

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Desenvolvimento de Modelos Farmacocinéticos Populacionais para
Ceftarolina Visando o Tratamento de Infecções Cerebrais

VICTÓRIA ETGES HELFER

Porto Alegre, 2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Desenvolvimento de Modelos Farmacocinéticos Populacionais para
Ceftarolina Visando o Tratamento de Infecções Cerebrais

Tese apresentada por **Victória Etges
Helfer** para obtenção do TÍTULO DE
DOUTOR em Ciências Farmacêuticas

Orientadora: Prof^a Dr^a Teresa Dalla Costa

Co-orientadora: Prof^a Dr^a Bibiana Verlindo de Araújo

Porto Alegre, 2022

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Doutorado Acadêmico da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada com louvor em 29 de agosto de 2022, pela banca examinadora constituída por:

Profa. Dra. Andréa Diniz

Universidade Estadual de Maringá

Profa. Dra. Francine Johansson Azeredo

University of Florida

Prof. Dr. Jose Ignacio Fernandez de Troconiz Fernandez

Universidad de Navarra

Prof. Dr. Manuel Ibarra Viñales

Universidad de la República

CIP - Catalogação na Publicação

Helper, Victória Etges
Desenvolvimento de Modelos Farmacocinéticos
Populacionais para Ceftarolina Visando o Tratamento de
Infecções Cerebrais / Victória Etges Helper. -- 2022.
179 f.
Orientadora: Teresa Dalla Costa.

Coorientadora: Bibiana Verlindo de Araújo.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de
Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre,
BR-RS, 2022.

1. Ceftarolina. 2. microdiálise cerebral. 3. MRSA.
4. modelagem popPK. 5. probabilidade de atingir o alvo
terapêutico. I. Dalla Costa, Teresa, orient. II.
Araújo, Bibiana Verlindo de, coorient. III. Título.

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório 405 e no Laboratório de Farmacocinética e Modelagem PK/PD da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e no Laboratório Nacional Agropecuário do Rio Grande do Sul (LANAGRO-RS) em Porto Alegre – RS, com apoio financeiro da Pfizer (2018 Anti-Infectives ASPIRE, #WI242215), do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da UFRGS e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq. O autor recebeu bolsa de estudos da Coordenação Nacional de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES.

AGRADECIMENTOS

À minha professora e orientadora Teresa Dalla Costa, por ter me introduzido ao mundo farmacocinético como aluna de iniciação científica, por toda a confiança depositada em mim ao longo desses anos. Agradeço por todo o aprendizado que tive contigo, um exemplo de profissional comprometida com a excelência na formação dos seus alunos.

À minha coorientadora, Bibiana Verlindo de Araújo, por toda a contribuição pessoal e científica fornecida para a execução e conclusão deste trabalho. Obrigada por proporcionar oportunidades de crescimento no campo da farmacometria para todo o nosso grupo de pesquisa, fundamental nesses anos de confinamento decorrentes da pandemia do covid-19.

Ao professor Alexandre P. Zavascki pela oportunidade deste projeto de pesquisa desafiador. Obrigada pelas discussões científicas, trazendo um olhar clínico para o trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, à Universidade Federal do Rio Grande do Sul e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, por terem me proporcionado uma formação pública e de qualidade e possibilitado minha dedicação à pesquisa.

Ao Dr. Fabiano Barreto e os seus colegas Caroline Andrade Tomaszewski e Lucas Suchecki Barnet, pela disponibilização do LC-MS/MS e desenvolvimento do método analítico. Agradeço o tempo dedicado a todas as minhas análises, fundamentais para o desenvolvimento desse projeto.

Ao Dr. Fernando Carreño e à Dra. Bruna Torres, por serem um exemplo de pesquisadores e profissionais. Vocês foram fundamentais no meu crescimento, tanto pessoal como profissional. Obrigada pela confiança depositada em mim durante o doutorado de vocês. Foi uma honra ter trabalhado e aprendido com vocês. Fernando, para você eu também dedico uma medalha de ouro pela sua atuação como pesquisador e amigo, sempre pronto para me aconselhar.

Às "PK Girls", Bruna Dias, Graziela Lock, Keli Staudt e Laura Olivo. Obrigada por todo o apoio durante todos estes anos, sempre prontas para discutir ciência e

vida! Agradeço em especial a Bruna e Grazi por terem se disponibilizado para me auxiliar em todos os experimentos. Sem vocês não seria possível.

Aos demais colegas do laboratório de farmacocinética e modelagem PK/PD com quem convivi durante essa trajetória. Obrigada Ana Lúcia Xavier, por sempre ter um café e uma palavra de apoio nos esperando no laboratório.

À minha família, por todo o incentivo, apoio e entendimento, especialmente nos momentos de ausência. Aos meus pais, Liberato José Helfer e Miriam Teresa Etges. Em especial, à minha mãe, por ter me mostrado o poder de uma mulher forte e determinada, por todo o incentivo para que eu seguisse meus sonhos. À minha irmã, Virginia Etges Helfer, por ser meu exemplo, não apenas pessoal, mas profissional, me proporcionando a alegria de poder ser colega de profissão. Ao meu irmão, Tiago Etges Helfer, pelo companheirismo no dia a dia das nossas vidas. Aos meus avós maternos, Cecília Maria Etges e Rudolfo Pedro Etges, pelo exemplo de carinho e cuidado fornecido para toda a nossa família. Amo vocês!

À minha segunda família, meus sogros Paulo Roberto Olbermann e Maria Elisabete Olbermann. Sempre dispostos a me oferecer carinho e amor. Vocês foram fundamentais para o meu desenvolvimento. Obrigada por entender os meus momentos de ausência. Amo vocês!

E por fim, o agradecimento mais especial para o meu grande amor, Maicon Olbermann. Você foi a minha força que me motivou para chegar até aqui. Obrigada por tantos anos de companheirismo e amizade e principalmente por ter encarado essa aventura ao meu lado. Eu amo muito você e a nossa família.

Far better an approximate answer to the *right* question, which is often vague, than an *exact* answer to the wrong question, which can always be made precise.

John Tukey

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar a potencialidade do uso do antimicrobiano ceftarolina para o tratamento de infecções cerebrais empregando modelos farmacocinéticos populacionais clínicos e pré-clínicos. Para atingir esse objetivo, inicialmente um modelo farmacocinético populacional (popPK) foi desenvolvido com dados obtidos na literatura de concentração plasmática e concentração muscular e subcutâneo livres obtidos através da técnica de microdiálise provenientes de voluntários saudáveis; e dados de concentração plasmática e do líquido cefalorraquidiano (LCR) de pacientes neurocirúrgicos. As concentrações plasmáticas foram descritas por um modelo de dois compartimentos e a distribuição da ceftarolina para os tecidos foi incorporada como um transporte bidirecional parametrizado como *clearance* intercompartimental de entrada (*in*) e de saída (*out*) (CL_{in} e CL_{out}). A condição do indivíduo (sadio versus paciente) e o peso foram identificados como covariáveis significativas para volume do compartimento central e o *clearance* de creatinina como covariável para o *clearance*. Foram observadas exposições teciduais de aproximadamente 52% e 58% para os tecidos muscular e subcutâneo, respectivamente, e exposições menores no LCR, de aproximadamente 9%. Apesar da baixa exposição no LCR, uma correlação negativa foi encontrada entre o *clearance* intercompartimental de penetração cerebral (CL_{in}) e a concentração de glicose no LCR dos pacientes, indicando um aumento de exposição em pacientes com meninges inflamadas. Através de simulações de Monte Carlo, demonstrou-se que os regimes de doses aprovados para o uso na prática clínica resultam em exposições plasmáticas, musculares, subcutâneas suficientes para o tratamento de infecções por *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), bem como suficiente no LCR quando considerados pacientes com inflamação meníngea. Com o intuito de investigar a influência da infecção na a penetração cerebral da ceftarolina, um modelo popPK foi desenvolvido com dados pré-clínicos. Para isso, inicialmente um método analítico por cromatografia em líquido associada à espectrometria de massas em tandem (LC-MS/MS) foi desenvolvido e validado para a quantificação de

ceftarolina em amostras de microdialisado plasmático e cerebral. O método desenvolvido foi simples, rápido e com sensibilidade adequada para a correta caracterização da farmacocinética da ceftarolina em roedores. Posteriormente, um modelo animal de meningite por MRSA (ATCC43300) em ratos Wistar machos foi adaptado da literatura e padronizado. Os animais receberam uma injeção intracisternal de inóculo bacteriano (1×10^8 UFC/mL). A presença de bactéria no cérebro dos animais foi avaliada 3 e 5 dias após a inoculação, com diagnóstico, por análise histopatológica, de meningite supurativa após três dias de infecção. As concentrações livres de ceftarolina no sangue e no córtex motor primário após administração i.v. *bolus* de 20 mg/kg foram determinadas através da técnica de microdiálise em ratos hígidos ($n = 8$) e infectados (3 dias de infecção, $n = 9$; 5 dias de infecção, $n = 6$). Os dados foram simultaneamente descritos por um modelo popPK constituído de um compartimento plasmático e dois compartimentos cerebrais, com a distribuição do plasma para o cérebro caracterizada por um transporte bidirecional parametrizado como CL_{in} e CL_{out} . Uma correlação inversa significativa foi encontrada entre o *output* cardíaco dos animais e a recuperação relativa das sondas de microdiálise plasmática, indicando que animais com maior volume de sangue bombeado/tempo pelo coração tendem a ter recuperações relativas menores. A infecção foi identificada como covariável no parâmetro de CL_{in} , levando a um aumento de aproximadamente 62% na exposição cerebral de animais infectados em relação aos animais hígidos. Por fim, o modelo popPK pré-clínico desenvolvido permitiu a identificação de uma provável fonte de variabilidade comumente encontrada em experimentos de microdiálise plasmática, correlacionando o *output* cardíaco com a recuperação relativa da sonda de microdiálise. A presença de infecção aumenta a penetração cerebral de ceftarolina em ratos Wistar, concordando com a hipótese levantada pelo modelo popPK em humanos. O conjunto de resultados confirma o potencial da ceftarolina para o tratamento de infecções cerebrais, devendo ser investigada em estudos clínicos específicos visando a extensão de sua aprovação para esse uso

Palavras-chave: Ceftarolina; microdiálise cerebral; MRSA; modelagem popPK; probabilidade de atingir o alvo terapêutico.

ABSTRACT

Development of Populations Pharmacokinetic Models for Ceftaroline Viewing the Treatment of Brain Infections

The aim of the present study was to evaluate the potential of the antimicrobial ceftaroline for the treatment of brain infections using clinical and preclinical population pharmacokinetic models. To achieve this objective, initially a population pharmacokinetic model (popPK) was developed with data obtained in the literature on plasma concentration, free muscle and subcutaneous tissue concentrations, measured by microdialysis in healthy volunteers; and data on plasma and cerebrospinal fluid concentrations (CSF) of neurosurgical patients. Plasma concentrations were described by a two-compartment model and tissue distribution of ceftaroline was incorporated with a bidirectional transport parameterized as intercompartmental clearance in and out (CL_{in} and CL_{out}). Subject status (healthy versus patient) and weight were identified as significant covariates for volume of the central compartment, and creatinine clearance as a covariate for clearance. Tissue exposures of approximately 52% and 58% were observed for muscle and subcutaneous tissue, respectively, and lower exposures in CSF, of approximately 9%. Despite the low CSF exposure, a negative correlation was found between intercompartmental clearance into the brain (CL_{in}) and CSF glucose concentration indicating an increased exposure in patients with inflamed meninges. Through Monte Carlo simulations, it was demonstrated that the approved dose regimens used in clinical practice result in sufficient exposures in plasma, muscle, and subcutaneous tissue as well as CSF, when considering patients with meningeal inflammation, for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections. Aiming to investigate the influence of infection on the brain penetration of ceftaroline, a popPK model was developed with preclinical data. Initially, an analytical LC-MS/MS method was developed and validated for the quantification of ceftaroline in plasma and brain interstitial microdialysate samples. The method developed was simple, fast and with adequate sensitivity for the correct characterization of the pharmacokinetics of ceftaroline in rodents. Subsequently, an animal model of MRSA meningitis (ATCC43300) in male Wistar rats was adapted from the literature. The animals

received an intracisternal injection of bacterial inoculum (1×10^8 CFU/mL) and the presence of bacteria in the brain was evaluated 3 and 5 days after inoculation, with a diagnosis, by histopathological analysis, of suppurative meningitis after three days of infection. Free plasma and free brain concentrations in the primary motor cortex of ceftaroline after 20 mg/kg i.v. *bolus* were determined by the microdialysis technique in healthy ($n = 8$) and infected (3 days of infection, $n = 9$; 5 days of infection, $n = 6$) rats. The data were simultaneously described by a popPK model consisting of a plasma compartment and two brain compartments, with the distribution of plasma to the brain characterized by a bidirectional transport parameterized as CL_{in} and CL_{out} . A significant inverse correlation was found between the cardiac output of the animals and the relative recovery of plasma microdialysis probes, indicating that animals with greater volume of blood pumped by the heart over time tend to have smaller relative recoveries. Infection was identified as a covariate for the CL_{in} parameter, leading to an increase of approximately 62% in brain exposure of infected animals in relation to healthy animals. Finally, the pre-clinical popPK model developed allowed the identification of a possible source of variability commonly found in plasma microdialysis experiments, correlating cardiac output with the relative recovery of the microdialysis probe. Furthermore, it was possible to identify that the presence of infection increases brain's interstitial concentrations of ceftaroline in Wistar rats, in agreement with the hypothesis raised by the popPK model in humans. The set of results of this work confirms that ceftaroline has potential for the treatment of brain infections and should be investigated in specific clinical studies at the extension of its approval for this use.

Keywords: ceftaroline; brain microdialysis; MRSA; popPK modeling; probability of target attainment.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Table 1. Summary of the demographic and clinical characteristics of the subjects included in the popPK modeling.....61

Table 2. Parameter estimates of the final ceftaroline population pharmacokinetic model.....62

CAPÍTULO 2

Table 1. Monitored transitions of ceftaroline in MRM mode.....102

Table 2. Intra- and inter-day variation of ceftaroline in artificial cerebrospinal fluid and Ringer's solution.....110

Table 3. Accuracy of ceftaroline analyses in artificial cerebrospinal fluid and Ringer's solution.....111

Table 4. Stability of ceftaroline in artificial cerebrospinal fluid and Ringer's solution.....112

Table 5. Ceftaroline pharmacokinetic parameters estimated by NCA after intravenous bolus administration of 20 mg/kg to male Wistar rats.....114

CAPÍTULO 3

Table 1. Parameter estimates of the final ceftaroline population pharmacokinetic model.....139

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figure 1. Ceftaroline structural popPK model.....	63
Figure 2. Correlation between intercompartmental clearance into the CSF (Q_{in}) with CSF glucose concentration.....	64
Figure 3. Observed versus population predicted and individual predicted ceftaroline concentrations.....	65
Figure 4. Conditional weighted residual error (CWRES) versus population predicted and versus time after last dose.....	66
Figure 5. Prediction-corrected visual predictive check for ceftaroline.....	67
Figure 6. Probability of target attainment (PTA) for 1000 simulated patients with normal renal function achieving a target of 34.7% $fT > MIC$ for MRSA by MIC.....	68
Figure A 1. PTA for 1000 simulated patients with mild renal function achieving a target of 34.7% $fT > MIC$ for MRSA by MIC.....	84
Figure A 2. PTA for 1000 simulated patients with impaired renal function achieving a target of 34.7% $fT > MIC$ for MRSA by MIC.....	85
Figure A 3. PTA for 1000 simulated patients with impaired renal function achieving a target of 34.7% $fT > MIC$ for MRSA by MIC.....	86
Figure A 4. PTA for 1000 simulated patients with normal renal function achieving a target of 30.7% $fT > MIC$ for MRSA by MIC.....	87
Figure A 5. PTA for 1000 simulated patients with mild renal function achieving a target of 30.7% $fT > MIC$ for MRSA by MIC.....	88
Figure A 6. PTA for 1000 simulated patients with impaired renal function achieving a target of 30.7% $fT > MIC$ for MRSA by MIC.....	89
Figure A 7. PTA for 1000 simulated patients with impaired renal function achieving a target of 30.7% $fT > MIC$ for MRSA by MIC.....	90

Figure A 8. PTA for 1000 simulated patients with normal renal function achieving a target of 26.8% fT>MIC for MRSA by MIC.....	91
Figure A 9. PTA for 1000 simulated patients with mild renal function achieving a target of 26.8% fT>MIC for MRSA by MIC.....	92
Figure A 10. PTA for 1000 simulated patients with impaired renal function achieving a target of 26.8% fT>MIC for MRSA by MIC.....	93
Figure A 11. PTA for 1000 simulated patients with impaired renal function achieving a target of 26.8% fT>MIC for MRSA by MIC.....	94

CAPÍTULO 2

Figure 1. Representative chromatograms	109
Figure 2. Ceftaroline mean free plasma and free brain concentrations.....	114

CAPÍTULO 3

Figure 1. Ceftaroline structural popPK model.....	134
Figure 2. Correlation between model predicted individual relative recovery of the plasma microdialysis probe and the cardiac output of the animals.....	135
Figure 3. Prediction-corrected visual predictive check (pcVPC) for ceftaroline in plasma, brain of healthy animals, and brain of MRSA infected animals.....	136
Figure 4. Observed versus populational predicted and individual predicted ceftaroline concentrations on plasma and brain concentration.....	137
Figure 5. Conditional weighted residual error (CWRES) versus populational predicted and versus time for plasma and brain.....	138
Figure S1. Photomicrographs of hematoxylin- and eosin-stained sections of brain from infected rats.....	151

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	21
OBJETIVOS	27
REVISÃO DA LITERATURA	31
1.1 Epidemiologia.....	33
1.2 Tratamento.....	36
2.1 Penetração de Antimicrobianos pela BHE na Inflamação	43
2.2 Microdiálise como ferramenta para medir concentrações livres de antimicrobianos no SNC.....	46
CAPÍTULO 1	53
CAPÍTULO 2	95
CAPÍTULO 3	121
DICUSSÃO GERAL	153
CONCLUSÕES	161
REFERÊNCIAS GERAIS	165
ANEXOS	177

INTRODUÇÃO

Meningites e ventriculites nosocomiais são complicações severas decorrentes de procedimentos invasivos como neurocirurgia, trauma craniano ou inserção de dreno externo do líquido cefalorraquidiano (LCR) (VAN DE BEEK; DRAKE; TUNKEL, 2010). Os microrganismos infectantes diferem acentuadamente daqueles causadores de meningite adquirida na comunidade e, no geral, são cocos Gram-positivos tais como *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus aureus* (BEER *et al.*, 2008; HECKENBERG; BROUWER; VAN DE BEEK, 2014-). No mundo, meningites por *S. aureus* são responsáveis por 0,3% - 8,8% de todos os casos de meningite bacteriana. No Brasil, *S. aureus* foi associado a meningites bacterianas em 1,3% dos casos diagnosticados no Instituto Adolfo Lutz em um período de janeiro a dezembro de 2010 (OLIVEIRA *et al.*, 2012). Nos Estados Unidos, 1% - 3% dos casos de meningite são causados por *S. aureus* e, apesar de sua baixa incidência, apresenta uma taxa de mortalidade de cerca de 50% em adultos (AGUILAR *et al.*, 2010).

O tratamento de escolha para infecções do sistema nervoso central (SNC) são os antimicrobianos β -lactâmicos, devido a sua potente atividade antibacteriana, baixa toxicidade e altas concentrações atingidas no cérebro e LCR (NAU; SÖRGEL; EIFFERT, 2010). No entanto, infecções adquiridas em ambiente hospitalar frequentemente são associadas a microrganismos resistentes aos β -lactâmicos, tais como *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA) (LINDSAY, 2013). Como alternativa ao tratamento destas infecções, utiliza-se vancomicina ou outros agentes, como linezolida e daptomicina (TUNKEL *et al.*, 2017).

Apesar da vancomicina ser o antimicrobiano de primeira escolha para tratar MRSA, seu uso pode não ser o mais adequado para este tipo de infecção. A entrada de fármacos no SNC é favorecida por características como lipofilicidade, baixo peso molecular, baixa ligação a proteínas plasmáticas e baixa afinidade por transportadores de efluxo presentes na barreira hematoencefálica (BHE) (NAU; SÖRGEL; EIFFERT, 2010). Tendo em vista a característica hidrofílica e seu alto peso molecular, a vancomicina apresenta pobre penetração cerebral, especialmente em meningites que não apresentam

inflamação da BHE (NAU; SÖRGEL; EIFFERT, 2010). Além disso, também apresenta toxicidade sistêmica, limitando o aumento de doses diárias (NAU; SÖRGEL; EIFFERT, 2010). Estes fatores acabam resultando em desfechos clínicos desfavoráveis em pacientes que apresentam infecções do SNC causadas por MRSA.

O uso de daptomicina, como uma alternativa de tratamento, é comprometido por apresentar farmacocinética (PK) desfavorável no SNC (NAU *et al.*, 2013). A linezolida apresenta um perfil farmacocinético mais favorável e foi uma opção terapêutica promissora para infecções do SNC (NAU *et al.*, 2013). Entretanto, casos de resistência foram reportados logo após a sua introdução na prática clínica, o que pode limitar o uso deste antimicrobiano para o tratamento de meningites (LAYER *et al.*, 2018; NAU *et al.*, 2013).

A ceftarolina é um antimicrobiano promissor para infecções do SNC, uma vez que faz parte da classe dos β -lactâmicos e possui atividade *in vitro* contra MRSA (NAU *et al.*, 2013). Embora seja aprovado para o tratamento de pneumonia adquirida na comunidade e infecções complicadas de pele e tecidos moles, existem alguns relatos na literatura do seu uso para o tratamento de infecções do SNC causadas por bactérias Gram-positivas (BALOUCH; BAJWA; HASSOUN, 2015; SAKOULAS *et al.*, 2015). Contudo, não existem estudos de avaliação farmacocinética e farmacocinética/farmacodinâmica (PK/PD) deste antimicrobiano em infecções do SNC frente a patógenos importantes, como os isolados de MRSA. Além disso, em dois estudos que investigaram a ceftarolina em modelos experimentais de meningite foram avaliadas apenas as concentrações do fármaco no LCR, sendo que não há dados sobre a penetração de ceftarolina no tecido cerebral (COTTAGNOUD *et al.*, 2013; STUCKI *et al.*, 2013).

Uma técnica que tem sido empregada para determinar concentrações teciduais de fármacos é a microdiálise. Esta técnica consiste na implantação de uma sonda no tecido de interesse, que é continuamente irrigada por um fluido de perfusão isosmolar. A porção terminal da sonda possui uma membrana semipermeável que permite a passagem de moléculas pequenas através de

difusão passiva (KHO *et al.*, 2017). Uma das vantagens desta técnica é que permite a determinação das concentrações livres do fármaco, farmacologicamente ativas, em função do tempo no fluido intersticial, sítio de infecção da maioria das bactérias (KHO *et al.*, 2017).

As concentrações de antimicrobianos em tecidos infectados podem diferir daquelas em tecidos saudáveis devido às alterações locais causadas pela inflamação associada, como aumento da temperatura, diminuição do pH, extravasamento de plasma e migração de leucócitos no local da infecção, entre outros fatores (DIAS *et al.*, 2022; TORRES *et al.*, 2017; DHANANI *et al.*, 2010). Sendo assim, as concentrações livres teciduais em tecidos não infectados podem não ser representativas daquelas atingidas no tecido alvo na presença de uma infecção e, portanto, a sua determinação também em tecidos infectados se faz necessária.

Análise dos índices PK/PD têm sido utilizadas para a definição dos regimes posológicos mais adequados para o sucesso das terapias antimicrobianas (ASÍN-PRIETO; RODRÍGUEZ-GASCÓN; ISLA, 2015). Normalmente, para antimicrobianos, três índices PK/PD são empregados: tempo no qual a concentração livre do fármaco permanece acima da concentração inibitória mínima (CIM) ($\%fT > CIM$), geralmente expresso como percentual do intervalo de doses, como o caso dos β -lactâmicos; razão entre a concentração máxima ($C_{m\acute{a}x}$) e a CIM ($C_{m\acute{a}x}/CIM$) e, a razão entre a área sob a curva de 24 horas (ASC_{0-24}) e a CIM (ASC_{0-24}/CIM), como o caso dos aminoglicosídeos e das fluoroquinolonas, respectivamente (ASÍN-PRIETO; RODRÍGUEZ-GASCÓN; ISLA, 2015; BARBOUR *et al.*, 2014). Estes índices são utilizados como o alvo da exposição necessária para a eficácia terapêutica de uma população específica, através das análises da probabilidade de alcance do alvo terapêutico (PTA), geralmente empregando simulações de Monte Carlo (CRISTINACCE *et al.*, 2021).

Os modelos farmacocinéticos populacionais (popPK) têm se tornado uma ferramenta cada vez mais utilizada durante o desenvolvimento de novos medicamentos, bem como para o monitoramento terapêutico e avaliação de

posologias já aprovadas (DE VELDE *et al.*, 2018). Estes modelos apresentam diversas vantagens frente aos modelos tradicionais, pois permitem a análise de dados esparsos, muito comum durante as fases 2 e 3 do desenvolvimento de medicamentos, bem como, em estudos com um número de pacientes reduzido (DE VELDE *et al.*, 2018). Além disso, possibilitam a incorporação de covariáveis no modelo, permitindo um melhor entendimento da variabilidade farmacocinética interindividual e a exploração, através de simulações, de cenários não investigados experimentalmente (DE VELDE *et al.*, 2018).

Diante do exposto, este trabalho visa investigar a ceftarolina como alternativa para o tratamento de infecções por MRSA no SNC utilizando dados de estudos clínicos e pré-clínicos, coletados por microdiálise, utilizando ferramentas de modelagem e simulação.

OBJETIVO

1. Objetivo Geral

Investigar a viabilidade do uso da ceftarolina para o tratamento de infecções cerebrais utilizando dados de modelo de infecção pré-clínico e dados de estudos clínicos, em voluntário e pacientes, e ferramentas de modelagem e simulação.

2. Objetivos Específicos

1. Desenvolver um modelo popPK para descrever a distribuição da ceftarolina no músculo e tecido subcutâneo livre de indivíduos saudáveis e no líquido cefalorraquidiano de pacientes neurocirúrgicos e utilizar o modelo para prever posologias eficazes para tratar infecções cerebrais por MRSA;
2. Validar metodologia bioanalítica para quantificar ceftarolina em plasma e microdialisado cerebral de ratos através de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrofotometria de massa (CLAE-MS/MS) a partir de métodos descritos na literatura;
3. Determinar as concentrações livres plasmáticas e cerebrais da ceftarolina em ratos Wistar sadios e infectados com MRSA por microdiálise plasmática e cerebral;
4. Desenvolver modelo popPK com resultados pré-clínicos para descrever a exposição plasmática e cerebral da ceftarolina em ratos Wistar machos hígidos e infectados com MRSA.

Os objetivos específicos desta tese foram organizados na forma de três capítulos que correspondem a artigos científicos e incluem uma breve revisão de cada

tema, materiais e métodos, resultados e discussão. Os artigos encontram-se na sequência do texto da seguinte maneira:

Capítulo 01: “Population Pharmacokinetic Modeling and Probability of Target Attainment of Ceftaroline in Brain and Soft Tissues”, que reúne resultados referentes ao objetivo específico 1. Esses resultados foram aceitos para publicação na revista *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* (DOI: 10.1128/aac.00741-22)

Capítulo 02: “Development and validation of an LC-MS/MS method to quantify ceftaroline in plasma and brain microdialysis samples: Application to a preclinical pharmacokinetic investigation”, que reúne resultados referentes ao objetivo específico 2.

Capítulo 03: “Free Plasma and Free Brain Concentrations of Ceftaroline in Healthy and MRSA Infected Wistar Rats Described by a Population Pharmacokinetic Model”, que reúne resultados referentes aos objetivos específicos 3 e 4.

REVISÃO DA LITERATURA

1. Infecções do Sistema Nervoso Central

Infecções do SNC, isto é, infecções envolvendo cérebro, coluna espinal, nervos ópticos e suas membranas protetoras, são emergências médicas associadas a altas taxas de morbidade e mortalidade (ARCHIBALD; QUISLING, 2013). Podem ocorrer em decorrência da disseminação do patógeno de seu sítio primário de infecção – sítios anatômicos adjacentes ou contíguos ao SNC, como mastoídes, seios paranasais ou ouvido médio; ou sítios mais remotos, como pulmão, coração, pele, trato gastrointestinal ou rins – pelo sangue com posterior semeadura no SNC (ARCHIBALD; QUISLING, 2013). Podem ocorrer também de maneira extrínseca, através da inoculação direta do patógeno durante procedimentos neurocirúrgicos ou traumas (ARCHIBALD; QUISLING, 2013). Malformações congênitas, como espinha bífida, e dispositivos médicos, como shunts cerebrais, também podem ser focos de colonização e servir como fontes de infecção (ARCHIBALD; QUISLING, 2013).

As infecções do SNC podem ser causadas por uma diversidade de microrganismos, incluindo vírus, bactérias, micobactérias, protozoários, helmintos e fungos (BROUWER, Matthijs C.; VAN DE BEEK, 2017). Dentre as infecções bacterianas, a maior parte dos pacientes apresenta meningite, abscesso cerebral, empiema subdural e ventriculite, que comumente envolvem o parênquima cerebral, resultando em encefalite (BROUWER; VAN DE BEEK, 2017-). A etiologia depende de fatores como idade, função imunológica, estado de imunização, fonte de infecção e localização geográfica (ALAMARAT; HASBUN, 2020).

1.1 Epidemiologia

A meningite é a infecção bacteriana mais frequente do SNC e representa uma emergência médica de alta morbidade e mortalidade (LE GUENNEC; BOURDOULOUS, 2020b). Caracteriza-se pela infecção das membranas que revestem o cérebro e a medula espinal (LE GUENNEC; BOURDOULOUS, 2020b). Segundo a Organização Mundial da Saúde (2019) está entre as dez

principais causas de morte relacionadas a infecção no mundo e em torno de 40% dos sobreviventes apresentam sequelas neurológicas (LE GUENNEC; BOURDOULOUS, 2020a).

A incidência de meningites bacterianas adquiridas na comunidade é estimada em torno de 0.9 – 2.6 casos por 100.000 habitantes por ano em países desenvolvidos, resultando em cerca de 4.000 casos nos EUA anualmente (BROUWER, M. C.; VAN DE BEEK, 2017). No Brasil, segundo boletim epidemiológico do Ministério da Saúde, foram confirmados 69.807 casos de meningite bacteriana no período de 2007 a 2016, resultando em cerca de 7.500 casos anualmente (MS/BRASIL - MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019). A incidência chega a ser mais alta em países africanos, oscilando entre 10 e 40 casos por 100.000 habitantes por ano (BROUWER, M.C.; VAN DE BEEK, 2018). A incidência durante o período neonatal é maior onde estima-se 0.3 casos a cada 1000 nascidos vivos em países desenvolvidos (LE GUENNEC; BOURDOULOUS, 2020b). A mortalidade nesta faixa etária é em torno de 10 a 15% com taxas de morbidade altas, em torno de 50% (LE GUENNEC; BOURDOULOUS, 2020b).

As bactérias mais associadas a meningites variam de acordo com faixa etária. Recém-nascidos geralmente apresentam infecções por Estreptococos do Grupo B, *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes* (ALAMARAT; HASBUN, 2020; ARCHIBALD; QUISLING, 2013). Após o período neonatal, embora considerável redução da incidência após a implementação de estratégias de vacinação, *Streptococcus pneumoniae* e *Neisseria meningitidis* permanecem os organismos mais comuns seguidos por Estreptococos do Grupo B e bacilos Gram-negativos (ALAMARAT; HASBUN, 2020). O perfil de patógenos permanece o mesmo até os 50 anos de idade, onde há um aumento na probabilidade de infecções por *S. pneumoniae*, *N. meningitidis*, *H. influenzae*, *Listeria* sp. e microrganismos aeróbicos Gram-negativos (ARCHIBALD; QUISLING, 2013). Apesar de raro, aproximadamente 2% dos casos de meningite adquirida na comunidade em adultos são em decorrência de *Staphylococcus aureus*, frequentemente associada a endocardite (FIGUEIREDO; BROUWER; VAN DE BEEK, 2018).

A etiologia das meningites nosocomiais é diferente daquela adquirida na comunidade sendo *S. aureus* o organismo mais comumente associado, seguido por estafilococos coagulase negativo, *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonas* sp. (FIGUEIREDO; BROUWER; VAN DE BEEK, 2018). Um histórico de neurocirurgia ou infecções em focos fora do sistema nervoso central estão presentes na grande maioria dos pacientes (BROUWER, Matthijs C.; TUNKEL; VAN DE BEEK, 2010). Meningites bacterianas após fratura de crânio ou após cirurgia otorrinolaringológica são associadas a microrganismos da flora da nasofaringe, como *S. pneumoniae* (BROUWER, Matthijs C.; TUNKEL; VAN DE BEEK, 2010). As estimativas de incidência variam dependendo da região, hospital e tipo de procedimento hospitalar realizado. Dispositivos como cateteres de derivação ventricular externa e derivação lombar externa apresentam uma incidência de meningite de aproximadamente 8% e 5%, respectivamente (VAN DE BEEK; DRAKE; TUNKEL, 2010). Em pacientes que sofreram trauma cranioencefálico moderado ou grave estima-se uma incidência de 1,4% e taxas maiores, de 2 a 11%, para casos com fraturas expostas (VAN DE BEEK; DRAKE; TUNKEL, 2010). Nos casos que apresentam fratura da base do crânio, que faz com que o espaço subaracnóideo seja conectado à cavidade sinusal, as taxas de infecção relatadas chegam a índices ainda maiores, em torno de 25% (VAN DE BEEK; DRAKE; TUNKEL, 2010).

A segunda infecção do SNC mais frequente são os abscessos cerebrais, uma infecção supurativa do parênquima cerebral geralmente envolvida por uma cápsula de tecido de granulação (LE GUENNEC; BOURDOULOUS, 2020a). Podem ocorrer em decorrência da migração do patógeno a partir do foco primário de infecção, sendo que em aproximadamente 70% dos casos os seios paranasais, ouvidos, pulmões e odontogênicos foram focos de infecção relacionadas com abscessos cerebrais (LE GUENNEC; BOURDOULOUS, 2020a). Estima-se que a incidência de abscessos cerebrais seja em torno de 0,3 – 0,9 a cada 100.000 habitantes em países desenvolvidos (WOLFF; SONNEVILLE; SHARSHAR, 2020). Dentre os patógenos associados, *S. pneumoniae* é o mais comum seguido por *S. aureus*, com incidência aproximadas de 34% e 18% dos casos, respectivamente (WOLFF;

SONNEVILLE; SHARSHAR, 2020). Infecções por *S. aureus* frequentemente estão associadas com traumas, endocardite ou procedimentos neurocirúrgicos (ARCHIBALD; QUISLING, 2013).

Raramente, infecções no espaço epidural também ocorrem, levando a formação de abscessos epidurais (ARCHIBALD; QUISLING, 2013). Este é um espaço virtual entre o crânio ou a coluna vertebral e a camada externa da dura-máter (LE GUENNEC; BOURDOULOUS, 2020b). Da mesma forma que outras infecções do SNC, podem ocorrer pela disseminação do patógeno a partir de focos distantes do SNC, após procedimentos neurocirúrgicos ou trauma, sendo este último encontrado em 15 – 35% dos casos (TAUZIEDE-ESPARIAT *et al.*, 2020).

Abscessos epidurais intracranianos são mais frequentes em pacientes jovens, com idade entre 7 e 20 anos, pois estes pacientes são mais propensos a apresentar ossos diploicos mais vascularizados, aumentando o fluxo bidirecional entre a mucosa dos seios frontais e a drenagem venosa (TAUZIEDE-ESPARIAT *et al.*, 2020). Estes abscessos são frequentemente poli microbianos e incluem cocos anaeróbicos, *Staphylococcus* spp. e *Streptococcus* spp. Abscessos epidurais espinais são mais comuns em pacientes entre 50 e 60 anos com predominância masculina (TAUZIEDE-ESPARIAT *et al.*, 2020). As bactérias predominantes nestes casos são *S. aureus* com 60 – 90% das infecções, seguida por Estreptococos, bactérias aeróbias Gram-negativas e anaeróbicas (TAUZIEDE-ESPARIAT *et al.*, 2020).

1.2 Tratamento

Altas taxas de morbidade e mortalidade estão associadas às infecções do SNC e, por isso, o início da terapia deve ser imediato. Dessa maneira, a terapia empírica é incentivada e deve ser escolhida com base no histórico do paciente e seus fatores de risco, resultados da cultura bacteriológica e padrões de resistência antimicrobiana locais (TAN; GILL; KIM, 2015). No geral, o recomendado é iniciar a terapia com uma cefalosporina de terceira geração,

como cefotaxima ou ceftriaxona, combinada com vancomicina (TAN; GILL; KIM, 2015).

A duração do tratamento depende do agente causador, grau de severidade do paciente e do antimicrobiano utilizado (TAN; GILL; KIM, 2015). Geralmente, varia de 5 – 14 dias para infecções por bactérias Gram-positivas, como *S. pneumoniae*, *H. influenzae* e *N. meningitidis*, e 14 – 21 dias contra bacilos Gram-negativos (TAN; GILL; KIM, 2015).

Uma vez identificado o patógeno causador da infecção, a terapia deve ser modificada de acordo com os resultados de suscetibilidade encontrados. Segundo a Sociedade de Doenças Infecciosas da América (IDSA, em inglês), para infecções do SNC causadas por MRSA o tratamento recomendado é vancomicina (LIU *et al.*, 2011).

Apesar de ser recomendada para o tratamento de infecções causadas por bactérias Gram-positivas resistentes, a penetração de vancomicina no SNC é muito variável, com razões de LCR/soro sanguíneo reportadas na literatura variando de 0.00 a 0.81 (BEACH *et al.*, 2017). Além disso, o aumento da dose é limitado pela toxicidade que esse fármaco apresenta. Concentrações plasmáticas de vale maiores de 15 µg/mL foram correlacionadas com nefrotoxicidade. Apesar disso, recomenda-se que a concentração de vale alvo deve estar ente 15 e 20 µg/mL (LIU *et al.*, 2011). Além da alta variabilidade farmacocinética e limitação no aumento de doses, Blassmann e colaboradores (2019), em uma análise farmacocinética populacional com dados de concentração plasmática e LCR obtidas de 21 pacientes com suspeita de infecção no SNC recebendo vancomicina pela via intravenosa, encontraram uma falta de correlação entre a área sob a curva (ASC) plasmática e ASC no LCR, evidenciando a dificuldade de realizar monitoramento terapêutico da vancomicina apenas baseado em concentrações plasmáticas quando o alvo é o SNC. Levando em consideração a alta variabilidade na penetração cerebral, a toxicidade e a falta de correlação entre as concentrações plasmáticas e cerebrais da vancomicina, torna-se evidente a necessidade de alternativas para o tratamento de infecções do SNC causadas por MRSA.

Beta-lactâmicos são a classe de antimicrobianos mais utilizada em pacientes críticos (GUILHAUMOU *et al.*, 2019). Geralmente são a classe de escolha devido ao amplo espectro de atividade e sua baixa toxicidade (NAU; SÖRGEL; EIFFERT, 2010). Na presença de patógenos com suscetibilidade moderada, a dose total diária pode ser aumentada sem efeitos adversos graves (; SÖRGEL; EIFFERT, 2010). Apesar de pertencer a classe das cefalosporinas, a ceftarolina apresenta atividade contra MRSA (DAS *et al.*, 2019). Como consequência, relatos pré-clínicos e clínicos na literatura indicam que vem sendo utilizada *off label* para o tratamento de meningites e infecções do SNC (MERMER *et al.*, 2020; PANI *et al.*, 2019).

Em um modelo experimental de meningite, Stucki e colaboradores (2013) relataram atividade bactericida superior da ceftarolina em comparação com a cefepima em coelhos infectados por *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*. O tratamento com ceftarolina (40 mg/kg i.v. q4h) resultou em uma redução de 5.6 log₁₀ UFC/mL em um período de 8 h em comparação com uma redução de 3.5 log₁₀ UFC/mL pelo mesmo período para cefepima (100 mg/kg i.v. q4h), apesar da menor suscetibilidade relatada do isolado de *K. pneumoniae* para ceftarolina. Os resultados foram semelhantes para o isolado de *E. coli* (STUCKI *et al.*, 2013). Em um modelo pré-clínico semelhante, com infecções causadas por *S. pneumoniae* sensível e resistente à penicilina, Cottagnoud e colaboradores (2013) encontraram atividade bactericida da ceftarolina (40 mg/kg i.v. q4h) superior à da ceftriaxona (100 mg/kg i.v. q4h) em um período de 8 h contra a cepa sensível a penicilina (6.35 log₁₀ UFC/mL e 5.54 log₁₀ UFC/mL, respectivamente). Interessantemente, a ceftarolina também demonstrou atividade superior contra a cepa resistente à penicilina pelo mesmo período de 8 h, tendo como comparativo o tratamento combinado de ceftriaxona e vancomicina (5.54 log₁₀ UFC/mL e 4.65 log₁₀ UFC/mL, respectivamente) (COTTAGNOUD *et al.*, 2013).

Com relação a meningites causadas por MRSA, Mermer e colegas (2020) avaliaram a eficácia do tratamento com ceftarolina (10 mg/kg i.v. q12h) em comparação com vancomicina (20 mg/kg i.v. q12h) em um modelo de meningite em coelhos. Os tratamentos obtiveram resultados similares, com atividades

bacteriológicas comparáveis: após 24 h de tratamento, o grupo que recebeu ceftarolina apresentou uma redução de 2.61 log₁₀ UFC/mL em comparação com 2.17 log₁₀ UFC/mL para vancomicina; e em 73 h apresentaram valores semelhantes, de 3.8 log₁₀ UFC/mL e 3.89 log₁₀ UFC/mL, respectivamente (MERMER *et al.*, 2020).

No âmbito clínico, existem relatos do uso *off label* da ceftarolina para o tratamento de infecções do SNC (PANI *et al.*, 2019). Bucheit e colaboradores (2014) relataram um caso de uma paciente de 48 anos com abscesso epidural positivo para MRSA que, ao ser admitida no hospital, recebeu tratamento empírico com aciclovir, ceftriaxona e vancomicina sob suspeita de meningite. Após confirmação do foco de infecção, monoterapia com vancomicina foi mantida. Com base nos resultados de suscetibilidade, que revelaram uma CIM de 2 mg/L para vancomicina, em conjunto com a falta de resposta clínica, no quarto dia após início da monoterapia a equipe clínica decidiu iniciar o tratamento com daptomicina. Sete dias após, ainda sem sucesso, terapia com ceftarolina fosamil foi iniciada (600 mg/kg i.v. q12h). Culturas sanguíneas retornaram negativas após um dia e a paciente apresentou melhora no quadro clínico (BUCHUIT; COLLINS; JOSHI, 2014). Um caso semelhante foi relatado por Balouch e colaboradores (2015), onde uma mulher de meia idade apresentou complicações após três meses de uma cirurgia espinal, sendo iniciado o tratamento com vancomicina. Após confirmação de meningite causada por MRSA, com CIM de 2 mg/L para vancomicina e 1 mg/L para daptomicina, tratamento com ceftarolina (600 mg i.v. q8h) e rifampicina (300 mg i.v. q12h) foi iniciado levando ao sucesso do tratamento (BALOUCH; BAJWA; HASSOUN, 2015).

A ceftarolina foi o tratamento escolhido em uma série de casos individuais de pacientes com meningite bacteriana relatados por Sakoulas e colaboradores (2015), que relataram preocupações quanto a nefrotoxicidade da vancomicina. Num total de cinco casos apresentados, um causado por MSSA e os outros por *S. pneumoniae*, sucesso clínico foi observado em 4 deles. Destes que obtiveram sucesso, a dose escolhida foi de 600 mg a cada 8 h, e o único caso que

necessitou de terapia alternativa recebeu um regime posológico de 600 mg a cada 12 h (SAKOULAS *et al.*, 2015).

Recentemente, Cies e colaboradores (2020) relataram um caso de infecção de uma derivação ventrículo-peritoneal por MRSA tratada com sucesso com ceftarolina. O paciente recebeu inicialmente vancomicina e ceftriaxona, sendo este último substituído por ceftarolina (600 mg i.v. q12h) no terceiro dia de terapia. Dentro de 24 h após a adição de ceftarolina, a cultura do LCR foi esterilizada levando a um sucesso terapêutico. Em outro caso, reportado por Roujansky e colaboradores (2020), um paciente idoso apresentava uma série de infecções relacionadas à ventriculostomia, sendo uma das infecções por *S. epidermidis* multirresistente. Inicialmente, o paciente foi tratado com daptomicina, mas a falta de resposta associada à baixa penetração observada no LCR levou a equipe médica a decidir por iniciar o tratamento com ceftarolina (600 mg i.v. q6h), que resultou em esterilização do LCR seis dias após o início do tratamento.

Todos estes relatos corroboram com a hipótese de que a ceftarolina pode ser utilizada como alternativa no tratamento de infecções do SNC causadas por bactérias multirresistentes, como MRSA. No entanto, ainda se faz necessária a investigação da viabilidade do seu uso em estudos controlados e randomizados para a confirmação destes achados.

2. Penetração de Antimicrobianos pela Barreira Hematoencefálica

A entrada de substâncias no SNC é determinada pela passagem através das barreiras hematoencefálica (BHE) e sangue-líquido cefalorraquidiano (BSLCR) (MANGAS-SANJUAN *et al.*, 2010). Apesar de apresentarem similaridades, essas duas estruturas apresentam diferenças na sua morfologia e funções primárias (DI PAOLO *et al.*, 2013). A BHE é formada por células endoteliais que revestem os vasos sanguíneos e sua principal função é proteger o SNC de flutuações nas concentrações de solutos na circulação sanguínea e de substâncias que possam interferir na neurotransmissão, ao mesmo tempo em que permite a troca de nutrientes e produtos metabólicos entre o sangue e o

cérebro (REDZIC, 2011). Por outro lado, a BSLCR é formada por células cuboidais, que constituem o plexo coroide, sendo a sua principal função a produção do LCR (REDZIC, 2011). Ambos os endotélios, cerebral e do plexo coroide, apresentam *tight junctions*, que exercem três funções biológicas principais: uma barreira paracelular contra a difusão de substâncias polares provenientes do sangue, uma barreira impedindo difusão lateral de lipídeos e proteínas integrais da membrana, mantendo a polarização celular, e uma plataforma de interação entre proteínas através da sinalização intracelular (LUISSINT *et al.*, 2012).

Além disso, as células presentes na BHE apresentam baixa capacidade de transporte vesicular e que, na presença de uma camada de células astrocíticas, conferem uma restrição aumentada para a penetração de substâncias exógenas ao SNC (REDZIC, 2011). Por isso, a BHE é a principal barreira responsável pela dificuldade de penetração de fármacos no SNC (MANGAS-SANJUAN *et al.*, 2010).

Com a restrição da difusão paracelular causada pelas *tight junctions*, moléculas hidrofílicas não são capazes de livremente penetrar o espaço extracelular cerebral e o LCR através de difusão simples, sendo necessário seu transporte através de rotas transcelulares (REDZIC, 2011). Por outro lado, moléculas apolares e lipossolúveis podem facilmente difundir através da bicamada lipídica (REDZIC, 2011). Como consequência, mecanismos de transporte de influxo para solutos necessários para o funcionamento cerebral normal e de efluxo, para a retirada de moléculas lipofílicas que podem ter um impacto prejudicial na função cerebral, estão presentes na BHE (REDZIC, 2011).

Levando todos estes fatores em consideração, a penetração e manutenção das concentrações de fármacos no SNC dependem de diversos aspectos, sejam eles relacionados aos parâmetros físico-químicos ou às características farmacocinéticas dos fármacos. Talvez uma propriedade mais intuitiva que podemos pensar seja o tamanho molecular. A melhor aproximação da influência do tamanho molecular sobre a penetração na BHE é através da correlação inversa com o quadrado do peso molecular, confirmando que quanto

maior a molécula provavelmente menor será sua penetração no SNC (NAU; SÖRGEL; EIFFERT, 2010). No entanto, este não é o principal parâmetro físico-químico associado à penetração e, portanto, não há uma correlação simples definida apenas pelo tamanho da substância em questão e a sua permeabilidade esperada.

Considerando que a passagem pela BHE geralmente ocorre através do mecanismo transcelular, moléculas que apresentam características lipofílicas apresentam um potencial maior de penetração por essa via, uma vez que a passagem pelas membranas citoplasmáticas das células epiteliais é favorecida pelo aumento na lipossolubilidade (NAU; SÖRGEL; EIFFERT, 2010). No entanto, moléculas muito lipofílicas podem acabar sofrendo um sequestro pelos capilares sanguíneos ou até mesmo não serem capazes de exercer seu efeito no fluido extracelular do SNC, que tem como principal constituinte a água (BANKS, 2009). Além disso, solubilidade lipídica também favorece a distribuição para os tecidos periféricos, e como consequência, diminuem as concentrações plasmáticas e a quantidade de fármaco disponível nos capilares sanguíneos da BHE capazes de serem transportadas para dentro do SNC (BANKS, 2009).

Outro componente importante no transporte através da BHE é a influência dos transportadores. Moléculas lipofílicas e de baixo peso molecular tendem a ser substratos da glicoproteína-P (P-gp) e, portanto, há um balanço importante entre o tamanho molecular e a lipofilia como determinantes na penetração através da BHE (BANKS, 2009). Por fim, uma característica físico-química importante de ser mencionada é a capacidade de ionização em dependência do pH. Moléculas ionizáveis, na sua forma não ionizada, penetram prontamente pelas membranas; em contrapartida, na sua forma ionizada e com carga, apresentam características mais polares, dificultando sua passagem através das mesmas (NAU; SÖRGEL; EIFFERT, 2010). Esse fenômeno é observado no tecido cerebral pela diferença de pH entre o sangue (pH 7.4) e o LCR (pH 7.3) que, na presença de inflamação, pode chegar a ser ainda maior, com valores abaixo de pH 7.0 no LCR (NAU; SÖRGEL; EIFFERT, 2010). Para ácidos fracos, como penicilinas, a fração não ionizada do fármaco é maior no LCR do que no

plasma, dificultando a manutenção das concentrações no tecido cerebral, principalmente na presença de inflamação (NAU; SÖRGEL; EIFFERT, 2010).

Para penetrar no SNC é necessário que a substância esteja disponível nos capilares sanguíneos cerebrais para o transporte através da BHE. As propriedades farmacocinéticas estão diretamente correlacionadas com a disposição plasmática dos fármacos. Características como alto volume de distribuição e baixa meia-vida plasmática resultam em menores concentrações plasmáticas e, conseqüentemente, menor oferta de moléculas na BHE (BANKS, 2016). Da mesma forma, a ligação às proteínas plasmáticas influencia consideravelmente na disponibilidade do fármaco livre para cruzar as barreiras fisiológicas (BANKS, 2016). Fármacos com maior fração ligada às proteínas plasmáticas tendem a ter menor distribuição para os tecidos, incluindo o SNC.

Por fim, uma vez que o fármaco atravessa a BHE, a manutenção das concentrações no SNC também é necessária para conseqüente efeito central. A BHE e o tecido cerebral expressam enzimas de metabolismo de Fase I, como as enzimas do citocromo P450, incluindo CYP3A4, CYP2D6 e CYP2C9; e de Fase II, como UDP-glucuroniltransferases (UDPs), glutationa S-transferases (GSTs), sulfotransferases (SULTs) e N-acetiltransferases (NATs) (AGÚNDEZ *et al.*, 2014). Fármacos substratos destas enzimas podem sofrer metabolismo e, como conseqüência, terem suas concentrações cerebrais reduzidas. Além disso, os transportadores de efluxo presentes na BHE e na BSLCR, que expressam diversos transportadores, como P-gp e proteínas transportadoras de ânions orgânicos (OATs) (SUN *et al.*, 2003), contribuem para reduzir as concentrações de fármacos no SNC. Relatos na literatura demonstram que diversas penicilinas e cefalosporinas são substratos de OAT3, inclusive tornando alguns desses antimicrobianos inviáveis para o uso em infecções do SNC, como é o caso da cefalotina (NAU; SÖRGEL; EIFFERT, 2010).

2.1 Penetração de Antimicrobianos pela BHE na Inflamação

A resposta imune é um mecanismo de defesa necessário para a proteção do organismo contra patógenos invasores. No entanto, muitas vezes essa

resposta imune pode ser deletéria para o próprio organismo. Este fenômeno não é diferente para o SNC. A multiplicação de bactérias no espaço subaracnóideo inicia uma resposta imune complexa, onde muitas células cerebrais, como astrócitos, células gliares, endoteliais e ependimárias, e macrófagos produzem citocinas e outras moléculas pró-inflamatórias (SELLNER; TÄUBER; LEIB, 2010). Essa resposta inflamatória inicia uma cascata de mediadores inflamatórios e, como consequência, a BHE e a BSLCR tornam-se mais permeáveis, com a abertura das *tight junctions* (NAU; SÖRGEL; EIFFERT, 2010). A inflamação também aumenta a resistência ao fluxo de saída do LCR, levando à redução moderada das taxas de produção e absorção do LCR em conjunto com uma possível menor atividade da P-gp, muitas vezes inibida por citocinas pró-inflamatórias (NAU; SÖRGEL; EIFFERT, 2010). Em conjunto, todos estes fatores podem ser benéficos para a penetração de antimicrobianos no SNC, através do aumento da penetração pelas barreiras cerebrais e diminuição da retirada do SNC pela diminuição do fluxo do LCR e da atividade das bombas de efluxo (NAU; SÖRGEL; EIFFERT, 2010).

Esse aumento na permeabilidade do SNC na presença de inflamação foi observado para antimicrobianos de diversas classes (DI PAOLO *et al.*, 2013; NAU *et al.*, 2018; NAU; SÖRGEL; EIFFERT, 2010). Com relação aos β -lactâmicos, mais especificamente, cefalosporinas, a penetração observada no LCR pode ser até 20 vezes maior na situação de meninge inflamada em comparação com a meninge não inflamada (DI PAOLO *et al.*, 2013). Em um estudo conduzido por Fong e Tomkins (1984), foi comparada a penetração da ceftazidima no LCR de pacientes com meningites não inflamadas e pacientes com presença de inflamação. A concentração média encontrada no LCR de pacientes sem inflamação foi de 0.8 mg/L, muito menor daquela encontrada nos pacientes com inflamação para a mesma dose administrada, com média de 22.6 mg/L, indicando que há uma maior penetração deste antimicrobiano no SNC em meningites inflamadas.

Com relação a ceftarolina, em um estudo pré-clínico de Stucki e colaboradores (2013), a penetração observada no LCR de coelhos hígidos foi de aproximadamente 3%, enquanto aquela observada na presença de meningite foi

de aproximadamente 15%. Resultados similares foram encontrados por Cottagnoud e colaboradores (2013) também em um modelo de meningite em coelhos, onde a penetração encontrada de ceftarolina no LCR foi de 14%. Mermer e colaboradores (2020) encontraram valores ainda maiores de penetração em coelhos infectados com MRSA, com uma média de 51%.

Resultados de concentração de ceftarolina no LCR de pacientes também já foram relatados na literatura. Stein e colaboradores (2015) relataram as concentrações alcançadas no LCR de pacientes com um dreno ventricular externo recebendo ceftarolina como profilaxia. Neste caso, em uma situação de meninge não inflamada, a penetração de ceftarolina no SNC encontrada foi de até aproximadamente 1.1% (razão entre a ASC_{LCR}/ASC_{soro}) (STEIN *et al.*, 2015). Em um relato de caso por Kuriakose e colaboradores (2015) um paciente com meningite causada por MRSA que recebeu ceftarolina na dose de 600 mg a cada 8 h pela via intravenosa apresentou penetração central de 4.1% (concentração no LCR/concentração plasma após 1.5 h o término da infusão no *steady state*).

A presença de um marcador de inflamação no SNC foi significativamente correlacionada com a penetração no SNC em um modelo popPK desenvolvido por Chauzy e colaboradores (2019). Pacientes neurocirúrgicos, sem infecção, receberam uma dose de ceftarolina e tiveram amostras de plasma e LCR coletadas após o término da infusão. Os dados foram analisados por uma abordagem popPK, e os autores encontraram uma correlação inversa entre a concentração de glicose no LCR e o a constante de velocidade de entrada da ceftarolina do plasma para o compartimento representativo do SNC no modelo. Extrapolando os resultados para situação de meninge inflamada (baixas concentrações de glicose no SNC) a penetração seria muito maior, com aumento dos níveis observados de aproximadamente 9.4% para até 81% (CHAUZY *et al.*, 2019). Estes resultados sugerem que o aumento da penetração da ceftarolina no SNC em decorrência da inflamação parece ocorrer também em humanos, e o uso deste antimicrobiano para o tratamento de infecções do SNC parece ser plausível.

2.2 Microdiálise como ferramenta para medir concentrações livres de antimicrobianos no SNC

A fração farmacologicamente ativa dos fármacos é a fração livre, não ligada a proteínas ou outras estruturas teciduais. Para os antimicrobianos, a fração livre intersticial é a fração responsável pelo efeito, uma vez que, na maioria das vezes, o patógeno infectante localiza-se no meio extracelular (GONZALEZ; SCHMIDT; DERENDORF, 2013). Uma técnica capaz de medir essa fração extracelular livre no local de ação – biofase é a microdiálise (GONZALEZ; SCHMIDT; DERENDORF, 2013). A microdiálise consiste na inserção de uma sonda com uma extremidade semipermeável no tecido de interesse (HAMMARLUND-UDENAES, 2017). Essa sonda é constantemente perfundida por um líquido isosmolar ao tecido e, através de difusão passiva, as moléculas de interesse são coletadas pelo sistema. Uma vez que a membrana da sonda possui um *cut off* específico, apenas moléculas pequenas, não ligadas às proteínas, são capazes de ultrapassá-la, permitindo assim a determinação das concentrações livres intersticiais (HAMMARLUND-UDENAES, 2017).

Em termos do SNC, a técnica mais utilizada para acessar as concentrações cerebrais é a coleta de amostras de LCR. Apesar de ser relativamente simples, essa técnica apresenta limitações: é um local de difícil acesso e coletas frequentes só são possíveis em casos de pacientes que possuem um dreno ventricular externo implantado; e a frequência e o volume de coleta podem ter um impacto na dinâmica do fluido cerebral, podendo influenciar nas concentrações cerebrais (SHANNON *et al.*, 2013). Além disso, diferenças de concentrações podem ser encontradas entre o LCR e o fluido intersticial cerebral. Em um estudo que comparou as concentrações cerebrais de duas cefalosporinas determinadas no líquido intersticial por microdiálise e no LCR de ratos no *steady state*, Granero e colaboradores (1995) observaram que para a ceftriaxona as concentrações no fluido intersticial na região do corpo estriado e no LCR foram similares, no entanto, para a ceftazidima, as concentrações encontradas na mesma região cerebral foram significativamente menores do que as encontradas no LCR dos animais. As diferenças de concentração encontradas podem ser explicadas pelas diferenças fisiológicas entre a BHE e a

BSLCR, que podem levar a diferentes exposições aos fármacos. Por isso, as concentrações do LCR, muitas vezes, podem não refletir as concentrações cerebrais livres.

Diante do exposto, a microdiálise cerebral torna-se uma ferramenta poderosa e favorável para a análise farmacocinética e farmacodinâmica de antimicrobianos. Ela permite a coleta da fração livre em função do tempo, permitindo a caracterização do perfil de concentração completo pelo período do estudo, bem como, permite determinar as concentrações livres cerebrais, responsáveis pelo efeito antimicrobiano.

Existem poucos relatos na literatura de estudos com microdiálise cerebral de antimicrobianos (NOTKINA; DAHYOT-FIZELIER; GUPTA, 2012). Mindermann e colaboradores (1993) analisaram a penetração da rifampicina no espaço extracelular cerebral de ratos hígidos após dose de 100 mg/kg i.p. Os autores encontraram uma baixa penetração cerebral, com valores entre 0,3 e 1% com relação às concentrações séricas. Destache e colaboradores (1996) avaliaram a penetração de uma fluoroquinolona (A-80556) no espaço subaracnóideo (local onde encontra-se o LCR) de coelhos infectados por *S. pneumoniae* através de microdiálise. Após dose de 10 mg/kg i.v. em infusão de 10 min, amostras de plasma e microdialisado foram coletadas por um período de 6 h. A penetração no LCR encontrada nos animais infectados foi de 18,2%, no entanto, os pesquisadores não investigaram a penetração em animais hígidos, perdendo o poder de comparação com relação ao efeito da infecção na penetração no SNC. Em um outro estudo do mesmo grupo de pesquisa (DESTACHE *et al.*, 2001), utilizando mesmo desenho experimental, com implante da sonda no espaço subaracnóideo de coelhos infectados por *S. pneumoniae*, a penetração do levofloxacino foi investigada com três diferentes doses. Na dose de 7 mg/kg a penetração encontrada foi de 53%, para a dose de 10,5 mg/kg a penetração foi de 76% e para a maior dose, de 14 mg/kg, a penetração foi de 68%, demonstrando uma penetração favorável no LCR.

Marchand *et.al.* (2003) investigaram a penetração cerebral do norfloxacino no hipocampo de ratos hígidos. Os animais foram divididos em cinco

grupos, que receberam as seguintes doses: 12,5, 25, 50, 100 ou 150 mg/kg. Os autores encontraram que a penetração cerebral dessa fluoroquinolona determinada através da ASC cerebral/ASC plasmática é baixa e independente da dose ($8,2 \pm 5,8\%$). Em outro estudo os autores também investigaram a influência da probenecida, um inibidor de transportador aniônico, sobre a penetração cerebral do norfloxacino (MARCHAND *et al.*, 2006). A sonda de microdiálise foi implantada na região do hipocampo e os animais receberam uma dose de ataque de probenecida (20 mg/kg i.v. *bolus*) seguido de uma infusão contínua (20 mg/kg no fluxo de 0.5 mL/min). Após um período de *washout*, os animais receberam uma dose de 50 mg/kg i.v. *bolus* norfloxacino e amostras de plasma e microdialisado foram coletadas. A presença do inibidor não afetou a penetração cerebral do norfloxacino, que foi de aproximadamente 5% (MARCHAND *et al.*, 2006).

No nosso grupo de pesquisa, Alves e colaboradores (2017) investigaram o efeito de uma meningite criptocócica sobre a penetração cerebral do voriconazol em ratos, através da técnica de microdiálise. A meningite levou ao aumento da penetração cerebral do fármaco, com valores de razão entre a ASC cerebral/ASC plasmática $0,85 \pm 0,22$ no grupo hígido e $1,86 \pm 1,05$ no grupo infectado (ALVES *et al.*, 2017). Esse achado corrobora com a hipótese de que a presença de inflamação no tecido cerebral pode levar ao aumento da penetração de antimicrobianos no SNC.

Com relação à ceftarolina, não existem relatos de microdiálise em estudos pré-clínicos. No entanto, existem relatos de estudos clínicos. Matzneller e colaboradores (2016) investigaram a farmacocinética da ceftarolina no plasma e tecidos muscular e subcutâneo de indivíduos saudáveis após dose de 600 mg infusão i.v. de 2 horas q8h ou após dose de 600 mg infusão i.v. de 1 hora q12h. As razões entre ASC tecidual e ASC plasmática livre variou entre 0,66 e 0,75, onde o regime de doses de três vezes ao dia alcançou exposição maior nos tecidos investigados. A penetração de ceftarolina no tecido pulmonar foi investigada por Edlinger-Stanger e colaboradores (2021) em pacientes submetidos à cirurgia cardíaca. Dois regimes de dosagem foram investigados, 600 mg infusão i.v. de 2 horas q8h e uma dose de ataque de 600 mg em infusão

i.v. de 2 h seguida de uma infusão contínua de 1200 mg por 22 h. Amostras de plasma e microdialisado foram coletadas durante 24 h após a primeira dose. O grupo que recebeu infusão contínua apresentou uma razão entre ASC tecidual e ASC plasmática livre de 2.3 (1.1 – 3.2) e o outro grupo apresentou uma razão de 0.9 (0.4 – 1.3), demonstrando boa penetração da ceftarolina no tecido pulmonar. No entanto, nenhum destes estudos investigou a influência de infecção sobre a penetração tecidual da ceftarolina.

3. Modelagem e Simulação

Os métodos tradicionais de análise de dados farmacocinéticos de concentração por tempo incluem a análise não-compartimental (NCA) e o método *standard two-stage* (STS) (DE VELDE *et al.*, 2018). O primeiro é talvez o método mais simples para obtenção dos parâmetros farmacocinéticos individuais e não aplica nenhum modelo matemático aos dados (DE VELDE *et al.*, 2018). O segundo é um método que aplica um modelo compartimental para cada indivíduo e, através do algoritmo dos mínimos quadrados, minimiza a diferença entre os dados observados e o previsto pelo modelo (VINKS, 2014). Ambos os métodos, no entanto, requerem uma amostragem abundante de dados de cada indivíduo para serem capazes de determinar com confiabilidade os parâmetros farmacocinéticos. Além disso, são métodos que não assumem nenhuma fonte de variabilidade proveniente dos indivíduos, apenas variabilidade residual, muitas vezes associadas a erros laboratoriais. Com isso, os parâmetros estimados são expressos como média e desvio padrão, sendo que as estimativas de variabilidade nestes parâmetros não são bem caracterizadas, pois não são exploradas e inseridas correlações entre a variabilidade e os parâmetros demográficos da população (VINKS, 2014).

Modelos farmacocinéticos populacionais, por outro lado, analisam os dados de concentração por tempo dos indivíduos da população como um todo e são capazes de descrever a variabilidade intra- e interindividual (DE VELDE *et al.*, 2018). A variabilidade observada pode ser explicada pela inserção de covariáveis, sejam elas contínuas, como peso corporal, função renal, idade; ou

categóricas, como polimorfismo genético e até mesmo o estado de saúde (infectado ou sadio) dos indivíduos (DE VELDE *et al.*, 2018).

Uma vez estimados os parâmetros populacionais e suas variabilidades, o uso das simulações de Monte Carlo permitem construir uma amostra maior de pacientes levando em consideração a variabilidade atribuída aos parâmetros farmacocinéticos com o intuito de prever a probabilidade de alcance do alvo terapêutico (PTA) de um determinado tratamento (ASÍN-PRIETO; RODRÍGUEZ-GASCÓN; ISLA, 2015). A PTA corresponde ao percentual de pacientes simulados que alcança um determinado alvo terapêutico. Geralmente o valor determinado para garantia o sucesso terapêutico é maior ou igual a 90% (ASÍN-PRIETO; RODRÍGUEZ-GASCÓN; ISLA, 2015). Através das análises de PTA, a eficácia da posologia dos antimicrobianos pode ser avaliada, sugerindo otimizações e recomendações de doses específicas em subpopulações de pacientes, como idosos, obesos e pacientes com alterações decorrentes dos seus estados de saúde (CRISTINACCE *et al.*, 2021).

No caso dos antimicrobianos, o alvo terapêutico comumente utilizado são os índices PK/PD. Três índices PK/PD são geralmente empregados para descrever a relação entre a farmacocinética e o efeito antibacteriano, dependendo do padrão de atividade do antimicrobiano: (1) a razão entre a concentração máxima e a concentração inibitória mínima ($C_{m\acute{a}x}/CIM$) ou (2) a razão entre a área sob a curva e a CIM (ASC/CIM), ambos para antimicrobianos chamados de concentração dependente, onde o efeito persiste mesmo quando as concentrações se encontram abaixo da CIM. Exemplos dessa classe são aminoglicosídeos, fluoroquinolonas, vancomicina; e, (3) a fração do intervalo entre as doses em que a concentração livre permanece acima da CIM ($\%fT > CIM$), este padrão é encontrado nos antimicrobianos da classe dos β -lactâmicos (ASÍN-PRIETO; RODRÍGUEZ-GASCÓN; ISLA, 2015).

Para determinar qual o índice PK/PD melhor descreve a atividade do antimicrobianos, estudos *in vitro* e/ou *in vivo* são utilizados. Andes e Craig (2006) determinaram o índice da ceftarolina frente a diferentes cepas bacterianas (*S. pneumoniae*, *S. aureus*, *E. coli* e *K. pneumoniae*) em modelo de infecção

pulmonar e de coxa em camundongos. Como esperado para uma cefalosporina, o índice que melhor se correlacionou com a eficácia foi o $\%fT > CIM$, com valores necessários para efeito estático no crescimento bacteriano de $28 \pm 9\%$, $39 \pm 9\%$ e $26 \pm 8\%$ para os isolados Gram-negativos, *S. pneumoniae* e *S. aureus*, respectivamente (ANDES; CRAIG, 2006). Em um modelo de infecção *in vitro* em *hollow-fiber*, Singh e colaboradores (2017) determinaram o índice PK/PD da ceftarolina frente a isolados de MRSA com altas CIMs (valores variando de 2 a 32 mg/L). Os autores encontraram valores de $29 \pm 6\%$, $32 \pm 6\%$ e $35 \pm 6\%$ para efeito estático, 1-log_{10} e 2-log_{10} de redução na contagem de unidades formadoras de colônia (UFC), alcançando valores semelhantes aos determinados por Andes e Craig, demonstrando boa atividade contra isolados de bactérias mais resistentes (SINGH *et al.*, 2017).

Diante do exposto, modelos popPK são uma ferramenta poderosa, principalmente levando em consideração infecções de alta relevância clínica, como infecções do SNC causadas por bactérias resistentes. Até o momento, nenhum relato na literatura utilizou microdiálise para determinar as concentrações livres cerebrais da ceftarolina em modelo de infecção experimental. Do mesmo modo, não existem modelos popPK reportados na literatura que comparem a exposição cerebral do fármaco na ausência e presença de uma infecção. Nos estudos reportados em humanos, não há um modelo popPK que relacione a penetração do fármaco em tecidos periféricos e no SNC, nem que tenha investigado a PTA das concentrações livres nesses tecidos. O presente trabalho visa contribuir para preencher essas lacunas, investigando a viabilidade do uso da ceftarolina para o tratamento de infecções cerebrais.

CAPÍTULO 1

Population Pharmacokinetic Modeling and Probability of Target Attainment of Ceftaroline in Brain and Soft Tissues

Victória Etges Helfer^a, Alexandre Prehn Zavascki^{b,c}, Markus Zeitlinger^d, Bibiana Verlindo de Araújo^a, Teresa Dalla Costa^{a,#}

^aPharmaceutical Sciences Graduate Program, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

^bInfectious Diseases Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil

^cDepartment of Internal Medicine, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

^dMedical University of Vienna, Department of Clinical Pharmacology, Vienna, Austria

Running Head: PopPK of Ceftaroline in Brain and Soft Tissues

O capítulo 1, que no texto integral da tese defendida ocupa o intervalo de páginas compreendido entre as páginas 55 – 94, foi suprimido por tratar-se de manuscrito publicado na revista *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* (DOI: 10.1128/aac.00741-22). O resumo do Capítulo é apresentado a seguir.

Abstract

Ceftaroline, approved to treat skin infections and pneumonia due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), has been considered for the treatment of central nervous system (CNS) infections. A population pharmacokinetic (popPK) model was developed to describe ceftaroline soft tissue and cerebrospinal fluid (CSF) distributions and investigate the probability of target attainment (PTA) of the percentage of the free drug concentration above the MIC ($\%fT_{>MIC}$) to treat MRSA infections. Healthy subjects' plasma and microdialysate concentrations from muscle and subcutaneous tissue following 600 mg every 12 h (q12h) and q8h and neurosurgical patients' plasma and CSF concentrations following single 600-mg dosing were used. Plasma concentrations were described by a two-compartment model, and tissue concentrations were incorporated as three independent compartments linked to the central compartment by bidirectional transport (clearance in $[CL_{in}]$ and CL_{out}). Apparent volumes were fixed to physiological interstitial values. Healthy status and body weight were identified as covariates for the volume of the central compartment, and creatinine clearance was identified for clearance. The CSF glucose concentration (GLUC) was inversely correlated with $CL_{in,CSF}$. Simulations showed a PTA of >90% in plasma and soft tissues for both regimens assuming an MIC of 1 mg/L and a $\%fT_{>MIC}$ of 28.8%. Using the same target, patients with inflamed meninges ($0.5 < GLUC \leq 2$ mmol/L) would reach PTAs of 99.8% and 97.2% for 600 mg q8h and q12h, respectively. For brain infection with mild inflammation ($2 < GLUC \leq 3.5$ mmol/L), the PTAs would be reduced to 34.3% and 9.1%, respectively. Ceftaroline's penetration enhanced by meningeal inflammation suggests that the drug could be a candidate to treat MRSA CNS infections.

CAPÍTULO 2

**Development and validation of an LC-MS/MS method to quantify
ceftaroline in plasma and brain microdialysate samples: Application to a
preclinical pharmacokinetic investigation**

Victória Etges Helfer^a, Bruna Bernar Dias^a, Graziela de Araújo Lock^a, Caroline Andrade Tomaszewski^b, Lucas Suchecki Barnett^b, Fabiano Barreto^b, Alexandre Prehn Zavascki^{c,d}, Bibiana Verlindo de Araújo^a, Teresa Dalla Costa^a

^aPharmacokinetics and PK/PD Modeling Laboratory, Pharmaceutical Sciences Graduate Program, Faculty of Pharmacy, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil

^bFederal Laboratory of Animal and Plant Health and Inspection – LFDA/RS, Porto Alegre, RS, Brazil

^cInfectious Diseases Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil

^dDepartment of Internal Medicine, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

O capítulo 2, que no texto integral da tese defendida ocupa o intervalo de páginas compreendido entre as páginas 97 – 119, foi suprimido por tratar-se de manuscrito a ser submetido para publicação em um periódico científico. O resumo do Capítulo é apresentado a seguir.

Abstract

A bioanalytical LC–MS/MS method was developed and validated to determine ceftaroline in plasma and brain microdialysate samples. Ceftaroline was separated using a C18 column and a mobile phase consisting of water and acetonitrile, both with 5 mM of ammonium formate and acid formic 0.1%, eluted as gradient. Ceftaroline was monitored using electrospray ionization operating on positive mode (ESI+) monitoring the transition 604.89 > 209.3 m/z. The method showed linearity in the concentration range of 0.5 – 500 ng/mL for brain microdialysate and 0.5 – 2500 ng/mL for plasma microdialysate with coefficients of determination ≥ 0.997 . The inter- and intra-day precision, the accuracy, and the stability of the drug in different conditions were in accordance with the acceptable limits determined by international guidelines. Plasma pharmacokinetics and brain distribution of the drug were carried out after intravenous administration of 20 mg/kg of ceftaroline to male Wistar rats. The estimated geometric mean (geometric coefficient of variation) area under the curve ($AUC_{0-\infty}$) was 4.68 (45.8%) mg.h/L and 1.20 (54.2%) mg.h/L for plasma and brain, respectively, resulting in a brain exposure of about 33% ($AUC_{\text{free brain}}/AUC_{\text{free plasma}}$). The results indicate that ceftaroline presents good penetration in the brain when considering free plasma and free brain concentrations.

Keywords: Ceftaroline, microdialysis, LC-MS/MS, unbound concentrations, analytical method validation.

CAPÍTULO 3

Population Pharmacokinetic Modeling of Free Plasma and Free Brain Concentrations of Ceftaroline in Healthy and MRSA Infected Wistar Rats

Victória Etges Helfer^a, Bruna Bernar Dias^a, Graziela de Araújo Lock^a, Caroline Andrade Tomaszewski^b, Lucas Suchecki Barnett^b, Fabiano Barreto^b, Alexandre Prehn Zavascki^{c,d}, Bibiana Verlindo de Araújo^a, Teresa Dalla Costa^a

Affiliations

^aPharmacokinetics and PK/PD Modeling Laboratory, Pharmaceutical Sciences Graduate Program, Faculty of Pharmacy, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil

^bFederal Laboratory of Animal and Plant Health and Inspection – LFDA/RS, Porto Alegre, RS, Brazil

^cInfectious Diseases Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil

^dDepartment of Internal Medicine, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

O capítulo 3, que no texto integral da tese defendida ocupa o intervalo de páginas compreendido entre as páginas 123 – 151, foi suprimido por tratar-se de manuscrito a ser submetido para publicação em um periódico científico. O resumo do Capítulo é apresentado a seguir.

Abstract

This study investigated the unbound plasma and brain disposition of ceftaroline in healthy and methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)-infected rats and developed a population pharmacokinetic model to describe alterations caused by brain infection on this antimicrobial pharmacokinetics. Blood and brain microdialysate samples were obtained from three groups of animals (healthy, 3 and 5 days after meningitis induction) after a single intravenous *bolus* dose of 20 mg/kg of ceftaroline fosamil. Plasma data was modeled as a one-compartment and brain data was added to the model as a second compartment, with a bidirectional drug transport between plasma and brain (Q_{in} and Q_{out}). The cardiac output (CO) of the animals showed significant correlation with the relative recovery (RR) of the plasma microdialysis probe, where animals with higher CO presented a lower RR. The Q_{in} was approximately 62% higher in infected animals, leading to a higher brain exposure to ceftaroline in animals with meningitis. Our results indicate that ceftaroline brain penetration was influenced by MRSA infection, resulting in mean penetration of about 30% (Q_{in}/Q_{out}) in infected animals in comparison to 20% in healthy ones.

DICUSSÃO GERAL

A proposta deste trabalho foi investigar a viabilidade do uso da ceftarolina para o tratamento de infecções cerebrais através do desenvolvimento de modelos farmacocinéticos populacionais capazes de descrever a disposição plasmática e tecidual da ceftarolina visando aprimorar o conhecimento acerca da influência que infecções podem ter sobre a exposição tecidual ao fármaco. Para tal, dados obtidos na literatura de concentração plasmática e de microdiálise em tecido muscular e subcutâneo de voluntários sadios e concentrações plasmáticas e no líquido cefalorraquidiano de pacientes foram modelados utilizando a abordagem de modelagem farmacocinética populacional. A penetração do fármaco no tecido cerebral de ratos Wistar machos também foi investigada em um modelo de meningite por *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina e concentrações plasmáticas e cerebrais livres foram determinadas por microdiálise. Os dados foram utilizados para desenvolver um segundo modelo popPK, descrevendo a relação entre concentrações da ceftarolina livres no plasma e no interstício cerebral tanto na condição hígido quanto na presença da infecção cerebral.

Infecções bacterianas do SNC apresentam-se como emergências médicas que requerem diagnóstico rápido e tratamento imediato (BROUWER & VAN DE BEEK, 2017). A meningite bacteriana apresenta altas taxas de morbidade e mortalidade, podendo ser fatal em 50% dos casos se não tratada (OORDT-SPEETS *et al.*, 2018). Outras infecções cerebrais, como ventriculites e abscessos, decorrentes de infecções associadas a dispositivos como cateteres de derivação ventricular externa e derivação lombar externa ou a procedimentos neurocirúrgicos, apresentam-se com incidência variável dependendo da região, hospital e tipo de procedimento hospitalar realizado, sendo que abscessos cerebrais apresentam uma estimativa aproximada de 0,3 – 0,9 a cada 100.000 habitantes em países desenvolvidos (VAN DE BEEK; DRAKE; TUNKEL, 2010; WOLFF; SONNEVILLE; SHARSHAR, 2020). Um dos principais desafios na prática clínica é o tratamento dessas infecções, devido a permeabilidade limitada das barreiras fisiológicas do SNC e a toxicidade dos antimicrobianos atualmente disponíveis.

O tratamento empírico baseia-se no uso de fármacos que apresentam boa penetração no SNC, geralmente cefalosporinas de terceira geração (SIGFRID *et al.*, 2019). No entanto, com o surgimento e aumento da incidência de infecções associadas a microrganismos resistentes, como MRSA, o uso destes antimicrobianos torna-se inviável. Uma alternativa para o tratamento de infecções nosocomiais, comumente associadas a MRSA, é a vancomicina. Contudo, estudos demonstraram alta variabilidade na penetração da vancomicina no LCR, com razões LCR/soro variando de 0 a 0.81 (BEACH *et al.*, 2017), indicando uma possível variabilidade no desfecho clínico. Diante disso, torna-se evidente a necessidade da investigação de novas alternativas para o tratamento de tais infecções.

A ceftarolina, fármaco da classe das cefalosporinas, apresenta atividade contra MRSA. Por isso, seu uso para o tratamento de infecções no SNC tem ganhado um crescente interesse. Alguns relatos na literatura reportam sucesso terapêutico do seu uso para o tratamento de infecções do SNC (SAKOULAS *et al.*, 2015; CIES *et al.*, 2020; ROUJANSKY *et al.*, 2020). No entanto, ainda são necessários estudos sobre a viabilidade da sua aplicação para o tratamento dessas infecções.

Modelos farmacocinéticos populacionais tem sido cada vez mais utilizados na otimização de posologias de antimicrobianos (DE VELDE *et al.*, 2018). Esses modelos apresentam grandes vantagens sobre as análises tradicionais, uma vez que permitem a determinação de parâmetros farmacocinéticos a partir de dados esparsos, além de auxiliar na identificação de covariáveis que influenciam nos processos farmacocinéticos. Isso se torna extremamente importante quando levamos em consideração o tipo de amostra que geralmente temos disponível em análise de exposição cerebral aos fármacos.

Neste sentido, o primeiro capítulo desta tese foi desenvolvido com o intuito de investigar a possibilidade da aplicação da ceftarolina para o tratamento de infecções do SNC e comparar a exposição no LCR com a exposição aos tecidos

muscular e subcutâneo em humanos. As concentrações plasmáticas foram descritas por um modelo de dois compartimentos e os tecidos foram incorporados como três compartimentos independentes conectados ao compartimento central por um transporte bidirecional parametrizado como *clearance* intercompartimental de entrada no cérebro (CL_{in}) e de saída (CL_{out}), com volumes dos compartimentos fixados como valores intersticiais fisiológicos. Observou-se uma penetração menor no LCR (~ 9%) em comparação com a exposição aos outros tecidos (~ 50%). No entanto, foi possível identificar uma importante correlação negativa entre a concentração de glicose no LCR e o parâmetro que descreve a penetração da ceftarolina no LCR ($CL_{in,CSF}$). Essa correlação é explicada com base na premissa de que uma inflamação meníngea geralmente é associada a alterações nos parâmetros bioquímicos no LCR, incluindo diminuição nos níveis de glicose, devido à presença de bactérias no SNC (TUNKEL *et al.*, 2004). Acredita-se que a presença de processos inflamatórios cerebrais leva a um afrouxamento nas barreiras que envolvem o SNC, tanto barreira hematoencefálica quanto barreira hematoliquórica, levando a um aumento na penetração de fármacos (NAU; SÖRGEL; EIFFERT, 2010). Portanto, baixos níveis de glicose foram associados a maior penetração da ceftarolina no LCR dos pacientes investigados.

Através de simulações de Monte Carlo, utilizando o modelo popPK desenvolvido para simular as concentrações de ceftarolina em 1.000 indivíduos, esse aumento na penetração em função da diminuição dos níveis de glicose no LCR foi explorado, prevendo possíveis cenários de ausência de inflamação (correspondendo aos pacientes observados na análise), inflamação moderada e inflamação severa das meninges. Por meio de análises de PTA foi demonstrado que a ceftarolina tem potencial uso para o tratamento de infecções causadas por MRSA, quando levamos em consideração pacientes com inflamação meníngea severa (concentração de glicose no LCR entre 0,5 e 2 mmol/L) sendo que mais do que 97% dos pacientes alcançam o alvo terapêutico.

Apesar de resultados promissores em humanos, esses resultados mostram a penetração da ceftarolina apenas no LCR na presença de um processo inflamatório. No entanto, a penetração desse antimicrobiano no interstício cerebral na presença e ausência de infecção ainda necessitava de elucidação. Nesse

contexto, foram realizados experimentos farmacocinéticos em roedores, visando aprofundar o entendimento da penetração da ceftarolina no SNC na presença de infecções.

Para a realização dos experimentos, inicialmente foi necessário o desenvolvimento de um método analítico capaz de quantificar ceftarolina em amostras de microdialisado plasmático e cerebral de ratos. As amostras foram analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector de massas e o método desenvolvido foi validado de acordo com guias internacionais de validação de métodos analíticos para amostras biológicas. Esta etapa foi descrita no Capítulo 2. O método validado foi simples, sem necessidade de processamento das amostras, e rápido, com análise total das amostras de 6 minutos. O método apresentou sensibilidade suficiente para quantificar o fármaco nas amostras de microdialisado plasmático e tecidual por até 3 horas após a administração do fármaco, tempo suficiente para caracterizar adequadamente os perfis de concentração por tempo tanto no plasma quanto no cérebro. O método foi usado para avaliar recuperação da ceftarolina pelas sondas de microdiálise cerebrais e plasmáticas, *in vitro* e *in vivo*, demonstrando que a mesma é concentração independente e que não há aderência do fármaco nas tubulações do sistema e nas sondas, confirmada pela semelhança das recuperações obtidas pelo método de diálise e retrodiálise. Desse modo, a adequabilidade do uso da microdiálise para coletar a ceftarolina na corrente sanguínea e nos tecidos ficou demonstrada.

Para avaliar a influência da infecção na penetração cerebral da ceftarolina, foi desenvolvido modelo de meningite por MRSA (ATCC43300) em ratos Wistar, através da inoculação diretamente na cisterna magna. Esse processo de inoculação simula uma condição semelhante a uma infecção nosocomial decorrente de processos neurocirúrgicos. A análise histopatológica de animais com infecção de 3 dias confirmou o diagnóstico de meningite supurativa. Através de contagem bacteriana em homogeneizado de tecido cerebral, foi também confirmada a permanência do processo infeccioso por até 5 dias após a inoculação.

As concentrações livres plasmáticas e cerebrais da ceftarolina em ratos Wistar hígidos e infectados (3 e 5 dias) foram coletadas por meio da técnica de

microdiálise (Capítulo 3). Os perfis obtidos foram modelados simultaneamente por uma abordagem farmacocinética populacional. Os dados plasmáticos foram descritos por um modelo de 1 compartimento e os dados cerebrais descritos por dois compartimentos, com o processo de distribuição do plasma para o cérebro parametrizado como CL_{in} e CL_{out} . A recuperação relativa das sondas de microdiálise foi estimada pelo modelo e os dados de microdiálise foram descritos pelas integrais ao longo de cada intervalo de coleta (TUNBLAD; HAMMARLUND-UDENAES; JONSSON, 2004). Esta abordagem permite identificar a variabilidade e a incerteza dos parâmetros, permitindo a estimativa mais confiável dos parâmetros farmacocinéticos.

O modelo popPK permitiu a identificação de covariáveis importantes como o *output* cardíaco para a recuperação relativa da sonda de microdiálise plasmática. O *output* cardíaco foi inversamente correlacionado com a recuperação relativa das sondas plasmáticas, indicando uma menor recuperação em animais com maior *output* cardíaco. Considerando que a recuperação de um analito pela sonda é influenciada pelos processos de remoção do fármaco pelo tecido, essa correlação é coerente. Animais com maior *output* cardíaco apresentam uma maior quantidade de sangue por tempo sendo bombeado pelo coração. Considerando que a sonda foi inserida na jugular dos animais, os animais com maior *output* cardíaco possuem maior capacidade de remoção do fármaco do meio que circunda a sonda, levando a menores recuperações. Essa covariável permite, em parte, explicar a grande variabilidade encontrada nos experimentos de microdiálise plasmática.

Outra covariável identificada foi a infecção, que teve uma influência sobre o processo de transferência da ceftarolina do plasma para o SNC. Os animais infectados apresentaram um aumento de aproximadamente 62% no transporte de influxo do fármaco para o SNC (CL_{in}). Este achado corrobora as previsões do modelo popPK desenvolvido para humanos. Não foram encontradas diferenças nos parâmetros plasmáticos da ceftarolina comparando animais hígidos e infectados, indicando que a infecção induzida nos animais não se disseminou. O modelo popPK desenvolvido pode ser utilizado para simulações de diferentes

posologias do fármaco, para prever a eficácia do tratamento com a ceftarolina e auxiliar no entendimento do impacto de infecções sobre as alterações na penetração desse antimicrobianos no SNC.

Por fim, essa tese possibilitou aprofundar os conhecimentos acerca da penetração cerebral da ceftarolina e da influência da inflamação e da meningite por MRSA na penetração líquórica e intersticial cerebral do fármaco, respectivamente, através da construção de modelos popPK. Os resultados apontam para a viabilidade do uso da ceftarolina para o tratamento de infecções cerebrais e os modelos popPK desenvolvidos poderão contribuir para o avanço dessas investigações.

CONCLUSÕES

- O modelo farmacocinético populacional desenvolvido para descrever a distribuição da ceftarolina nos tecidos muscular e subcutâneo e no líquido cefalorraquidiano de indivíduos saudáveis e pacientes neurocirúrgicos foi capaz de descrever adequadamente a exposição plasmática e tecidual ao fármaco e as diferenças nos parâmetros farmacocinéticos encontradas entre o grupo de voluntários saudáveis e pacientes neurocirúrgicos;
- A concentração de glicose no líquido cefalorraquidiano foi identificada como uma covariável do parâmetro *clearance* intercompartimental de penetração cerebral (CL_{in}), com uma relação inversamente proporcional. Essa relação inversa sugere que pacientes com inflamação meníngea (baixos níveis de glicose no LCR) apresentariam maior exposição à ceftarolina no LCR;
- As simulações de Monte Carlo utilizando o modelo popPK desenvolvido com dados clínicos demonstraram que a administração de ceftarolina 600 mg q8h ou q12h é adequada para o tratamento de infecções em tecido muscular e subcutâneo causados por MRSA e sugerem que, na dose de 600 mg q8h, pode ser um potencial candidato para o tratamento de infecções do SNC por MRSA;
- A metodologia analítica validada mostrou-se adequada para a quantificação da ceftarolina em amostras de microdialisado plasmático e cerebral em ratos saudáveis e infectados, podendo ser utilizada em estudos de farmacocinética plasmática e tecidual deste antimicrobiano;
- A microdiálise mostrou-se uma técnica adequada para a determinação das concentrações cerebrais e plasmáticas livres de ceftarolina, com estudos *in vitro* de diálise e retrodiálise revelando ausência de ligação do fármaco às tubulações do sistema de microdiálise e recuperação relativa independente da concentração do fármaco;
- O protocolo de infecção cerebral por MRSA desenvolvido para ratos Wistar resultou em quadro de meningite supurativa que se prolonga por 5 dias, podendo ser empregado para avaliar a influência da infecção na penetração cerebral da ceftarolina;

- O modelo farmacocinético populacional desenvolvido para os dados de microdiálise pré-clínica foi capaz de descrever simultaneamente as concentrações livres plasmáticas e intersticiais cerebrais da ceftarolina, permitindo descrever o aumento das concentrações cerebrais na meningite por MRSA;
- A ceftarolina apresenta maior penetração no líquido cefalorraquidiano de pacientes com inflamação meníngea e no líquido intersticial cerebral de roedores com infecção/inflamação meníngea por MRSA, devendo ser investigada para o tratamento de infecções cerebrais em estudos clínicos específicos.

REFERÊNCIAS GERAIS

AGUILAR, J. *et al.* Staphylococcus aureus meningitis case series and literature review. **Medicine**, [s. l.], v. 89, n. 2, p. 117–125, 2010.

AGÚNDEZ, J. A. G. *et al.* Drug and xenobiotic biotransformation in the blood–brain barrier: A neglected issue. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, [s. l.], v. 8, n. OCT, p. 8–11, 2014.

ALAMARAT, Z.; HASBUN, R. Management of acute bacterial meningitis in children. **Infection and Drug Resistance**, [s. l.], v. 13, p. 4077–4089, 2020.

ALVES, I. A. *et al.* Influence of experimental cryptococcal meningitis in wistar rats on voriconazole brain penetration assessed by microdialysis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, [s. l.], v. 61, n. 7, 2017.

ANDES, D.; CRAIG, W. A. **Pharmacodynamics of a new cephalosporin, PPI-0903 (TAK-599), active against methicillin-resistant staphylococcus aureus in murine thigh and lung infection models: Identification of an in vivo pharmacokinetic-pharmacodynamic target.** [S. l.: s. n.], 2006.

ARCHIBALD, L. K.; QUISLING, R. G. **Textbook of Neurointensive Care.** [S. l.: s. n.], 2013.

ASÍN-PRIETO, E.; RODRÍGUEZ-GASCÓN, A.; ISLA, A. Applications of the pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) analysis of antimicrobial agents. **Journal of Infection and Chemotherapy**, [s. l.], v. 21, n. 5, p. 319–329, 2015. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1341321X15000379>.

BALOUCH, M. A.; BAJWA, R. J.; HASSOUN, A. Successful use of ceftaroline for the treatment of mrsa meningitis secondary to an infectious complication of lumbar spine surgery. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, [s. l.], v. 70, n. 2, p. 624–625, 2015.

BANKS, W. A. Characteristics of compounds that cross the blood-brain barrier. **BMC Neurology**, [s. l.], v. 9, n. SUPPL. 1, p. 5–9, 2009.

BANKS, W. A. From blood-brain barrier to blood-brain interface: New opportunities for CNS drug delivery. **Nature Reviews Drug Discovery**, [s. l.], v. 15, n. 4, p. 275–292, 2016.

BARBOUR, A. M. *et al.* Application of pharmacokinetic/pharmacodynamic modelling and simulation for the prediction of target attainment of ceftobiprole against meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* using minimum inhibitory concentration and time-kill curve based approaches. **International Journal of Antimicrobial Agents**, [s. l.], v. 43, n. 1, p. 60–67, 2014.

BEACH, J. E. *et al.* **Penetration of Vancomycin into the Cerebrospinal Fluid: A Systematic Review**. [S. l.]: Springer International Publishing, 2017.

BEER, R. *et al.* Nosocomial ventriculitis and meningitis in neurocritical care patients. **Journal of Neurology**, [s. l.], v. 255, n. 11, p. 1617–1624, 2008.

BLASSMANN, U. *et al.* CSF penetration of vancomycin in critical care patients with proven or suspected ventriculitis: A prospective observational study. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, [s. l.], v. 74, n. 4, p. 991–996, 2019.

BROUWER, M. C.; TUNKEL, A. R.; VAN DE BEEK, D. Epidemiology, diagnosis, and antimicrobial treatment of acute bacterial meningitis. **Clinical Microbiology Reviews**, [s. l.], v. 23, n. 3, p. 467–492, 2010.

BROUWER, Matthijs C.; VAN DE BEEK, D. Epidemiology, diagnosis, and treatment of brain abscesses. **Current Opinion in Infectious Diseases**, [s. l.], v. 30, n. 1, p. 129–134, 2017.

BROUWER, M. C.; VAN DE BEEK, D. Epidemiology of community-acquired bacterial meningitis. **Current Opinion in Infectious Diseases**, [s. l.], v. 31, n. 1, p. 78–84, 2018.

BROUWER, M. C.; VAN DE BEEK, D. **Management of bacterial central nervous system infections**. 1. ed. [S. l.]: Elsevier B.V., 2017-. ISSN 22124152.v. 140

BROUWER, M. C.; VAN DE BEEK, D. Management of bacterial central nervous system infections. *In: HANDBOOK OF CLINICAL NEUROLOGY*. [S. l.]: Elsevier B.V., 2017. v. 140, p. 349–364.

BUCHHEIT, J.; COLLINS, R.; JOSHI, P. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* epidural abscess treated with ceftaroline fosamil salvage therapy. **American Journal of Health-System Pharmacy**, [s. l.], v. 71, n. 2, p. 110–113, 2014.

CHAUZY, A. *et al.* Cerebrospinal fluid pharmacokinetics of ceftaroline in neurosurgical patients with an external ventricular drain. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, [s. l.], v. 74, n. 3, p. 675–681, 2019.

CIES, J. J. *et al.* Ceftaroline cerebrospinal fluid penetration in the treatment of a ventriculopleural shunt infection: A case report. **Journal of Pediatric Pharmacology and Therapeutics**, [s. l.], v. 25, n. 4, p. 336–339, 2020.

COTTAGNOUD, P. *et al.* Efficacy of ceftaroline fosamil against penicillin-sensitive and -resistant *Streptococcus pneumoniae* in an experimental rabbit meningitis model. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, [s. l.], v. 57, n. 10, p. 4653–4655, 2013.

CRISTINACCE, A. *et al.* Comparing probability of target attainment against *Staphylococcus aureus* for ceftaroline fosamil, vancomycin, daptomycin, linezolid, and ceftriaxone in complicated skin and soft tissue infection using pharmacokinetic/pharmacodynamic models. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, [s. l.], v. 99, n. 4, 2021.

DAS, S. *et al.* Ceftaroline fosamil doses and breakpoints for *Staphylococcus aureus* in complicated skin and soft tissue infections. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, [s. l.], v. 74, n. 2, p. 425–431, 2019.

DE VELDE, F. *et al.* **Clinical applications of population pharmacokinetic models of antibiotics: Challenges and perspectives**. [S. l.]: Academic Press, 2018.

DESTACHE, C. J. *et al.* Cerebrospinal fluid penetration and pharmacokinetics of levofloxacin in an experimental rabbit meningitis model. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, [s. l.], v. 47, n. 5, p. 611–615, 2001.

DESTACHE, C. J.; PAKIZ, C. B.; STOYSICH, A. M. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of A-80556 using microdialysis in a *Streptococcus pneumoniae* meningitis model. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, [s. l.], v. 38, n. 6, p. 977–985, 1996.

DHANANI, J. *et al.* Antimicrobial chemotherapy and lung microdialysis: A review. **International Journal of Antimicrobial Agents**, [s. l.], v. 36, n. 6, p. 491–500, 2010.

DI PAOLO, A. *et al.* Clinical pharmacokinetics of antibacterials in cerebrospinal fluid. **Clinical Pharmacokinetics**, [s. l.], v. 52, n. 7, p. 511–542, 2013.

DIAS, B. B. *et al.* Probability of Target Attainment of Tobramycin Treatment in Acute and Chronic *Pseudomonas aeruginosa* Lung Infection Based on Preclinical Population Pharmacokinetic Modeling. **Pharmaceutics**, [s. l.], v. 14, n. 6, p. 1237, 2022.

EDLINGER-STANGER, M. *et al.* Plasma and lung tissue pharmacokinetics of ceftaroline fosamil in patients undergoing cardiac surgery with cardiopulmonary bypass: An in vivo microdialysis study. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, [s. l.], v. 65, n. 10, 2021.

FIGUEIREDO, A. H. A.; BROUWER, M. C.; VAN DE BEEK, D. Acute Community-Acquired Bacterial Meningitis. **Neurologic Clinics**, [s. l.], v. 36, n. 4, p. 809–820, 2018.

FONG, I. W.; TOMKINS, K. B. Penetration of ceftazidime into the cerebrospinal fluid of patients with and without evidence of meningeal inflammation. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, [s. l.], v. 26, n. 1, p. 115–116, 1984.

GONZALEZ, D.; SCHMIDT, S.; DERENDORF, H. Importance of relating efficacy measures to unbound drug concentrations for anti-infective agents. **Clinical Microbiology Reviews**, [s. l.], v. 26, n. 2, p. 274–288, 2013.

GRANERO, L. *et al.* 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**, [s. l.], v. 39, n. 12, p. 2728–2731, 1995.

GUILHAUMOU, R. *et al.* Optimization of the treatment with beta-lactam antibiotics in critically ill patients. **Critical Care**, [s. l.], v. 23, n. 1, p. 104, 2019.

HAMMARLUND-UDENAES, M. Microdialysis as an Important Technique in Systems Pharmacology—a Historical and Methodological Review. **AAPS Journal**, [s. l.], v. 19, n. 5, p. 1294–1303, 2017.

HECKENBERG, S. G. B.; BROUWER, M. C.; VAN DE BEEK, D. **Bacterial meningitis**. 1. ed. [S. l.]: Elsevier B.V., 2014-. ISSN 00729752.v. 121

KHO, C. M. *et al.* A Review on Microdialysis Calibration Methods: The Theory and Current Related Efforts. **Molecular Neurobiology**, [s. l.], v. 54, n. 5, p. 3506–3527, 2017.

KURIAKOSE, S. S.; RABBAT, M.; GALLAGHER, J. C. Ceftaroline CSF concentrations in a patient with ventriculoperitoneal shunt-related meningitis. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, [s. l.], v. 70, n. 3, p. 953–954, 2015.

LAYER, F. *et al.* Dissemination of linezolid-dependent, linezolid-resistant *Staphylococcus epidermidis* clinical isolates belonging to CC5 in German hospitals. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, [s. l.], v. 73, n. 5, p. 1181–1184, 2018.

LE GUENNEC, L.; BOURDOULOUS, S. Pathogenesis and pathophysiology of bacterial infections. *In*: FABRICE CHRÉTIEN, KUM THONG WONG, LEROY R. SHARER, C. (Katy) K. and F. Gray. (org.). **Infections of the Central Nervous**

System: Pathology and Genetics. First Edited. [S. l.]: John Wiley & Sons Ltd, 2020a.

LE GUENNEC, L.; BOURDOULOUS, S. Pyogenic Infections of the CNS 1. *In*: FABRICE CHRÉTIEN, KUM THONG WONG, LEROY R. SHARER, C. (Katy) K. and F. Gray. (org.). **Infections of the Central Nervous System: Pathology and Genetics.** First Edited. [S. l.]: John Wiley & Sons Ltd, 2020b. p. 295–307.

LINDSAY, J. A. Hospital-associated MRSA and antibiotic resistance-What have we learned from genomics? **International Journal of Medical Microbiology**, [s. l.], v. 303, n. 6–7, p. 318–323, 2013.

LIU, C. *et al.* Diretrizes Práticas da Infectious Diseases Society of America para o tratamento de Infecções por *Staphylococcus aureus* Resistente à Meticilina em adultos e crianças. **Infectious Diseases Society of America**, [s. l.], v. 52, n. 1º, p. 18–55, 2011.

LUISSINT, A. *et al.* Tight junctions at the blood-brain barrier: physiological architecture and disease-associated dysregulation. **Fluids and Barriers of the CNS**, [s. l.], v. 9, p. 23, 2012.

MANGAS-SANJUAN, V. *et al.* Drug penetration across the blood-brain barrier: An overview. **Therapeutic Delivery**, [s. l.], v. 1, n. 4, p. 535–562, 2010.

MARCHAND, S. *et al.* Dose Ranging Pharmacokinetics and Brain Distribution of Norfloxacin Using Microdialysis in Rats. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 92, n. 12, p. 2458–2465, 2003.

MARCHAND, S. *et al.* Norfloxacin blood-brain barrier transport in rats is not affected by probenecid coadministration. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, [s. l.], v. 50, n. 1, p. 371–373, 2006.

MATZNELLER, P. *et al.* Single- and repeated-dose pharmacokinetics of ceftaroline in plasma and soft tissues of healthy volunteers for two different dosing regimens of ceftaroline fosamil. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, [s. l.], v. 60, n. 6, p. 3617–3625, 2016.

MERMER, S. *et al.* Ceftaroline versus vancomycin in the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in an experimental MRSA meningitis model. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, [s. l.], v. 22, n. April 2017, p. 147–151, 2020.

MINDERMANN, T. *et al.* Penetration of rifampicin into the brain tissue and cerebral extracellular space of rats. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, [s. l.], v. 31, n. 5, p. 731–737, 1993.

MS/BRASIL - MINISTÉRIO DA SAÚDE. Casos confirmados, óbitos, incidência (por 100.000 habitantes) e letalidade (%) por tipo de meningite. Brasil, 2010 a 2018*. **Ministerio da Saúde, Brasil**, [s. l.], p. 2018–2020, 2019.

NAU, R. *et al.* Bacterial meningitis: New therapeutic approaches. **Expert Review of Anti-Infective Therapy**, [s. l.], v. 11, n. 10, p. 1079–1095, 2013.

NAU, R. *et al.* **Pharmacokinetics and pharmacodynamics of antibiotics in central nervous system infections**. [S. l.: s. n.], 2018.

NAU, R.; SÖRGEL, F.; EIFFERT, H. Penetration of drugs through the blood-cerebrospinal fluid/blood-brain barrier for treatment of central nervous system infections. **Clinical Microbiology Reviews**, [s. l.], v. 23, n. 4, p. 858–883, 2010.

NAU, R.; SÖRGEL, F.; EIFFERT, H. Penetration of Drugs through the Blood-Cerebrospinal Fluid/Blood-Brain Barrier for Treatment of Central Nervous System Infections. **Clinical Microbiology Reviews**, [s. l.], v. 23, n. 4, p. 858–883, 2010.

NOTKINA, N.; DAHYOT-FIZELIER, C.; GUPTA, A. K. In vivo microdialysis in pharmacological studies of antibacterial agents in the brain. **British Journal of Anaesthesia**, [s. l.], v. 109, n. 2, p. 155–160, 2012.

OLIVEIRA, P. *et al.* Uso da técnica de PCR em tempo real no diagnóstico etiológico das meningites bacterianas associadas ao *Staphylococcus aureus* / Real-time PCR for etiological diagnosis of bacterial meningitis associated in *Staphylococcus aureus*. **BEPA - Boletim Epidemiológico Paulista**, [s. l.], v. 9, n. 98, p. 4–11, 2012.

OORDT-SPEETS, A. M. *et al.* **Global etiology of bacterial meningitis: A systematic review and meta-analysis.** [S. l.]: Public Library of Science, 2018.

PANI, A. *et al.* Off-label use of ceftaroline fosamil: A systematic review. **International Journal of Antimicrobial Agents**, [s. l.], v. 54, n. 5, p. 562–571, 2019.

REDZIC, Z. Molecular biology of the blood-brain and the blood-cerebrospinal fluid barriers: Similarities and differences. **Fluids and Barriers of the CNS**, [s. l.], v. 8, n. 1, p. 1–25, 2011.

ROUJANSKY, A. *et al.* Multidrug-Resistant *Staphylococcus epidermidis* Ventriculostomy-Related Infection Successfully Treated by Intravenous Ceftaroline after Failure of Daptomycin Treatment. **World Neurosurgery**, [s. l.], v. 136, p. 221–225, 2020.

SAKOULAS, G. *et al.* Examining the use of ceftaroline in the treatment of streptococcus pneumoniae meningitis with reference to human cathelicidin LL-37. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, [s. l.], v. 59, n. 4, p. 2428–2431, 2015.

SELLNER, J.; TÄUBER, M. G.; LEIB, S. L. Pathogenesis and pathophysiology of bacterial CNS infections. **Handbook of Clinical Neurology**, [s. l.], v. 96, n. C, p. 1–16, 2010.

SHANNON, R. J. *et al.* Cerebral microdialysis in clinical studies of drugs: Pharmacokinetic applications. **Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics**, [s. l.], v. 40, n. 3, p. 343–358, 2013.

SIGFRID, L. *et al.* A systematic review of clinical guidelines on the management of acute, community-acquired CNS infections. **BMC medicine**, [s. l.], v. 17, n. 1, p. 170, 2019.

SINGH, R. *et al.* Ceftaroline efficacy against high-MIC clinical *Staphylococcus aureus* isolates in an in vitro hollow-fibre infection model. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, [s. l.], v. 72, n. 10, p. 2796–2803, 2017.

STEIN, G. E. *et al.* A pharmacokinetic/pharmacodynamic analysis of ceftaroline prophylaxis in patients with external ventricular drains. **Surgical Infections**, [s. l.], v. 16, n. 2, p. 169–173, 2015.

STUCKI, A. *et al.* Efficacy of ceftaroline fosamil against *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains in a rabbit meningitis model. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, [s. l.], v. 57, n. 12, p. 5808–5810, 2013.

SUN, H. *et al.* Drug efflux transporters in the CNS. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [s. l.], v. 55, n. 1, p. 83–105, 2003.

TAN, Y. C.; GILL, A. K.; KIM, K. S. Treatment strategies for central nervous system infections: An update. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, [s. l.], v. 16, n. 2, p. 187–203, 2015.

TAUZIEDE-ESPARIAT, A. *et al.* Pyogenic Infections of the CNS 2: (Brain Abscess, Subdural Abscess or Empyema, Epidural Abscess, Septic Embolism, and Suppurative Intracranial Phlebitis). *In*: FABRICE CHRÉTIEN, KUM THONG WONG, LEROY R. SHARER, C. (Katy) K. and F. Gray. (org.). **Infections of the Central Nervous System: Pathology and Genetics**. First Edited. [S. l.]: John Wiley & Sons Ltd, 2020.

TORRES, B. G. S. *et al.* Population Pharmacokinetic Modeling as a Tool to Characterize the Decrease in Ciprofloxacin Free Interstitial Levels Caused by *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Lung Infection in Wistar Rats. [s. l.], 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/AAC>.

TUNBLAD, K.; HAMMARLUND-UDENAES, M.; JONSSON, E. N. An Integrated Model for the Analysis of Pharmacokinetic Data from Microdialysis Experiments. **Pharmaceutical Research**, [s. l.], v. 21, n. 9, p. 1698–1707, 2004. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1023/B:PHAM.0000041468.00587.c6>.

TUNKEL, A. R. *et al.* 2017 Infectious Diseases Society of America's Clinical Practice Guidelines for Healthcare-Associated Ventriculitis and Meningitis.

Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America, [s. l.], v. 64, n. 6, p. e34–e65, 2017.

TUNKEL, A. R. *et al.* Practice Guidelines for the Management of Bacterial Meningitis. **Clinical Infectious Diseases**, [s. l.], v. 39, n. 9, p. 1267–1284, 2004.

VAN DE BEEK, D.; DRAKE, J. M.; TUNKEL, A. R. Nosocomial Bacterial Meningitis. **New England Journal of Medicine**, [s. l.], v. 362, n. 2, p. 146–154, 2010.

VINKS, A. A. Population Pharmacokinetic–Pharmacodynamic (PK/PD) Modeling of Anti-infective Agents and Its Applications to Individualized Therapy. *In*: FUNDAMENTALS OF ANTIMICROBIAL PHARMACOKINETICS AND PHARMACODYNAMICS. New York, NY: Springer New York, 2014. p. 113–134.

WHO. **Leading causes of death**. [S. l.], 2019. Disponível em: <https://www.who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates/ghe-leading-causes-of-death>.

WOLFF, M.; SONNEVILLE, R.; SHARSHAR, T. Clinical Approach to the Adult Patient with CNS Infection. *In*: FABRICE CHRÉTIEN, KUM THONG WONG, LEROY R. SHARER, C. (Katy) K. and F. Gray. (org.). **Infections of the Central Nervous System: Pathology and Genetics**. First Edited. [S. l.]: John Wiley & Sons Ltd, 2020. p. 29–42.

ANEXOS

Anexo I

Carta de aprovação do projeto no comitê de ética no uso de animais (CEUA/UFRGS).



UFRGS
UNIVERSIDADE FEDERAL
DO RIO GRANDE DO SUL

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA

Comissão De Ética No Uso De Animais



CARTA DE APROVAÇÃO

Comissão De Ética No Uso De Animais analisou o projeto:

Número: 35635

Título: Pharmacokinetic and pharmacodynamic modeling of ceftaroline in brain and cerebrospinal fluid of healthy and MRSA infected rodents

Vigência: 01/08/2018 à 31/07/2021

Pesquisadores:

Equipe UFRGS:

TERESA CRISTINA TAVARES DALLA COSTA - coordenador desde 01/08/2018

ALEXANDRE PREHN ZAVASCKI - pesquisador desde 01/08/2018

BIBIANA VERLINDO DE ARAUJO - pesquisador desde 01/08/2018

Equipe Externa:

Izabel Almeida Alves - pesquisador desde 01/08/2018

Comissão De Ética No Uso De Animais aprovou o mesmo , em reunião realizada em 03/09/2018 - Sala 330 do Anexo I do Prédio da Reitoria - Campus Centro - Av. Paulo Gama-100/ Porto Alegre - RS, em seus aspectos éticos e metodológicos, para a utilização de 92 ratos Wistar machos, pesando entre 250 e 270g, provenientes da colônia do CREAL/UFRGS; de acordo com os preceitos das Diretrizes e Normas Nacionais e Internacionais, especialmente a Lei 11.794 de 08 de novembro de 2008, o Decreto 6899 de 15 de julho de 2009, e as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), que disciplinam a produção, manutenção e/ou utilização de animais do filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) em atividade de ensino ou pesquisa.

Porto Alegre, Terça-Feira, 18 de Setembro de 2018

ALEXANDRE TAVARES DUARTE DE OLIVEIRA
Vice Coordenador da comissão de ética