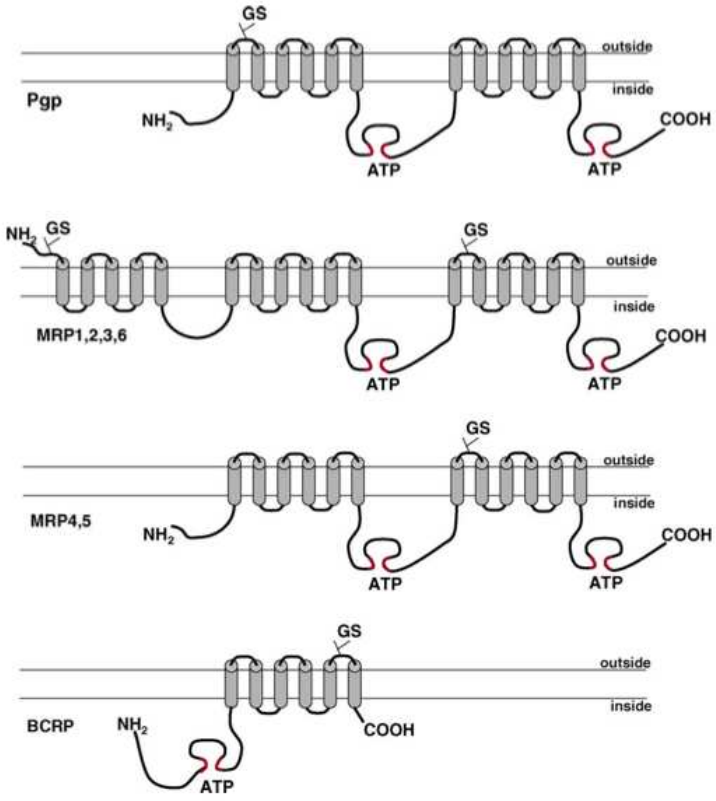


Figure 7. Schéma des transporteurs ABC (P-gp, MRP, BCRP).

Parmi les transporteurs ABC, la P-glycoprotéine (P-gp/ABCB1/MDR1) a été le premier décrit, suivi par les MRP (Multidrug-resistance Associated Protein, ABCC) et plus récemment BCRP (Breast Cancer Resistance Protein, ABCG2). Tous sont exprimés par les cellules endothéliales de la BHE et/ou de l'épithélium choroïde de la BHL, et leurs activités se combinent pour réduire la pénétration dans le cerveau de nombreux médicaments. Ce phénomène de « multirésistance » aux médicaments est un obstacle majeur lorsqu'il s'agit d'atteindre une cible thérapeutique cérébrale. L'élaboration de stratégies permettant d'agir sur les transporteurs ABC est un enjeu essentiel lors de la conception et le développement de médicaments susceptibles d'être les substrats (***tableau 4***) de ces transporteurs (Graff et al. 2004).

Tableau 4. Transporteurs présents sur la BHE (*) et la BHL (†) et leurs principaux substrats connus.

P-gp *†	MRP *†	OAT-3 *†	PEPT-2 †
Ivermectine	Pénicillines	Pénicilline G	Tripeptides
Digoxine	Etoposide	Cimetidine	Ac. Aminolevulinique
Loperamide	Céphalosporines	Riboflavine	Dipeptides
Vinblastine		Céphalothine	Céfadroxil
Morphine			Carnosine
Ciclosporine			
Pénicilline			

- *Glycoprotéine P (P-gp ou ABCB1)*

La glycoprotéine P (P-gp) est une glycoprotéine phosphorylée découverte il y a 30 ans sur des lignées de cellules tumorales multirésistantes aux cytotoxiques (Deeken et al. 2007). Le gène MDR1 codant pour cette protéine a été découvert dix ans plus tard (Germann et al. 1993). La P-gp nommée ABCB1 dans la superfamille des transporteurs ABC, est une glycoprotéine de 170 kDa. Elle est constituée de deux sous-unités avec 12 domaines transmembranaires et deux sites de liaison à l'ATP. Chez l'homme les gènes MDR1 et MDR2 sur le chromosome 7 codent pour les deux types de la P-gp. Sa découverte avait permis de caractériser un phénotype particulier de cellules cancéreuses et tumorales impliquant une chimiorésistante multiple faisant suspecter une action de type efflux. La P-gp est exprimée dans de nombreux tissus, notamment le tractus gastro-intestinal, le foie, et les reins. Elle est impliquée dans l'absorption et l'excrétion par le tractus gastro-intestinal des nutriments et de substrats endogènes telles que certaines hormones. La P-gp a plusieurs centaines de substrats endogènes et exogènes. Beaucoup de médicaments substrats de l'isoenzyme CYP 3A4 du

cytochrome P450 sont aussi des substrats de la P-gp. La découverte de sa présence sur la BHE a notamment contribué à la compréhension de la pénétration des médicaments dans le cerveau (Schinkel 1999; Ohe et al. 2003; Lin 2004). L'isotype P-gp MDR1 se trouve principalement dans les épithéliums de l'intestin, des reins, du pancréas, des glandes surrénales, et dans l'endothélium de l'endocol utérin, des glomérules rénaux, du cortex ovarien, de la prostate, de la rate, des testicules et de la BHE. Chez le rongeur, il existe trois gènes codant pour la mdr1a, mdr1b, et mdr2 (Schinkel et al. 1995). Les P-gp codées par mdr1a et mdr1b remplissent les mêmes fonctions que celle codée par MDR1 chez l'homme. Les P-gp codées par MDR2 chez l'homme et mdr2 chez la souris, ne semblent pas jouer un rôle majeur dans le transport des médicaments. Elles sont exprimées dans le foie et seraient impliquées dans le transport des phospholipides à travers les membranes canalaires des hépatocytes vers dans la bile (Elferink et al. 1995). La P-gp (MDR1 et mdr1a/b) se situe sur le pôle luminal des cellules endothéliales cérébrales (face sang). Normalement la P-gp mdr1b n'est pas détectable *in vivo* à l'échelle de la BHE (Schinkel et al. 1995). Toutefois, dans des cultures cellulaires, l'expression de la P-gp mdr1b a été démontrée, ce qui indique que l'évolution des circonstances induites par les conditions de culture peut induire son expression. Elle fonctionne comme une pompe d'efflux pour plusieurs médicaments de poids moléculaire de 300 à 4000 Da, en particulier les antibiotiques (β-lactamines) et les médicaments cytostatiques (anthracyclines, taxanes, épipodophyllotoxines et vincalcaloïdes). D'autres médicaments sont des substrats de la P-gp : l'ivermectine, la digoxine, la ciclosporine A, la dexaméthasone, la dompéridone, l'ondansétron et le lopéramide (Schinkel et al. 1991; Kodaira et al. 2011). Chez des souris knock-out mdr1a (-/-) n'exprimant pas la P-gp, il a été montré que les concentrations cérébrales d'ivermectine étaient quatre-vingt-dix fois supérieures par rapport à des souris témoins (Schinkel et al. 1995). Le fonctionnement de la P-gp peut être inhibé par le vérapamil, la ciclosporine A et le probénécide (Schinkel et al. 1991). Ainsi, il a été démontré que la pénicilline était un substrat de la P-gp présente sur la BHE en administrant à des rats, soit de la pénicilline, soit de la pénicilline et du probénécide. Les concentrations dans le LCR étaient alors augmentées dans ce dernier cas (Dacey et al. 1974). La P-gp est présente à la surface de l'épithélium du plexus choroïde, site de la barrière hémato-liquidienne (Ohe et al. 2003). Cependant, la localisation et l'orientation de la P-gp sur la membrane apicale des cellules épendymaires du plexus choroïde font que les substrats de la P-gp sont transportés du sang vers le LCR (Rao et al. 1999). Cela explique qu'il est peu

probable que la diffusion des substrats de la P-gp (par exemple les bêta-lactamines) dans le LCR soit le reflet que de ce qui se passe à travers la BHE et donc la distribution cérébrale.

- *Multidrug-Resistance associated Protein (MRP ou ABCC1-8)*

La MRP est une protéine phosphorylée et glycosylée de 190 kDa codée par le gène MRP sur le chromosome 16 (Wijnholds et al. 2000), pourvue d'une activité d'efflux ATP dépendante. Il existe deux structures de MRP, l'une avec 17 segments transmembranaires (MRP1, 2, 3, 6) et l'autre avec 12 segments transmembranaires (MRP4, 5, 7,8). Les MRP présentent une part de similarité structurelle avec la P-gp (15%) expliquant que certains substrats de la P-gp soient aussi des substrats de la MRP. Comme la P-gp, on retrouve les MRP2 et MRP4 sur la face luminale (vers le sang) des cellules endothéliales de la BHE mais aussi sur la face basale (vers le cerveau). La MRP4 se retrouve également sur la face basale (vers le sang) des cellules épithéliales des plexus choroïdes. Les bêta-lactamines sont des substrats connus de la MRP4. Les céphalosporines ont une grande affinité *in vitro* pour MRP4 (dont la ceftriaxone présentant une des plus grande affinité) (Akanuma et al. 2011).

- *Breast Cancer Resistance Protein (BCRP ou ABCG2)*

La BCRP a été découverte récemment sur des cellules de carcinome mammaire humain multi-résistant à la chimiothérapie anti-cancéreuse (Kusuhara et al. 2005; Chen et al. 2000). Cette protéine de 73kDa est codée par le gène MXR (mitoxantrone resistance-assiociated gene) qui est localisé sur le chromosome 4. Dans les tissus normaux, le transporteur BCRP est fortement exprimé au niveau du placenta, du cœur, les ovaires et le rein. L'expression de BCRP est particulièrement élevée dans les cellules tumorales de sein, de colon, de l'estomac. On retrouve BRCP sur la face luminale des cellules endothéliales de la BHE (Yasuda et al. 2013; Poller et al. 2010) mais pas sur les cellules épithéliales des plexus choroïdes. Les fluoroquinolones sont des substrats du transporteur BRCP (Alvarez et al. 2008).

- *Transporteurs organiques d'anions et de cations (OAT - OCT)*

L'OAT est le transporteur le plus récemment découvert sur l'endothélium cérébral de la BHE. Contrairement aux transporteurs ABC tels que la P-gp qui utilisent l'ATP pour le transport actif, les OAT utilisent le gradient de concentration des substances pour le transport facilité entre le sang et le cerveau ou dans le sens inverse. Ainsi, le transport du médicament dans et

hors du cerveau dépendra du degré d'ionisation ou gradients de médicaments (Ohtsuki 2004; Wolman et al. 2013). La localisation exacte des transporteurs de la famille des OAT et OATP (organic anion-transporting polypetide) une autre sous-famille des transporteurs d'anions, n'a pas été complètement identifiée. Chez le rat, OATP2 se trouve sur les deux membranes apicale et basolatérale de l'endothélium cérébral (Kusuhara et al. 2004). Chez l'homme, OAT3 s'exprime sur la membrane basolatérale de l'endothélium cérébral. OATP-A est également exprimée par les cellules de l'endothélium cérébral. Le transporteur OCT2 est exprimé sur la face apicale des cellules du plexus choroïde. Il aurait un rôle similaire à la P-gp dans le plexus choroïde. OAT1 et OAT3 s'expriment également à la face apicale du plexus choroïde. Les pénicillines et les céphalosporines (notamment la cephalothine avec une forte affinité) sont des substrats de OAT3 (Suzuki et al. 1987).

- *Transporteurs d'oligopeptides (TOP)*

Les transporteurs d'oligopeptides sont une famille de protéines membranaires qui transportent une variété de dipeptides et tripeptides. Toutes les isoformes de TOP utilisent un gradient de protons pour le co-transport de substrats. Quatre TOP ont été identifiés chez l'homme (PEPT1, PEPT2, PHT1 et PHT2) de taille variant de 572 à 729 acides aminés. Ces TOP chez l'homme montrent 80 à 90% d'homologie avec des TOP chez le rat. Les TOP peuvent être divisés en deux sous-groupes en fonction de leur capacité à transporter la L-histidine (PHT1 et PHT2). Les études à partir de tissus isolés et de cultures primaires de cellules épithéliales du plexus choroïde ont montré que les neuropeptides tels que la carnosine sont transportés par PEPT2 (Teuscher et al. 2004). Le transporteur PEPT2 est présent sur la face apicale de l'épithélium choroïdien, en contact avec le LCR (Shen et al. 2007). Il fonctionne comme une pompe d'efflux pour l'élimination des peptides endogènes ou exogènes. En revanche, PEPT2 n'est pas exprimé sur les cellules endothéliales de la BHE chez le rat (Berger et al. 1999). Les céphalosporines seraient un substrat de PEPT2. Une étude *in vitro* montre que le céfadroxil est capté préférentiellement à la face apicale des cellules de l'épithélium du plexus choroïde (Teuscher et al. 2004). PEPT2 agit dans un seul sens, du LCR vers la cellule épithéliale. La diffusion passive ou un co-transport inconnu sont ensuite à l'origine du transfert du médicament de la cellule épithéliale vers la circulation sanguine.

Un récapitulatif des différents transporteurs de la BHE et de la BHL connus ou présumés est présenté sur la ***figure 8***, issue d'une synthèse par l'équipe de E. de Lange (Université de Leiden, Pays-Bas) des différents travaux existants.

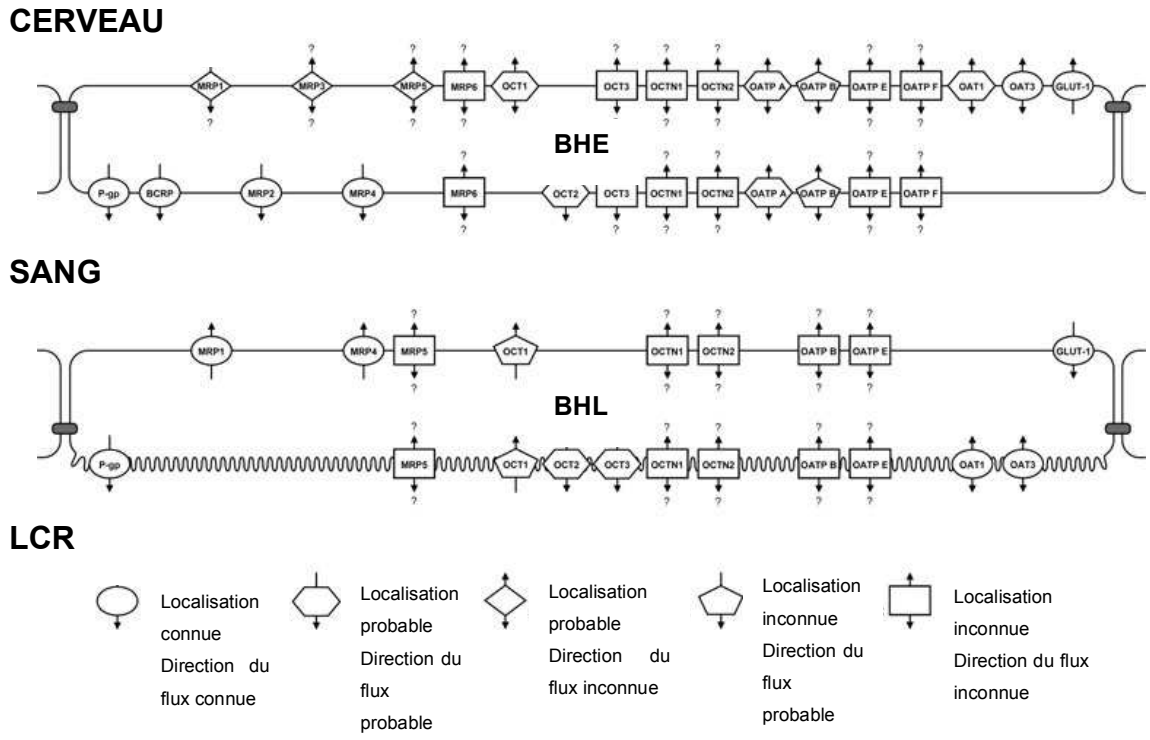


Figure 8. Localisation des différentes protéines de transport actif sur la BHE et la BHL (Westerhout et al. 2011).

Métabolisme et dégradation enzymatique

Plusieurs enzymes métabolisant les médicaments, tels que les cytochromes P450, la monoamine-oxydase, et l'UDP-glucuronyl transférase, ont été trouvés dans différents sites extracellulaires et intracellulaire cérébraux (Weiss et al. 2009a). Les activités de ces enzymes semblent être très élevé dans les capillaires cérébraux et l'épithélium des plexus choroïdes par rapport aux cellules du parenchyme cortical. Ainsi, la BHE et la BHL semblent former une barrière enzymatique susceptible de limiter l'exposition cérébrale aux xénobiotiques. Le métabolisme pourrait conduire à la dégradation des molécules et/ou de pro-médicaments en métabolites pharmacologiquement actifs.

Modifications physiopathologiques des barrières

- *Infection et inflammation*

Les mécanismes d'augmentation de la perméabilité de la BHE liés à l'inflammation sont exposés dans une revue de la littérature (Vries et al. 1997). Une méningite bactérienne augmente sensiblement la perméabilité de la BHE à des substances diverses. Dans un modèle de méningite expérimentale chez le rat, après injection intracisternale d'un inoculum bactérien, une augmentation significative de la formation de vésicules de pinocytose et une dislocation complète de 15% à 17% des jonctions serrées intercellulaires a été observée (Quagliarello et al. 1986). Ces modifications morphologiques ne sont pas directement causées par les micro-organismes, mais sont le résultat de la réponse inflammatoire de l'hôte, médiée par des cytokines, les éicosanoïdes (métabolites de l'acide arachidonique), les radicaux libres et l'oxyde nitrique. Les composants bactériens principalement responsables de l'inflammation sont le lipopolysaccharide (bactérie à Gram négatif), l'acide teichoïque (bactérie à Gram positif), et le peptidoglycane (bactérie à Gram positif et Gram négatif) (Quagliarello et al. 1986; Tunkel et al. 1991). Chez des patients de réanimation atteints ou non de méningite, l'administration de vancomycine (bolus de 15 mg/kg puis 60 mg/h) conduisait à des concentrations plus élevée dans le LCR lorsque ces patients avaient une méningite (ratio plasma/LCR de 48% contre 18%) (Albanèse et al. 2000). Par ailleurs, l'augmentation de la viscosité du LCR (par l'accumulation de protéine de l'inflammation) diminuant la résorption de LCR et l'inhibition de l'activité de la P-gp par les cytokines pro-inflammatoires peuvent conduire à une augmentation des concentrations de médicaments dans le LCR ou le LEC, y compris pour ceux qui diffusent peu en l'absence d'inflammation méningée (Hue et al. 2013; Kim et al. 1997). Dans ces conditions d'altération sévère de la BHE, les propriétés physico-chimiques des médicaments sont des facteurs peu déterminant de leur diffusion tissulaire. L'utilisation de médicaments anti-inflammatoires tels que les corticostéroïdes pourraient restaurer l'étanchéité de la BHE et donc contribuer à diminuer les concentrations efficaces d'antibiotique (Blecharz et al. 2010). Cependant il existe une confusion car la plupart des études s'étant intéressées à ces phénomènes reposent sur des dosages des médicaments dans le LCR en faisant l'hypothèse que c'est la perméabilité BHE qui est altérée.

- *Traumatisme crânien et ischémie cérébrale*

Chez le patient victime d'un traumatisme crânien, l'œdème cérébral est un reflet macroscopique d'une altération localisée (liée au traumatisme) puis généralisée (liée à l'inflammation) de la BHE. L'augmentation de la perméabilité capillaire par détérioration des jonctions serrées et de la lame basale, la surexpression d'aquaporines ou l'expression d'aquaporines non présentes en situation physiologique et la sensibilité accrue aux cytokines de l'inflammation, contribuent à augmenter la perméabilité de la BHE (Fukuda et al. 2012). Par ailleurs, lorsque l'ischémie cérébrale se constitue secondairement chez un patient traumatisé crânien ou après un accident vasculaire cérébral, l'activation des metalloprotéases et la libération de radicaux libre (O^- et NO) conduisent à l'amplification de la détérioration de la lame basale et des jonctions serrées endothéliales (Vandenbroucke et al. 2012; Hue et al. 2013).

- *Rupture pharmacologique de la BHE*

L'utilisation de solutés hyperosmotiques (osmothérapie) est courante en réanimation neurochirugicale pour le traitement de l'hypertension intracrânienne. Lors de la perfusion d'une solution à 20% de mannitol, l'effet du choc osmotique sur la BHE provoque une diminution non sélective (y compris pour des cellules tumorale) et réversible de la fonctionnalité des jonction serrées avec pour conséquence une augmentation de la perméabilité (Chi et al. 2008). Ces propriétés pourraient être utiles pour augmenter la concentration de médicament dans le parenchyme cérébral.

Conclusion

La diffusion des antibiotiques dans le système nerveux central est limitée par les mécanismes de protection naturelle, constitués par les jonctions serrées des BHE et BHL. Ces barrières sont des barrières anatomiques mais également des barrières dynamiques exprimant des transporteurs actifs responsables de phénomènes d'efflux. Même s'ils sont de mieux en mieux connus, l'application des technologies de protéomique permettra certainement la description plus précise des différents profils d'expression des transporteurs dans le plexus choroïde et la BHE (Maurer 2010). Certains antibiotiques utilisés pour le traitement des infections du système nerveux central, notamment les céphalosporines, sont les substrats de transporteurs d'efflux. Ces processus d'efflux diminueraient les concentrations au site de l'infection. Cependant, la plupart des études disponibles ont été réalisées *in vitro* ou chez l'animal. Peu d'études chez l'homme mettent en évidence ces problèmes de distribution partielle des antibiotiques dans le LEC cérébral ou le LCR. Il est intéressant d'obtenir des données de pharmacocinétique tissulaire pour optimiser les posologies des traitements afin d'obtenir une efficacité maximale avec le moins d'effets secondaires. Notre travail présentera des données chez des patients de neuroréanimation pour lesquels les propriétés de la BHE et de la BHL n'étaient cependant pas altérées par une infection.

2 Le céfotaxime et le métronidazole

Le choix pour ce travail s'est porté deux antibiotiques couramment utilisés en réanimation pour le traitement de pneumopathies et donc l'usage est recommandé pour le traitement d'infections du système nerveux central. Ces médicaments ont des caractéristiques physicochimiques proches mais le céfotaxime est le substrat de transporteurs d'efflux sur la BHE et la BHL alors que la distribution du métronidazole n'est gouvernée que par des mécanismes passifs.

Indications des deux antibiotiques en neuroréanimation

Une infection du système nerveux central peut survenir après contage infectieux, un traumatisme crânien ou une intervention de neurochirurgie. Le système nerveux central est protégé contre les infections bactériennes par la BHE, la BHL et par une barrière anatomique externe qui est formée de la boîte crânienne et des méninges. Les agents pathogènes peuvent pénétrer dans le système nerveux central directement à travers la barrière externe lors d'un traumatisme par exemple ou par voie hématogène lors d'une rupture physiopathologique de la barrière hémato-encéphalique (Brouwer et al. 2010; Kourbeti et al. 2012). Les infections du système nerveux ne sont pas fréquentes mais sont toujours graves, posant des problèmes de diagnostic et de traitement, nécessitant dans certains cas l'admission en service de réanimation. Lorsqu'elles surviennent dans un contexte postopératoire ou nosocomial, elles

sont responsables d'un allongement des durées d'hospitalisation et d'une morbi-mortalité accrue (Kourbeti et al. 2011). Leur traitement nécessite alors le recours à une antibiothérapie de longue durée, avec le risque de survenue d'effets indésirables.

Les infections bactériennes les plus fréquentes dans un contexte nécessitant une prise en charge en réanimation sont la méningite, la ventriculite, l'abcès et l'empyème cérébral.

Méningite

La méningite infectieuse est une inflammation des méninges, aiguë ou chronique, liée à une infection par une bactérie ou un virus présent dans le liquide céphalorachidien (LCR). Parmi les méningites bactériennes, on distingue les méningites communautaires et les méningites nosocomiales. L'étiologie de ces deux types de méningites diffère par les germes en cause et la physiopathologie de l'infection (Brouwer et al. 2010; van de Beek et al. 2004).

Les méningites communautaires aiguës sont liées dans 20 à 25% des cas à une infection bactérienne, le reste étant essentiellement représenté par les infections virales. Selon les données de l'Institut National de Veille Sanitaire, l'incidence des méningites bactériennes communautaires en 2006 était de 2,23 pour 100 000 habitants. Les principales bactéries responsables de méningites communautaires aiguës sont *Streptococcus pneumoniae* (46 %) et *Neisseria meningitidis* (32 %) avec une incidence respective de 0,81 et 0,55 pour 100 000 habitants (Anon 2009). On rencontre de façon moins fréquente des méningites à *Listeria monocytogenes*, *Haemophilus* spp. (rares depuis la vaccination systématique des enfants) et Streptocoques du groupe B. Les méningites tuberculeuses sont rares et se manifestent comme infection opportuniste chez des patients immunodéprimés. La mortalité à la phase aiguë est de 20 % chez l'adulte et 10 % chez l'enfant. Les séquelles ont une incidence élevée (30%). La survenue de signes de gravité tels que purpura (notamment en rapport avec une infection à méningocoque), trouble de conscience, convulsions, déficit neurologique focal ou choc septique, impose l'hospitalisation en réanimation. Le pronostic d'une méningite bactérienne est amélioré par la précocité du diagnostic clinique et de l'administration d'un traitement antibiotique adapté (van de Beek et al. 2004).

Les méningites nosocomiales sont le plus souvent postopératoires et représentent la moitié des infections après une intervention neurochirurgicale. Le taux de méningites bactériennes postopératoires varie de 0,5 à 3% selon les études (jusqu'à 10% lors d'une infection liée à un système de dérivation ventriculaire) (Beer et al. 2008; Charvet et al. 2009; van de Beek et al. 2010). Ce sont des complications rares mais toujours graves. Ces infections surviennent le plus souvent dans les dix premiers jours postopératoires. Les facteurs de risque sont essentiellement la fuite de LCR, les interventions répétées, les interventions en urgence (Korinek et al. 2008). Les bacilles à Gram négatif et les staphylocoques représentent la plupart des micro-organismes rencontrés dans les infections après neurochirurgie. Une méningite peut également être consécutive à un traumatisme crânien, à la mise en place d'une dérivation du LCR, et plus rarement à une ponction lombaire. Dans ce cas, les bactéries en cause sont alors les streptocoques de la sphère oro-pharyngée, le pneumocoque, les staphylocoques à coagulase négative et *Propionibacterium* spp. Une fuite externe de LCR (une brèche osteo-méningée en particulier) est un facteur de risque très important de méningite (Choi et al. 1996; Kourbeti et al. 2012). Une fuite de LCR doit donc être recherchée et traitée rapidement. Le tableau clinique des méningites nosocomiales est semblable à celui des méningites communautaires (céphalées, raideur de nuque, signes généraux d'infection, nausées, altération de la conscience) mais les circonstances (délai postopératoire, type de chirurgie, mise en place de matériel ou le traitement par corticoïdes) orientent le diagnostic. En outre, elles peuvent être plus difficiles à traiter car elles impliquent souvent des bactéries résistantes voire multi-résistantes aux antibiotiques (Krol et al. 2009; Ortiz et al. 2006; Weisfelt et al. 2007).

- *Examens complémentaires*

Les examens paracliniques sont essentiels pour confirmer le diagnostic clinique et orienter l'étiologie y compris le germe en cause des méningites communautaires ou des méningites nosocomiales. La ponction lombaire doit être réalisée en urgence sans retarder la mise en œuvre du traitement antibiotique. L'étude cytologique dans le sang et le LCR montre un nombre de leucocytes (présence d'au moins dix éléments dont 50% de polynucléaires neutrophiles) plus élevé en cas de méningites bactériennes. L'étude biochimique montre une glycorachie abaissée à moins de 0,5 g/L et une protéinorachie augmentée souvent à plus de 1 g/L. Dans les situations postopératoires ou après un traumatisme crânien récent, les produits

de la dégradation des hématies dans le LCR peuvent induire une inflammation méningée marquée. Si le LCR est hémorragique, on peut retenir un rapport leucocytes/globules rouges supérieur à 1/100 prédictif de méningite. L'analyse de la glycorachie n'est pas toujours discriminante même en cas d'hypoglycorachie marquée (Weisfelt et al. 2007). On peut observer une protéinorachie élevée (supérieure à 0,5 g/L) mais de façon non spécifique, en cas de méningite bactérienne.

L'étude microbiologique du LCR est d'abord réalisée par un examen direct à la recherche de bactéries par la coloration de Gram. En cas de positivité, un antibiogramme doit être réalisé. En cas de suspicion de *S. pneumoniae*, il est préconisé de réaliser des E-tests (technique quantitative de détermination de la sensibilité aux antibiotiques) pour le céfotaxime et la ceftriaxone (Anon 2009). La mise en culture du LCR reste un élément déterminant de la confirmation du diagnostic (Brouwer et al. 2010; Anon 2009). Elle confirme le diagnostic en identifiant formellement la bactérie en cause et permet la réalisation d'un antibiogramme complet. Les techniques d'amplification génique de l'ADN bactérien réalisées sur le LCR auraient une bonne valeur diagnostique et permettraient d'affirmer le diagnostic de méningite bactérienne en moins de six heures (van de Beek et al. 2004).

Ventriculite et infections liées au drainage ventriculaire

Une ventriculite est l'inflammation de l'épithélium épendymaire des ventricules. Elle peut être ou non associée à une méningite ou à un abcès lorsqu'elle survient de façon spontanée ou « communautaire ». Une ventriculite (en association à une méningite) est plus fréquente dans un contexte nosocomial, dans le cadre d'une infection liée à une dérivation interne ou externe du LCR ou après la réalisation d'une ventriculostomie pour traiter une hydrocéphalie et plus rarement après l'introduction d'un capteur de pression intracrânienne. Le matériel de dérivation du LCR peut être interne (dérivation entre les ventricules et le péritoine ou l'oreillette droite) mais en dans certaines situations d'urgence, elle peut être externe (dérivation ventriculaire externe). L'incidence des infections sur du matériel de dérivation du LCR varie de 2 à 33% en fonction du type de drainage interne ou externe (Beer et al. 2008; Arabi et al. 2005; Hoefnagel et al. 2008). Les facteurs favorisant la survenue d'une

ventriculite dans ce contexte sont liés à la pathologie initiale (hémorragie ventriculaire, traumatisme crânien et lésions cutanées, craniotomie), l'infection préalable d'une dérivation replacée, l'immunodepression, la fuite de LCR, aux conditions de pose et de manipulation du dispositif, au déconnexion accidentelles et au type de matériel (externe ou interne) (Korinek et al. 2008). La contamination se fait surtout par voie cutanée, soit à partir du site opératoire, soit par le dispositif. L'infection est alors précoce (pic dans entre les 7 et 10^{e} jours) et causée par *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis ou Enterococcus faecalis* (Korinek et al. 2005). Dans le cas de dérivations internes ventriculo-peritonéales, l'extrémité distale du cathéter de drainage peut être colonisée par des entérobactéries (bacilles à Gram négatif) et l'infection ventriculaire ou méningée se déclarer de manière retardée. Enfin, une dernière possibilité de colonisation et d'infection du matériel de dérivation possible est la voie hématogène à partir de foyer infectieux à distance (par exemple un abcès dentaire, une infection rénale). Les micro-organisme en cause sont des espèces plus rarement isolées : *Streptococcus viridans, Escherichia coli* (Bota et al. 2005).

Les signes cliniques d'infection liée à une dérivation ventriculaire interne, externe ou à une ventriculostomie ne sont pas spécifiques et toute fièvre associée ou non à un syndrome méningé, tout dysfonctionnement du système de drainage doit inciter à l'étude microbiologique du LCR. Le diagnostic est très probable lorsqu'une même bactérie est identifiée sur deux cultures du LCR à quelques jours d'intervalle. L'hyperleucocytose, la protéinorachie augmentée et l'hypoglycorachie franche, sont des arguments en faveur de l'infection. L'imagerie est contributive si l'infection est responsable d'une ventriculite, notamment la tomodensitométrie avec injection de produit de contraste iodé qui montre une hyperdensité de l'épithélium ventriculaire.

Abcès cérébraux et empyèmes

Un abcès cérébral est une collection suppurée liée à une infection bactérienne dans le parenchyme cérébral. Un empyème est une collection suppurée qui se développe soit dans l'espace sous-dural soit dans l'espace extradural. Ces processus infectieux sont rares, avec une incidence de 0,5 à 2/100 000, ils affectent surtout les individus de sexe masculin entre 40 et

50 ans (Bernardini 2004). L'incidence actuellement en augmentation est liée à la fréquence de survenue chez l'immunodéprimé notamment pour les abcès liés à des germes opportunistes. Après une intervention de neurochirurgie un abcès ou un empyème est rare (probablement moins de 2/100 000 mais il existe peu de données précises). La morbidité (8 à 36%) et la mortalité (10 à 26%) sont très élevées (Mathisen et al. 1997). La cause la plus fréquente d'abcès et d'empyème cérébral est la présence d'une suppuration de contiguïté (otite, sinusite, foyer d'infection dentaire) dont le traitement réduit le risque d'abcès cérébral. Le développement d'un abcès ou d'un empyème cérébral peut aussi être lié à un foyer de suppuration post-opératoire, à la dissémination hématogène à partir d'une infection à distance (pulmonaire en particulier), à une brèche traumatique ou chirurgicale de la dure-mère, à un terrain d'immunosuppression sous-jacent (infection opportuniste, médicament immunosuppresseur, corticoïdes), et enfin à l'absence de circonstances particulières (Kielian 2004; Roche et al. 2003).

La symptomatologie clinique est variable, mais souvent peu évocatrice au début de l'infection. L'évolution est parfois très lente. Les signes les plus fréquents sont la céphalée de type migraineuse, souvent réfractaire aux traitements antalgiques habituels. Dans une grande proportion (50 à 80%) des cas il existe des signes neurologiques liés à la localisation du processus: déficit sensitivomoteur, aphasie, troubles de l'équilibre, déficit visuel. Il peut y avoir des signes associés qui témoignent de l'hypertension intracrânienne et/ou de crises comitiales, ce sont les nausées, les vomissements et les altérations de la conscience ou de la vigilance. Seule la moitié des patients sont fébriles et moins de 20% ont un syndrome méningé. Enfin, une évolution brutale et souvent fatale vers la rupture de l'abcès dans les ventricules peut se rencontrer (Bernardini 2004).

- *Examens paracliniques*

Les examens biologiques sont peu ou pas contributifs au diagnostic d'abcès cérébral ou d'empyème. Dans le plasma, on peut retrouver une hyperleucocytose et un syndrome inflammatoire non spécifiques. Le plus souvent, la ponction lombaire est contre-indiquée en raison du risque d'engagement. C'est l'imagerie qui confirme le diagnostic suspecté en raison d'une anamnèse et d'un contexte clinique évocateur. La tomodensitométrie cérébrale met en évidence l'abcès sous la forme d'une hyperdensité en cocarde après injection de produit de

contraste, entourant une hypodensité (***figure 9***). Il peut y avoir une hyperdensité liée à la prise de contraste méningée en faveur d'une ventriculite ou d'une méningite associée. Le diagnostic différentiel avec d'autres lésions (métastases, hématomes) peut cependant être difficile. L'imagerie par résonance magnétique nucléaire est plus spécifique. Le diagnostic bactériologique est rendu possible par le prélèvement lors d'une intervention neurochirurgicale soit dans le but de traiter l'abcès ou l'empyème, soit dans le but d'uniquement réaliser une ponction stéréotaxique. Les micro-organismes le plus souvent isolés lors d'un abcès cérébral spontané sont les germes anaérobies (*Bacteroides fragilis* et *Proteus mirabilis*), les germes de la flore oro-pharyngée (streptocoques) et certains germes opportunistes (*Nocardia* spp.). En postopératoire, *Staphylococcus aureus* (surtout en postopératoire) et les bacilles à gram négatif dont *Escherichia coli* sont le plus souvent retrouvés.

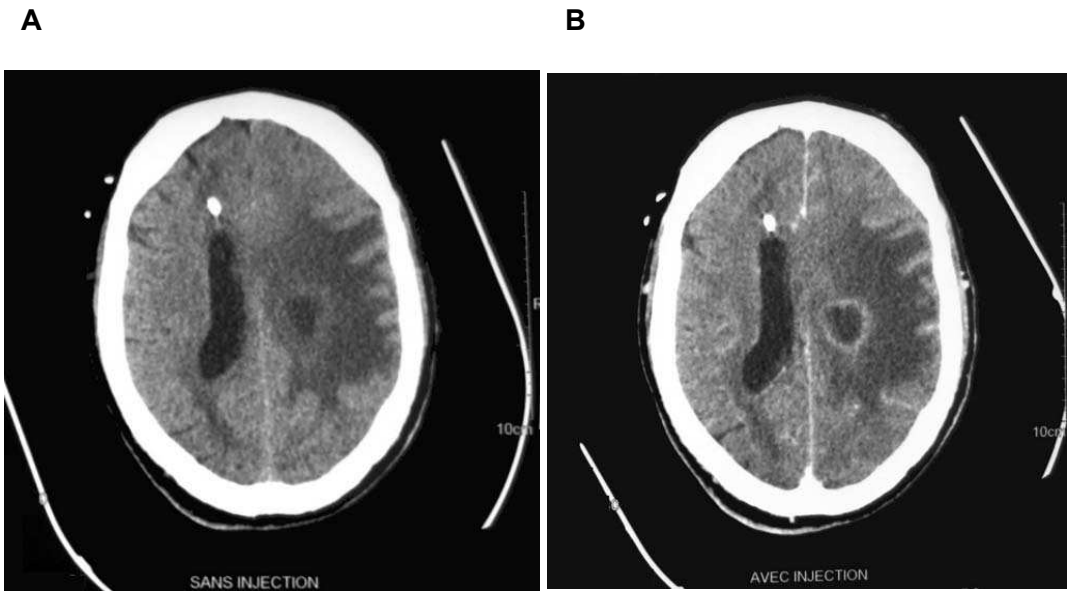


Figure 9. Tomodensitométrie sans (A) et avec injection (B) de produit de contraste iodé. L'abcès est situé dans l'hémisphère cérébral gauche.

Physiopathologie

Le système nerveux central est remarquablement préservé des infections bactériennes en particulier si on compare à la fréquence des infections ORL. Le LCR étant un milieu très

faiblement immunocompétent (quasi absence d'anticorps, faible activité d'opsonisation, phagocytose négligeable en raison de la quasi absence de polynucléaires macrophages), une infection bactérienne ne se développera dans le système nerveux central qu'à la faveur d'une contamination directe de secteurs tissulaires habituellement protégés par des barrières anatomiques ou physiologiques étanches.

Au cours d'une méningite bactérienne, les bactéries atteignent le LCR et les méninges par deux voies possibles : par la voie hématogène ou par translocation bactérienne directe depuis la cavité nasale ou la peau (lors d'une effraction ostéo-méningée) (Barichello et al. 2012). Le plus souvent, une méningite communautaire se développe lorsque des micro-organismes présents sur la surface de muqueuses telles que la cavité nasale (par exemple *Streptococcus pneumoniae* ou *Neisseria meningitidis*) pénètrent dans la circulation sanguine et contaminent les méninges à partir des zones de vulnérabilité de la BHL (plexus choroïdes). Ce processus peut suivre une infection virale qui aura altéré la fonction protectrice des muqueuses (Rameix-Welti et al. 2009). Les méningites nosocomiales surviennent après une intervention chirurgicale, une fracture récente du crâne ou une brèche ostéoméningée pré-existante (notamment de la base du crâne) favorisant la contamination directe du LCR par des bactéries. Un traumatisme ancien peut également expliquer certaines méningites communautaires.

L'inflammation dans l'espace sous-arachnoïdien au cours de la méningite n'est pas une conséquence directe de l'infection bactérienne, mais est liée à la réponse du système immunitaire lors de la pénétration de bactéries dans le système nerveux central. Lorsque des composants des membranes cellulaires bactériennes sont identifiés par les cellules immunitaires du cerveau (astrocytes et microglie), elles libèrent de grandes quantités de cytokines et d'hormones qui recrutent d'autres cellules du système immunitaire et amplifie la réponse tissulaire immunitaire y compris pour des tissus à distance (Gerber et al. 2010). La BHE devient alors perméable, ce qui conduit à un œdème cérébral vasogénique par fuite liquidienne depuis le secteur vasculaire. Les leucocytes se distribuent abondamment dans le LCR, provoquant une réaction inflammatoire des méninges et un œdème interstitiel. En outre, les parois des vaisseaux sanguins cérébraux et méningés sont atteintes par l'inflammation (vascularite cérébrale) ce qui conduit à la diminution du flux sanguin et provoque un œdème dit cytotoxique (lié à la souffrance cellulaire) (Kim et al. 1997). Ces

mécanismes sont à l'origine d'une élévation de la pression intracrânienne en même temps qu'une baisse de la pression artérielle systémique, responsables d'un tableau clinique de méningo-encéphalite. Le traitement antibiotique peut dans un premier temps aggraver ces processus en augmentant la quantité d'antigènes bactériens libérés par la lyse cellulaire. L'utilisation de corticostéroïdes en tant qu'immunodépresseur vise à amortir la réponse immunitaire liée à ce phénomène notamment lors d'une infection à *Streptococcus pneumoniae* (van de Beek 2009).

Dans le cadre d'une méningite bactérienne nosocomiale ou d'une ventriculite, les bactéries peuvent pénétrer dans le LCR à partir de sites cutanés colonisés après craniotomie ou à partir de cathéters de dérivation ventriculaires. Le cathéter peut être colonisé par des micro-organismes par voie rétrograde depuis l'extrémité distale présente dans le péritoine notamment. Le risque d'infection pour les dérivations ventriculaire externe est élevé dans les dix premiers jours de cathétérisme (Bota et al. 2005). La colonisation du cathéter au cours d'une bactériémie est également possible. Les cas de méningite bactérienne après une ponction lombaire sont rares mais possibles (1/50 000) (van de Beek et al. 2010). Les abcès et empyème sont liés à la prolifération bactérienne dans le parenchyme cérébral ou l'espace extra- ou sous-dural, conséquence d'une contamination par la proximité d'un foyer infectieux à travers la peau ou l'os. Les abcès peuvent être causés par la diffusion hématogène à partir d'un foyer infecté (Mathisen et al. 1997). L'origine des abcès est fréquemment pulmonaire (pneumonies, abcès pulmonaires, bronchectasie, cancer) mais aussi d'origine cutanée ou osseuse (ostéomyélite). Les patients atteints de cardiopathies cyanogènes et de fistules artério-veineuses, sont également prédisposés (Kielian 2004; Bernardini 2004). Enfin, les traumatismes crâniens pénétrants (par exemple balistiques) sont naturellement une étiologie d'infection du système nerveux central. Le risque est plus important avec la présence intracrânienne de fragments osseux et/ou de corps étrangers. Après un traumatisme crânien l'incidence de la méningite est estimée à 1,4%. S'il existe une fracture ouverte des os du crâne avec brèche méningée (embarrure) les taux de méningites vont de 2 à 11%. Par ailleurs, le traumatisme crânien est la cause la plus fréquente de récidive méningite bactérienne (Kourbeti et al. 2012)

Traitement antibiotique

Traitement préventif

Le traitement préventif concerne principalement les infections post-opératoires. L'antibioprophylaxie s'applique à la neurochirurgie en tant que chirurgie "propre". Sans antibioprophylaxie, le risque infectieux est de 1 à 5% dans la neurochirurgie avec craniotomie et sans mise en place de matériel de dérivation du LCR. Ce risque s'élève à environ 10% (Korinek et al. 2008) si du matériel de dérivation du LCR est installé. Les bactéries visées par l'antibioprophylaxie sont les entérobactéries (surtout après craniotomies), les staphylocoques *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis* (surtout après pose de dérivation ou craniotomies) et les bactéries anaérobies, notamment après un traumatisme crânien avec plaie crânio-cérébrale. Si l'efficacité de l'antibioprophylaxie est réelle pour les infections cutanées du site opératoire, elle est parfois contestée pour la prévention des méningites post-opératoires. Une étude récente a évalué l'incidence et les facteurs de risque de méningite post-opératoire, dans une série de 6243 craniotomies consécutives. Elle a comparé l'influence de la prescription d'une antibioprophylaxie (par cloxacilline ou amoxicilline-acide clavulanique administré par voie intraveineuse). Le taux global de méningite était de 1,52%. Les facteurs de risque indépendants étaient la fuite de LCR, l'infection concomitante de la plaie chirurgicale, le sexe masculin, et la durée opératoire. L'antibioprophylaxie réduisait les infections cutanées de 8,8% à 4,6% ($p<0,0001$), mais n'a pas empêché la méningite: 1,63% chez les patients sans antibioprophylaxie et 1,50% chez ceux qui ont reçu une prophylaxie. Les bactéries responsables de la méningite sont principalement non cutanées chez les patients ayant reçu des antibiotiques et cutanées chez les patients sans prophylaxie. Dans le premier cas, les micro-organismes sont moins sensibles à l'antibioprophylaxie administrée. Le taux de mortalité était plus élevé dans les cas de méningites causées par des bactéries non cutanées (Korinek et al. 2008). Des recommandations pour l'antibioprophylaxie en neurochirurgie (***tableau 5***) ont été émises sous l'égide de la Société Française d'Anesthésie et de Réanimation, elles reposent sur des antibiotiques avec une faible pression de sélection de résistance (oxacilline pour la mise en

place d'une dérivation ventriculaire, céfazoline pour une intervention avec craniotomie) (Société Française d'Anesthésie Réanimation 2010).

Tableau 5. Antibioprophylaxie en neurochirurgie (Société Française d'Anesthésie Réanimation 2010).

Acte chirurgical	Produit	Dose initiale	Ré-injection et durée
Dérivation interne du LCR	Oxacilline ou cloxacilline	2 g IV lente	Dose unique (si durée >2h, réinjecter 1g)
	Allergie : vancomycine	15 mg/kg/60 min	Dose unique
Dérivation externe du LCR	*Pas d'antibiotique*		
Craniotomie	Céfazoline	2 g IV lente	Dose unique (si durée >4h, réinjecter 1g)
	Allergie : vancomycine	15 mg/kg/60 min	Dose unique
Neurochirurgie par voies trans-sphénoïdale et trans-labyrinthique	Céfazoline	2 g IV lente	Dose unique (si durée >4h, réinjecter 1g)
	Allergie : vancomycine	15 mg/kg/60 min	Dose unique
Plaies crânio-cérébrales	Péniciline A + inhibiteur de β-lactamase	2g IV lente	2g toutes les 8h 48h maximum
	Allergie : vancomycine	15 mg/kg/60 min	30mg/kg/jour 48h maximum
Fracture de la base du crâne avec rhinorrhée	*Pas d'antibiotique*		

Traitement curatif

- *Méningite*

Pour le traitement d'une méningite nosocomiale ou d'une méningite communautaire, l'antibiothérapie doit administrée en urgence. Cette antibiothérapie est d'abord probabiliste en fonction du contexte clinique et de la pathogénie. Le traitement des infections du système nerveux central nécessite l'obtention rapide de concentrations efficaces d'antibiotique au site de l'infection. Le pronostic à court et moyen terme en dépend.

Le traitement probabiliste d'une méningite nosocomiale doit viser en première intention les staphylocoques et les bacilles à Gram négatif. Ainsi, lors d'une suspicion de méningite nosocomiale après neurochirurgie ou chez des patients hospitalisés depuis plus de 10 jours pour un traumatisme crânien pénétrant ou une plaie crânio-cérébrale, une association de choix est la vancomycine et les céphalosporines de troisième génération (céfotaxime, ceftriaxone) (Ortiz et al. 2006; De Bels et al. 2002; Beer et al. 2008). En cas de suspicion de *Pseudomonas aeruginosa* ou d'antibiothérapie à large spectre préalable, on favorisera l'utilisation de ceftazidime, ou bien un carbapénème, le méropénème associé aux aminosides (amikacine). La fosfomycine ne devrait plus être utilisée en association avec les céphalosporines de troisième génération car l'association n'est pas plus efficace que la céphalosporine seule (De Bels et al. 2002). S'il existe une dérivation ventriculaire ou du matériel en place, le choix du second antibiotique (vancomycine, aminosides) doit être guidé par l'écologie du service d'hospitalisation et notamment les profils de sensibilité de *Staphylococcus aureus* et des bacilles à Gram négatif. Le traitement d'une méningite à *Acinetobacter* spp. est en première intention le méropénème (40 mg/kg toutes les 8 heures) par voie intraveineuse (Schmutzhard et al. 1995) en association à un aminoside (Krol et al. 2009). Si la bactérie est résistante aux carbapénèmes, la colistine (colistiméthate sodique) est une alternative.

Le traitement probabiliste après une fracture de la base du crâne ou une plaie cranio-cérébrale récente doit d'emblée être proposé à doses curatives et repose sur une céphalosporine de troisième génération, le céfotaxime ou la ceftriaxone (Kourbeti et al. 2012; Viladrich et al. 1996). Pour une gestion optimale, l'antibiothérapie doit être modifiée une fois

l'agent pathogène identifié en culture avec antibiogramme. La durée du traitement des patients suspects de méningite nosocomiale est de moins de 72 heures si le résultat des cultures du LCR est négatif.

Le traitement antibiotique des méningites communautaires fait l'objet de recommandation d'une conférence de consensus et est récapitulé dans le ***tableau 6***. Il repose en première intention, avant l'identification du germe, sur les céphalosporines de troisième génération dans la majorité des cas sauf s'il existe une suspicion de méningite à *Listeria monocytogenes*. Après identification du germe et réévaluation du traitement initial, l'amoxicilline est le traitement des méningites à pneumocoque ou méningocoque (CMI<0,1mg/L), à *Listeria monocytogenes* et à *Streptocoques B*. Chez les patients atteints de méningite à pneumocoque ou méningocoque, les céphalosporines de troisième génération sont recommandées pour des souches qui ne sont pas sensibles à la pénicilline (CMI⩾0,1 mg/L) mais aussi pour le traitement des méningites à *Haemophilus influenzae* et *Escherichia coli*.

- *Ventriculite*

Le traitement d'une ventriculite « spontanée » repose sur les mêmes antibiotiques que la méningite ou l'abcès cérébral associé. En présence d'une ventriculite liées à du matériel de dérivation du LCR, un antibiotique contre le staphylocoque est un choix judicieux en première intention en attendant la confirmation bactériologique. Le traitement des infections liées à un drainage ventriculaire externe doit envisager la possibilité d'une infection à entérobactérie. La dépose du matériel de dérivation et éventuellement son remplacement (y compris par une dérivation externe), sont des mesures thérapeutiques à évoquer, qui améliorent l'efficacité des anti-infectieux (Ziai et al. 2006). La mise en culture du cathéter est utile au diagnostic microbiologique. L'administration intraventriculaire d'antibiotique a également été évaluée et présente une alternative intéressante. Néanmoins, la toxicité cérébrale directe est redoutée (Pfausler et al. 2003). La durée de l''antibiothérapie est guidée par la stérilisation de plusieurs prélèvements successifs de LCR.

- *Abcès et empyèmes*

Le traitement des abcès et empyèmes cérébraux est une urgence médicale et chirurgicale (Bernardini 2004). La chirurgie consiste en une ponction évacuatrice de l'abcès pour prélever

du pus et diminuer une éventuelle hypertension intracrânienne. L'abord par craniotomie de l'abcès ou de l'empyème est un geste lourd mais nécessaire en cas d'abcès volumineux ou d'échec du traitement par ponction. L'antibiothérapie est probabiliste en attendant l'identification du germe et son antibiogramme. L'antibiothérapie est administrée par voie intraveineuse pendant trois ou quatre semaines puis un relais par voie orale peut être proposé pour trois à six mois. Si le foyer infectieux suspect est ORL, dentaire ou pulmonaire, une céphalosporine de troisième génération, céfotaxime (200 mg/kg/j) ou ceftriaxone (2 à 4 g/j) en association au métronidazole (1,5 g/j) qui vise les bactéries anaérobies, est recommandée en première intention. Le traitement de la porte d'entrée est un prérequis pour une efficacité optimale du traitement de l'abcès ou de l'empyème. Dans un contexte d'abcès post-traumatique ou après neurochirurgie, l'association céphalosporine avec vancomycine à posologie élevée voire la fosfomycine, avec ou sans métronidazole est utilisée (Fuentes et al. 2001; Jansson et al. 2004; Jang et al. 2012; Sjölin et al. 1993; Tattevin et al. 2003).

Tableau 6. Traitement de première intention d'une méningite communautaire aiguë de l'adulte.

Examen direct positif	Antibiotique	Posologie
Cocci à Gram +	Céfotaxime	300 mg/kg/j i.v. en 4 perfusions
Suspicion de Pneumocoque	ou	
	Ceftriaxone	100 mg/kg/j en 1 ou 2 perfusions
Cocci à Gram –	Céfotaxime	200 mg/kg/j i.v. en 4 perfusions
Suspicion de méningocoque	ou	
	Ceftriaxone	75 mg/kg/j i.v en 1 ou 2 perfusions
Bacille à Gram +	Amoxicilline	200 mg/kg/j i.v. en 4 perfusions
Suspicion de listeriose	+	
	Gentamicine	3 à 5 i.v. en 1 perfusion
Bacille à Gram –	Céfotaxime	200 mg/kg/j i.v. en 4 perfusions
Suspicion de *H. influenzae*	ou	
	Ceftriaxone	75 mg/kg/j en 1 ou 2 perfusions
Bacille à Gram –	Céfotaxime	200 mg/kg/j i.v. en 4 perfusions
Suspicion de *E. coli*	ou	
	Ceftriaxone	75 mg/kg/j i.v. en 1 ou 2 perfusions
Examen direct négatif		
En l'absence d'argument en faveur d'une listeriose	Céfotaxime	300 mg/kg/j i.v. en 4 perfusions
	ou	
	Ceftriaxone	100 mg/kg/j i.v. en 1 ou 2 perfusions
Arguments en faveur d'une listeriose	Céfotaxime	300 mg/kg/j i.v. en 4 perfusions
	ou	
	Ceftriaxone	100 mg/kg/j i.v. en 1 ou 2 perfusions
	+ Amoxicilline	200 mg/kg/j i.v. en 1 ou 2 perfusions
	+ Gentamicine	3 à 5 i.v. en 1 perfusion

Pharmacologie des deux antibiotiques

Céfotaxime

Le céfotaxime (dénomination commune internationale) est une céphalosporine de troisième génération, de la famille des bêta-lactamines. Son poids moléculaire est de 456 Da (***figure 10***) et c'est une molécule hydrophile (Log P = -1,40). Il a été développé dans les années soixante dix et approuvé par la US Food and Drug Administration (FDA) en 1981. En France, les spécialités à base de céfotaxime sont, le princeps CLAFORAN® autorisé en 1983, et les différents médicaments génériques développés depuis 1998.

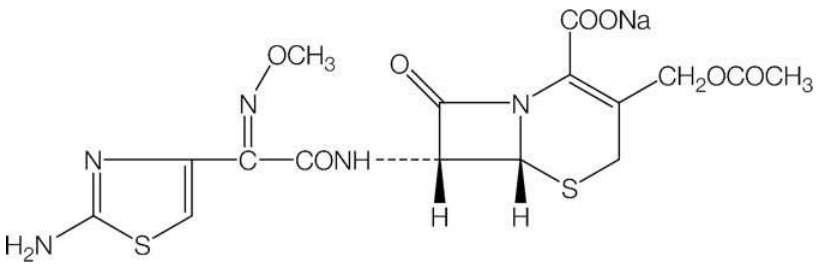


Figure 10. Structure chimique du céfotaxime.

- *Pharmacocinétique*

  - *Biodisponibilité*

Par voie orale, le céfotaxime n'est pas absorbé, il est donc administré principalement par voie intraveineuse. Après une administration de 1g de céfotaxime à des volontaires sains, les principales données pharmacocinétiques montrent un pic de concentration Cmax = 20 à 156 µg/L, une demi-vie = 0,9 à 1,34 heures et un volume de distribution = 10 à 20 L (Kemmerich et al. 1983; Nix et al. 1995). Le céfotaxime est métabolisé par le foie en désacétylcéfotaxime (15 à 25%) et deux autres métabolites qui sont éliminés par le rein. Le céfotaxime subit également dans le plasma une dégradation métabolique en

desacetylcéfotaxime, métabolite actif. Les valeurs correspondantes pour le desacetylcefotaxime sont une Cmax = 12,5 à 16,6 µg/L, une demi-vie = 1 heure et un volume de distribution = 17 L (Kemmerich et al. 1983).

- *Liaison aux protéines plasmatiques*

La liaison aux protéines plasmatiques a été évaluée entre 37 et 43% en fonction de la méthode de dosage (Turnidge 1995).

- *Distribution dans le système nerveux central*

Chez l'homme, le céfotaxime pénètre dans le LCR en l'absence d'inflammation méningée mais les concentrations atteintes sont relativement faibles. Après administration intraveineuse de 30 mg/kg de céfotaxime chez 16 adultes, les concentrations dans le LCR allaient de 0,01 à 0,7 µg/mL (Karimi et al. 1980). Chez des patients adultes sans méningite, après mise en place d'une dérivation ventriculaire externe et une perfusion intraveineuse de 2 g de céfotaxime en 30 minutes, les concentrations maximales ont été obtenues entre 0,5 à 8 heures après la perfusion et allaient de 0,14 à 1,81 µg/mL. La demi-vie du céfotaxime dans le LCR était de 5,0 à 26,9 heures, avec une demi-vie médiane de 9,3 heures (Nau et al. 1993). La diffusion du céfotaxime dans le LCR a été également évaluée lors du traitement de méningites bactériennes chez l'enfant et l'adulte. Les concentrations étaient alors plus élevées, avec des valeurs de 0,3 à 44,3 µg/mL mais une majorité comprises entre 1 et 15 µg/mL (Cherubin et al. 1989; Asmar et al. 1985; Belohradsky et al. 1980). Pour le desacétylcéfotaxime, chez des patients atteints de méningite, les concentrations dans le LCR étaient de 5,4 µg/L (Humbert et al. 1984; Cherubin et al. 1989).

- *Pharmacodynamique*

Les céphalosporines présentent une activité bactéricide dépendante du temps et ont un effet post-antibiotique essentiellement pour les staphylocoques (Craig 1998). La durée pendant laquelle les taux plasmatiques de céfotaxime dépassent la concentration minimale inhibitrice (%T>CMI) est un index pharmacodynamique utile, corrélé avec l'efficacité de l'antibiotique.

Des modèles d'infection chez l'animal (infection cutanée ou pneumonie chez la souris neutropénique) montrent que l'efficacité maximale des céphalosporines est atteinte lorsque les concentrations plasmatiques sont supérieures à la CMI pendant 60 à 70% de l'intervalle d'administration du médicament pour les entérobactéries et les streptocoques et pendant 40 à 50% de l'intervalle pour *Staphylococcus aureus*. Pour des modèles de méningite, l'efficacité maximale des céphalosporines est atteinte lorsque les concentrations plasmatiques sont supérieures à la CMI pendant au moins 90% de l'intervalle (Craig 1995).

Le céfotaxime a une activité bactéricide en inhibant la synthèse de la paroi bactérienne par association à une ou plusieurs protéines de liaison à la pénicilline (PLP). Ces protéines sont présentes sur la membrane de la cellule bactérienne et permettent les dernières étapes de la synthèse de la paroi bactérienne. Le résultat d'une liaison du céfotaxime aux PLP est la formation d'une paroi bactérienne altérée et osmotiquement instable. L'affinité du céfotaxime pour les PLP de différentes espèces bactériennes conditionne son spectre d'activité antimicrobien (Jones et al. 1982). Ce spectre d'activité est sensiblement le même que celui de la ceftriaxone une autre céphalosporine de troisième génération. Le céfotaxime dispose d'une excellente activité contre de nombreux agents pathogènes communautaires notamment *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*. Son activité contre les entérobactéries a diminuée ces dernières années en raison de l'émergence de bactéries sécrétrices de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE). Les mécanismes de résistances aux céphalosporines sont essentiellement liés à la modification des PLP, la sécrétion bactérienne de bêta-lactamase et l'imperméabilisation bactérienne. *Listeria monocytogenes* est naturellement résistante aux céphalosporines et le céfotaxime n'a pas non plus d'activité contre : *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM), les entérocoques, *Pseudomonas aeruginosa* (et les autres bacilles à Gram négatifs non fermentants) et certains bacilles anaérobies à Gram négatif fréquents (*Bacteroides*).

Le spectre d'activité du céfotaxime en fait un antibiotique de choix pour le traitement de la plupart des méningites bactériennes communautaires voire nosocomiales. Les posologies du céfotaxime dans le traitement de la méningite bactérienne diffèrent de celles recommandées pour d'autres infections. Chez l'adulte, 200 à 300 mg/kg/j sont recommandés en trois à quatre injections (contrairement aux 75 à 100 mg/kg/j pour les autres infections) car pour le traitement d'une méningite il est important de couvrir tout l'intervalle d'administration avec

une concentration supérieure à la CMI (T>CMI supérieur à 90%). Les CMI pour *Streptococcus pneumoniae* sont ≤0,5mg/L pour les souches sensibles et >2,0 mg/L pour les souches résistantes (CLSI 2007). Les CMI pour *Neisseria meningitidis* sont ≤0,01 mg/L pour les souches actuellement répandues et donc sensibles. Il n'y a pas encore de sensibilité diminuée aux céphalosporines de troisième génération pour cette bactérie, y compris lorsqu'elle est résistante aux pénicillines. Concernant *Haemophlius influenzae* le céfotaxime est efficace sans résistance connue (Radetsky 1992). Enfin, en raison de l'absence d'activité *in vitro* contre *Listeria monocytogenes*, l'amoxicilline doit être systématiquement associée au céfotaxime lors d'une suspicion de méningite chez les nouveaux nés, les personnes âgées et les personnes immunodéprimées.

Le céfotaxime est également indiqué en association avec le métronidazole pour le traitement des abcès et empyèmes cérébraux (Sjölin et al. 1993). Dans cette indication, il est nécessaire d'utiliser des posologies élevée de 200 à 300 mg/kg (Jansson et al. 2004). L'étude de la diffusion dans le liquide d'empyème chez des enfants atteints d'empyème cérébral montrait une bonne diffusion avec des concentrations de 0,76 à 3,3 µg/mL après une dose intraveineuse unique de 25 mg/kg de céfotaxime (Kafetzis 1980).

Le desacetylcefotaxime est actif *in vitro*, mais environ huit fois moins que la molécule mère, contre les entérobactéries productrices de bêta-lactamase (Chin et al. 1984).

- *Effets indésirables et toxicité*

Des effets indésirables liés à une hypersensibilité avec apparition d'un rash et de lésions cutanées sont responsables d'un arrêt du traitement chez 2% des patients. Les cas de choc anaphylactique sont extrêmement rares (Sangaret et al. 1984). Des arythmies cardiaques ont eu lieu lors de l'administration rapide (inferieure à 30 secondes) de céfotaxime par cathéter veineux central (Kurowski et al. 1993). Des cas de néphrite interstitielle avec augmentation de l'urée ou de la créatinine ont été observés chez des patients traités par le céfotaxime. Des cas d'hallucinations et de céphalées ont également été rapportés ainsi que des crises d'épilepsie déclenchées par le céfotaxime (Sanofi-Aventis 2007).

Métronidazole

Le métronidazole est un antibiotique de la famille des nitroimidazoles. Son poids moléculaire est relativement faible à 171 Da (***figure 11***) et c'est une molécule hydrophile (Log P = -0,46). Il est commercialisé en France, notamment comme anti-parasitaire, depuis la fin des années soixante pour la voie orale et depuis la fin des années quatre-vingt pour la forme parentérale.

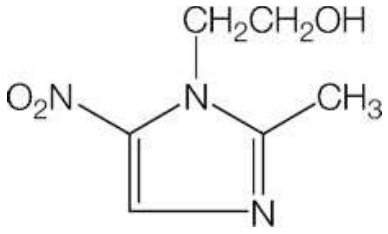


Figure 11. Structure chimique du métronidazole.

- *Pharmacocinétique*

  - *Biodisponibilité*

L'absorption orale du métronidazole est excellente, avec une biodisponibilité souvent supérieure à 90% (Houghton et al. 1979). La Cmax après une dose orale unique de 500 mg va de 9,0 à 16,5 µg/L, avec un temps correspondant tmax de 0,25 à 4 h (Mattila et al. 1983). La surface sous la courbe des concentrations plasmatiques en fonction du temps (SSC) pour cette dose allait de 122 à 159 mg.h/mL, ce qui est comparable aux valeurs de SSC obtenue après la même dose par voie intraveineuse (Houghton et al. 1979). La demi-vie d'élimination plasmatique du métronidazole est de 8,9 h. L'administration par voie intraveineuse est préférée chez des patients de réanimation en raison de l'indisponibilité fréquente de la voie orale. Par voie intraveineuse, une dose unique de 500 mg de métronidazole en perfusion de 20 min aboutit à une Cmax de 9,4 à 20 µg/L. La demi-vie d'élimination plasmatique du métronidazole est 7,3 à 7,9 h (Houghton et al. 1979; Mattila et al. 1983). Dans le plasma, le

métronidazole est transformé en un métabolite actif, l'hydroxymétronidazole. Après une administration de 250 mg de métronidazole par voie intraveineuse, la SSC du métabolite est de 40,8 µg.h/mL. La demi-vie d'élimination est variable entre 8,5 et 19,2 h (Lamp et al. 1999).

- *Liaison aux protéines plasmatiques*

La fraction de métronidazole liée aux protéines est inférieure à 20%.(Schwartz & Jeunet 1976) Le volume de distribution chez l'adulte varie entre 36 et 53,2 L.(Houghton, Thorne, et al. 1979; Mattila et al. 1983)

- *Distribution dans les tissus et le système nerveux central*

Le métronidazole pénètre bien dans tous les tissus et les liquides corporels, y compris la salive, le lait maternel, les sécrétions vaginales, le liquide séminal, et la bile (Lamp et al. 1999). Dans les études animales, le métronidazole traverse facilement la BHE et les données relatives à la diffusion dans le LCR et les abcès cérébraux chez l'homme ont confirmé cette hypothèse (Hoffmann et al. 1984; Jokipii et al. 1977). Chez des volontaires sains, après une administration de 2,4 g de métronidazole par voie orale, les concentrations 90 min plus tard dans le LCR, variaient entre 6 et 22,7 µg/L, soit en moyenne 43% de la concentration plasmatique observée (Jokipii et al. 1977). Chez un patient recevant 500 mg deux fois par jour pour le traitement d'une méningite à *Fusobacterium* spp., les concentrations dans le LCR après la dose orale de 500 mg allaient de 13,9 et 11,0 µg/L avec des concentrations plasmatiques simultanées de 15,4 et 8,34 µg/L. Dans ce cas, un rapport LCR-plasma proche de 1 a été atteint (O'Grady et al. 1976). Enfin, les concentrations de métronidazole dans le liquide d'abcès cérébraux étaient de 20,7 et 45,0 µg/L chez deux patients recevant 400 et 600 mg de métronidazole par voie intraveineuse toutes les 8 h (Ingham et al. 1977).

- *Pharmacodynamique*

Le métronidazole diffuse dans la cellule des bactéries anaérobies et les protozoaires. Il est métabolisé par réduction de son groupe nitro. Cette réaction biochimique crée un gradient qui favorise l'absorption du médicament par les micro-organismes anaérobies. Les produits de réduction du métronidazole interagissent avec l'ADN bactérien et provoque la mort cellulaire. Le métronidazole est rapidement bactéricide contre *Bacteroides fragilis* par une inhibition de la synthèse de l'ADN (Sigeti et al. 1983).

Les valeurs seuils d'activité bactéricide établies contre les bactéries anaérobies permettent un classement des souches étant sensibles (CMI≤8mg/L), intermédiaires (CMI≤16 mg/L) ou résistantes (CMI≥32mg/L) (NCCLS 2004). Le spectre d'activité du metronidazole est présenté avec les valeurs des CMI dans le ***tableau 7***. Le métronidazole présente une activité bactéricide concentration-dépendante contre *Bacteroides fragilis*, *Clostridium difficile* et *Helicobacter pylori* (Drusano 2004; Craig et al. 1990).

Tableau 7. Spectre d'activité du métronidazole.

Bactérie	CMI_{50} (mg/L)	CMI_{90} (mg/L)	Résitance
Bacteroides fragili	1	2	Oui
Bacteroides fragilis group	0.5	1	Oui
Fusobacterium spp.	≤0.125	0.25	
Prevotella spp.	2	2	
Porphyromonas spp.	2	2	
Peptostreptococcus spp.	0.5	2	
Eubacterium spp.	0.25	4	
Clostridium perfringens	1	4	
Clostridium difficile	0.25	0.5	

Le but du schéma posologique pour des agents antibactériens avec une activité concentration-dépendante est de maximiser la concentration de l'agent. La stratégie posologique optimale pour le métronidazole est d'administrer des doses élevées, moins fréquemment (Lamp et al. 1999). Toutefois, il n'existe pas de paramètres PK/PD établis en corrélation avec l'efficacité du métronidazole dans un contexte clinique. Un ratio de plus de 70 fois le rapport SSC/CMI a été suggéré comme une cible appropriée pour *Bacteroides fragilis* (Sprandel et al. 2006). Le métronidazole présente un effet post-antibiotique *in vitro* de 1,2-1,7 h contre *Clostridium difficile* et 4-5 h contre *Bacteroides fragilis* (Odenholt et al. 2007).

Les produits du métabolisme du métronidazole, en particulier l'hydroxymetronidazole, sont actifs contre plusieurs espèces bactériennes. Les métabolites acides et hydroxylés du métronidazole possèdent respectivement 5% et 30% de l'activité de la molécule mère contre *Clostridium* spp. (Ralph et al. 1975) Contre *Bacteroides fragilis*, ces métabolites ont une activité respective de 5% et 65% par rapport au métronidazole (Pendland et al. 1994).

- *Effets indésirables et toxicité*

Des neuropathies périphériques (habituellement sensori-moteur) ont été décrites en particulier chez des patients qui ont reçu un traitement prolongé avec des doses relativement élevées de métronidazole. Les mécanismes évoqués sont la démyélinisation et la dégénérescence axonale. La diminution ou l'arrêt du traitement ont fait régresser complètement les signes cliniques (Bradley et al. 1977).

Des cas de confusion, de syndrome cérébelleux, d'ataxie, de dysarthrie et d'encéphalopathie liés à l'utilisation du métronidazole (Kuriyama et al. 2011; Jang et al. 2012). Les symptômes étaient là encore lié à une administration de longue durée et ont régressé après arrêt du traitement. Le mécanisme de neurotoxicité centrale du métronidazole n'a pas été complètement élucidé, l'hypothèse la plus probable est un œdème vasogenique qui pourrait être lié à une diminution de l'action de la vitamine B1, par un métabolite du métronidazole analogue de la thiamine. (Khan et al. 2007; Kim et al. 2007; Zuccoli et al. 2008).

Conclusion

Le céfotaxime et le métronidazole sont deux antibiotiques recommandés pour le traitement d'infections du système nerveux central qui sont rares mais graves et difficiles à traiter. La BHL et la BHE participent à la protection de l'encéphale contre les infections mais peuvent également entraver la diffusion des antibiotiques dans le LCR et le LEC cérébral. Ces deux antibiotiques fréquemment utilisés en réanimation ont des caractéristiques différentes, notamment en terme de diffusion dans le tissu cérébral ou le LCR. Les rares données disponibles montrent que le métronidazole diffuse bien dans le LCR contrairement au céfotaxime dont la distribution tissulaire est partielle. Cependant les informations disponibles sont anciennes et obtenues par des méthodes qui comportent de nombreux biais. Aucune étude ne s'est intéressée à la distribution de ces antibiotiques dans le LEC cérébral. Afin d'optimiser le traitement des infections neuroméningées et pour prévenir le risque d'effet indésirable, il est utile d'obtenir des données dans le LCR et le LEC précises avec des techniques fiables.

3 Méthodes d'étude de la distribution des antibiotiques dans le système nerveux central

L'aptitude d'un antibiotique à atteindre une concentration efficace au site de l'infection détermine son activité. L'optimisation de l'antibiothérapie est essentielle pour une efficacité maximale et limiter les effets indésirables. Les doses optimales et leur mode d'administration pour atteindre ces objectifs sont mal définis car ils reposent le plus souvent sur des données pharmacocinétiques et des concentrations plasmatiques or, seules les concentrations de la fraction libre de l'antibiotique au site de l'infection ou au site d'action tissulaire sont efficaces (Liu et al. 2003).

L'optimisation posologique des antibiotiques

Après administration, un antibiotique se distribue dans les différents organes. De façon simple, la PK de la plupart des antibiotiques peut être décrite par un modèle à deux ou trois compartiments, et la quantité de médicament transférée entre les compartiments est exprimée par la clairance entre les compartiments (Mouton et al. 2008). L'équilibre entre les compartiments n'est pas instantané et la forme des courbes concentration-temps dans les compartiments peut donc être différente (***figure 12***). Ces différences supposent ainsi que l'estimation des concentrations d'un médicament dans un des compartiments (par exemple

plasmatique) n'est pas systématiquement le reflet des concentrations dans un autre compartiment (par exemple un tissu), *a fortiori* s'il existe des barrières physiologiques entre les compartiments telles que la BHE ou la BHL.

Les indices pharmacocinétique-pharmacodynamiques (PK-PD) statiques (durée pendant laquelle la concentration plasmatique est au dessus de la CMI par exemple) mais plus encore les modèles PK-PD sont utiles pour décrire l'évolution dynamique des effets (princeps et/ou secondaires) en fonction des concentrations de l'antibiotique à l'aide d'un modèle pharmacocinétique traditionnel (par exemple un modèle compartimental) couplé à un modèle PD (par exemple un modèle de bactéricidie, un modèle d'effet direct ou indirect). Un des principaux intérêts de ces modèles est qu'ils offrent la possibilité de réaliser des simulations permettant de comparer précisément les efficacités relatives de diverses modalités thérapeutiques (modes d'administration, posologies, etc.) ou conditions physiopathologiques (insuffisance rénale, modification de perméabilité des barrières tissulaires, etc.).

Quelque soit l'approche PK-PD utilisée, il est nécessaire de bien connaître les caractéristiques pharmacocinétiques de la molécule étudiée. C'est par ailleurs la fraction libre du médicament qui conditionne l'activité pharmacodynamique, par exemple lors d'une infection du système nerveux central qui se développe dans le LEC cérébral ou le LCR. Il faut donc disposer d'informations PK de cette fraction libre dans un milieu tel que le plasma, le tissu cérébral (LEC) ou le LCR. Pour cela, le recueil de données PK tissulaires est un préalable indispensable à l'analyse PK-PD.

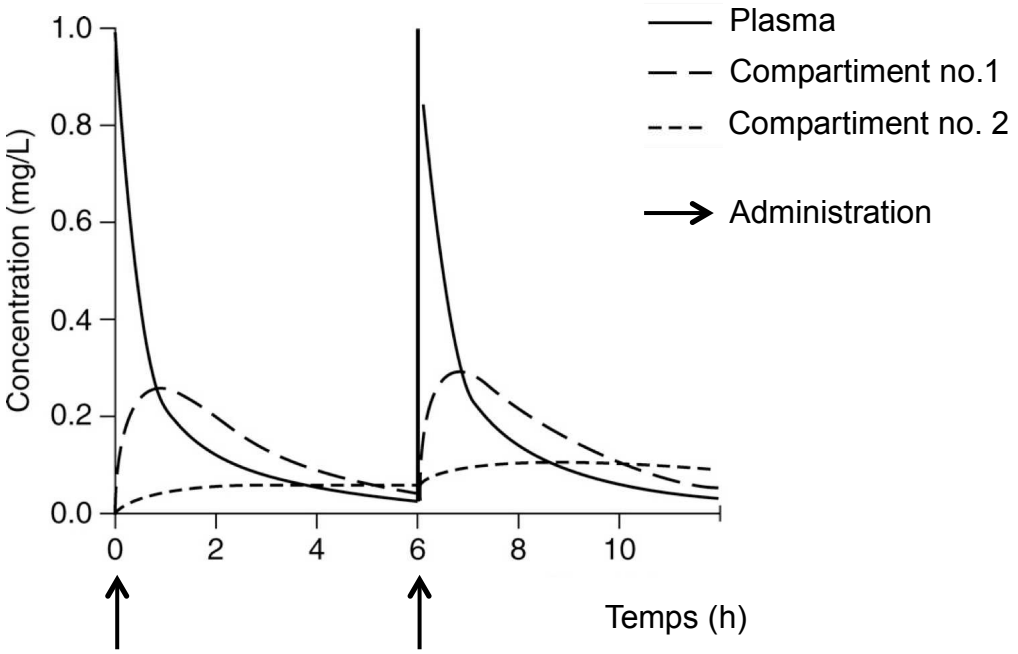


Figure 12. Courbe des concentrations en fonction du temps dans 3 compartiments tissulaires : plasma et 2 compartiments périphériques (Mouton et al. 2008).

Paramètres d'étude de la distribution

Des paramètres pharmacocinétiques permettent de rendre compte de l'exposition tissulaire à un médicament. En terme de diffusion tissulaire dans le système nerveux central, tous les mécanismes décrits dans le chapitre « barrières cérébrales » régulent deux paramètres distincts : la vitesse et/ou l'étendue de la distribution d'un médicament.

Vitesse de distribution

Le transport d'un médicament dans le tissu cérébral ou le LCR dépend de la vitesse à laquelle une molécule passe la BHE et la BHL. Cette grandeur est souvent exprimée par la perméabilité (distance/temps) ou la clairance (volume/temps). La perméabilité dépend comme nous l'avons vu précédemment de leur intégrité anatomo-physiologique et des

propriétés physico-chimiques des médicaments. Classiquement, le passage à travers la BHE et la BHL est notamment régit par la lipophilie des molécules. Si on considère seulement le transport passif (diffusion), les petites molécules lipophiles traversent la BHE et la BHL plus facilement que les molécules hydrophiles de poids moléculaire élevé. Pour les médicaments qui diffusent facilement les barrières, le transport à travers la BHE et la BHL est en particulier limité par le débit sanguin cérébral. Des processus de transport actif vers ou en dehors du cerveau peuvent augmenter ou réduire la perméabilité des barrières à un médicament (***figure 2***). On définit ainsi, une clairance d'entrée dans le tissu cérébral (CL_{in}) qui est la somme des mécanismes passifs ($CL_{passive}$) et actifs (CL_{influx}). Les mécanismes qui font sortir le médicament du compartiment cérébral combinent les mêmes mécanismes et d'autres mécanismes actifs d'efflux ($CL_{passive} + CL_{efflux}$), auxquels il faut ajouter une clairance liée au métabolisme (CL_{met}) et à la résorption physiologique du LEC cérébral ($CL_{bulkflow}$) (Hammarlund-Udenaes et al. 2009).

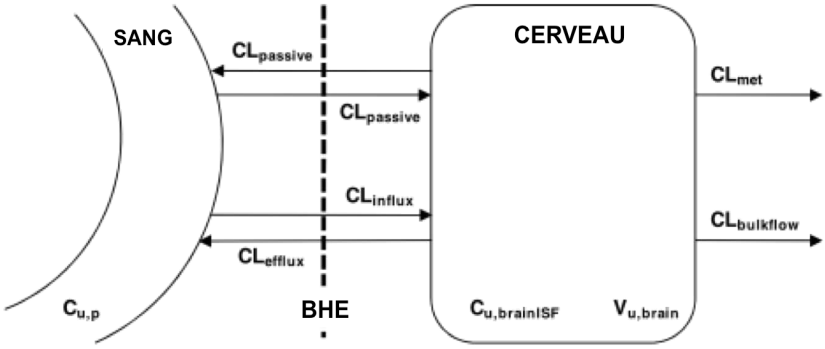


Figure 13. Représentation schématique de la distribution cérébrale des médicaments (Fridén et al. 2007).

Etendue de la distribution

La distribution cérébrale d'un médicament peut être définie par son coefficient de partage cerveau-plasma (K_p), selon le rapport (équation 1) entre la concentration totale du médicament dans le cerveau et concentration totale du médicament dans le plasma (Hammarlund-Udenaes et al. 1997; De Lange et al. 2005).

$$K_p = \frac{C_{cerveau}}{C_{plasma}} \qquad (1)$$

Afin de prendre en compte la liaison aux protéines plasmatiques qui constituent un frein à la diffusion cérébrale d'un médicament, le coefficient de partage cerveau total–plasma libre ($K_{p,u}$) peut être plus juste. Toutefois, comme il est plus pertinent sur le plan pharmacologique d'utiliser les concentrations cérébrales libres plutôt que les concentrations totales, le coefficient de partition cerveau libre-plasma libre ($K_{p,uu}$) est considéré comme le paramètre le plus précis pour déterminer l'exposition tissulaire.

En raison de différences des délais de distribution dans deux compartiments distincts, ce rapport de concentrations peut être très variable en fonction de l'instant où l'on compare les concentrations. Il est plus pertinent d'utiliser le rapport de la surface sous la courbe des concentrations libres en fonction du temps (SSC) dans le cerveau et dans le plasma ou lorsque l'on peut modéliser les échanges, le rapport des clairance d'entrée CL_{in} et de sortie du tissu cérébral CL_{out} (équation 2).

$$K_{p,uu} = \frac{SSC_{cerveau}}{SSC_{plasma}} = \frac{CL_{in}}{CL_{out}} \qquad (2)$$

Pour les molécules qui diffusent librement à travers les barrières cérébrales, et donc de façon indépendante d'un mécanisme actif, ce rapport devrait être proche de 1. Si le rapport est inférieur à 1, cela signifie que les processus d'élimination (métabolisme et transport actif d'efflux) jouent un rôle complémentaire. Lorsque rapport est supérieur à 1, on peut supposer qu'un transport actif vers le tissu cérébral intervient (mécanisme non recensé pour des antibiotiques) ou bien qu'il existe une fixation sur les protéines tissulaires (accumulation) puis un relargage du médicament dans le LEC cérébral. Enfin, les différences de pH entre le site tissulaire cérébral et le plasma peuvent faire varier le degré d'ionisation d'un médicament et influencer sa distribution (De Lange et al. 1997).

Pour les antibiotiques étudiés au cours de ce travail, la vitesse et l'étendue de la distribution conditionnent l'efficacité antibactérienne (par exemple dans le LCR pour une méningite) mais également la survenue d'effets secondaires par un mécanisme direct au site d'action cérébral.

Décrire précisément les phénomènes qui contribuent à la distribution et prédire l'activité des antibiotiques, notamment par des modèles PK-PD mais aussi pharmacocinétiques physiologiques (PBPK) implique d'avoir des données sur la distribution des médicaments dans les différents compartiments du système nerveux central. De manière expérimentale chez l'animal ou en pratique clinique chez l'homme, l'étude de la distribution et de la pharmacocinétique des médicaments dans le tissu cérébral est possible grâce à différentes techniques, y compris *in vivo*. Ces méthodes présentent chacune des avantages et des inconvénients, en fonction de leurs performances théoriques et de leur mise en œuvre pratique.

Méthodes d'études dans le tissu cérébral et le LCR

Techniques à partir de tissu cérébral

Une méthode classiquement décrite pour l'estimation de concentrations tissulaires est la réalisation d'homogénats. Un prélèvement de tissu (obtenu chirurgicalement chez l'homme par exemple lors de l'exérèse d'une tumeur cérébrale) est broyé puis homogénéisé en solution aqueuse. Après extraction et purification de cette solution, les concentrations totales d'un médicament peuvent être déterminées. Une étape de dialyse peut être réalisée de façon supplémentaire pour obtenir les concentrations libres, mais ces procédures restent approximatives. Cette technique ne prend pas en compte le fait que les tissus sont constitués de compartiments distincts (liquide interstitiel, cellules et dans les cellules les différents organites intracellulaires) dans lequel un médicament n'est pas nécessairement distribué de façon homogène. La mesure dans un homogénat de tissus ne permet pas d'être certain qu'un médicament a effectivement atteint son site d'action. La plupart des infections bactériennes tissulaires se développent dans le liquide extracellulaire. Les concentrations mesurées à ce site sont d'un intérêt essentiel. Si un antibiotique est principalement distribué dans le liquide extracellulaire (bêta-lactamines et aminosides), une sous-estimation des concentrations au site de l'infection est le résultat d'un homogénat tissulaire qui provoque un mélange des liquides intracellulaires et extracellulaires. Inversement, si un antibiotique est accumulé en

intracellulaire (fluoroquinolones, macrolides), l'estimation des concentrations tissulaires totales va conduire à une surestimation de la concentration extracellulaire. L'inverse est vrai pour les infections intracellulaires (Mouton et al. 2008; Liu et al. 2003).

L'estimation des concentrations libres à partir d'un fragment tissulaire a été perfectionné par la technique de la section « *brain slices* » (Loryan et al. 2013). A partir d'un prélèvement de tissu cérébral on réalise de fines tranches (300 µm) qui sont ensuite incubées à 37°C dans un liquide tampon. A l'état d'équilibre entre le tampon et le LEC de la tranche de tissu, les tranches sont homogénéisées et les concentrations de médicament estimées dans l'homogénat et la solution tampon. Contrairement au procédé d'homogénéisation, la structure cellulaire du tissu cérébral reste relativement intacte avec la technique de section, ainsi il est possible de distinguer les fractions intracellulaires et extracellulaires mais aussi liées et libres du médicament. La technique de la section semble plus performante que la méthode de l'homogénéisation tissulaire pour la prédiction des concentrations cérébrales libres. Cependant, la technique de la section est plus longue et complexe que l'homogénéisation. Elle permet d'obtenir des résultats proches de ceux fournis par microdialyse (Fridén et al. 2007).

Technique d'imagerie, tomographie par émission de positons

La tomographie par émission de positons (TEP) et émission de photon (SPECT) sont des techniques précises pour étudier la cinétique des médicaments dans le tissu cérébral ou le LCR (Waarde 2000; Neuwelt et al. 2008). De faibles quantités de molécules radio-marquées sont injectées dans la circulation sanguine, la diffusion au sein du tissu peut être estimée en calculant le rapport de la radioactivité totale du cerveau divisée par la radioactivité injectée. Le principal avantage de ces techniques, applicables à l'homme ou l'animal, est leur caractère peu invasif. Ce sont cependant des méthodes coûteuses et pas toujours disponibles. Elles ne permettent pas facilement de réaliser des cinétiques complètes chez l'homme, de distinguer entre les molécules et leurs métabolites, ni même entre les concentrations libres et liées.

Le prélèvement de liquide céphalorachidien

Le prélèvement de LCR a été une méthode très utilisée pour estimer la diffusion des antibiotiques dans le système nerveux central. Du fait de la facilité d'accès au LCR par ponction lombaire, il a longtemps été supposé que la concentration d'une substance dans ce liquide pouvait être un bon reflet de sa concentration cérébrale, notamment à l'équilibre. En conditions physiologiques, du fait de la faible concentration protéique du LCR, on estime que la concentration C_{LCR} est une bonne approximation de la concentration de fraction libre $C_{u,LCR}$. Chez l'animal, le LCR peut être obtenu par la mise en place d'un drain dans la grande citerne. Chez l'homme, le LCR est le plus souvent recueilli par ponction lombaire de façon intermittente ou par un drain lombaire (rarement) ou encore une dérivation ventriculaire externe (***figure 14***) de façon continue, en particulier chez des patients de réanimation.

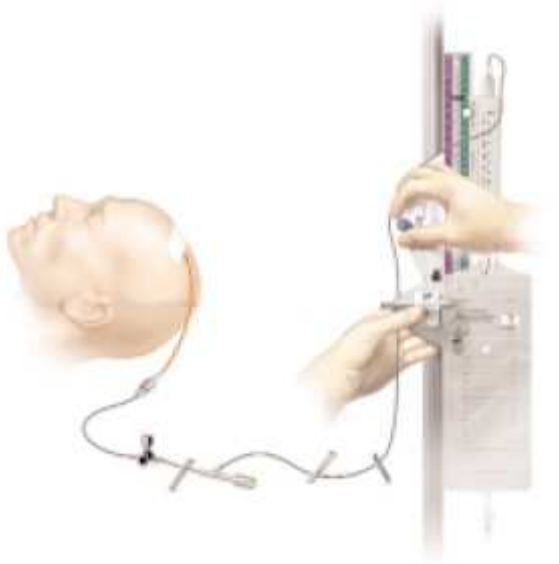


Figure 14. Système de drainage ventriculaire externe (DVE) du LCR.

Le prélèvement de LCR comporte certains inconvénients. Dans la plupart des études, il est réalisé de façon isolée et ne permet qu'un calcul du rapport des concentrations C_{LCR}/C_{plasma} dont on sait qu'il peut être très variable en fonction du délai de distribution du médicament. Par ailleurs, il existe une augmentation prouvée du risque infectieux (R Beer et al. 2008) lors de la manipulation répétée des dérivations ventriculaires. Un autre inconvénient est la modification du volume liquidien qui peut affecter l'équilibre des pressions et le gradient de

concentration entre le LEC cérébral et le LCR. Ainsi, les concentrations dans le LCR ne reflètent probablement pas les concentrations cérébrales (Liu et al. 2008). D'une part la BHL est plus perméable que la BHE à certaines substances exogènes. D'autre part, les mécanismes actifs d'influx ou d'efflux peuvent concourir à des objectifs contraires en fonction de leur localisation sur la BHE ou la BHL (De Lange et al. 2002; Fridén et al. 2009). Par exemple, les substrats de la P-gp ou de BCRP vont être dirigés à travers la BHE depuis le LEC cérébral vers le sang (efflux), alors qu'ils seront dirigés depuis le sang vers le LCR à travers la BHL (influx). Pour les molécules substrats des MRP le sens d'efflux est par contre identique pour la BHE et la BHL. En réalité, la mesure des concentrations dans le LCR des antibiotiques substrats de transporteurs d'efflux ne fournit que peu d'information sur la distribution cérébrale de ces médicaments. En outre, il existerait un gradient de concentration en fonction du site de prélèvement ventriculaire ou lombaire du LCR avec des concentrations lombaires plus élevées en raison de mécanismes de concentration du LCR à ce niveau (De Lange 2013). Pourtant, la plupart des informations de distribution des antibiotiques (notamment le céfotaxime et le métronidazole) dans le système nerveux central dont nous disposons actuellement sont issues d'études réalisées dans le LCR (***tableau 8***). Les concentrations de céfotaxime utilisées pour le traitement de méningite vont de 0,3 à 44,3 µg/mL dans les différents essais avec une majorité de concentrations entre 1 et 15 µg/mL (Asmar et al. 1985; Humbert et al. 1984; Nau et al. 1993; Brückner et al. 1982). Concernant le métronidazole, peu d'études ont été réalisées chez l'animal et l'homme (Davies 1967; Feldman 1976; Jokipii et al. 1977; O'Grady et al. 1976) en utilisant le plus souvent des méthodes de dosage microbiologiques. Les concentrations estimées dans le LCR étaient souvent proches des concentrations plasmatiques.

Tableau 8. Paramètres pharmacocinétiques des céphalosporines dans le LCR (Asmar et al. 1985; Cherubin et al. 1989; Humbert et al. 1984; Fillastre et al. 1980; Nau et al. 1993; Nau et al. 1996).

Molécule	SSC_{LCR}/SSC_{plasma}	Fixation protéique (%)	$t_{1/2}$ (h)
Cefotaxime	0,12 ±0,07	30-50	1 ,0
Ceftriaxone	0,009 ± 0,005	95	7,6-8,6
Ceftazidime	0,057 ± 0,031	5-10	1,4-2,0

La Microdialyse cérébrale

Contrairement à la BHE, la BHL est plus perméable et les modèles PK classiques utilisés pour décrire la distribution des médicaments dans le LCR ne fournissent pas d'information précise concernant la distribution dans le LEC cérébral. La microdialyse cérébrale décrite pour la première fois en 1966 permet la mesure *in vivo* des concentrations de substances endogènes et exogènes dans le liquide extracellulaire de différents tissus (Brunner et al. 2005; Dahyot et al. 2008; De Lange et al. 2000). L'objectif initial était d'introduire un capillaire artificiel dans le cerveau qui se comporterait comme un vaisseau sanguin afin de permettre l'échantillonnage de liquide interstitiel. Les systèmes actuels de microdialyse sont constitués d'une pompe de perfusion reliée au cathéter de microdialyse introduit dans le tissu et d'un collecteur d'échantillon. L'insertion du cathéter de microdialyse est réalisée lors d'une intervention chirurgicale permettant la mise en place du monitorage multimodale cérébral (mesure de pression intracrânienne, mesure de pression partielle tissulaire en oxygène). Cette procédure comporte un faible risque de complications chirurgicales (3% d'hématome et 5% d'infection). Les cathéters pour microdialyse cérébrale sont en polyuréthane avec une extrémité en or, permettant sa visualisation sur un scanner. Le cathéter est constitué de deux tubes concentriques, raccordés à un embout permettant la perfusion et le recueil de liquide (***figure 15***). La paroi extérieure du tube plus épais est une membrane semi-perméable en polyamide de 0,5 mm de diamètre pour les sondes CMA71 (CMA, Solna, Suède) ou 0,6 mm pour les sondes CMA70. Les sondes de microdialyse disponibles dans le commerce diffèrent par leur perméabilité, avec des pores de membrane de taille 100 kDa pour les grandes molécules (cytokines, fraction libre des médicaments) ou 20 kDa pour les petites molécules (lactate, le glucose, pyruvate, de l'urée). Les substances présentes dans le milieu où est introduit la sonde diffusent selon un gradient de concentration à travers la membrane de dialyse. Le cathéter est perfusé à débit constant de 0,1 à 5 ml/min avec une solution physiologique. La concentration de la molécule à étudier recueillie dans le dialysat est proportionnelle à la concentration dans le liquide interstitiel. Les débits plus faibles permettent d'augmenter le temps de diffusion et donc d'obtenir une proportion plus élevée de la substance étudiée dans le dialysat. Mais cela limite également la fréquence à laquelle les échantillons peuvent être collectés avec suffisamment de liquide pour l'analyse. Un

échantillonnage plus fréquent est possible avec des débits plus élevés, mais la concentration dans le dialysat est alors faible voire indétectable. Le choix du débit de perfusion est donc important en fonction de l'intervalle d'échantillonnage souhaité et de la sensibilité de la méthode d'analyse disponible.

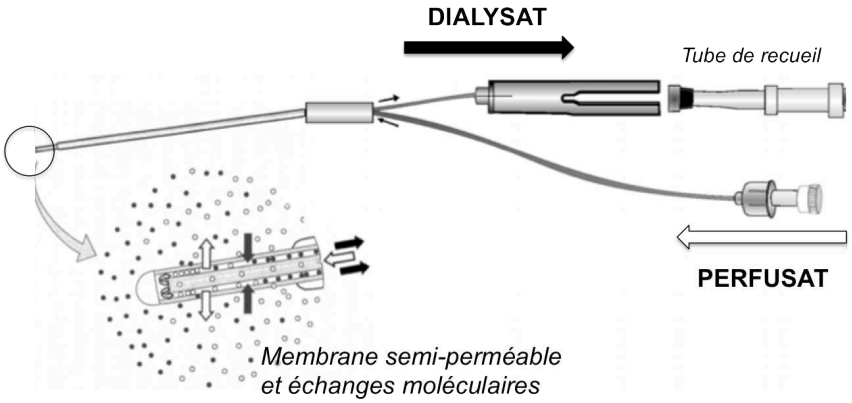


Figure 15. Principe schématique d'une sonde de microdialyse.

L'avantage de la microdialyse est d'obtenir un dialysat dans lequel on peut estimer la concentration libre $C_{u,LEC}$ (parfois notée C_{out}) d'un médicament puisque c'est la seule fraction diffusible à travers la membrane de la sonde.

Comme pour les autres techniques, la microdialyse cérébrale a des limites (***tableau 9***). La résolution spatiale est restreinte à quelques millimètres cubes, elle ne fournit d'informations que sur les modifications locales de la région tissulaire autour du cathéter. Le processus de dialyse lui-même peut diluer les concentrations locales des solutés capables de diffuser à travers la membrane. Par ailleurs, une partie du liquide de perfusion peut diffuser dans les tissus, ce qui augmente artificiellement la concentration de la substance étudiée dans le liquide recueilli. La diffusion à travers la membrane dépend donc d'un certain nombre de facteurs, notamment des propriétés de la membrane elle-même, des propriétés du liquide de dialyse, et de l'intégrité des tissus autour de la sonde. Cette diffusion peut être affectée par la présence d'inflammation tissulaire, par la nature tumorale du tissu, par des lésions hémorragiques parenchymateuses cérébrales ou un hématome lié à l'insertion de la sonde. Ainsi, des variations du rendement de la sonde peuvent s'observer.

- *Rendements des sondes*

Seule une certaine proportion de la molécule étudiée diffuse à travers la membrane de la sonde de microdialyse. Le rapport entre les concentrations de la molécule étudiée dans le dialysat et dans le liquide interstitiel est appelé rendement (R) (équation 3). Lors de l'étude de substances endogènes, il n'est pas essentiel de mesurer la concentration réelle dans le tissu car elle est souvent comparée à une valeur initiale, ce qui permet un suivi des variations. En revanche, lorsque l'on étudie la distribution de substances exogènes, il est important de quantifier leurs concentrations réelles dans le LEC (Staahle 2000; Bouw et al. 1998; Brunner et al. 2002; De Lange et al. 1997). L'estimation du rendement relatif *in vivo* permet la correction des concentration brutes pour obtenir la concentration réelle.

$$C_{LEC} = \frac{C_{dialysat}}{R} \qquad (3)$$

Les études comparatives de rendements *in vivo* et *in vitro* ne montrent pas de corrélation significative (Notkina et al. 2012). Cela suppose que l'estimation du rendement de la sonde doit être *in vivo* pour chaque individu (Sawchuk et al. 2000; Dahyot et al. 2008). La méthode d'estimation des rendements *in vivo* consiste, avant ou après les prélèvements pour l'étude PK, a quantifier la perte d'une molécule contenue dans le liquide de perfusion de la sonde (par exemple l'antibiotique étudié). Il s'agit d'une estimation du rendement « par perte ».

Les principales méthodes d'estimation des rendements sont :

- **Méthode no-net-flux**, basée sur le calcul de la différence entre la concentration C_{in} d'une substance dans le perfusat (liquide entrant) et C_{out} de dialysat (liquide sortant). Lorsque la différence devient nulle, la concentration est considérée comme étant celle du liquide interstitiel. Cette méthode est le «gold standard», mais nécessite la répétition des échantillons à l'équilibre.

- **La méthode d'extrapolation à débit nul** implique la mesure de la concentration dans le dialysat à différents débits de perfusion puis à l'équilibre. On extrapole alors pour un débit nul. Cette approche nécessite des temps d'équilibre très longs entre les prélèvements et n'est pas facilement applicable lors d'études pharmacocinétiques.

- **La retrodialyse-by-drug** est une technique qui nécessite la perfusion de la sonde avec la substance étudiée (à une concentration C_{in} connue) jusqu'à l'équilibre dans le milieu tissulaire. Le rendement est calculé à partir de la différence entre les concentrations C_{in} et la concentration dans le dialysat (C_{out}) de la molécule étudiée. Cette technique est très utilisée dans les études pharmacocinétiques, mais l'estimation des rendements doit être réalisée soit avant l'étude pharmacocinétique, soit à l'état d'équilibre.

$$R = \frac{C_{in} - C_{out}}{C_{in}} \qquad (4)$$

De nombreuses études utilisant la microdialyse pour l'exploration de la distribution tissulaire des antibiotiques ont été réalisées au cours des deux dernières décennies (Notkina et al. 2012). Celles-ci ont principalement intéressé les antibiotiques utilisés lors d'infections des tissus mous (poumons, tissu adipeux, muscle). Cependant, il existe peu d'études pharmacocinétiques de microdialyse s'intéressant à la distribution cérébrale des antibiotiques, notamment du fait du caractère invasif de la technique (Mindermann et al. 1998; Dahyot-Fizelier et al. 2010; Caricato et al. 2006; Poeppl et al. 2012; Wang et al. 2008). L'utilisation croissante de la microdialyse cérébrale pour le suivi clinique des patients en neuroréanimation offre de nos jours la possibilité de caractériser cette distribution cérébrale des antibiotiques chez l'homme.

Tableau 9. Avantages et inconvénients de la technique de microdialyse.

Avantages	Inconvénient
Déterminer la **concentration libre** d'une substance endogène ou exogène dans un tissu	Nécessite **l'estimation individuelle du rendement**
Peut être utilisée **dans la plupart des tissus**	Peut causer des dommages tissulaires affectant les résultats
Permet des **mesures multiples et répétées**, y compris chez les petits mammifères	Les faibles volumes de liquide recueillis obligent à l'utilisation de technique de mesure très sensibles
Peut être utilisée chez des animaux conscients	Nécessite un apprentissage et une **mise en œuvre complexe**
Pas de purification ou d'extraction nécessaire des échantillons	Technique **coûteuse**

Des études réalisées chez l'animal ont contribué à préciser certaines notions. Elles ont confirmé les principes physiologiques qui limitent la pénétration des médicaments dans le

système nerveux central en raison de la présence des barrières (BHE et BHL). Chez le rat, la distribution cérébrale de la norfloxacine a été étudiée par microdialyse. Les concentrations de fraction libre du médicament étaient dix fois plus faibles dans le LEC que dans le plasma (Chenel et al. 2003). Une autre étude chez le rat a montré que la diffusion de l'amoxicilline dans le tissu cérébral était vingt fois plus faible dans le cerveau par rapport au plasma (Tsai 2001). Une étude chez le rat s'est intéressée à la distribution de la ceftriaxone et du ceftazidime (Granero et al. 1995), deux céphalosporines de troisième génération utilisées pour le traitement des méningites. Des cathéters de microdialyse étaient insérés dans deux régions différentes du cerveau et un recueil simultané du LCR était réalisé. A l'équilibre après l'administration intraveineuse des antibiotiques, les concentrations de ceftriaxone étaient similaires dans les LEC et le LCR mais ne représentaient que 0,1% de la concentration plasmatique. Concernant la ceftazidime, les concentrations dans le LEC étaient significativement plus faibles que dans le LCR (moyenne de 2,1 µg/mL dans le parenchyme contre 3,8 µg/mL dans les ventricules). La demi-vie dans le tissu cérébral était également plus longue que la demi-vie plasmatique (88,5 contre 24,4 min). Ces différences entre deux molécules d'une même famille s'expliquaient selon les auteurs par une différence en termes d'affinité pour des transporteurs d'influx ou d'efflux présents sur les barrières cérébrales.

Chez l'homme, la vancomycine (Wang et al. 2008) est retrouvée à des concentrations tissulaires dépassant la CMI (2 mg/L) du *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline après une seule injection intraveineuse post-opératoire en neurochirurgie. Alors que les concentrations libres dans le LEC cérébral restent à des niveaux insuffisants (1,2 µg/mL) chez des patients opérés d'un hématome intra-cranien et monitorés par microdialyse dans des zones péri-contusionnelles cérébrale (Caricato et al. 2006). Chez deux patients de réanimation victimes d'un traumatisme crânien grave, les concentrations libres de méropenème (prescrit pour le traitement d'une pneumopathie nosocomiale) ont été mesurées par microdialyse, technique alors utilisée pour la surveillance métabolique clinique (Dahyot-Fizelier et al. 2010). Les concentrations libres de méropénème dans le LEC cérébral étaient inférieures aux concentrations plasmatiques avec des rapports des $SSC_{cerveau}/SSC_{plasma}$ de 0,14 et 0,78. De plus les Cmax cérébrales étaient décalées vers la droite, témoignant d'une distribution tissulaire retardée. L'étude de la distribution cérébrale du doripénème a été réalisée à l'équilibre par microdialyse chez cinq patients de neuroréanimation traités pour une

pneumopathie (Poeppl et al. 2012). Le rapport des concentrations libres exprimé par $SSC_{cerveau}/SSC_{plasma}$ était de 0,17 chez un patient et 0,01 pour les quatre autres patients. Comme tous les carbapénèmes, le doripénème est un antibiotique temps-dépendant et le T>CMI peut être utilisé pour prédire l'activité antibactérienne. Il était supérieur à 35% seulement pour les germes avec des CMI ≤ 0,05 mg/L. Ainsi, le doripénème pourrait être utile dans le traitement des infections cérébrales causées par Staphylococcus aureus sensible à la méticilline (CMI = 0,06 mg/L) ou Escherichia coli productrices de bêtalactamase (CMI = 0,06 mg/L). Cependant, ces concentrations cérébrales observées montrent que les infections avec des souches avec des CMI<1 mg/L, ne serait pas correctement traitées par cet antibiotiques, a fortiori si l'on se base sur les concentrations plasmatiques. Une limite de cette étude est la correction des concentrations des dialysats par un rendement *in vivo* obtenu dans le tissu musculaire (38%) et non cérébral. On peut d'ailleurs reprocher à la plupart des études de n'avoir déterminer les rendements de sonde dans le cerveau chez chaque patient. Les principales études ayant utilisé la microdialyse pour estimer la distribution des antibiotiques dans le système nerveux central chez l'animal et l'homme sont présentées dans le ***tableau 10***.

Tableau 10. Etudes de la distribution des antibiotiques par microdialyse dans le tissu cérébral.

Etude	Antibiotique	Sujets	Tissue	Résultats
Chenel 2003	Norfloxacine	Rats	LEC	Concentrations plasma 10 fois supérieures au cerveau
Tsai 2001	Amoxicilline	Rats	LEC	Concentrations plasma 20 fois supérieures au cerveau
Granero 1995	Ceftriaxone ; Ceftazidime	Rats	LEC et LCR	Ceftriaxone : concentrations similaires dans le LEC et le LCR; Ceftazidime : Concentrations LEC plus faibles que LCR
Wang 2008	Vancomycine 1g	**n=19** patients chirurgie	LCR	Bonne diffusion dans le LCR. Concentration>CMI pour SAMR plus de 14h
Caricato 2006	Vancomycine 500mg	**n=4** patients traumatisme crânien	Tissu cérébral pericontusionel	Concentration dans le cerveau < CMI pour Staphylococcus
Mindermann 1998	Rifampicine 600mg	**n=8** patients tumeur cérébrale	Tissu tumoral et sain LEC	Concentration les plus élevées dans tissu peritumoral > LEC > tissu sain.
Dahyot-Fizelier 2010	Méropenème	**n=2** patients traumatisme crânien	LEC	Distribution retardée dans LEC; $SSC_{cerveau}/SSC_{plasma}$= 0,14 et 0,78
Poeppl 2012	Doripénème	**n=5** patients traumatisme crânien	LEC	$SSC_{cerveau}/SSC_{plasma}$ =0,01 (sauf 1 patient:0,17) T>CMI=35% (CMI 0,05 µg/mL)

Conclusion

Les particularités des molécules étudiées et les méthodes d'obtention des prélèvements tissulaires et liquidiens chez l'homme ou chez l'animal rendent complexe la comparaison des résultats. Il est relativement simple d'obtenir des échantillons de LCR mais pas le LEC. La microdialyse cérébrale utilisée chez les patients de neuroréanimation pour le monitorage métabolique offre l'opportunité d'estimer des concentrations libres d'antibiotique dans le LEC cérébral au cours d'une étude pharmacocinétique complète. L'association et la comparaison à des données obtenues dans le LCR par une dérivation ventriculaire externe peuvent permettre de modéliser les relations entre les deux milieux.

4 Etude de la distribution du céfotaxime

- Microdialysis study of cefotaxime cerebral distribution in patients with acute brain injury

  Dahyot-Fizelier et al. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2013 Jun;57(6):2738–2742*

- Brain microdialysis distribution study of cefotaxime in a patient with traumatic brain injury

  Frasca et al. *British Journal of Anaesthesia 2012 Nov;109:830–831*

- Pharmacocinétique du céfotaxime dans le liquide céphalorachidien de patients porteurs d'une dérivation ventriculaire externe

  Frasca et al. *Résultats préliminaires*

Microdialysis study of cefotaxime cerebral distribution in patients with acute brain injury

Claire Dahyot-Fizelier[1,2,3], Denis Frasca[1,2,3], Nicolas Grégoire[1,2], Christophe Adier [1,4], Olivier Mimoz[1,2,3], Bertrand Debeane[1,2,3], William Couet[1,2,4], Sandrine Marchand[1,2,4]

[1]Inserm U1070, Pole Biologie Santé, 1 Rue Georges Bonnet, 86000 Poitiers, France

[2] Université de Poitiers, UFR Médecine-Pharmacie, 6 rue de la Milétrie, 86000 Poitiers, France

[3]Service d'Anesthésiologie-Réanimation Chirurgicale, CHU Poitiers, 2 rue de la Milétrie, 86000 Poitiers, France

[4]Service de Toxicologie-Pharmacocinétique, CHU Poitiers, 2 rue de la Milétrie, 86000 Poitiers, France

Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2013 Jun;57(6):2738–2742

PMID: 23571541

© 2013 American Society for Microbiology.

RESUMÉ

La distribution des antibiotiques dans le système nerveux central (SNC) a été principalement décrite à partir des données obtenues dans le liquide céphalo-rachidien. Peu de données existent dans le liquide extracellulaire cérébral, site des infections du SNC. Le but de cette étude était d'évaluer par microdialyse la distribution cérébrale du céfotaxime chez des patients de réanimation pour une agression cérébrale aiguë, traités lors d'une pneumopathie (2g/8h). Les sondes de microdialyse ont été introduites dans le tissu cérébral sain de cinq patients. Les concentrations plasmatiques et cérébrales libres ont été déterminés à l'équilibre par chromatographie en phase liquide à haute performance. Les rendements in vivo ont été déterminés individuellement par retrodialyse. Une analyse pharmacocinétique non-compartimentale et une modélisation avec trois compartiments ont été réalisées. Les concentrations cérébrales moyenne de céfotaxime libres étaient plus faibles que les concentrations plasmatiques correspondantes avec un rapport des surfaces sous-courbes à 26,1 ± 12,1%. Ce résultat est en accord avec les rapports de clairances d'entrée et de sortie dans le tissu cérébral ($CL_{in,brain}$et $CL_{out,brain}$) obtenus par modélisation. Une simulation des concentrations cérébrales libres a été réalisée pour deux schémas posologiques (4g toutes les 6h ou 8h) utilisés lors du traitement de méningite bactérienne et le temps supérieur à la concentration minimale inhibitrice (T>CMI) a été estimé pour les CMI de *Streptococcus pneumoniae* sensible et résistant. Ainsi, T>CMI était supérieur à 90% de l'intervalle d'administration pour les deux schémas posologiques des souches sensibles mais seulement pour le schéma 4 g toutes les 6h des souches résistantes. L'étude par microdialyse a permis de confirmer que la distribution cérébrale du céfotaxime est limitée.

ABSTRACT

Central nervous system (CNS) antibiotic distribution was described mainly from cerebrospinal fluid data, and only few data exit on brain extracellular fluid concentrations. The aim of this study was to describe brain distribution of cefotaxime (2g/8h) by microdialysis in patients with acute brain injury who were treated for a lung infection. Microdialysis probes were inserted into healthy brain tissue of five critical care patients. Plasma and unbound brain concentrations were determined at steady-state by high performance liquid chromatography. In vivo recoveries were determined individually using retrodialysis by drug. Non compartmental and compartmental pharmacokinetics analyses were performed. Unbound cefotaxime brain concentrations were much lower than corresponding plasma concentrations, with a mean cefotaxime unbound brain-to-plasma area under the curve ratio equal to 26.1 ± 12.1%. This result was in accordance with the brain input-to-brain output clearances ratio ($CL_{in,brain}/CL_{out,brain}$). Unbound brain concentrations were then simulated at two dosing regimens (4g every 6h or 8h) and the time over the MICs (T>MIC) was estimated for breakpoints of susceptible and resistant *Steptococcus pneumonia* strains. T>MIC was higher than 90% of the dosing interval for both dosing regimens for susceptible strains and only for 4 g every 6h for resistant ones.

In conclusion, brain distribution of cefotaxime was well described by microdialysis in patients and was limited.

INTRODUCTION

Cefotaxime is a third-generation extended-spectrum cephalosporin and is recommended as an empirical therapy for bacterial meningitis, ventriculitis, and cerebral abscesses associated with metronidazole (1, 2). One of the limits of this urgent treatment is its central nervous system (CNS) penetration. The mechanism of penetration of microbial pathogens in the CNS remains unclear in bacterial meningitis (3), and it has been shown that some bacteria usually implicated in such infection could have the ability to bind and cross the vascular endothelium of the blood-brain barrier (BBB) (4). The exact location of bacteria in meningitis is still unclear. Few studies, limited to investigations in cerebrospinal fluid (CSF), were performed (5–8), and they found a low central distribution of cefotaxime (5, 6). In humans, the easiest way to study antibiotic penetration into CNS is to measure the concentration in CSF from lumbar puncture or external ventricular drainage. CSF concentrations are usually considered a good surrogate for brain target site concentrations (9). However, qualitative differences, such as anatomy, enzymatic activity, or bulk flow, exist between the BBB and blood-CSF barrier (BCSFB) (9), which could result in differences of drug distribution between CSF and brain extracellular fluid (ECF).

Intracerebral microdialysis is one of the *in vivo* techniques allowing brain ECF sampling to study ECF distribution of exogenous compounds, such as antibiotics. In humans, feasibility issues of brain microdialysis restrict its use, and this technique concerns only patients who require surgery for brain tumor resection (10) or cerebral metabolism monitoring in neurointensive care units (11). The main advantage in intracerebral microdialysis is to measure continuously brain unbound concentrations as a function of time; the comparison of these brain concentrations with unbound plasma concentrations may provide information on drug transport across the BBB (12).

The main goal of this study was to explore cerebral ECF distribution of cefotaxime in patients with acute brain injury by comparing unbound concentrations in brain and plasma.

MATERIALS AND METHODS

Patients

This study was performed in the neurointensive care unit at University Hospital of Poitiers (France) in accordance with the Declaration of Helsinki (Edinburgh, Scotland; October 2000) and was approved by the local ethics committee (CPP OUEST III, protocol no. 2008-003311-12). Written informed consent was obtained from a legal representative of the five patients enrolled. Patients (1 woman, 4 men), 39 to 67 years old, were brain injured, sedated with midazolam and fentanyl, and mechanically ventilated. The demographic characteristics are detailed in Table 1. All received cefotaxime (Panpharma, Fougères, France) for the clinical management of a lung infection at a dosing regimen of 2 g three times per day. The exclusion criteria were a renal failure (calculated creatinine clearance of <5 ml.min^{-1}) and cefotaxime contraindication. Routine monitoring for acute brain injury included brain-specific monitoring of intracranial pressure (ICP) (Microsensor ICP monitoring system; Codman & Shurtleff, Inc., Raynham, MA), measurement of the partial pressure of oxygen in brain tissue (PbO_2) (Licox; Integra Neurosciences, Lyon, France), and cerebral microdialysis (CMA-70 [20 kDa]; CMA, Stockholm, Sweden) for determination of metabolism parameter concentrations.

Microdialysis probe implantation

Upon admission in the unit (day 0), patients were equipped with microdialysis probe, ICP, and PbO_2catheters for clinical indications. All were inserted through a single triple lumen bolt (Licox; Integra Neuroscience, Lyon, France) in healthy brain tissue, confirmed by a routine computed tomography scan (CT scan) performed on day 2. After insertion, the microdialysis probe was perfused with CNS perfusion fluid (CMA, Stockholm, Sweden) using a microdialysis pump (CMA-106; CMA, Stockholm, Sweden) at a flow rate of 0.3 µl.min^{-1}.

Table 1. Demographic patient characteristics

Patient	1	2	3	4	5
Age (yrs)	64	43	56	39	67
Height (cm)	172	164	180	175	175
Weight (kg)	85	58	85	95	100
Creatinin clearance ($ml.min^{-1}$)	166	193	146	187	143
Serum albumin ($g.l^{-1}$)	28.9	28.0	30.0	28.4	24.4
Serum total proteins ($g.l^{-1}$)	52.0	51.5	60.0	52.8	52.0
Diagnostis[a]	TBI	TBI	SAH	TBI	SAH
No. of cefotaxime doses before study	14	9	9	5	9
Corticotherapy ($3 \times 1 mg.kg^{-1}.d^{-1}$)	no	yes	yes	no	no

[a]TBI: trauma brain injury; SAH: subarachnoid haemorrhage.

Drug administration and samplings

Cefotaxime brain pharmacokinetic study was conducted at the steady state between days 3 and 5, after 5 to 14 cefotaxime administrations. After collection of baseline dialysates and blood samples, 2 g of cefotaxime was infused over 0.5 h. Brain dialysates were collected over a maximum period of 9 h at 30-min intervals during the first 3 h and at 1-h intervals for the rest of experiment. Seven to nine blood samples were collected on heparinized Vacutainers over 8 to 10 h, maximum. Blood samples were centrifuged at 2,000 $\times g$ for 15 min at 4°C, and plasma was collected to determine total cefotaxime concentrations. Two blood aliquots for each patient were used to determine unbound plasma concentrations of cefotaxime. The first blood sample was chosen at early time (between 0.25 h and 0.75 h after the beginning of infusion), and the second at the end of pharmacokinetic experiment (between 6 and 10 h).

Blood was centrifuged, and plasma was then ultrafiltrated (Centrifree; Millipore Corporation, Billerica, MA) at 2,500 ×*g* for 15 min at 4°C. Directly after collection, dialysates, ultrafiltrate (UF), and plasma samples were kept at -80°C until analysis.

Recovery calculations

For each patient, *in vivo* probe recovery was determined using retrodialysis by drug over 2.5 h at the end of the experiment, as previously described (12, 13). The next cefotaxime injection was delayed to perform the recovery estimation. Briefly, the microdialysis probe was perfused with 20 µg.ml^{-1} solution of cefotaxime in CNS perfusion fluid, and after a 1-h equilibration period, three 30-min interval dialysates were collected. Cefotaxime concentrations were determined in the perfusate (Cin) and in dialysates (Cout). The *in vivo* relative recovery by loss was calculated for each dialysate collected, and the mean value was used to correct dialysate concentrations for pharmacokinetic calculations (13). In the present study, because the cefotaxime residual unbound concentration in the brain was always estimated as less than 1% of cefotaxime concentration administered in probe (Cin), this concentration was not taken into consideration to estimate recovery like it could be previously performed (14).

Cefotaxime assay

Cefotaxime concentrations were determined by high-performance liquid chromatography with UV detection. The chromatographic system consisted of a Xterra C_{18} column (150- by 3.8-mm internal diameter [i.d.]; France), a Hitachi pump L-2130 (VWR, Fontenay sous bois, France), and a Hitachi L-2200 autosampler (VWR, Fontenay sous bois, France) connected to a UV detector (Schimadzu SPD 10A; Marne la Vallée, France) at 235 nm. Data were recorded and analyzed on an EZChrom integrator (VWR, Fontenay sous bois, France). The mobile-phase consisted of a solution of KH_2PO_4 0.01 M mixed with acetonitrile (86:14 [vol/vol]) at a flow rate of 0.4 ml.min^{-1}. Brain dialysates and UF samples were injected directly after dilution with an internal standard solution of dimetridazole (0.5 ng.ml^{-1}). A seven-point calibration standard curve with concentrations between 0.2 and 40 µg.ml^{-1}was performed. The dialysates and UF cefotaxime intra- and interday variability were, respectively, characterized at four (0.2, 0.5, 5, and 40 µg.ml^{-1}) and three (0.5, 5, and 30

µg.ml^{-1}) levels of concentrations, respectively, and were always lower than 15%. Plasma samples (100 µl) were treated by the addition of 200 µl of acetonitrile containing internal standard (2.5 µg.ml^{-1}) for deproteinization. A seven-point calibration standard curve was prepared with concentrations between 1 and 80 µg. ml^{-1}. The plasma intra- and interday variability were, respectively, characterized at four (1, 2, 10, and 80 µg.ml^{-1}) and three (2, 10, and 60 µg.ml^{-1}) levels of concentrations and were always lower than 20%.

Pharmacokinetic analysis

Ratios of cefotaxime concentrations in ultrafiltrate on corresponding total plasma concentrations allow for the obtainment of two individual unbound fraction values (fu) of cefotaxime for each patient. A mean was then determined and was used to convert total concentrations into unbound concentrations. Pharmacokinetic parameter values were estimated from unbound plasma and ECF brain un- bound concentrations by individual noncompartmental analysis (NCA) and compartmental analysis (Phoenix WinNonlin 6.2; Pharsight).

Noncompartmental analysis

The areas under the plasma and brain ECF unbound concentration-time curves from dosing time to dosing interval (τ) (AUC0-τ) were calculated using the linear trapezoidal rule. The elimination rate constant k_{el} and corresponding half-lives ($t_{1/2}$) were determined by least-squares fit of data points (log concentration time) in the terminal phase of the decline. Steady-state unbound body clearance of cefotaxime ($CL_{ss,u}$) and volume of distribution ($V_{ss,u}$) were calculated according to standard procedures.

Compartmental analysis parameters

The compartmental analysis was performed in two steps as previously described (12). Briefly, unbound plasma drug concentration-time data were first analyzed using a two-compartment model. Plasma parameters estimated were then fixed to fit brain data. The brain was represented as a compartment characterized by a volume (V_b), which was fixed as a constant corresponding to 1% of the volume of distribution (15). This brain compartment was also characterized by brain input clearance ($CL_{in,brain}$) and brain output clearance ($CL_{out,brain}$) (Fig.

1). However, due to the small size of the brain, unbound plasma drug concentrations govern brain unbound drug concentrations but not the reverse. Therefore, drug transport into and out of the brain can be modeled with elimination from the brain, which does not influence plasma drug concentrations (15).

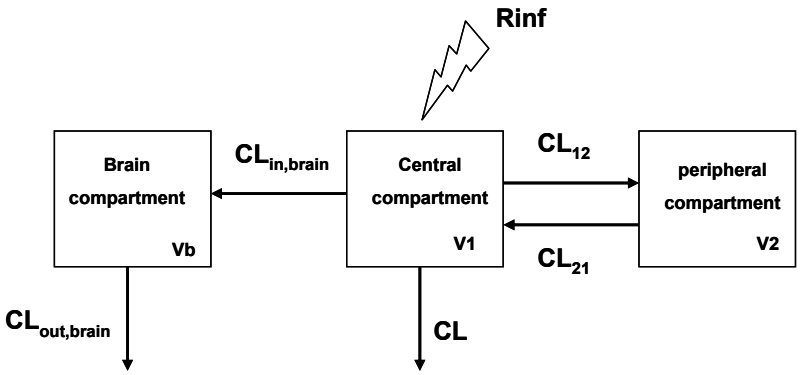


Figure 1. Pharmacokinetic model. V1, V2 and Vb correspond to respective volumes of central, peripheral and brain compartments. CL12 and CL21 represent distribution clearances between central and peripheral compartments, $CL_{in,brain}$ and $CL_{out,brain}$, the brain input and output clearances. Rinf is the rate of infusion (2g over 30min).

Cefotaxime dosing regimen simulations

Mean cefotaxime unbound concentrations in brain were simulated after multiple administrations at two dosing regimens, 4g every 6h (16g per day) and 4g every 8h (12g per day), considering that the drug was infused at a constant rate over 30 min using Berkeley Madonna software, version 8.3.18. (University of California, Berkeley, CA). Simulations were performed using mean unbound plasma pharmacokinetic parameters and mean brain clearances ($CL_{in,brain}$ and $CL_{out,brain}$) obtained from the five patients. Simulated unbound brain ECF concentrations were then compared with MIC values equal to 0.5 and 2 $\mu g.ml^{-1}$, corresponding to susceptible and resistant MIC breakpoints for *Streptococcus pneumoniae* (16). The time during which cefotaxime unbound concentrations in brain exceeded the MIC (T>MIC) was determined for each dosing regimen and MIC. T>MIC was expressed as a percentage of the dosing interval.

Statistical analysis

Results are expressed as means ± standard deviations (SD). Half-life and mean maximum unbound concentration values in plasma and brain were compared by a non-parametric Wilcoxon test at a significance level of P values of <0.05.

RESULTS

The *in vivo* probe recoveries estimated were ranging between 37.6 ± 0.1% and 54.8 ± 0.2%. The estimated mean unbound fraction of cefotaxime in plasma (fu) was ranging between 47.4 ± 3.3% and 68.0 ± 10.3% and did not seem affected by concentrations. Unbound cefotaxime concentration-time curves in the brain were below the corresponding curves in plasma and shifted to the right ($t_{max,brain}$ = 1.35 ± 0.25 h). Mean maximum unbound concentration in brain ($C_{max,ub}$ = 4.5 ± 1.7 µg.ml^{-1}) was about 10-fold and significantly lower than the corresponding value in plasma ($C_{max,up}$ = 52.1 ± 13.7 µg.ml^{-1}) (Fig. 2). The mean cefotaxime unbound brain-to-plasma AUC ratio was then equal to 26.1 ± 12.1%. Pharmacokinetic parameters obtained by NCA are presented in Table 2.

Table 2. Pharmacokinetic parameters obtained by non compartmental analysis in patients after a 30-min intravenous infusion of 2 g of cefotaxime administered every 8 h[a]

Patient	$Vd_{ss,u}$ (liters)	$CL_{ss,u}$ (liters/h)	$t_{1/2}$ plasma (h)	$t_{1/2}$ brain (h)	Brain ECF-free plasma AUC ratio
P1	51.4	29.2	2.0	2.9	0.278
P2	40.0	27.4	2.1	3.3	0.119
P3	55.0	33.7	1.7	0.7	0.154
P4	88.6	68.2	1.5	1.9	0.383
P5	42.5	36.1	1.6	2.0	0.369
Mean	55.5	38.9	1.8	2.2	0.261
SD	20.9	19.2	0.3	1.2	0.121

[a] individual and mean (±SD) results are presented.

The pharmacokinetic model provided adequate data fitting both in plasma and in brain (Fig. 2). Estimations of $CL_{in,brain}$ and $CL_{out,brain}$ were good, with precision on parameters (CV%) always lower than 20%. For all patients, estimated $CL_{in,brain}$ was always lower than $CL_{out,brain}$, and a mean corresponding ratio of $CL_{in,brain}$to $CL_{out,brain}$ equal to 33.1 ± 15.8 (from 13.4 to 52.0) was consistent with the mean brain-to-plasma AUC ratio of 26.1 ± 12.1% (11.9 to 38.3%) estimated by non compartmental analysis.

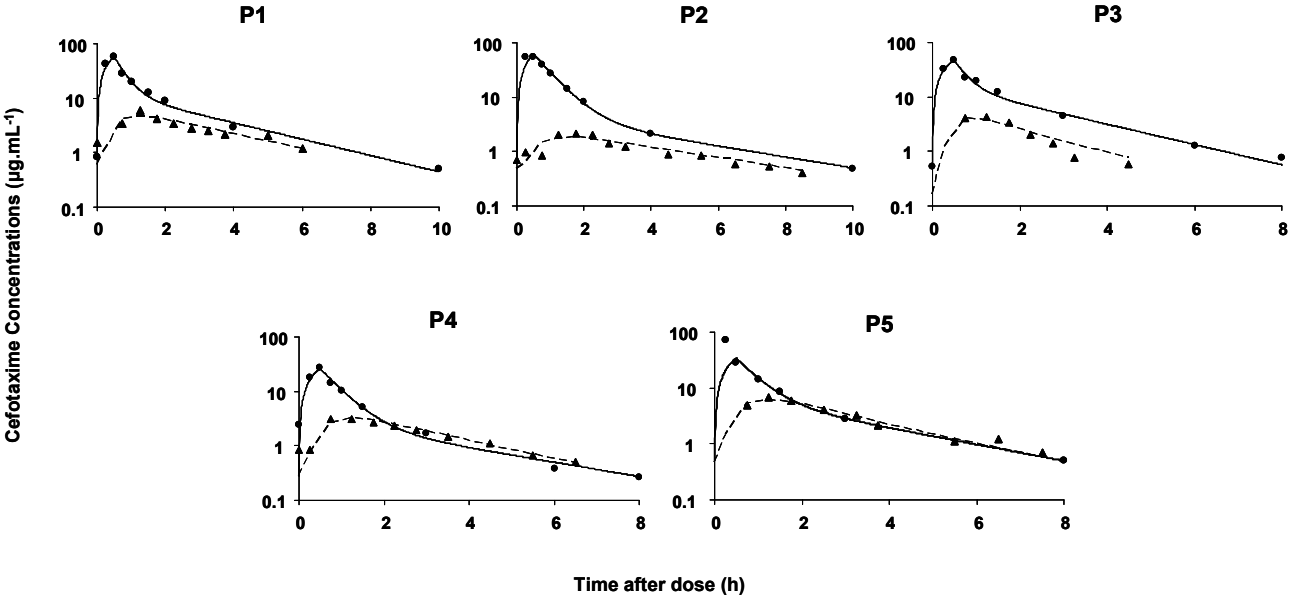


Figure 2. Individual plasma and brain cefotaxime concentrations versus time in five patients after a 30-min intravenous infusion of 2 g of cefotaxime administered every 8 hours. (•) Experimental unbound concentrations in brain obtained by microdialysis. (▲) Experimental unbound concentrations in plasma. Full and dashed lines represent respectively estimate concentrations in plasma and in brain by the pharmacokinetic model.

DISCUSSION

In the present study, cefotaxime unbound clearance corrected by fu was almost the same as previous values in healthy volunteers (240 ml.min^{-1} or 14.4 liters.h^{-1}) (17), but patients in this study had a well-preserved renal function (Table 1 and 2). Unbound volume of distribution at steady state was relatively high (55.5 ± 20.9 liters), probably due to an increased extracellular water volume traditionally observed in critical care patients. The mean cefotaxime fu of 59.4% in the present study was in accordance with previous *in vitro* results in which a mean cefotaxime fu of 63% was found (17).

In vivo probe recovery determination is necessary for pharmacokinetic studies. In the present study, it was evaluated in each patient by the *in vivo* retrodialysis-by-drug method to adequately estimate cefotaxime brain ECF concentrations (12). Probe recoveries were ranging between 37.6 ± 0.1% and 54.8 ± 0.2%; in practice, a 20% *in vivo* recovery is usually as satisfactory for precise correction (18). Probe recoveries in this study were higher than those estimated in our previous investigation on meropenem brain distribution in two critical care patients (19% ± 7% and 29% ± 7%), even though larger cutoff probes (CMA 71, 100 kDa), were used with the same flow rate (12).

Brain distribution of antibiotics using microdialysis has been reported only in rare occasions with various molecules, including vancomycin, rifampin, fosfomycin, doripenem, and meropenem (12, 19–22). *In vivo* recovery was estimated in only two occasions, either by no net flux (12) or by retrodialysis by drug (20). In each of these studies, free brain-to-plasma AUC ratios were estimated lower than unity, attesting to the limited brain distribution of these antibiotics. However, without precise probe recovery estimation, these should be interpreted very carefully.

The present study is the first one to investigate cefotaxime extracellular brain concentrations by microdialysis. Previous studies in human have explored only cefotaxime distribution in cerebrospinal fluid (CSF) (5–8). Among them, two in adults (5, 6) and one in children (7) reported CSF-to-plasma AUC ratios lower than 20%, indicating poor penetration of cefotaxime in CSF as re- ported now in brain (26.1 ±12.1% in the present study). It is well established that physicochemical properties lead partly to compound distribution in the CNS and that a low molecular size, an appropriate lipophilicity, and a large amount of nonionized

form facilitate compound penetration in brain (23). Cefotaxime exhibits a relatively low molecular mass (425.5 kDa), an intermediate protein binding, and a moderate lipophilicity, and it is a weak acid with a pKa at 3.4, meaning that at pH 7.4 most of cefotaxime is ionized, which should restrict its penetration in CNS. But limited cefotaxime CNS penetration should be explained mostly by active transport systems located on barriers between blood and CNS, like the blood-brain barrier (BBB) and the blood-CSF barrier (BCSFB). Some β-lactam antibiotics were shown to be trans- ported *in vitro* or *in vivo* by different transporters, like organic anion transporter 3 (OAT-3), peptide transporter 2 (PEPT-2), and multidrug-resistant associated protein 4 (MRP4) (24–26). Among these transporters, MRP4 is present at the luminal side of both brain capillary endothelial cells and epithelial cells of choroid plexus (blood sides) (9). Cephalosporins were shown to have a high *in vitro* affinity for MRP4 transporters, with ceftriaxone exhibiting one of the highest affinities, but cefotaxime was not tested (24). OAT-3 is both expressed in the brush border membrane of choroid plexus (9, 27) and at the brain level of the BBB (9, 27, 28) and is involved, with coactivation of transporters localized at the blood level, in drug efflux from CNS to blood (25). PEPT-2 is present at the apical (luminal) side of the choroidal epithelium (29), but its presence was not described in endothelial cells of the BBB (30). In the present study, the cefotaxime active transport out of brain ECF was responsible for higher brain efflux clearances ($CL_{out,brain}$) than influx clearances ($CL_{in,brain}$) estimated in all patients. In fact, if only passive diffusion processes were involved in cefotaxime brain distribution, $CL_{in,brain}$ and $CL_{out,brain}$ should be equal (13). Higher $CL_{out,brain}$ than $CL_{in,brain}$ values explain the lower cefotaxime unbound brain ECF than unbound plasma concentrations observed in the present study, with a mean brain-to-plasma AUC ratio equal to 26.1 ± 12.1% (13).

Cefotaxime, like other β-lactams, is a time-dependent agent, meaning that efficacy is correlated with the time during which concentrations are over the MIC (T>MIC). Cefotaxime in the present study was administered at a usual dose to treat lung infection due to mechanical ventilation in critical care patients (2 g every 8 h). However, traditional cefotaxime dose regimens for treatment of bacterial meningitis are 4 g every 6 h or 4 g every 8 h for adults (31), and the major issue in the treatment of bacterial meningitis is the risk of antibiotherapy failure. Consequently, simulations of mean brain ECF concentrations were performed from mean patient pharmacokinetic parameters using cefotaxime doses used in

meningitis treatment. The simulated cefotaxime brain concentrations in the present study were consistent with those previously observed in a critical care patient treated by cefotaxime at the meningitis dose (4 g three times per day) (32). The experimental C_{max} observed in this patient (11.4 µg.ml^{-1}) was close to the present simulated value for the same dosing regimen (8.7 µg.ml^{-1}). Considering MIC breakpoints of *Streptococcus pneumoniae*, T>MIC values were estimated for susceptible strains to be 99.9% and 99.8% of the 4 g/8 h and 4 g/6 h dosing intervals, respectively, and estimated to be 63.7% and 89.8% of the same dosing intervals for resistant strains (Fig. 3). For β-lactams used in meningitis, a time over minimal bactericidal concentration (MBC) at least equal to 50% of the dosing interval (33) and even greater than 90% (34) has been required for a bacterial eradication. Considering that for bactericidal agents like β-lactams the MBC value is usually the same as the MIC value or two times higher (35), the target was reached for susceptible strains whatever the dosing regimens (4 g/6 h and 4 g/8 h), while 4 g every 6 h was required for resistant strains.

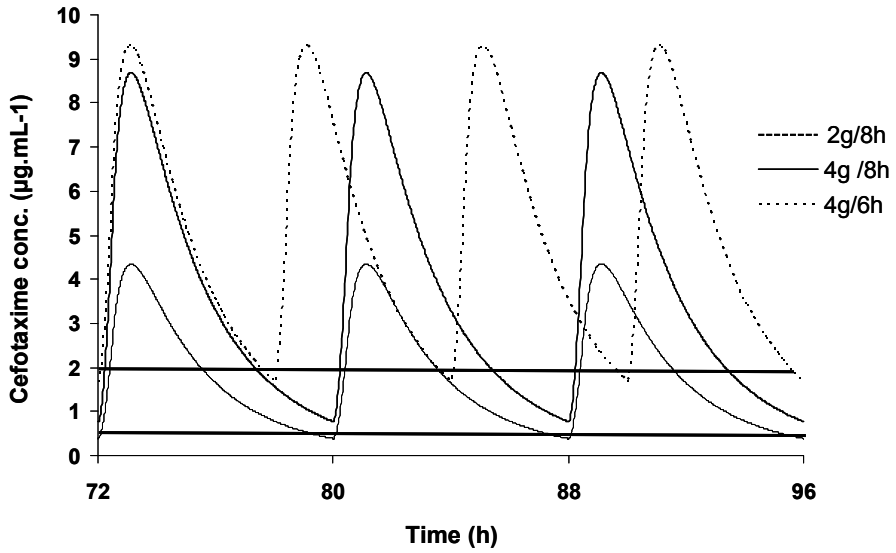


Figure 3. Simulations of mean cefotaxime unbound concentrations at steady state after drug infusion at a constant rate over 30 minutes at different dosing regimens, 2g every 8h and 4 g every 6 h or 8 h. The horizontal lines at 0.5 and 2 µg.mL^{-1} represent respectively the MIC of sensible and resistant strains of *Steptococcus pneumonia*.

However, three limitations should be taken into consideration with these simulations. First, it should be assumed that brain distribution is linear in the range of concentrations used. Second, the desacetylcefotaxime metabolite of cefotaxime was not estimated in this study because of difficulties of quantification by microdialysis. Since this metabolite is active, it should be necessary to characterize its brain distribution to evaluate complete treatment efficacy. Third, our patients were all brain injured, but none of them were treated for meningitis. Antibiotic penetration through inflamed meninges is increased compared to noninflamed ones, and it should be expected to get higher cefotaxime concentrations in case of meningitis (36).

In conclusion, this study is the first one to quantify brain distribution of cefotaxime in patients by microdialysis. In CSF, cephalosporins are known to have a limited distribution, due mainly to active transporters. This study describes also a limited distribution of cefotaxime in the extracellular fluid.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by a public health grant from the regional ProgrammeHospitalier de Recherche Clinique (PHRC) from the French Ministère de l'Educationet de la Recherche.

REFERENCES

1. Chaudhuri A, Martinez-Martin P, Kennedy PG, Andrew Seaton R, Portegies P, Bojar M, Steiner I. 2008. EFNS guideline on the management of community-acquired bacterial meningitis: report of an EFNS task force on acute bacterial meningitis in older children and adults. Eur. J. Neurol. 15: 649–659.

2. van de Beek D, Drake JM, Tunkel AR. Nosocomial bacterial meningitis. N. Engl. J. Med. 362: 146–154.

3. Gerber J, Nau R. 2010. Mechanisms of injury in bacterial meningitis. Curr. Opin. Neurol. 23: 312–318.

4. Orihuela CJ, Mahdavi J, Thornton J, Mann B, Wooldridge KG, Abouseada N, Oldfield NJ, Self T, Ala'Aldeen DA, Tuomanen EI. 2009. Laminin receptor initiates bacterial contact with the blood brain barrier in experimental meningitis models. J. Clin. Invest. 119: 1638–1646.

5. Nau R, Prange HW, Muth P, Mahr G, Menck S, Kolenda H, Sorgel F. 1993. Passage of cefotaxime and ceftriaxone into cerebrospinal fluid of patients with uninflamed meninges. Antimicrob. Agents Chemother. 37: 1518–1524.

6. Humbert G, Leroy A, Nair SR, Cherubin CE. 1984. Concentrations of cefotaxime and the desacetyl metabolite in serum and CSF of patients with meningitis. J. Antimicrob. Chemother. 13: 487– 494.

7. Trang JM, Jacobs RF, Kearns GL, Brown AL, Wells TG, Underwood FL, Kluza RB. 1985. Cefotaxime and desacetylcefotaxime pharmacokinetics in infants and children with meningitis. Antimicrob. Agents Chemother. 28: 791–795.

8. Goldwater PN. 2005. Cefotaxime and ceftriaxone cerebrospinal fluid levels during treatment of bacterial meningitis in children. Int. J. Antimicrob. Agents 26: 408–411.

9. Westerhout J, Danhof M, De Lange EC. 2011. Preclinical prediction of human brain target site concentrations: considerations in extrapolating to the clinical setting. J. Pharm. Sci. 100:

3577–3593.

10. Blakeley JO, Olson J, Grossman SA, He X, Weingart J, Supko JG. 2009. Effect of blood brain barrier permeability in recurrent high gradegliomas on the intratumoral pharmacokinetics of methotrexate: a microdialysis study. J. Neurooncol. 91: 51–58.

11. Hlatky R, Valadka AB, Goodman JC, Robertson CS. 2004. Evolution of brain tissue injury after evacuation of acute traumatic subdural hematomas. Neurosurgery 55: 1318 –1323.

12. Dahyot-Fizelier C, Timofeev I, Marchand S, Hutchinson P, Debaene B, Menon D, Mimoz O, Gupta A, Couet W. 2010. Brain microdialysis study of meropenem in two patients with acute brain injury. Antimicrob. Agents Chemother. 54: 3502–3504.

13. Dahyot C, Marchand S, Bodin M, Debeane B, Mimoz O, Couet W. 2008. Application of basic pharmacokinetic concepts to analysis of microdialysis data: illustration with imipenem muscle distribution. Clin. Pharmacokinet. 47: 181–189.

14. Karjagin J, Lefeuvre S, Oselin K, Kipper K, Marchand S, Tikkerberi A, Starkopf J, Couet W, Sawchuk RJ. 2008. Pharmacokinetics of meropenem determined by microdialysis in the peritoneal fluid of patients with severe peritonitis associated with septic shock. Clin. Pharmacol. Ther. 83: 452– 459.

15. Hammarlund-Udenaes M, Paalzow LK, de Lange EC. 1997. Drug equilibration across the blood-brain barrier pharmacokinetic considerations based on the microdialysis method. Pharm. Res. 14: 128 –134.

16. EUCAST. 2012. Breakpoint tables and interpretation of MICs and zone diameters. Version 2.0.http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Disk_test_documents/EUCAST_breakpoints_v_2.0_120 101.pdf.

17. Esmieu F, Guibert J, Rosenkilde HC, Ho I, Le Go A. 1980. Pharmacokinetics of cefotaxime in normal human volunteers. J. Antimicrob. Chemother. 6(Suppl A): 83–92.

18. Bouw MR, Hammarlund-Udenaes M. 1998. Methodological aspects of the use of a calibrator in in vivo microdialysis-further development of the retrodialysis method. Pharm.

Res. 15: 1673–1679.

19. Caricato A, Pennisi M, Mancino A, Vigna G, Sandroni C, Arcangeli A, Antonelli M. 2006. Levels of vancomycin in the cerebral interstitial fluid after severe head injury. Intens. Care Med. 32: 325–328.

20. Mindermann T, Zimmerli W, Gratzl O. 1998. Rifampin concentrations in various compartments of the human brain: a novel method for determining drug levels in the cerebral extracellular space. Antimicrob. Agents Chemother. 42: 2626 –2629.

21. Brunner M, Reinprecht A, Illievich U, Spiss CK, Dittrich P, van Houte M, Muller M. 2002. Penetration of fosfomycin into the parenchyma of human brain: a case study in three patients. Br. J. Clin. Pharmacol. 54: 548–550.

22. Poeppl W, Zeitlinger M, Donath O, Wurm G, Muller M, Botha F, Illievich UM, Burgmann H. 2012. Penetration of doripenem in human brain: an observational microdialysis study in patients with acute brain injury. Int. J. Antimicrob. Agents 39: 343–345.

23. Nau R, Sorgel F, Eiffert H. 2010. Penetration of drugs through the blood-cerebrospinal fluid/blood-brain barrier for treatment of central nervous system infections. Clin. Microbiol. Rev. 23: 858–883.

24. Akanuma S-I, Uchida Y, Ohtsuki S, KamiieJi, Tachikawa M, Terasaki T, Hosoya K-I. 2011. Molecular-weight-dependent, anionic-substrate-preferential transport of beta-lactam antibiotics via multidrug resistance- associated protein 4. Drug Metab. Pharmacokinetics 26: 602–611.

25. Spector R. 2010. Nature and consequences of mammalian brain and CSF efflux transporters: four decades of progress. J. Neurochem. 112: 13–23.

26. Shen H, Ocheltree SM, Hu Y, Keep RF, Smith DE. 2007. Impact of genetic knockout of PEPT2 on cefadroxil pharmacokinetics, renal tubular reabsorption, and brain penetration in mice. Drug Metab. Dispos. 35: 1209 –1216.

27. Kusuhara H, Sugiyama Y. 2005. Active efflux across the blood-brain barrier: role of the solute carrier family. NeuroRx 2: 73–85.

28. Loscher W, Potschka H. 2005. Role of drug efflux transporters in the brain for drug disposition and treatment of brain diseases. Prog. Neurobiol. 76: 22–76.

29. Shen H, Keep RF, Hu Y, Smith DE. 2005. PEPT2 (Slc15a2)-mediated unidirectional transport of cefadroxil from cerebrospinal fluid into choroid plexus. J. Pharmacol. Exp. Ther. 315: 1101–1108.

30. Shen H, Smith DE, Keep RF, Brosius FC, III. 2004. Immunolocalization of the proton-coupled oligopeptide transporter PEPT2 in developing rat brain. Mol. Pharm. 1: 248–256.

31. Société de Pathologie Infectieuse de langue française. 2009. 17th Consensus conference. Consensus conference on bacterial meningitis. Short text. Med. Malad. Infect. 39: 175–186.

32. Frasca D, Dahyot-Fizelier C, Couet W, Debaene B, Mimoz O, March- and S. 2012. Brain microdialysis distribution study of cefotaxime in a patient with traumatic brain injury. Br. J. Anaesth. 109: 830–831.

33. Andes DR, Craig WA. 1999. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of antibiotics in meningitis. Infect. Dis. Clin. North Am. 13:595– 618. 34. Lutsar I, Friedland IR. 2000. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cephalosporins in cerebrospinal fluid. Clin. Pharmacokinet. 39: 335–343.

35. Turnidge JD. 1998. The pharmacodynamics of beta-lactams. Clin. Infect. Dis. 27:10–22.

36. Rodriguez-Cerrato V, McCoig CC, Michelow IC, Ghaffar F, Jafri HS, Hardy RD, Patel C, Olsen K, McCracken GH, Jr. 2001. Pharmacodynamics and bactericidal activity of moxifloxacin in experimental Escherichia coli meningitis. Antimicrob. Agents Chemother. 45: 3092–3097.

Brain microdialysis distribution study of cefotaxime in a patient with traumatic brain injury

Denis Frasca[1,2,3], Claire Dahyot-Fizelier[1,2,3], William Couet[1,2,4], Bertrand Debaene[1,2,3], Olivier Mimoz[1,2,3], Sandrine Marchand[1,2,4]

[1]Inserm U1070, Pole Biologie Santé, 1 Rue Georges Bonnet, 86000 Poitiers, France

[2]Université de Poitiers, UFR Médecine-Pharmacie, 6 rue de la Milétrie, 86000 Poitiers, France

[3]Service d'Anesthésiologie-Réanimation Chirurgicale, CHU Poitiers, 2 rue de la Milétrie, 86000 Poitiers, France

[4]Service de Toxicologie-Pharmacocinétique, CHU Poitiers, 2 rue de la Milétrie, 86000 Poitiers, France

British Journal of Anaesthesia 2012 Nov;109:830–831

PMID: 23066005

© 2012 The British Journal of Anaesthesia, Oxfords Journals

Following on from our recent review of microdialysis studies of antibacterial agents in the brain,[1] we report a case of a 56-yr-old woman (78 kg, normal renal function) admitted for severe traumatic brain injury (TBI), with a Glasgow coma scale score of 5, a contaminated temporal craniocerebral wound, and multiple haemorrhagic contusions. She was managed according to the TBI guidelines and received cefotaxime i.v. (4 g/8 h) to prevent central nervous system (CNS) infection. On admission, routine monitoring included intracranial pressure (Micro-sensor ICP; Codman & Shurtleff, Raynham, MA, USA), partial pressure brain tissue oxygen tension (Licox; Integra Neurosciences, Lyon, France), and cerebral microdialysis (CMA-70; CMA, Stockholm, Sweden). The probe was placed into healthy brain tissue, perfused at 0.3 ml min^{-1} with CNS perfusion fluid (CMA), and dialysates were analysed for metabolic parameters. This microdialysis monitoring allows us to determine unbound concentrations of therapeutic agents in brain extracellular fluid (ECF) and only few microdialysis studies have characterized antibiotics' brain distribution in humans.[2-5] After informed consent from relatives, cefotaxime brain ECF distribution was explored after the 12^{th} dose, on Day 4. After baseline samples, cefotaxime (4 g) was infused over 30 min and nine brain dialysates were collected every 30 min during 3 h, then hourly to the 7th hour. One blood sample was collected at 30 min and ultrafiltered to determine unbound plasma cefotaxime peak concentration ($Cu_{max,p}$). Cefotaxime assays used high-performance liquid chromatography with UV detection. In vivo probe recovery was determined using the retrodialysis-by-drug method as previously described.[6] A non-compartmental analysis of brain ECF concentrations was performed (Phoenix WinNonlin 6.2, Pharsight, USA). Time over minimal inhibitory concentrations (t>MIC) was estimated at two MIC values (2 and 4 mg ml^{-1}), corresponding to intermediate and resistant strains of Streptococcus pneumoniae.[6,7]

The mean probe recovery was estimated at 67% and even if in vivo recovery was not always determined in the past,[2,4,5] this observation attests to the absolute necessity of careful assessment of in vivo probe recovery in each individual patient.

The $Cu_{max,p}$ was equal to 118.8 mg ml^{-1} and the maximal brain ECF concentration was clearly lower ($C_{max,b}$ = 11.4 mg ml^{-1}). $C_{max,b}$ was achieved at t_{max} = 85 min, 55 min after the end of infusion. The concentration vs time profile in brain ECF is shown in *Figure 1*. This limited brain distribution of cefotaxime may be explained by the blood–brain barrier which is known to express efflux transporters like P-glycoprotein (P-gp) or multidrug resistant-

associated protein (MRP).[8] To circumvent this problem, antibiotic doses are increased for the prevention or treatment of CNS infections. Without severe side-effects, cefotaxime doses may be increased from 6 g up to 24 g per day for meningitis.

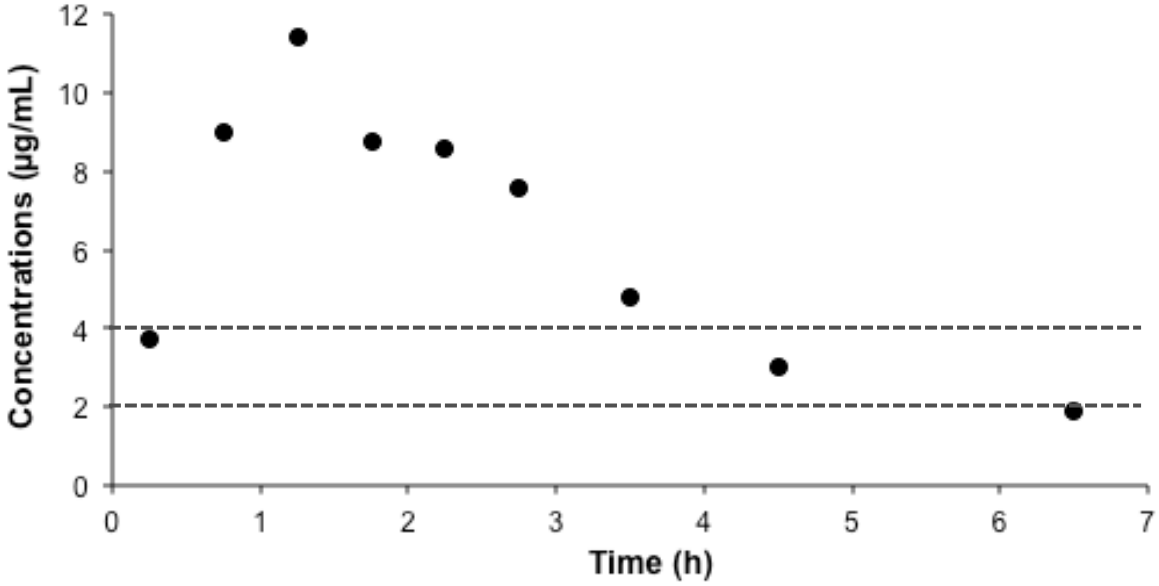


*Figure 1.*Cefotaxime concentrations (µg mL^{-1}) in brain extracellular fluid versus time (h), at steady-state following multiple administrations of 4 g every 8 hours to our patient in order to prevent meningitis. Dash lines indicate MIC 2 and 4 µg mL^{-1}.

Cefotaxime t>MIC in the brain were, respectively, equal to 78% (6.2 h) and 46% (3.7 h) for MIC values of 2 and 4 mg ml^{-1}. To get effective bacteriostatic and bactericidal effect in vivo, t>MIC should, respectively, be 40 and 70% of the dosing interval, suggesting a bacteriostatic effect even for the highest MIC (4 mg ml^{-1}) and a bactericidal effect only for MIC values of 2 mg ml^{-1}. Cefotaxime dosing regimen for adult's meningitis treatment is 4 g every 4 – 6 h, [9] but this case indicates that 4 g every 8 h could provide sufficient brain tissue concentration for preventing infections of resistant pneumococcal strains and treating intermediate ones.

In conclusion, the ECF brain concentrations indicate that an adequate exposure to cefotaxime is achieved in prevention and treatment of most CNS infections.

ACKNOWLEDGEMENT

We thank Pharsight Corporation for the free supply of WinNonLin through the PAL programme.

FUNDING

This work was support by a grant (PHRC) from the French Ministère de l'Education et de la Recherche.

REFERENCES

1. Notkina N, Dahyot-Fizelier C, Gupta AK. In vivo microdialysis in pharmacological studies of antibacterial agents in the brain. Br J Anaesth 2012; 109: 155–60
2. Poeppl W, Zeitlinger M, Donath O, et al. Penetration of doripenem in human brain: an observational microdialysis study in patients with acute brain injury. Int J Antimicrob Agents 2012; 39: 343–5
3. Dahyot-Fizelier C, Timofeev I, Marchand S, et al. Brain microdialysis study of meropenem in two patients with acute brain injury. Antimicrob Agents Chemother 2010; 54: 3502–4
4. Caricato A, Pennisi M, Mancino A, et al. Levels of vancomycin in the cerebral interstitial fluid after severe head injury. Intensive Care Med 2006; 32: 325–8
5. Brunner M, Reinprecht A, Illievich U, et al. Penetration of fosfomycin into the parenchyma of human brain: a case study in three patients. Br J Clin Pharmacol 2002; 54: 548 – 50
6. Dahyot C, Marchand S, Bodin M, Debeane B, Mimoz O, Couet W. Application of basic pharmacokinetic concepts to analysis of microdialysis data: illustration with imipenem muscle distribution. Clin Pharmacokinet 2008; 47: 181–9
7. Jones RN, Jenkins SG, Hoban DJ, Pfaller MA, Ramphal R. In vitro activity of selected cephalosporins and erythromycin against staphylococci and pneumococci isolated at 38 North American medical centers participating in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997–1998. Diagn Microbiol Infect Dis 2000; 37: 93–8
8. Westerhout J, Danhof M, De Lange ECM. Preclinical prediction of human brain target site concentrations: considerations in extrapolating to the clinical setting. J Pharm Sci 2011; 100: 3577 – 93
9. 17th Consensus conference. Consensus conference on bacterial meningitis. Short text. Med Mal Infect 2009; 39: 175–86

Pharmacocinétique du céfotaxime dans le liquide céphalorachidien de patients porteurs d'une dérivation ventriculaire externe

Denis Frasca[1,2,3*], Claire Dahyot-Fizelier[1,2,3], Christophe Adier[1,3], Olivier Mimoz[1,2,3], William Couet[1,2,3], Bertrand Debaene[1,2,3], Sandrine Marchand[1,2,3]

[1] Centre Hospitalier Universitaire de Poitiers, 2 rue de la Milétrie, 86000 Poitiers, France

[2] Université de Poitiers, UFR Médecine-Pharmacie, 6 rue de la Milétrie, 86000 Poitiers, France

[3] Inserm U1070, PBS, 1 Rue Georges Bonnet, 86000 Poitiers, France

Article non soumis – Résultats préliminaires

RESUMÉ

Le céfotaxime est une céphalosporine de troisième génération recommandée pour le traitement des méningites. L'objectif du traitement antibiotique est d'obtenir rapidement des concentrations efficaces au site de l'infection malgré la présence des barrières physiologiques (barrières hémato-encéphalique et hémato-liquidienne) qui limitent la distribution de l'antibiotique. Le but de l'étude était de caractériser les paramètres pharmacocinétiques du céfotaxime dans le sang et le liquide céphalorachidien chez des patients porteurs d'une dérivation ventriculaire externe (DVE).

Après le consentement éclairé d'un proche, cinq patients victimes d'un accident vasculaire hémorragique ont reçu 2 g de céfotaxime trois fois par jour pour le traitement d'une pneumopathie acquise sous ventilation. Neuf à treize prélèvements de LCR et huit à dix prélèvements de sang étaient réalisés pendant 8h.

La fraction libre plasmatique du céfotaxime (fu) était estimée entre 54.6 ± 20.8 % et 60.4 ± 5.9 %. Les profils des concentrations libres de céfotaxime dans le LCR étaient plats avec une concentration moyenne à l'état d'équilibre de 1.1 ± 0.7 µg/mL. Les concentrations libres de céfotaxime dans le LCR étaient toujours inférieures aux concentrations plasmatiques libres correspondantes dont la concentration maximale moyenne est estimée à 51,8 ± 19,2 µg/mL. La moyenne des ratios $SSC_{LCR,libre}/SSC_{plasma,libre}$ est de 12,0 ± 6,0%.

Cette étude confirme la distribution partielle du céfotaxime dans le LCR chez des patients porteurs d'une DVE en l'absence de méningite. A l'équilibre, les concentrations libres de céfotaxime sont stables dans le LCR pendant au moins 8 heures.

INTRODUCTION

En neurochirurgie, les infections post-opératoires (ventriculites et infections de dérivation ventriculaire, empyèmes) sont une préoccupation majeure car elles sont associées à une morbidité et une mortalité allant de 18 à 42% (Brouwer et al. 2010; Parikh et al. 2012). En présence de signes cliniques et paracliniques d'infection, l'antibiothérapie probabiliste administrée en urgence doit permettre de traiter les agents pathogènes les plus fréquemment rencontrés et les germes de sensibilité diminuée (Ortiz & K. Lee 2006; R Beer et al. 2008). L'antibiothérapie doit également atteindre rapidement des concentrations bactéricides dans le liquide céphalorachidien (LCR).

Le système nerveux central (SNC) est protégé des variations électrolytiques et chimiques du secteur plasmatique par la barrière hémato-encéphalique (BHE) et les plexus choroïdes qui constituent la barrière hémato-liquidienne (BHL). La présence de ces barrières physiologiques limite la diffusion des antibiotiques dans le tissu cérébral et le LCR. Ainsi, elles peuvent réduire les concentrations d'antibiotiques dans le LCR ou le parenchyme cérébral et constituer un inconvénient majeur pour le traitement des infections du système nerveux central (Löscher & Potschka 2005; M Hammarlund-Udenaes 2000; Wolburg & Paulus 2009).

Le céfotaxime est une céphalosporine de troisième génération recommandée pour le traitement des méningites (R. N. Jones & Thornsberry 1982; R. N. Jones et al. 1982; Viladrich et al. 1996; Anon 2009; Gómez et al. 1995). Les doses optimales des antibiotiques et leur mode d'administration pour atteindre des concentrations efficaces au site de l'infection reposent actuellement sur des données pharmacocinétiques plasmatiques ou dans le LCR plutôt anciennes (Sande et al. 1978; Lutsar & Friedland 2000). Les études cliniques montrent une diffusion limitée du céfotaxime dans le LCR, pouvant compromettre l'objectif d'obtenir rapidement une concentration optimale au site infectieux (R. Nau et al. 1993; Asmar et al. 1985; Humbert et al. 1984).

Le but de l'étude était de caractériser les paramètres pharmacocinétiques du céfotaxime dans le sang et le LCR chez des patients porteurs d'une dérivation ventriculaire externe (DVE) permettant la collecte de multiples échantillons. Il sera ainsi possible de les comparer aux données obtenues dans le liquide extra-cellulaire (LEC) par microdialyse (Claire Dahyot-Fizelier et al. 2013).

PATIENTS ET METHODES

Patients

L'étude a été réalisée au Centre Hospitalier Universitaire de Poitiers (France), et a été approuvé par le Comité de Protection des Personnes OUEST III (Protocole n ° 2008-003311-12). Après le consentement éclairé d'un proche, cinq patients victimes d'un accident vasculaire hémorragique ont été inclus. Ils étaient sédatés par midazolam et fentanyl, ventilés mécaniquement et ont reçu 2 g de céfotaxime (PANPHARMA, Fougère, France) trois fois par jour pour le traitement d'une pneumopathie acquise sous ventilation. Les patients avaient une dérivation ventriculaire externe (EDS 3 CSF External Drainage System™, CODMAN & SHURTLEFF Inc. Raynham, Etats-Unis) pour le traitement d'une hydrocéphalie non communicante.

Administration des médicaments et prélèvements

L'étude pharmacocinétique a été réalisée à l'état d'équilibre entre les 2ème et 3ème jours de traitement soit, après 4 à 7 administrations de céfotaxime. La collecte des échantillons de sang et de LCR a débuté par un prélèvement résiduel de chaque milieu. La perfusion intraveineuse de 2 g de céfotaxime a été administrée sur 30 min. Neuf à treize prélèvements de LCR et huit à dix prélèvements de sang ont été réalisés pendant 8h. Les échantillons de sang ont été centrifugés à 2000×g pendant 15 min à 4 °C pour déterminer les concentrations plasmatiques totales de céfotaxime. Deux échantillons de plasma, un précoce (entre 0.25 et 1h) et un tardif (entre 4 et 6h) ont été utilisés afin de déterminer après ultrafiltration (Centrifree®, MILLIPORE CORP., Billerica, Etats-Unis), les concentrations plasmatiques libres de céfotaxime (UF). Les échantillons de plasma, de LCR et les UF ont été congelés à -80 ° C jusqu'à l'analyse.

Estimation des concentrations de céfotaxime

Les concentrations de céfotaxime ont été déterminées par une méthode de chromatographie liquide à haute performance avec détection UV décrite précédemment (Claire Dahyot-Fizelier et al. 2013). Brièvement, pour les dosages dans le LCR, une gamme entre 0.2 et 40 µg/mL a été réalisée alors que pour les échantillons plasmatiques les concentrations de la gamme ont

été comprises entre 1 et 80 µg/mL. Les répétabilités et les reproductibilités ont été inférieures à 15% pour le LCR et à 20% pour le plasma (Claire Dahyot-Fizelier et al. 2013).

Analyse pharmacocinétique

Une analyse pharmacocinétique non compartimentale a été réalisée (Phoenix WinNonLin 6.2, PHARSIGHT CORP., MountainView, USA).

RESULTATS

L'étude a inclus 5 patients (1 femme et 4 hommes) dans l'unité de soins intensifs de neurochirurgie, 4 patients avec une hémorragie méningée par rupture d'anévrysme intracrânien et 1 patient avec une hémorragie ventriculaire spontanée. Les caractéristiques démographiques sont détaillées dans le tableau 1.

Tableau 1. *Caractéristiques démographiques des patients.*

	Patients				
	1	2	3	4	5
Age (années)	73	51	52	34	63
Sexe	M	M	M	M	F
Taille (cm)	178	176	180	175	160
Poids (kg)	90	80	115	75	60
Clairance de la créatinine MDRD (mL/min)	165	84	141	306	119
Proteines plasmatiques (g/L)	61	53	66	57	66
Nombre d'administrations précédentes	6	6	4	6	7
Motif d'admission	HSA	HSA	HV	HSA	HSA

HAS : hémorragie sous-arachnoïdienne ; HV : hémorragie ventriculaire

La fraction libre plasmatique du céfotaxime (fu) a peu varié dans notre population (entre 54,6 ± 20,8 % et 60,4 ± 5,9 %) et de plus, elle était indépendante de la concentration. Les concentrations libres de céfotaxime dans le LCR ont montré des profils plats avec une concentration moyenne à l'état d'équilibre ($C_{moy} = AUC_{0\text{-}\tau} / \tau$) qui a varié d'un facteur presque 6 entre les patients (de 0,3 µg/mL à 1,7 µg/mL) (*Figure 1*). Les concentrations libres de céfotaxime dans le LCR sont quasiment inférieures sur tout l'intervalle de prélèvements aux concentrations plasmatiques libres correspondantes qui varient entre une concentration

maximale de 51,8 ± 19,2 µg/mL et une concentration minimale de 0,9 ± 0,8 µg/mL (*Figure 1, Tableau 2*).

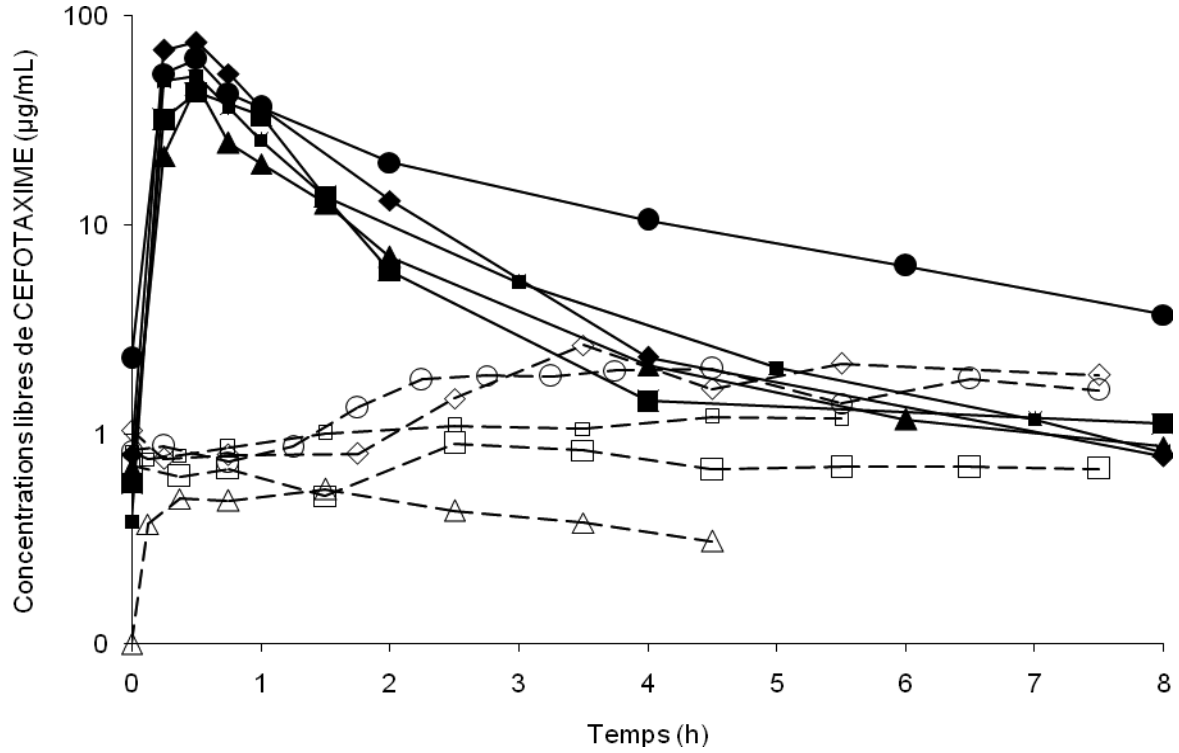


Figure 1. *Courbes des concentrations libres de céfotaxime en fonction du temps, dans le LCR* (- - - -) *et dans le plasma* (——).

La moyenne des ratios $SSC_{LCR,libre}/SSC_{plasma,libre}$ a été de 12,0 ± 6,0%. La clairance plasmatique et le volume de distribution à l'état stable des fractions libres de céfotaxime dans le plasma ont été respectivement estimés à 31,8 ± 18,5 L/h et 56,7 ± 31,2 L (Tableau 2). La demi-vie du céfotaxime dans le plasma a été de 1,6 ± 0,6 h alors que celle dans le LCR n'a pas pu être évaluée de façon fiable du fait des profils de concentrations. L'ensemble des valeurs individuelles et moyennes des paramètres pharmacocinétiques dans le LCR et le plasma est présenté dans le tableau 2.

Tableau 2. *Paramètres pharmacocinétiques du céfotaxime libre dans le plasma*

N° Patient	$C_{max,u\ plasma}$ µg/mL	$C_{min,u\ plasma}$ µg/mL	$t_{1/2,plasma}$ h	Vd_{ssu} L	CL_{ssu} L/h	Ratio SSC LCR/ plasma
1	51,6	0,4	1,9	41,2	27,3	0,18
2	62,1	2,3	2,7	44,4	15,4	0,10
3	46,8	0,7	3,1	72,3	37,5	0,05
4	23,5	0,3	2,8	102,8	59,1	0,17
5	75,0	0,8	1,6	229,6	19,9	0,09
Moyenne	51,8	0,9	1,6	98,1	31,8	0,12
SD	19,2	0,8	0,6	28,7	18,5	0,06

$C_{max,plasma}$: concentration maximale plasmatique ; $C_{min,plasma}$: concentration minimale plasmatique ; $t_{1/2,plasma}$: demi-vie d'élimination plasmatique ; Vd_{ssu} : Volume de distribution à l'équilibre ; CL_{ssu} : clairance totale à l'équilibre.

DISCUSSION

Les paramètres pharmacocinétiques plasmatiques du céfotaxime dans notre population sont comparables à ceux préalablement retrouvés chez des patients inclus dans une étude de microdialyse précédemment réalisée par notre équipe (Claire Dahyot-Fizelier et al. 2013). Ces résultats sont partiellement en accord avec une étude précédente réalisée chez des patients porteurs d'une DVE pour le traitement d'une hydrocéphalie obstructive (R. Nau et al. 1993) . En effet, en prenant notre CL_{ssu} (31,8 ± 18,5 L/h) et en la multipliant par le fu moyen de notre population (0,584), on retrouve une valeur d'environ 18,5 L/h qui est du même ordre de grandeur que celle estimée dans l'étude de Nau à partir des concentrations plasmatiques totales (320 ± 104 mL/min soit 19,2 ± 6,3 L/h). En réalisant de même pour notre $Vd_{ss,u}$, c'est-à-dire en le multipliant par le fu moyen (98,1 × 0,584 = 57,3 L), il apparaît que notre volume de distribution est plus élevé que celui estimé dans l'étude de Nau (32,2 ± 11,3 L) [16]. Cependant, notre étude a été réalisée après plusieurs jours de réanimation, à l'équilibre du traitement par antibiotique, avec les modifications physiopathologiques habituelles de volume de distribution contrairement à l'étude de Nau qui a été réalisée dès la première injection de l'antibiotique et sans doute précocement après l'admission (délais non précisés dans l'étude).

La moyenne des ratios $SSC_{LCR,libre}/SSC_{plasma,libre}$ de 12 ± 6% retrouvée dans la présente étude est en accord avec l'étude de Nau où le ratio moyen des SSC des concentrations dans le LCR et des concentrations plasmatiques totales est de 9,0 ± 5,1% (R. Nau et al. 1993). Le même type de résultat était retrouvé en pédiatrie avec un ratio des concentrations de 10.1 % confirmant la faible distribution du céfotaxime dans le LCR (Asmar et al. 1985). Un faible ratio, bien que deux fois supérieur, a également été retrouvé dans une précédente étude de microdialyse mesurant les concentrations dans le LEC cérébral ($SSC_{LEC}/SSC_{plasma,\ unbound)}$ = 26,1 ± 12,1%) (Dahyot-Fizelier et al. 2013). Par ailleurs, les concentrations de céfotaxime observées dans le LCR étaient plus faibles que celles obtenues par Humbert et al. (de 0,8 mg/l à 6,4 mg/L) mais leur étude a inclus des patients atteints de méningite bactérienne et le LCR a été recueilli par ponction lombaire (Humbert et al. 1984). D'une part l'inflammation méningée peut créer une augmentation de la perméabilité des barrières et influencer la diffusion de l'antibiotique, d'autre part, il a été démontré qu'après une injection intraveineuse, de nombreux médicaments atteignent des concentrations plus élevées dans le LCR lombaire que dans le LCR ventriculaire, probablement par la concentration du LCR

lors de sa circulation vers les espaces périmédullaires en raison des variations de pression hydrostatiques favorisant la résorption d'eau dans le système veineux et lymphatique (E. C. M. de Lange et al. 2005; Elizabeth CM de Lange 2013; Westerhout et al. 2012). Une autre explication concerne la dégradation partielle du céfotaxime dans la poche de recueil de la DVE entre 2 prélèvements consécutifs de LCR. Nau *et al.* (R. Nau et al. 1993) ont montré que 20% du céfotaxime était dégradé en 5 heures à 37°C dans le LCR. Dans notre étude, la majorité des intervalles de prélèvements (> 90 %) ont été réalisés en 30 minutes ou en une heure, l'intervalle maximal a été de 2 heures. Pendant cet intervalle de temps le LCR est resté à la température ambiante de 20°C. Le pourcentage de dégradation, bien que n'ayant pas été mesuré, a été probablement inférieur aux taux observés par Nau et al. [16] Ce faible ratio $SSC_{LCR,libre}/SSC_{plasma,libre}$ en accord avec celui estimé dans le cerveau (Claire Dahyot-Fizelier et al. 2013) peut s'expliquer par les processus de diffusion passive et les caractéristiques physicochimiques (Claire Dahyot-Fizelier et al. 2013) de la molécule mais aussi par des mécanismes d'efflux actifs au niveau de la BHL. En effet, il a été établi que des systèmes de transporteurs d'efflux actifs tels que OAT3, PEPT2 ou MRP4 étaient présents au niveau de la BHE et de la BHL, et pouvaient limiter la diffusion des céphalosporines dans le SNC (Graff & Pollack 2004; Wijnholds et al. 2000; Akanuma et al. 2011; Ogawa et al. 1994), bien qu'aucune donnée spécifique n'existe sur le céfotaxime..

Les profils des concentrations de céfotaxime à l'état stable dans le LCR montrent peu de fluctuations entre les concentrations maximales et minimales pendant l'intervalle d'administration (8h) avec une concentration moyenne à l'état stable ($C_{moy} = AUC_{0-\tau} / \tau$) égale 1.1 ± 0.7 µg/mL. Ces profils sont comparables à ceux obtenus dans le LCR chez des patients de réanimation porteurs d'une DVE mais après une injection unique de céfotaxime 2 g (R. Nau et al. 1993), ceci en accord avec une demi-vie d'élimination dans le LCR allongée. Toutefois, ces profils dans le LCR sont très différents de ceux obtenus dans le liquide extra-cellulaire cérébral lors de notre précédente étude en microdialyse intracérébrale, où des fluctuations entre les concentrations maximales et minimales cérébrales de plus de 80% ont été observées ($C_{max,\ brain\ ECF}$ = 4,4 ± 1,7 µg/mL et $C_{min,\ brain\ ECF}$ = 0,68 ± 0,36 µg/mL). Dans notre étude comme dans celle de Nau, la présence d'une DVE pourrait être responsable de ces profils plats. Cependant, aucune autre étude de la littérature ne nous permet de conclure puisque elles sont très incomplètes et par ailleurs portent sur des populations pédiatriques

présentant une méningite. En effet, soit le rapport des SSC des concentrations LCR et plasmatiques est calculé à partir de données à un temps donné (Trang et al. 1985), soit les concentrations de céfotaxime dans le LCR sont présentées sans toutefois aucune donnée plasmatique pour permettre la comparaison (Goldwater 2005).

Les données obtenues dans cette étude explorant le LCR et celles obtenues dans le LEC cérébral par microdialyse (Dahyot-Fizelier et al. 2013) pourront être ajustées à un modèle pharmacocinétique physiologique (PBPK pour physiologically based pharmacokinétic) dont la finalité sera si possible de réconcilier ces données et de prédire dans un premier temps les concentrations dans le LCR en absence de DVE.

CONCLUSION

En conclusion, cette étude confirme la distribution partielle du céfotaxime dans le LCR chez des patients porteurs d'une dérivation ventriculaire externe en l'absence de méningite. A l'équilibre, les concentrations libres de céfotaxime sont stables dans le LCR pendant au moins 8 heures.

RÉFÉRENCES

[1] Brouwer MC, Tunkel AR, van de Beek D. Epidemiology, Diagnosis, and Antimicrobial Treatment of Acute Bacterial Meningitis. Clin Microbiol Rev 2010;23:467–92.

[2] Parikh V, Tucci V, Galwankar S. Infections of the nervous system. Int J Crit Illn Inj Sci 2012;2:82–97.

[3] Ortiz R, Lee K. Nosocomial infections in neurocritical care. Curr Neurol Neurosci Rep 2006;6:525–30.

[4] Beer R, Lackner P, Pfausler B, Schmutzhard E. Nosocomial ventriculitis and meningitis in neurocritical care patients. J Neurol 2008;255:1617–24.

[5] Löscher W, Potschka H. Role of drug efflux transporters in the brain for drug disposition and treatment of brain diseases. Progress in Neurobiology 2005;76:22–76.

[6] Hammarlund-Udenaes M. The use of microdialysis in CNS drug delivery studies. Pharmacokinetic perspectives and results with analgesics and antiepileptics. Adv Drug Deliv Rev 2000;45:283–94.

[7] Wolburg H, Paulus W. Choroid plexus: biology and pathology. Acta Neuropathologica 2009;119:75–88.

[8] Jones RN, Thornsberry C. Cefotaxime: a review of in vitro antimicrobial properties and spectrum of activity. Rev Infect Dis 1982;4 Suppl:S300–315.

[9] Jones RN, Barry AL, Thornsberry C. Antimicrobial activity of desacetylcefotaxime alone and in combination with cefotaxime: evidence of synergy. Rev Infect Dis 1982;4 Suppl:S366–373.

[10] Viladrich PF, Cabellos C, Pallares R, Tubau F, Martínez-Lacasa J, Liñares J, et al. High Doses of Cefotaxime in Treatment of Adult Meningitis Due to Streptococcus Pneumoniae with Decreased Susceptibilities to Broad-Spectrum Cephalosporins. Antimicrob Agents Chemother 1996;40:218–20.

[11] [17th Consensus conference. Consensus conference on bacterial meningitis. Short text]. Med Mal Infect 2009;39:175–86.

[12] Gómez J, Poza M, Martinez M, Martinez-Lage J, Hernández JL, Valdés M. Use of cefotaxime and metronidazole for treating cerebral abscesses. Clin Infect Dis 1995;21:708.

[13] Sande MA, Sherertz RJ, Zak O, Dacey RG, Bodine JA, Strausbaugh LJ. Factors influencing the penetration of antimicrobial agents into the cerebrospinal fluid of experimental animals. Scand J Infect Dis Suppl 1978:160–3.

[14] Lutsar I, Friedland IR. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cephalosporins in cerebrospinal fluid. Clin Pharmacokinet 2000;39:335–43.

[15] Nau R, Prange HW, Muth P, Mahr G, Menck S, Kolenda H, et al. Passage of cefotaxime and ceftriaxone into cerebrospinal fluid of patients with uninflamed meninges. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 1993;37:1518–24.

[16] Asmar BI, Thirumoorthi MC, Buckley JA, Kobos DM, Dajani AS. Cefotaxime diffusion into cerebrospinal fluid of children with meningitis. Antimicrob Agents Chemother 1985;28:138–40.

[17] Humbert G, Leroy A, Nair SR, Cherubin CE. Concentrations of cefotaxime and the desacetyl metabolite in serum and CSF of patients with meningitis. J Antimicrob Chemother 1984;13:487–94.

[18] Dahyot-Fizelier C, Frasca D, Grégoire N, Adier C, Mimoz O, Debaene B, et al. Microdialysis study of cefotaxime cerebral distribution in patients with acute brain injury. Antimicrob Agents Chemother 2013.

[19] De Lange ECM, Ravenstijn PGM, Groenendaal D, Van Steeg TJ. Toward the prediction of CNS drug-effect profiles in physiological and pathological conditions using microdialysis and mechanism-based pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling. The AAPS Journal 2005;7:532–43.

[20] De Lange EC. The mastermind approach to CNS drug therapy: translational prediction of human brain distribution, target site kinetics, and therapeutic effects. Fluids Barriers CNS 2013;10:12.

[21] Westerhout J, Ploeger B, Smeets J, Danhof M, Lange ECM. Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling to Investigate Regional Brain Distribution Kinetics in Rats. The AAPS Journal 2012;14:543–53.

[22] Graff CL, Pollack GM. Drug transport at the blood-brain barrier and the choroid plexus. Curr Drug Metab 2004;5:95–108.

[23] Wijnholds J, De Lange ECM, Scheffer GL, Van den Berg D-J, Mol CAAM, Van der Valk M, et al. Multidrug resistance protein 1 protects the choroid plexus epithelium and contributes to the blood-cerebrospinal fluid barrier. J Clin Invest 2000;105:279–85.

[24] Akanuma S-I, Uchida Y, Ohtsuki S, Kamiie J, Tachikawa M, Terasaki T, et al. Molecular-weight-dependent, anionic-substrate-preferential transport of β-lactam antibiotics via multidrug resistance-associated protein 4. Drug Metab Pharmacokinet 2011;26:602–11.

[25] Ogawa M, Suzuki H, Sawada Y, Hanano M, Sugiyama Y. Kinetics of active efflux via choroid plexus of beta-lactam antibiotics from the CSF into the circulation. Am J Physiol 1994;266:R392–399.

[26] Trang JM, Jacobs RF, Kearns GL, Brown AL, Wells TG, Underwood FL, et al. Cefotaxime and desacetylcefotaxime pharmacokinetics in infants and children with meningitis. Antimicrob Agents Chemother 1985;28:791–5.

[27] Goldwater PN. Cefotaxime and ceftriaxone cerebrospinal fluid levels during treatment of bacterial meningitis in children. Int J Antimicrob Agents 2005;26:408–11.

5 Etude de la distribution du métronidazole

- Metronidazole And Hydroxy-Metronidazole Central Nervous System Distribution

  Frasca et al. *Article soumis le 13 août 2013 – Antimicrobial Agents and Chemotherapy*

1. Microdialysis Assessment Of Brain Extracellular Fluid Concentrations In Patients With Acute Brain Injury

2. Cerebrospinal fluid concentrations measurements in patients with external ventricular drain

Metronidazole And Hydroxy-Metronidazole Central Nervous System Distribution

1. Microdialysis Assessment Of Brain Extracellular Fluid Concentrations In Patients With Acute Brain Injury

D. Frasca[1,2,3], C. Dahyot-Fizelier[1,2,3] , C. Adier [1,4], O. Mimoz[1,2,3], B. Debaene[1,2,3], W. Couet[1,2,4], S. Marchand[1,2,4]

[1] Inserm U1070, Pole Biologie Santé, 1 rue Georges Bonnet, 86000 Poitiers, France

[2] Université de Poitiers, UFR Médecine-Pharmacie, 6 rue de la Milétrie, 86000 Poitiers, France

[3] CHU Poitiers, Département d'Anesthésie-Réanimation, 2 rue de la Milétrie, 86000 Poitiers, France

[4] CHU Poitiers, Service de Toxicologie-Pharmacocinétique, 2 rue de la Milétrie, 86000 Poitiers, France

Running title: Cerebral distribution of metronidazole and hydroxy-metronidazole

Keywords: central nervous system, pharmacokinetics, microdialysis, blood-brain barrier

Soumis le 13 août 2013 – *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*

RÉSUMÉ

La distribution du métronidazole dans le système nerveux central n'a été décrite qu'à partir des données dans le liquide céphalorachidien. Pourtant, les concentrations libres dans le liquide extracellulaire (LEC) cérébral permettent de prédire l'effet antibactérien et/ou les effets secondaires de façon plus précise. Cette étude explore par microdialyse cérébrale la distribution dans le LEC du métronidazole et de l'hydroxy-métronidazole son métabolite, chez des patients cérébrolésés.

Quatre patients cérébrolésés monitorés par microdialyse cérébrale ont reçu 500 mg de métronidazole pendant 0,5h toutes les 8h. Les dialysats cérébraux et les échantillons sanguins ont été prélevés à l'état d'équilibre pendant 8h. Les rendements des sondes ont été calculés par retrodialyse *in vivo* chez chaque patient pour le métronidazole. Les concentrations de métronidazole et de l'hydoxy-metronidazole ont été estimées par HPLC et une analyse pharmacocinétique non compartimentale a été réalisée.

Les rendements moyens des sondes chez les patients étaient de 78,8 ± 1,3% pour le métronidazole. Les courbes concentration libre-temps du métronidazole dans le LEC cérébral étaient décalées et retardées par rapport au plasma avec un rapport moyen des surfaces sous courbe des concentrations libres de métronidazole LEC/plasma à 102 ± 19% (de 87 à 124%). Les profils de concentrations libres dans le plasma et le LEC de l'hydroxy-métronidazole étaient plats avec un rapport moyen des surfaces sous courbe estimé à 66 ± 5%.

Cette étude de microdialyse est la première à décrire la distribution cérébrale du métronidazole et de l'hydroxy-métronidazole à l'équilibre chez les patients. Les résultats a confirment une distribution extensive dans le LEC pour les deux molécules.

ABSTRACT

Central nervous system metronidazole distribution was only described from cerebrospinal fluid data. However, extracellular fluid (ECF) concentrations may better predict antimicrobial effect or/and side effects. This study aims to explore by microdialysis brain ECF metronidazole and hydroxy-metronidazole distribution in patients with acute brain injury.

Four brain-injured patients monitored by cerebral microdialysis received 500 mg of metronidazole over 0.5 h every 8 h. Brain dialysates and blood samples were collected at steady-state over 8 h. Probes recoveries were evaluated by *in vivo* retrodialysis in each patient for metronidazole. Both compounds were assayed by HPLC and a non-compartmental pharmacokinetic analysis was performed.

Probe recovery was equal to 78.8 ± 1.3 % for metronidazole in patients. Unbound brain metronidazole concentration-time curves were delayed compared to unbound plasma concentration-time curves but with mean metronidazole unbound brain to plasma $AUC_{0-\infty}$ ratio equal to 102 ± 19 % (ranging from 87 to 124 %). Unbound plasma and brain ECF concentrations versus times profiles of hydroxy-metronidazole were flat. Mean hydroxy-metronidazole brain to unbound plasma $AUC_{0-\infty}$ ratio was estimated to 66 ± 5 %.

This microdialysis study was the first one to describe steady state brain distribution of metronidazole and hydroxyl-metronidazole in patients and confirmed extensive distribution for both molecules.

INTRODUCTION

Metronidazole, a nitroimidazole antibiotic, is a useful treatment of infections due to *Bacteroides* spp. and many anaerobic bacteria. In the liver, metronidazole is metabolized to form two primary oxidative metabolites: the hydroxy and acetic acid metabolites.[1-3] As metronidazole is supposed to penetrate extensively into CNS, it is indicated in cerebromeningeal infections due to anaerobic bacteria.[4, 5] Metronidazole has also been described in literature since many years to be responsible of both peripheral[6, 7] and central neurotoxicity,[8-11] especially after a prolonged use of metronidazole.[12] In both cases, symptoms and lesions on magnetic resonance imaging are resolutive after discontinuation of treatment. Up to day, while pathogenesis remains unclear, the most likely hypothesis is an axonal swelling due to metronidazole-induced vasogenic edema which could be linked to an impairment of vitamin B1 action, because of metronidazole conversion to a thiamine analog.[13] Waiting studies to define pathogenesis of this toxicity, characterizing the distribution of metronidazole and OH-metronidazole in cerebral tissue may contribute to adapt dosing regimen in order to prevent side effects while preserving maximal antibacterial efficiency.

Differences in anatomy, enzymatic activity or bulk-flow exist between blood-brain-barrier (BBB) and blood CSF-Barrier (BCSFB),[14] which could result in differences of drug distribution between CSF and brain extracellular fluid (ECF). Current metronidazole doses rely on few studies that showed an extensive distribution of metronidazole into the CSF. [1, 2] However, most of previous CSF pharmacokinetic studies of metronidazole used non specific microbiological assays which cannot distinguish parent drug from metabolites [15-18] and up to day, no study has explored the distribution of metronidazole in the brain extracellular fluid.

Intracerebral microdialysis is the state of the art *in vivo* technique allowing ECF sampling to study brain distribution of exogenous compounds such as antibiotics.[19] The main advantage of this technique is to measure continuously brain unbound concentrations as a function of time providing information on drug transport across BBB[19, 20] which may be relevant to explain neurotoxicity. However, one of the crucial issues in quantitative microdialysis is the determination of probe *in vivo* recovery to estimate unbound drug concentration. It is now

well admitted that *in vivo* recovery must be determined individually for each patient and retrodialysis by drug is most commonly used for that.[20] This technique consists in infusing a solution of the studied molecule at a known concentration into the probe, either immediately before or just at the end of the pharmacokinetics experiment to determine the relative loss of the drug. Then considering that the compound gets across the membrane only by passive diffusion, it is possible to assume that recovery by loss and by gain are equivalent. Probe recoveries are likely to differ between compounds and therefore if one wants to investigate the brain distribution of a parent compound together with its metabolite, recovery needs to be determined for each compound. However, metabolites solutions for human use may not be available for recoveries calculations. Yet because hydroxy-metronidazole (OH-metronidazole) is an active metabolite, it may be important to assess its CNS distribution as well as that of metronidazole. Therefore the main goal of this study was to explore cerebral ECF distribution of metronidazole and its metabolite (OH-metronidazole) in patients with acute brain injury by comparing unbound concentrations in brain and plasma.

MATERIAL AND METHODS

Comparison of in vivo recoveries by loss of metronidazole and OH-metronidazole in rats (n=7)

Animal experiments were conducted in compliance with EC Directive 2010/63/EU under agreement No. 86 051 in order to compare metronidazole and OH-metronidazole probes recoveries in vivo.

Implantation of blood femoral cannulas

The day before experiment, two polyethylene catheters were implanted in left femoral vein and artery for drug administration and blood samples collection, in anesthetized rats (isoflurane, Forene®, Abbott, France) as previously described.[21]

Implantation of microdialysis probes

Directly after cannulas implantation, a CMA/20 probe (PAES membrane, length 10mm, CMA microdialysis, Phymep, France) was inserted into the right hind leg muscle.[21, 22] Rats were then placed on a stereotaxic instrument (David Kopf Instruments, Tujunga, USA) to implanted microdialysis CMA/12 guide cannula (CMA microdialysis, Phymep, France) into the left dorsal hippocampus with coordinates: lateral – 4.8 mm, anterior –5.6 mm, ventral – 4.7 mm relative tobregma as previously described.[23]

Experimental design of in vivo retrodialysis by drug

The day after surgery, a CMA/12 elite probe (PAES membrane, length 2mm, CMA microdialysis, Phymep, France) was inserted into guide cannula and retrodialysis by drug determinations were performed as previously described.[23] Briefly, each probe was perfused at 0.5 µL/min with Ringer containing both metronidazole (10 µg/mL) and OH-metronidazole (5 µg/mL) for 1.5 h to equilibrate the system. Microdialysate samples were then collected

automatically for 5h by fractions corresponding to 0.5h intervals (10 intervals of collect). *In vivo* recovery by loss (RL $_{in\ vivo}$) was determined for each interval of time as previously described[23] for both probes (muscle and brain) and mean relative recoveries of metronidazole and OH-metronidazole were expressed as a mean (± sd) of 10 sampling intervals.

Metronidazole and OH-metronidazole Pharmacokinetics in Patients

Patients

This study was performed in the neuro-intensive care unit at University Hospital of Poitiers (France) and was approved by the local ethics committee (CPP OUEST III, protocol #2008-003311-12). Written informed consent was obtained from a legal representative of the four patients enrolled. Patients (4 men), aged 52-65 years, were brain-injured, sedated with midazolam and fentanyl and were mechanically ventilated. The demographic characteristics are detailed in Table 1. All received metronidazole (B Braun, Boulogne-Billancourt, France) and cefotaxime (Panpharma, Fougères, France) for the clinical management of a lung infection at a respective dosing regimen of 500 mg and 2 g three times per day. Routine monitoring for acute brain injury included brain-specific monitoring of intracranial pressure (Micro-sensor ICP monitoring system; Codman & Shurtleff, Inc., Raynham, USA), measurement of the partial pressure of oxygen in brain tissue (PbO_2) measurement (Licox; Integra Neurosciences, Lyon, France), and cerebral microdialysis (CMA-70, polyamide membrane, 20 kDa, µdialysis, Advanced Medical Products, France) for lactate, pyruvate, glucose, and glycerol concentration determinations.

Table 1. Demographic patient characteristics (n = 4)

Patient	P1	P2	P3	P4
Age (yrs)	55	64	52	65
Height (cm)	180	172	175	172
Sexe	M	M	M	M
Weight (kg)	90	90	77	79
Creatinine clearance * (mL/min)	171	118	86	144
Serum albumin (g/L)	22	na	31	42
Serum total proteins (g/L)	66	61	64	67
Admission	TBI	TBI	SAH	TBI
Number of previous administrations	17	6	6	8

na: not available; TBI: trauma brain injury; SAH: subarachnoid hemorrhage

* Calculated by using MDRD equation

Microdialysis probe implantation

Microdialysis probe implantation and equilibration at a flow rate of 0.3 µL/min were performed as previously described.[19, 24]

Drug administration and sampling

Metronidazole brain pharmacokinetic study was conducted at steady state between Days 3 and 6, corresponding to 6 to 17 metronidazole administrations. After collection of baseline dialysates and blood samples, 500 mg of metronidazole were infused over 0.5 h. Brain dialysates were collected over the 8 h period at 0.5 h intervals during the first 3h and 1h intervals for the rest of experiment. Eight to thirteen blood samples were collected over the dosing interval. Blood samples were centrifuged at 2000 g for 15 min at 4 °C and plasma was

collected to determine total metronidazole and OH-metronidazole concentrations. Two extra plasma samples were collected, one early and one later post dosing, to determine unbound concentrations of both molecules by ultrafiltration at 2500 g for 30 min at 4 °C (Centrifree®, MILLIPORE Corporation, Billerica, USA). The unbound fractions were determined for each compound and each patient as the mean value of the unbound to total concentrations ratios estimated in these two extra plasma samples. Immediately after collection, dialysates, ultrafiltrates (UF) and plasma samples were kept at -80 °C until analysis.

In vivo recovery calculation of metronidazole

For each patient, *in vivo* probe recovery was determined using retrodialysis-by-drug over 2.5 h at the end of the experiment as previously described.[24] The next metronidazole injection was delayed to perform recovery estimation. Briefly microdialysis probe was perfused with 50 µg/mL solution of metronidazole in CNS perfusion fluid and after 1 h equilibration period; three 0.5 h interval dialysates were collected. The *in vivo* relative recovery by loss was calculated for each dialysate collected and the mean value was used to correct dialysates concentrations.[24] Metronidazole residual unbound concentration in brain was taken into consideration to estimate recovery like it was previously performed.[25] For reasons discussed later probes recoveries were assumed to be the same for metronidazole and OH-metronidazole and were therefore used to make corrections for both compounds.

Metronidazole and OH-metronidazole assay

Metronidazole and OH-metronidazole concentrations were determined by HPLC with UV detection. The chromatographic system consisted of a Xterra C18 column (150 x 3.8 mm i.d., France), a Hitachi pump L-2130 (VWR, Fontenay sous bois, France) and a Hitachi L-2200 autosampler (VWR, Fontenay sous bois, France) connected to an ultraviolet detector (Schimadzu SPD 10A, Marne la Vallée, France) at 310 nm. Data were recorded and analyzed on EZ chrom integrator (VWR, Fontenay sous bois, France). The mobile phase consisted of a solution of KH2PO4 0.01M mixed with acetonitrile (86/14, vol/vol) at a flow rate of 0.4mL/min. Brain dialysates and UF samples were injected directly after dilution with an internal standard solution of dimetridazole (0.5 ng/mL). For both metronidazole and OH-metronidazole, eight calibration standards with concentrations between 0.25 and 20 µg/mL

for both molecules were performed. The dialysates and UF metronidazole and OH-metronidazole intra and inter days variability were respectively characterized at four (0.25, 0.5, 2 and 20 µg/mL) and three (0.5, 2 and 15 µg/mL) levels of concentrations and were always lower than 15 %. Plasma samples (100 µL) were treated by addition of 200 µL of acetonitrile containing internal standard (2.5 µg/mL) for deproteinization. In plasma, seven calibration standards were prepared with concentrations between 0.5 and 40 µg/mL. The plasma intra and inter days variability were respectively characterized at four (1, 2, 10 and 40 µg/mL) and three (1, 5 and 30 µg/mL) levels of concentrations and were always lower than 15 %.

Pharmacokinetic analysis

In each patient, two individual unbound fraction values (fu) of metronidazole were calculated as the ratio of metronidazole concentrations in UF on corresponding total plasma concentrations. The mean value was used to convert total concentrations into unbound concentrations. Pharmacokinetic parameters values were estimated from unbound plasma and ECF brain unbound concentrations by individual non-compartmental analysis (Phoenix WinNonlin 6.2, Pharsight, US) as previously described.[19, 24] Briefly, areas under the plasma and brain ECF unbound concentrations-time curves between two consecutive dosing at steady-state ($AUC_{0-\tau}$) were calculated using the linear trapezoidal rule. The elimination rate constant ke and corresponding half-lives ($t_{1/2}$) were determined in the terminal phase of the decline and metronidazole clearance ($CL_{ss,u}$) and volume of distribution ($V_{ss,u}$) were calculated. The average steady-state unbound concentration ($C_{average}$) was calculated as the ratio of $AUC_{0-\tau}$ on $\boldsymbol{\tau}$, where $\boldsymbol{\tau}$ was equal to 8 h.

Statistical analysis

Results are expressed as mean ± sd. Metronidazole half-life and mean maximum unbound concentration values in plasma and brain were compared by a non-parametric Wilcoxon test at a significance level of $p < 0.05$.

RESULTS

In rats, mean recoveries by loss of metronidazole and OH-metronidazole were stable with time. In brain, mean probe recoveries were ranging between 13.5 % and 32.0 % for metronidazole and were always higher than those of OH-metronidazole that varied between 8.3 % and 27.8 % (Table 2a). In muscle, mean probe recoveries were higher than in brain and less variability was observed between individuals and between compounds, with values ranging between 84.5 % and 91.3 % for metronidazole and between 78.3 % and 88.5 % for OH-metronidazole (Table 2b). In patients, estimated *in vivo* metronidazole probe recoveries were relatively high with limited variability (73.9 % - 82.9 %) between individuals (Table 2 c).

Table 2. Mean relative recovery (± sd) of metronidazole and OH-metronidazole obtained in brain (CMA/12 elite probe) and in muscle (CMA/20 probe) of rats at a flow rate of 0.5 µL/min (a and b). Mean relative recovery (± sd) of metronidazole obtained in patients brain (CMA 70) at a flow rate of 0.3 µL/min (c).

(a) Probes recoveries in rat BRAIN (%)							
	R1	**R2**	**R3**	**R4**	**R5**	**R6**	**R7**
Metronidazole *	21.3 ± 8.0	27.6 ± 5.1	27.1 ± 5.3	19.3 ± 2.7	13.5 ± 2.8	24.8 ± 5.7	32.0 ± 7.6
OH-metronidazole*	8.3 ± 4.3	9.9 ± 2.7	9.3 ± 2.7	13.7 ± 3.1	8.8 ± 3.3	17.3 ± 5.3	27.8 ± 8.0
Ratios OH- Metro / Metro	**0.39**	**0.36**	**0.34**	**0.71**	**0.65**	**0.70**	**0.87**
(b) Probes recoveries in rat MUSCLE (%)							
	R1	**R2**	**R3**	**R4**	**R5**	**R6**	**R7**
Metronidazole*	91.3 ± 2.1	88.9 ± 1.8	84.5 ± 1.1	87.6 ± 1.2	85.6 ± 3.2	nd	nd
OH-metronidazole*	88.5 ± 3.0	86.6 ± 2.7	78.3 ± 1.7	82.7 ± 1.4	80.1 ± 3.8	nd	nd
Ratios OH-Metro / Metro	**0.97**	**0.96**	**0.93**	**0.94**	**0.94**	nd	nd
(c) Probes recoveries in PATIENTS (%)							
	P1	**P2**	**P3**	**P4**			
Metronidazole†	82.9 ± 3.7	79.5 ± 3.4	79.1 ± 1.7	73.9 ± 4.3			

nd: not done
* mean ± sd were performed on 10 intervals of sampling
† mean ± sd were performed on 3 intervals of sampling

Estimated mean unbound fractions in plasma (f_u) of metronidazole and OH-metronidazole were respectively equal to 86.5 ± 8.9 % and 79.0 ± 13.0 %. Unbound metronidazole concentration-time curves in brain were delayed compared to unbound plasma concentration-time curves with a maximal time peak observed at 69 ± 30 min, but the brain maximal concentration was not significantly lower than corresponding value in plasma ($C_{max,ub}$ = 14.5 ± 1.2 µg/mL versus $C_{max,up}$ = 17.1 ± 3.1 µg/mL) (Figure 1). Mean metronidazole brain to unbound plasma $AUC_{0-\infty}$ ratio was equal to 102 ± 19 %. Pharmacokinetics parameters are presented in Table 3.

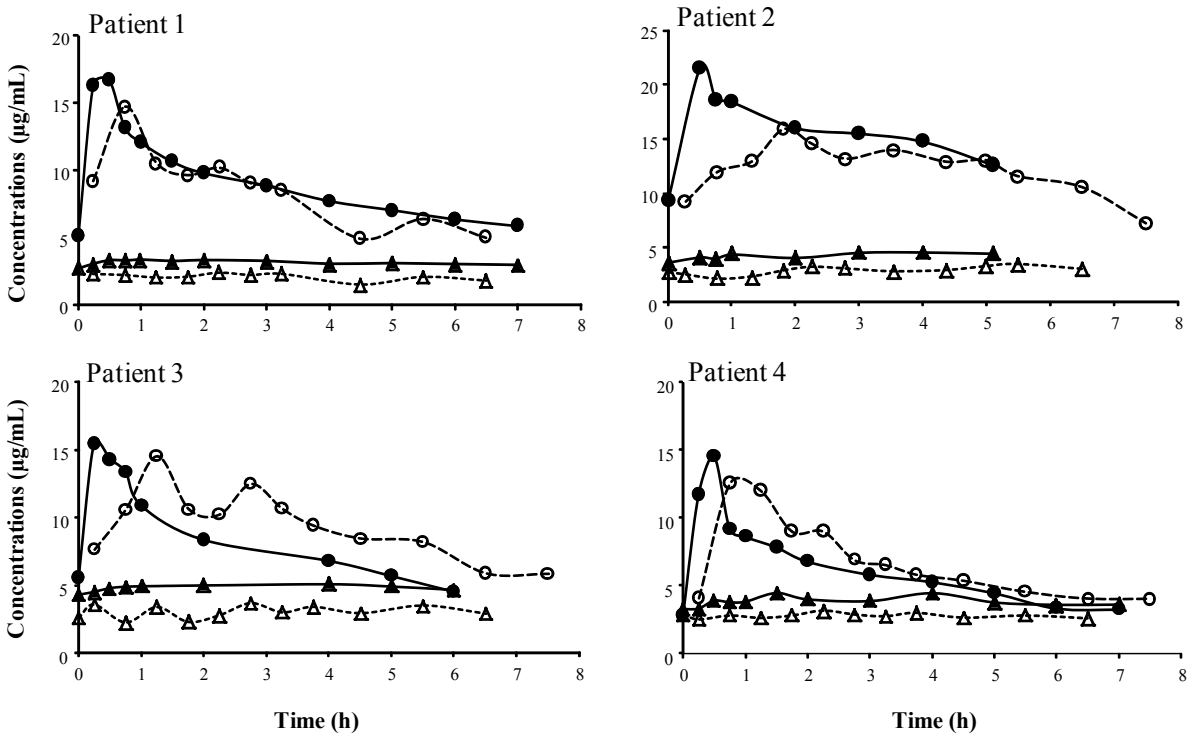


Figure 1. Individual steady state unbound plasma concentrations of metronidazole (●, full line), OH-metronidazole (▲, full line) and brain ECF metronidazole (◯, dashed line) and OH-metronidazole concentrations (△, dashed line) after 500 mg metronidazole infusion over 0.5 h every 8 h in critical care patients.

Unbound plasma and ECF versus time profiles of OH-metronidazole were flat with corresponding mean average steady-state concentrations equal to 4.0 ± 0.7 µg/mL and 2.6 ± 0.3 µg/mL (Figure 1). Mean OH-metronidazole brain to unbound plasma $AUC_{0-\infty}$ ratio was estimated to 66 ± 5 % (Table 3).

Table 3. Pharmacokinetic parameters determined at steady-state by non-compartmental analysis, in critical care patients receiving 30 min intravenous infusions of 500 mg of metronidazole every 8 h. Individual and mean values (±sd) are presented.

	METRONIDAZOLE					OH-METRONIDAZOLE
Patients	$Vd_{ss,u}$ (L)	$C_{Lss,u}$ (L/h)	$t_{1/2\ plasma*}$ (h)	$t_{1/2\ brain*}$ (h)	Brain ECF / unbound plasma AUC ratio	Brain ECF / unbound plasma AUC ratio
P1	66.7	4.0	6.7	4.2	0.87	0.63
P2	56.4	3.4	9.2	4.5	0.83	0.63
P3	53.6	3.2	4.9	4.8	1.24	na
P4	65.6	3.9	4.3	4.4	1.16	0.72
mean	**60.6**	**7.9**	**6.3**	**4.5**	**1.02**	**0.66**
sd	**6.6**	**2.8**	**2.2**	**0.2**	**0.19**	**0.05**

* not significantly different
na: non available

DISCUSSION

A major issue of this study was for the first time to our knowledge, to use intracerebral microdialysis to investigate not only the CNS distribution of a parent drug but also of its metabolite in patients. Since no solution of OH-metronidazole for human use was available to determine probe recovery *in vivo* by retrodialysis, the methodological challenge of this study was to tentatively extrapolate OH-metronidazole recovery from that estimated for metronidazole. In order to do that preliminary retrodialysis experiments were conducted in rats with two different types of probes (CMA-12 in brain and CMA-20 in muscle), which offer the same membrane characteristics (Polyarylethersulphone (PAES) membrane, 20 kDa cut-off), but different lengths (respectively, 2 mm and 10 mm). These two probes were inserted in brain and muscle, respectively, and were infused at the same flow rate (0.5µL/min) with metronidazole and OH-metronidazole to determine simultaneously the recovery of each molecule. In muscle, probe recoveries were relatively high (> 75 %) with little variability between probes, and almost identical for metronidazole and OH-metronidazole (Table 2b). In brain, probe recoveries for metronidazole were much lower than in muscle and varied by almost 3 fold between rats (from 13.5 % to 32.0 %) (Table 2a). Furthermore probe recoveries in brain for OH-metronidazole were lower (from 34% to 87%) than for metronidazole (Table 2a). We postulated that this between compounds difference only observed in brain was not due to the tissue itself, but rather to the fact that probes recoveries were almost complete (close to 100 %) in muscle but considerably reduced (< 32 % at the most) in brain. Low probes recoveries raise concerns that have previously been described and in practice they should be higher than 20 % in order to maintain the experimental error in acceptable limits.[26]

In our patients, probe recoveries estimated for metronidazole in each patient by retrodialysis-by-drug were quite high, varying between 79.1 % and 82.9 % (Table 2c), which is 1.5 to 3 times higher than recoveries that we have previously reported for cefotaxime and meropenem in patients.[19, 24, 27] Experimental conditions in the present study, including flow rate and selected probes were identical (0.3µL/min, CMA70, 20 kDa) with our cefotaxime study [24] while the same flow rate but larger cut-off probes (CMA 71, 100 kDa) were used for our

meropenem study.[27] Yet metronidazole probe recoveries in patients' brain were not only particularly high but also virtually identical between individuals (Table 2c). When this was observed in rats muscle, it also appeared that metronidazole and OH-metronidazole were virtually identical. Therefore we assumed that in human brain metronidazole and OH-metronidazole probes recoveries were probably sufficiently close to each other for being considered as identical. Consequently, OH-metronidazole concentrations measured in dialysates were corrected in each patient by the probe recovery value estimated for metronidazole in the same patient, in order to estimate brain ECF concentrations (Figure 1).

This study has demonstrated an extensive distribution in brain of metronidazole and OH-metronidazole with a mean AUC ratio close to unity for the parent drug (Table 3) suggesting that metronidazole brain ECF distribution is governed by passive diffusion. Although one third lower the mean AUC ratio for OH-metronidazole was still relatively high with a mean value equal to 66 ± 5 % (Table 3). This apparent difference may be due to the higher hydrophilicity of OH-metronidazole. However although probes recoveries for OH-metronidazole were slightly lower than corresponding recoveries of metronidazole in muscle rats (Table 2b), we assumed that they were virtually identical in patients for making corrections. Consequently, the brain to plasma AUCs ratio for the metabolite could have been slightly underestimated if probe recoveries for OH-metronidazole were lower than those of metronidazole. In any case, these two compounds distribute much more extensively within patients brain than cefotaxime (mean brain-to-plasma AUC ratio = 26.1 ± 12.1 %),[24] in accordance with the fact that some β-lactams antibiotics are known to be transported by efflux transporters including organic anion transporter 3 (OAT-3), peptide transporter 2 (PEPT-2) or multidrug resistant associated protein 4 (MRP4).[28-30]

Numerous pharmacokinetic studies of metronidazole have been performed in healthy volunteers[31-33] and in various specific populations,[1, 3] but only two studies were conducted in critically ill patients.[34, 35] In the present study, the mean metronidazole fu (86.5 ± 8.5 %) was in accordance with previous results.[1] A low protein binding was also estimated for OH-metronidazole with a mean fu of 79.0 ± 13.0 %. Since the unbound fractions of metronidazole

and OH-metronidazole were close to unity, our pharmacokinetic parameters estimated from unbound concentrations can be directly compared with parameters previously reported for total concentrations. Then, $Vd_{ss,u}$ in the present study (60.6 ± 6.6 L, Table 3) was close to the value estimated in septic shock patients after a single administration (53.5 ± 4 L).[35] However, our $CL_{ss,u}$ (7.9 ± 2.8 L/h) was 2 times higher than in septic shock patients (56.2 mL/min or 3.4 L/h).[35] Consequently our metronidazole $t_{1/2}$ (6.3 ± 2.2 h, table 3) is much lower than previously reported in critical care patients (13.2 ± 5.3 h) and is more in agreement with $t_{1/2}$ estimated in healthy volunteers (between 7.3 to 7.9 h).[31-33] The most likely explanation for this discrepancy is the impaired renal function that is usual in patients with a septic shock (Table 1).[35] Systemic metronidazole and OH-metronidazole pharmacokinetic parameters in the present study were consistent with those estimated in the CSF distribution study.[36]

Concerning OH-metronidazole, the flat profiles observed in the present study (Figure 1) were not seen in healthy volunteers after a single dose of metronidazole, when an elimination half-life of 9.5 ± 2.1 h was observed.[31] These flat profiles were probably the result of a long $t_{1/2}$ in our patients compared with dosing interval (τ) of 8h, making difficult a proper estimate of this parameter.

CONCLUSION

This study is the first one to describe an extensive distribution of metronidazole and its metabolite in patients' brain ECF using microdialysis.

FUNDING

This work was support by a grant (PHRC) from the French Ministère de l'Education et de la Recherche.

TRANSPARENCY DECLARATIONS

None to declare.

REFERENCES

1. Lamp KC, Freeman CD, Klutman NE et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the nitroimidazole antimicrobials. *Clinical pharmacokinetics* 1999; **36**: 353-73.

2. Easmon CS, Ison CA, Kaye CM et al. Pharmacokinetics of metronidazole and its principal metabolites and their activity against Gardnerella vaginalis. *British Journal of Venereal Diseases* 1982; **58**: 246-9.

3. Lau AH, Lam NP, Piscitelli SC et al. Clinical pharmacokinetics of metronidazole and other nitroimidazole anti-infectives. *Clin Pharmacokinet* 1992; **23**: 328-64.

4. Shin SH, Kim KS. Treatment of bacterial meningitis: an update. *Expert opinion on pharmacotherapy* 2012; **13**: 2189-206.

5. Tattevin P, Bruneel F, Clair B et al. Bacterial brain abscesses: a retrospective study of 94 patients admitted to an intensive care unit (1980 to 1999). *Am J Med* 2003; **115**: 143-6.

6. Bernstein LH, Frank MS, Brandt LJ et al. Healing of perineal Crohn's disease with metronidazole. *Gastroenterology* 1980; **79**: 599.

7. Bradley WG, Karlsson IJ, Rassol CG. Metronidazole neuropathy. *British medical journal* 1977; **2**: 610-1.

8. Kim E, Na DG, Kim EY et al. MR imaging of metronidazole-induced encephalopathy: lesion distribution and diffusion-weighted imaging findings. *AJNR Am J Neuroradiol* 2007; **28**: 1652-8.

9. Patel K, Green-Hopkins I, Lu S et al. Cerebellar ataxia following prolonged use of metronidazole: case report and literature review. *Int J Infect Dis* 2008; **12**: e111-4.

10. Seok JI, Yi H, Song YM et al. Metronidazole-induced encephalopathy and inferior olivary hypertrophy: lesion analysis with diffusion-weighted imaging and apparent diffusion coefficient maps. *Arch Neurol* 2003; **60**: 1796-800.

11. Kalia V, Vibhuti, Saggar K. Case report: MRI of the brain in metronidazole toxicity. *Indian J Radiol Imaging* 2010; **20**: 195-7.

12. Ingham HR, Eaton S, Venables CW et al. Bacteroides fragilis resistant to metronidazole after long-term therapy. *Lancet* 1978; **1**: 214.

13. Moosa ANV, Perkins D. Neurological picture. MRI of metronidazole induced cerebellar ataxia. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 2010; **81**: 754-5.

14. Westerhout J, Danhof M, De Lange ECM. Preclinical prediction of human brain target site concentrations: Considerations in extrapolating to the clinical setting. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 2011; **100**: 3577-93.

15. Davies AH. Metronidazole in human infections with syphilis. *The British journal of venereal diseases* 1967; **43**: 197-200.

16. Feldman WE. Bacteroides fragilis ventriculitis and meningitis. Report of two cases. *American journal of diseases of children* 1976; **130**: 880-3.

17. Jokipii AM, Myllyla VV, Hokkanen E et al. Penetration of the blood brain barrier by metronidazole and tinidazole. *J Antimicrob Chemother* 1977; **3**: 239-45.

18. O'Grady LR, Ralph ED. Anaerobic meningitis and bacteremia caused by Fusobacterium species. *American journal of diseases of children* 1976; **130**: 871-3.

19. Frasca D, Dahyot-Fizelier C, Couet W et al. Brain microdialysis distribution study of cefotaxime in a patient with traumatic brain injury. *British journal of anaesthesia* 2012; **109**: 830-1.

20. Dahyot C, Marchand S, Bodin M et al. Application of basic pharmacokinetic concepts to analysis of microdialysis data: Illustration with imipenem muscle distribution. *Clinical pharmacokinetics* 2008; **47**: 181-9.

21. Marchand S, Dahyot C, Lamarche I et al. Microdialysis study of imipenem distribution in skeletal muscle and lung extracellular fluids of noninfected rats. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; **49**: 2356-61.

22. Dahyot C, Marchand S, Pessini GL et al. Microdialysis study of imipenem distribution in skeletal muscle and lung extracellular fluids of Acinetobacter baumannii-infected rats. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; **50**: 2265-7.

23. Marchand S, Chenel M, Lamarche I et al. Dose ranging pharmacokinetics and brain distribution of norfloxacin using microdialysis in rats. *J Pharm Sci* 2003; **92**: 2458-65.

24. Dahyot-Fizelier C, Frasca D, Gregoire N et al. Microdialysis study of cefotaxime cerebral distribution in patients with acute brain injury. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; **57**: 2738-42.

25. Karjagin J, Lefeuvre S, Oselin K et al. Pharmacokinetics of meropenem determined by microdialysis in the peritoneal fluid of patients with severe peritonitis associated with septic shock. *Clin Pharmacol Ther* 2008; **83**: 452-9.

26. Bouw MR, Hammarlund-Udenaes M. Methodological aspects of the use of a calibrator in in vivo microdialysis-further development of the retrodialysis method. *Pharm Res* 1998; **15**: 1673-9.

27. Dahyot-Fizelier C, Timofeev I, Marchand S et al. Brain microdialysis study of meropenem in two patients with acute brain injury. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 2010; **54**: 3502-4.

28. Akanuma S-I, Uchida Y, Ohtsuki S et al. Molecular-weight-dependent, anionic-substrate-preferential transport of Î²-lactam antibiotics via multidrug resistance-associated protein 4. *Drug metabolism and pharmacokinetics* 2011; **26**: 602-11.

29. Shen H, Ocheltree SM, Hu Y et al. Impact of genetic knockout of PEPT2 on cefadroxil pharmacokinetics, renal tubular reabsorption, and brain penetration in mice. *Drug Metab Dispos* 2007; **35**: 1209-16.

30. Spector R. Nature and consequences of mammalian brain and CSF efflux transporters: four decades of progress. *J Neurochem* 2010; **112**: 13-23.

31. Houghton GW, Thorne PS, Smith J et al. Comparison of the pharmacokinetics of metronidazole in healthy female volunteers following either a single oral or intravenous dose. *British journal of clinical pharmacology* 1979; **8**: 337-41.

32. Mattila J, Mannisto PT, Mantyla R et al. Comparative pharmacokinetics of metronidazole and tinidazole as influenced by administration route. *Antimicrob Agents Chemother* 1983; **23**: 721-5.

33. Muscara MN, Pedrazzoli J, Jr., Miranda EL et al. Plasma hydroxy-metronidazole/metronidazole ratio in patients with liver disease and in healthy volunteers. *British journal of clinical pharmacology* 1995; **40**: 477-80.

34. Plaisance KI, Quintiliani R, Nightingale CH. The pharmacokinetics of metronidazole and its metabolites in critically ill patients. *J Antimicrob Chemother* 1988; **21**: 195-200.

35. Karjagin J, Pahkla R, Karki T et al. Distribution of metronidazole in muscle tissue of patients with septic shock and its efficacy against Bacteroides fragilis in vitro. *J Antimicrob Chemother* 2005; **55**: 341-6.

36. Frasca D, Dahyot-Fizelier C, Mimoz O et al. Metronidazole and hydroxy-metronidazole central nervous system distribution: 2. Cerebrospinal fluid concentrations measurements in patients with external ventricular drain. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* submitted.

Metronidazole and hydroxy-metronidazole central nervous system distribution:

2. Cerebrospinal fluid concentrations measurements in patients with external ventricular drain

D. Frasca[1,2,3], C. Dahyot-Fizelier[1,2,3], C. Adier[1,4] , O. Mimoz[1,2,3], B. Debaene[1,2,3], W. Couet[1,2,4], S. Marchand[1,2,4]

[1] Inserm U1070, Pole Biologie Santé, 1 rue Georges Bonnet, 86000 Poitiers, France

[2] Université de Poitiers, UFR Médecine-Pharmacie, 6 rue de la Milétrie, 86000 Poitiers, France

[3] CHU Poitiers, Service d'Anesthésiologie-Réanimation Chirurgicale, 2 rue de la Milétrie, 86000 Poitiers, France

[4] CHU Poitiers, Service de Toxicologie-Pharmacocinétique, 2 rue de la Milétrie, 86000 Poitiers, France

Running title: Cerebrospinal fluid pharmacokinetics of metronidazole

Keywords: Central nervous system, pharmacokinetics, blood-CSF barrier

Soumis le 6 août 2013 – *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*

RESUMÉ

Cette étude a exploré la distribution dans le liquide céphalo-rachidien (LCR) du métronidazole et de son métabolite l'hydroxy-métronidazole chez des patients cérébrolésés.

Quatre patients porteurs d'une dérivation ventriculaire externe ont reçu 500 mg de métronidazole sur 0,5 heure toutes les 8h. Des échantillons de sang et le LCR ont été prélevés à l'état d'équilibre pendant 8 h et les concentrations de métronidazole et d'hydroxy-métronidazole ont été estimées par HPLC. Une analyse non compartimentale a été réalisée.

Le métronidazole diffuse très bien dans le LCR avec un rapport des surfaces sous courbe (SSC) des concentrations libres LCR/plasma de 86 ± 16%. Cependant, les profils des concentrations dans le LCR étaient plats en comparaison aux profils plasmatiques. Les concentrations de l'hydroxy-métronidazole dans le plasma et dans le LCR étaient plus faibles que celles du métronidazole avec un rapport des SSC des concentrations libres de 79 ± 16%.

Ce travail décrit pour la première fois la pharmacocinétique du métronidazole et OH-métronidazole dans le LCR.

ABSTRACT

This study explored CSF metronidazole and hydroxy-metronidazole distribution in brain-injured patients.

Four brain-injured patients with external ventricular drain received 500 mg of metronidazole over 0.5 h every 8h. CSF and blood samples were collected at steady-state over 8 h and metronidazole and hydroxy-metronidazole concentrations were assayed by HPLC. A non-compartmental analysis was performed.

Metronidazole distributes extensively within CSF with a mean CSF over unbound plasma $AUC_{0\text{-}\tau}$ ratio equal to 86 ± 16 %. Yet concentrations profiles in CSF were mostly flat compared with plasma profiles. Hydroxy-metronidazole concentrations were much lower than those of metronidazole both in plasma and CSF with a corresponding CSF over unbound plasma $AUC_{0\text{-}\tau}$ ratio equal to 79 ± 16 %.

This study was the first one to describe in details the pharmacokinetics of metronidazole and OH-metronidazole in CSF.

INTRODUCTION

Blood brain barrier (BBB) and blood-CSF barrier (BCSFB) protect brain from neurotoxic substances and control drugs distribution. CNS distribution studies are essential to predict drug's efficacy or/and side effects. Antibiotics may be used for the treatment of CNS infections but may also induce undesirable excitatory side effects. Drugs distribution into CNS is difficult to study in human. Microdialysis can be used to determine brain ECF concentrations,[1] but this technique is relatively complex to handle and therefore most human studies rely on CSF concentrations measurements. Despite similarities, BBB and BSCFB present structural differences,[2] that may lead to differences in brain ECF and CSF concentrations versus time profiles. Comparisons between ECF and CSF concentrations have been reported in animals[3] but and to our knowledge in one previous study on carabamazepine in humans[4]. Our goal was to perform a CSF distribution study in patients and to compare CSF concentrations with ECF concentrations previously determined by brain microdialysis, using metronidazole as a representative antibiotic with extensive CNS distribution.[5]

MATERIAL AND METHODS

Patients

This study was performed at University Hospital of Poitiers (France) and was approved by the local ethics committee (CPP OUEST III, protocol N°2008-003311-12). Written informed consent was obtained from a legal representative of each patient. Four brain-injured male patients (3 with subarachnoid haemorrhage and 1 with ventricular haemorrhage) were sedated with midazolam and fentanyl and were mechanically ventilated. The demographic characteristics of patients were detailed in Table 1. They received metronidazole (B BRAUN, Boulogne Billancourt, France) to treat lung infection at a dosing regimen of 500 mg three times daily. Patients have undergone EVD (EDS 3™ CSF External Drainage System, CODMAN & SHURTLEFF Inc. Raynham, USA) due to non-inflammatory occlusive hydrocephalus.

Table 1. Demographic characteristics of patients (n=4).

Patient	1	2	3	4
Age (years)	73	51	52	34
Sexe	M	M	M	M
Height (cm)	178	176	180	175
Weight (kg)	90	80	115	75
Creatinin clearance* (mL/min)	165	84	141	306
Plasmatic proteins (g/L)	61	53	66	57
Number of administrations before experiments	6	6	14	16
Admission	HSA	HSA	HV	HSA

* calculated with MDRD equation

Drug administration and sampling

Metronidazole CSF pharmacokinetic study was conducted at steady state after 6 to 16 metronidazole administrations corresponding to 2 to 5 days after starting treatment. On day of experiment, a 30 min intravenous infusion containing 500 mg of metronidazole was started after collection of residual CSF and blood samples. Eight to twelve CSF samples and seven to ten blood samples were collected over 8 h. Blood samples were centrifuged and plasma was collected. Two extra plasma samples were collected, one early and one later post dosing, to determine metronidazole and OH-metronidazole unbound concentrations by ultrafiltration at 2500 g for 15 min at 4 °C (Centrifree®, MILLIPORE Corporation, Billerica, USA). The unbound fractions were determined for each compound and each patient as the mean value of the unbound to total concentrations ratios estimated in these two extra plasma samples.

Metronidazole and OH-metronidazole assay

Metronidazole and OH-metronidazole concentrations were determined by HPLC as previously described.[5]

Pharmacokinetic analysis

Unbound plasma concentrations were used for pharmacokinetic analysis whereas binding was considered to be negligible in CSF. Individual non-compartmental pharmacokinetic analysis was performed (Phoenix WinNonlin (version 6.2, Pharsight, US)) as previously described.[5] Results are expressed as mean ± standard deviation (sd).

RESULTS

Estimated mean unbound fractions (f_u) of metronidazole and OH-metronidazole in plasma were respectively equal to 89.3 ± 5.6 % and 88.0 ± 6.9 % and were independent of concentrations. Individual unbound plasma and CSF metronidazole and OH-metronidazole profiles are presented on Figure 1. Metronidazole unbound concentrations at steady-state fluctuated between mean maximal and minimal concentrations equal to 21.7 ± 7.1 and 7.7 ± 4.4 µg/mL with an average concentration ($C_{average}$= $AUC_{0\text{-}\boldsymbol{\tau}}/\boldsymbol{\tau}$) at 12.7 ± 4.5 µg/mL in plasma, whereas in CSF concentrations profiles did not exhibit a clear peak and were rather mostly flat with an average steady-state unbound concentration equal to 11.0 ± 5.0 µg/mL (Figure 1).

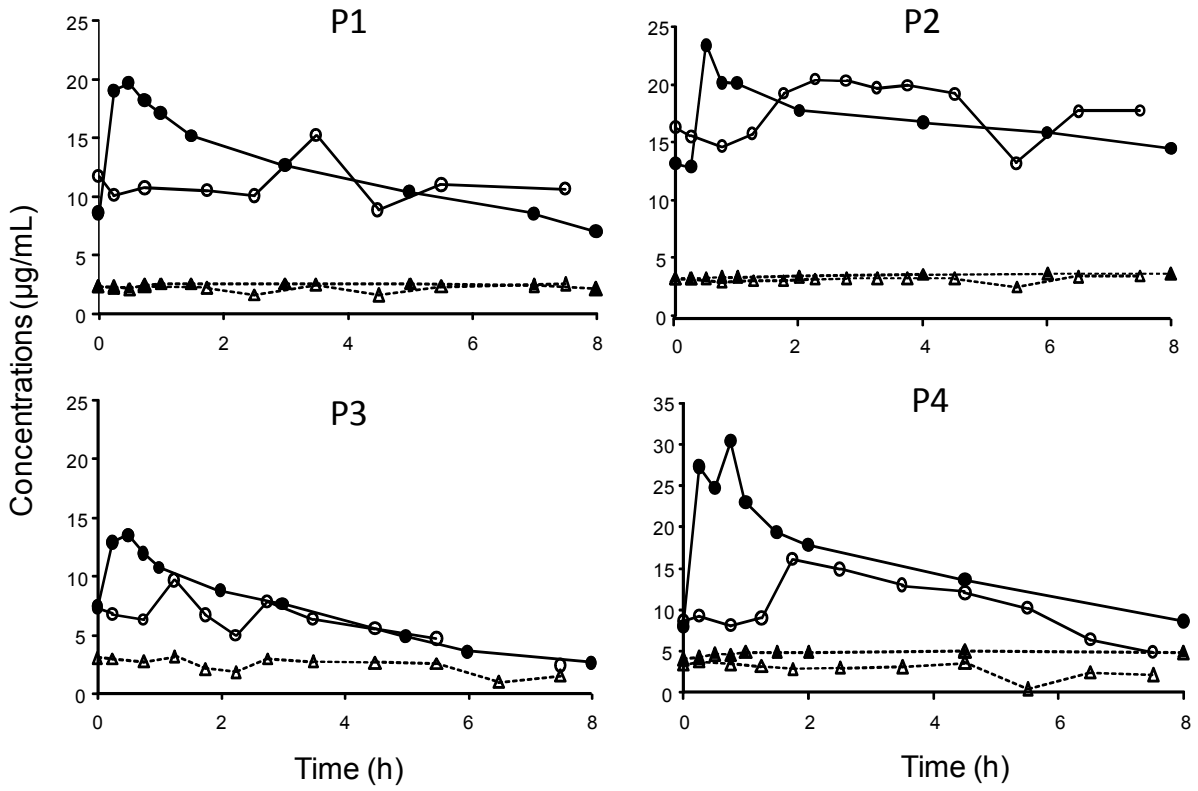


Figure 1. Individual steady state unbound plasma concentrations of metronidazole (●, full line), OH-metronidazole (▲, dashed line) and CSF metronidazole (◯, full line) concentrations and hydroxy-metronidazole (△, dashed line) after 500 mg metronidazole infusion over 30 min every 8 h in critical care patients. In patient 3, unbound plasma concentrations of OH-metronidazole were not determined due to analytical interference.

The mean unbound metronidazole CSF to unbound plasma $AUC_{0-\tau}$ ratio was equal to 86 ± 16 % (Table 2). Concerning OH-metronidazole, unbound plasma concentrations represent only 20 % of corresponding metronidazole values, which is unlikely to contribute significantly to antimicrobial effect. Both unbound plasma and CSF versus time concentrations profiles were virtually flat (Figure 1) and the mean unbound OH-metronidazole CSF to unbound plasma $AUC_{0-\tau}$ ratio was equal to 79 ± 16 % (Table 2). All pharmacokinetic parameters are presented in Table 2.

Table 2. Pharmacokinetic parameters determined at steady-state by non-compartmental analysis, in critical care patients receiving 30 min intravenous infusions of 500 mg of metronidazole every 8 h. Individual and mean results (±sd) are presented.

	metronidazole				**OH-metronidazole**
	Vdss,u (L)	CL,u (L/h)	$t_{1/2,\ plasma}$ (h)	CSF/ Unbound plasma AUC_{0-t} ratio	CSF/ Unbound plasma AUC_{0-t} ratio
P1	43	5.2	6.1	0.91	0.87
P2	89	3.7	16.4	1.05	0.89
P3	42	9.5	3.1	0.80	na
P4	31	4.1	5.7	0.67	0.61
mean	**51**	**5.6**	**7.8**	**0.86**	**0.79**
sd	**26**	**2.6**	**5.9**	**0.16**	**0.16**

na: not available

DISCUSSION

Metronidazole systemic pharmacokinetic parameters values (Table 1) are consistent with those estimated during the microdialysis study.[5] Although CNS distribution of metronidazole is generally considered to be extensive,[6,7] this is the first study to explore CSF distribution of metronidazole and OH-metronidazole in brain-injured patients with EVD and un-inflamed meninges. Previously published studies on metronidazole CSF penetration in human[8-13] have mostly been performed with non-specific microbiological assay procedure, not allowing separation between metronidazole and OH-metronidazole.[8-11] Nevertheless, a first case report in adult with meningitis, using HPLC as analytical method, described metronidazole CSF concentration after administration of 500 mg/6 h, but concomitant plasma concentrations were nor reported.[13] A second case report in a premature infant with bacterial meningitis reported results consistent with ours, in particular with a CSF over plasma concentrations ratio close to one.[12] This may suggest that for antibiotics diffusing extensively, meningitis has no major effect on CSF distribution.

In the present study, metronidazole demonstrates an extensive penetration through BCSFB as it was suggested through BBB using brain microdialysis, when a mean metronidazole unbound brain to plasma $AUC_{0\text{-}\tau}$ ratio of 102 ± 19 % was found.[5] These results are consistent with the fact that metronidazole is not known to be substrate of efflux transport system at the CNS level. Concerning OH-metronidazole, mean CSF to plasma $AUC_{0\text{-}\tau}$ ratio was equal to 79 ± 16 % (Table 1). However, metronidazole concentrations profiles in ECF and CSF were different. Indeed, concentration-time curves in brain ECF were delayed by comparison with unbound plasma concentration-time curves, but a peak was still visible within ECF with a mean maximal concentration equal to 14.5 ± 1.2 µg/mL,[5] whereas CSF versus time profiles were essentially flat with a mean steady state concentration close to 2.5 µg/mL. Consequently, it was possible to estimate a metronidazole half-life in brain ECF by microdialysis (4.5 ± 0.2 h) not significantly different from that in plasma (6.3 ± 2.2 h),[5] whereas metronidazole half-life in CSF could not be determined. Moreover, the absence of peak is likely to have consequences on antimicrobial efficacy of concentration dependent antibiotics such as metronidazole where peak level and AUC parameters determine antimicrobial *in vivo* efficacy,[14] but also possibly on excitatory side effects.

It should also be mentioned that differences observed between CSF and ECF metronidazole profiles must be interpreted with caution. First, although inter-patient variability was not particularly large, this study was conducted with a small number of patients (n=4). But more importantly, differences observed between ECF and CSF profiles during these two studies could be due not only to differences between BBB and BCSFB, since respective patients also differed by their physiopathology. Only patients recruited in this CSF distribution study required EVD for intracranial hypertension and these hemodynamic alterations may influence BCSFB permeability, CSF turnover and eventually metronidazole CSF distribution. Furthermore, EVD itself constitutes an extra route of drug elimination. Physiologically based pharmacokinetic approaches (PB-PK) will be used in order to clarify these issues.

CONCLUSION

This was the first study describing the pharmacokinetics of metronidazole and OH-metronidazole in CSF. Metronidazole and OH-metronidazole distribute extensively within CSF but concentrations versus time profiles are relatively flat compared to brain ECF concentrations estimated by microdialysis.[4] Metronidazole penetrates extensively within brain because it's not a substrate of CNS active efflux transport systems. Yet CSF and ECF concentrations versus time profiles are not superimposable, and therefore CSF distribution studies should not be used to predict concentrations of this type of drugs within brain tissue.

FUNDING

This work was support by a grant (PHRC) from the French Ministère de l'Education et de la Recherche.

TRANSPARENCY DECLARATIONS

None to declare.

REFERENCES

1. Dahyot-Fizelier C, Timofeev I, Marchand S et al. Brain microdialysis study of meropenem in two patients with acute brain injury. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 2010; **54**: 3502-4.

2. Westerhout J, Danhof M, De Lange ECM. Preclinical prediction of human brain target site concentrations: Considerations in extrapolating to the clinical setting. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 2011; **100**: 3577-93.

3. de Lange EC. Utility of CSF in translational neuroscience. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 2013; **40**: 315-26.

4. Rambeck B, Jurgens UH, May TH et al. Comparison of brain extracellular fluid, brain tissue, cerebrospinal fluid, and serum concentrations of antiepileptic drugs measured intraoperatively in patients with intractable epilepsy. Epilepsia 2006; **47**:681-94.

5. Frasca D, Dahyot-Fizelier C, Gregoire N et al. Metronidazole and hydroxy-metronidazole central nervous system distribution 1. Microdialysis assessment of brain extracellular fluid concentrations in patients with acute brain injury. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* submitted.

6. Lau AH, Lam NP, Piscitelli SC et al. Clinical pharmacokinetics of metronidazole and other nitroimidazole anti-infectives. *Clinical pharmacokinetics* 1992; **23**: 328-64.

7. Lamp KC, Freeman CD, Klutman NE et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the nitroimidazole antimicrobials. *Clinical pharmacokinetics* 1999; **36**: 353-73.

8. O'Grady LR, Ralph ED. Anaerobic meningitis and bacteremia caused by Fusobacterium species. *American journal of diseases of children* 1976; **130**: 871-3.

9. Feldman WE. Bacteroides fragilis ventriculitis and meningitis. Report of two cases. *American journal of diseases of children* 1976; **130**: 880-3.

10. Jokipii AM, Myllyla VV, Hokkanen E et al. Penetration of the blood brain barrier by metronidazole and tinidazole. *J Antimicrob Chemother* 1977; **3**: 239-45.

11. Davies AH. Metronidazole in human infections with syphilis. *The British journal of venereal diseases* 1967; **43**: 197-200.

12. Warner JF, Perkins RL, Cordero L. Metronidazole therapy of anaerobic bacteremia, meningitis, and brain abscess. *Archives of internal medicine* 1979; **139**: 167-9.

13. Soriano F, Aguado JM, Tornero J et al. Bacteroides fragilis meningitis successfully treated with metronidazole after a previous failure with thiamphenicol. *J Clin Microbiol* 1986; **24**: 472-3.

14. Craig WA. Pharmacodynamics of Antimicrobials: General Concepts and Applications.Antimicrobial Pharmacodynamics in Theory and Clinical Practice. Second Edition.In: Nightingale CH, Ambrose PG, Drusano GL, Murakawa T. Ed.Informa Healthcare, New York, 2007; 1-19.

6 Discussion générale et perspectives

L'étude de la distribution cérébrale est un prérequis pour l'optimisation de l'usage des médicaments à visée neurologique, mais aussi des antibiotiques. Pour les molécules qui diffusent peu à travers les barrières physiologiques du système nerveux central, l'échec thérapeutique est le plus souvent en relation avec des concentrations trop faibles au site d'action. Pour les antibiotiques, il est important de considérer le site de l'infection (LCR ou LEC cérébral) mais également la relation entre les concentrations au site d'action tissulaire et les effets indésirables (Hammarlund-Udenaes et al. 2009). Notre approche, basée sur la possibilité du service de réanimation neurochirugicale de monitorer par microdialyse les marqueurs endogènes d'ischémie cérébrale, nous a permis de façon innovante d'utiliser cette technique à visée pharmacologique (Dahyot-Fizelier et al. 2013; Frasca et al. 2012) pour comparer les données dans le LEC cérébral et le LCR lors d'une étude complète chez l'homme.

Pour l'étude pharmacocinétique, le choix s'est limité en raison de l'indication médicale, à deux médicaments recommandés pour le traitement des infections du SNC mais également utilisés pour le traitement de pneumopathies. Il s'agit de molécules aux caractéristiques physicochimiques proches : hydrophiles, de faibles poids moléculaires, peu liés aux protéines plasmatiques (20 à 30%). Ces deux molécules, bien que recommandées, ne sont cependant pas

des médicaments développés dans un but thérapeutique spécifique d'affection du système nerveux central et n'ont donc pas la capacité de diffuser facilement à travers la BHE ou la BHL contrairement à des traitements comme les antiépileptiques (lipophiles). Le métronidazole (171 Da, Log P = -0,46) et le céfotaxime (456 Da, Log P = -1,40) diffusent de façon passive à travers les membranes lipidiques. Néanmoins, le céfotaxime comme de nombreuses bêta-lactamines est le substrat de transporteurs d'efflux (MRP-4, OAT-3, PEPT-2) présents sur les barrières physiologiques (Akanuma et al. 2011; Spector 2010; Shen et al. 2007). Sur un plan pharmacodynamique, outre leur action antibactérienne (cible bactérienne dans le LCR et plus rarement le LEC), des effets indésirables liés au passage dans le LEC cérébral (cible cellulaire membranaire et/ou intracellulaire) ont été décrits pour ces deux molécules : crises comitiales pour le céfotaxime (Sanofi-Aventis 2007) et encéphalopathie pour le métronidazole (Kim et al. 2007; Zuccoli et al. 2008).

Les premières comparaisons sur la distribution des médicaments entre le LCR et le LEC ont été réalisées par l'équipe de Ron Sawchuk de l'Université du Minnesota (Etats-Unis) sur la zidovudine et la stavudine par microdialyse chez l'animal (Wong et al. 1993). Les rapports des SSC des concentrations LCR/plasma (0,16 à 19) et LEC cérébral/plasma (0.05 à 0.09) suggéraient l'influence de mécanismes d'efflux sur la distribution dans le LCR et le LEC de la molécule. Ces dernières années, une approche plus systématique a été entreprise par l'équipe d'Elisabeth de Lange de l'Université de Leiden (Pays-Bas) avec l'objectif de caractériser la diffusion cérébrale de nombreux médicaments dont le site d'action est tissulaire, en évaluant par microdialyse la distribution dans le LCR et le LEC chez le rat pour plusieurs molécules aux propriétés différentes (poids moléculaire, lipophilie, pKa, liaison protéique, etc.) (Elizabeth C M de Lange 2013). Cette approche permet de définir le rapport entre les concentrations dans les deux milieux et ainsi déterminer si le LCR peut être un substitut du LEC pour apprécier la diffusion tissulaire, y compris dans un but translationnel de l'animal vers l'homme.

Chez nos patients de réanimation, les données obtenues dans le LCR ont confirmé que le céfotaxime (rapport des SSC LCR/plasma = 12,0 ± 6,0%) diffuse moins que le métronidazole (rapport SSC LCR/plasma = 85,6 ± 16,0%) et l'hydroxy-métronidazole son métabolite (79 ± 16,0%). Les mêmes types de résultats ont été observés dans le LEC où le rapport des SSC LEC/plasma pour le céfotaxime (26,1 ± 12,1%) est inférieur à celui du métronidazole (102,0

± 19,0 %) et de l'hydroxy-métronidazole (66,0 ± 5,0%). Les rendements moyens des sondes pour le céfotaxime allaient de 37.6 ± 0.1% et 54.8 ± 0.2%. Pour le métronidazole, ces rendements allaient de 79.1 % à 82.9 %. Néanmoins, pour l'hydroxy-métronidazole, ils n'ont pas pu être évalués *in vivo* chez les patients (la molécule n'existe pas sous forme stérile pour une administration clinique) mais une estimation à été obtenue en réalisant la technique chez le rat. Ces estimations montraient que les rendements pour le métronidazole et l'hydroxy-métronidazole dans le tissu cérébral étaient comparables lorsqu'ils étaient élevés, nous permettant d'extrapoler chez l'homme le rendement du métronidazole (le seul calibré *in vivo*) à l'hydroxy-métronidazole. Nos résultats montrent par ailleurs des profils plats des concentrations du céfotaxime et du métronidazole dans le LCR, avec peu de fluctuations entre concentrations maximales et minimales (concentrations moyennes respectives étaient proches de 1µg/mL et 2,5µg/mL) pendant l'intervalle d'administration (8h) contrairement aux profils dans le LEC. L'étude pharmacocinétique pour nos patients était réalisée à l'équilibre après au moins quatre administrations de l'antibiotique. Cependant, pour le céfotaxime, les profils plats retrouvés dans notre travail sont comparables à ceux obtenus dans le LCR après une injection unique, également chez des patients de réanimation porteurs d'une DVE de 2g de céfotaxime (Nau et al. 1993). Les mêmes types de profils plats étaient retrouvés dans le LCR pour la ceftriaxone (Nau et al. 1993) et le ceftazidime (Nau et al. 1996) avec un allongement des demi-vies d'élimination apparentes. Nous n'avons pas pu calculer la demi-vie d'élimination du céfotaxime et du métronidazole car l'estimation des concentrations libres a été réalisée à l'équilibre. Des profils PK plats (avec des concentrations très peu variables en fonction du temps) et l'allongement de la demi-vie d'élimination dans le LCR ont été trouvés pour d'autres molécules, notamment chez l'animal (porc) avec la morphine (Bernards et al. 2003) et chez l'homme avec des médicaments antiépileptiques lors de prélèvements répétés de LCR par un cathéter lombaire chez des volontaires sains, ce qui n'est pas une procédure habituelle et discutable sur un plan éthique (Nunes et al. 2013).

Chez le rat, la distribution du paracétamol a été explorée par microdialyse dans le LEC cérébral et le LCR ventriculaire (Westerhout et al. 2012). Il s'agit d'une petite molécule modérément lipophile (151 kDa, Log P = 0,51) dont la diffusion à travers les membranes lipidiques est passive. La quinidine, une molécule lipophile (324 kDa, Log P = 2,51) qui est un substrat de la P-gp a également été étudiée (Westerhout et al. 2013). Les résultats

montrent pour le paracétamol que les concentrations dans le LCR sont inférieures aux concentrations dans le LEC, contrairement à l'étude réalisée avec la quinidine pour laquelle les concentrations dans le LCR sont supérieures à celles du LEC. Ce résultat est expliqué selon les auteurs par les phénomènes d'efflux de la BHE qui diminuent les concentrations cérébrales de quinidine. D'autres études de microdialyse chez l'animal (rats, lapins, moutons, primates non humain) ont comparé les coefficients de partage « Kp,uu » milieu-plasma pour le LCR et le tissu cérébral sain (LEC) de nombreux médicaments aux caractéristiques différentes. Ces résultats ont fait l'objet d'une revue systématique , pour laquelle les auteurs montrent que les valeurs de Kp,uu dans le LCR, si elles sont effectivement corrélées aux valeurs de Kp,uu dans le tissu cérébral (les coefficients n'ont pas été calculés), ont toutefois tendance à être supérieures (Elizabeth C M de Lange 2013). Si cette hypothèse se vérifie en effet pour la quinidine (substrat de la P-gp), elle n'est pas confirmée pour le paracétamol chez le rat et par nos résultats pour le céfotaxime et le métronidazole (concentrations LCR inferieures à celles du LEC cérébral).

Chez l'homme, il n'existe qu'une étude comparant les concentrations libres de médicament dans le LCR et le LEC (Rambeck et al. 2006). Cette étude a estimé les concentrations de plusieurs antiépileptiques : la carbamazépine, le 10-hydroxy-carbazépine métabolite actif de l'oxcarbazépine, la lamotrigine et le lévetiracetam dans le LCR ventriculaire par prélèvements peropératoires répétés, le LEC par microdialyse et des homogénats de tissus cérébral de patients opérés pour le traitement d'une épilepsie chimiorésistante. Pour ces molécules très lipophiles qui ne sont pas substrat de transporteurs d'efflux, les concentrations libres dans le LCR étaient systématiquement supérieures aux concentrations libres dans le LEC (2,5 fois pour la carbamazepine, 3,5 fois pour le 10-hydroxy-carbazepine et le lévetiracetam, 4,0 fois pour la lamotrigine), allant ainsi dans le sens des résultats obtenus pour d'autres molécules lipophiles dans la plupart des études chez l'animal (Elizabeth C M de Lange 2013) mais dans le sens contraire de nos résultats (concentrations dans le LEC supérieures au LCR). Les résultats de cette étude sont néanmoins à considérer avec nuance car les rendements des sondes de microdialyse ont été estimés *in vitro*, ce qui constitue un biais majeur. Il n'existe dans la littérature, pas d'autre étude chez l'homme comparant LCR et LEC simultanément pour une même molécule.

Pour l'estimation des concentrations libres tissulaires des médicaments, la microdialyse est actuellement une technique de référence permettant au niveau cérébral d'évaluer l'effet de la BHE sur leur distribution. D'autres techniques ont été employées pour approcher les concentrations tissulaires libres. La technique des homogénats, en raison de l'hétérogénéité du tissu (milieu extracellulaire, intracelluaire, vasculaire), ne fourni qu'une information sur les concentrations totales d'un médicament (Mouton et al. 2008). La technique de section « *brain slices* » permet d'obtenir des concentrations libres proches du LEC mais suppose également d'avoir un prélèvement de tissu cérébral ce qui est difficile (voire impossible) à mettre en œuvre pour une étude cinétique complète chez l'homme (Fridén et al. 2009).

La première étude de microdialyse pour l'estimation des concentrations cérébrale d'antibiotiques chez l'homme date de la fin des années 90. Mindermann et al. ont comparé les concentrations de rifampicine dans le tissu cérébral (par homogénéisation) et le LEC (par microdialyse) chez des patients opérés pour l'exérèse d'une tumeur cérébrale (Mindermann et al. 1998). Les auteurs concluaient que les concentrations de rifampicine dans le LEC, avaient une moindre variabilité et approchaient les valeurs des homogénats de tissu sain (après correction par la fraction liée). Cette étude utilisait la technique no-net-flux pour l'estimation *in vivo* des rendements des sondes. Les autres études de microdialyse cérébrale récentes s'étant intéressées à la distribution des antibiotiques (vancomycine, fosfomycine, doripénème, méropénème) dans le LEC ont retrouvé un rapport des SSC des concentrations libres LEC/plasma inférieur à 1 (Caricato et al. 2006; Brunner et al. 2002; Poeppl et al. 2012; Dahyot-Fizelier et al. 2010). Cependant, ces études ont le plus souvent été réalisées avec des biais méthodologiques. L'étude avec la vancomycine (Caricato et al. 2006) avait inclus des patients après une chirurgie pour l'évacuation d'un hématome post-traumatique et des sondes de microdialyse (CMA-70, 3µL/min) étaient mises en place dans du tissu cérébral péri-contusionnel oedémateux et dans du tissu sous-cutané. Les auteurs concluaient à des concentrations dans le LEC cérébral 5 à 6 fois plus faibles que dans le tissu sous-cutané sans avoir calculé le rendement des sondes. L'étude avec la fosfomycine (Brunner et al. 2002) avait inclus trois patients, deux avec un accident cérébral hémorragique et un avec un traumatisme crânien, monitorés avec une sonde CMA-70 (perfusion à 1,5µL/min). Là encore les rendements des sondes n'étaient pas évalués et donc les concentrations obtenues pour seulement deux patients, ne sont pas interprétables. Dans l'étude avec le doripénème, cinq

patients de neuroréanimation étaient inclus. Les concentrations obtenues dans le LEC cérébral des dialysats étaient corrigées par un rendement de 38%, arbitrairement choisi d'après des résultats non publiés d'une études dans des « tissus mous ». Les auteurs invoquaient l'impossibilité en raison d'un risque comitial de perfuser la sonde (CMA-71 à 3µL/min) avec le doripénème pour estimer le rendement par perte. La seule étude ayant évalué le rendement des sondes pour chaque patient était celle avec le méropénème (Dahyot-Fizelier et al. 2010). Les rendements moyens estimés sur 3 dialysats successifs étaient de 19 ± 7% et de 29 ± 7% pour chacun des deux patients inclus.

La microdialyse présente l'avantage de permettre la caractérisation d'une cinétique complète dans le LEC mais comporte certaines contraintes méthodologiques. La technique est coûteuse et le nombre de patients en neuroréanimation éligible au monitorage métabolique est modeste. De plus, l'hétérogénéité des lésions des patients peut générer (avec des différences de perméabilité de la BHE) une variabilité inter-individuelle, rendant quelquefois difficile l'extrapolation des résultats. Une étude à montré que les concentrations de morphine dans le LEC de tissu cérébral sain étaient inferieures à celles de tissu cérébral lésé en raison de la perte d'étanchéité de la BHE (Ederoth et al. 2004). Pour nos patients les sondes de microdialyse permettaient le monitorage métabolique des patients avec un traumatisme crânien ou une hémorragie sous-arachnoïdienne graves. Cependant, les sondes étaient implantées dans une zone de tissu sain sur la TDM cérébrale et les rapports lactate/pyruvate étaient inférieurs à 20 avant le début de l'étude pharmacocinétique, confirmant l'absence d'ischémie cérébrale focale pouvant altérer les propriétés de la BHE.

Il existe pour l'étude pharmacocinétique de molécules exogènes, une problématique liée à l'estimation des rendements de chaque sonde pour chaque patient. Les sondes de microdialyse ont des rendements qui varient en fonction du type de membrane (*cut-off*) et de la lipophilie des molécules étudiée. Des rendements de 20% sont classiquement considérés comme satisfaisants mais la nécessité de les estimer *in vivo* pour chaque individu est indispensable (Sawchuk et al. 2000), la variabilité interindividuelle étant plus importante pour les rendements faibles. Nous avons utilisé pour ces travaux la technique de retrodialyse par perte du médicament, en perfusant la sonde à une concentration connue au débit de 0,3 µL/min. En théorie, à l'équilibre le rendement par perte de la molécule doit correspondre au rendement par gain (Bungay et al. 1990). Plus le débit est faible, plus le temps d'échange au

niveau de la membrane augmente et par conséquent plus le rendement augmente. Il pourrait être envisagé de fixer les conditions les plus adéquates pour obtenir un rendement proche de 100% et s'affranchir de cette contrainte d'estimation individuelle *in vivo*, par exemple en diminuant la vitesse de perfusion à 0,1 µL/min et en diluant les dialysats pour avoir suffisamment de volume liquidien.

La technique de microdialyse cérébrale présente des contraintes qui ne favorisent pas toujours l'obtention facile de données PK, qu'il peut être intéressant de recueillir chez des patients lesquels le monitorage cérébral par microdialyse n'est pas indiqué. Elle pourrait être comparée, notamment pour une validation des résultats chez l'animal dans un premier temps, à des techniques d'imagerie non invasive. La tomographie par émission de positon (TEP) semble une possibilité intéressante pour déterminer les concentrations cérébrales en utilisant des médicaments marqués aux isotopes émetteurs de positions (^{11}C, ^{13}N, ^{15}O ou ^{18}F). Cependant cette technique ne permet de déterminer que la localisation et la concentration totale d'un médicament dans un délai assez court ne permettant pas la réalisation d'étude pharmacocinétique complète chez l'homme (Agon et al. 1991; Yu et al. 1992). La spectroscopie par résonance magnétique (SRM) peut être utilisée pour déterminer les concentrations de la fraction libre d'un médicament marqué par les isotopes 19F ou 13C. Elle a été utilisée pour la fluphénazine chez l'animal et l'homme (Bartels et al. 1991). Ces deux techniques d'imagerie restent néanmoins couteuses et nécessite l'utilisation de radioisotopes non dépourvus de toxicité.

Le LCR reste le moyen le plus accessible pour obtenir des concentrations libres des antibiotiques, qui peuvent refléter ou non les concentrations libres dans le LEC cérébral. Il a souvent été utilisé comme substitut de la mesure dans le LEC cérébral pour des médicaments dont l'action se situe au niveau tissulaire (neuroleptiques, antiépileptiques, morphiniques). La problématique est alors de déterminer à quel point les concentrations libres dans le LCR reflètent les concentrations libres dans le LEC cérébral, y compris lors de situations physiologiques et physiopathologiques variables (existence d'une pathologie, d'une inflammation méningée, propriétés physicochimiques des médicaments, etc.) (Lin 2008). La cible bactérienne lors d'une méningite se situe surtout dans le LCR (Gerber et al. 2010) bien

qu'il a été démontré *in vitro* que les bactéries pouvaient franchir la BHE (Orihuela et al. 2009). De plus, l'étude des concentrations des antibiotiques dans ce milieu permet d'explorer l'action de la BHL et des phénomènes de sécrétion, circulation et résorption du LCR sur la distribution de ces médicaments.

Chez les patients, la plupart des études dans le LCR sont réalisées par ponctions lombaires uniques voire répétées (Di Paolo et al. 2013) et plus rarement par une DVE permettant des prélèvements itératifs chez des patients de réanimation (Nau et al. 1993; Nau et al. 1996; Nau et al. 1998). Les concentrations dans le LCR lombaire sont souvent plus élevées que dans le LCR ventriculaire, avec une phase de distribution plus retardée dans le LCR lombaire que le LCR ventriculaire en raison de la sécrétion ventriculaire de LCR et des phénomènes de circulation/résorption perimédullaires plus lents (Di Paolo et al. 2013; Battal et al. 2011). Ainsi, le LCR lombaire se comporte en quelque sorte comme un réservoir. Ces mécanismes ont été étudiés par une équipe de Rennes chez le lapin et le mouton pour expliquer les concentrations dans le LCR en administrant des anesthésiques locaux (bupivacaïne, lidocaïne) par voie intraveineuse, péridurale ou intrathécale à des animaux (Clément et al. 1999; Clément et al. 2000; Ratajczak-Enselme et al. 2007). L'observation des concentrations montrait un allongement des demi-vies apparentes dans le LCR d'autant plus important lorsque le médicament était administré dans l'espace intrathécal ou péridural par rapport à la voie intraveineuse. Les études avec la technique de prélèvement par DVE doivent également être interprétées avec certaines limites. La première est l'influence de la pathologie initiale du patient et des modifications physiopathologiques sur la sécrétion, la circulation et la résorption du LCR. La seconde est liée au drainage du LCR par la DVE. Dans le cas d'une hydrocéphalie non communicante (obstructive), la circulation du LCR est altérée. Le débit de drainage étant régulé de façon artificielle, la baisse ou la hausse des pressions dans le système ventriculaire peut modifier la résorption physiologique du LCR (Kazama et al. 1994). Dans le cas d'une hydrocéphalie communicante, l'accumulation du LCR est liée à l'insuffisance de résorption probablement associée à des mécanismes d'hypersécrétion. Dans les deux cas, la DVE permet d'éliminer de façon artificielle et non contrôlée une certaine quantité du médicament. Les résultats obtenus par ce moyen ne sont donc pas transposables à des sujets qui n'auraient pas ce dispositif. Il est donc intéressant de prendre en compte ces phénomènes en les intégrant à un modèle pharmacocinétique pour

déterminer et quantifier leur influence. Enfin, dans notre travail, même si le LCR recueilli par la DVE pouvait présenter une contamination sanguine liée à la pathologie hémorragique des patients, l'étude pharmacocinétique avait lieu à l'équilibre du traitement antibiotique et à distance de la phase aigüe de tout saignement intracérébral. Il est alors peu probable que cet aspect ait influencé les résultats.

Les données pharmacocinétiques obtenues par ce travail sont dans la continuité des études sur la distribution des médicaments dans le système nerveux central précédemment réalisée par notre équipe (Marchand et al. 2003; Marchand et al. 2006; Chenel et al. 2004; Dahyot-Fizelier et al. 2010). Pour intégrer et tester la contribution de conditions physiopathologiques variables, la modélisation pharmacocinétique est intéressante. Un premier modèle pharmacocinétique compartimental (1 compartiment central, 1 compartiment cérébral et 1 compartiment périphérique) a été élaboré à partir des données du céfotaxime dans le LEC (***figure 16***). Ce modèle a été réalisé en deux étapes sur le principe d'un travail de microdialyse s'intéressant à la distribution du méropénème dans le péritoine (Karjagin et al. 2008), d'abord en modélisant la distribution entre le compartiment central (V1) et le compartiment périphérique (V2), permettant ainsi d'estimer les paramètres de clairance inter-compartimental et la clairance d'élimination. La seconde étape a été de modéliser la distribution entre le compartiment central (V1) et le compartiment LEC cérébral (Vb). Le paramètre de clairance d'entrée dans le cerveau ($CL_{in,brain}$) est le seul paramètre qui caractérise la distribution dans le sens V1 vers Vb. On considère que le médicament est ensuite éliminé du compartiment cérébral ($CL_{out,brain}$) sans que cette élimination n'influence les concentrations dans le compartiment central. C'est pourquoi la clairance $CL_{out,brain}$ ne retourne pas vers V1. Ce modèle avait déjà été utilisé pour décrire les concentrations de méropénème dans le LEC cérébral chez l'homme (Dahyot-Fizelier et al. 2010) et dans l'humeur aqueuse de l'œil de lapin (Semoun et al. 2012).

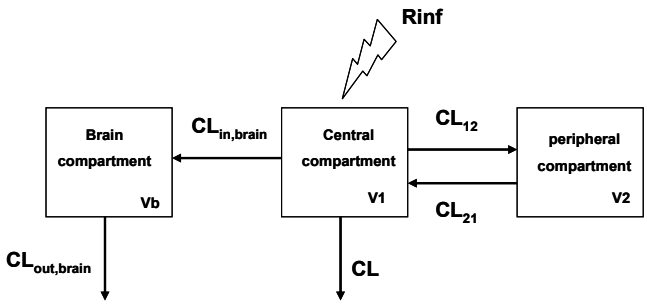


Figure 16. Modèle pharmacocinétique pour le céfotaxime. V1, V2 et Vb sont les volumes des compartiments respectifs central, périphérique et cérébral. CL_{12} et CL_{21} correspondent aux clairances de distribution entre le compartiment central et le compartiment périphérique. $CL_{in,brain}$ et $CL_{out,brain}$ sont respectivement les clairances d'entrée et de sortie du compartiment cérébral (Karjagin et al. 2008). Rinf correspond au débit de perfusion (2g pendant 30min).

Le modèle a d'une part confirmé la distribution du céfotaxime dans le LEC avec un rapport des clairances entrée/sortie (CL_{in}/CL_{out}) à 33,1 ± 15,8% correspondant approximativement au rapport des SSC obtenues expérimentalement (Dahyot-Fizelier et al. 2013). Il a également permis une simulation PK-PD à partir des données expérimentales, confirmant d'un point de vue PK les concentrations ($C_{max,cerveau}$ proche de 9 mg/mL) dans le LEC pour la posologie 4g toutes les 6h, retrouvées chez la patiente traitée par des posologies méningées ($C_{max,cerveau}$ = 11,4 mg/mL). D'un point de vue PK-PD, le modèle a confirmé qu'à cette posologie, les concentrations dans le LEC étaient supérieures à la CMI (T>CMI) pour 90% de l'intervalle entre deux administrations y compris pour des souches résistantes de *Streptococcus pneumoniae* (objectif pharmacodynamique théorique pour le traitement d'une méningite). Cet aspect n'étant valable que pour une infection dans le LEC cérébral, il faudrait prendre également en compte les différences physiopathologiques de perméabilité de la BHE. Cependant ce modèle théorique, s'il a l'avantage de permettre des simulations pour des posologies et des schémas d'administration variables, ne permet pas de prendre en compte les processus physiologiques ou physiopathologiques complexes. La prédiction des concentrations libres dans le LEC à partir de celles du LCR, est difficile et sujette aux conditions expérimentales, aux caractéristiques physicochimiques de la molécule, au transport actif à travers les barrières physiologiques. Chez nos patients, il aurait été intéressant d'obtenir des données dans le LCR et le LEC chez un même individu pour diminuer la variabilité

interindividuelle et expérimentale, et ainsi amélioré la comparabilité des données. Malheureusement ceci n'a pas été possible en raison de l'indication médicale ou non chez ces patients, du drainage de LCR par une DVE (hydrocéphalie non communicante chez des patients victime d'hémorragie sous-arachnoïdienne ou intraventriculaire) et/ou de la mise en place d'une sonde de microdialyse pour le monitorage métabolique (traumatisme crânien grave). Une possibilité aurait été de complexifier le modèle PK en augmentant le nombre de compartiments et de paramètres comme cela a été fait à partir des données expérimentales des concentrations dans le plasma et le LCR lombaire dans les études après injection intraveineuse, péridurale ou intrathécale d'anesthésiques locaux (Clément et al. 2000). L'écueil de cette approche est le surparamétrage avec des modèles qui présentent des problèmes d'identifiabilité (difficulté d'estimer les paramètres à partir des données expérimentales), de signification mécanistique ou physiologique et des paramètres corrélés impossibles à estimer (Gibiansky et al. 2008). Les modèles PK ne permettent pas de prendre en compte l'aspect anatomique et physiologique des processus de distribution, chaque compartiment pouvant représenter plusieurs organes par exemple. Nous avons plutôt envisagé de décrire les concentrations de céfotaxime dans le LCR et le LEC cérébral à l'aide d'un modèle pharmacocinétique physiologique (PBPK).

L'approche PBPK est utile pour décrire la distribution et l'élimination des médicaments de façon mécanistique. Les modèles PBPK permettent la traduction mathématique, des phénomènes impliqués dans les processus de distribution complexes, phénomènes anatomiques, physiologiques, physiques et chimiques. Ils peuvent contribuer à la prédiction des concentrations dans un tissu en fonction de conditions physiopathologiques variables. Les modèles PBPK sont généralement des modèles multi-compartiments dont la *structure* correspond aux organes ou à des tissus prédéfinis, avec des *paramètres* caractérisant les débits sanguins, lymphatiques ou de diffusion. La concentration ou la quantité d'un médicament dans chaque compartiment peut être décrite par un système d'équations différentielles et des paramètres physiologiques ou physiopathologiques (débits sanguins, volumes des organes, clairance d'élimination) pour lesquels des informations sont disponibles dans la littérature. Ces modèles permettent les transpositions inter-espèces ou l'extrapolation à partir d'un sujet sain à un sujet atteint d'une pathologie, d'un mode d'administration à un

autre (par exemple, l'inhalation et la voie orale, le nombre d'injections intraveineuses, etc.) (Jones et al. 2013).

Ainsi, à partir des données expérimentales dans le LEC et le LCR chez le rat, un modèle PBPK a été élaboré pour prédire les concentrations de paracétamol dans LEC à partir de LCR (Westerhout 2012). Ce modèle PBPK comportait des valeurs des paramètres cérébraux physiologiques (débits, volumes) du rat, tirées de la littérature. Les résultats montrent que le modèle décrit de manière adéquate les données expérimentales dans les différents compartiments cérébraux. La connaissance des concentrations de paracétamol libre dans un compartiment (LCR) permettant alors de déterminer les concentrations dans un autre compartiment (LEC). La transposition inter-espèce du modèle par implémentation des paramètres physiologiques chez l'homme a alors permis de prédire correctement des concentrations de paracétamol qui correspondaient aux données de la littérature dans le LCR lombaire. Par extension, le modèle a permis la prédiction de concentrations de paracétamol dans le LEC chez l'homme. Afin de s'assurer de la conformité des ces prédictions du modèles, les données seront confirmées par une étude de microdialyse cérébrale chez l'homme conduite par notre équipe.

A partir des données que nous avons obtenues chez les patients de réanimation dans le LCR et le LEC pour le céfotaxime, notre équipe (Docteur Salim Bouchène en particulier) est en train de développer en partenariat avec l'équipe du Professeur Mats Karlson de l'Université d'Uppsala (Suède) un modèle PBPK simplifié. La conception du modèle a été guidée par les processus de distribution de l'antibiotique dans les tissus du cerveau. Cette distribution n'est pas simplement régie par les débits sanguins (diffusion passive des membranes lipidiques) mais par la perméabilité des différents compartiments séparés par les barrières physiologiques étanches. Il s'agit donc d'un modèle de perméabilité avec quatre compartiments représentés pour le tissu cérébral (***figure 17***) : un compartiment vasculaire correspondant à la circulation sanguine cérébrale (brain vasculature), un compartiment représentant le LCR sous-arachnoïdien (CSF SAS) par lequel le LCR est réabsorbé vers la circulation sanguine cérébrale, un compartiment représentant le LCR ventriculaire (CSF ventricles) et un compartiment représentant le LEC cérébral (ECF). Les deux autres compartiments sont le plasma et l'ensemble du reste des organes (remainder). Chacun de ces compartiments est caractérisé par un volume physiologiques (V, en rouge sur le modèle) reliés entre eux par les

débits sanguins ou liquidiens (Q, en rouge sur le modèle) qui ont été fixés d'après les données de la littérature (Davies et al. 1993; Westerhout et al. 2012). Des clairances de diffusion passive (PS) ainsi que des clairances d'influx et d'efflux ont été implémentées entre le LCR et le LEC et le compartiment sanguin. L'élimination du céfotaxime du LCR par la DVE a également été implémentée dans le modèle.

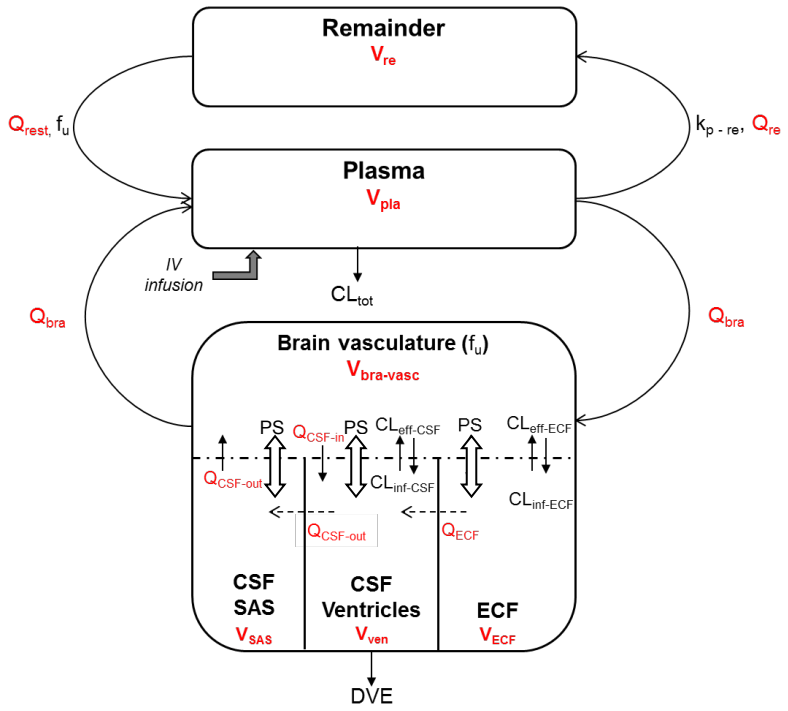


Figure 17. Modèle PBPK utilisé pour décrire les concentrations de céfotaxime dans les différents compartiments plasmatiques et cérébraux. En rouge les paramètres physiologiques, en noir les paramètres estimés (d'après les travaux de Salim Bouchène).

Ce modèle nous permet, dores et déjà de décrire les profils expérimentaux du céfotaxime dans les trois milieux d'intérêt (plasma, LCR ventriculaire et LEC cérébral). Il permet de prendre en compte l'élimination du médicament par la DVE. Il nous offrira certainement la possibilité de décrire des concentrations dans le LCR en l'absence de données LEC et de réaliser des simulations en modifiant certains paramètres correspondant à différentes situations physiopathologiques, en particulier chez des patients qui n'auraient pas de DVE. De plus des données expérimentales concernant le céfotaxime dans le LCR et le LEC cérébral sont en

cours d'obtention chez le rat permettant ainsi dans une approche translationnelle pré-clinique de réaliser l'extrapolation inter-espèces.

Conclusion

Les données pour des médicaments non destinés spécifiquement à diffuser dans le tissu cérébral sont rares et ce travail constitue la première étude chez l'homme, complète et comparative, de la distribution de deux antibiotiques dans le LCR et le LEC. Le métronidazole diffuse très bien dans les deux milieux alors que la diffusion du céfotaxime est limitée, probablement en raison de phénomènes d'efflux. Cependant, l'information obtenue par prélèvement de LCR est différente de celle obtenue par microdialyse dans le LEC cérébral, même pour un antibiotique qui n'est pas substrat de mécanismes d'efflux. Même à l'état d'équilibre, il n'est pas exact de considérer les concentrations dans le LCR comme un substitut des concentrations dans le LEC cérébral pour des médicaments dont le site d'action est cérébral. Les résultats de nos travaux contribuent à l'amélioration de l'information disponible dans un domaine important mais peu documenté en raison des nombreuses contraintes techniques et méthodologiques. Le développement de modèles PBPK caractérisant les mécanismes de diffusion (perméabilité des barrières, mécanismes d'efflux, propriétés des molécules) associé à des modèles pharmacodynamiques mécanistiques, permettra d'évaluer des médicaments en cours de développement pour d'une part prédire leur distribution dans les tissus cibles et d'autre part évaluer leurs effets princeps et indésirables (toxicologie) mais aussi les éventuelles interactions médicamenteuses.

Références bibliographiques

Agon, P. et al., 1991. Permeability of the blood-brain barrier for atenolol studied by positron emission tomography. *The Journal of pharmacy and pharmacology*, 43(8), pp.597–600.

Akanuma, S.-I. et al., 2011. Molecular-weight-dependent, anionic-substrate-preferential transport of β-lactam antibiotics via multidrug resistance-associated protein 4. *Drug metabolism and pharmacokinetics*, 26(6), pp.602–611.

Albanèse, Jacques et al., 2000. Cerebrospinal Fluid Penetration and Pharmacokinetics of Vancomycin Administered by Continuous Infusion to Mechanically Ventilated Patients in an Intensive Care Unit. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44(5), pp.1356–1358.

Alvarez, A.I. et al., 2008. Fluoroquinolone efflux mediated by ABC transporters. *Journal of pharmaceutical sciences*, 97(9), pp.3483–3493.

Andes, D.R. & Craig, W.A., 1999. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of antibiotics in meningitis. Infectious disease clinics of North America, 13(3), pp.595–618.

Anon, 2009. [17th Consensus conference. Consensus conference on bacterial meningitis. Short text]. *Médecine Et Maladies Infectieuses*, 39(3), pp.175–186.

Arabi, Y. et al., 2005. Ventriculostomy-associated infections: incidence and risk factors. *American journal of infection control*, 33(3), pp.137–143.

Asmar, B.I. et al., 1985. Cefotaxime diffusion into cerebrospinal fluid of children with meningitis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 28(1), pp.138–140.

Barichello, T. et al., 2012. Pathophysiology of acute meningitis caused by Streptococcus pneumoniae and adjunctive therapy approaches. *Arquivos de neuro-psiquiatria*, 70(5), pp.366–372.

Barlow, C., 1964. Clinical aspects of the blood-brain barrier. *Annual review of medicine*, 15, pp.187–202.

Bartels, M. et al., 1991. 19F nuclear magnetic resonance spectroscopy of neuroleptics: the first in vivo pharmacokinetics of trifluoperazine in the rat brain and the first in vivo spectrum of fluphenazine in the human brain. *Biological psychiatry*, 30(7), pp.656–662.

Battal, B. et al., 2011. Cerebrospinal fluid flow imaging by using phase-contrast MR technique. *The British journal of radiology*, 84(1004), pp.758–765.

van de Beek, D 2009. Corticosteroids for acute adult bacterial meningitis. *Médecine et maladies infectieuses*, 39(7-8), pp.531–538.

van de Beek, D et al., 2004. Clinical features and prognostic factors in adults with bacterial meningitis. *The New England journal of medicine*, 351(18), pp.1849–1859.

van de Beek, D, Drake, J.M. & Tunkel, Allan R, 2010. Nosocomial bacterial meningitis. *The New England journal of medicine*, 362(2), pp.146–154.

Beer, R et al., 2008. Nosocomial ventriculitis and meningitis in neurocritical care patients. *Journal of Neurology*, 255(11), pp.1617–1624.

Belohradsky, B.H. et al., 1980. Intravenous cefotaxime in children with bacterial meningitis. *Lancet*, 1(8159), pp.61–63.

De Bels, D. et al., 2002. Empirical treatment of adult postsurgical nosocomial meningitis. *Acta neurochirurgica*, 144(10), pp.989–995.

Berger, U.V. & Hediger, M.A., 1999. Distribution of peptide transporter PEPT2 mRNA in the rat nervous system. *Anatomy and embryology*, 199(5), pp.439–449.

Bernardini, G.L., 2004. Diagnosis and management of brain abscess and subdural empyema. *Current neurology and neuroscience reports*, 4(6), pp.448–456.

Bernards, C.M. et al., 2003. Epidural, cerebrospinal fluid, and plasma pharmacokinetics of epidural opioids (part 1): differences among opioids. *Anesthesiology*, 99(2), pp.455–465.

Bickel, U., 2005. How to measure drug transport across the blood-brain barrier. *NeuroRx*, 2(1), pp.15–26.

Blakeley, J.O. et al., 2009. Effect of blood brain barrier permeability in recurrent high grade gliomas on the intratumoral pharmacokinetics of methotrexate: a microdialysis study. *Journal of neuro-oncology*, 91(1), pp.51–58.

Blecharz, K.G. et al., 2010. Glucocorticoid effects on endothelial barrier function in the murine brain endothelial cell line cEND incubated with sera from patients with multiple sclerosis. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)*, 16(3), pp.293–302.

Bota, D.P. et al., 2005. Ventriculostomy-related infections in critically ill patients: a 6-year experience. *Journal of neurosurgery*, 103(3), pp.468–472.

Bouw, M.R. & Hammarlund-Udenaes, M, 1998. Methodological aspects of the use of a calibrator in in vivo microdialysis-further development of the retrodialysis method. *Pharmaceutical research*, 15(11), pp.1673–1679.

Bradbury, M.W., 1985. The blood-brain barrier. Transport across the cerebral endothelium. *Circulation research*, 57(2), pp.213–222.

Bradley, W.G., Karlsson, I.J. & Rassol, C.G., 1977. Metronidazole neuropathy. *British Medical Journal*, 2(6087), pp.610–611.

Brouwer, M.C., Tunkel, Allan R. & Van de Beek, Diederik, 2010. Epidemiology, Diagnosis, and Antimicrobial Treatment of Acute Bacterial Meningitis. *Clinical Microbiology Reviews*, 23(3), pp.467–492.

Brückner, O., Collmann, H. & Hoffmann, H.G., 1982. Cefotaxime in treatment of meningitis and ventriculitis? Evaluation of drug concentrations in human cerebrospinal fluid. *Intensive care medicine*, 8(1), pp.33–38.

Brunner, M. et al., 2002. Penetration of fosfomycin into the parenchyma of human brain: a case study in three patients. *British journal of clinical pharmacology*, 54(5), p.548.

Brunner, Martin, Derendorf, H. & Müller, Markus, 2005. Microdialysis for in vivo pharmacokinetic/pharmacodynamic characterization of anti-infective drugs. *Current Opinion in Pharmacology*, 5(5), pp.495–499.

Brunner, Martin & Müller, Markus, 2002. Microdialysis: an in vivo approach for measuring drug delivery in oncology. *European journal of clinical pharmacology*, 58(4), pp.227–234.

Bungay, P.M., Morrison, P.F. & Dedrick, R.L., 1990. Steady-state theory for quantitative microdialysis of solutes and water in vivo and in vitro. *Life sciences*, 46(2), pp.105–119.

Caricato, A. et al., 2006. Levels of vancomycin in the cerebral interstitial fluid after severe head injury. *Intensive care medicine*, 32(2), pp.325–328.

Charvet, A. et al., 2009. Méningites nosocomiales. *Antibiotiques*, 11(1), pp.18–28.

Chaudhuri, A. et al., 2008. EFNS guideline on the management of community-acquired bacterial meningitis: report of an EFNS Task Force on acute bacterial meningitis in older children and adults. *European journal of neurology: the official journal of the European Federation of Neurological Societies*, 15(7), pp.649–659.

Chen, W.S. et al., 2000. Effects of MDR1 and MDR3 P-glycoproteins, MRP1, and BCRP/MXR/ABCP on the transport of (99m)Tc-tetrofosmin. *Biochemical pharmacology*, 60(3), pp.413–426.

Chenel, M. et al., 2003. Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Modeling of the Electroencephalogram Effect of Norfloxacin in Rats. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47(6), pp.1952–1957.

Chenel, M. et al., 2004. Simultaneous central nervous system distribution and pharmacokinetic-pharmacodynamic modelling of the electroencephalogram effect of norfloxacin administered at a convulsant dose in rats. *British Journal of Pharmacology*, 142(2), pp.323–330.

Cherubin, C.E. et al., 1989. Penetration of newer cephalosporins into cerebrospinal fluid. *Reviews of infectious diseases*, 11(4), pp.526–548.

Chi, O.Z. et al., 2008. Effects of VEGF on the blood-brain barrier disruption caused by hyperosmolarity. *Pharmacology*, 82(3), pp.187–192.

Chin, N.X. & Neu, H.C., 1984. Cefotaxime and desacetylcefotaxime: an example of advantageous antimicrobial metabolism. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 2(3 Suppl), p.21S–31S.

Choi, D. & Spann, R., 1996. Traumatic cerebrospinal fluid leakage: risk factors and the use of prophylactic antibiotics. *British journal of neurosurgery*, 10(6), pp.571–575.

Clement, R. et al., 1999. Cerebrospinal fluid bioavailability and pharmacokinetics of bupivacaine and lidocaine after intrathecal and epidural administrations in rabbits using microdialysis. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 289(2), pp.1015–1021.

Clément, R. et al., 2000. Spinal biopharmaceutics of bupivacaine and lidocaine by microdialysis after their simultaneous administration in rabbits. *International journal of pharmaceutics*, 203(1-2), pp.227–234.

CLSI, 2007. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: seventeenth informational supplement. CLSI M100-S17.

Craig WA. Pharmacodynamics of Antimicrobials: General Concepts and Applications.Antimicrobial Pharmacodynamics in Theory and Clinical Practice. Second Edition. In: Nightingale CH, Ambrose PG, Drusano GL, Murakawa T. Ed.Informa Healthcare, New York, 2007; 1-19.

Craig, W A, 1995. Interrelationship between pharmacokinetics and pharmacodynamics in determining dosage regimens for broad-spectrum cephalosporins. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 22(1-2), pp.89–96.

Craig, W A, 1998. Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: rationale for antibacterial dosing of mice and men. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 26(1), pp.1–10; quiz 11–12.

Craig, W A & Ebert, S.C., 1990. Killing and regrowth of bacteria in vitro: a review. *Scandinavian journal of infectious diseases. Supplementum*, 74, pp.63–70.

Dacey, R.G. & Sande, M.A., 1974. Effect of probenecid on cerebrospinal fluid concentrations of penicillin and cephalosporin derivatives. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 6(4), pp.437–441.

Dahyot, C. et al., 2006. Microdialysis study of imipenem distribution in skeletal muscle and lung extracellular fluids of Acinetobacter baumannii-infected rats. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 50(6), pp.2265–2267.

Dahyot, C. et al., 2008. Application of basic pharmacokinetic concepts to analysis of microdialysis data: Illustration with imipenem muscle distribution. *Clinical pharmacokinetics*, 47(3), pp.181–189.

Dahyot-Fizelier, Claire et al., 2010. Brain microdialysis study of meropenem in two patients with acute brain injury. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 54(8), pp.3502–3504.

Dahyot-Fizelier, Claire et al., 2013. Microdialysis study of cefotaxime cerebral distribution in patients with acute brain injury. *Antimicrobial agents and chemotherapy*.

Davies, A.H., 1967. Metronidazole in human infections with syphilis. *British Journal of Venereal Diseases*, 43(3), pp.197–200.

Davies, B. & Morris, T., 1993. Physiological parameters in laboratory animals and humans. *Pharmaceutical research*, 10(7), pp.1093–1095.

Deeken, J.F. & Löscher, W., 2007. The Blood-Brain Barrier and Cancer: Transporters, Treatment, and Trojan Horses. *Clinical Cancer Research*, 13(6), pp.1663–1674.

Drusano, G.L., 2004. Antimicrobial pharmacodynamics: critical interactions of "bug and drug". *Nature reviews. Microbiology*, 2(4), pp.289–300.

Easmon, C.S. et al., 1982. Pharmacokinetics of metronidazole and its principal metabolites and their activity against Gardnerella vaginalis. *British Journal of Venereal Diseases*, 58(4), pp.246–249.

Ederoth, P. et al., 2004. Blood-brain barrier transport of morphine in patients with severe brain trauma. *British journal of clinical pharmacology*, 57(4), pp.427–435.

Ehrlich, P, 1885. *Über das Sauerstoffbedürfnis des Organismus. Eine farbenanalytische Studie.*, Berlin, Germany: Hirschwald-Verlag.

EUCAST. 2012. Breakpoint tables and interpretation of MICs and zone diameters. Version 2.0.http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Disk_test_documents/EUCAST_breakpoints_v_2.0_120 101.pdf.

Esmieu, F. et al., 1980. Pharmacokinetics of cefotaxime in normal human volunteers. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 6 Suppl A, pp.83–92.

Feldman, W.E., 1976. Bacteroides fragilis ventriculitis and meningitis. Report of two cases. *American journal of diseases of children (1960)*, 130(8), pp.880–3.

Fillastre, J.P. et al., 1980. Pharmacokinetics of cefotaxime in subjects with normal and impaired renal function. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 6 Suppl A, pp.103–111.

Frasca, D et al., 2012. Brain microdialysis distribution study of cefotaxime in a patient with traumatic brain injury. *British journal of anaesthesia*, 109(5), pp.830–831.

Fridén, M. et al., 2007. In vitro methods for estimating unbound drug concentrations in the brain interstitial and intracellular fluids. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*, 35(9), pp.1711–1719.

Fridén, M. et al., 2009. Structure-brain exposure relationships in rat and human using a novel data set of unbound drug concentrations in brain interstitial and cerebrospinal fluids. *Journal of medicinal chemistry*, 52(20), pp.6233–6243.

Fuentes, S. et al., 2001. Management of brain stem abscess. *British journal of neurosurgery*, 15(1), pp.57–62.

Fukuda, A.M. & Badaut, J., 2012. Aquaporin 4: a player in cerebral edema and neuroinflammation. *Journal of neuroinflammation*, 9, p.279.

Gerber, J. & Nau, Roland, 2010. Mechanisms of injury in bacterial meningitis. *Current opinion in neurology*, 23(3), pp.312–318.

Germann, U.A., Pastan, I. & Gottesman, M.M., 1993. P-glycoproteins: mediators of multidrug resistance. *Seminars in cell biology*, 4(1), pp.63–76.

Gibiansky, L. et al., 2008. Approximations of the target-mediated drug disposition model and identifiability of model parameters. *Journal of pharmacokinetics and pharmacodynamics*, 35(5), pp.573–591.

Golden, P.L. & Pollack, G.M., 2003. Blood-brain barrier efflux transport. *Journal of pharmaceutical sciences*, 92(9), pp.1739–1753.

Goldmann, E. E., 1909. Die äußere und innere Sekretion des gesunden und kranken Organismus im Lichte der "vitalen F¨arbung. , 64, pp.192–265.

Goldwater, P.N., 2005. Cefotaxime and ceftriaxone cerebrospinal fluid levels during treatment of bacterial meningitis in children. *International journal of antimicrobial agents*, 26(5), pp.408–411.

Gómez, J. et al., 1995. Use of cefotaxime and metronidazole for treating cerebral abscesses. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 21(3), p.708.

Graff, C.L. & Pollack, G.M., 2004. Drug transport at the blood-brain barrier and the choroid plexus. *Current Drug Metabolism*, 5(1), pp.95–108.

Granero, L. et al., 1995. Analysis of ceftriaxone and ceftazidime distribution in cerebrospinal fluid of and cerebral extracellular space in awake rats by in vivo microdialysis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 39(12), pp.2728–2731.

Hammarlund-Udenaes, M, 2000. The use of microdialysis in CNS drug delivery studies. Pharmacokinetic perspectives and results with analgesics and antiepileptics. *Advanced drug delivery reviews*, 45(2-3), pp.283–294.

Hammarlund-Udenaes, M, Paalzow, L.K. & De Lange, E C, 1997. Drug equilibration across the blood-brain barrier--pharmacokinetic considerations based on the microdialysis method. *Pharmaceutical research*, 14(2), pp.128–134.

Hammarlund-Udenaes, Margareta, Bredberg, U. & Fridén, M., 2009. Methodologies to assess brain drug delivery in lead optimization. *Current topics in medicinal chemistry*, 9(2), pp.148–162.

Hlatky, R. et al., 2004. Evolution of brain tissue injury after evacuation of acute traumatic subdural hematomas. *Neurosurgery*, 55(6), pp.1318–1323; discussion 1324.

Hoefnagel, D. et al., 2008. Risk factors for infections related to external ventricular drainage. *Acta neurochirurgica*, 150(3), pp.209–214; discussion 214.

Hoffmann, H.G., Förster, D. & Muirhead, B., 1984. [Metronidazole concentration of the cerebrospinal fluid from slightly inflamed meninges]. *Arzneimittel-Forschung*, 34(7), pp.830–831.

Houghton, G.W., Thorne, P.S., et al., 1979. Comparison of the pharmacokinetics of metronidazole in healthy female volunteers following either a single oral or intravenous dose. *British journal of clinical pharmacology*, 8(4), pp.337–341.

Houghton, G.W., Smith, J., et al., 1979. The pharmacokinetics of oral and intravenous metronidazole in man. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 5(5), pp.621–623.

Hue, C.D. et al., 2013. Blood-Brain Barrier Dysfunction after Primary Blast Injury In Vitro. *Journal of neurotrauma*.

Humbert, G. et al., 1984. Concentrations of cefotaxime and the desacetyl metabolite in serum and CSF of patients with meningitis. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 13(5), pp.487–494.

Ingham, H.R., Slekon, J.B. & Roxby, C.M., 1977. Bacteriological study of otogenic cerebral abscesses: chemotherapeutic role of metronidazole. *British medical journal*, 2(6093), pp.991–993.

Jang, H.J. et al., 2012. Atypical Metronidazole-Induced Encephalopathy in Anaerobic Brain Abscess. *Journal of Korean Neurosurgical Society*, 52(3), pp.273–276.

Jansson, A.-K., Enblad, P. & Sjölin, J., 2004. Efficacy and safety of cefotaxime in combination with metronidazole for empirical treatment of brain abscess in clinical practice: a retrospective study of 66 consecutive cases. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 23(1), pp.7–14.

Jokipii, A.M. et al., 1977. Penetration of the blood brain barrier by metronidazole and tinidazole. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 3(3), pp.239–245.

Jones, H.M. & Rowland-Yeo, K., 2013. Basic Concepts in Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling in Drug Discovery and Development. *CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology*, 2(8), p.e63.

Jones, P.M. & George, A.M., 2004. The ABC transporter structure and mechanism: perspectives on recent research. *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS*, 61(6), pp.682–699.

Jones, R.N., Barry, A.L. & Thornsberry, C., 1982. Antimicrobial activity of desacetylcefotaxime alone and in combination with cefotaxime: evidence of synergy. *Reviews of infectious diseases*, 4 Suppl, pp.S366–373.

Jones, R.N. & Thornsberry, C., 1982. Cefotaxime: a review of in vitro antimicrobial properties and spectrum of activity. *Reviews of infectious diseases*, 4 Suppl, pp.S300–315.

Kafetzis DA, 1980. Penetration of cefotaxime into empyema fluid. , (6), p.153.

Kalia, V., Vibhuti & Saggar, K., 2010. Case report: MRI of the brain in metronidazole toxicity. *The Indian Journal of Radiology & Imaging*, 20(3), pp.195–197.

Karimi, A. et al., 1980. Cefotaxime concentration in cerebrospinal fluid. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 6 Suppl A, pp.119–120.

Karjagin, J. et al., 2008. Pharmacokinetics of meropenem determined by microdialysis in the peritoneal fluid of patients with severe peritonitis associated with septic shock. *Clinical pharmacology and therapeutics*, 83(3), pp.452–459.

Karnovsky, M.J., 1967. The ultrastructural basis of capillary permeability studied with peroxidase as a tracer. *The Journal of cell biology*, 35(1), pp.213–236.

Kazama, S. et al., 1994. Effect of altering cerebrospinal fluid pressure on spinal cord blood flow. *The Annals of thoracic surgery*, 58(1), pp.112–115.

Kemmerich, B. et al., 1983. Comparative pharmacokinetics of cefoperazone, cefotaxime, and moxalactam. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 23(3), pp.429–434.

Khan, S., Sharrack, B. & Sewell, W.A.C., 2007. Metronidazole-induced aseptic meningitis during Helicobacter pylori eradication therapy. *Annals of internal medicine*, 146(5), pp.395–396.

Kielian, T., 2004. Immunopathogenesis of brain abscess. *Journal of neuroinflammation*, 1(1), p.16.

Kim, E. et al., 2007. MR Imaging of Metronidazole-Induced Encephalopathy: Lesion Distribution and Diffusion-Weighted Imaging Findings. *American Journal of Neuroradiology*, 28(9), pp.1652–1658.

Kim, K.S., Wass, C.A. & Cross, A.S., 1997. Blood-brain barrier permeability during the development of experimental bacterial meningitis in the rat. *Experimental Neurology*, 145(1), pp.253–257.

Kodaira, H. et al., 2011. Quantitative evaluation of the impact of active efflux by p-glycoprotein and breast cancer resistance protein at the blood-brain barrier on the predictability of the unbound concentrations of drugs in the brain using cerebrospinal fluid concentration as a surrogate. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 339(3), pp.935–944.

Korinek, A-M et al., 2005. Risk factors for neurosurgical site infections after craniotomy: a critical reappraisal of antibiotic prophylaxis on 4,578 patients. *British journal of neurosurgery*, 19(2), pp.155–162.

Korinek, Anne-Marie et al., 2008. Risk factors for adult nosocomial meningitis after craniotomy: role of antibiotic prophylaxis. *Neurosurgery*, 62 Suppl 2, pp.532–539.

Kourbeti, I S et al., 2012. Infections in traumatic brain injury patients. *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 18(4), pp.359–364.

Kourbeti, Irene S. et al., 2011. Infections in patients with traumatic brain injury who undergo neurosurgery. , 25(1), pp.9–15.

Krol, V., Hamid, N.S. & Cunha, B.A., 2009. Neurosurgically related nosocomial Acinetobacter baumannii meningitis: report of two cases and literature review. *The Journal of hospital infection*, 71(2), pp.176–180.

Kuriyama, A. et al., 2011. Metronidazole-induced central nervous system toxicity: a systematic review. *Clinical neuropharmacology*, 34(6), pp.241–247.

Kurowski, V. et al., 1993. [Arrhythmia caused by a too rapid central venous administration of cefotaxime]. *Deutsche medizinische Wochenschrift (1946)*, 118(41), pp.1502–1503.

Kusuhara, H. & Sugiyama, Yuichi, 2005. Active Efflux across the Blood-Brain Barrier: Role of the Solute Carrier Family. *NeuroRx*, 2(1), pp.73–85.

Kusuhara, H. & Sugiyama, Yuichi, 2004. Efflux transport systems for organic anions and cations at the blood-CSF barrier. *Advanced drug delivery reviews*, 56(12), pp.1741–1763.

Lamp, K.C. et al., 1999. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the nitroimidazole antimicrobials. *Clinical pharmacokinetics*, 36(5), pp.353–373.

De Lange, E C et al., 1997. Methodological considerations of intracerebral microdialysis in pharmacokinetic studies on drug transport across the blood-brain barrier. *Brain research. Brain research reviews*, 25(1), pp.27–49.

De Lange, E C, De Boer, A G & Breimer, D D, 2000. Methodological issues in microdialysis sampling for pharmacokinetic studies. *Advanced drug delivery reviews*, 45(2-3), pp.125–148.

De Lange, E. C. M. et al., 2005. Toward the prediction of CNS drug-effect profiles in physiological and pathological conditions using microdialysis and mechanism-based pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling. *The AAPS journal*, 7(3), pp.532–543.

De Lange, E., 2004. Potential role of ABC transporters as a detoxification system at the blood–CSF barrier. *Advanced drug delivery reviews*, 56(12), pp.1793–1809.

De Lange, Elizabeth C M, 2013. Utility of CSF in translational neuroscience. *Journal of pharmacokinetics and pharmacodynamics*.

De Lange, Elizabeth C M & Danhof, Meindert, 2002. Considerations in the use of cerebrospinal fluid pharmacokinetics to predict brain target concentrations in the clinical setting: implications of the barriers between blood and brain. *Clinical pharmacokinetics*, 41(10), pp.691–703.

De Lange, Elizabeth CM, 2013. The mastermind approach to CNS drug therapy: translational prediction of human brain distribution, target site kinetics, and therapeutic effects. *Fluids and Barriers of the CNS*, 10, p.12.

Lau, A.H. et al., 1992. Clinical pharmacokinetics of metronidazole and other nitroimidazole anti-infectives. *Clinical pharmacokinetics*, 23(5), pp.328–364.

Levin, E., 1977. Are the terms blood-brain barrier and brain capillary permeability synonymous? *Experimental eye research*, 25 Suppl, pp.191–199.

Li, L., Agarwal, S. & Elmquist, William F, 2013. Brain efflux index to investigate the influence of active efflux on brain distribution of pemetrexed and methotrexate. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*, 41(3), pp.659–667.

Lin, J.H., 2008. CSF as a surrogate for assessing CNS exposure: an industrial perspective. *Current drug metabolism*, 9(1), pp.46–59.

Lin, J.H., 2004. How significant is the role of P-glycoprotein in drug absorption and brain uptake? *Drugs of Today (Barcelona, Spain: 1998)*, 40(1), pp.5–22.

Liu, P. & Derendorf, H., 2003. Antimicrobial tissue concentrations. *Infectious disease clinics of North America*, 17(3), pp.599–613.

Liu, Xingrong, Chen, C. & Smith, B.J., 2008. Progress in Brain Penetration Evaluation in Drug Discovery and Development. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 325(2), pp.349–356.

Loryan, I., Fridén, M. & Hammarlund-Udenaes, Margareta, 2013. The brain slice method for studying drug distribution in the CNS. *Fluids and barriers of the CNS*, 10(1), p.6.

Löscher, W. & Potschka, H., 2005. Role of drug efflux transporters in the brain for drug disposition and treatment of brain diseases. *Progress in Neurobiology*, 76(1), pp.22–76.

Lutsar, I. & Friedland, I.R., 2000. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cephalosporins in cerebrospinal fluid. *Clinical pharmacokinetics*, 39(5), pp.335–343.

Marchand, Sandrine et al., 2003. Dose ranging pharmacokinetics and brain distribution of norfloxacin using microdialysis in rats. *Journal of pharmaceutical sciences*, 92(12), pp.2458–2465.

Marchand, S. et al., 2005. Pharmacokinetic Modeling of Free Amoxicillin Concentrations in Rat Muscle Extracellular Fluids Determined by Microdialysis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49(9), pp.3702–3706.

Marchand, Sandrine et al., 2006. Norfloxacin blood-brain barrier transport in rats is not affected by probenecid coadministration. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 50(1), pp.371–373.

Mathisen, G.E. & Johnson, J.P., 1997. Brain abscess. *Clinical infectious diseases*, pp.763–779.

Mattila, J. et al., 1983. Comparative pharmacokinetics of metronidazole and tinidazole as influenced by administration route. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 23(5), pp.721–725.

Maurer, M.H., 2010. Proteomics of brain extracellular fluid (ECF) and cerebrospinal fluid (CSF). *Mass Spectrometry Reviews*, 29(1), pp.17–28.

Mindermann, T., Zimmerli, W. & Gratzl, O., 1998. Rifampin concentrations in various compartments of the human brain: a novel method for determining drug levels in the cerebral extracellular space. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 42(10), pp.2626–2629.

Misra, A. et al., 2003. Drug delivery to the central nervous system: a review. *Journal of pharmacy & pharmaceutical sciences: a publication of the Canadian Society for Pharmaceutical Sciences, Société canadienne des sciences pharmaceutiques*, 6(2), pp.252–273.

Moosa, A.N.V. & Perkins, D., 2010. Neurological picture. MRI of metronidazole induced cerebellar ataxia. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 81(7), pp.754–755.

Mouton, J.W. et al., 2008. Tissue concentrations: do we ever learn? *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 61(2), pp.235–237.

Muscará, M.N. et al., 1995. Plasma hydroxy-metronidazole/metronidazole ratio in patients with liver disease and in healthy volunteers. *British journal of clinical pharmacology*, 40(5), pp.477–480.

Nau, R et al., 1996. Cerebrospinal fluid ceftazidime kinetics in patients with external ventriculostomies. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 40(3), pp.763–766.

Nau, R et al., 1998. Disposition and elimination of meropenem in cerebrospinal fluid of hydrocephalic patients with external ventriculostomy. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 42(8), pp.2012–2016.

Nau, R, Sörgel, F & Prange, H.W., 1994. Lipophilicity at pH 7.4 and molecular size govern the entry of the free serum fraction of drugs into the cerebrospinal fluid in humans with uninflamed meninges. *Journal of the neurological sciences*, 122(1), pp.61–65.

Nau, R. et al., 1993. Passage of cefotaxime and ceftriaxone into cerebrospinal fluid of patients with uninflamed meninges. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 37(7), pp.1518–1524.

Nau, Roland, Sörgel, Fritz & Eiffert, H., 2010. Penetration of drugs through the blood-cerebrospinal fluid/blood-brain barrier for treatment of central nervous system infections. *Clinical microbiology reviews*, 23(4), pp.858–883.

NCCLS, 2004. Methods for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria; approved standard, 6th edn.

Neuwelt, E. et al., 2008. Strategies to advance translational research into brain barriers. *Lancet neurology*, 7(1), pp.84–96.

Nix, D.E. & Schentag, J.J., 1995. Role of pharmacokinetics and pharmacodynamics in the design of dosage schedules for 12-h cefotaxime alone and in combination with other antibiotics. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 22(1-2), pp.71–76.

Notkina, N., Dahyot-Fizelier, C. & Gupta, A.K., 2012. In vivo microdialysis in pharmacological studies of antibacterial agents in the brain. *British Journal of Anaesthesia*, 109(2), pp.155–160.

Nunes, T. et al., 2013. Steady-state plasma and cerebrospinal fluid pharmacokinetics and tolerability of eslicarbazepine acetate and oxcarbazepine in healthy volunteers. *Epilepsia*, 54(1), pp.108–116.

O'Grady, L.R. & Ralph, E.D., 1976. Anaerobic meningitis and bacteremia caused by Fusobacterium species. *American journal of diseases of children (1960)*, 130(8), pp.871–873.

Odenholt, I., Walder, M. & Wullt, M., 2007. Pharmacodynamic studies of vancomycin, metronidazole and fusidic acid against Clostridium difficile. *Chemotherapy*, 53(4), pp.267–274.

Ogawa, M. et al., 1994. Kinetics of active efflux via choroid plexus of beta-lactam antibiotics from the CSF into the circulation. *The American journal of physiology*, 266(2 Pt 2), pp.R392–399.

Ohe, T. et al., 2003. Effect of P-Glycoprotein-Mediated Efflux on Cerebrospinal Fluid/Plasma Concentration Ratio. *Drug Metabolism and Disposition*, 31(10), pp.1251–1254.

Ohtsuki, S., 2004. New aspects of the blood-brain barrier transporters; its physiological roles in the central nervous system. *Biological & pharmaceutical bulletin*, 27(10), pp.1489–1496.

Ooie, T. et al., 1997. Quantitative brain microdialysis study on the mechanism of quinolones distribution in the central nervous system. *Drug metabolism and disposition*, 25(7), pp.784–0789.

Orihuela, C.J. et al., 2009. Laminin receptor initiates bacterial contact with the blood brain barrier in experimental meningitis models. *The Journal of Clinical Investigation*, 119(6), pp.1638–1646.

Ortiz, R. & Lee, K., 2006. Nosocomial infections in neurocritical care. *Current neurology and neuroscience reports*, 6(6), pp.525–530.

Oude Elferink, R.P. et al., 1995. Regulation of biliary lipid secretion by mdr2 P-glycoprotein in the mouse. *The Journal of clinical investigation*, 95(1), pp.31–38.

Di Paolo, A. et al., 2013. Clinical pharmacokinetics of antibacterials in cerebrospinal fluid. *Clinical pharmacokinetics*, 52(7), pp.511–542.

Pardridge, W.M., 2005. The blood-brain barrier and neurotherapeutics. *Neurotherapeutics*, 2(1), pp.1–2.

Parikh, V., Tucci, V. & Galwankar, S., 2012. Infections of the nervous system. *International Journal of Critical Illness and Injury Science*, 2(2), pp.82–97.

Patel, K. et al., 2008. Cerebellar ataxia following prolonged use of metronidazole: case report and literature review. *International journal of infectious diseases: IJID: official publication of the International Society for Infectious Diseases*, 12(6), pp.e111–114.

Pendland, S.L. et al., 1994. In vitro activities of metronidazole and its hydroxy metabolite against Bacteroides spp. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 38(9), pp.2106–2110.

Pfausler, Bettina et al., 2003. Treatment of staphylococcal ventriculitis associated with external cerebrospinal fluid drains: a prospective randomized trial of intravenous compared with intraventricular vancomycin therapy. *Journal of neurosurgery*, 98(5), pp.1040–1044.

Plaisance, K.I., Quintiliani, R. & Nightingale, C.H., 1988. The pharmacokinetics of metronidazole and its metabolites in critically ill patients. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 21(2), pp.195–200.

Poeppl, W. et al., 2012. Penetration of doripenem in human brain: an observational microdialysis study in patients with acute brain injury. *International journal of antimicrobial agents*, 39(4), pp.343–345.

Poller, B. et al., 2010. Regulation of BCRP (ABCG2) and P-glycoprotein (ABCB1) by cytokines in a model of the human blood-brain barrier. *Cellular and molecular neurobiology*, 30(1), pp.63–70.

Quagliarello, V.J., Long, W.J. & Scheld, W.M., 1986. Morphologic alterations of the blood-brain barrier with experimental meningitis in the rat. Temporal sequence and role of encapsulation. *Journal of Clinical Investigation*, 77(4), pp.1084–1095.

Radetsky, M., 1992. Duration of symptoms and outcome in bacterial meningitis: an analysis of causation and the implications of a delay in diagnosis. *The Pediatric infectious disease journal*, 11(9), pp.694–698; discussion 698–701.

Ralph, E.D. & Kirby, W.M., 1975. Unique bactericidal action of metronidazole against Bacteroides fragilis and Clostridium perfringens. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 8(4), pp.409–414.

Rambeck, B. et al., 2006. Comparison of brain extracellular fluid, brain tissue, cerebrospinal fluid, and serum concentrations of antiepileptic drugs measured intraoperatively in patients with intractable epilepsy. *Epilepsia*, 47(4), pp.681–694.

Rameix-Welti, M.-A. et al., 2009. Influenza A virus neuraminidase enhances meningococcal adhesion to epithelial cells through interaction with sialic acid-containing meningococcal capsules. *Infection and immunity*, 77(9), pp.3588–3595.

Ramirez, S.H. et al., 2013. Inhibition of glycogen synthase kinase 3β promotes tight junction stability in brain endothelial cells by half-life extension of occludin and claudin-5. *PloS one*, 8(2), p.e55972.

Rao, V.V. et al., 1999. Choroid plexus epithelial expression of MDR1 P glycoprotein and multidrug resistance-associated protein contribute to the blood-cerebrospinal-fluid drug-permeability barrier. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(7), pp.3900–3905.

Ratajczak-Enselme, M. et al., 2007. Effect of epinephrine on epidural, intrathecal, and plasma pharmacokinetics of ropivacaine and bupivacaine in sheep. *British journal of anaesthesia*, 99(6), pp.881–890.

Roche, M. et al., 2003. A twelve-year review of central nervous system bacterial abscesses; presentation and aetiology. *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 9(8), pp.803–809.

Rodriguez-Cerrato, V. et al., 2001. Pharmacodynamics and Bactericidal Activity of Moxifloxacin in Experimental Escherichia coli Meningitis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45(11), pp.3092–3097.

Sakka, L., Coll, G. & Chazal, J., 2011. Anatomy and physiology of cerebrospinal fluid. *European annals of otorhinolaryngology, head and neck diseases*, 128(6), pp.309–316.

Sande, M.A. et al., 1978. Factors influencing the penetration of antimicrobial agents into the cerebrospinal fluid of experimental animals. *Scandinavian journal of infectious diseases. Supplementum*, (14), pp.160–163.

Sangaret, A.M. et al., 1984. Cefotaxime in caesarian sections in patients with chorioamniotitis. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 14 Suppl B, pp.285–289.

Sanofi-Aventis, 2007. Prescribing information: Claforan® (cefotaxime sodium) sterile and injection.

Sawchuk, R.J. & Elmquist, W F, 2000a. Microdialysis in the study of drug transporters in the CNS. *Advanced drug delivery reviews*, 45(2-3), pp.295–307.

Sawchuk, R.J. & Elmquist, W F, 2000b. Microdialysis in the study of drug transporters in the CNS. *Advanced drug delivery reviews*, 45(2-3), pp.295–307.

Schinkel, 1999. P-Glycoprotein, a gatekeeper in the blood-brain barrier. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 36(2-3), pp.179–194.

Schinkel, A H et al., 1995. Multidrug resistance and the role of P-glycoprotein knockout mice. *European journal of cancer (Oxford, England: 1990)*, 31A(7-8), pp.1295–1298.

Schinkel, A H & Borst, P, 1991. Multidrug resistance mediated by P-glycoproteins. *Seminars in cancer biology*, 2(4), pp.213–226.

Schmutzhard, E et al., 1995. A randomised comparison of meropenem with cefotaxime or ceftriaxone for the treatment of bacterial meningitis in adults. Meropenem Meningitis Study Group. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 36 Suppl A, pp.85–97.

Schwartz, D.E. & Jeunet, F., 1976. Comparative pharmacokinetic studies of ornidazole and metronidazole in man. *Chemotherapy*, 22(1), pp.19–29.

Semoun, O. et al., 2012. A modelling approach to characterize intra-ocular doripenem pharmacokinetics after intravenous administration to rabbits with tentative extrapolation to human. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. Available at: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22526310 [Accessed June 1, 2012].

Seok, J.I. et al., 2003. Metronidazole-induced encephalopathy and inferior olivary hypertrophy: lesion analysis with diffusion-weighted imaging and apparent diffusion coefficient maps. *Archives of neurology*, 60(12), pp.1796–1800.

Shen, H. et al., 2004. Immunolocalization of the proton-coupled oligopeptide transporter PEPT2 in developing rat brain. *Molecular pharmaceutics*, 1(4), pp.248–256.

Shen, H. et al., 2005. PEPT2 (Slc15a2)-Mediated Unidirectional Transport of Cefadroxil from Cerebrospinal Fluid into Choroid Plexus. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 315(3), pp.1101–1108.

Shen, H. et al., 2007. Impact of genetic knockout of PEPT2 on cefadroxil pharmacokinetics, renal tubular reabsorption, and brain penetration in mice. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*, 35(7), pp.1209–1216.

Shin, S.H. & Kim, Kwang Sik, 2012. Treatment of bacterial meningitis: an update. *Expert opinion on pharmacotherapy*, 13(15), pp.2189–2206.

Sigeti, J.S., Guiney, D.G., Jr & Davis, C.E., 1983. Mechanism of action of metronidazole on Bacteroides fragilis. *The Journal of infectious diseases*, 148(6), pp.1083–1089.

Sjölin, J. et al., 1993. Treatment of brain abscess with cefotaxime and metronidazole: prospective study on 15 consecutive patients. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 17(5), pp.857–863.

Smith, Q.R., 2003. A review of blood-brain barrier transport techniques. *Methods in molecular medicine*, 89, pp.193–208.

Société Française d'Anesthésie Réanimation, 2010. Antibioprophylaxie en chirurgie et médecine interventionnelle. Available at:http://www.sfar.org/article/669/antibioprophylaxie-en-chirurgie-et-medecine-interventionnelle-patients-adultes-cc-2010.

Sofroniew, M.V. & Vinters, H.V., 2009. Astrocytes: biology and pathology. *Acta Neuropathologica*, 119(1), pp.7–35.

Soriano, F. et al., 1986. Bacteroides fragilis meningitis successfully treated with metronidazole after a previous failure with thiamphenicol. *Journal of clinical microbiology*, 24(3), pp.472–473.

Spector, R., 2010. Nature and consequences of mammalian brain and CSF efflux transporters: four decades of progress. *Journal of neurochemistry*, 112(1), pp.13–23.

Sprandel, K.A. et al., 2006. Population pharmacokinetic modeling and Monte Carlo simulation of varying doses of intravenous metronidazole. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 55(4), pp.303–309.

Staahle, L., 2000. On mathematical models of microdialysis: geometry, steady-state models, recovery and probe radius. *Advanced drug delivery reviews*, 45(2-3), pp.149–167.

Strelnikov, K., 2010. Neuroimaging and neuroenergetics: brain activations as information-driven reorganization of energy flows. *Brain and cognition*, 72(3), pp.449–456.

Suzuki, H et al., 1987. Transport of benzylpenicillin by the rat choroid plexus in vitro. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 242(2), pp.660–665.

Suzuki, Hiroshi, Terasaki, Tetsuya & Sugiyama, Yuichi, 1997. Role of efflux transport across the blood-brain barrier and blood-cerebrospinal fluid barrier on the disposition of xenobiotics in the central nervous system. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 25(2–3), pp.257–285.

Tabaouti, K. et al., 2009. [The role of biology in the diagnosis of cerebrospinal fluid leaks]. *Annales de biologie clinique*, 67(2), pp.141–151.

Tattevin, P. et al., 2003. Bacterial brain abscesses: a retrospective study of 94 patients admitted to an intensive care unit (1980 to 1999). *The American journal of medicine*, 115(2), pp.143–146.

Terasaki & Hosoya, 1999. The blood-brain barrier efflux transporters as a detoxifying system for the brain. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 36(2-3), pp.195–209.

Teuscher, N.S. et al., 2004. Carnosine uptake in rat choroid plexus primary cell cultures and choroid plexus whole tissue from PEPT2 null mice. *Journal of neurochemistry*, 89(2), pp.375–382.

Trang, J.M. et al., 1985. Cefotaxime and desacetylcefotaxime pharmacokinetics in infants and children with meningitis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 28(6), pp.791–795.

Tsai, T.-H., 2001. Effect of ivermectin on the disposition of amoxicillin in rat blood and brain using microdialysis sampling. *Analytica Chimica Acta*, 431(2), pp.279–285.

Tunkel, A R et al., 1991. Blood-brain barrier alterations in bacterial meningitis: development of an in vitro model and observations on the effects of lipopolysaccharide. *In vitro cellular & developmental biology: journal of the Tissue Culture Association*, 27A(2), pp.113–120.

Turnidge, J.D., 1995. Pharmacodynamic (kinetic) considerations in the treatment of moderately severe infections with cefotaxime. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 22(1-2), pp.57–69.

Vandenbroucke, R.E. et al., 2012. Matrix metalloprotease 8-dependent extracellular matrix cleavage at the blood-CSF barrier contributes to lethality during systemic inflammatory diseases. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 32(29), pp.9805–9816.

Viladrich, P.F. et al., 1996. High Doses of Cefotaxime in Treatment of Adult Meningitis Due to Streptococcus Pneumoniae with Decreased Susceptibilities to Broad-Spectrum Cephalosporins. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 40(1), pp.218–220.

Vries, H.E. de et al., 1997. The Blood-Brain Barrier in Neuroinflammatory Diseases. *Pharmacological Reviews*, 49(2), pp.143–156.

Waarde, A. v, 2000. Measuring receptor occupancy with PET. *Current pharmaceutical design*, 6(16), pp.1593–1610.

Warner, J.F., Perkins, R.L. & Cordero, L., 1979. Metronidazole therapy of anaerobic bacteremia, meningitis, and brain abscess. *Archives of internal medicine*, 139(2), pp.167–169.

Wang, Q. et al., 2008. Postoperatively administered vancomycin reaches therapeutic concentration in the cerebral spinal fluid of neurosurgical patients. *Surgical neurology*, 69(2), pp.126–129; discussion 129.

Weisfelt, M et al., 2007. Nosocomial bacterial meningitis in adults: a prospective series of 50 cases. *The Journal of hospital infection*, 66(1), pp.71–78.

Weiss, N. et al., 2009a. [Biology of the blood-brain barrier: Part I]. *Revue neurologique*, 165(11), pp.863–874.

Weiss, N. et al., 2010. [Blood-brain barrier part III: therapeutic approaches to cross the blood-brain barrier and target the brain]. *Revue neurologique*, 166(3), pp.284–288.

Weiss, N. et al., 2009b. [Implication of the blood-brain barrier in neurological diseases: part II]. *Revue neurologique*, 165(12), pp.1010–1022.

Westerhout, J. et al., 2012. Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling to Investigate Regional Brain Distribution Kinetics in Rats. *The AAPS Journal*, 14(3), pp.543–553.

Westerhout, J. et al., 2013. The impact of P-gp functionality on non-steady state relationships between CSF and brain extracellular fluid. *Journal of pharmacokinetics and pharmacodynamics*, 40(3), pp.327–342.

Westerhout, J., Danhof, Meindert & De Lange, Elizabeth C. M., 2011. Preclinical prediction of human brain target site concentrations: Considerations in extrapolating to the clinical setting. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 100(9), pp.3577–3593.

Wijnholds, J. et al., 2000. Multidrug resistance protein 1 protects the choroid plexus epithelium and contributes to the blood-cerebrospinal fluid barrier. *Journal of Clinical Investigation*, 105(3), pp.279–285.

Wolburg, H. et al., 2009. Brain endothelial cells and the glio-vascular complex. *Cell and tissue research*, 335(1), pp.75–96.

Wolburg, H. & Paulus, W., 2009. Choroid plexus: biology and pathology. *Acta Neuropathologica*, 119(1), pp.75–88.

Wolman, A.T. et al., 2013. Organic Anion Transporter 3 Interacts Selectively with Lipophilic β-Lactam Antibiotics. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*, 41(4), pp.791–800.

Wong, S.L., Van Belle, K. & Sawchuk, R.J., 1993. Distributional transport kinetics of zidovudine between plasma and brain extracellular fluid/cerebrospinal fluid in the rabbit: investigation of the inhibitory effect of probenecid utilizing microdialysis. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 264(2), pp.899–909.

Yasuda, K. et al., 2013. Drug transporters on arachnoid barrier cells contribute to the blood-cerebrospinal fluid barrier. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*, 41(4), pp.923–931.

Yu, D.W. et al., 1992. Synthesis of carbon-11 labeled iodinated cocaine derivatives and their distribution in baboon brain measured using positron emission tomography. *Journal of medicinal chemistry*, 35(12), pp.2178–2183.

Ziai, W.C. & Lewin, J.J., 3rd, 2006. Advances in the management of central nervous system infections in the ICU. *Critical Care Clinics*, 22(4), pp.661–694; abstract viii–ix.

Del Zoppo, G.J., 2006. Stroke and neurovascular protection. *The New England journal of medicine*, 354(6), pp.553–555.

Zuccoli, G., Pipitone, N. & Santa Cruz, D., 2008. Metronidazole-Induced and Wernicke Encephalopathy: Two Different Entities Sharing the Same Metabolic Pathway? *American Journal of Neuroradiology*, 29(9), pp.e84–e84.

Liste des figures

Figure 1. Schéma d'un capillaire de tissu (A) sans barrière et d'un capillaire de la BHE avec jonctions endothéliales serrées (B) 13

Figure 2. Plexus choroïde : schéma histologique de l'épithélium (A) et localisation anatomique dans les ventricules latéraux sur une coupe coronale de l'encéphale (B). 16

Figure 3. Schéma anatomique du système ventriculaire chez l'homme. 18

Figure 4. Représentation schématique des compartiments cérébraux. 19

Figure 5. Mécanismes de transport sur la BHE. 20

Figure 6. Principaux transporteurs actifs présents sur la BHE..... 27

Figure 7. Schéma des transporteurs ABC. 28

Figure 8. Localisation des différentes protéines de transport actif sur la BHE et la BHL 33

Figure 9. Tomodensitométrie sans (A) et avec injection (B) de produit de contraste iodé.... 43

Figure 10. Structure chimique du céfotaxime..... 52

Figure 11. Structure chimique du métronidazole. 56

Figure 12. Courbe des concentrations dans 3 compartiments tissulaires..... 63

Figure 13. Représentation schématique de la distribution cérébrale des médicaments 64

Figure 14. Système de drainage ventriculaire externe du LCR. 68

Figure 15. Principe schématique d'une sonde de microdialyse. 71

Figure 16. Modèle pharmacocinétique pour le céfotaxime..... 164

Figure 17. Modèle PBPK utilisé pour décrire les concentrations de céfotaxime dans les différents compartiments plasmatiques et cérébraux..... 167

Liste des Tableaux

Tableau 1. Paramètres physiologiques des volumes et production de LEC et LCR chez l'homme et le rat. 17

Tableau 2. Classification des principaux antibiotiques selon le pKa. 24

Tableau 3. Classification des antibiotiques en fonction de la liaison aux proteines plasmatiques. 26

Tableau 4. Transporteurs présents sur la BHE (*) et la BHL (†) et leurs principaux substrats connus. 29

Tableau 5. Antibioprophylaxie en neurochirurgie 47

Tableau 6. Traitement de première intention d'une méningite communautaire aiguë de l'adulte. 51

Tableau 7. Spectre d'activité du métronidazole 58

Tableau 8. Paramètres pharmacocinétiques des céphalosporines dans le LCR 69

Tableau 9. Avantages et inconvénients de la technique de microdialyse. 73

Tableau 10. Etudes de la distribution des antibiotiques par microdialyse dans le tissu cérébral. 76

Résumé

Etude de la distribution cérébrale de deux antibiotiques chez des patients de réanimation

Pour exercer leur effet princeps, les médicaments doivent atteindre des concentrations nécessaires et suffisantes à leur site d'action tout en évitant la survenue d'effets indésirables. Les antibiotiques sont utilisés pour le traitement d'infection cérébroméningées dont la cible bactériologique se situe dans le liquide céphalorachidien (LCR) ou le liquide extracellulaire cérébral (LEC) un site d'action cérébral qui constitue aussi une cible pour des effets secondaires. La distribution de médicament dans le cerveau et le LCR est limitée par la présence des barrières hémato-encéphalique (BHE) et hématoliquidienne (BHL). De plus, des mécanismes d'efflux diminuent les concentrations tissulaires des médicaments.

Pour optimiser l'usage des antibiotiques et diminuer les effets indésirables, il est important d'obtenir des informations pharmacocinétiques tissulaires. Le recueil de LEC par microdialyse cérébrale et le prélèvement de LCR permettent chez des patients de réanimation la comparaison des concentrations libres de médicament. Ce travail constitue une étude de la distribution dans le plasma, le LCR et le LEC de deux antibiotiques: le céfotaxime et le métronidazole.

Des patients (après un traumatisme crânien ou un accident vasculaire) ont été traités par céfotaxime et métronidazole pour une pneumopathie. Quatre études pharmacocinétiques ont été réalisées à l'équilibre par microdialyse cérébrale (n=11) pour le recueil du LEC ou par prélèvement de LCR (n=9) par une dérivation ventriculaire externe. Les résultats ont montré que le métronidazole diffusait totalement dans les deux milieux alors que la diffusion du céfotaxime était limitée, probablement en raison de phénomènes d'efflux.

Abstract

Brain distribution of two antibiotics in critically ill patients

To exert their effect while avoiding adverse events, drugs must reach sufficient concentrations in their site of action. Antibiotics are used for treating infection that bacterial target is in the cerebrospinal fluid (CSF) or brain extracellular fluid (ECF) which is also a target for adverse events. Drug distribution in the brain and CSF may be limited by the presence of the blood-brain barrier (BBB) and blood-CSF barrier (BCSFB). In addition, efflux mechanisms may decrease tissue concentrations of drugs.

To optimize the use of antibiotics and reduce adverse events, it is important to obtain tissue pharmacokinetics. Collecting ECF samples via brain microdialysis and CSF samples via external ventricular drain in critically ill patients allow comparison of free drug concentrations. This work is a study of the distribution in plasma, CSF and ECF of two antibiotics, cefotaxime and metronidazole.

Patients (after a head injury or stroke) were treated with cefotaxime and metronidazole for pneumonia. Four pharmacokinetic studies were performed at equilibrium by brain microdialysis (n = 11) for collecting ECF or CSF samples (n = 9) by an external ventricular drain. The results showed that metronidazole distributes extensively in both ECF and CSF while the diffusion of cefotaxime was limited, probably due to efflux transporters.

Pour exercer leur effet princeps, les médicaments doivent atteindre des concentrations nécessaires et suffisantes à leur site d'action tout en évitant la survenue d'effets indésirables. Les antibiotiques sont utilisés pour le traitement d'infection cérébroméningées dont la cible bactériologique se situe dans le liquide céphalorachidien (LCR) ou le liquide extracellulaire cérébral (LEC) un site d'action cérébral qui constitue aussi une cible pour des effets secondaires. La distribution de médicament dans le cerveau et le LCR est limitée par la présence des barrières hémato-encéphalique (BHE) et hématoliquidienne (BHL). De plus, des mécanismes d'efflux diminuent les concentrations tissulaires des médicaments.

Pour optimiser l'usage des antibiotiques et diminuer les effets indésirables, il est important d'obtenir des informations pharmacocinétiques tissulaires. Le recueil de LEC par microdialyse cérébrale et le prélèvement de LCR permettent chez des patients de réanimation la comparaison des concentrations libres de médicament. Ce travail constitue une étude de la distribution dans le plasma, le LCR et le LEC de deux antibiotiques: le céfotaxime et le métronidazole.

Des patients (après un traumatisme crânien ou un accident vasculaire) ont été traités par céfotaxime et métronidazole pour une pneumopathie. Quatre études pharmacocinétiques ont été réalisées à l'équilibre par microdialyse cérébrale (n=11) pour le recueil du LEC ou par prélèvement de LCR (n=9) par une dérivation ventriculaire externe. Les résultats ont montré que le métronidazole diffusait totalement dans les deux milieux alors que la diffusion du céfotaxime était limitée, probablement en raison de phénomènes d'efflux.

Mots clés : Pharmacocinétique – Céfotaxime – Métronidazole – Barrière hémato-encéphalique – Microdialyse – Liquide céphalorachidien

Unité INSERM U1070 – Pharmacologie des anti-infectieux, Poitiers, France