



**HAL**  
open science

**Triméthoprimine et infections urinaires : activités  
bactériostatique et bactéricide du triméthoprimine  
comparées au cotrimoxazole vis-à-vis d'une collection de  
souches d'Escherichia coli**

Valentin Wehrlé

► **To cite this version:**

Valentin Wehrlé. Triméthoprimine et infections urinaires : activités bactériostatique et bactéricide du triméthoprimine comparées au cotrimoxazole vis-à-vis d'une collection de souches d'Escherichia coli. Sciences pharmaceutiques. 2017. dumas-01655063

**HAL Id: dumas-01655063**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01655063>**

Submitted on 4 Dec 2017

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**UNIVERSITÉ DE ROUEN**  
**UFR DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE**

Année 2017

N°

**THÈSE**

**Pour le DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**  
**MÉMOIRE DE DIPLÔME D'ÉTUDES SPÉCIALISÉES DE BIOLOGIE**  
**MÉDICALE**

Présentée et soutenue publiquement le 26 septembre 2017

Par

*WEHRLÉ Valentin*

Né le 11 mai 1990 à Rouen

**Triméthoprimé et infections urinaires :**  
**Activités bactériostatique et bactéricide du**  
**triméthoprimé comparées au cotrimoxazole vis-à-vis**  
**d'une collection de souches d'*Escherichia coli***

Président du jury : Pr Martine PESTEL-CARON, PU-PH

Membres du jury : Pr François CARON, PU-PH

Dr Christine THARASSE, MCU

Dr Marion DAVID

Dr Anaïs SOARES, AHU



**« L'Université de Rouen et l'UFR de Médecine et de Pharmacie de Rouen n'entendent donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans cette thèse. Ces opinions sont propres à leurs auteurs. »**

ANNEE UNIVERSITAIRE 2016 - 2017

U.F.R. DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DE ROUEN

DOYEN : Professeur Pierre FREGER  
ASSESEURS : Professeur Michel GUERBET  
Professeur Benoit VEBER  
Professeur Pascal JOLY  
Professeur Stéphane MARRET

I – MEDECINE

PROFESSEURS DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS

Mr Frédéric ANSELME	HCN	Cardiologie
Mme Isabelle AUQUIT AUCKBUR	HCN	Chirurgie plastique
Mr Fabrice BAUER	HCN	Cardiologie
Mme Soumeya BEKRI	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mr Ygal BENHAMOU	HCN	Médecine interne
Mr Jacques BENICHOU	HCN	Bio statistiques et informatique médicale
Mr Olivier BOYER	UFR	Immunologie
Mr François CARON	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
Mr Philippe CHASSAGNE (détachement)	HCN	Médecine interne (gériatrie)
Mr Vincent COMPERE	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mr Jean-Nicolas CORNU	HCN	Urologie
Mr Antoine CUVELIER	HB	Pneumologie
Mr Pierre CZERNICHOV (surnombre)	HCH	Epidémiologie, économie de la santé
Mr Jean-Nicolas DACHER	HCN	Radiologie et imagerie médicale
Mr Stéfan DARMONI	HCN	Informatique médicale et techniques de communication
Mr Pierre DECHELOTTE	HCN	Nutrition
Mr Stéphanie DERREY	HCN	Neurochirurgie
Mr Frédéric DI FIORE	CB	Cancérologie
Mr Fabien DOGUET	HCN	Chirurgie Cardio Vasculaire
Mr Jean DOUCET	SJ	Thérapeutique - Médecine interne et gériatrie
Mr Bernard DUBRAY	CB	Radiothérapie
Mr Philippe DUCROTTE	HCN	Hépto-gastro-entérologie
Mr Frank DUJARDIN	HCN	Chirurgie orthopédique - Traumatologique
Mr Fabrice DUPARC	HCN	Anatomie-Chirurgie orthopédique et traumatologique
Mr Eric DURAND	HCN	Cardiologie
Mr Bertrand DUREUIL	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mme Hélène ELTCHANINOFF	HCN	Cardiologie
Mr Thierry FREBOURG	UFR	Génétique
Mr Pierre FREGER	HCN	Anatomie - Neurochirurgie
Mr Jean François GEHANNO	HCN	Médecine et santé au travail
Mr Emmanuel GERARDIN	HCN	Imagerie médicale
Mme Priscille GERARDIN	HCN	Pédopsychiatrie
Mr Michel GODIN (surnombre)	HB	Néphrologie
Mr Guillaume GOURCEROL	HCN	Physiologie
Mr Dominique GUERROT	HCN	Néphrologie
Mr Olivier GUILLIN	HCN	Psychiatrie Adultes
Mr Didier HANNEQUIN	HCN	Neurologie
Mr Fabrice JARDIN	CB	Hématologie
Mr Luc-Marie JOLY	HCN	Médecine d'urgence
Mr Pascal JOLY	HCN	Dermato - Vénérologie
Mme Bouchra LAMIA	Havre	Pneumologie

Mme Annie LAQUERRIERE	HCN	Anatomie et cytologie pathologiques
Mr Vincent LAUDENBACH	HCN	Anesthésie et réanimation chirurgicale
Mr Joël LECHEVALLIER	HCN	Chirurgie infantile
Mr Hervé LEFEBVRE	HB	Endocrinologie et maladies métaboliques
Mr Thierry LEQUERRE	HB	Rhumatologie
Mme Anne-Marie LEROI	HCN	Physiologie
Mr Hervé LEVESQUE	HB	Médecine interne
Mme Agnès LIARD-ZMUDA	HCN	Chirurgie Infantile
Mr Pierre Yves LITZLER	HCN	Chirurgie cardiaque
Mr Bertrand MACE	HCN	Histologie, embryologie, cytogénétique
Mr David MALTETE	HCN	Neurologie
Mr Christophe MARGUET	HCN	Pédiatrie
Mme Isabelle MARIE	HB	Médecine interne
Mr Jean-Paul MARIE	HCN	Oto-rhino-laryngologie
Mr Loïc MARPEAU	HCN	Gynécologie – Obstétrique
Mr Stéphane MARRET	HCN	Pédiatrie
Mme Véronique MERLE	HCN	Epidémiologie
Mr Pierre MICHEL	HCN	Hépatogastro-entérologie
Mr Benoit MISSET	HCN	Réanimation Médicale
Mr Jean-François MUIR (surnombre)	HB	Pneumologie
Mr Marc MURAINÉ	HCN	Ophthalmologie
Mr Philippe MUSETTE	HCN	Dermatologie - Vénérologie
Mr Christophe PEILLON	HCN	Chirurgie générale
Mr Christian PFISTER	HCN	Urologie
Mr Jean-Christophe PLANTIER	HCN	Bactériologie - Virologie
Mr Didier PLISSONNIER	HCN	Chirurgie vasculaire
Me Gaëtan PREVOST	HCN	Endocrinologie
Mr Bernard PROUST	HCN	Médecine légale
Mr Jean-Christophe RICHARD (détachement)	HCN	Réanimation médicale - Médecine d'urgence
Mr Vincent RICHARD	UFR	Pharmacologie
Mme Nathalie RIVES	HCN	Biologie du développement et de la reproduction
Mr Horace ROMAN	HCN	Gynécologie - Obstétrique
Mr Jean-Christophe SABOURIN	HCN	Anatomie - Pathologie
Mr Guillaume SAVOYE	HCN	Hépatogastrologie
Mme Céline SAVOYE-COLLET	HCN	Imagerie médicale
Mme Pascale SCHNEIDER	HCN	Pédiatrie
Mr Michel SCOTTE	HCN	Chirurgie digestive
Mme Fabienne TAMION	HCN	Réanimation Médicale
Mr Luc THIBERVILLE	HCN	Pneumologie
Mr Christian THUILLETZ (surnombre)	HB	Pharmacologie
Mr Hervé TILLY	CB	Hématologie et transfusion
Mr Gilles TOURNEL	HCN	Médecine Légale
Mr Olivier TROST	HCN	Chirurgie Maxillo Faciale
Mr Jean-Jacques TUECH	HCN	Chirurgie digestive
Mr Jean-Pierre VANNIER (surnombre)	HCN	Pédiatrie génétique
Mr Benoît VEBER	HCN	Anesthésiologie - Réanimation chirurgicale
Mr Pierre VERA	CB	Biophysique et traitement de l'image
Mr Eric VERIN	HB	Service Santé Réadaptation
Mr Eric VERSPYCK	HCN	Gynécologie obstétrique
Mr Olivier VITTECOQ	HB	Rhumatologie
Mr Jacques WEBER	HCN	Physiologie

#### MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS

Mme Noëlle BARBIER-FREBOURG	HCN	Bactériologie – Virologie
Mme Carole BRASSE LAGNEL	HCN	Biochimie
Mme Valérie BRIDOUX HUYBRECHTS	HCN	Chirurgie Vasculaire
Mr Gérard BUCHONNET	HCN	Hématologie
Mme Mireille CASTANET	HCN	Pédiatrie
Mme Nathalie CHASTAN	HCN	Physiologie
Mme Sophie CLAEYSSENS	HCN	Biochimie et biologie moléculaire

Mr Moïse COEFFIER	HCN	Nutrition
Mr Manuel ETIENNE	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
Mr Serge JACQUOT	UFR	Immunologie
Mr Joël LADNER	HCN	Epidémiologie, économie de la santé
Mr Jean-Baptiste LATOUCHE	UFR	Biologie cellulaire
Mr Thomas MOUREZ	HCN	Virologie
Mme Muriel QUILLARD	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mme Laëtitia ROLLIN	HCN	Médecine du Travail
Mr Mathieu SALAUN	HCN	Pneumologie
Mme Pascale SAUGIER-VEBER	HCN	Génétique
Mme Anne-Claire TOBENAS-DUJARDIN	HCN	Anatomie
Mr David WALLON	HCN	Neurologie

#### PROFESSEUR AGREGÉ OU CERTIFIÉ

Mr Thierry WABLE	UFR	Communication
------------------	-----	---------------

## II – PHARMACIE

#### PROFESSEURS

Mr Thierry BESSON	Chimie Thérapeutique
Mr Jean-Jacques BONNET	Pharmacologie
Mr Roland CAPRON (PU-PH)	Biophysique
Mr Jean COSTENTIN (Professeur émérite)	Pharmacologie
Mme Isabelle DUBUS	Biochimie
Mr Loïc FAVENNEC (PU-PH)	Parasitologie
Mr Jean Pierre GOULLE (Professeur émérite)	Toxicologie
Mr Michel GUERBET	Toxicologie
Mme Isabelle LEROUX – NICOLLET	Physiologie
Mme Christelle MONTEIL	Toxicologie
Mme Martine PESTEL-CARON (PU-PH)	Microbiologie
Mme Elisabeth SEGUIN	Pharmacognosie
Mr Rémi VARIN (PU-PH)	Pharmacie clinique
Mr Jean-Marie VAUGEOIS	Pharmacologie
Mr Philippe VERITE	Chimie analytique

#### MAITRES DE CONFÉRENCES

Mme Cécile BARBOT	Chimie Générale et Minérale
Mr Jérémy BELLIEU (MCU-PH)	Pharmacologie
Mr Frédéric BOUNOURE	Pharmacie Galénique
Mr Abdeslam CHAGRAOUI	Physiologie
Mme Camille CHARBONNIER	Statistiques
Mme Marie Catherine CONCE-CHEMTOB	Législation pharmaceutique et économie de la santé
Mme Elizabeth CHOSSON	Botanique
Mme Cécile CORBIERE	Biochimie
Mr Eric DITTMAR	Biophysique
Mme Nathalie DOURMAP	Pharmacologie
Mme Isabelle DUBUC	Pharmacologie
Mme Dominique DUTERTE-BOUCHER	Pharmacologie
Mr Abdelhakim ELOMRI	Pharmacognosie
Mr François ESTOUR	Chimie Organique
Mr Gilles GARGALA (MCU-PH)	Parasitologie
Mme Najla GHARBI	Chimie analytique
Mme Marie-Laure GROULT	Botanique

Mr Hervé HUE	Biophysique et mathématiques
Mme Laetitia LE GOFF	Parasitologie - Immunologie
Mme Hong LU	Biologie
Mme Marine MALLETER	Biologie Cellulaire
Mme Sabine MENAGER	Chimie organique
Mme Tiphaine ROGEZ-FLORENT	Chimie analytique
Mr Mohamed SKIBA	Pharmacie galénique
Mme Malika SKIBA	Pharmacie galénique
Mme Christine THARASSE	Chimie thérapeutique
Mr Frédéric ZIEGLER	Biochimie

#### PROFESSEURS ASSOCIES

Mme Cécile GUERARD-DETUNCQ	Pharmacie officinale
Mr Jean-François HOUIVET	Pharmacie officinale

#### PROFESSEUR CERTIFIE

Mme Mathilde GUERIN	Anglais
---------------------	---------

#### ASSISTANT HOSPITALO-UNIVERSITAIRE

Mme Sandrine DAHYOT	Bactériologie
---------------------	---------------

#### ATTACHES TEMPORAIRES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE

Mme Hanane GASMI	Galénique
Mme Benedetta CORNELIO	Chimie organique

LISTE DES RESPONSABLES DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES
--

Mme Cécile BARBOT	Chimie Générale et minérale
Mr Thierry BESSON	Chimie thérapeutique
Mr Roland CAPRON	Biophysique
Mme Marie-Catherine CONCE-CHEMTOB	Législation et économie de la santé
Mme Elisabeth CHOSSON	Botanique
Mr Jean-Jacques BONNET	Pharmacodynamie
Mme Isabelle DUBUS	Biochimie
Mr Loïc FAVENNEC	Parasitologie
Mr Michel GUERBET	Toxicologie
Mr François ESTOUR	Chimie organique
Mme Isabelle LEROUX-NICOLLET	Physiologie
Mme Martine PESTEL-CARON	Microbiologie
Mme Elisabeth SEGUIN	Pharmacognosie
Mr Mohamed SKIBA	Pharmacie galénique
Mr Rémi VARIN	Pharmacie clinique
Mr Philippe VERITE	Chimie analytique



### III – MEDECINE GENERALE

#### PROFESSEUR

Mr Jean-Loup HERMIL UFR Médecine générale

#### PROFESSEURS ASSOCIES A MI-TEMPS

Mr Emmanuel LEFEBVRE UFR Médecine Générale  
Mme Elisabeth MAUVIARD UFR Médecine générale  
Mr Philippe NGUYEN THANH UFR Médecine générale

#### MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE A MI-TEMPS

Mr Pascal BOULET UFR Médecine générale  
Mr Emmanuel HAZARD UFR Médecine Générale  
Mme Lucile PELLERIN UFR Médecine générale  
Mme Yveline SEVRIN UFR Médecine générale  
Mme Marie Thérèse THUEUX UFR Médecine générale

### ENSEIGNANTS MONO-APPARTENANTS

#### PROFESSEURS

Mr Serguei FETISSOV (med) Physiologie (ADEN)  
Mr Paul MULDER (phar) Sciences du Médicament  
Mme Su RUAN (med) Génie Informatique

#### MAITRES DE CONFERENCES

Mr Sahil ADRIOUCH (med) Biochimie et biologie moléculaire (Unité Inserm 905)  
Mme Gaëlle BOUGEARD-DENOYELLE (med) Biochimie et biologie moléculaire (UMR 1079)  
Mme Carine CLEREN (med) Neurosciences (Néovasc)  
Mr Sylvain FRAINEAU (phar) Physiologie (Inserm U 1096)  
Mme Pascaline GAILDRAT (med) Génétique moléculaire humaine (UMR 1079)  
Mr Nicolas GUEROUT (med) Chirurgie Expérimentale  
Mme Rachel LETELLIER (med) Physiologie  
Mme Christine RONDANINO (med) Physiologie de la reproduction  
Mr Antoine OUVRARD-PASCAUD (med) Physiologie (Unité Inserm 1076)  
Mr Frédéric PASQUET Sciences du langage, orthophonie  
Mme Isabelle TOURNIER (med) Biochimie (UMR 1079)

#### CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS : Mme Véronique DELAFONTAINE

HCN - Hôpital Charles Nicolle  
CB - Centre Henri Becquerel  
CRMPR - Centre Régional de Médecine Physique et de Réadaptation

HB - Hôpital de BOIS GUILLAUME  
CHS - Centre Hospitalier Spécialisé du Rouvray  
SJ - Saint Julien Rouen

## Remerciements

Au Professeur Martine Pestel-Caron,

Pour l'ensemble des enseignements qu'elle m'a dispensés, la passion de la bactériologie qu'elle a su me transmettre et l'aide précieuse qu'elle m'a apportée à la réalisation de ce travail de thèse.

Au professeur François Caron,

Pour son professionnalisme et surtout pour m'avoir fait découvrir le triméthoprime.

Au Docteur Christine Tharasse,

Qui m'a aidée à partir en stage à Montréal, et qui grâce à la clarté de ses enseignements, m'a permis d'apprendre beaucoup sur les antibiotiques.

Au docteur Marion David,

Preuve que l'on peut être jeune et un très bon chef de service.

Au docteur Anaïs Soares,

Pour sa gentillesse, sa disponibilité au quotidien et pour l'aide qu'elle m'a apportée dans la réalisation de ce travail.

A l'ensemble des biologistes et des techniciens des laboratoires que j'ai fréquenté pendant ces 4 années et qui ont contribué à me faire aimer le métier de biologiste.

A mes cointernes rouennais, Aurélien, Maud, Charline, Cédric, Ana, Victor, Benoit, Céline...

A mes cointernes amiénois devenus mes amis, Pierre et Vincent.

A mes jeunes cointernes, Gaëtan, Guillaume, Wassim, les 2 Marion avec qui j'ai partagé un ou plusieurs semestres.

A ma cointerne Mathilde, qui a traversée l'épreuve de sa thèse en même temps que la mienne et à qui je souhaite beaucoup de courage pour la suite.

A mes parents, qui m'ont élevés et m'ont permis de réaliser mes rêves.

A Joséphine, qui me supporte, me soutient et m'encourage, et dont je suis très heureux de partager le quotidien.

A mes grands-parents et aux valeurs qu'ils ont su me transmettre dès le plus jeune âge.

A mon frère Benjamin, mon modèle tout simplement.

A l'ensemble des membres de ma famille dont je suis fier de faire partie, aux pièces rapportées, et tout particulièrement à mon oncle.

A la famille Casays, avec qui tout a commencé autour d'un textile.

A la famille Ricker, pour leur loyauté et leurs valeurs.

A mes amis adeptes du ballon orange, Baptiste (parti trop loin), Benjamin (et les pizzas de sa mère), Elliott (qui restera toujours le plus petit), Jérémie (la délicatesse incarnée n°1), Quentin (même avec sa barbe), Romain (qui fait le tour de France des clubs en scénic) et Théophile (la délicatesse incarnée n°2).

A mes amis épiciers, Antoine (devenu presque un membre de ma famille), Romain (le reflet parfait de son classement en 1<sup>ère</sup> année), Koco (qui réussit tout ce qu'il entreprend), Lucie, Noémie, Astrid, et toute la clique...

A mes amis que j'ai rencontré grâce à eux, Jérémy et Joey.

# Table des matières

<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>15</b>
<b>RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	<b>17</b>
<b>I ESCHERICHIA COLI ET INFECTIONS URINAIRES</b> .....	<b>17</b>
<u>I.1</u> <i>E. COLI</i> : ESPÈCE UROPATHOGÈNE.....	17
I.1.1 <i>Définition des infections urinaires et rappels physiopathologiques</i> .....	17
I.1.2 <i>Principale espèce responsable d'infections urinaires</i> .....	18
I.1.3 <i>Caractéristiques bactériologiques</i> .....	19
I.1.4 <i>E. coli : uropathogène</i> .....	20
<u>I.2</u> SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES .....	24
<b>II LE TRIMÉTHOPRIME</b> .....	<b>27</b>
<u>II.1</u> HISTORIQUE .....	27
<u>II.2</u> STRUCTURE ET MÉCANISME D'ACTION .....	28
<u>II.3</u> ACTIVITÉ <i>IN VITRO</i> .....	31
<u>II.4</u> RÉSISTANCE AU TMP .....	34
II.4.1 <i>Résistance naturelle et acquise</i> .....	34
II.4.2 <i>Epidémiologie de la résistance acquise</i> .....	37
<u>II.5</u> PROPRIÉTÉS PHARMACOLOGIQUES .....	40
<u>II.6</u> ACTIVITÉ <i>IN VIVO</i> .....	42
<u>II.7</u> EFFETS INDÉSIRABLES.....	43
<u>II.8</u> PLACE DU TMP DANS L'ANTIBIOTHÉRAPIE DES INFECTIONS URINAIRES .....	44
<b>TRAVAIL PERSONNEL</b> .....	<b>46</b>
<b>I CONTEXTE ET OBJECTIFS</b> .....	<b>46</b>
<b>II MATÉRIEL ET MÉTHODES</b> .....	<b>48</b>
<u>II.1</u> SOUCHIER.....	48
<u>II.2</u> ETUDE DE L'ACTIVITÉ BACTÉRIOSTATIQUE DU TRIMÉTHOPRIME, DU SULFONAMIDE ET DU COTRIMOXAZOLE PAR LA MÉTHODE DES DISQUES.....	49
<u>II.3</u> DÉTERMINATION DE LA CMI DU TRIMÉTHOPRIME ET DU COTRIMOXAZOLE PAR ÉTEST .....	51
<u>II.4</u> ETUDE DE L'ACTIVITÉ BACTÉRICIDE DU TRIMÉTHOPRIME, DU SULFAMÉTHOXAZOLE ET DU COTRIMOXAZOLE .....	52
<b>III RÉSULTATS</b> .....	<b>57</b>
<u>III.1</u> EVALUATION DE L'ACTIVITÉ BACTÉRIOSTATIQUE DU TRIMÉTHOPRIME VIS-À-VIS DE 378 SOUCHES URINAIRES D'E. COLI PAR LA MÉTHODE DES DISQUES .....	57
<u>III.2</u> EVALUATION DE L'ACTIVITÉ BACTÉRIOSTATIQUE DU TRIMÉTHOPRIME ET DU COTRIMOXAZOLE PAR LA DÉTERMINATION DE LA CMI VIS-À-VIS DE 66 SOUCHES DE E. COLI .....	63
III.2.1 <i>CMI du TMP</i> .....	63
III.2.2 <i>CMI du SXT</i> .....	64
<u>III.3</u> EVALUATION DE L'ACTIVITÉ BACTÉRICIDE COMPARÉE DU TRIMÉTHOPRIME, DU SULFAMÉTHOXAZOLE ET DU COTRIMOXAZOLE VIS-À-VIS DE 25 SOUCHES DE E.COLI .....	65
<b>IV DISCUSSION</b> .....	<b>69</b>
<b>V CONCLUSION ET PERSPECTIVES</b> .....	<b>80</b>
<b>RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	<b>81</b>

## Liste des tableaux

TABLEAU N°1 : CMI MOYENNE DU TMP VIS-À-VIS DE PLUSIEURS ESPÈCES BACTÉRIENNES.....	33
TABLEAU N°2 : TAUX DE RÉSISTANCE AU TMP CHEZ LES SOUCHES URINAIRES D' <i>E. COLI</i> EN FRANCE .....	38
TABLEAU N°3 : TAUX DE RÉSISTANCE AU TMP CHEZ LES SOUCHES URINAIRES D' <i>E. COLI</i> EN EUROPE .....	39
TABLEAU N°4 : CONCENTRATION PLASMATIQUE DU TMP EN FONCTION DE LA DOSE ADMINISTRÉE .....	40
TABLEAU N°5 : CONCENTRATION URINAIRE DU TMP EN FONCTION DE LA DOSE ADMINISTRÉE .....	41
TABLEAU N°6 : RECOMMANDATIONS ANTIBIOTIQUES FRANÇAISES 2017 DU TRAITEMENT DES CYSTITES À RISQUE DE COMPLICATION .....	45
TABLEAU N°7 : DIAMÈTRES D'INTERPRÉTATION DU TRIMÉTHOPRIME (TMP), SULFONAMIDE (SUL) ET DU COTRIMOXAZOLE (SXT).....	50
TABLEAU N°8 : PRÉPARATION DES MÉLANGES DE SUSPENSION BACTÉRIENNE ET DE SOLUTION ANTIBIOTIQUE.....	55
TABLEAU N°9 : CHRONOLOGIE DES DIFFÉRENTES ÉTAPES DE L'ÉTUDE DE LA BACTÉRICIDIE DES 3 ANTIBIOTIQUES VIS-À-VIS DE 25 SOUCHES.....	56
TABLEAU N°10 : SENSIBILITÉ DE 378 SOUCHES URINAIRES D' <i>E. COLI</i> AU TRIMÉTHOPRIME (TMP), SULFONAMIDE (SUL) ET AU COTRIMOXAZOLE (SXT).....	57
TABLEAU N°11 : SENSIBILITÉ ET PROFIL DES 145 <i>E. COLI</i> DE L'ÉTUDE BACYST AU TMP, SUL ET SXT .....	58
TABLEAU N°12 : SENSIBILITÉ ET PROFIL DES 233 <i>E. COLI</i> DU SOUCHIER LABO CHU AU TMP, SUL ET SXT .	58
TABLEAU N°13 : TABLEAU RÉCAPITULATIF DES VARIATIONS D'INOCULUM DES 25 <i>E. COLI</i> TESTÉS .....	68

## Liste des figures

FIGURE N°1 : EPIDÉMIOLOGIE DES INFECTIONS URINAIRES COMMUNAUTAIRES.....	18
FIGURE N°2 : EPIDÉMIOLOGIE DES INFECTIONS URINAIRES ASSOCIÉES AUX SOINS .....	19
FIGURE N°3 : PHYSIOPATHOLOGIE DES INFECTIONS URINAIRES .....	22
FIGURE N°4 : STRUCTURE MOLÉCULAIRE DU TRIMÉTHOPRIME .....	29
FIGURE N°5 : SYNTHÈSE DU TÉTRAHYDROFOLATE À PARTIR DU DIHYDROFOLATE GRÂCE À L'ACTION DE LA DHFR.....	29
FIGURE N°6 : LES DIFFÉRENTES LIAISONS DU TMP SUR LA DHFR.....	30
FIGURE N°7 : MÉCANISME D'ACTION DU TRIMÉTHOPRIME .....	31
FIGURE N°8 : DÉMARCHE ANALYTIQUE MISE EN ŒUVRE .....	49
FIGURE N°9 : SCHÉMA REPRÉSENTANT LA DÉTERMINATION DE LA CONCENTRATION MINIMALE INHIBITRICE (CMI).....	52
FIGURE N°10 : RÉSUMÉ DE L'ÉTUDE DE LA BACTÉRICIDIE .....	54
FIGURE N°11 : RÉPARTITION DES DIAMÈTRES DES 378 <i>E. COLI</i> VIS-À-VIS DU TMP (A), DU SUL (B) ET DU SXT (C) .....	60
FIGURE N°12 : COMPARAISON DES DIAMÈTRES D'INHIBITION DU SUL ET DU SXT VIS-À-VIS DE 378 SOUCHES D' <i>E. COLI</i> .....	61
FIGURE N°13 : COMPARAISON DES DIAMÈTRES D'INHIBITION DU TMP ET DU SXT VIS-À-VIS DE 378 SOUCHES D' <i>E. COLI</i> .....	61
FIGURE N°14 : COMPARAISON DES DIAMÈTRES D'INHIBITION DU SUL ET DU TMP VIS-À-VIS DE 378 SOUCHES D' <i>E. COLI</i> .....	62
FIGURE N°15 : DISTRIBUTION DES CMI DU TMP VIS-À-VIS DE 66 SOUCHES URINAIRES D' <i>E. COLI</i> SENSIBLES AU SXT .....	64
FIGURE N°16 : DISTRIBUTION DES CMI DU SXT VIS-À-VIS DE 66 SOUCHES URINAIRES D' <i>E. COLI</i> SENSIBLES AU SXT .....	65
FIGURE N°17 : COURBES DE BACTÉRICIDIE DE LA SOUCHE N°12 .....	67
FIGURE N°18 : RÉPARTITION DES DIAMÈTRES D'INHIBITION POUR LE SXT DE 1484 <i>E. COLI</i> ISOLÉS DE BACTÉRIÉMIES .....	73

## Abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique  
AFSSAPS : Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé  
AMM : Autorisation de mise sur le marché  
ANSES : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail  
ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé  
APEC : Avian pathogenic *Escherichia coli*  
ASMR : Amélioration du service médical rendu  
BHRe : Bactéries hautement résistantes émergentes  
BLSE : Bêta-lactamase à spectre étendu  
BMR : Bactérie multi-résistante  
CASFM : Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie  
CMI : Concentration minimale inhibitrice  
DHF : Dihydrofolate  
DHFR : Dihydrofolate réductase  
DHPS : Dihydroptéroate synthétase  
dTMP : D-Thymidine monophosphate  
dTTP : D-Thymidine triphosphate  
EBLSE : Entérobactérie productrice d'une bêta-lactamase à spectre étendu  
ECBU : Examen cytbactériologique des urines  
ECDC : European centre for disease prevention and control  
EPC : Entérobactérie productrice d'une carbapénémase  
ERG : *Enterococcus faecium* résistant aux glycopeptides  
ET : Ecart-type  
ExPEC : Extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli*  
FDR : Facteur de risque  
HAS : Haute autorité de santé  
InPEC : Intestinal pathogenic *Escherichia coli*  
InVS : Institut de veille sanitaire  
IU : Infection urinaire  
IUM : Infection urinaire masculine  
MH : Mueller-Hinton  
MHB : Mueller-Hinton Broth  
NMEC : Neonatal meningitis associated *Escherichia coli*  
OMS : Organisation mondiale de la santé  
ONERBA : Observatoire national de l'épidémiologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques  
PPI : Pour préparation injectable  
SMR : Service médical rendu  
SMX : Sulfaméthoxazole  
SUL : Sulfonamide  
SXT : Cotrimoxazole  
THF : Tétrahydrofolate  
TMP : Triméthoprime  
TSA : Trypto-caséine soja  
UFC : Unité formant colonie  
UPEC : Uropathogen *Escherichia coli*

## Introduction

Les infections urinaires (IU) sont de loin les infections les plus souvent rencontrées dans la population générale. Elles touchent chaque année dans le monde 150 millions de personnes (129, 44). Une étude britannique révèle que 37% des femmes de plus de 16 ans rapportent avoir déjà eu au moins une infection urinaire au cours de leur vie, 11% au cours de l'année précédente, et 3% présentent au moins 3 épisodes annuels (25). Une seconde étude, américaine, fait état d'une incidence annuelle de 10.8% chez les femmes de 18 ans et plus (45).

*Escherichia coli* est la bactérie la plus souvent rencontrée dans les infections urinaires, qu'elles soient communautaires (70-95% des cas) ou associées aux soins (41-60% des cas) (44, 72, 126).

Face à l'augmentation du taux de résistance aux antibiotiques, à l'émergence de bactéries multi-résistantes (BMR) (En France, en 2014, 6.2% des souches d'*E. coli* isolées de prélèvements à visée diagnostique étaient productrices d'une bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE) (104)), et à la rareté de la commercialisation de nouveaux antibiotiques (9), on est amené à réintroduire d'anciens antibiotiques dans l'arsenal thérapeutique.

Le triméthoprime (TMP) fait partie de ces anciens antibiotiques dont la commercialisation fut arrêtée un temps et qui sont remis sur le marché. Sa réintroduction a pour objectif de compléter l'arsenal thérapeutique afin de préserver l'utilisation d'autres antibiotiques (notamment ceux à spectre antibactérien plus étendu comme les fluoroquinolones et les céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération). Sa remise sur le marché a également pour but de diminuer l'apparition d'effets indésirables du cotrimoxazole (SXT)



dans lequel il est actuellement commercialisé en association avec le sulfaméthoxazole (SMX) et pour lequel les principaux effets indésirables graves sont causés par le SMX.

Cependant, les données épidémiologiques concernant l'activité *in vitro* du TMP sont rares et anciennes du fait de son absence dans certains pays dont la France et de son utilisation majoritairement en association avec le SMX.

Après quelques rappels bibliographiques sur *E. coli* et sur le TMP, sera présenté mon travail dédié à fournir de nouvelles données microbiologiques évaluant l'activité bactériostatique et l'activité bactéricide du TMP vis-à-vis d'une collection de souches d'*E. coli* isolées d'examens cytbactériologiques des urines réalisés entre 2011 et 2016.

# Rappels Bibliographiques

## I. *Escherichia coli* et infections urinaires

### I.1 *E. coli* : espèce uropathogène

#### I.1.1 Définition des infections urinaires et rappels physiopathologiques

Une IU est définie par la présence de bactéries à un taux significatif (dont le seuil dépend de la bactérie et du contexte clinique) dans les urines associée à un tableau symptomatologique (dysurie, pollakiurie, ...). Les IU sont classées selon la présence ou non de facteurs de risques (FDR) de complication (anomalie de l'arbre urinaire, sexe masculin, grossesse, sujet âgé « fragile », insuffisance rénale, immunodépression grave) (27, 126).

Ainsi, en l'absence de FDR de complication, il existe les cystites simples qui correspondent aux infections vésicales et les pyélonéphrites simples où l'infection concerne également au moins l'un des deux reins.

En présence de FDR de complication, sont définies les cystites à risque de complication, les pyélonéphrites à risque de complication et les infections urinaires masculines (IUM).

Les cystites récidivantes sont définies par la survenue d'au moins 4 épisodes de cystite dans les 12 derniers mois.

Les IU se développent principalement par un mécanisme ascendant : elles sont causées par des bactéries qui remontent l'arbre urinaire à contre courant. La plupart d'entre elles sont des bactéries issues du tube digestif qui colonisent le périnée.

### I.1.2 Principale espèce responsable d'infections urinaires

*E. coli* est l'espèce bactérienne la plus souvent rencontrée dans les IU, avec ou sans risque de complication (116).

*E. coli* est la bactérie la plus souvent retrouvée dans l'ensemble des IU communautaires (Figure n°1). Une étude américaine rapporte que *E. coli* est responsable de 74.4% des IU communautaires (46).

Dans l'étude normande BACYST menée entre 2011 et 2012 chez des patientes présentant une cystite simple communautaire, *E. coli* a été en cause dans 79% (n = 157/199) des cas (39).

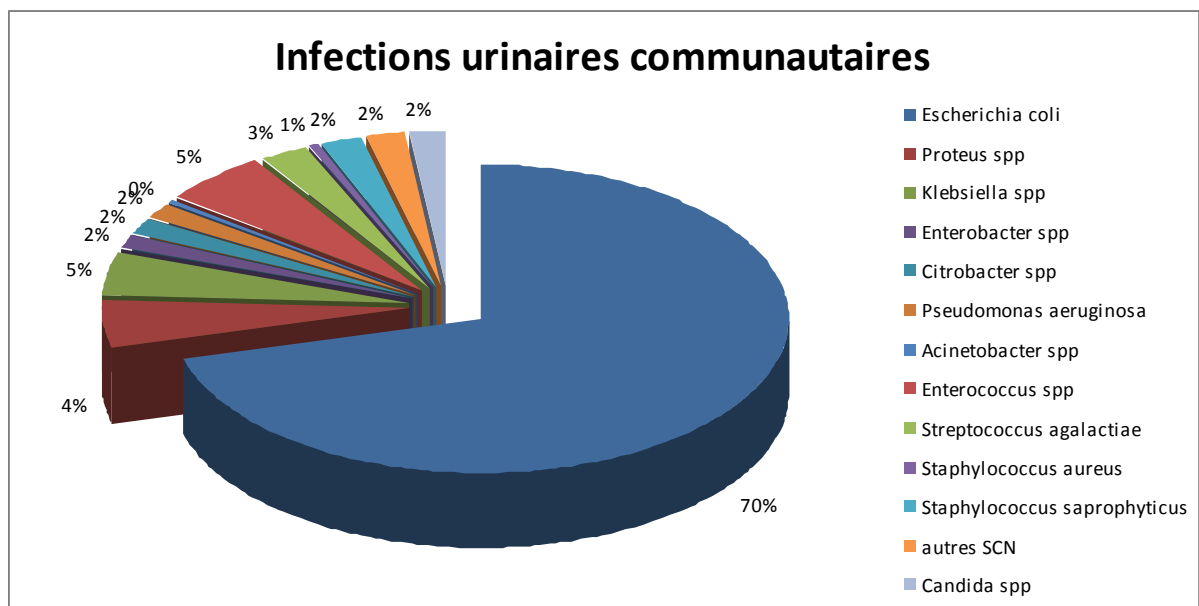


Figure n°1 : Epidémiologie des infections urinaires communautaires (7).

*E. coli* est aussi la bactérie la plus souvent mise en cause dans les IU associées aux soins (Figure n°2). En milieu hospitalier français, *E. coli* est rencontré dans 41 à 60% des infections urinaires (66, 73). Aux Etats-Unis, *E. coli* est retrouvé dans 65% des IU acquises à l'hôpital et 47% des IU associées aux soins (46).

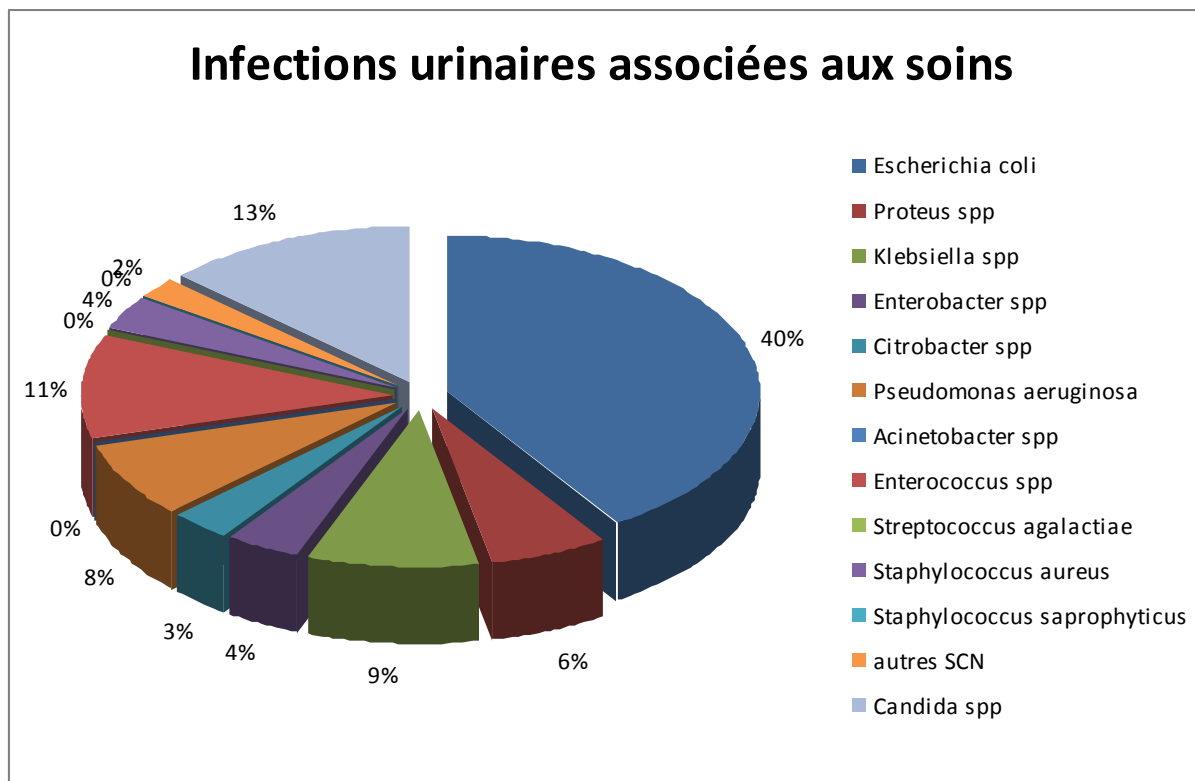


Figure n°2 : Epidémiologie des infections urinaires associées aux soins (66).

### 1.1.3 Caractéristiques bactériologiques

Découvert en 1885 par un pédiatre et bactériologiste austro-germanique Theodore Escherich, *E. coli* est un bacille à gram négatif appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* et constituant majeur de la flore digestive (90% chez l'Homme, 56% chez les autres mammifères, 23% chez les oiseaux et 10% chez les reptiles) (92). Surnommé

"colibacille", son nom d'espèce "coli" signifie "issu du côlon". Cette bactérie est sans aucun doute la bactérie la plus connue et la plus étudiée au monde : *E. coli* a été l'objet d'étude de 11 prix Nobel. Le prix Nobel Jacques Monod (1965) qui élucida la régulation de l'expression des gènes a dit "Tout ce qui est vrai pour le Colibacille est vrai pour l'éléphant" (73).

Grâce à la présence de ses flagelles, *E. coli* est une entérobactérie mobile à ciliature péritriche (à l'exception du biovar *alkalescens dispar*) (37).

La plasticité de son génome lui a permis d'acquérir des gènes de virulence qui définissent des pathotypes mais aussi des gènes de résistance qui sont à l'origine de souches multi-résistantes.

Il existe une dizaine de pathotypes d'*E. coli*, que l'on peut classer en deux groupes :

- Les *E. coli* entériques (InPEC : intestinal pathogenic *E. coli*) avec 7 pathotypes.

- Les *E. coli* extra intestinaux (ExPEC : extra-intestinal pathogenic *E. coli*) avec 3 pathotypes : UPEC (uropathogen *E. coli*), NMEC (neonatal meningitis associated *E. coli*), et APEC (avian pathogenic *E. coli*) (73).

Cette revue décrira uniquement les *E. coli* uropathogènes, UPEC.

#### **1.1.4 *E. coli* : uropathogène**

De manière générale, les bactéries uropathogènes retrouvées dans les infections urinaires non compliquées ont la capacité de se fixer directement sur l'épithélium vésical, grâce à la présence de certains facteurs de virulence communs (96). Les infections urinaires

compliquées surviennent dans des conditions particulières telles que la présence de matériel étranger (cathéter), d'une lithiase rénale ou vésicale ou d'une rétention urinaire sur obstruction mécanique (44) (Figure n°3), les bactéries responsables de ces infections présentent également des facteurs de virulence communs (96).

*E. coli* présente de nombreux facteurs de virulence lui conférant cette uropathogénicité directe (44). Au sein de l'espèce *E. coli*, les souches UPEC présentent davantage de facteurs de virulence que les *E. coli* entériques (71).

Les infections urinaires commencent typiquement par une colonisation de l'urètre par une bactérie uropathogène d'origine intestinale. Grâce à la présence de certains facteurs de virulence, la bactérie remonte le tractus urinaire jusqu'à la vessie (44).

Les différents facteurs de virulence des UPEC peuvent être classés selon leur rôle dans l'établissement de l'IU.

Peuvent tout d'abord être distingués de multiples protéines ou structures de surface.

- les pili de type 1, codés par les gènes *fim*, lui permettent d'adhérer à l'urothélium via des récepteurs contenant du mannose (1, 8, 55). Ces pili sont retrouvés dans la très grande majorité des *E. coli* (98%), qu'ils soient de pathotype urinaire ou non (139).
- Les pili de type P, codés par les gènes *Pap* (pyelonephritis-associated pili), se lient à des récepteurs ne contenant pas de mannose mais des glycophospholipides qui se trouvent au niveau de l'épithélium rénal. Ils sont principalement retrouvés dans les souches responsables de pyélonéphrites. Le gène *papA* est retrouvé chez 63 % à 67 % des souches responsables d'infections urinaires (cystites et pyélonéphrites), contre seulement 26.4 % des souches d'origine entérique (139).

- D'autres fimbriae ou adhésines ont été décrites (131) comme l'Ag43 et l'agglutinine Hra (heat-resistant agglutinin), retrouvée chez 43 à 58 % des souches d'*E. coli* responsables de cystites, 66 % des *E. coli* responsables de pyélonéphrites et seulement 28 % des *E. coli* entériques (127, 131).

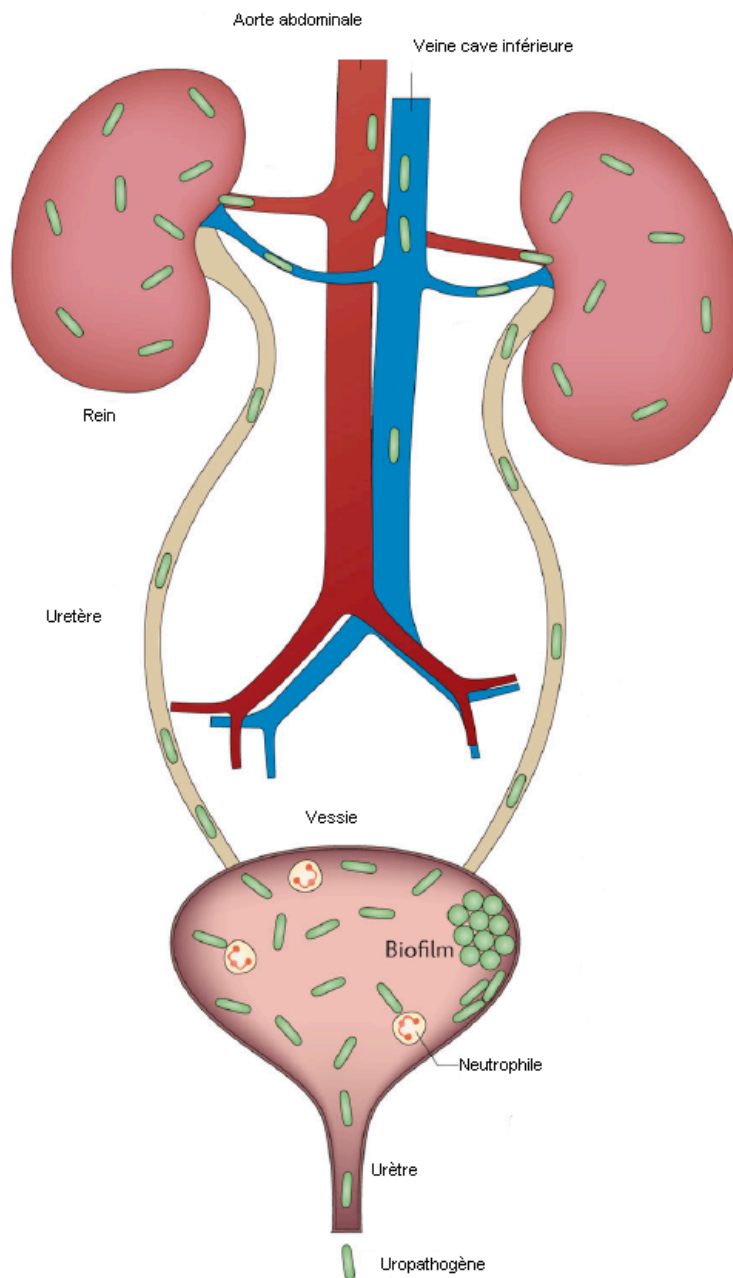


Figure n°3 : Physiopathologie des infections urinaires (44).

Une fois adhérees, une faible proportion de cellules bactériennes va entrer dans la cellule de l'hôte, s'y multiplier et les détruire via deux toxines majeures : le « cytotoxic necrotizing factor 1 (CNF1) codé par le gène *cnf1*, et l'alpha-hémolysine codée par le gène *hly* (91). L'alpha-hémolysine permet la lyse des hématies et la libération de nutriments. Elle participe ainsi à la survie de *E. coli*. C'est également le rôle des protéases et des sidérophores (aérobactine et la yersiniabactine) (44). Les sidérophores permettent à la bactérie de récupérer le fer de l'hème et de le détourner pour sa croissance.

Sous l'action des pili de type 1 et d'une adhésine nommée Ag 43, *E. coli* est capable de former un pseudo-biofilm (IBCs : intracellular bacterial communities), le protégeant ainsi des polynucléaires neutrophiles et des antibiotiques, et garantissant sa survie (44, 89).

*E. coli* peut changer de morphologie en prenant une forme filamenteuse, ce qui le protège de l'action des polynucléaires neutrophiles et lui permet de coloniser de nouvelles cellules (44).

En réponse à l'infection, l'hôte développe une forte réponse pro-inflammatoire que les UPEC ont capacité de supprimer. Les UPEC sont capables d'échapper à la reconnaissance immunitaire en se cachant dans les cellules ou en se recouvrant de structure de surface immunogènes comme le biofilm. La capsule et le lipopolysaccharide (LPS) (certains AgO en particulier) ont par ailleurs un rôle clef dans leur résistance à la phagocytose.

Ces différents facteurs de virulence ne sont pas constamment présents chez l'ensemble des *E. coli* responsable d'infections urinaires. Par exemple, les gènes de virulence *fimH* (adhésine), *aer* (codant pour l'aérobactin) et *fliC* (flagelle) sont respectivement retrouvés dans 100%, 73.1% et 67.3% des souches d'*E. coli* UPEC. (133). A contrario, les *E. coli* UPEC sont



dépourvus de facteurs de virulence intervenant dans d'autres types d'infections. C'est le cas du gène *cdtB* (0%), plus souvent rencontré chez les souches entériques InPEC (80).

Les souches responsables de cystites présentent des facteurs de virulence sensiblement différents des souches responsables de pyélonéphrites. Le gène codant pour la toxine *cnfI* est présent chez 32.4% des souches responsables de cystites contre 13% des souches responsables de pyélonéphrites. A l'inverse, le gène *sat* codant pour la toxine sat (secreted auto-transporter toxin) qui permet la lyse des cellules tubulaires rénales proximales est plus souvent présent chez les souches responsables de pyélonéphrites (51.9 % contre 32.4 % chez les souches responsables de cystites) (131).

Cette différence s'observe également pour les gènes codant les récepteurs membranaires d'adhésion du fer. Le gène *hma* codant pour le récepteur de l'hème Hma est présent chez 81.1 % des souches responsables de cystites contre 61 % chez les souches responsables de pyélonéphrites. A l'inverse, le gène *iha* codant pour le récepteur au fer de la membrane externe Iha est retrouvé davantage chez les souches responsables de pyélonéphrites (55.8 % des cas) que chez les souches responsables de cystites (37.8 % des cas) (139).

## I.2 Sensibilité aux antibiotiques

Etant une bactérie gram négatif, *E. coli* est naturellement résistant à certains antibiotiques comme les glycopeptides (vancomycine, teicoplanine).

*E. coli* est naturellement sensible à de nombreuses classes d'antibiotiques : les bêta-lactamines, les fluoroquinolones, les aminosides, les sulfamides, le triméthoprime, la fosfomycine.

Les résistances les plus préoccupantes concernent la famille des bêta-lactamines. *E. coli* appartient au groupe 1 des entérobactéries (115). Les souches sauvages d'*E. coli* possèdent un gène codant une céphalosporinase chromosomique AmpC qui ne s'exprime qu'à très bas niveau, elles sont de fait sensibles à la plupart des bêta-lactamines d'usage courant (sauf la pénicilline G et la pénicilline V). Cependant, plusieurs mécanismes de résistance acquise altèrent l'activité des différentes bêta-lactamines. Le principal mécanisme de résistance acquise est la production enzymatique d'une bêta-lactamase (pénicillinase, céphalosporinase, bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE), carbapénémase, oxacillinase). La présence de ces résistances acquises varie et dépend notamment de l'exposition antérieure aux antibiotiques. L'observatoire national de l'épidémiologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques (ONERBA) suit l'évolution de ces résistances, notamment au travers de réseaux de laboratoires. Ainsi en 2015, d'après les données du réseau MedQual regroupant 351 laboratoires d'analyses médicales de ville répartis sur le territoire français, *E. coli* isolé en routine dans les prélèvements à visée diagnostique présente un taux de résistance à l'amoxicilline de 42.6 % (89465/210188), à l'amoxicilline-clavulanate de 17.3 % (35649/206176), au céfixime de 5.2 % (9750/186982), au ceftriaxone de 4.3 % (8360/194795), et à la ceftazidime de 1.7 % (3477/199275) (104). De manière générale, la résistance de *E. coli* aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération augmente en France, étant passée de 0.8 % en 2002 à 11 % en 2015 selon le centre européen pour la prévention et le contrôle des maladies (ECDC) (40). Un pourcentage non négligeable des souches urinaires isolées d'infections communautaires sont producteurs d'une BLSE (3.3 % en 2013, n = 51463). Le taux d'*E. coli* producteurs de BLSE augmente également au fil des années (1.36 % en 2005, 6.2 % en 2014) dans l'ensemble des prélèvements à visée diagnostique (104). Concernant la résistance aux carbapénèmes, 0.07 % (n = 90148) des isolats cliniques d'*E. coli* étaient résistants aux carbapénèmes entre 2011 et 2012, ces souches étaient principalement isolées en

centre hospitalier (58/61) (114). Cette résistance concerne une faible proportion d'*E. coli*, mais elle concerne des antibiotiques à très large spectre et de dernière ligne, exposant au risque d'impasse thérapeutique. Les souches d'*E. coli* résistantes aux carbapénèmes par production de carbapénémases sont des bactéries hautement résistantes émergentes (BHRe). Les BHRe sont définies comme étant des bactéries commensales du tube digestif, résistantes à de nombreux antibiotiques, avec des mécanismes de résistance aux antibiotiques transférables entre bactéries, émergentes selon l'épidémiologie connue, c'est-à-dire n'ayant diffusé en France que sous un mode sporadique ou un mode épidémique limité. Ainsi, on considère comme BHRe les Entérobactéries productrices de carbapénémases (EPC) dont *E. coli* et les *Enterococcus faecium* résistants aux glycopeptides (ERG) (57).

*E. coli* isolé des urines en 2015 dans le cadre du réseau MedQual présente un taux de résistance de 9.3 %, 14,2 %, 14.7 % et 16.9 % pour respectivement la ciprofloxacine, l'ofloxacine, la norfloxacine et l'acide nalidixique. (104). L'ECDC fait état d'un taux de résistance global d'*E. coli* aux fluoroquinolones en France en 2015 de 17.7 % avec une cinétique croissante puisqu'en 2002, cette résistance ne concernait que 8.2 % des *E. coli* (40).

La résistance associée de *E. coli*, tout prélèvement confondus, aux C3G, aux fluoroquinolones et aux aminoglycosides est passée de 0.2 % en 2002 à 3.9 % en 2015 en France (40).

Par ailleurs, en 2015 *E. coli* présente un taux de résistance de 20 % pour le SXT (41249/205910), 1 % pour la nitrofurantoïne (1897/199572) et 1.2 % pour la fosfomycine (2312/200968) dans les prélèvements isolés à visée diagnostique dans les laboratoires de ville du réseau MedQual (104). Le réseau REUSSIR regroupant 28 établissements de soins (3 centres hospitalo-universitaires, 21 centres hospitaliers généraux, 3 hôpitaux des armées et 1

structure participant au service public) fait état d'un taux de résistance des souches urinaires de *E. coli* au pivmecillinam de 11.5 % en 2011, 11 % en 2012 et 7.2 % en 2013 (16).

Cette augmentation du taux de résistance des bactéries est probablement liée à la consommation importante d'antibiotiques, surtout les antibiotiques les plus souvent prescrits comme les bêta-lactamines qui concernent 70 % des prescriptions globales d'antibiotiques en France en 2015, et les fluoroquinolones. Cette consommation est notamment liée à la prise en charge des infections urinaires. Dans ce contexte, d'anciennes molécules refont leur apparition dans l'arsenal thérapeutique comme la témocilline et le triméthoprime.

## **II. Le Triméthoprime**

### **II.1 Historique**

Le TMP est un antibiotique synthétisé en 1956 par Hitchings et Bushby (35).

Il a été commercialisé pour la première fois en 1968 d'emblée en association avec le sulfaméthoxazole. Le TMP a été commercialisé seul dès les années 1980 en Europe au Royaume-Uni et dans les pays scandinaves (Finlande, Suède), mais également en Amérique du nord à la posologie de 300 mg/j dans le traitement des infections urinaires (28).

En France, le TMP a été mis sur le marché en juillet 1981 sous le nom de WELLCOPRIM<sup>®</sup> pour le traitement des infections urinaires non compliquées de l'adulte,

mais sa commercialisation a été arrêtée, en 1983 pour la boîte de 10 comprimés, puis en mars 2003 pour la boîte de 5 comprimés (137). Une demande d'abrogation de l'AMM par le laboratoire (SANOFI AVENTIS) qui le commercialisait a été envoyée à l'Afssaps en 2009 qui l'a refusé en 2010. En 2013, l'exploitation du TMP a été reprise par un autre laboratoire (LISAPHARM). Dans son avis du 22 juin 2016, la commission de la transparence de la Haute Autorité de Santé (HAS) a attribué un service médical rendu (SMR) important au TMP (56). Le SMR est un critère qui prend en compte plusieurs aspects : la gravité de la pathologie pour laquelle le médicament est indiqué et les données propres au médicament (efficacité, effets indésirables, place dans la stratégie thérapeutique, intérêt pour la santé publique). Le SMR peut être majeur, important, modéré, faible ou insuffisant. L'amélioration de service médical rendu (ASMR) correspond au progrès thérapeutique apporté par un médicament. L'ASMR peut être majeur (ASMR I), importante (ASMR II), modérée (ASMR III), mineure (ASMR IV) ou inexistante (ASMR V). Le TMP s'est vu obtenir une ASMR inexistante. Enfin, l'arrêté du 21 mars 2017 modifiant la liste des spécialités pharmaceutiques remboursables aux assurés sociaux a ajouté le TMP, sous le nom commercial de DELPRIM®, à la liste des médicaments remboursables aux assurés sociaux. Ce remboursement vaut pour le traitement des cystites aiguës non compliquées de la femme adulte et de l'adolescente (74).

## II.2 Structure et mécanisme d'action

Le TMP est un médicament de la famille chimique des diamino-pyrimidines comme la pyriméthamine, l'azathioprine et le methotrexate (35). Sa structure chimique est la 2,4-diamino-5-[(3',4',5'-trimethoxyphenyl)methyl]pyrimidine (Figure n°4).

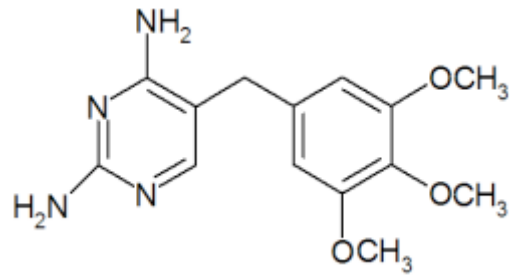


Figure n°4 : Structure moléculaire du triméthoprim (35).

Le TMP agit en inhibant la synthèse des acides nucléiques et des protéines en inhibant la synthèse microbienne de l'acide tétrahydrofolique (THF ou acide folinique) à partir de l'acide dihydrofolique (DHF ou acide folique). Grâce au cofacteur NADPH,H<sup>+</sup>, la dihydrofolate réductase (DHFR) permet l'hydrogénation du C6 et du N5 du DHF (95) (Figure n°5).

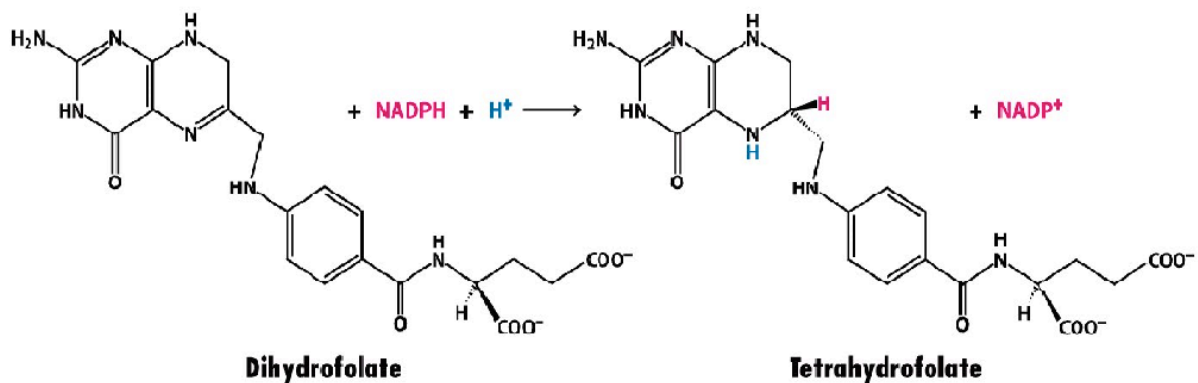


Figure n°5 : Synthèse du tétrahydrofolate à partir du dihydrofolate grâce à l'action de la DHFR (14).

Le TMP se fixe à la DHFR au niveau de l'acide aspartique Asp-27 par son atome d'azote en position 1. Une liaison se crée ensuite entre le composé 2-NH<sub>2</sub>, l'acide aspartique Asp-27 et une molécule d'H<sub>2</sub>O. la molécule d'H<sub>2</sub>O se lie ensuite à la thréonine Thr-113 de la DHFR. Deux liaisons sont également formées entre le composé 4-NH<sub>2</sub> du TMP et les acides

aminés isoleucine Ile-5 et Ile-94 de la DHFR (32, 93, 94) (Figure n°6). Ces différentes liaisons perturbent la conformation de la DHFR (120), inhibant son action au niveau du DHF.

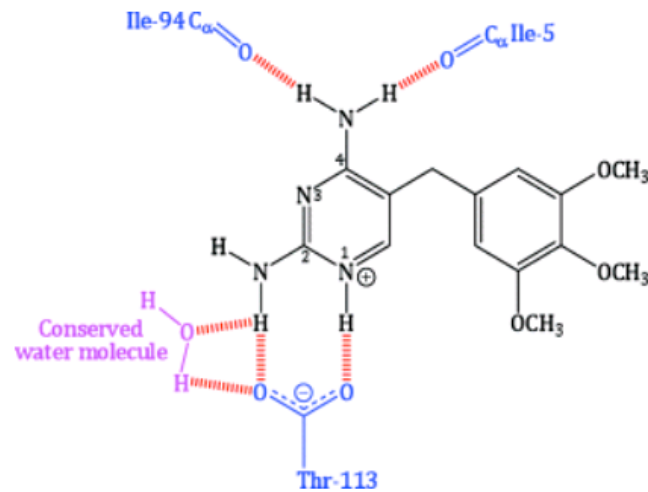


Figure n°6 : les différentes liaisons du TMP sur la DHFR (32, 93, 94).

L'acide tétrahydrofolique formé est indispensable à la synthèse du dTMP (D-Thymidine monophosphate), précurseur du dTTP (D-Thymidine triphosphate) qui est nécessaire à la synthèse de l'ADN (Figure n°7).

D'autre part, l'acide tétrahydrofolique va s'associer à des cofacteurs et permettre la synthèse des bases puriques (ADN) et des protéines (52).

Le SMX inhibe la synthèse de l'acide dihydrofolique en inhibant l'action de la dihydroptéroate synthase (DHPS) (Figure n°7).

Le SMX et le TMP agissent ainsi à deux étapes consécutives de la synthèse des folates, expliquant leur activité synergique.

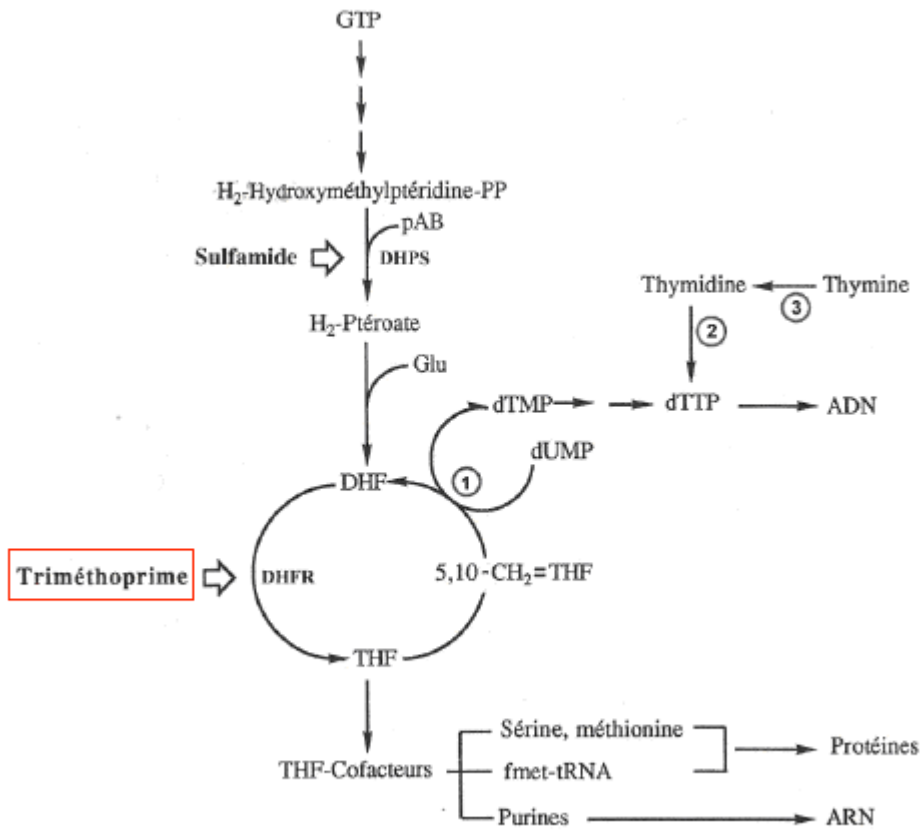


Figure n°7 : Mécanisme d'action du triméthoprim (35) (1 : thymidilate synthétase ; 2 : thymidine kinase ; 3 : thymidine phosphorylase).

### II.3 Activité *in vitro*

Le spectre antibactérien regroupe l'ensemble des bactéries naturellement sensibles à l'action du TMP. Ce spectre est relativement large ; il concerne à la fois des bactéries à Gram négatif, et des bactéries à Gram positif. La sensibilité d'une bactérie vis-à-vis d'un antibiotique est évaluée par la mesure de la concentration minimale inhibitrice (CMI). En ce qui concerne le TMP, la CMI varie en fonction de la teneur en thymidine du milieu de culture. La meilleure concentration en thymidine serait de 0,05 mg/L de milieu (26).



Les bactéries à gram positif naturellement sensibles au TMP sont les staphylocoques, les streptocoques (*S. pyogenes*, *S. pneumoniae*, *Streptococcus* non groupables et *E. faecalis*), et *C. diphtheriae* (26).

Les bactéries à gram négatif naturellement sensibles au TMP sont la plupart des entérobactéries (dont *E. coli*), *Haemophilus influenzae*, *Pasteurella*, *Vibrio* (26).

Le TMP présente des CMI variables vis-à-vis des différentes espèces bactériennes (Tableau n°1).

Germe	CMI moyenne du TMP (mg/L)
<i>S. aureus</i>	0.4
<i>E. faecalis</i>	0.4
<i>S. pneumoniae</i>	0.7
<i>S. pyogenes</i>	2
<i>N. gonorrhoeae</i>	40
<i>N. meningitidis</i>	40
<i>H. influenzae</i>	0.02
<i>E. coli</i>	0.04
<i>K. pneumoniae</i>	0.4
<i>C. freundii</i>	0.2
<i>P. mirabilis</i>	2
<i>E. aerogenes</i>	0.2
<i>B. fragilis</i>	2
<i>C. perfringens</i>	2

Tableau n°1 : CMI moyenne du TMP vis-à-vis de plusieurs espèces bactériennes (26)

La CMI<sub>50</sub> (concentration minimale inhibitrice nécessaire pour inhiber 50 % de l'ensemble d'une population bactérienne) et la CMI<sub>90</sub> (concentration minimale inhibitrice nécessaire pour inhiber 90 % de l'ensemble d'une population bactérienne) du TMP vis-à-vis de *E. coli* sont variables selon les études. Elles sont de 0.125 mg/L et 0.5 mg/L

respectivement (n = 37) (38) dans une étude de Dornbusch en 1971. Tandis qu'elles sont supérieures dans une étude menée en 1983 par Chin *et al.* : 0,4 mg/L pour la CMI<sub>50</sub>, et de 50 mg/L pour la CMI<sub>90</sub> (34).

La CMI<sub>50</sub> et la CMI<sub>90</sub> du TMP vis-à-vis de souches d'*E. coli* productrices de BLSE sont égales à 32 mg/L (105).

Le TMP a une activité bactéricide vis-à-vis de *E. coli* pour des concentrations dès 1 µM (soit 0,29 mg/L, masse molaire = 290,32 g/mol) (121). Bushby *et al.* a montré que le TMP était bactéricide vis-à-vis de *E. coli* à la concentration de 3 mg/L (22). À titre de comparaison, le TMP ne présente qu'une activité bactéricide partielle vis-à-vis de *Neisseria gonorrhoeae* pour des concentrations de 16 mg/L et 32 mg/L (48).

## II.4 Résistance au TMP

### II.4.1 Résistance naturelle et acquise

#### **Résistance naturelle au TMP :**

Les bactéries déficientes en thymidilate synthétase (enzyme catalysant la formation du dTMP à partir du dUMP (Figure n°7)) sont auxotrophes pour la thymidine, et naturellement résistantes au TMP (2, 134). Les bactéries faisant appel à d'autres voies de synthèse des folates et ne faisant pas intervenir la DHFR sont également naturellement résistantes au TMP (51, 53, 100). C'est le cas des germes suivants : *Burkholderia*, *Acinetobacter*, *Campylobacter*, *Legionella*, *Brucella*, *Helicobacter*, *Neisseria*, *Bacillus*, *Actinomyces*, Mycobactéries, *Bacteroides*, *Chlamydia*, *Coxiella*, *Rickettsia*, *Ehrlichia*, *Bartonella*, *Borrelia*, *Treponoma* (52).

Chez *Stenotrophomonas* et *Nocardia*, on observe une résistance naturelle au TMP mais généralement à bas niveau avec une persistance de l'activité synergique avec le sulfamide, c'est la raison pour laquelle le cotrimoxazole est utilisé en clinique (52).

Chez *Pseudomonas*, la résistance naturelle est due à une faible affinité du TMP pour la DHFR, et/ou à une faible perméabilité de la bactérie et/ou à un efflux actif (52).

### **Résistance acquise au TMP :**

Comme pour la plupart des antibiotiques, il existe plusieurs mécanismes de résistance au TMP.

Il existe tout d'abord la modification quantitative de la cible. *E. coli* est capable d'accroître la production de sa DHFR naturelle. La DHFR va alors se retrouver en excès par rapport au TMP exposé. Le TMP va alors être en quantité insuffisante pour inhiber l'intégralité des DHFR produites, et va être inefficace. Dès 1985, Steen *et al.* ont mis en évidence un haut niveau de résistance au TMP (CMI > 100 mg/L) par surproduction de la DHFR (x80) (130), confirmé en 1987 par Flensburg *et al.* (43).

*E. coli* est également capable de devenir résistant au TMP par diminution de la perméabilité membranaire par modification des porines. Ce mécanisme de résistance est présent vis-à-vis de nombreux antibiotiques (aminosides, macrolides, fluoroquinolones,...) et la résistance par imperméabilité touche généralement plusieurs familles d'antibiotiques à la fois. Le TMP ne pouvant plus entrer dans le cytoplasme de la bactérie, ne peut pas aller inhiber la DHFR cytoplasmique.

*E. coli* est également capable de devenir résistant au TMP par surexpression de pompes d'efflux. Le TMP est alors chassé de la cellule avant de pouvoir exercer son activité

au niveau de la DHFR. Ce mécanisme de résistance concerne plusieurs familles d'antibiotiques à la fois (110).

Enfin, *E. coli*, comme la plupart des bactéries pouvant acquérir une résistance au TMP, est capable de modifier qualitativement la cible de l'antibiotique. Il s'agit du principal mécanisme de résistance acquise au TMP chez *E. coli*. La DHFR produite est alors modifiée, le TMP ne peut plus l'inhiber. Ce mécanisme de résistance s'opère grâce à la modification chromosomique du gène codant la DHFR par mutations ou bien par l'acquisition de gènes exogènes plasmidiques (3). La production d'une DHFR modifiée d'origine plasmidique est mise en évidence chez 9% des souches d'*E. coli* résistantes au TMP dès 1979 par Grey et al. (54). L'acquisition de gènes exogènes codant des DHFR résistantes au TMP, gènes *dfr*, est le mécanisme de résistance au TMP le plus souvent rencontré chez *E. coli* et confère une résistance de haut niveau (20, 88). De nombreuses DHFR d'origine plasmidique ont été mises en évidence (5, 6, 33, 62, 63, 67). Nous en comptons actuellement plus d'une trentaine classés en 2 familles, DfrA et DfrB (17). Les gènes codant ces différentes DHFR sont portés par des intégrons de classes I ou II (64, 123) et peuvent être seuls ou associés à des gènes de résistance à d'autres antibiotiques (132). En effet, les intégrons portant les gènes *dfr* peuvent porter des gènes de résistance à d'autres antibiotiques comme les sulfamides, la streptomycine, l'ampicilline, le chloramphénicol (106), ou les aminosides (119).

Ces gènes de résistance se propagent efficacement sous forme de cassettes dans des intégrons et sur des transposons et des plasmides. Il existe également des échanges d'ADN par transformation et recombinaison de gènes entiers ou de fragments de gènes formant des structures de gènes en mosaïque.

Ainsi, l'épidémiologie des DHFR résistantes au TMP est variable. Elle dépend notamment des régions géographiques étudiées.

Par exemple le gène *dfpA7*, codant la DHFR7, est peu présent dans certains pays comme la Finlande (0-2% des *E. coli* résistants au TMP) (58, 59), l'Australie (5% des *E. coli* résistants au TMP) (13) ou l'Espagne (3.6% des *E. coli* résistants au TMP) (140). En Afrique, le gène de résistance *dfpA7* est plus souvent rencontré chez les souches d'*E. coli* résistantes au TMP : 18.7% au Nigeria (85), 33.3% au Sénégal (49) et 38% en Afrique du Sud (4) (83).

Il est difficile de savoir laquelle des DHFR est la plus souvent retrouvée chez les souches d'*E. coli* urinaires car les études menées n'ont pas recherché les mêmes DHFR systématiquement. Ainsi, Blahna *et al.* retrouvent en 2006 une majorité de *DfpA1* (45% des cas) suivi du gène *DfpA17* dans 35% des cas (15). En 2010, Brolund *et al.* retrouvent le gène *DfpA1* dans 34% des cas et le gène *DfpA17* dans 26% des cas (17). De même Sundqvist *et al.*, en 2014, ont étudié les gènes *Dfp* de 200 souches urinaires d'*E. coli* résistantes au TMP et ont retrouvé le gène *DfpA1* dans 36% des cas et le gène *DfpA17* dans 23% des cas (132). Dans la même année, Hae Won Shin a mis en évidence le gène *DfpA17* chez 79% des *E. coli* urinaires résistants au TMP à l'hôpital de Chungnam en Corée (122).

De plus, plusieurs gènes *Dfp*, codant pour une DHFR résistante au TMP, peuvent être retrouvés simultanément chez une même souche (111).

#### **II.4.2 Epidémiologie de la résistance acquise**

Plus commercialisé depuis 1990, l'ONERBA n'étudie pas l'épidémiologie de la résistance au TMP, celui-ci n'étant non encore disponible sur le marché français. L'ECDC n'étudie pas non plus l'épidémiologie de la résistance au TMP. C'est la raison pour laquelle les principales données émanent d'études locorégionales ou étrangères.

Ainsi, très peu d'études françaises se sont intéressées au taux de résistance au triméthoprimé chez les souches urinaires d'*E. coli*. Les données disponibles de l'étude européenne ECO SENS portant sur des souches urinaires d'*E. coli* communautaires affichent un taux de résistance de 15-17%, globalement stable depuis 2000 (75, 76, 77) (Tableau n°2).

Pays	année	taux de résistance (%)		
		Co-T	TMP	Sulfonamides
France	2000	15,1	<b>15,6</b>	31,7
	2014		<b>17,5</b>	

Tableau n°2 : Taux de résistance au TMP chez les souches urinaires d'*E. coli* en France (75, 76, 77).

En Europe, ce taux de résistance varie de 5.5% à 46% selon les pays et les études (tableau n°3) avec une résistance moyenne aux alentours de 20%. Ce taux de résistance a tendance à augmenter entre 2000 et 2014, en particulier au Royaume-Uni et dans les pays scandinaves, où le TMP est utilisé.

Pays	année	taux de résistance (%)		
		Co-T	TMP	Sulfonamides
Allemagne	2000	21	<b>22,5</b>	34,8
	2014		<b>36,8</b>	
Autriche	2000	9,5	<b>9,5</b>	25,4
	2007(8)	14,4	<b>15,8</b>	21,2
Belgique	2000	14,6	<b>13,9</b>	32,8
Danemark	2000	8,2	<b>10,6</b>	21,2
	2009(12)	27	<b>27</b>	
Espagne	2000	25,7	<b>25,1</b>	48,7
	2014		<b>37,3</b>	
Finlande	2000	4,9	<b>5,5</b>	15,4
Grèce	2000	11,4	<b>13,6</b>	19,7
	2007	18,2	<b>19,1</b>	23,4
Irlande	2000	20,8	<b>22,1</b>	40,3
	2009(10)		<b>36,3</b>	
Norvège	2000	11,3	<b>13,1</b>	25
Portugal	2000	26,7	<b>26,7</b>	44,2
	2007(8)	16,7	<b>17,4</b>	31,3
Royaume-Uni	2000	12,2	<b>13,3</b>	31,7
	2007(8)	14,4	<b>14,9</b>	26,4
	2014		<b>46</b>	
Suède	2000	8,3	<b>8,8</b>	16,6
	2007(8)	16,3	<b>16,3</b>	22,7
Suisse	2000	18,9	<b>18,9</b>	16,6

Tableau n°3 : Taux de résistance au TMP chez les souches urinaires d'*E. coli* en Europe (75, 76, 77, 90, 136).



Ces résultats sont confirmés par des études réalisées dans des zones plus éloignées, comme en Australie avec un taux de résistance moyen au TMP de 20.6% chez des souches urinaires d'*E. coli* isolées en milieu communautaire et de 21.3% chez des souches urinaires d'*E. coli* isolées en milieu hospitalier entre 2009 et 2013 (41).

Du fait de son spectre relativement large, la consommation de TMP présente un impact sur le microbiote mais de façon comparable au SXT. En effet, dès 1984 Huovinen met en évidence une émergence d'entérobactéries résistantes au TMP dans la flore fécale de patients traités par TMP (61).

## II.5 Propriétés pharmacologiques

Après administration *per os*, le TMP est rapidement et presque totalement absorbé. La présence du bol alimentaire ne semble pas retarder l'absorption. (138)

Les concentrations sériques maximales sont atteintes en 1 à 4 heures et sont fonction de la dose administrée (Tableau n°4). Après une prise unique par voie orale de 300 mg, elles sont comprises entre 3 et 3,60 mg/L (138).

Dose	Terrain/ association	voie	concentrations plasmatiques (mg/L)									
			pic plasma	C 30min	C 1h	C 2h	C 3h	C 4h	C 6h	C 8h	C 12h	C 24h
2,7-3,6mg/kg	Enfant/ sulfadiazine	po	0,5									0,1
100mg	Adulte jeune	po		0,68-0,88	1,02-1,19	1,01-1,18		0,85-1,14		0,42-0,79		0,2-0,24
200mg	Adulte jeune	po		1,06-1,52	2,07-2,39	1,97-2,57		1,49-2,03		1,04-1,58		0,36-0,43
80mg	Adulte jeune/ SMZ 400mg	po		0,41-0,57	0,68-0,78	0,65-0,87		0,63-0,79		0,49-0,60		0,14-0,19
160mg	Adulte jeune/ SMZ 800mg	po		0,16-1,09	1,59-1,82	1,62-1,64		1,42-1,53		0,99-1,21		0,37-0,41
400mg	Adulte/SMZ	po	3,5 à 2,9h		2,45	3,21	3,13	3,1	2,74	2,5	2,1	1,12
400mg		po	3,90 3,4h									

Tableau n°4 : Concentration plasmatique du TMP en fonction de la dose administrée (12, 70, 78).

La demi-vie plasmatique est comprise entre 9 et 17 heures, elle est plus importante chez l'adulte que chez l'enfant. La liaison aux protéines plasmatiques est entre 40 et 50 %. Les concentrations tissulaires sont généralement supérieures aux concentrations plasmatiques correspondantes, notamment dans les poumons (x3), les reins et les tissus prostatiques (x1.5 à x3) (26, 97). Les concentrations en TMP sont également supérieures aux concentrations plasmatiques dans la bile (113), la salive, les expectorations, le liquide prostatique, l'urine (Tableau n°5) et les sécrétions vaginales. Le TMP diffuse également dans le liquide céphalorachidien et le placenta.

Dose	association	voie	concentrations urinaires (mg/L)						
			0-2h	2-4h	0-4h	4-6h	4-8h	8-24h	C 24h
2,7-3,6mg/kg	sulfadiazine	po							10
									2
100mg		po			72,6-101,6		56,8-72	43,9-55,6	
200mg		po			117-211,1		106,1-140,5	80,6-100,2	
80mg	SMZ 400mg	po			58,3-76,4		45,6-57,7	32,1-42,4	
160mg	SMZ 800mg	po			101,6-138,8		60,3-91,3	63,7-82,9	
240mg	SMZ 1200mg	po	55	70		198			
200mg		po	18,79 à 41,59 (0-4, 4-8, 8-12 et 12-24)						

Tableau n°5 : Concentration urinaires du TMP en fonction de la dose administrée (18, 70, 141).

La métabolisation hépatique du TMP consiste en une O-déméthylation, une N-oxydation, une alpha-hydroxylation. Cette biotransformation ne concerne que 10 à 20 % du TMP absorbé (26).

L'élimination est principalement urinaire (60 % de la dose administrée en 24 heures) et se fait surtout sous forme non métabolisée (60 à 70 % de la dose éliminée). Seule une faible fraction est éliminée dans les fécès (26, 141).

## II.6 Activité *in vivo*

Dès les années 80, l'efficacité équivalente du TMP par rapport au SXT a été mise en évidence chez des patients atteints d'IU et d'infection pulmonaire. Dans une étude de Lacey *et al.*, Le taux de guérison à 7 jours dans le groupe ayant reçu 100 mg 2 fois par jour de TMP pendant 5 jours (59 %, 13/22 patients) est équivalent au taux de guérison du groupe ayant reçu en plus 500 mg de SMX 2 fois par jour pendant 5 jours (60 %, 12/20 patients) chez des patients atteints d'IU (84, 101).

Dans le cadre de la prise en charge prophylactique des cystites récidivantes, l'efficacité du TMP à la posologie de 100 mg par jour a été mise en évidence par rapport au SXT (association de 40 mg de TMP et de 200 mg de SMX) et à la nitrofurantoïne (100 mg) (128).

Récemment, En 2005 en Nouvelle-Zélande Richards *et al.* (112) ont montré le bénéfice du TMP à la posologie de 300 mg/j pendant 3 jours vis-à-vis d'un placebo chez des femmes présentant des signes fonctionnels urinaires avec une bandelette urinaire négative (VPN élevée dans population étudiée : 92 %).

## II.7 Effets indésirables

Les effets indésirables les plus fréquents du TMP sont les nausées, les vomissements et les gastralgies (138).

Le TMP peut être à l'origine de troubles généraux sans caractère habituel de gravité, des hyponatrémies (11) et des hyperkaliémies (19, 109).

Des manifestations cutanées (prurit, rash maculopapulaire) chez 3 à 7 % des patients survenant en général 7 à 14 jours après le début du traitement ont été rapportées (79). Exceptionnellement, des réactions cutanées graves ont été rapportées (érythème polymorphe, nécrose épidermique toxique (syndrome de Lyell), syndrome de Stevens Johnson, érythème pigmenté fixe) (60, 99, 102, 142).

Le TMP peut exceptionnellement être à l'origine d'atteintes oculaires sous forme d'uvéites antérieures bilatérales (10, 82, 107).

Par ailleurs, de rares cas de réactions anaphylactiques ont été décrits chez des patients sous TMP (124), tout comme des cas de méningites aseptiques (42, 81, 87).

De par son mécanisme d'action, le TMP peut également diminuer la concentration sérique de folates pouvant entraîner une anémie (98).

Le TMP présente globalement moins d'effets indésirables que le SXT, les effets de ce dernier (toxicité hématologique et hypersensibilité notamment) étant liés au composé sulfamide (79, 84).

Enfin, le TMP présente une tératotoxicité, à l'origine de sa contre-indication les 2 premiers mois de grossesse (135).

## II.8 Place du TMP dans l'antibiothérapie des infections urinaires

Le TMP est présent dans plusieurs pays du monde, cependant il possède une indication dans le traitement des infections urinaires seulement dans certains pays. C'est le cas de l'Australie (117), la Nouvelle-Zélande (50), le Danemark, l'Irlande, la Norvège ou le Royaume-uni (28).

En Australie, le TMP est recommandé en 1<sup>ère</sup> intention des infections urinaires basses chez les personnes âgées à la posologie de 300 mg le soir (pour maximiser la concentration urinaire) pendant 3 à 7 jours chez les femmes et 14 jours chez les hommes, ainsi qu'en antibioprophylaxie des infections urinaires récidivantes à raison de 150 mg le soir (117). Le TMP est également recommandé dans les infections urinaires chez les enfants à raison de 4 mg/kg (avec une posologie maximale de 150 mg) deux fois par jour (118).

En Nouvelle-Zélande le TMP est recommandé pour le traitement des cystites non compliquées à la posologie de 300 mg/j pendant 3 jours, et pour le traitement des cystites gravidiques (hors 1<sup>er</sup> trimestre) pendant 7 jours. (50).

Dans d'autres pays comme aux Etats-Unis, bien que disponible sur le marché, le TMP n'est actuellement pas recommandé à la place du cotrimoxazole dans la prise en charge des infections urinaires (65).

En Europe, le TMP est présent dans les recommandations nationales pour le traitement des cystites simples au Danemark, en Irlande, en Norvège et en Grande Bretagne (28).

En France, depuis juin 2017, le triméthoprime est recommandé, au sein de l'arsenal thérapeutique disponible pour la prise en charge des infections urinaires, dans les indications suivantes (27) :

- Traitement des cystites à risque de complication, après réalisation de l'antibiogramme, en 5<sup>ème</sup> intention. (Tableau n°6)

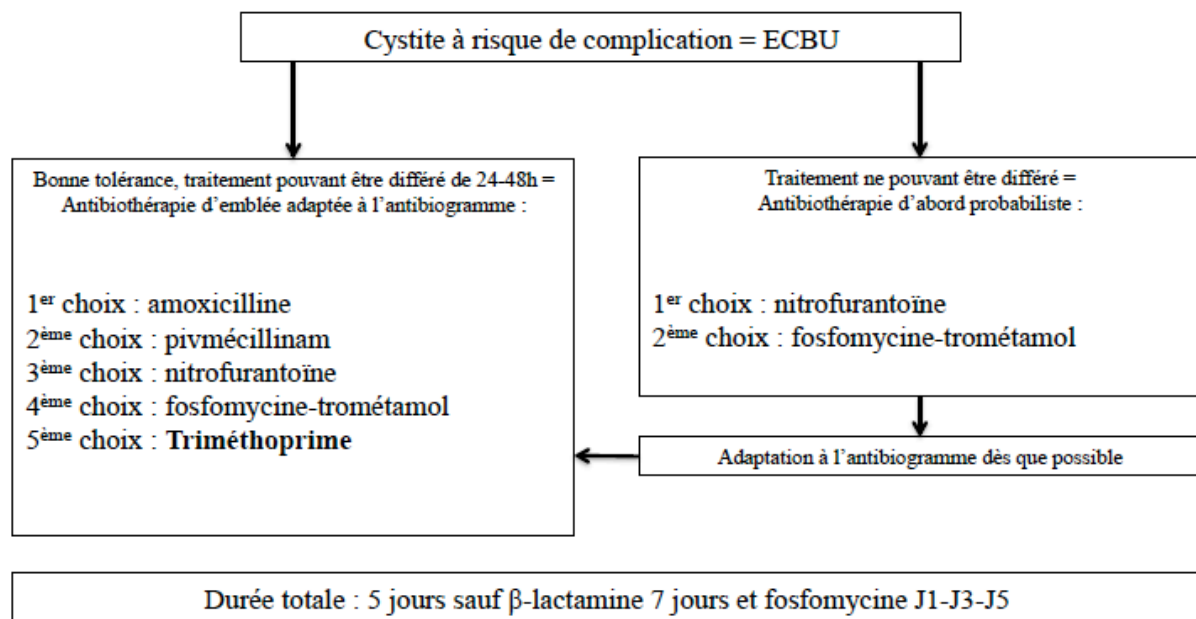


Tableau n°6 : Recommandations antibiotiques françaises 2017 du traitement des cystites à risque de complication (27).

- Traitement des cystites gravidiques, après réalisation de l'antibiogramme, en 3<sup>ème</sup> intention, sauf pendant les 2 premiers mois de grossesse.
- Traitement des colonisations urinaires gravidiques, selon l'antibiogramme, en 4<sup>ème</sup> intention, sauf pendant les 2 premiers mois de grossesse.
- Antibioprophylaxie des cystites récidivantes en 1<sup>ère</sup> intention à la posologie de 150 mg/j.

# Travail personnel

## I. Contexte et objectifs

Contexte :

Les autorités sanitaires internationales et nationales sont aujourd'hui alertées de l'émergence des bactéries multi-résistantes conduisant à des impasses thérapeutiques du fait notamment que la commercialisation de nouveaux antibiotiques est ralentie depuis plusieurs décennies.

Dans son plan d'action mondial pour combattre la résistance aux antimicrobiens, l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) prône la recherche et le développement de nouveaux médicaments antimicrobiens, actuellement délaissée par les industries pharmaceutiques. Ce plan d'action mondial indique également qu'il faut optimiser l'usage des médicaments antimicrobiens déjà disponibles (103). En France, l'ANSM (Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé) l'ANSES (Agence nationale de sécurité sanitaire alimentation, environnement, travail) et Santé publique France (ex InVS) ont publié en novembre 2016 un rapport sur la consommation d'antibiotiques et sur la résistance aux antibiotiques en France. Tout en rappelant la pénurie de nouveaux antibiotiques, ces agences déplorent la forte consommation d'antibiotiques en France malgré les multiples campagnes publicitaires, et mettent en garde sur l'émergence des BMR (EBLSE) et des Bactéries hautement résistantes émergentes (BHRe) (9).

Dans ce contexte, d'anciens antibiotiques tels que la colistine sont réintroduits dans l'arsenal thérapeutique. Le TMP fait également son retour, mais dans un autre registre. Celui-ci trouverait sa place dans la prise en charge des infections urinaires. Le TMP permettrait de diminuer la consommation des sulfamides antibiotiques (sulfaméthoxazole), réduisant ainsi la survenue d'évènements indésirables graves, tout en garantissant une activité antimicrobienne comparable à l'association TMP-SMX. L'utilisation de manière raisonnée du TMP pourrait épargner l'ajout du sulfamide dont l'utilité est de prévenir l'émergence de mutants résistants. De par son spectre antibactérien étroit, il réduit de manière générale l'émergence des BMR.

Cependant, les données sur l'activité *in vitro* du TMP sont peu nombreuses et la plupart des études sont anciennes, datant de sa commercialisation dans les années 70-80 (24, 34, 47, 68). Peu de travaux récents ont étudié l'activité bactériostatique du TMP (75, 76, 77, 90, 136) ; seule une étude allemande a étudié l'activité bactéricide du TMP (141).

Dans ce contexte, les objectifs de ce travail ont été d'enrichir les données épidémiologiques françaises sur la résistance des souches urinaires d'*E. coli* vis-à-vis du TMP :

- En étudiant l'activité bactériostatique comparée (par diffusion en milieu gélosé) du TMP, du sulfonamide (SUL) et du SXT vis-à-vis de 378 souches.
- En déterminant la CMI du TMP et du SXT vis-à-vis de 66 souches sensibles au SXT et de profil variable de sensibilité au TMP et au SUL.
- Et en comparant l'activité bactéricide du TMP, du SMX et du SXT vis-à-vis de 25 souches sensibles au SXT et de profil variable de sensibilité au TMP et au SMX.



## II. Matériel et méthodes

### II.1 Souchier

Pour ce travail, 3 souchiers d'*E. coli* isolés d'ECBU ont été utilisés (Figure n°8) :

- Cent quarante cinq souches ont été isolées lors de cystites simples non récidivantes diagnostiquées en milieu communautaire entre 2009 et 2010 dans le cadre du protocole d'étude BACYST (39). Ces souches ont été recueillies chez des femmes de 18 à 65 ans présentant des signes d'infection urinaire, dans le cadre d'une leucocyturie supérieure à  $10^4$ /mL et pour une bactériurie à *E. coli*  $\geq 10^3$  UFC/mL (39).
- Deux cents trente trois souches ont été isolées consécutivement chez des patients hospitalisés à partir d'ECBU de milieu de jet ou recueillis sur sonde adressés au laboratoire de bactériologie du CHU de Rouen entre novembre 2013 et janvier 2014. Ces souches correspondent à des colonisations urinaires, des cystites, des pyélonéphrites ou des infections urinaires masculines.
- Enfin, 45 souches ont été extraites du souchier constitué lors de l'étude VITALE, une étude prospective multicentrique ayant pour but de déterminer chez des patients souffrant d'infection urinaire si l'antibiorésistance de la souche mise en cause est corrélée à l'exposition antérieure du patient aux antibiotiques. Ces 45 souches ont été isolées d'ECBU monomicrobiens entre septembre 2015 et décembre 2016 dans le cadre de pyélonéphrites simples ou compliquées et d'infections urinaires masculines.

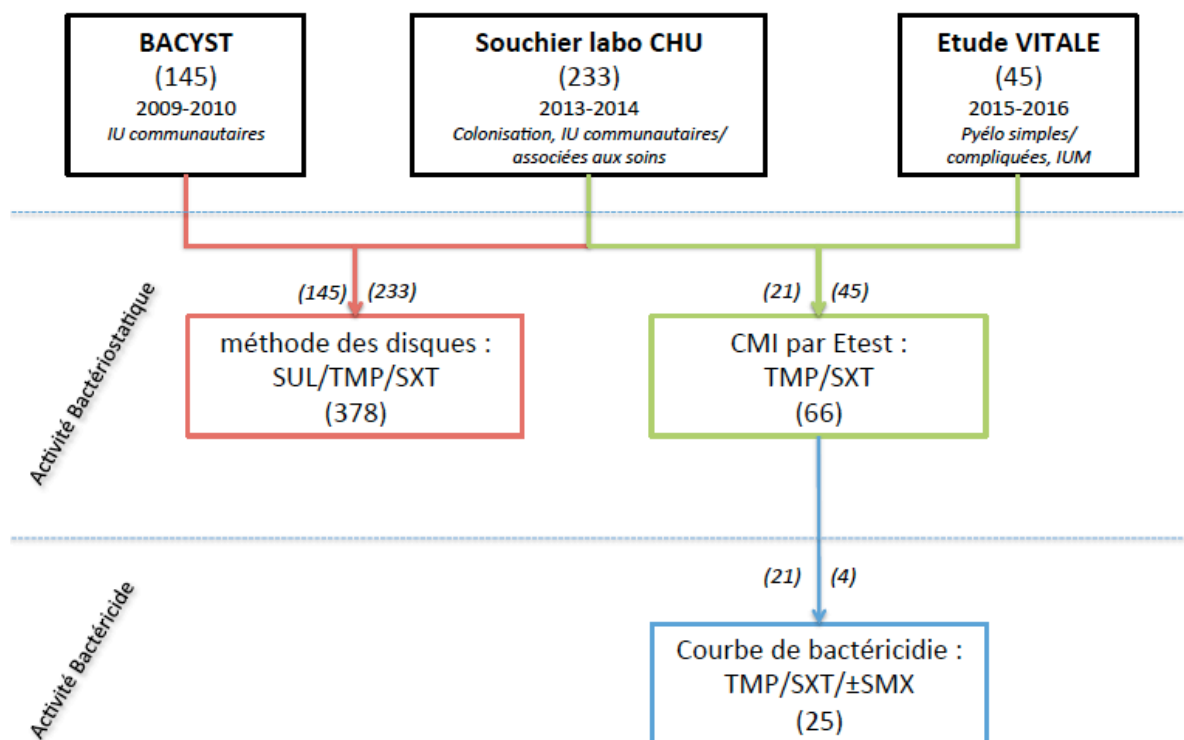


Figure n°8 : Démarche analytique mise en œuvre

(IU : Infection Urinaire ; IUM : Infection Urinaire Masculine ; SUL : Sulfonamide ; TMP : Triméthoprime ;  
SXT : Cotrimoxazole ; SMX : Sulfaméthoxazole)

## II.2 Étude de l'activité bactériostatique du TMP, du SUL et du SXT par la méthode des disques

La sensibilité au TMP, au SUL et au SXT a été déterminée chez 145 souches issues du souchier BACYST et chez 233 souches issues du souchier du laboratoire de bactériologie du CHU de Rouen. La sensibilité a été déterminée par la méthode des disques en milieu gélosé Mueller-Hinton (MH) (Biorad) selon les recommandations du CA-SFM 2015.

Les souches ont été décongelées et ensemencées sur milieu Trypto-caséine Soja (TSA). L'inoculum a été obtenu à partir d'une suspension bactérienne en NaCl de 0.5 McFarland (ce qui correspond à environ  $1.10^8$  UFC/mL) pour *E. coli* (30). L'inoculation des géloses a été faite directement à partir de la suspension bactérienne, à l'aide d'un écouvillon. Les disques de TMP étaient chargés à 5µg, les disques de SXT étaient chargés à 1,25µg(TMP)-23,75µg(SMX) et les disques de SUL étaient chargés à 200µg.

Les géloses ont été incubées à 35 +/-2°C en aérobiose pendant 16 à 24h.

La mesure des zones d'inhibition a été faite à l'œil nu à l'aide d'un pied à coulisse, au niveau de la complète inhibition de la culture, même si un antagonisme dû au milieu, peut conduire à des colonies minuscules autour du disque. Ce type de croissance a été ignoré et le diamètre de la zone d'inhibition mesuré là où la bordure était nette (30).

Chaque souche a été classée comme sensible, intermédiaire ou résistante selon les règles d'interprétation définies par le CA-SFM 2015 pour le TMP et le SXT. Pour le SUL, les règles d'interprétation les plus récentes correspondaient à celles définies par le CA-SFM 2010 (Tableau n°7).

Antibiotique	Diamètres critiques (mm)		
	R	I	S
TMP	< 15	15 ≤ diamètre < 18	≥ 18
SUL	< 12	12 ≤ diamètre < 17	≥ 17
SXT	< 13	13 ≤ diamètre < 16	≥ 16

Tableau n°7 : Diamètres d'interprétation du triméthoprime (TMP), sulfonamide (SUL) et du cotrimoxazole (SXT) (29, 30).

Les souches de sensibilité intermédiaire à un antibiotique donné seront comptabilisées avec les souches résistances.

La comparaison des diamètres d'inhibition du SXT a été réalisée par comparaison de deux moyennes observées indépendantes selon la loi normale centrée réduite quand les

échantillons étaient supérieurs ou égaux à 30 et selon la loi de Student quand l'un des deux échantillons au moins était inférieur à 30.

### II.3 Détermination de la CMI du TMP et du SXT par E-test

La détermination de la CMI du TMP et du SXT a été réalisée chez 21 souches issues du soucier du laboratoire de bactériologie du CHU de Rouen et chez 45 souches issues de l'étude VITALE (Figure n°8). La détermination de la CMI du TMP et du SXT a été effectuée selon les recommandations de fabricant (Biomérieux) grâce à l'utilisation de bandelette Etest<sup>®</sup> de concentration croissante de TMP +/- SMX en milieu gélosé MH en utilisant un inoculum standardisé à 0.5 McFarland. L'inoculation des géloses a été faite directement à partir de la suspension bactérienne, à l'aide d'un écouvillon.

Les géloses ont été incubées à 35 +/-2°C en aérobiose pendant 16 à 24 heures.

La CMI correspondait à la valeur de la concentration d'antibiotique qui se situait à l'intersection de l'ellipse d'inhibition avec la bandelette (Figure n°9) et était interprétée selon les recommandations du CA-SFM 2015

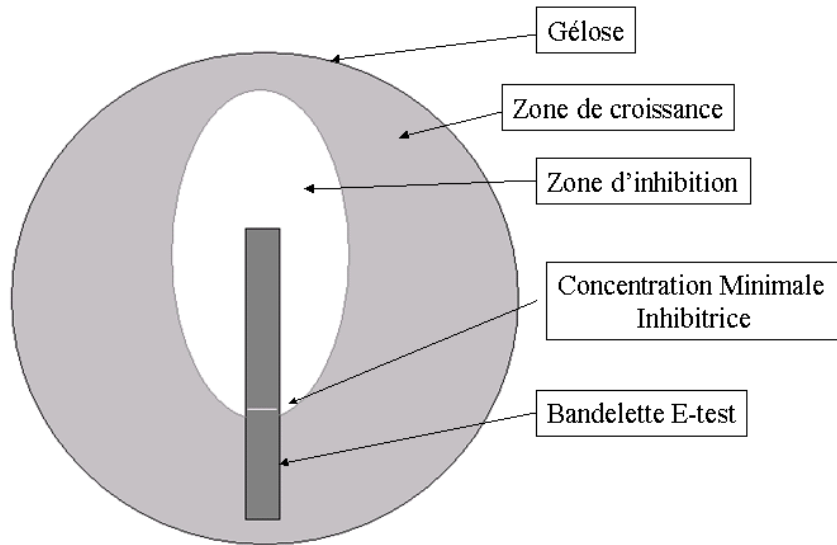


Figure n°9 : Schéma représentant la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).

Pour que la souche soit catégorisée « sensible », la concentration mesurée devait être inférieure ou égale à 2 mg/L. Pour qu'elle soit catégorisée « résistante », la CMI mesurée devait être strictement supérieure à 4 mg/L(30) pour le TMP et pour le SXT.

#### II.4 Étude de l'activité bactéricide du TMP, du SMX et du SXT

Trois séries de tests ont été réalisées pour évaluer l'influence :

- de la concentration du TMP et du SMX
- du rapport des concentrations de TMP et SMX dans l'association SXT
- et du profil de résistance au SMX (évalué avec le disque de SUL) et au TMP des souches

Douze souches ont été exposées à une concentration en TMP de 1,9 mg/L et une concentration en SMX de 36,1 mg/L, avec un rapport des concentrations de 1TMP/19SMX. Quatre d'entre elles étaient sensibles aux 3 antibiotiques (TMP, SUL et SXT), 4 étaient R-TMP, S-SUL et S-SXT, et 4 étaient S-TMP, R-SUL et S-SXT (Figure n°10).

Neuf souches R-SUL (S-TMP et S-SXT) ont été exposées à une concentration en TMP de 40 mg/L et une concentration en SMX de 80 mg/L, avec un rapport des concentrations de 1TMP/2SMX (Figure n°10).

Quatre souches sensibles aux 3 antibiotiques ont été exposées à une concentration en TMP de 40 mg/L et une concentration en SMX de 200 mg/L, avec un rapport des concentrations de 1/5 (TMP/SMX) (Figure n°10).

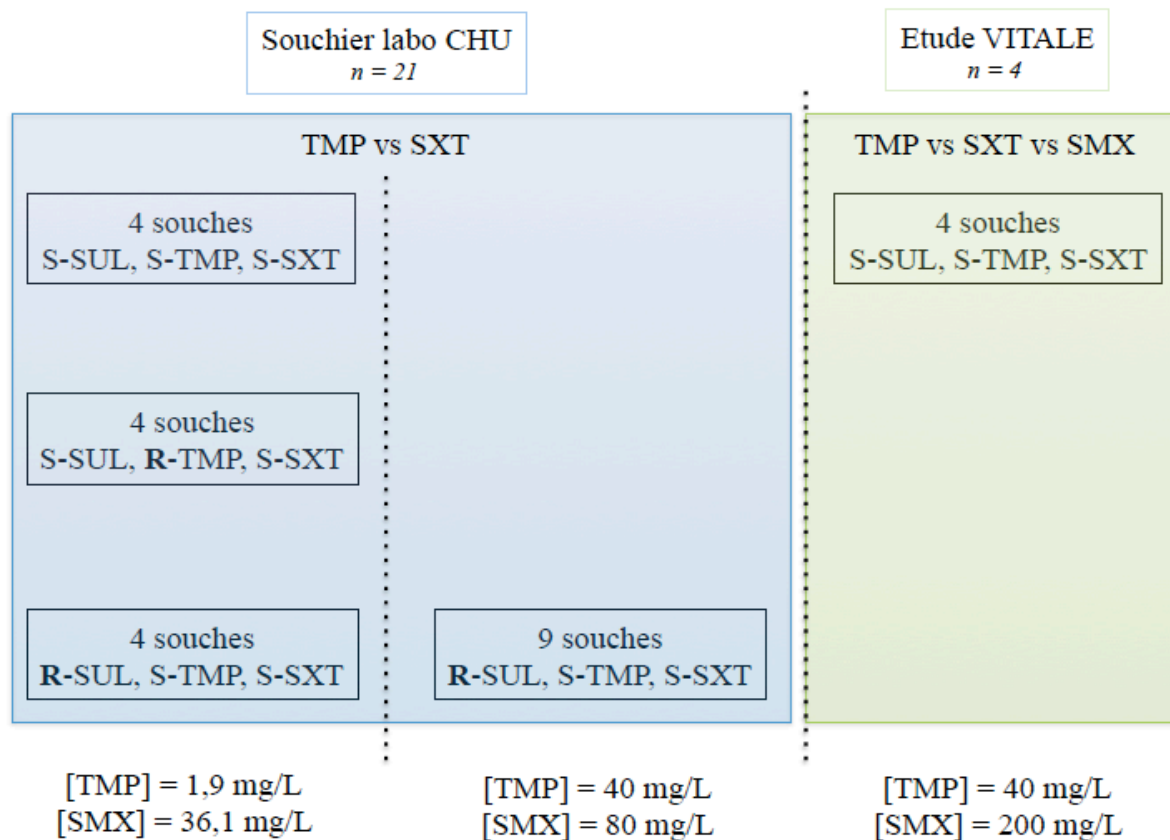


Figure n°10 : Résumé de l'étude de la bactéricidie

(TMP : triméthoprime ; SUL : sulfonamide ; SXT : cotrimoxazole ; SMX : sulfaméthoxazole)

Après avoir été décongelées sur gélose TSA, les souches ont fait l'objet d'une culture d'une nuit en milieu liquide Mueller Hinton Broth (MHB). Cette culture a ensuite été diluée dans du MHB pur afin d'obtenir une suspension étalonnée à 0,5 McFarland ( $10^8$  UFC/mL), puis diluée au 1/5 dans du MHB afin d'obtenir une suspension de  $2 \cdot 10^7$  UFC/mL. Un millilitre de cette suspension a été inoculé dans 20mL de solution d'antibiotique (concentration bactérienne finale attendue de  $10^6$  UFC/mL) (Tableau n°8).

Les solutions d'antibiotiques ont été préparées à partir de solutions de 200 mL de concentrations 20 fois supérieures aux concentrations finales. La poudre de TMP a été diluée

dans 200 mL d'eau pour préparation injectable (PPI) telle que recommandée par le fournisseur (SIGMA-ALDRICH). La poudre de SMX a été diluée dans 200 mL d'une solution contenant 1 volume d'éthanol pur pour 49 volumes d'eau PPI telle que recommandée par le fournisseur (SIGMA-ALDRICH).

La solution témoin présente un volume de 2 mL et correspond à 1 volume d'éthanol pur pour 49 volumes d'eau PPI.

Le tableau n°8 illustre la préparation des suspensions bactériennes exposées aux antibiotiques.

	<b>Erlenmeyer Témoin</b>	<b>Erlenmeyer TMP</b>	<b>Erlenmeyer SXT</b>	<b>Erlenmeyer SMX</b>
<b>Inoculum (<math>2 \cdot 10^7</math> UFC/mL)</b>	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL
<b>Solution témoin</b>	2 mL			
<b>Solution SMX (20x)</b>			1 mL	1 mL
<b>Solution TMP (20x)</b>		1 mL	1 mL	
<b>Solution SXT (20x)</b>				
<b>Solution MHB</b>	17 mL	18 mL	17 mL	18 mL
<b>Volume final</b>	20 mL	20 mL	20 mL	20 mL

Tableau n°8 : Préparation des mélanges de suspension bactérienne et de solution antibiotique

(UFC : unité formant colonie ; SMX : sulfaméthoxazole ; TMP : triméthoprimine ; SXT : cotrimoxazole ; MHB : Mueller Hinton Broth)

Les suspensions ont été incubées à 37°C (+/-2°C) pendant 24 heures sur un agitateur rotatif à 150 rotations par minute.

L'activité bactéricide du TMP, du SXT et du SMX a été déterminée par dénombrement après 24 heures (H24), voire après 6 heures (H6) d'inoculation à 37°C. Cent



microlitres de la suspension pure et de dilutions successives ( $10^{-1}$  à  $10^{-10}$ ) de cette suspension réalisées en NaCl 0,9% ont été ensemencés sur 2 géloses TSA. Le dénombrement des bactéries survivantes a été effectué après 24h d'incubation des géloses à 37°C, et rapporté à un nombre d'UFC/mL en tenant compte des dilutions effectuées et du volume (0,1 mL) ensemencé. Après conversion à l'échelle logarithmique, une courbe de bactéricidie a été réalisée pour chacune des 25 souches (Tableau n°9).

J0	décongélation
J1	culture d'une nuit
J2	mise en place de l'étude ; dénombrement de l'inoculum à H0
J2 + 6h	dénombrement des survivants à H6
J3	dénombrement des survivants à H24 lecture des géloses de H0
J3 + 6h	lecture des géloses de H6
J4	lecture des géloses de H24

Tableau n°9 : Chronologie des différentes étapes de l'étude de la bactéricidie des 3 antibiotiques vis-à-vis de 25 souches.

Une molécule ou une association de molécules est définie comme étant bactéricide lorsqu'une réduction de l'inoculum bactérien d'au moins 3  $\log_{10}$  UFC est observée après 24 heures d'exposition à l'antibiotique.

Une molécule ou une association de molécules est définie comme étant bactériostatique lorsqu'une inhibition de la croissance bactérienne est observée après 24 heures d'exposition ou lorsque la réduction de l'inoculum est comprise entre 0 et 3  $\log_{10}$  UFC.

### III. Résultats

#### III.1 Évaluation de l'activité bactériostatique du TMP vis-à-vis de 378 souches urinaires d'*E. coli* par la méthode des disques

Cent trente six des 378 souches d'*E. coli* (36 %) étaient résistantes au SUL, contre seulement 85 (22,5 %) et 79 (20,9 %) au TMP et au SXT respectivement (Tableau n°10).

	S	I	R
TMP	77,5 % (293/378)	0% (0)	22,5 % (85/378)
SUL	64 % (242/378)	0% (0)	36 % (136/378)
SXT	78,6 % (297/378)	0,5 % (2/378)	20,9 % (79/378)

Tableau n°10 : Sensibilité de 378 souches urinaires de *E. coli* au triméthoprim (TMP), au sulfonamide (SUL) et au cotrimoxazole (SXT).

Concernant les 145 souches de l'étude BACYST, 12,4 % (18/145) étaient résistantes au TMP et au SXT. En revanche, 29 % (42/145) des souches étaient résistantes au SUL. Soixante dix pourcent (101/145) des souches étaient sensibles aux 3 antibiotiques, 18 % (26/145) n'étaient intermédiaires ou résistantes qu'au SUL, 11 % (16/145) étaient intermédiaires ou résistantes aux 3 agents et 1 % (2/145) n'étaient sensibles qu'au SUL (Tableau n°11).

	S	I	R
TMP	87,6 % (127/145)	0% (0)	12,4 % (18/145)
SUL	71 % (103/145)	0% (0)	29 % (42/145)
SXT	87,6 % (127/145)	0 % (0)	12,4 % (18/145)
	Phénotype		% de souches
S-TMP	S-SUL	S-SXT	70 % (101/145)
S-TMP	<b>I/R-SUL</b>	S-SXT	18 % (26/145)
<b>I/R-TMP</b>	S-SUL	<b>I/R-SXT</b>	1 % (2/145)
<b>I/R-TMP</b>	<b>I/R-SUL</b>	<b>I/R-SXT</b>	11 % (16/145)

Tableau n°11 : Sensibilité et profil des 145 *E. coli* de l'étude BACYST au TMP, au SUL et au SXT.

Concernant les 233 souches recueillies en milieu hospitalier, les taux de résistance étaient : 40,3 % (94/233) de souches résistantes au SUL, 28,8 % (67/233) résistantes au TMP et 27 % (63/233) résistantes au SXT. Cinquante six pourcent (131/233) des souches étaient sensibles aux 3 antibiotiques contre 25 % (59/233) intermédiaires ou résistantes à tout. Quinze pourcent (35/233) n'étaient intermédiaires ou résistantes qu'au SUL, et 2 % (4/233) qu'au TMP. Un pourcent (2/233) des souches étaient également catégorisées « sensibles » uniquement au SUL (Tableau n°12).

	S	I	R
TMP	71,2 % (166/233)	0% (0)	28,8 % (67/233)
SUL	59,7 % (139/233)	0% (0)	40,3 % (94/233)
SXT	73 % (170/233)	1 % (2/233)	27 % (63/233)
	Phénotype		% de souches
S-TMP	S-SUL	S-SXT	56 % (131/233)
S-TMP	<b>I/R-SUL</b>	S-SXT	15 % (35/233)
<b>I/R-TMP</b>	S-SUL	S-SXT	2 % (4/233)
<b>I/R-TMP</b>	S-SUL	<b>I/R-SXT</b>	1 % (2/233)
<b>I/R-TMP</b>	<b>I/R-SUL</b>	<b>I/R-SXT</b>	25 % (59/233)

Tableau n°12 : Sensibilité et profil des 233 *E. coli* du soucier labo CHU au TMP, au SUL et au SXT.

La distribution des diamètres d'inhibition du TMP, du SUL et du SXT est représentée dans la figure n°11.

Cent pourcent (85/85) des souches résistantes au TMP ne présentaient aucune zone d'inhibition (diamètre d'inhibition équivalent au disque, soit 6 mm). Aucune souche ne présentait un diamètre équivalent à l'un des deux diamètres critiques (15 mm et 18 mm), et aucune souche n'a été catégorisée intermédiaire puisqu'aucune d'entre elles ne présentait un diamètre entre 7 mm et 24 mm. Les diamètres d'inhibition des 293 souches sensibles au TMP variaient de 25 mm à 39 mm (moyenne = 31 mm ; médiane = 30 mm) (figure n°11-A).

Quatre vingt seize pourcent (76/79) des souches résistantes au SXT présentaient un diamètre de 6 mm, 1 souche présentait un diamètre de 11 mm et 2 souches présentaient un diamètre de 12 mm. Deux souches étaient catégorisées de sensibilité « intermédiaires » et présentaient des diamètres de 14 et 15 mm.

Le diamètre d'inhibition des 297 souches sensibles au SXT variait de 18 mm à 39 mm (moyenne = 31 mm ; médiane = 31 mm). Parmi ces souches, les souches TMP-R et SUL-S (n = 4) présentaient un diamètre allant de 18 mm à 25 mm (moyenne = 20.6 mm ; médiane = 19.5 mm). Les souches TMP-S et SUL-R (n = 61) présentent un diamètre allant de 22 mm à 33 mm (moyenne = 26.3 mm ; médiane = 26 mm), et les souches TMP-S et SUL-S (n = 232) présentent un diamètre allant de 28 mm à 39 mm (moyenne = 32 mm ; médiane = 32 mm).

Quatre vingt dis neuf pourcent (135/136) des souches résistantes au SUL présentaient un diamètre d'inhibition de 6 mm, contre 10 mm pour 1 seule souche. Les 242 souches sensibles au SUL présentaient un diamètre d'inhibition allant de 21 mm à 36 mm (moyenne = 27.6 mm ; médiane = 28 mm).

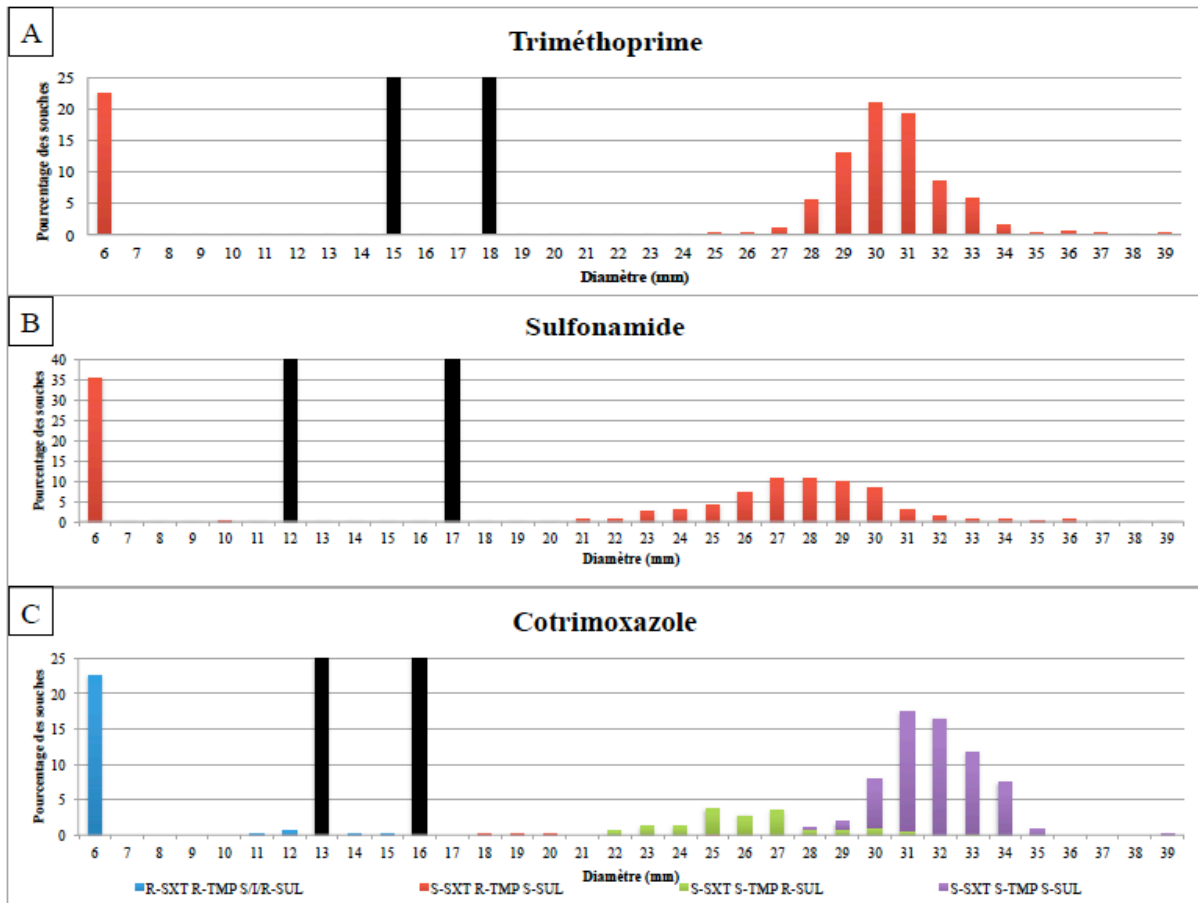


Figure n°11 : Répartition des diamètres des 378 *E. coli* vis-à-vis du TMP (A), du SUL (B) et du SXT (C).

Les barres noires correspondent aux diamètres critiques (29, 30).

En étudiant la répartition des diamètres d'inhibition du SXT vis-à-vis des 378 souches, 3 groupes de souches S-SXT ont été mis en évidence (Figure n°12, Figure n°13).

En comparant les diamètres d'inhibition du SUL et du SXT vis-à-vis des 378 souches, une population SUL-R parmi les souches S-SXT est mise en évidence (Figure n°12).

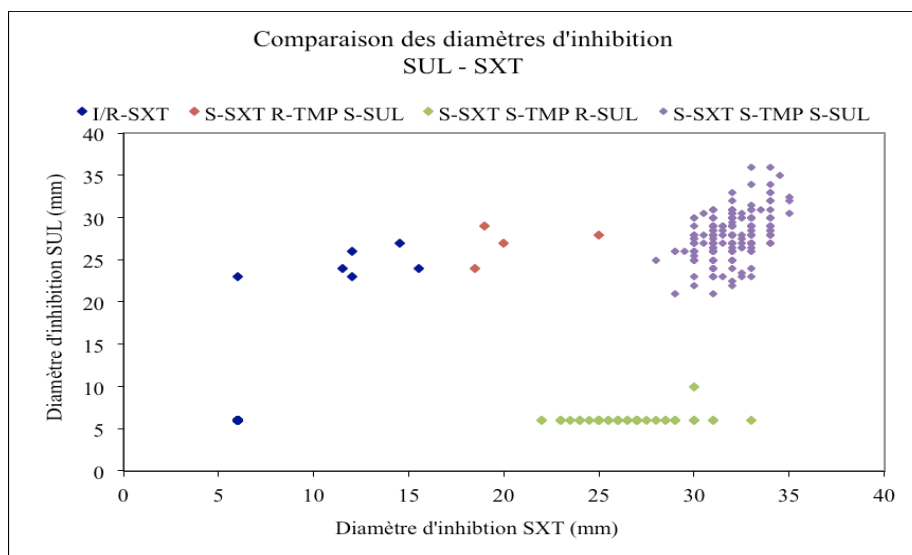


Figure n°12 : Comparaison des diamètres d'inhibition du SUL et du SXT vis-à-vis de 378 souches d'*E.coli*.

De la même manière, en comparant les diamètres d'inhibition du TMP et du SXT vis-à-vis des 378 souches, une population TMP-R parmi les souches S-SXT est mise en évidence (figure n°13).

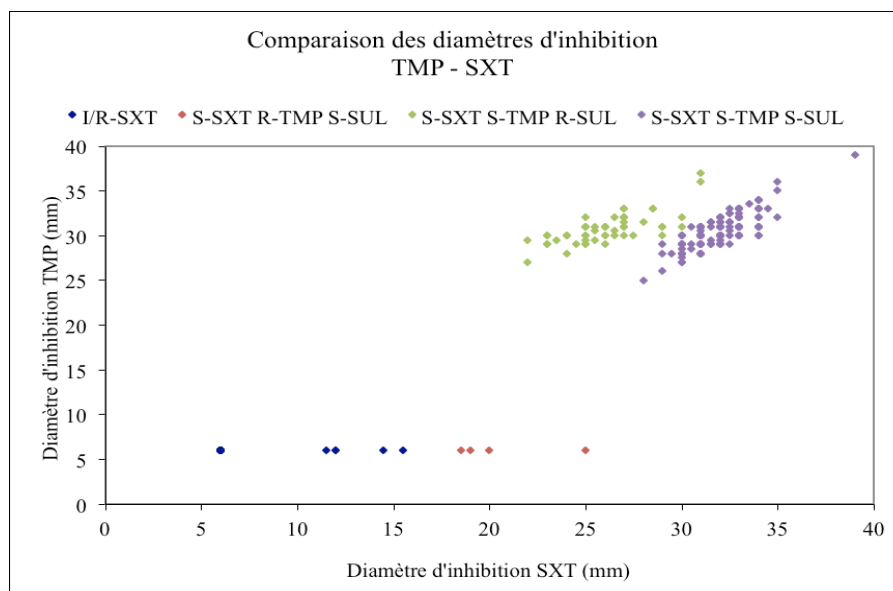


Figure n°13 : Comparaison des diamètres d'inhibition du TMP et du SXT vis-à-vis de 378 souches d'*E.coli*.

En revanche, aucune corrélation n'a été mise en évidence entre les diamètres d'inhibition du TMP et du SUL vis-à-vis des 378 souches (Figure n°14). En effet, seules 4 populations sont représentées (R-TMP R-SUL, R-TMP S-SUL, S-TMP R-SUL et S-TMP S-SUL).

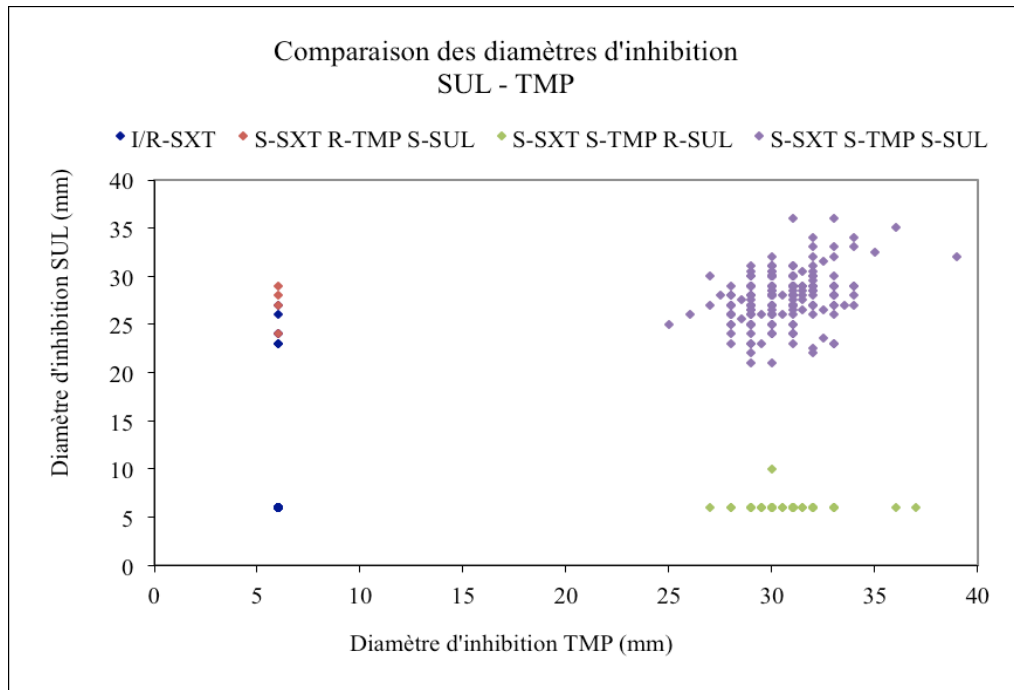


Figure n°14 : Comparaison des diamètres d'inhibition du SUL et du TMP vis-à-vis de 378 souches d'*E. coli*.

En effet, le diamètre d'inhibition du SXT des souches R-TMP S-SUL S-SXT (moyenne = 20,63 mm ; ET = 2,98 mm ; n = 4) est significativement inférieur au diamètre d'inhibition du SXT des souches R-SUL S-TMP S-SXT (moyenne = 26,34 mm ; ET = 2,30 mm ; n = 61) au risque de 5% ( $t = 4.73 > 1.95$ ).

De même, le diamètre d'inhibition du SXT des souches R-SUL S-TMP S-SXT est significativement inférieur au diamètre d'inhibition du SXT des souches S-SUL S-TMP S-SXT (moyenne = 31,98 mm ; ET = 1,36 mm ; n = 232) au risque 5% ( $t = 18.8 > 1.96$ ).

## III.2 Évaluation de l'activité bactériostatique du TMP et du SXT par la détermination de la CMI vis-à-vis de 66 souches de *E. coli*

La CMI du TMP et du SXT a été déterminée vis-à-vis de 66 souches de *E. coli* sensibles au SXT et de profil variable vis-à-vis du TMP et du SUL.

### III.2.1 CMI du TMP

Quatre souches TMP-R SUL-S présentait une CMI > 32mg/L.

Soixante deux souches TMP-S présentait une CMI comprise entre 0,023 mg/L et 1 mg/L. Quarante six de ces *E. coli* étaient SUL-S ; leur CMI était comprise entre 0,023 mg/L et 1 mg/L. Les 16 souches SUL-R présentait une CMI comprise entre 0,094 mg/L et 0,75 mg/L (Figure n°15).

La CMI<sub>50</sub> (31<sup>ème</sup>/62 TMP-S) était égale à 0,19 mg/L et la CMI<sub>90</sub> (56<sup>ème</sup>/62 TMP-S) était égale à 0,38 mg/L (Figure n°15).



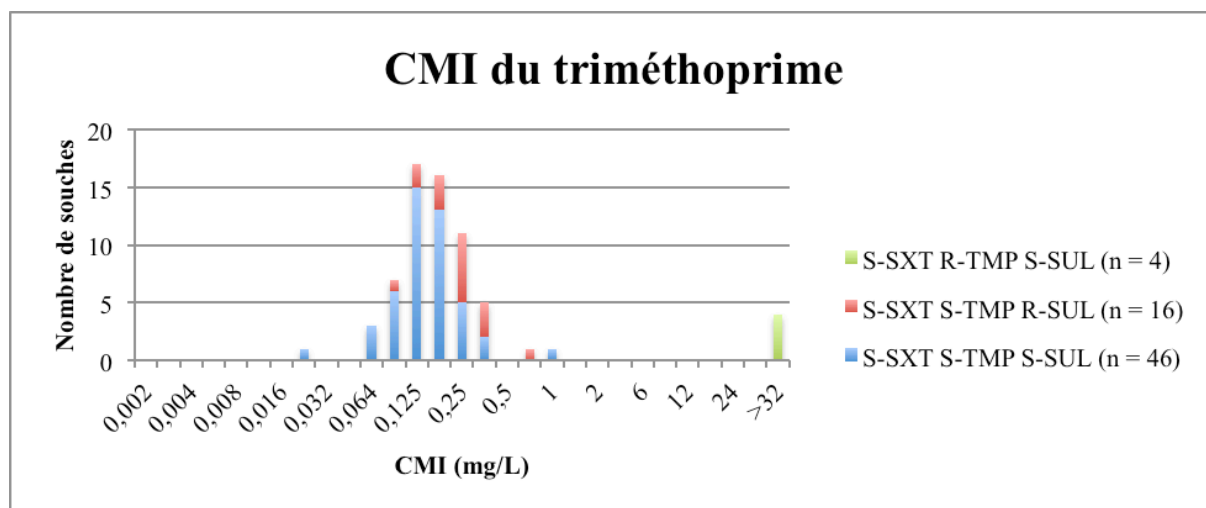


Figure n°15 : Distribution des CMI du TMP vis-à-vis de 66 souches urinaires de *E. coli* sensibles au SXT

(SXT : cotrimoxazole ; TMP : triméthopriime ; SUL : sulfonamide)

### III.2.2 CMI du SXT

Les 66 souches S-SXT présentait une CMI comprise entre 0,003 mg/L et 0,5 mg/L. Parmi elles, 46 souches S-TMP S-SUL présentait une CMI comprise entre 0,003 mg/L et 0,094 mg/L. Les 16 souches S-TMP R-SUL présentait une CMI comprise entre 0,064 mg/L et 0,25 mg/L, et les 4 souches R-TMP S-SUL présentait une CMI comprise entre 0,19 mg/L et 0,5 mg/L. (Figure n°16).

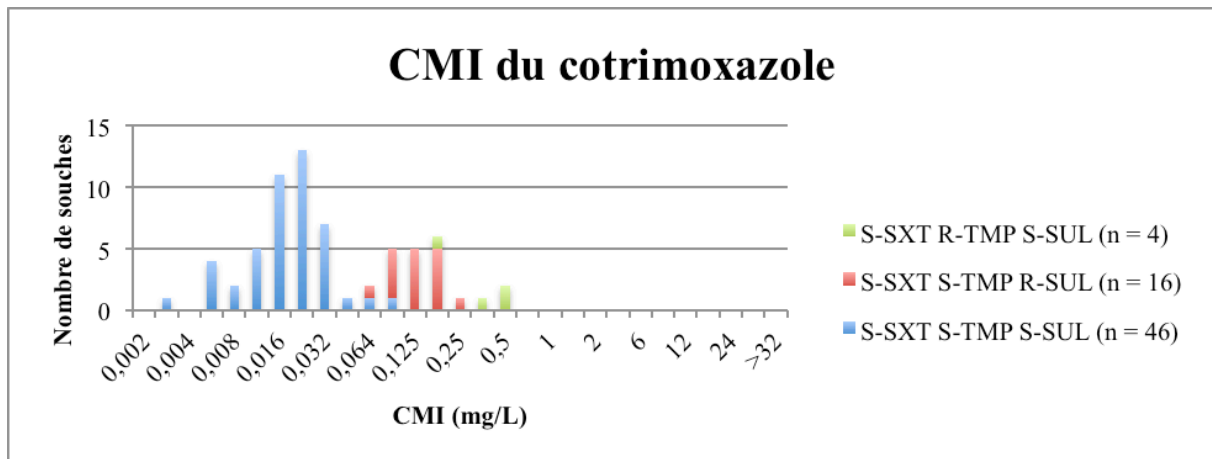


Figure n°16 : Distribution des CMI du SXT vis-à-vis de 66 souches urinaires de *E. coli* sensibles au SXT

(SXT : cotrimoxazole ; TMP : triméthoprimé ; SUL : sulfonamide)

Les 46 souches S-SXT S-TMP S-SUL présentaient une CMI du SXT inférieure à celle du TMP. La différence entre les CMI était de 6 dilutions en moyenne (réparties entre 2 et 11 dilutions)

Les 16 souches S-SXT S-TMP R-SUL présentaient également une CMI du SXT inférieure à celle du TMP. La différence était de 1.625 dilutions en moyenne (réparties entre 0 et 6 dilutions).

### III.3 Évaluation de l'activité bactéricide comparée du TMP, du SMX et du SXT vis-à-vis de 25 souches de *E. coli*

Une cinétique de l'activité bactéricide comparée du TMP, SMX et SXT a été réalisée vis-à-vis de 25 souches. La croissance dans le tube contrôle sans antibiotique pour les 25

souches variait de  $4 \log_{10}\text{UFC/mL}$  à  $8.3 \log_{10}\text{UFC/mL}$  (moyenne =  $6.44 \log_{10}\text{UFC/mL}$ ) après 24h d'incubation à  $37^{\circ}\text{C}$ . Trois conditions d'exposition antibiotique ont été testées :

1<sup>ère</sup> condition :  $[\text{TMP}] = 1.9 \text{ mg/L}$ ,  $[\text{SMX}] = 36.1 \text{ mg/L}$ , numération à H0, H6 et H24

Pour le groupe des souches 1, 2, 3 et 4 (Tableau n°10) la réduction bactérienne moyenne observée après 24h en présence de TMP était de  $-4.225 \log_{10}\text{UFC/mL}$  ( $[0.6 ; 6.1]$ ). La réduction observée en présence de SXT était de  $-3.675 \log_{10}\text{UFC/mL}$  ( $[0.9 ; 6.1]$ ). Une activité bactéricide a été observée dans 75% (3/4) des cas en présence de TMP seul et en présence de l'association, tandis qu'une activité bactériostatique a été observée dans 25% (1/4) des cas.

Dans le groupe des souches 5, 6, 7 et 8 (Tableau n°10), une croissance bactérienne a été observée après 24h en présence de TMP ( $+4.65 \log_{10}\text{UFC/mL}$  ( $[3.5 ; 7]$ )) et en présence de SXT ( $+3.15 \log_{10}\text{UFC/mL}$  ( $[0 ; 6.7]$ )). Il n'a été observé aucune activité bactéricide ni bactériostatique.

Dans le groupe des souches 9, 10, 11 et 12 (Tableau n°10) une réduction bactérienne après 6h a été observée dans 100% (4/4) des cas en présence de TMP ( $-2 \log_{10}\text{UFC/mL}$  ( $[-2.9 ; -0.5]$ )) et en présence de SXT ( $-1.9 \log_{10}\text{UFC/mL}$  ( $[-2.7 ; -0.4]$ )). Une réduction bactérienne après 24h a été observée chez 100% (4/4) des cas en présence de SXT ( $-1.9 \log_{10}\text{UFC/mL}$  ( $[-2.7 ; -0.9]$ )), alors qu'elle n'a été observée que chez 75% (3/4) en présence de TMP seul. Pour la souche n°12, la suspension contenant le TMP a fait l'objet d'une croissance bactérienne entre H6 et H24, une croissance globale de  $4 \log_{10}\text{UFC/mL}$  sur 24H a été observée (Figure n°17).

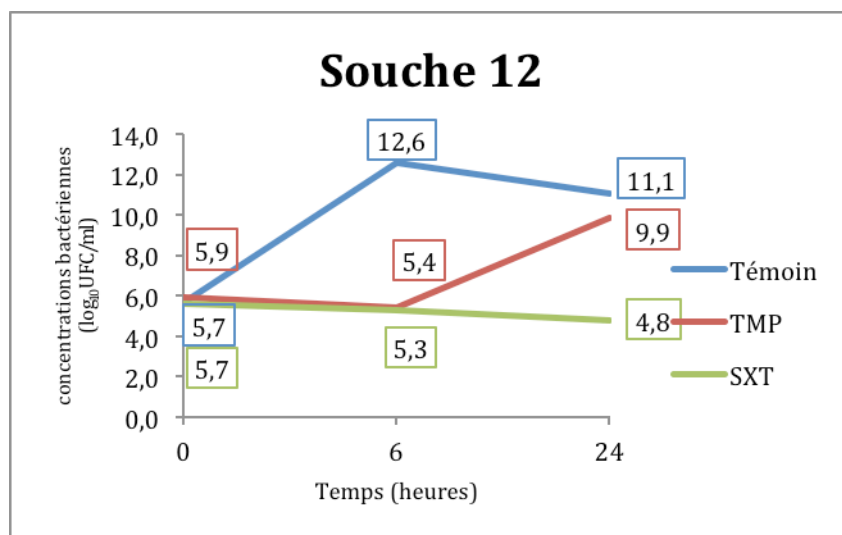


Figure n°17 : Courbes de bactéricidie de la souche n°12.

2<sup>ème</sup> condition : [TMP] = 40 mg/L, [SMX] = 80 mg/L, numération à H0, H6 et H24

Pour les souches 13 à 21 (Tableau n°10) une réduction bactérienne après 24h a été observée chez 100 % (9/9) des souches testées, en présence de TMP seul ( -2.36 log<sub>10</sub>UFC/mL ([-3.4 ; -0.8])) et de SXT (-2.31 log<sub>10</sub>UFC/mL ([-3.5 ; -0.5])). Une activité bactéricide a été observée vis-à-vis de 33 % (3/9) des souches en présence de TMP et de SXT, et une activité bactéricide a été observée vis-à-vis de toutes les autres souches (6 /9) en présence de TMP et de SXT.

3<sup>ème</sup> condition : [TMP] = 40 mg/L, [SMX] = 200 mg/L, numération à H0 et H24

Pour les souches 22 à 25 (Tableau n°10) la réduction bactérienne moyenne observée après 24h en présence de TMP et de SXT (-4.875 log<sub>10</sub>UFC/mL ([-5.3 ; -4.2])) et -4.7 log<sub>10</sub>UFC/mL ([-6 ; -3.9])) respectivement témoigne d'une activité bactéricide vis-à-vis des 4 souches testées (100 %). En présence de SMX, une activité bactériostatique a été observée pour les 4 souches testées (-0.725 log<sub>10</sub>UFC/mL ([-1.5 ; -0.3])).

concentrations	souche n°	Profil/ CMI TMP/SXT	inoculum initial				variation de l'inoculum ( $\Delta\log_{10}UFC/ml$ )							
			H0				H6				H24			
			Témoïn	TMP	SXT	SMX	Témoïn	TMP	SXT	SUL	Témoïn	TMP	SXT	SMX
[TMP] = 1,9 mg/L [SMX] = 36,1 mg/L	S-SXT S-TMP S-SUL													
	1	0.19 / 0.023	6,3	6,1	6,1		3,7	-0,2	0		4	-0,6	-0,9	
	2	0.19 / 0.032	5,9	6,1	6,1		5,9	-4	-1,2		6,1	-6,1	-6,1	
	3	0.25 / 0.032	5,8	6	6		6,5	-3,3	-1,9		5,8	-6	-4,3	
	4	0.125 / 0.023	4,2	4,2	5,4		7,7	-1,5	-1,8		8	-4,2	-3,4	
	R-TMP S-SUL S-SXT													
	5	>32 / 0.5	6,2	6,4	6,4		4	4	2,2		5,2	4,2	3,7	
	6	>32 / 0.5	6,2	6,1	6,2		5,6	5,6	3,5		6,7	7	6,7	
	7	>32 / 0.19	5,7	5,7	5,6		6,7	4,6	1,2		6,8	3,5	0	
	8	>32 / 0.38	6,3	6,3	6,4		5,8	4	2,5		6,2	3,9	2,2	
	S-TMP R-SUL S-SXT													
	9	0.19 / 0.094	6,3	6,3	6,2		3,7	-2	-2		4,3	-3,2	-2,7	
	10	0.094 / 0.064	5,9	5,9	5,7		3,4	-2,6	-2,7		5,6	-2,5	-1,4	
	11	0.25 / 0.19	6	5,8	5,8		7	-2,9	-2,5		6,2	-2,7	-2,7	
12	0.25 / 0.19	5,7	5,9	5,7		6,9	-0,5	-0,4		5,4	4	-0,9		
[TMP] = 40 mg/L [SMX] = 80 mg/L	S-TMP R-SUL S-SXT													
	13	0.19 / 0.125	6,7	6,9	6,6		6,2	-2,3	-2		6	-3	-2,5	
	14	0.38 / 0.25	7	6,3	6		6,2	-0,7	-0,4		6,5	-0,8	-1,3	
	15	0.25 / 0.19	7,4	6,6	6,1		5	-3,3	-2,6		6,6	-3,3	-3,5	
	16	0.25 / 0.094	5,8	5,8	5,7		7,9	-1,2	-0,4		8,3	-2,9	-2,1	
	17	0.75 / 0.094	5,8	5,7	5,7		3,9	-0,5	-0,3		5,2	-1	-0,5	
	18	0.125 / 0.094	5,9	5,8	5,8		7,9	-0,6	-0,4		8,1	-2,2	-1,8	
	19	0.19 / 0.125	5,9	5,9	6		4,8	-2,1	-0,6		8,2	-2,4	-3	
	20	0.38 / 0.19	5,7	6	5,9		8,1	-1,1	-0,9		8,2	-2,2	-2,8	
21	0.125 / 0.125	5,8	5,9	5,9		8,1	-1,7	-1,6		8,1	-3,4	-3,3		
[TMP] = 40 mg/L [SMX] = 200 mg/L	S-SXT S-TMP S-SUL													
	22	0.125 / 0.023	6,4	6,3	6,1	6,2					4,2	-5,3	-3,9	-0,7
	23	0.19 / 0.023	6,1	6	6,1	6					6,9	-4,2	-4,4	-0,3
	24	0.19 / 0.023	6,4	6,3	6	6,4					7,1	-4,9	-6	-0,4
	25	0.125 / 0.012	5,9	6,1	6,2	6,2					7,4	-5,1	-4,5	-1,5

Tableau n°13 : Tableau récapitulatif des variations d'inoculum des 25 *E. coli* testés.

## **IV. Discussion**

Les objectifs de ce travail étaient d'enrichir les données épidémiologiques françaises concernant l'activité antibactérienne du TMP vis-à-vis de souches urinaires de *E. coli* et en particulier de comparer l'activité bactériostatique et bactéricide du TMP vis-à-vis du SMX et du SXT. Un total de 423 souches d'*E. coli* a été analysé, sur une période de 7 ans (entre 2009 et 2016), à partir d'ECBU réalisés en ville et en milieu hospitalier, dans différentes situations cliniques (bactériurie asymptomatique, cystite simple ou compliquée, pyélonéphrite simple ou compliquée, infection urinaire masculine) afin d'étudier l'évolution de la résistance au TMP sur plusieurs années.

L'activité bactériostatique des 3 antibiotiques a été dans un premier temps évaluée par antibiogramme en milieu gélosé vis-à-vis de 378 souches collectées entre 2009 et 2014. Dans un deuxième temps, une quantification de l'activité bactériostatique du TMP et du SXT a été réalisée par détermination de la CMI par Etest<sup>®</sup> vis-à-vis de 66 souches collectées entre 2013 et 2016. Enfin, une évaluation de l'activité bactéricide des 3 antibiotiques a été menée vis-à-vis de 25 de ces 66 souches. Compte-tenu de la lourdeur de la réalisation des courbes de bactéricidie et du coût des Etest<sup>®</sup>, ces 2 méthodes n'ont pu être réalisées sur l'ensemble du soucheur.

Pour l'étude de l'activité bactériostatique par la méthode des disques, ont été utilisés des disques de « sulfonamide », seule molécule disponible en disque (absence de commercialisation de disques de SMX) et pour laquelle des diamètres critiques d'inhibition figurent dans les recommandations du CA-SFM 2010.

En revanche, l'activité bactéricide du SMX seul et en association au TMP a pu être évaluée du fait de la commercialisation de poudre titrée.

L'étude de l'activité bactériostatique par la méthode des disques a permis d'identifier plusieurs profils de résistance vis-à-vis du TMP, du SUL/SMX et du SXT. La quantification de l'activité bactériostatique (CMI) et de l'activité bactéricide a été réalisée vis-à-vis de souches choisies selon leur profil de résistance à ces 3 antibiotiques. Toutes les souches étaient sensibles au SXT mais pouvaient présenter 3 profils différents : sensibles aux 3 antibiotiques, ou résistantes à l'un des deux antibiotiques composant le SXT pour évaluer le niveau de l'activité bactéricide du TMP par rapport à celle du SXT sur les souches S-TMP et l'impact du niveau de l'activité bactériostatique du TMP et du SMX sur l'activité bactéricide du SXT.

### **Analyse des résultats :**

#### Activité bactériostatique par la méthode des disques :

Le pourcentage global de résistance au TMP retrouvé dans ce travail est de 22,5% (85/378 souches). Le pourcentage de résistance au TMP des souches isolées de cystites simples communautaire entre 2009 et 2010 dans l'étude BACYST (12,4%, 18/145 souches) est inférieur au pourcentage de résistance au TMP des souches isolées de différents contextes cliniques au laboratoire du CHU de Rouen entre 2013 et 2014 (28,8%, 67/233 souches). La résistance aux antibiotiques étant supérieure chez les bactéries isolées en milieu hospitalier par rapport aux bactéries isolées en ville (40) et les contextes d'isolements étant différents entre les 2 souchiers, il est impossible d'affirmer une augmentation du taux de résistance au TMP chez les souches urinaires d'*E. coli*, entre 2009 et 2014. En effet, les souches collectées au laboratoire correspondaient à plusieurs tableaux cliniques (bactériurie asymptomatique,

cystite simple, cystite compliquée, pyélonéphrite simple, pyélonéphrite compliquée, infection urinaire masculine), il n'a pas été possible d'associer de façon fiable 233 souches recueillies au laboratoire du CHU un contexte clinique sur la seule consultation du dossier informatique.

Le taux de résistance de souches urinaires d'*E. coli* isolées lors de cystites simples communautaires dans notre collection (BACYST) est équivalent aux données françaises de la littérature qui rapportent un taux de résistance au TMP de 15,6 % en 2000 et 17,5 % en 2014 (75, 76, 77). Du fait de l'absence de l'utilisation du TMP en France depuis les années 1990, l'ONERBA n'a pas publié de données récentes sur le TMP et peu d'études permettent de comparer les données obtenues dans ce travail. Cependant, l'étude ECO SENS permet de constater que le taux de résistance de 12,4 % observé lors des cystites simples communautaires est faible. Le taux de résistance de 28,8 % observé chez les souches d'*E. coli* isolées en milieu hospitalier est supérieur et comparable au taux de résistance des différents pays européens (de 27 % au Danemark à 37,3 % en Espagne) (75, 76, 77, 90, 136).

Le pourcentage de résistance globale au SUL (36 %, 136/378 souches) est supérieur au pourcentage de résistance au TMP, qu'il s'agisse des souches isolées en ville (29 %, 42/145 souches) ou à l'hôpital (40,3 %, 94/233 souches), condamnant son utilisation en antibiothérapie probabiliste des IU en plus de son rapport bénéfice/risque défavorable (79, 84).

Le SXT présente un taux de résistance égal au TMP (12,4 %) chez les souches isolées en ville ; ce pourcentage est inférieur aux données récentes de la littérature faisant état d'un taux de résistance de 20 % dans l'ensemble des prélèvements à visée diagnostique de ville (104). Le SXT présente un taux de résistance (27 %, 63/233 souches) légèrement inférieur au taux de résistance au TMP (28,8 %) lorsque les souches sont isolées à l'hôpital. Le SXT ne présente donc pas d'intérêt par rapport au TMP dans le cadre des cystites simples



communautaires, et ne peut être prescrit qu'après documentation dans le cadre d'infection urinaire en milieu hospitalier puisqu'il présente un taux de résistance supérieur à 10 % (28). Le pourcentage de résistance vis-à-vis du TMP étant supérieur à 10 %, le TMP n'est pas indiqué en traitement probabiliste mais trouve sa place dans le traitement documenté des cystites à risque de complication (28). Ce travail pourrait être poursuivi par l'étude de la sensibilité au TMP de souches isolées de contexte clinique bien défini (pyélonéphrite, IUM, ...) de façon à donner des arguments microbiologiques pour définir de nouvelles indications au TMP.

L'interprétation du diamètre d'inhibition du TMP a permis d'identifier 2 populations : les souches résistantes présentant un diamètre d'inhibition nul (équivalent à 6 mm), et les souches sensibles présentant un diamètre (25 à 39 mm) supérieur aux bornes recommandées par le CA-SFM 2015 (15-18 mm). Aucune souche n'a présenté de diamètre d'inhibition entre 6 mm et 25 mm. De ce fait, aucune sensibilité diminuée n'a été mise en évidence *in vitro* dans ce travail. Ce travail valide les diamètres critiques d'interprétation recommandés par le CA-SFM.

Comme le montrent les données de l'ONERBA (Figure n°18), ce travail met en évidence une hétérogénéité des diamètres d'inhibition du SXT vis-à-vis d'*E. coli*. Quatre populations ont été mises en évidence : les souches résistantes et intermédiaires au SXT et qui présentent un diamètre d'inhibition inférieur à 16 mm, les souches S-SXT R-TMP S-SUL dont le diamètre d'inhibition varie de 18 mm à 25 mm, puis les souches S-SXT S-TMP et R-SUL dont le diamètre d'inhibition varie de 22 mm à 33 mm, et enfin les souches S-SXT S-TMP et S-SUL dont le diamètre d'inhibition varie de 28 mm à 39 mm. Il a été mis en évidence une différence significative entre les diamètres d'inhibition des 3 populations S-SXT. Ce travail montre que la présence d'une résistance au TMP ou au SUL réduit le diamètre d'inhibition du SXT. Cette diminution d'activité *in vitro* du SXT est plus importante

si la souche est résistante au TMP que si la souche est résistante au SUL. Cette observation confirme les données de la littérature sur le sujet démontrant que l'activité antibactérienne du SXT est davantage liée à l'activité du TMP qu'à l'activité du SMX (24). Les recommandations (30) ne permettent pas de distinguer les différentes populations sensibles au SXT ; le TMP doit donc être impérativement testé *in vitro* si l'on considère que ce phénomène constaté *in vitro* peut avoir un impact sur l'activité du SXT *in vivo*.

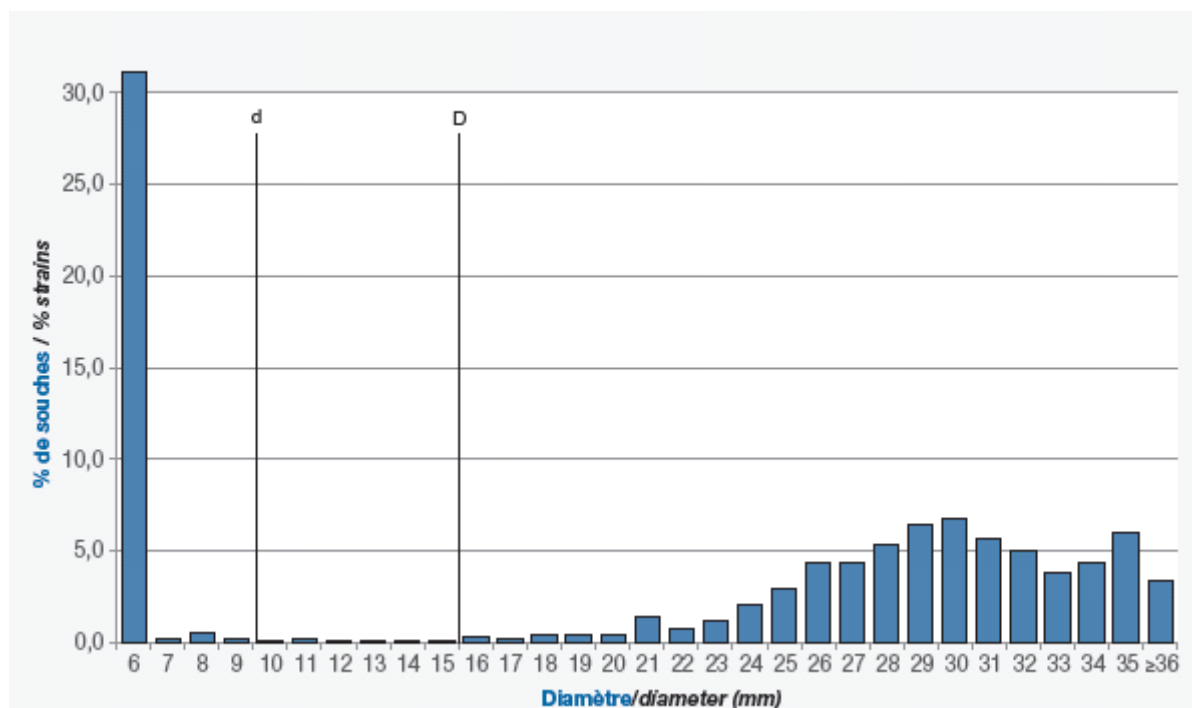


Figure n°18 : Répartition des diamètres d'inhibition pour le SXT de 1484 *E. coli* isolés de bactériémies (104).

Enfin, les recommandations du CA-SFM 2017 v-2 ont modifié les diamètres critiques du SXT par rapport aux recommandations de 2015. Une souche est catégorisée « sensible » si elle présente un diamètre d'inhibition supérieur ou égal à 14 mm, alors qu'elle est catégorisée « résistante » si elle présente un diamètre d'inhibition strictement inférieur à 11 mm. Ce changement ne modifie pas de manière significative les résultats présentés dans ce travail. En effet, cela ne concerne que 5 souches sur 378 : 3 souches catégorisées résistantes se retrouvent

catégorisées intermédiaires et 2 souches catégorisées intermédiaires se retrouvent catégorisées sensibles. La sensibilité globale des souches étudiées dans ce travail vis-à-vis du SXT passe de 78.9 % (297/378) (30) à 79.1 % (299/378) (31).

#### Étude des CMI :

L'objectif de ce volet du travail était d'étudier et de comparer la CMI du TMP et la CMI du SXT vis-à-vis de 66 souches urinaires d'*E. coli* sensibles au SXT. La CMI du TMP observée sur l'ensemble des souches variait de 0,019 mg/L à > 32 mg/L. Quatre souches étaient résistantes au TMP et présentaient une CMI > 32 mg/L. Soixante deux souches étaient sensibles au TMP et présentaient une CMI allant de 0,019 mg/L à 1 mg/L. Aucune discordance d'interprétation de la sensibilité au TMP entre l'étude des diamètres d'inhibition et la détermination de la CMI n'a été observée ; ainsi, 100 % des souches catégorisées sensible selon la méthode des disques l'ont été selon la détermination de la CMI et 100 % des souches catégorisées résistantes selon une méthode l'ont été selon l'autre méthode. Les CMI<sub>50</sub> (0,19 mg/L) et CMI<sub>90</sub> (0,38 mg/L) du TMP sont très proches et inférieures aux données de la littérature. Une étude américaine réalisée vis-à-vis 38 souches d'*E. coli* isolées dans tous les types de prélèvement entre 1978 et 1983 en milieu hospitalier fait état d'une CMI<sub>50</sub> de 0,4 mg/L, et d'une CMI<sub>90</sub> de 50 mg/L (34). Une étude suédoise réalisée vis-à-vis de 198 souches d'*E. coli* productrices de BLSE isolées entre 2002 et 2007 en ville et à l'hôpital rapporte une CMI<sub>50</sub> équivalente à la CMI<sub>90</sub> de 32 mg/L (105). N'ayant étudié que des souches S-SXT dans ce travail, les CMI<sub>50</sub> et CMI<sub>90</sub> sont logiquement inférieures à celles de la littérature qui concernent également les souches R-SXT (l'étude suédoise comporte 65,2 % de souches R-SXT) (105). Chez les souches urinaires d'*E. coli* S-TMP, la CMI<sub>50</sub> et la CMI<sub>90</sub> retrouvées dans la littérature sont de 0.125 mg/L et 0.5 mg/L respectivement (n = 37) (38). Elles sont de

0,25 mg/L et 1 mg/L chez des souches urinaires d'*E. coli* TMP-S productrices de BLSE (n = 57) (105). Les résultats obtenus dans ce travail sont donc en adéquation avec ces dernières valeurs.

La CMI du SXT variait de 0,003 mg/L à 0,5 mg/L. Les 66 souches S-SXT par la méthode des disques se trouvent également catégorisées sensibles au regard de leur CMI (concentration critique inférieure de 2 mg/L) (30). Parmi les 66 souches S-SXT, 46 étaient S-TMP et S-SUL, 16 étaient S-TMP et R-SUL et 4 étaient R-TMP et S-SUL. Les résultats de l'étude des diamètres d'inhibition semblent être confirmés par l'étude des CMI. En effet, la CMI du SXT des souches S-SXT R-TMP et S-SUL (CMI moyenne = 0,39 mg/L) est très supérieure à la CMI du SXT vis-à-vis des souches S-SXT S-TMP et R-SUL (CMI moyenne = 0,14 mg/L), qui est elle-même supérieure à la CMI des souches S-SXT S-TMP et S-SUL (CMI moyenne = 0,02 mg/L). Les souches S-SXT S-TMP et S-SUL présentaient une CMI moyenne du SXT inférieure à la CMI moyenne du TMP de 6 dilutions en moyenne, alors que les souches S-SXT S-TMP et R-SUL présentaient une CMI moyenne du SXT inférieure à la CMI moyenne du TMP de 1,625 dilutions en moyenne. Cette observation nécessite d'être confirmée sur un échantillon plus important de souches mais suggère un rôle clef du TMP dans l'activité bactériostatique de l'association TMP-SMX.

#### Étude de l'activité bactéricide :

Ce volet du travail a consisté à déterminer et à quantifier l'activité antibactérienne du TMP par la réalisation de courbes de bactéricidie. L'objectif de ce travail était de comparer l'activité antibactérienne du TMP par rapport au SXT et au SMX, sur des souches urinaires d'*E. coli* de profil de résistance variable vis-à-vis du TMP et du sulfamide et de déterminer le

rôle de la concentration en TMP et en SMX sur l'activité antibactérienne de ces antibiotiques seuls ou en association.

L'étude de l'activité bactéricide a été réalisée dans 3 conditions expérimentales dans lesquelles variaient les concentrations de TMP et de SMX et le rapport des concentrations de TMP et SMX dans l'association SXT.

La concentration de 1,9 mg/L de TMP initialement testée a été choisie pour correspondre à un rapport autour de 10 fois la CMI et au pic sérique du TMP (de l'ordre de 1 à 2 mg/L) obtenu après administration de SXT (800 mg / 160 mg) *per os* ou IV (138). La concentration de SMX de 36,1 mg/L testée est proche du pic sérique du SMX obtenu après administration de SXT (800 mg / 160 mg) *per os* ou IV (138). Le rapport TMP/SMX dans cette série est égal à 1/19 comme le recommande le CA-SFM dans les tests *in vitro*.

Dans les 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> réplicats de bactéricidie, la concentration de TMP est égale à 40 mg/L pour tenir compte des concentrations urinaires qui sont vraisemblablement obtenues après une prise orale de 300 mg. En effet, Wagenlehner et *al.* (141) ont montré, malgré une certaine dispersion des résultats, qu'une concentration urinaire de 40 mg/L est atteinte pour de nombreux patients après une prise unique de 200 mg de TMP.

Dans le 2<sup>ème</sup> réplikat, un rapport TMP/SMX de 1/2 a été étudié alors qu'il est égal à 1/5 dans le 3<sup>ème</sup> réplikat. Ces choix reposent sur l'étude de Bach et *al.* (12) qui ont montré que le rapport TMP/SMX pouvait varier dans le sang dans les proportions de moins de 1/1 à plus de 1/3 et dans les urines de 1/3 à plus de 1/5.

Pour ce travail, chaque souche n'a été étudiée qu'à une concentration et à un rapport des concentrations afin d'étudier l'activité du TMP, du SXT et du SMX sur un plus grand nombre de souches. Malheureusement, compte-tenu de la lourdeur de ces techniques, les tests

n'ont été réalisés qu'une seule fois. Ces résultats devront donc être confirmés par des expériences supplémentaires.

Dans le premier réplicat, la concentration de TMP de 1,9 mg/L utilisée correspond à un rapport de 7,6 à 20,2 fois la CMI des souches testées. À ces concentrations, une activité bactéricide du TMP a été détectée pour 4 des 8 souches S-TMP. Dans cette série, le rôle clef du TMP dans l'activité bactéricide du SXT est illustré par l'absence d'activité bactéricide du SXT chez les 4 souches S-SXT (n°5 à 8) mais résistantes au TMP. Le SXT présente une activité bactéricide sur 3 des 8 souches S-TMP dans ces conditions, et cette activité n'est pas supérieure comparée à l'activité du TMP seul.

Dans les 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> réplicats, une concentration de TMP de 40 mg/L a été utilisée, ce qui correspond à un rapport de 53 à 320 fois la CMI des souches testées. Une activité bactéricide du TMP et du SXT a été détectée pour 7 des 13 souches testées, toutes ces souches étant S-TMP. Dans ces conditions, le SXT présente une activité bactéricide équivalente à celle du TMP. Dans le 3<sup>ème</sup> réplicat, le SMX, utilisé à la concentration de 200 mg/L, présente une activité bactériostatique sur l'ensemble des 4 souches testées, souches pour lesquelles le TMP et le SXT présentent une activité bactéricide.

Au total, le TMP et le SXT présentent une activité bactéricide sur 7 des 8 S-SXT S-TMP et S-SUL testées alors que le SMX seul présente une activité bactériostatique sur les 4 souches testées. Cette observation confirme la supériorité d'activité du TMP et du SXT par rapport au SMX seul. Concernant les souches S-SXT S-TMP et R-SUL, le TMP et le SXT présentent une activité bactéricide moins fréquente et aléatoire (pas obligatoirement sur les mêmes souches) sur 4 des 9 souches testées pour le TMP et sur 3 des 9 souches testées pour le SXT.

Contrairement aux données de la littérature (24, 47), le SXT ne présente pas d'intérêt vis-à-vis du TMP en terme d'efficacité dans notre travail, sous réserve de confirmation. La concentration antibiotique ne semble pas influencer l'activité bactéricide des antibiotiques. En effet, l'activité bactéricide du TMP est du même ordre lorsque celui-ci se trouve à la concentration de 1,9 mg/L et à la concentration de 40 mg/L. La concentration en SMX et le rapport des concentrations ne semblent pas non plus influencer l'activité bactéricide du SXT. Le SXT devrait présenter une activité supérieure au TMP au regard des travaux antérieurs sur le sujet (21). En effet, comme le SMX agit sur l'étape précédant celle du TMP dans la synthèse des folates, il permet de réduire la quantité de substrat sur lequel le TMP doit agir, augmentant ainsi son efficacité.

Quand une souche est SUL-R, l'activité bactéricide du SXT intervient dans environ 1/4 des cas (3/13). Il n'a pas été retrouvé de paramètre permettant de différencier ces souches. Cependant, le SXT présente une activité au moins bactériostatique dans 100 % (13/13) des cas. À noter que pour la souche n°12, l'exposition au TMP seul a été à l'origine de l'émergence d'un mutant résistant qui n'a pas été observé en présence de l'association SXT. Le SXT semble ainsi présenter un intérêt dans la prévention de l'émergence de mutants résistants au TMP comme l'a décrit une des études initiales sur le TMP (24).

Il n'a pas été observé d'influence de la concentration en TMP et en SMX sur l'activité bactéricide du SXT. Les résultats de ce travail ne mettent pas en évidence l'intérêt de l'ajout du SMX au TMP afin de garantir une activité bactéricide au SXT contrairement à des travaux antérieurs (24). Cependant la littérature est discordante sur ce sujet puisque certaines études n'ont pas mis en évidence de synergie (69, 125) alors que d'autres l'ont mise en évidence (21, 23, 36, 86, 108).

Ainsi, ces résultats préliminaires montrent que le TMP et le SXT présentent une activité bactéricide significative vis-à-vis des souches S-SXT S-TMP et S-SUL. Cette activité n'est pas systématiquement observée quand la souche est R-SUL, mais le SXT semble présenter l'intérêt de prévenir l'émergence de mutants résistants vis-à-vis du TMP. À partir du moment où une souche est résistante au TMP, l'activité bactéricide du SXT est perdue. Aucune relation entre la concentration du TMP et l'activité bactéricide n'a été mise en évidence, mais ces résultats doivent être confirmés par la répétition de ces expérimentations et le test d'un plus grand nombre de souches.



## **V. Conclusion et perspectives**

Notre étude a évalué l'activité bactériostatique et bactéricide du TMP vis-à-vis de souches urinaires d'*E. coli* collectées en ville et en milieu hospitalier entre 2009 et 2016.

Nos résultats montrent un taux faible de résistance au TMP (12,4 %), comparable à celui du SXT, vis-à-vis des souches responsables de cystites simples communautaires. En revanche, ce taux de résistance du TMP (28,8 %) est plus élevé vis-à-vis de souches hospitalières collectées dans différents tableaux cliniques. Ces résultats confirment que le TMP ne peut faire partie de l'arsenal des molécules utilisées pour le traitement probabiliste des infections urinaires mais seulement après documentation.

Compte-tenu des effets indésirables graves et importants du SXT en rapport avec la présence du SMX, et au regard de l'épidémiologie de la résistance observée dans ce travail, le TMP présente également un réel intérêt par rapport au SXT dans la prophylaxie des cystites récidivantes. L'utilisation du TMP doit cependant être raisonnée afin de limiter son effet sur le microbiote et l'émergence de mutants résistants.

L'activité bactéricide significative du TMP comparable au SXT observée *in vitro* doit être confirmée par des études complémentaires *in vitro* et *in vivo*, mais suggère que cette molécule pourrait avoir un intérêt dans les infections urinaires qui se compliquent d'une bactériémie.

## Références bibliographiques

- (1) Abraham S, Shin J, Malaviya R. Type 1 fimbriated *Escherichia coli*-mast cell interactions in cystitis. *J Infect Dis*. 2001 Mar 1;183 Suppl1:S51-5. Review.
- (2) Acar JF, Goldstein F, Chabbert YA. Synergistic activity of trimethoprim-sulfamethoxazole on gram-negative bacilli: observations in vitro and in vivo. *J Infect Dis*. 1973 Nov;128:Suppl:470-7 p.
- (3) Acar JF, Goldstein FW. Genetic aspects and epidemiologic implications of resistance to trimethoprim. *Rev Infect Dis*. 1982 Mar Apr;4(2):270-5.
- (4) Adrian PV, Klugman KP, Amyes SG. Prevalence of trimethoprim resistant dihydrofolate reductase genes identified with oligonucleotide probes in plasmids from isolates of commensal faecal flora. *J Antimicrob Chemother*. 1995 Apr;35(4):497-508.
- (5) Adrian PV, DU Plessis M, Klugman KP, Amyes SG. New trimethoprim-resistant dihydrofolate reductase cassette, *dfrXV*, inserted in a class 1 integron. *Antimicrob Agents Chemother*. 1998 Sep;42(9):2221-4.
- (6) Adrian PV, Thomson CJ, Klugman KP, Amyes SG. New gene cassettes for trimethoprim resistance, *dfr13*, and Streptomycin-spectinomycin resistance, *aadA4*, inserted on a class 1 integron. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000 Feb;44(2):355-61.
- (7) Agence Française de sécurité sanitaire des produits de santé. Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires chez l'adulte, argumentaire et recommandations, juin 2008
- (8) Anderson GG, Dodson KW, Hooton TM, Hultgren SJ. Intracellular bacterial communities of uropathogenic *Escherichia coli* in urinary tract pathogenesis. *Trends Microbiol*. 2004 Sep;12(9):424-30.
- (9) ANSM, Consommation d'antibiotiques et résistance aux antibiotiques en France : nécessité d'une mobilisation déterminée et durable, novembre 2016
- (10) Arola O, Peltonen R, Rossi T. Arthritis, uveitis, and Stevens-Johnson syndrome induced by trimethoprim. *Lancet*. 1998 Apr 11;351(9109):1102.
- (11) Babayev R, Terner S, Chandra S, Radhakrishnan J, Mohan S. Trimethoprim-associated hyponatremia. *Am J Kidney Dis*. 2013 Dec;62(6):1188-92.
- (12) Bach MC, Gold O, Finland M. Absorption and urinary excretion of trimethoprim, sulfamethoxazole, and trimethoprim-sulfamethoxazole: results with single doses in normal young adults and preliminary observations during therapy with trimethoprim-sulfamethoxazole. *J Infect Dis*. 1973 Nov;128:Suppl:584-99 p.
- (13) Bailey JK, Pinyon JL, Anantham S, Hall RM. Commensal *Escherichia coli* of healthy humans: a reservoir for antibiotic-resistance determinants. *J Med Microbiol*. 2010 Nov;59(Pt 11):1331-9.
- (14) Biochemistry, Unnumbered 25p749, seventh edition, 2012 W.H. Freeman and company
- (15) Blahna MT, Zalewski CA, Reuer J, Kahlmeter G, Foxman B, Marrs CF. The role of horizontal gene transfer in the spread of trimethoprim-sulfamethoxazole resistance among uropathogenic *Escherichia coli* in Europe and Canada. *J Antimicrob Chemother*. 2006 Apr;57(4):666-72.
- (16) Briau, sensibilité d'*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Proteus mirabilis* isolées des urines en 2011, 2012 et 2013 dans le réseau REUSSIR, poster 485, RICA1, 2015
- (17) Brolund A, Sundqvist M, Kahlmeter G, Grape M. Molecular characterisation of trimethoprim resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* during a two year intervention on trimethoprim use. *PLoS One*. 2010 Feb 16;5(2):e9233.
- (18) Brumfitt, trimethoprim-sulfamethoxazole : the present position, *J. Infect. Dis*. 1973
- (19) Bugge JF. Severe hyperkalaemia induced by trimethoprim in combination with an angiotensin-converting enzyme inhibitor in a patient with transplanted lungs. *J Intern Med*. 1996 Oct;240(4):249-51.
- (20) Burchall JJ, Elwell LP, Fling ME. Molecular mechanisms of resistance to trimethoprim. *Rev Infect Dis*. 1982 Mar-Apr;4(2):246-54.
- (21) Bushby SR. Combined antibacterial action in vitro of trimethoprim and sulphonamides. The in vitro nature of synergy. *Postgrad Med J*. 1969 Nov;45:Suppl:10-8.
- (22) Bushby SR, Hitchings GH. Trimethoprim, a sulphonamide potentiator. *Br J Pharmacol Chemother*. 1968 May;33(1):72-90.
- (23) Bushby, trimethoprim-sulphonamides – in vitro sensitivity of 384 strains of bacteria, fifth international congress of chemotherapy, 1967
- (24) Bushby SR. Trimethoprim-sulfamethoxazole: in vitro microbiological aspects. *J Infect Dis*. 1973 Nov;128:Suppl:442-62 p.
- (25) Butler CC, Hawking MK, Quigley A, McNulty CA. Incidence, severity, help seeking, and management of uncomplicated urinary tract infection: a population-based survey. *Br J Gen Pract*. 2015 Oct;65(639):e702-7.
- (26) Carbon, médicaments anti-infectieux, Flammarion, 1994
- (27) Caron F, entérobactéries urinaires : évolution des recommandations, JN1 2017
- (28) Caron F, Wehrle V, Etienne M. The comeback of trimethoprim in France. *Med Mal Infect*. 2017 Jun;47(4):253-260.
- (29) CA-SFM, recommandations 2010
- (30) CA-SFM, recommandations 2015

- (31) CA-SFM, recommandations 2017 version 2
- (32) Champness JN, Stammers DK, Beddell CR. Crystallographic investigation of the cooperative interaction between trimethoprim, reduced cofactor and dihydrofolate reductase. *FEBS Lett.* 1986 Apr 7;199(1):61-7.
- (33) Chang CY, Chang LL, Chang YH, Lee TM, Li YH, Chang SF. Two new gene cassettes, *dfr17* (for trimethoprim resistance) and *aadA4* (for spectinomycin/streptomycin resistance), inserted in an *Escherichia coli* class 1 integron. *J Antimicrob Chemother.* 2000 Jul;46(1):87-9.
- (34) Chin NX, Neu HC. In vitro activity of enoxacin, a quinolone carboxylic acid, compared with those of norfloxacin, new beta-lactams, aminoglycosides, and trimethoprim. *Antimicrob Agents Chemother.* 1983 Nov;24(5):754-63.
- (35) Courvalin, antibiogramme, 3<sup>ème</sup> édition
- (36) Cybulska J, Zak C, Jeljaszewicz J. [Synergistic effect of trimethoprim and sulfamethoxazole on staphylococci, group A streptococci and *displacoccus pneumoniae*. *Med Dosw Mikrobiol.* 1971;23(2):117-21. Polish.
- (37) Denis F, bactériologie médicale : techniques usuelles, 2<sup>ème</sup> édition, 2007
- (38) Dornbusch K. Regression line analysis of the synergistic effect for the combination of trimethoprim-sulphamethoxazole. *Chemotherapy.* 1971;16(4):229-38.
- (39) Etienne M, Lefebvre E, Frebourg N, Hamel H, Pestel-Caron M, Caron F; Bacyst Study Group. Antibiotic treatment of acute uncomplicated cystitis based on rapid urine test and local epidemiology: lessons from a primary care series. *BMC Infect Dis.* 2014 Mar 11;14:137.
- (40) European centre for disease prevention and control, <https://ecdc.europa.eu/en/antimicrobial-resistance/surveillance-and-disease-data/data-ecdc>
- (41) Fasugba O, Mitchell BG, Mnatzaganian G, Das A, Collignon P, Gardner A. Five-Year Antimicrobial Resistance Patterns of Urinary *Escherichia coli* at an Australian Tertiary Hospital: Time Series Analyses of Prevalence Data. *PLoS One.* 2016 Oct 6;11(10):e0164306.
- (42) Fisse AL, Straßburger-Krogias K, Gold R, Ellrichmann G. Recurrent trimethoprim-sulfamethoxazole-induced aseptic meningitis with associated ampicillin-induced myoclonic twitches. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 2017 Jul;55(7):627-629.
- (43) Flensburg J, Sköld O. Massive overproduction of dihydrofolate reductase in bacteria as a response to the use of trimethoprim. *Eur J Biochem.* 1987 Feb 2;162(3):473-6.
- (44) Flores-Mireles AL, Walker JN, Caparon M, Hultgren SJ. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nat Rev Microbiol.* 2015 May;13(5):269-84.
- (45) Foxman B, Barlow R, D'Arcy H, Gillespie B, Sobel JD. Urinary tract infection: self-reported incidence and associated costs. *Ann Epidemiol.* 2000 Nov;10(8):509-15.
- (46) Foxman B. Urinary tract infection syndromes: occurrence, recurrence, bacteriology, risk factors, and disease burden. *Infect Dis Clin North Am.* 2014 Mar;28(1):1-13.
- (47) Gallien R. Antibacterial action of trimethoprim-sulfamethoxazole. *J Infect Dis.* 1973 Nov;128:Suppl:486-97 p.
- (48) Garrod, action of three drug combinations on gonococci, *Br J Vener Dis*, 1968
- (49) Gassama A, Aidara-Kane A, Chainier D, Denis F, Ploy MC. Integron-associated antibiotic resistance in enteroaggregative and enteroinvasive *Escherichia coli*. *Microb Drug Resist.* 2004 Spring;10(1):27-30.
- (50) Gauld NJ, Zeng IS, Ikram RB, Thomas MG, Buetow SA. Treatment of uncomplicated cystitis: analysis of prescribing in New Zealand. *N Z Med J.* 2016 Jul 1;129(1437):55-63.
- (51) Gerbaud G., triméthoprime et sulfamides, l'antibiogramme, 1985
- (52) Goldstein, Antibiogramme 3<sup>ème</sup> édition, chapitre 29
- (53) Goldstein, mécanismes de résistance aux sulfamides et au triméthoprime, *Bull Institut Pasteur*, 1977
- (54) Grey D, Hamilton-Miller JM, Brumfitt W. Incidence and mechanisms of resistance to trimethoprim in clinically isolated gram-negative bacteria. *Chemotherapy.* 1979;25(3):147-56.
- (55) Gunther NW 4th, Snyder JA, Lockett V, Blomfield I, Johnson DE, Mobley HL. Assessment of virulence of uropathogenic *Escherichia coli* type 1 fimbrial mutants in which the invertible element is phase-locked on or off. *Infect Immun.* 2002 Jul;70(7):3344-54.
- (56) HAS, Commission de la transparence, Avis du 22 juin 2016
- (57) HCST, Prévention de la transmission croisée des bactéries hautement résistantes aux antibiotiques émergentes (BHRe), 2013
- (58) Heikkilä E, Sundström L, Huovinen P. Trimethoprim resistance in *Escherichia coli* isolates from a geriatric unit. *Antimicrob Agents Chemother.* 1990 Oct;34(10):2013-5.
- (59) Heikkilä E, Renkonen OV, Sunila R, Uurasmaa P, Huovinen P. The emergence and mechanisms of trimethoprim resistance in *Escherichia coli* isolated from outpatients in Finland. *J Antimicrob Chemother.* 1990 Feb;25(2):275-83.
- (60) Hughes BR, Holt PJ, Marks R. Trimethoprim associated fixed drug eruption. *Br J Dermatol.* 1987 Feb;116(2):241-2.
- (61) Huovinen P, Mattila T, Kiminki O, Pulkkinen L, Huovinen S, Koskela M, Sunila R, Toivanen P. Emergence of trimethoprim resistance in fecal flora. *Antimicrob Agents Chemother.* 1985 Aug;28(2):354-6.

- (62) Huovinen P. Trimethoprim resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 1987 Oct;31(10):1451-6. Review
- (63) Huovinen P, Sundström L, Swedberg G, Sköld O. Trimethoprim and sulfonamide resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 1995 Feb;39(2):279-89. Review.
- (64) Huovinen P. Increases in rates of resistance to trimethoprim. *Clin Infect Dis.* 1997 Jan;24 Suppl 1:S63-6.
- (65) IDSA uncomplicated cystitis and pyelonephritis guideline, 2011
- (66) Institut de veille sanitaire, Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé, France, 2012. Rapport 2012.
- (67) Jansson C, Sköld O. Appearance of a new trimethoprim resistance gene, dhfrIX, in *Escherichia coli* from swine. *Antimicrob Agents Chemother.* 1991 Sep;35(9):1891-9.
- (68) Japan cooperative bacteriological study group for co-trimoxazole, Analysis of in vitro antibacterial activities of the combination of trimethoprim and sulfamethoxazole on clinical isolates in Japan. *J Infect Dis.* 1973 Nov;128:Suppl:502-7 p.
- (69) Jarvis KJ, Scrimgeour G. In-vitro sensitivity of *Shigella sonnei* to trimethoprim and sulphamethoxazole. *J Med Microbiol.* 1970 Aug;3(3):554-7.
- (70) Jodal U, Fellner H. Plasma and urine concentrations of trimethoprim-sulphadiazine (co-trimazine) in children given one dose per day. *Scand J Infect Dis.* 1988;20(1):91-5.
- (71) Johnson JR, Owens K, Gajewski A, Kuskowski MA. Bacterial characteristics in relation to clinical source of *Escherichia coli* isolates from women with acute cystitis or pyelonephritis and uninfected women. *J Clin Microbiol.* 2005 Dec;43(12):6064-72.
- (72) Joly Guillou, *Escherichia coli*, RFL, 2016
- (73) Joly Guillou, *Escherichia coli* revisité, ami ou ennemi ?, RFL, 2016
- (74) Journal officiel du 24 mars 2017 – texte 26
- (75) Kahlmeter G; ECO.SENS. An international survey of the antimicrobial susceptibility of pathogens from uncomplicated urinary tract infections: the ECO.SENS Project. *J Antimicrob Chemother.* 2003 Jan;51(1):69-76.
- (76) Kahlmeter G, Poulsen HO. Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* from community-acquired urinary tract infections in Europe: the ECO.SENS study revisited. *Int J Antimicrob Agents.* 2012 Jan;39(1):45-51.
- (77) Kahlmeter G, Åhman J, Matuschek E. Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli* Causing Uncomplicated Urinary Tract Infections: A European Update for 2014 and Comparison with 2000 and 2008. *Infect Dis Ther.* 2015 Dec;4(4):417-23.
- (78) Kaplan SA, Weinfeld RE, Abruzzo CW, McFaden K, Jack ML, Weissman L. Pharmacokinetic profile of trimethoprim-sulfamethoxazole in man. *J Infect Dis.* 1973 Nov;128:Suppl:547-55 p.
- (79) Kasanen A, Sundquist H. Trimethoprim alone in the treatment of urinary tract infections: eight years of experience in Finland. *Rev Infect Dis.* 1982 Mar-Apr;4(2):358-65. Review.
- (80) Kim JH, Kim JC, Choo YA, Jang HC, Choi YH, Chung JK, Cho SH, Park MS, Lee BK. Detection of cytolethal distending toxin and other virulence characteristics of enteropathogenic *Escherichia coli* isolates from diarrheal patients in Republic of Korea. *J Microbiol Biotechnol.* 2009 May;19(5):525-9.
- (81) Kremer I, Ritz R, Brunner F. Aseptic meningitis as an adverse effect of co-trimoxazole. *N Engl J Med.* 1983 Jun 16;308(24):1481.
- (82) Kristinsson JK, Hannesson OB, Sveinsson O, Thorleifsson H. Bilateral anterior uveitis and retinal haemorrhages after administration of trimethoprim. *Acta Ophthalmol Scand.* 1997 Jun;75(3):314-5.
- (83) Labar AS, Millman JS, Ruebush E, Opintan JA, Bishar RA, Aboderin AO, Newman MJ, Lamikanra A, Okeke IN. Regional dissemination of a trimethoprim-resistance gene cassette via a successful transposable element. *PLoS One.* 2012;7(5):e38142.
- (84) Lacey RW, Lord VL, Gunasekera HK, Leiberman PJ, Luxton DE. Comparison of trimethoprim alone with trimethoprim sulphamethoxazole in the treatment of respiratory and urinary infections with particular reference to selection of trimethoprim resistance. *Lancet.* 1980 Jun 14;1(8181):1270-3.
- (85) Lamikanra A, Ako-Nai AK, Ogunniyi DA. Transferable antibiotic resistance in *Escherichia coli* isolated from healthy Nigerian school children. *Int J Antimicrob Agents.* 1996 May;7(1):59-64.
- (86) Laursen H, Nielsen ML. Urinary tract pathogens-sensitivity to trimethoprim/sulphamethoxazole. *Scand J Infect Dis.* 1970 Dec;2(3):205-9.
- (87) Lochlainn MN, Gooi HC, Ogese MO, Naisbitt DJ, Jafar-Mohammadi B. Trimethoprim-induced aseptic meningism. *Br J Hosp Med (Lond).* 2017 Feb 2;78(2):108-109
- (88) Lombardo MN, G-Dayananan N, Wright DL, Anderson AC. Crystal Structures of Trimethoprim-Resistant DfrA1 Rationalize Potent Inhibition by Propargyl-Linked Antifolates. *ACS Infect Dis.* 2016 Feb 12;2(2):149-56.
- (89) Lütjhe P, Brauner A. Virulence factors of uropathogenic *E. coli* and their interaction with the host. *Adv Microb Physiol.* 2014;65:337-72.
- (90) Magnussen MD, Gislason H, Gaini S, Kristinsson KG. Antibacterial Susceptibilities of *Escherichia coli* from Community-Acquired Urinary Tract Infections in the Faroe Islands, Associations with Antibacterial Sales, and Comparison with Iceland and Denmark. *Microb Drug Resist.* 2017 May 24.
- (91) Marrs CF, Zhang L, Foxman B. *Escherichia coli* mediated urinary tract infections: are there distinct uropathogenic *E. coli* (UPEC) pathotypes? *FEMS Microbiol Lett.* 2005 Nov 15;252(2):183-90.

- (92) Massot et al., diversité des populations d'Escherichia coli et leurs variations au cours du temps au sein du microbiote intestinal, RFL, 2016
- (93) Matthews DA, Bolin JT, Burrige JM, Filman DJ, Volz KW, Kaufman BT, Beddell CR, Champness JN, Stammers DK, Kraut J. Refined crystal structures of Escherichia coli and chicken liver dihydrofolate reductase containing bound trimethoprim. *J Biol Chem.* 1985 Jan 10;260(1):381-91.
- (94) Matthews DA, Bolin JT, Burrige JM, Filman DJ, Volz KW, Kraut J. Dihydrofolate reductase. The stereochemistry of inhibitor selectivity. *J Biol Chem.* 1985 Jan 10;260(1):392-9.
- (95) Matthews DA, Smith SL, Baccanari DP, Burchall JJ, Oatley SJ, Kraut J. Crystal structure of a novel trimethoprim-resistant dihydrofolate reductase specified in Escherichia coli by R-plasmid R67. *Biochemistry.* 1986 Jul 29;25(15):4194-204.
- (96) McLellan LK, Hunstad DA. Urinary Tract Infection: Pathogenesis and Outlook. *Trends Mol Med.* 2016 Nov;22(11):946-957. 2016 Sep 28. Review.
- (97) Meares EM Jr. Prostatitis. Observations on activity of trimethoprim-sulfamethoxazole in the prostate. *J Infect Dis.* 1973 Nov;128:Suppl:679-85 p.
- (98) Meidahl Petersen K, Eplov K, Kjær Nielsen T, Jimenez-Solem E, Petersen M, Broedbaek K, Daugaard Popik S, Kallehave Hansen L, Enghusen Poulsen H, Trærup Andersen J. The Effect of Trimethoprim on Serum Folate Levels in Humans: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Am J Ther.* 2016 Mar-Apr;23(2):e382-7.
- (99) Mortimer NJ, Bermingham MR, Chapple SJ, Sladden MJ. Fatal adverse drug reaction to trimethoprim. *Aust Fam Physician.* 2005 May;34(5):345-6.
- (100) Myllykallio H, Leduc D, Filee J, Liebl U. Life without dihydrofolate reductase FOLA. *Trends Microbiol.* 2003 May;11(5):220-3.
- (101) Neu HC. Trimethoprim alone for treatment of urinary tract infection. *Rev Infect Dis.* 1982 Mar-Apr;4(2):366-71. Review.
- (102) Nwokolo C, Byrne L, Misch KJ. Toxic epidermal necrolysis occurring during treatment with trimethoprim alone. *Br Med J (Clin Res Ed).* 1988 Apr 2;296(6627):970.
- (103) OMS, Plan d'action mondial pour combattre la résistance aux antimicrobiens, 2015
- (104) ONERBA, Rapport 2015
- (105) Östholm Balkhed Å, Tärnberg M, Monstein HJ, Hällgren A, Hanberger H, Nilsson LE. High frequency of co-resistance in CTX-M-producing Escherichia coli to non-beta-lactam antibiotics, with the exceptions of amikacin, nitrofurantoin, colistin, tigecycline, and fosfomycin, in a county of Sweden. *Scand J Infect Dis.* 2013 Apr;45(4):271-8.
- (106) Papadopoulou B, Gerbaud G, Courvalin P, Acar JF, Goldstein FW. Molecular epidemiology of resistance to trimethoprim in enterobacteria isolated in a Parisian hospital. *Ann Inst Pasteur Microbiol (1985).* 1986 May-Jun;137A(3):239-51.
- (107) Pathak S, Power B. Bilateral acute anterior uveitis as a side effect of trimethoprim. *Eye (Lond).* 2007 Feb;21(2):252-3.
- (108) Pechère JC. [Synergism of trimethoprim-sulfamethoxazole association]. *Pathol Biol (Paris).* 1971 Jun-Jul;19(11):621-6. French.
- (109) Perazella MA. Trimethoprim-induced hyperkalaemia: clinical data, mechanism, prevention and management. *Drug Saf.* 2000 Mar;22(3):227-36.
- (110) Phetsang W, Pelingon R, Butler MS, Kc S, Pitt ME, Kaeslin G, Cooper MA, Blaskovich MA. Fluorescent Trimethoprim Conjugate Probes To Assess Drug Accumulation in Wild Type and Mutant Escherichia coli. *ACS Infect Dis.* 2016 Oct 14;2(10):688-701.
- (111) Ramesh Kumar MR, Arunagirinathan N, Srivani S, Dhanasezhian A, Vijaykanth N, Manikandan N, Balakrishnan S, Vignesh R, Balakrishnan P, Solomon S, Solomon SS. Dissemination of Trimethoprim-Sulfamethoxazole Drug Resistance Genes Associated with Class 1 and Class 2 Integrons Among Gram-Negative Bacteria from HIV Patients in South India. *Microb Drug Resist.* 2017 Jul;23(5):602-608
- (112) Richards D, Toop L, Chambers S, Fletcher L. Response to antibiotics of women with symptoms of urinary tract infection but negative dipstick urine test results: double blind randomised controlled trial. *BMJ.* 2005 Jul 16;331(7509):143.
- (113) Rieder J. Excretion of sulfamethoxazole and trimethoprim into human bile. *J Infect Dis.* 1973 Nov;128:Suppl:574 p.
- (114) Robert J, Pantel A, Mérens A, Lavigne JP, Nicolas-Chanoine MH; ONERBA's Carbapenem Resistance Study Group. Incidence rates of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae clinical isolates in France: a prospective nationwide study in 2011-12. *J Antimicrob Chemother.* 2014 Oct;69(10):2706-12.
- (115) Robin F, Résistance naturelles et acquises aux bêta-lactamines chez les entérobactéries : comment les identifier en pratique quotidienne ?, RFL, 2012
- (116) Ronald A. The etiology of urinary tract infection: traditional and emerging pathogens. *Am J Med.* 2002 Jul 8;113 Suppl 1A:14S-19S.
- (117) Royal Australian College of General Practitioners, Medical care of older persons in residential aged care facilities, 4th edition, 2006
- (118) The Royal children's hospital Melbourne, UTI guidelines, avril 2015
- (119) Sallen B, Rajoharison A, Desvarenne S, Mabilat C. Molecular epidemiology of integron-associated antibiotic resistance genes in clinical isolates of enterobacteriaceae. *Microb Drug Resist.* 1995 Fall;1(3):195-202.
- (120) Selassie CD, Gan WX, Kallander LS, Klein TE. Quantitative structure-activity relationships of 2, 4-diamino-5-(2-X-benzylo)pyrimidines versus bacterial and avian dihydrofolate reductase. *J Med Chem.* 1998 Oct 22;41(22):4261-72.
- (121) Seydel JK, Wempe E, Miller GH, Miller L. Quantification of the antibacterial action of trimethoprim alone and in combination with sulfonamides by bacterial growth kinetics. *J Infect Dis.* 1973 Nov;128:Suppl:463-9 p.

- (122)Shin HW, Lim J, Kim S, Kim J, Kwon GC, Koo SH. Characterization of trimethoprim-sulfamethoxazole resistance genes and their relatedness to class 1 integron and insertion sequence common region in gram-negative bacilli. *J Microbiol Biotechnol.* 2015 Jan;25(1):137-42.
- (123)Sköld O. Resistance to trimethoprim and sulfonamides. *Vet Res.* 2001 May-Aug;32(3-4):261-73.
- (124)Smal MA, Baldo BA, Harle DG. Drugs as allergens. The molecular basis of IgE binding to trimethoprim. *Allergy.* 1988 Apr;43(3):184-91.
- (125)Smith DD, Bell SM, Levey JM, Loy YT. The action of trimethoprim-sulphamethoxazole against urinary pathogens. *Med J Aust.* 1972 Feb 5;1(6):263-5.
- (126)SPILF, *Recommandations infections urinaires 2015*
- (127)Srinivasan U, Foxman B, Marrs CF. Identification of a gene encoding heat-resistant agglutinin in *Escherichia coli* as a putative virulence factor in urinary tract infection. *J Clin Microbiol.* 2003 Jan;41(1):285-9.
- (128)Stamm WE, Counts GW, Wagner KF, Martin D, Gregory D, McKeivitt M, Turck M, Holmes KK. Antimicrobial prophylaxis of recurrent urinary tract infections: a double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med.* 1980 Jun;92(6):770-5.
- (129)Stamm WE, Norrby SR. Urinary tract infections: disease panorama and challenges. *J Infect Dis.* 2001 Mar 1;183 Suppl 1:S1-4.
- (130)Steen R, Sköld O. Plasmid-borne or chromosomally mediated resistance by Tn7 is the most common response to ubiquitous use of trimethoprim. *Antimicrob Agents Chemother.* 1985 Jun;27(6):933-7.
- (131)Subashchandrabose S, Mobley HL. Virulence and Fitness Determinants of Uropathogenic *Escherichia coli*. *Microbiol Spectr.* 2015 Aug;3(4).
- (132)Sundqvist M, Granholm S, Naseer U, Rydén P, Brolund A, Sundsfjord A, Kahlmeter G, Johansson A. Within-population distribution of trimethoprim resistance in *Escherichia coli* before and after a community-wide intervention on trimethoprim use. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014 Dec;58(12):7492-500.
- (133)Tabasi M, Karam MR, Habibi M, Mostafavi E, Bouzari S. Genotypic Characterization of Virulence Factors in *Escherichia coli* Isolated from Patients with Acute Cystitis, Pyelonephritis and Asymptomatic Bacteriuria. *J Clin Diagn Res.* 2016 Dec;10(12):DC01-DC07.
- (134)Tai N, Schmitz JC, Liu J, Lin X, Bailly M, Chen TM, Chu E. Translational autoregulation of thymidylate synthase and dihydrofolate reductase. *Front Biosci.* 2004 Sep 1;9:2521-6.
- (135)Thiersch, the effect of substituted 2,4-diaminopyrimidines on the rat fetus in utero, 3rd international congress of chemotherapy, international society of chemotherapy, 1963
- (136)Vellinga A, Tansey S, Hanahoe B, Bennett K, Murphy AW, Cormican M. Trimethoprim and ciprofloxacin resistance and prescribing in urinary tract infection associated with *Escherichia coli*: a multilevel model. *J Antimicrob Chemother.* 2012 Oct;67(10):2523-30.
- (137)Vidal, EDIT du 18 mai 2017
- (138)Vidal, RCP Delprim
- (139)Vigil PD, Stapleton AE, Johnson JR, Hooton TM, Hodges AP, He Y, Mobley HL. Presence of putative repeat-in-toxin gene *tosA* in *Escherichia coli* predicts successful colonization of the urinary tract. *MBio.* 2011 May 3;2(3):e00066-11.
- (140)Vinué L, Sáenz Y, Somalo S, Escudero E, Moreno MA, Ruiz-Larrea F, Torres C. Prevalence and diversity of integrons and associated resistance genes in faecal *Escherichia coli* isolates of healthy humans in Spain. *J Antimicrob Chemother.* 2008 Nov;62(5):934-7.
- (141)Wagenlehner FM, Münch F, Pilatz A, Bärmann B, Weidner W, Wagenlehner CM, Straubinger M, Blenk H, Pfister W, Kresken M, Naber KG. Urinary concentrations and antibacterial activities of nitroxoline at 250 milligrams versus trimethoprim at 200 milligrams against uropathogens in healthy volunteers. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(2):713-21.
- (142)Xhafaj, fix drug eruption erythema caused by trimethoprim, *Allergy*, 2011

## Valentin WEHRLÉ

Triméthoprimé et infections urinaires : activités bactériostatique et bactéricide du triméthoprimé comparées au cotrimoxazole vis-à-vis d'une collection de souches d'*Escherichia coli*.

### Résumé

Les infections urinaires sont de loin les infections les plus rencontrées dans la population générale. Quelque soit le tableau clinique, *E. coli* est l'espèce bactérienne la plus souvent mise en cause que ces infections soient communautaires ou associées aux soins. Face à l'augmentation générale de l'antibiorésistance, liée à la consommation importante d'antibiotiques d'une part, et à la baisse de la mise sur le marché de nouveaux antibiotiques d'autre part, d'anciens antibiotiques dont la prescription fut un temps arrêtée en France sont de nouveau commercialisés et intégrés à l'arsenal thérapeutique.

Notre travail avait l'objectif de fournir des données récentes sur l'épidémiologie locale de la résistance au TMP de souches urinaires d'*E. coli*. Nous avons ainsi comparé l'activité bactériostatique et bactéricide du TMP, du sulfonamide (SUL) ou sulfaméthoxazole (SMX) et du cotrimoxazole (SXT) vis-à-vis d'une collection de souches urinaires d'*E. coli* entre 2009 et 2016.

Par la méthode des disques, le pourcentage de résistance au TMP s'est avéré égal à 22.5 % (85/378) mais seulement à 12.4 % (18/145) (identique à celui du SXT) vis-à-vis de souches isolées de cystites simples communautaires. Ce résultat confirme que le TMP ne peut être indiqué en traitement probabiliste mais en traitement documenté des cystites à risque de complication.

La CMI<sub>50</sub> (0.19 mg/L) et la CMI<sub>90</sub> (0.38 mg/L) du TMP vis-à-vis de 66 souches sensibles au SXT de notre collection sont très faibles et comparables à celles de la littérature.

Un dernier volet de ce travail dédié à l'étude de l'activité bactéricide comparée du TMP et du SXT a montré une bactéricidie significative du TMP, indépendante de sa concentration mais une bactéricidie du SXT dépendante de la sensibilité au TMP ou au SMX.

Ces résultats préliminaires doivent être confirmés par la répétition de courbes de bactéricidie et le test d'un plus grand nombre de souches.

**Mots clés :** Triméthoprimé, *Escherichia coli*, Infections urinaires, Bactériostase, Bactéricidie.

### Jury :

**Président :** Pr Martine PESTEL-CARON, PU-PH

**Membres :** Pr François CARON, PU-PH

Dr Christine THARASSE, MCU

Dr Marion DAVID

Dr Anaïs SOARES, AHU