

# La résistance aux antibiotiques dans les infections à *N. gonorrhoeae* chez les HSH sous DoxyPEP : une sous-étude de l'essai ANRS DoxyVAC.

Pr Béatrice Berçot

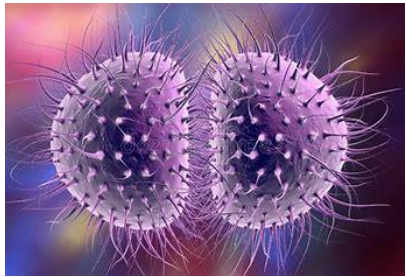
Cheffe du Service de Bactériologie, CHU St Louis-Lariboisière  
APHP-Université Paris Cité, INSERM-IAME, eq PreViST  
Directrice du LA - CNR des IST bactériennes (expertise gonocoque)

# Utilisation de la doxycycline pour traiter les IST bactériennes



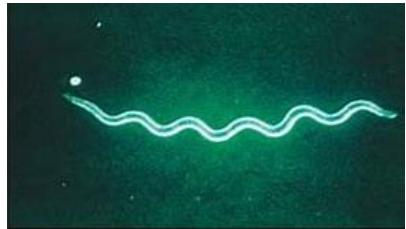
## *Chlamydia trachomatis* (CT)

→ 1<sup>ère</sup> ligne de traitement, pas de résistance décrite



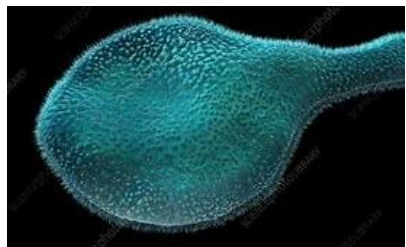
## *Neisseria gonorrhoeae* (GC)

→ Traitement non recommandé en raison d'un taux élevé de résistance du GC à la doxycycline (niveau élevé ou faible), variable selon les pays (États-Unis 25%, France >90%, Afrique 70 à 100%, Amérique latine 20%-90%, Afrique du Sud 75%, )



## Syphilis

→ Traitement de seconde intention ou alternatif (pénurie de PEN ou allergie), pas de résistance décrite



## *Mycoplasma genitalium* (MG)

→ Traitement non recommandé (possible traitement guidé par la résistance à l'azithromycine)  
→ On traite les patients symptomatiques uniquement, aucune résistance n'ayant été décrite.

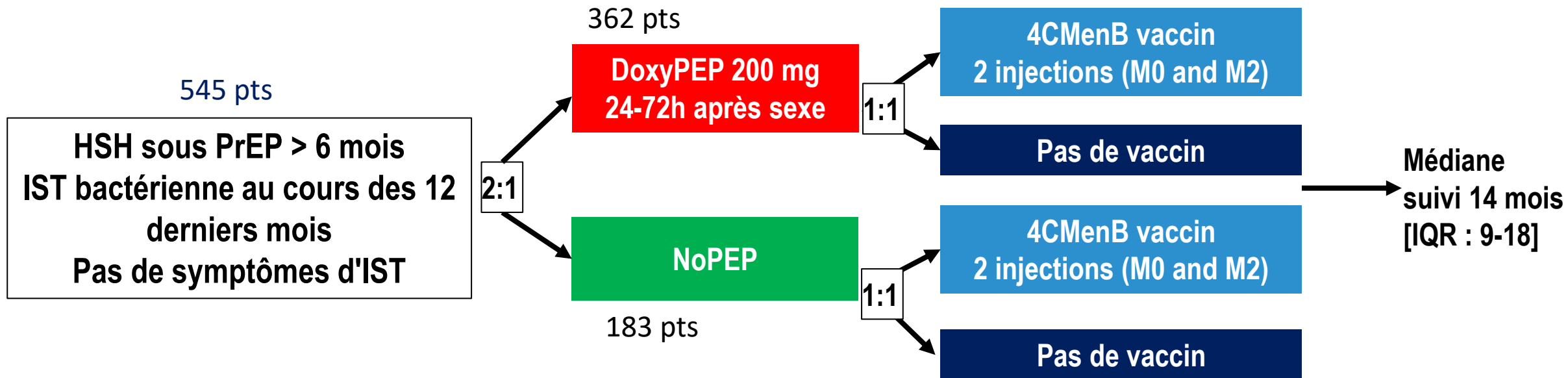
# Utilisation de la doxycycline pour prévenir l'apparition d'une IST bactérienne

- **Quatre grands essais cliniques randomisés sur la PEP doxy :**  
Ipergay, DoxyVAC, DoxyPEP, D-PEP
- Doxycycline en prophylaxie post exposition
  - 200mg 24h-72h après sexe
  - Sûre, bien tolérée
  - Efficacité sur les IST bactériennes

# Comparaison avec des essais cliniques randomisés utilisant la doxycycline dans le cadre de la prophylaxie post-exposition.

Patients	Réduction du risque relatif de Incidence des IST	Syphilis	Chlamydirose	Gonorrhée
<b>HSH sous PrEP</b>	ANRS-IperGay France	73%	70%	17%
	ANRS-DoxyVAC France	<b>79%</b> <b>p&lt;0.0001</b>	<b>86%</b> <b>p&lt;0.0001</b>	<b>33%</b> <b>P=0.0025</b>
	DoxyPEP US	87%	88%	55%
<b>Patient vivant avec le VIH</b>	DoxyPEP US	77%	74%	57%
<b>Femme cis</b>	D-PEP Kenya	NR	20%	0%

# ANRS DOXYVAC: Essai clinique randomisé en France



Dépistage des IST bactériennes tous les 3 mois  
Réduction drastique de l'incidence des ISTs bactériennes

	Syphilis	Chlamydiae	Gonorrhée
Relative réduction de l'incidence des ISTs	<b>79%</b> <b>p&lt;0.0001</b>	<b>86%</b> <b>p&lt;0.0001</b>	<b>33%</b> <b>P=0.0025</b>

# Méthodologie



SCREENING  
3 sites

Throat



Urine



Anal



- **NAATs:** Detection of *N. gonorrhoeae* Cobas C6800 (Roche) followed by detection of AMR



PCR targeting AMR and sequencing  
Illumina, **NG-AR2T** pipeline



**Molecular determinants of AMR**

- **Cultures:** Isolation of *N. gonorrhoeae* isolates



Antimicrobial susceptibility testing E-test MICs ( $\mu\text{g/mL}$ )



*EUCAST 2023 breakpoints*



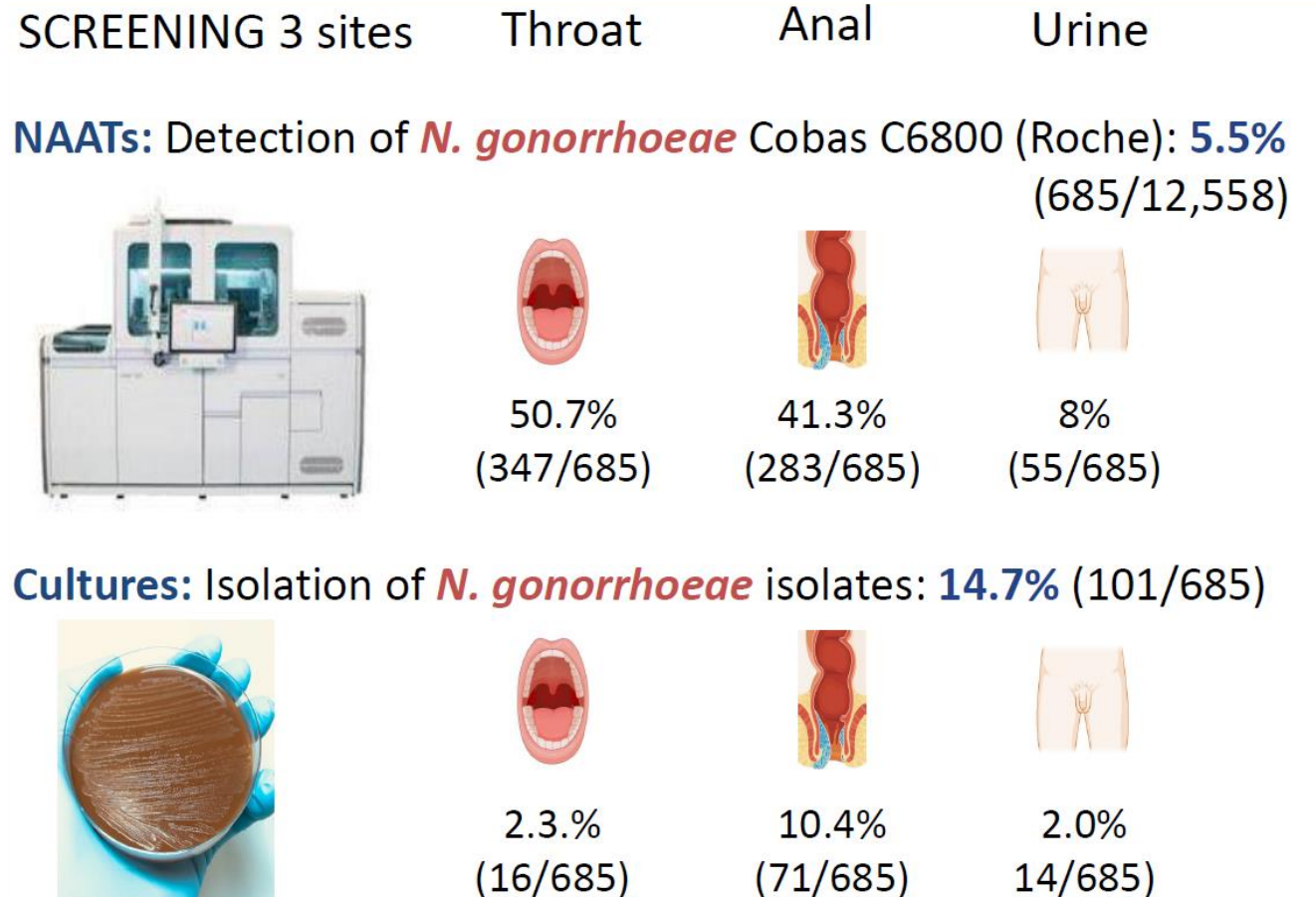
Whole Genome sequencing  
Illumina, **NG-AR2T** pipeline



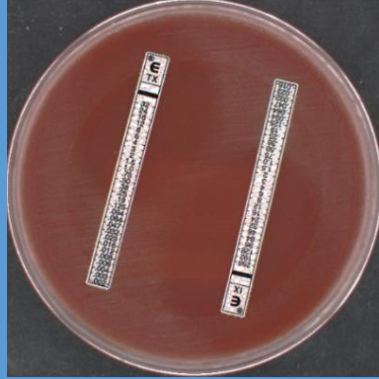
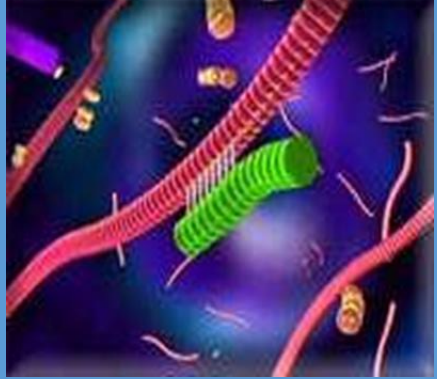
**Molecular determinants of AMR**

# Diagnostic de l'infection à gonocoque dans Doxyvac

- Détection de NG par **TAAN** chez les HSH sous PrEP était de **5,5 %**  
Gorge : 50%
- Faible positivité des **cultures de NG** parmi les échantillons de TAAN + : **14,7 %**.
- La meilleure performance de culture a été observée dans l'anus.



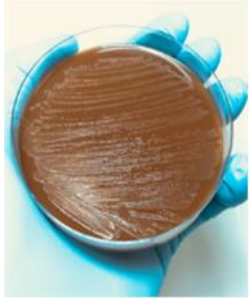
# Interprétation de la résistance génotype / phénotype

		PHENOTYPE	GENOTYPE
		Concentration minimales Inhibitrices (CMI)	Principales mutations
			
<b>TÉTRACYCLINE</b>	Résistant	CMI > 0,5mg/L	<i>rspJ</i> (V57M)
	Haut niveau R	CMI ≥ 8 mg/L	<i>tetM</i>
<b>CIPROFLOXACINE</b>	Résistant	CMI > 0,06 mg/L	Gyrase GyrA (AS91F)
<b>AZITHROMYCINE</b>	Résistant	CMI > 1 mg/L	Mutation efflux MtrCDE
	Haut niveau R	CMI ≥ 8 mg/L	23S ARNr
<b>CÉFIXIME / CEFTRIAZONE</b>	Sensibilité diminuée	CMI ≥ 0,032 mg/L	<i>penA</i> allele (mosaïque ou non)
	Résistant	CMI > 0,125 mg/L	<i>penA</i> allele (mosaïque ou non)
<b>GENTAMICINE</b>		CMI > 16 mg/L	-
<b>SPECTINOMYCINE</b>		CMI > 64 mg/L	-



# Résultats : phase randomisée

Phase ouverte : janvier 2021 à février 2023



Sélection d'un seul prélèvement par infection

- **78 gonocoques obtenus en cultures**
  - 7 souches à la baseline
  - 40 souches bras noPEP
  - 31 souches bras PEP
- **203 échantillons pour étude moléculaire**  
20% baseline, 40% doxysep, 40% nonPEP



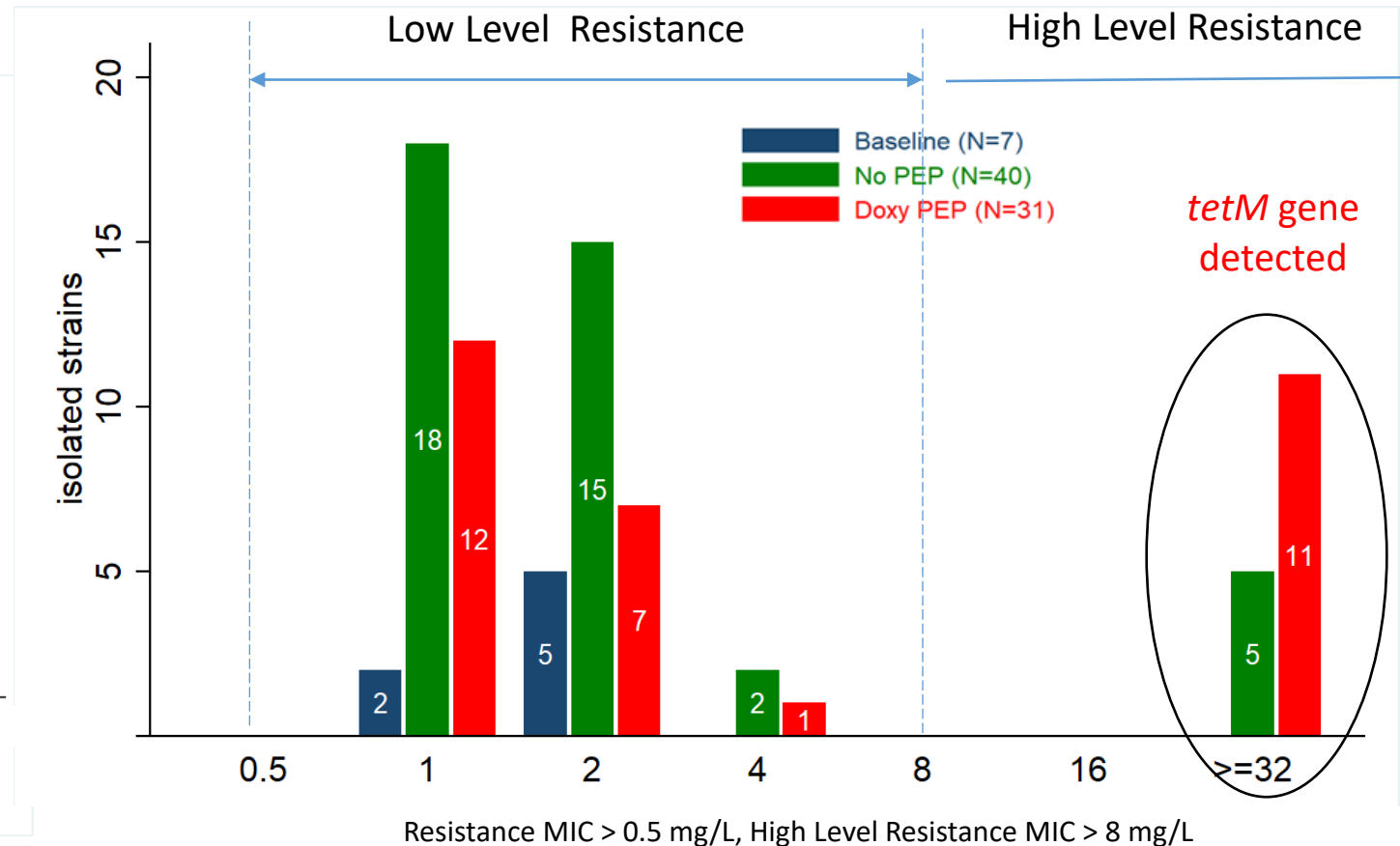
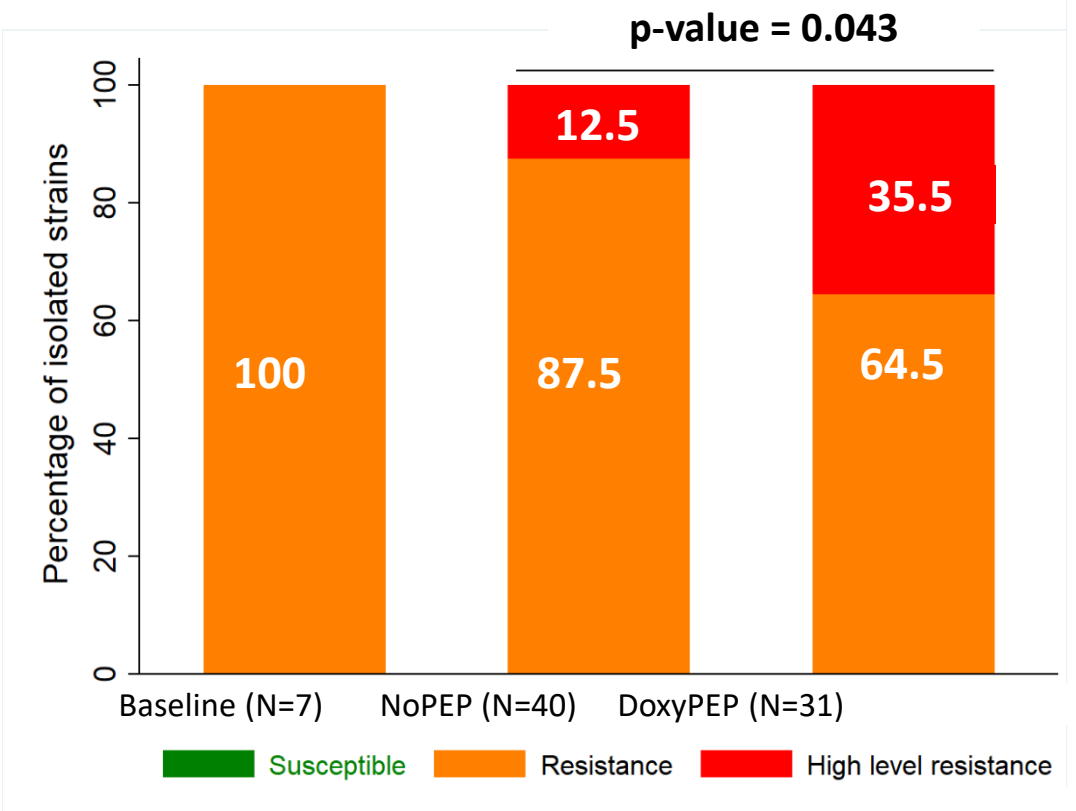
# Résultats : phénotypes des souches

Antibiotics	Pourcentage de souches de Sensibilité Diminuée ou Résistantes			
	Baseline (n=7)	NoPEP (n=40)	DoxyPEP (n=31)	*p value
<b>Tetracycline R</b>				
Bas niveau	100% (7/7)	100% (40/40)	100% (31/31)	>0.99
<b>Haut niveau</b>	0% (0/7)	12.5% (5/40)	<b>35.5% (11/31)</b>	<b>0.043</b>
Azithromycine R	0% (0/7)	20% (8/40)	9.7% (3/31)	0.33
Ciprofloxacine R	71.4% (5/7)	72.5% (29/40)	74.2% (23/31)	>0.99
Spectinomycine R	0% (0/7)	0% (0/40)	0% (0/31)	¥NE
Gentamicine R	0% (0/7)	0% (0/40)	0% (0/31)	¥NE
Ceftriaxone R	0% (0/7)	0% (0/40)	0% (0/31)	¥NE
Cefixime R	0% (0/7)	0% (0/40)	0% (0/31)	¥NE
<b>Cefixime DS</b>	0% (0/7)	10% (4/40)	<b>32.3% (10/31)</b>	<b>0.033</b>

# Résistance à la tétracycline, distribution CMI

78 NG isolats

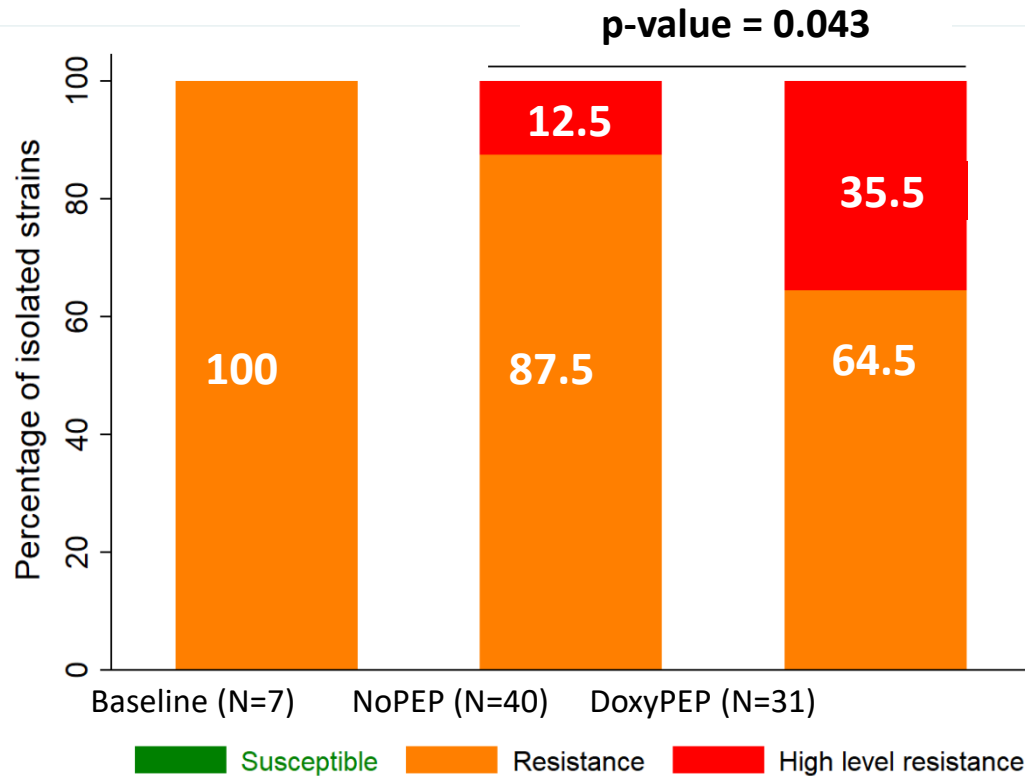
Augmentation significative des gonocoques résistants à haut niveau aux cyclines dans le bras DoxyPEP



# Resistance à la tétracycline, déterminants moléculaires

## PHENOTYPE

## GENOTYPE

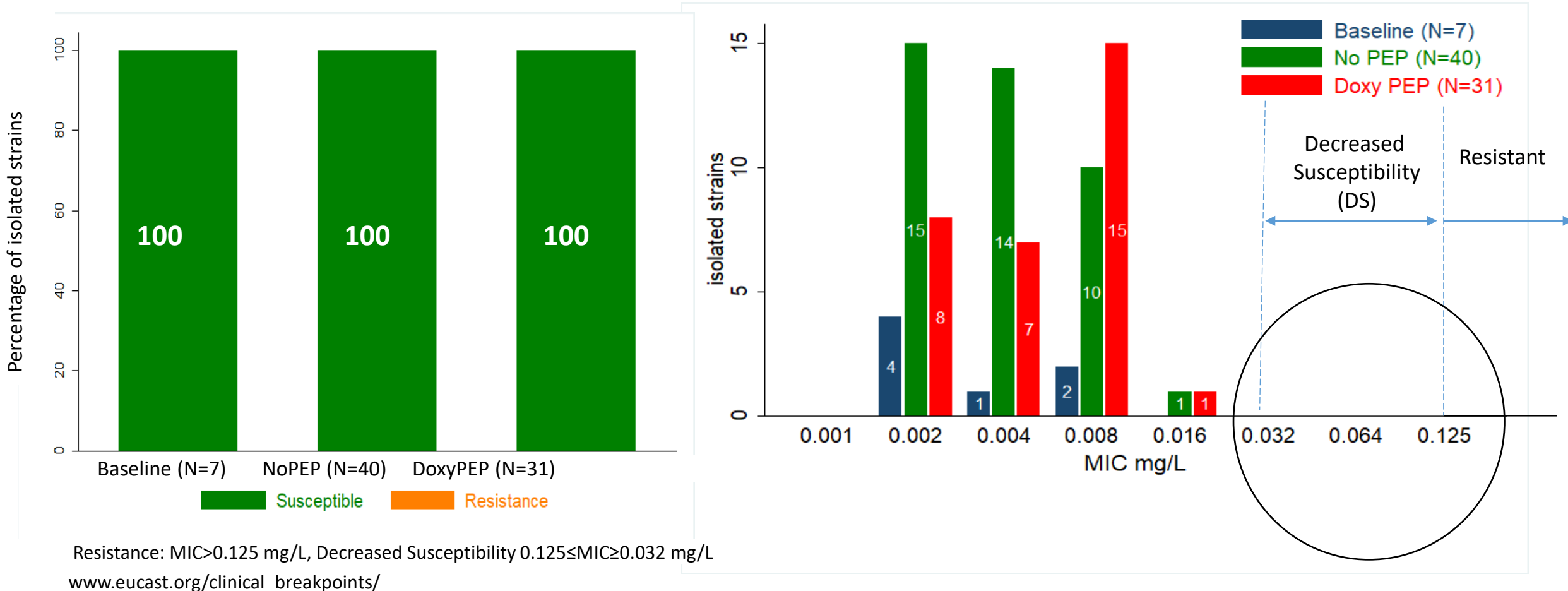


Molecule		Baseline	NoPEP	PEP	P value
<b>High-level resistance to Tetracycline</b>					
<b>TetM acquisition</b>		<b>N=42</b>	<b>N=94</b>	<b>N=90</b>	
	No	27 (64.3%)	71 (75.5%)	36 (40.0%)	<b>&lt;0.0001</b>
	Yes	15 (35.7%)	23 (24.5%)	54 (60.0%)	
<b>Low-level resistance to Tetracycline</b>					
rpsJ		<b>N=28</b>	<b>N=77</b>	<b>N=67</b>	
	WT	3 (10.7%)	4 (5.2%)	5 (7.5%)	0.73
	V57M	25 (89.3%)	73 (94.8%)	62 (92.5%)	
MtrR mutation A39T		<b>N=26</b>	<b>N=72</b>	<b>N=58</b>	
	No	7 (26.9%)	30 (41.7%)	16 (27.6%)	0.10
	Yes	19 (73.1%)	42 (58.3%)	42 (72.4%)	
MtrR mutation G45D		<b>N=26</b>	<b>N=69</b>	<b>N=58</b>	
	No	25 (96.2%)	69 (100%)	58 (100%)	¥NE
	Yes	1 (3.8%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	
MtrR promoteur		<b>N=26</b>	<b>N=74</b>	<b>N=58</b>	
	WT	19 (73.1%)	53 (71.6%)	48 (82.8%)	0.15
	Del-35A	7 (26.9%)	21 (28.4%)	10 (17.2%)	

# Sensibilité à la ceftriaxone, distribution des CMI

78 NG isolats

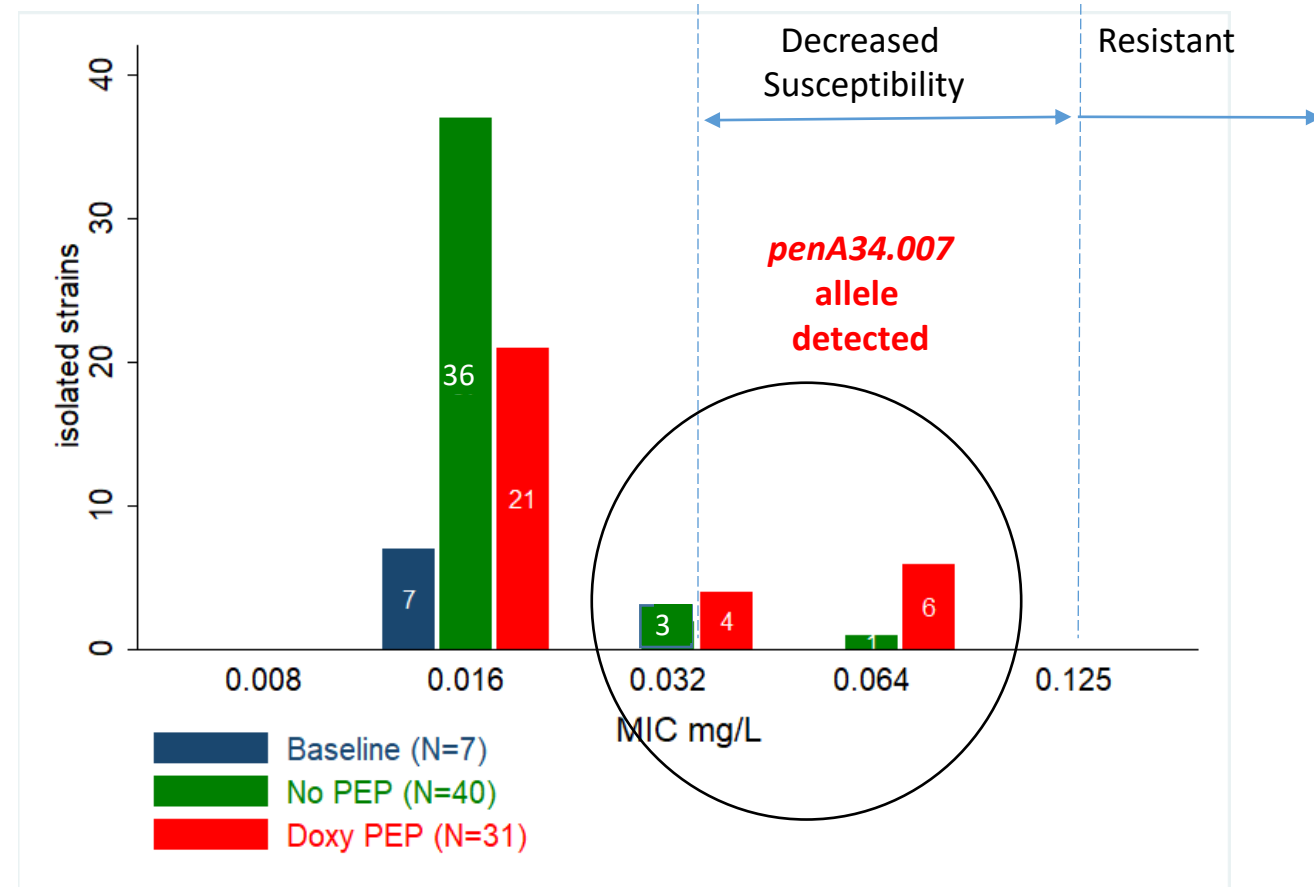
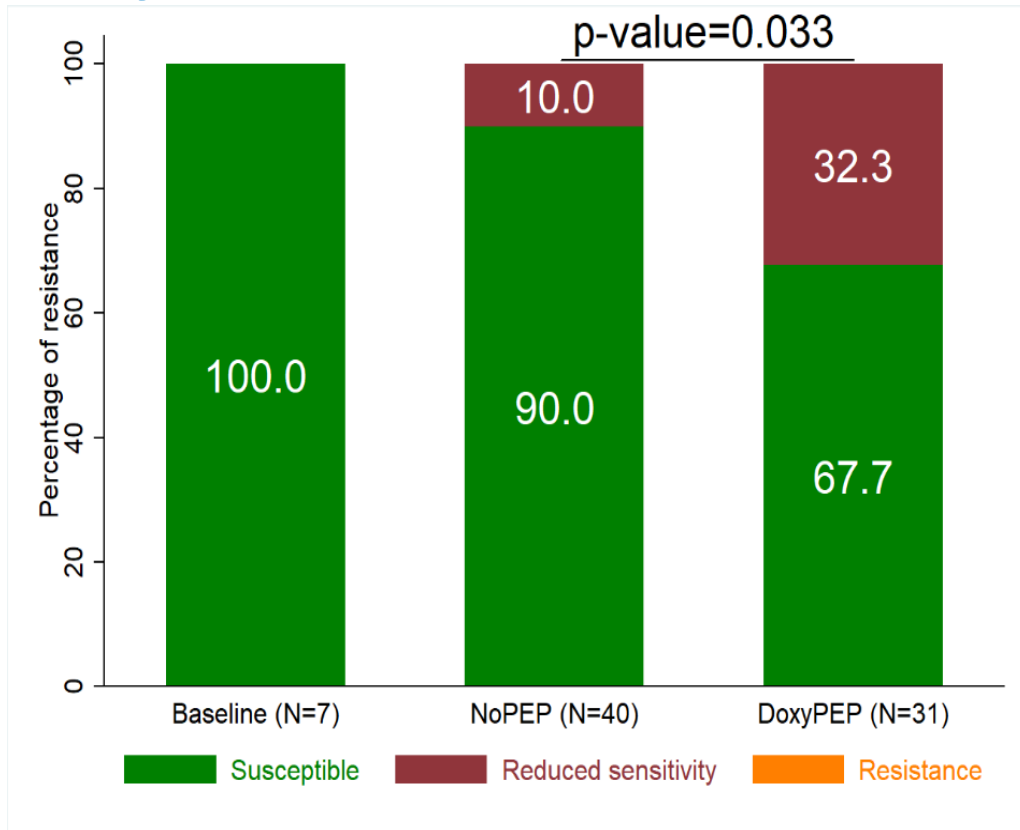
Tous les gonocoques étaient sensibles à la ceftriaxone



# Sensibilité diminuée au cefixime, distribution des CMI

78 NG isolats

Augmentation significative des gonocoques de sensibilité diminuée au cefixime dans le bras DoxyPEP



Resistance: MIC > 0.125 mg/L, Decreased susceptibility 0.125 ≤ MIC < 0.032 mg/L

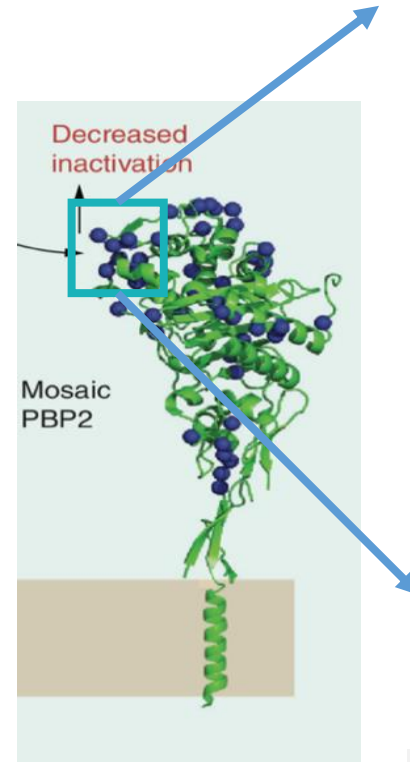
[www.eucast.org/clinical\\_breakpoints/](http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/)

# Résistance ceftriaxone: liée la présence de l'allèle *penA*

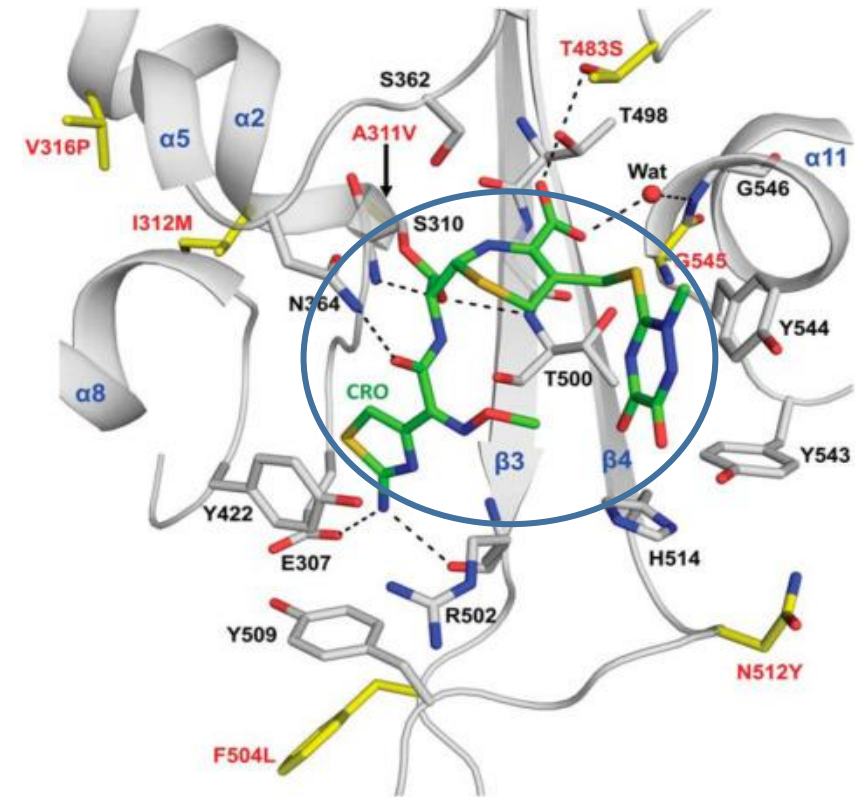
*PenA* : Encode la protéine 2 de liaison à la pénicilline (PBP2)

## Mosaïcisme du gène *penA*

- Altération de PBP2, cible létale pour les C3G
- Augmentation significative de la CMI de la ceftriaxone



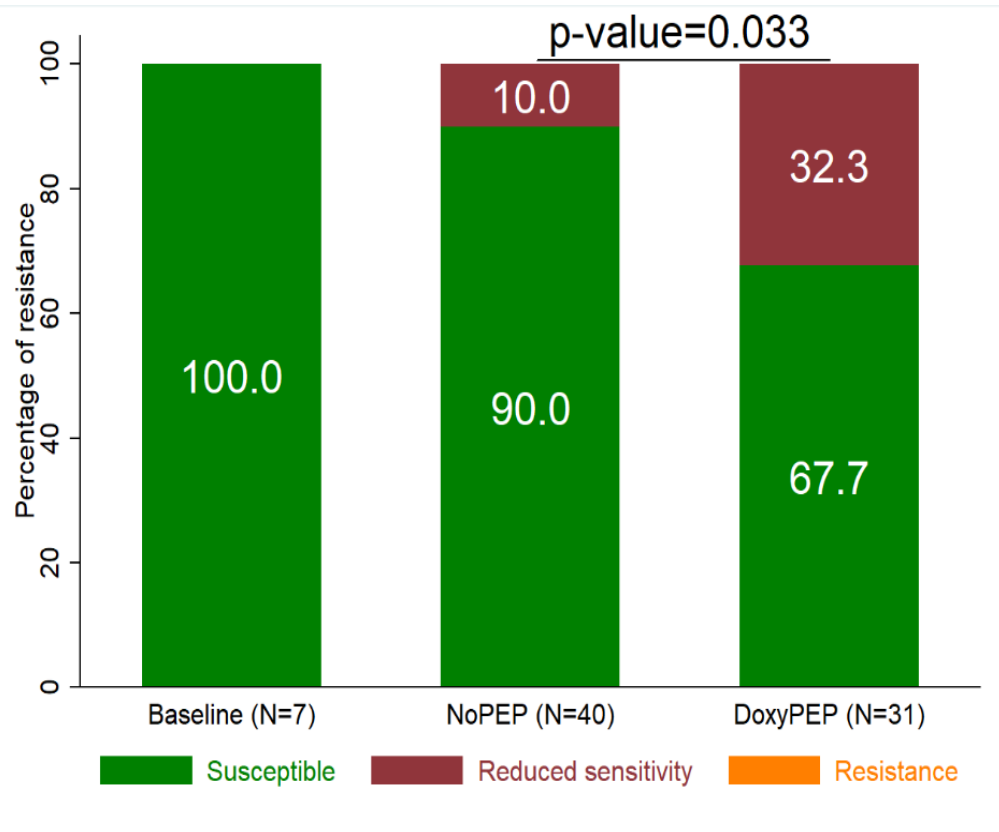
**Mosaic *penA*: 50 to 60 altérations**



**NonMosaic *penA* <10 altérations**

**Figure: Mutations in PBP2 identified as contributing to 3GC resistance of *N. gonorrhoeae*.**

# Sensibilité diminuée au cefixime, déterminants moléculaires

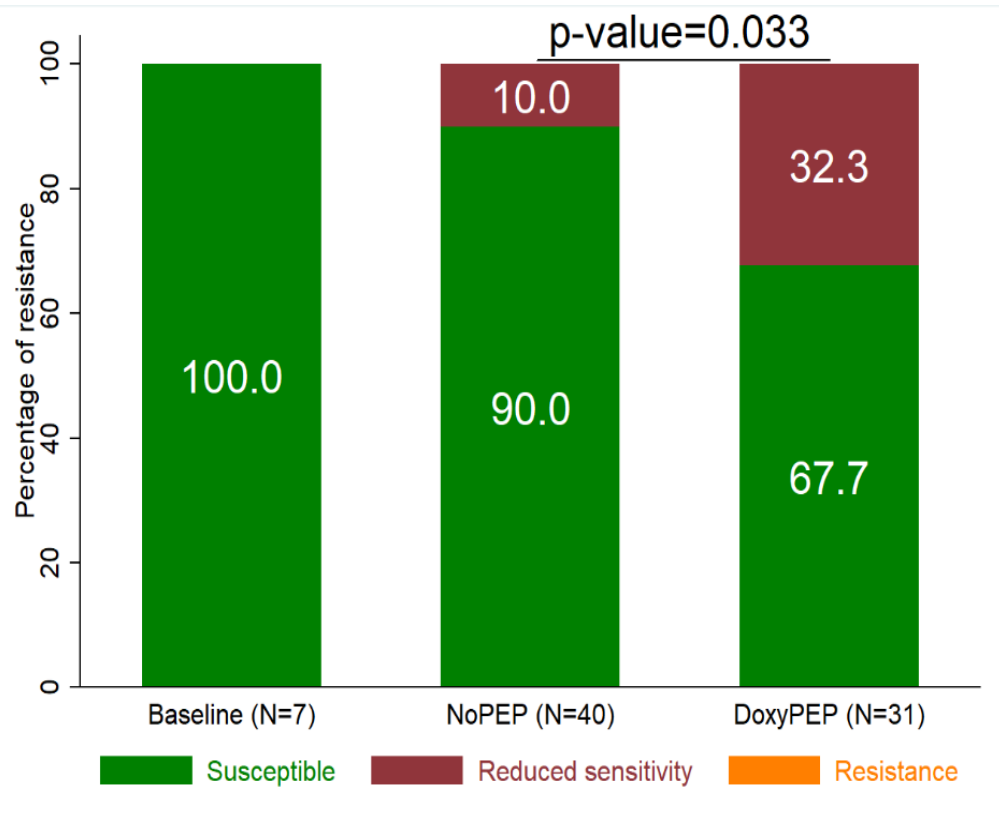


Molecule		Baseline	Follow-up		*p-value
		Total	No PEP	PEP	
<b>Resistance to ceftriaxone/cefixime</b>					
PenA mosaic		<b>N=35</b>	<b>N=77</b>	<b>N=78</b>	
	No	21 (60.0%)	66 (85.7%)	52 (66.7%)	<b>0.008</b>
	Yes	14 (40.0%)	11 (14.3%)	26 (33.3%)	
PenA mutation A501V		<b>N=35</b>	<b>N=77</b>	<b>N=78</b>	
	No	32 (91.4%)	72 (93.5%)	73 (93.6%)	>0.99
	Yes	3 (8.6%)	5 (6.5%)	5 (6.4%)	
PenA mutation A517G		<b>N=35</b>	<b>N=76</b>	<b>N=78</b>	
	No	11 (31.4%)	12 (15.8%)	27 (34.6%)	<b>0.009</b>
	Yes	24 (68.6%)	64 (84.2%)	51 (65.4%)	
PenA mutation G543S		<b>N=35</b>	<b>N=75</b>	<b>N=79</b>	
	No	27 (77.1%)	53 (70.7%)	69 (87.3%)	<b>0.016</b>
	Yes	8 (22.9%)	22 (29.3%)	10 (12.7%)	
PenA mutation N513Y		<b>N=35</b>	<b>N=76</b>	<b>N=78</b>	
	No	22 (62.9%)	65 (85.5%)	51 (65.4%)	<b>0.005</b>
	Yes	13 (37.1%)	11 (14.5%)	27 (34.6%)	
PenA 34.007		<b>N=40</b>	<b>N=80</b>	<b>N=82</b>	
	No	32 (80.0%)	70 (87.5%)	61 (74.4%)	<b>0.045</b>
	Yes	8 (20.0%)	10 (12.5%)	21 (25.6%)	
PorB		<b>N=7</b>	<b>N=36</b>	<b>N=31</b>	
	WT	6 (85.7%)	29 (80.6%)	26 (83.9%)	0.76
	G120K	1 (14.3%)	7 (19.4%)	5 (16.1%)	
PorA		<b>N=7</b>	<b>N=38</b>	<b>N=31</b>	
	WT	5 (71.4%)	22 (57.9%)	25 (80.6%)	0.068
	L421P	2 (28.6%)	16 (42.1%)	6 (19.4%)	

Resistance: MIC>0.125 mg/L, Decreased susceptibility 0.125≤MIC>0.032 mg/L  
[www.eucast.org/clinical\\_breakpoints/](http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/)



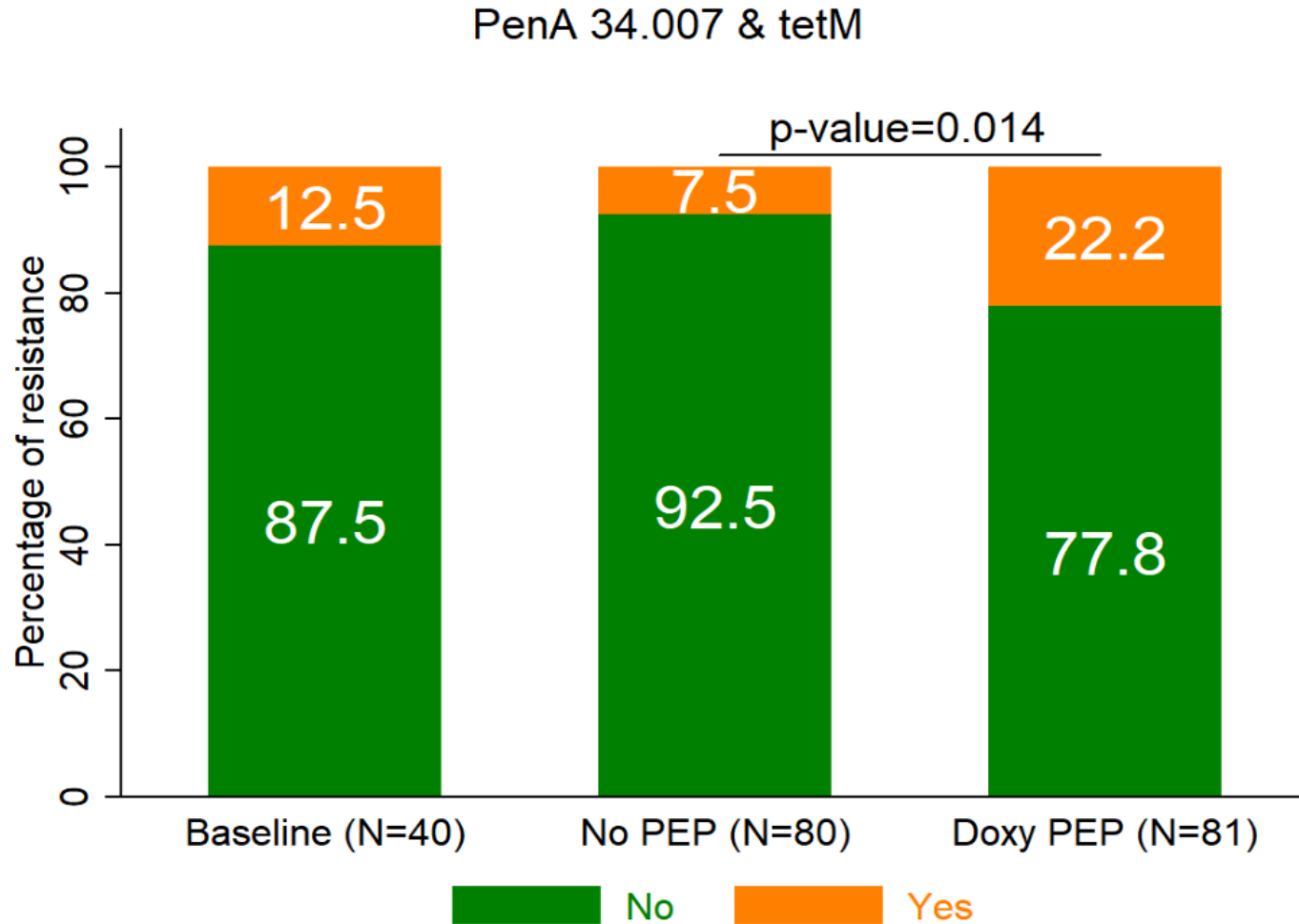
# Sensibilité diminuée au cefixime, déterminants moléculaires



Molecule		Baseline	Follow-up		*p-value
		Total	No PEP	PEP	
<b>Resistance to ceftriaxone/cefixime</b>					
PenA mosaic		<b>N=35</b>	<b>N=77</b>	<b>N=78</b>	
	No	21 (60.0%)	66 (85.7%)	52 (66.7%)	<b>0.008</b>
	Yes	14 (40.0%)	11 (14.3%)	26 (33.3%)	
PenA mutation A501V		<b>N=35</b>	<b>N=77</b>	<b>N=78</b>	
	No	32 (91.4%)	72 (93.5%)	73 (93.6%)	>0.99
	Yes	3 (8.6%)	5 (6.5%)	5 (6.4%)	
PenA mutation A517G		<b>N=35</b>	<b>N=76</b>	<b>N=78</b>	
	No	11 (31.4%)	12 (15.8%)	27 (34.6%)	<b>0.009</b>
	Yes	24 (68.6%)	64 (84.2%)	51 (65.4%)	
PenA mutation G543S		<b>N=35</b>	<b>N=75</b>	<b>N=79</b>	
	No	27 (77.1%)	53 (70.7%)	69 (87.3%)	<b>0.016</b>
	Yes	8 (22.9%)	22 (29.3%)	10 (12.7%)	
PenA mutation N513Y		<b>N=35</b>	<b>N=76</b>	<b>N=78</b>	
	No	22 (62.9%)	65 (85.5%)	51 (65.4%)	<b>0.005</b>
	Yes	13 (37.1%)	11 (14.5%)	27 (34.6%)	
PenA 34.007		<b>N=40</b>	<b>N=80</b>	<b>N=82</b>	
	No	32 (80.0%)	70 (87.5%)	61 (74.4%)	<b>0.045</b>
	Yes	8 (20.0%)	10 (12.5%)	21 (25.6%)	
PorB		<b>N=7</b>	<b>N=36</b>	<b>N=31</b>	
	WT	6 (85.7%)	29 (80.6%)	26 (83.9%)	0.76
	G120K	1 (14.3%)	7 (19.4%)	5 (16.1%)	
PorA		<b>N=7</b>	<b>N=38</b>	<b>N=31</b>	
	WT	5 (71.4%)	22 (57.9%)	25 (80.6%)	0.068
	L421P	2 (28.6%)	16 (42.1%)	6 (19.4%)	

Resistance: MIC>0.125 mg/L, Decreased susceptibility 0.125≤MIC>0.032 mg/L  
[www.eucast.org/clinical\\_breakpoints/](http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/)

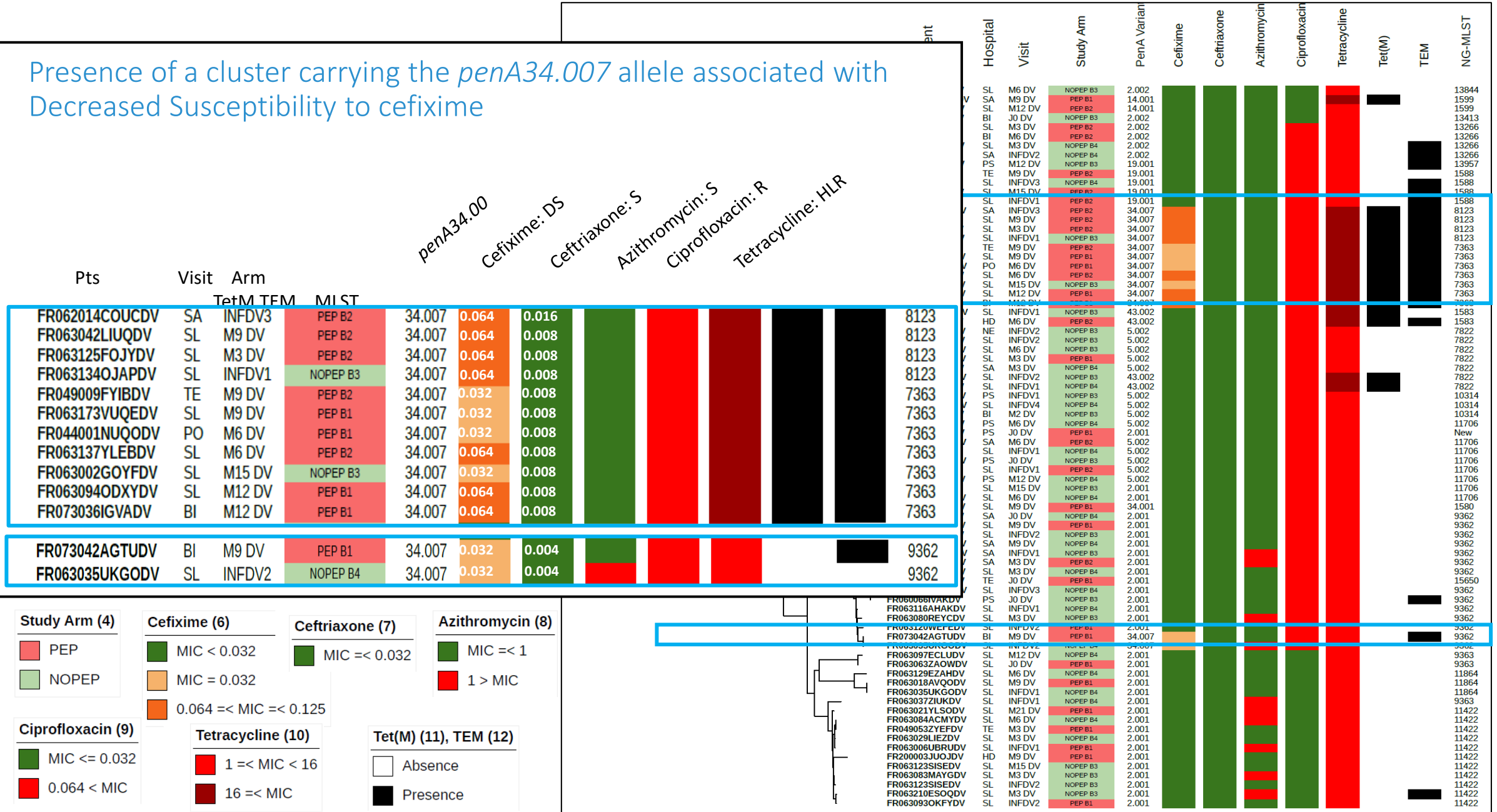
# Association des déterminants moléculaires *tetM* et *penA34*





# Phylogenetic tree of the 78 GC isolates obtained by WGS

Presence of a cluster carrying the *penA34.007* allele associated with Decreased Susceptibility to cefixime



**Study Arm (4)**

- PEP
- NOPEP

**Cefixime (6)**

- MIC < 0.032
- MIC = 0.032
- 0.064 <= MIC <= 0.125

**Ceftriaxone (7)**

- MIC <= 0.032

**Azithromycin (8)**

- MIC <= 1
- 1 > MIC

**Ciprofloxacin (9)**

- MIC <= 0.032
- 0.064 < MIC

**Tetracycline (10)**

- 1 <= MIC < 16
- 16 <= MIC

**Tet(M) (11), TEM (12)**

- Absence
- Presence

# Impact de la doxyPEP sur les isolats de gonocoque dans l'étude DoxyVac

- La DoxyPEP n'a eu aucun impact sur la sensibilité à la ceftriaxone, à la ciprofloxacine, l'azithromycine et les aminosides et n'a pas sélectionné de gonocoque XDR.
- La doxyPEP a sélectionné un cluster **associant une diminution de la sensibilité au céfixime et une résistance à haut niveau à la tétracycline (ce cluster est connu en France depuis 2020)**.
- L'utilisation de la doxycycline en prophylaxie pourrait modifier le paysage des isolats de GC et sélectionner certains clones circulant au moment de l'étude qui aurait un HNR à la tétracycline.

# Impact de la doxyPEP sur les isolats de gonocoque dans l'étude DoxyVac

- Encadrement de l'utilisation de la doxyPEP ([https://www.has-sante.fr/jcms/p\\_3586490/fr/doxycycline-en-prevention-des-infections-sexuellement-transmissibles-bacteriennes](https://www.has-sante.fr/jcms/p_3586490/fr/doxycycline-en-prevention-des-infections-sexuellement-transmissibles-bacteriennes) available since 29/01/2025)
- En cas d'utilisation, des recommandations sont nécessaires pour les infections à gonocoque
  - (i) détecter l'échec clinique du traitement à la ceftriaxone dans le cadre du programme DoxyPEP ;
  - (ii) surveiller par culture les antibiogrammes pour tous les patients symptomatiques et les tests NAAT positifs,
  - (iii) alerter en cas de résistance des ESC.

Les données soulignent également la nécessité de développer un vaccin efficace contre la GC.

## ANRS Doxyvac team

### Clinical study team

**J.M. Molina**

**J. Ghosn, D. Rojas**

E. Rubenstein, G. Pialoux, C. Katlama,

L. Surgers, JP. Viard, L. Glodwirth

J. Pavie, L. Slama, C. Duvivier, B. Loze

### Methodology team

**L. Assoumou**

D. Costagliola, AD. Kaba

M. Algarte-Genin, M. Ouattara

### ANRS/MIE

**V. Petrov-Sanchez**

S. Lemestre, C. Birkle, M. Olivier,

A. Diallo, S. Gibowski

**Scientific committee, participants, sites  
investigators, DSMB**

## Acknowledgments



*Diagnostics*



## National Reference Centre for bacterial STI team



**C. Bébéar, director, MG & CT expert**

**B. Berçot, NG expert**

**N. Dupin, syphilis expert**

**CG team: B. Bercot**

F. Caméléna A. Braille, M. Mainardis,

M. Mérimèche F. Meunier, C. Voitichouk



Web site: <https://www.cnr-ist.fr>

**Colleagues from Euro-GASP, ECDC and Santé Publique  
France**