

Corrélation du profil Western Blot avec les stades cliniques et immunologiques chez les patients infectés par le VIH au Maroc

[Correlation of Western Blot profile with clinical and immunological stages in HIV-infected patients in Morocco]

Fatima Ezzahra Hsai¹, Rachid El Faiz¹, Loubna Mahir¹, Asmaa Drissi Bourhanbour¹⁻², Jalila El Bakkouri¹⁻², Hanane Badi³, Latifa Marih³, Mustapha Sodqi³, and Kamal Marhoum Elfilali³

¹Laboratoire d'Immunologie, Centre Hospitalier Universitaire Ibn Rochd de Casablanca, Morocco

²Laboratoire d'Immunologie Clinique et d'Immuno-Allergie (LICIA), Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca, Morocco

³Service des maladies infectieuses, Centre Hospitalier Universitaire Ibn Rochd de Casablanca, Morocco

Copyright © 2023 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: *Introduction:* Western-blot was the first technique used to confirm the presence of anti-HIV antibodies. We aim to analyze the different profiles of the HIV western-blot (WB) test and assess their association with the different clinical and immunological stages of infection.

Methods: Retrospective study included 688 cases of HIV infection confirmed by WB (HIV BLOT 2.2, MP Diagnostics), at the immunology medical analysis laboratory in collaboration with the infectious diseases department at the CHU Ibn Rochd, between January 2019 and December 2020. For the analysis of the results of the WB profiles, we adopted the interpretation criteria of the WHO (World Health Organization).

Results: HIV-1 complete profile (PC: GP160, GP120, P66, P55, P51, GP41, P39, P31, P24, P17) was noted in 41.52% of cases. While 58.04% presented an incomplete HIV-1 profile. P39 was missing in 42.98% of cases, compared to 25.73% for P17, and 28.07%, 15.78%, 7.6%, 6.43%, 1.46%, %0.73% for P55, GP 51, P66, P31, GP24, GP41 respectively. A statistically significant relationship between the clinically advanced stages of HIV infection and the absence of P17, P55 and P39 antibodies in the WB test has been determined.

Conclusion: WB profile during HIV infection may be useful in predicting the stages of HIV-positive patients in situations where the assay of CD4 count and viral load are not available.

KEYWORDS: Western blot, HIV, CDC93 classification, clinical stage, CD4.

RESUME: *Introduction:* Le diagnostic précoce de l'infection à VIH permet d'améliorer le pronostic de cette maladie grâce aux progrès thérapeutiques. Le Western-blot a été la première technique employée pour confirmer la présence d'anticorps anti-VIH après des résultats de tests Elisa positifs ou contradictoire répétables. L'Objectif de notre étude était d'analyser les différents profils du test western-blot (WB) VIH et apprécier leur association aux différents stades cliniques de l'infection.

Matériel et méthodes: Étude rétrospective menée à partir de 688 cas d'infection à VIH confirmés par WB (HIV BLOT 2.2, MP Diagnostics), au laboratoire d'analyses médicales d'immunologie en collaboration avec le service des maladies infectieuses au CHU Ibn Rochd, entre janvier 2019 et décembre 2020. Pour l'analyse des résultats du test WB, nous avons adopté les critères d'interprétation de l'OMS.

Résultats: Une réactivité avec l'ensemble des protéines du test WB VIH-1 ou profil complet (PC: GP160, GP120, P66, P55, P51, GP41, P39, P31, P24, P17) était noté dans 41.52% des cas. Tandis que 58.04% présentaient un profil HIV1 incomplet. P39

manquait dans 42.98% des cas, contre 25.73% pour P17, et 28.07%, 15.78%, 7.6%, 6.43%, 1.46%, 0.73% pour P55, GP51, P66, P31, GP24, GP41 respectivement. Une relation statistiquement significative entre les stades cliniquement avancés de l'infection par le VIH et l'absence d'anticorps P17, P55 et P39 dans le test WB a été déterminé.

Conclusion: L'étude du profil western blot par rapport aux stades cliniques de l'infection au VIH peut être utile pour prédire les stades des malades séropositifs au VIH dans les situations où le dosage du taux de CD4 et la charge virale ne sont pas disponibles.

MOTS-CLEFS: Western blot, VIH, classification CDC93, stade clinique, CD4.

1 INTRODUCTION

L'infection au VIH (virus de l'immunodéficience humaine) reste un problème majeur de santé publique de portée mondiale. On estimait à 37,7 millions [30,2 à 45,1 millions] le nombre de personnes vivant avec le VIH à la fin de 2020, dont plus des deux tiers (25,4 millions) dans la Région africaine. En 2020; 1,5 million [1,0 à 2,0 millions] de personnes ont été infectées par le VIH (1).

Au Maroc, en 2019, le nombre des nouveaux cas d'infection par le VIH notifiés a été de 1.385 sur l'ensemble du territoire, portant ainsi le nombre des cas cumulés à environ 20.000 depuis le début de l'épidémie en 1986 (2,3). Jusqu' en 2021 le dépistage du VIH au Maroc reposait essentiellement sur la réalisation d'une sérologie (test ELISA de quatrième génération) en laboratoire d'analyse, avec également la disponibilité de tests rapides à orientation diagnostique (TROD) sanguins réalisés par des personnels formés au sein des centres de dépistage ou des associations de lutte contre le VIH puis dans un deuxième temps la confirmation de la séropositivité par le western blot.

Le test Western Blot, le diagnostic de confirmation du VIH, permet d'identifier des anticorps spécifiques des protéines dénaturées du VIH-1 et/ou VIH-2. Incluant des protéines de l'enveloppe (gp41, gp120 et gp160), du core, (P17, P24 et P55), et enzymatiques (p66, p51, p39 et p31) (4).

Les critères d'interprétation du test western blot diffèrent selon les divers organismes, particulièrement l'OMS (Organisation mondiale de la Santé), le CDC (Center for disease control), l'ARC (American red cross), le SFTS (Société française de transfusion sanguine), le FDA (Food and drug administration) et d'autres (5). Ces organismes définissent trois types de profils à partir de l'interprétation du test western blot; profil positive, négative et indéterminé (6,7). Selon l'OMS, dont les critères sont adoptés au Maroc, la positivité est définie par la présence de deux bandes env (gp160 et gp120), associées ou non à au moins une bande gag ou à une bande pol (8).

L'objectif de notre étude est d'analyser les différents profils du test WB-VIH chez des patients marocains séropositifs au VIH et évaluer leur association avec les stades cliniques et le taux de CD4 de l'infection.

2 MATÉRIEL ET MÉTHODES

Il s'agit d'une étude rétrospective menée à partir de 684 cas d'infection à VIH confirmés par test Western blot (HIV BLOT 2.2, MP Diagnostics), au laboratoire d'analyses médicales d'immunologie du centre hospitalier universitaire Ibn Rochd Casablanca, entre janvier 2019 et Décembre 2020.

Les patients, positifs à l'ELISA ou au test rapide, ont bénéficié d'une confirmation par le test western-blot VIH1/VIH2. Les protéines recombinantes et les peptides synthétiques du VIH-1 et du VIH-2 sont attachés sous forme de fines bandes à des bandelettes de nylon. Le dosage est effectué sur des échantillons de sérum ou de plasma humain. La bandelette présente les antigènes du VIH-1 et du

VIH-2. Les anticorps qui peuvent être présents dans l'échantillon se lient ainsi à différentes bandes d'antigène attachées à la bandelette de test. L'intensité de la réaction colorée est directement proportionnelle à la quantité d'anticorps anti-VIH liée à la bande antigénique (9). Pour interpréter les résultats du test WB, nous avons utilisé les critères de l'OMS adoptés par le Centre marocain de référence pour le diagnostic et le suivi de l'infection à VIH, l'Institut national d'hygiène de Rabat.

L'âge, le stade clinique et le taux de CD4 ont été exportés du service des maladies infectieuses du CHU Ibn Rochd à partir du logiciel NADIS de la gestion du dossier médical informatisé, après la confirmation du diagnostic.

3 RÉSULTATS

L'âge des patients variait entre 16 et 79 ans avec une moyenne d'âge de 38.04 ans + /-10.9. Les hommes représentaient 62.13% de notre population (425/684) contre 37.86 % des femmes (259/684) avec un Sexe ratio H/F = 1,64.

Parmi les patients inclus dans notre étude, 41.52% (284/684) avaient un profil WB HIV 1 complet (PC) correspondant à une immunoréactivité pour toutes les protéines du VIH-1: GP160, GP120, P66, P55, P51, GP41, P39, P31, P24 et P17. Parmi ces patients, 4.92% (14/284) avaient un profil complet HIV1 avec présence d'une bande HIV2.

58.04% des patients (397/685) présentaient un profil HIV1 incomplet dont 2.77% (5/397) avaient un profil incomplet avec bande HIV2. Chez les patients qui ont un profil incomplet, la bande P39 manquait dans 42.98% (294 /684) des cas, contre 25.73% (176/684) pour P17, et 28.07%, 15.78%, 7.6%, 6.43%, 1.46%, %0.73% pour P55, GP 51, P66, P31, GP24, GP 41 respectivement (figure 2).

En corrélant les différents profils de test WB avec les stades cliniques CDC (Figure 3), nous avons constaté que le PC constituait 48.3% (157/324) des patients ayant un stade B, dont 5.09% avaient aussi une bande VIH2. Et 35.37% (127 /359) des patients ayant un stade C avaient un profil complet dont 1.67% (6/359) avaient aussi une bande VIH2. On a trouvé trois cas de profil indéterminé; deux au stade B et un au stade C.

Parmi les différentes catégories cliniques ayant des profils incomplets (PI), P39 et P55 faisait défaut dans la majorité des cas (Figure 3). Dans les cas de stade B, nous avons noté l'absence respective des bandes P39 dans 34.76% des cas, P55 dans 24 %, P17 dans 21.84 %, P51 dans 12.61 %, P31 dans 6.76 %, P66 dans 5.84%, P41 dans 1.23% et P24 dans 0.92 %. Parmi les cas de stade C, nous avons noté l'absence respective des bandes P39 dans 49.8% des cas, P55 dans 31.75 %, P17 dans 29.24 %, P51 dans 18.66 %, P66 dans 9.19 %, P31 dans 6.12 %, de P24 dans 1,94 % et P41 dans 0.27%. On note une différence significative pour les bandes P55 (p=0.022), P39 (p<0.05) et P17 (p=0.012) qui étaient plus absentes au stade avancé. Et une différence non significative pour les bandes P66 (p=0.287), P51 (p=0.67), P41 (p=0.506), P31 (p=0.628) et P24 (p=0.129).

D'un autre côté, 49.26% des patients avaient un taux de CD4 < 200/mm³, 30.26% avaient un taux de CD4 entre 200/mm³ et 500 /mm³, 13.74 % avaient un taux de CD4 supérieur à 500 /mm³. (Tableau 1: montrant la répartition des bandes des protéines manquantes en fonction du taux de CD4).

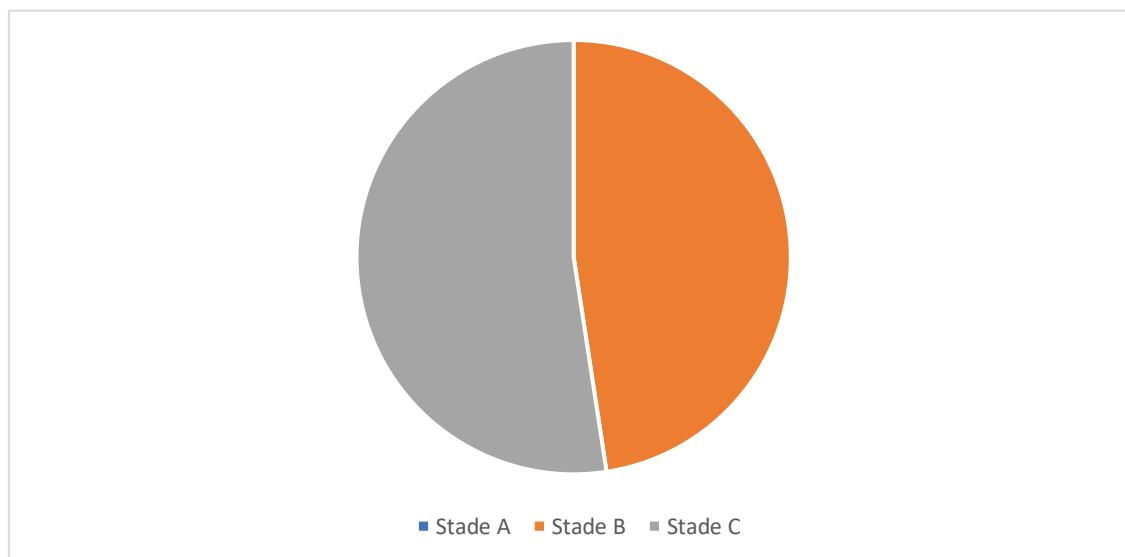


Fig. 1. Répartition des patients de notre population selon le stade clinique (Classification CD93)

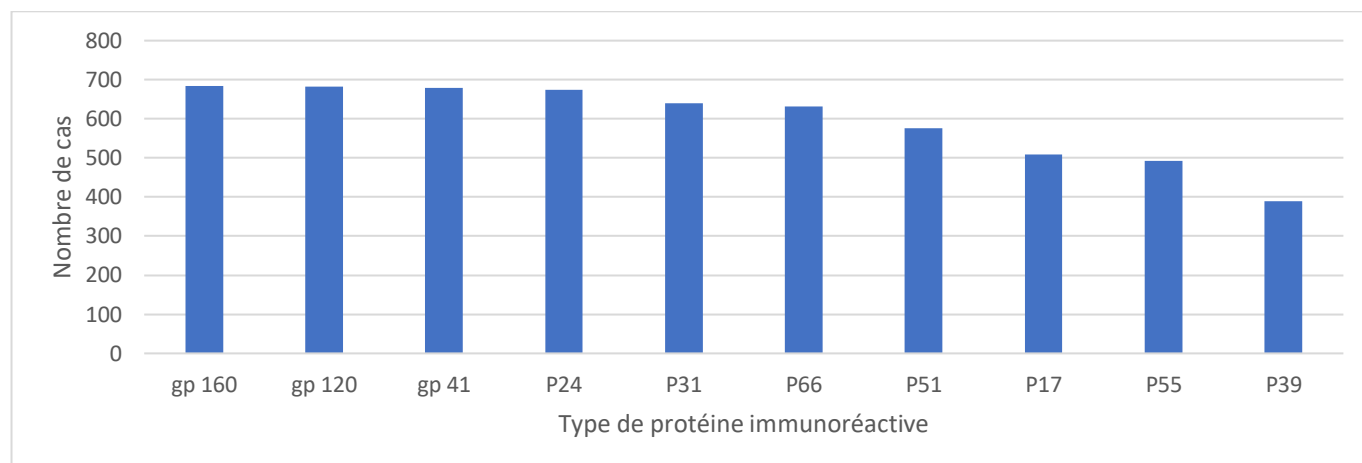


Fig. 2. Fréquence des protéines immunoréactives au test western-blot

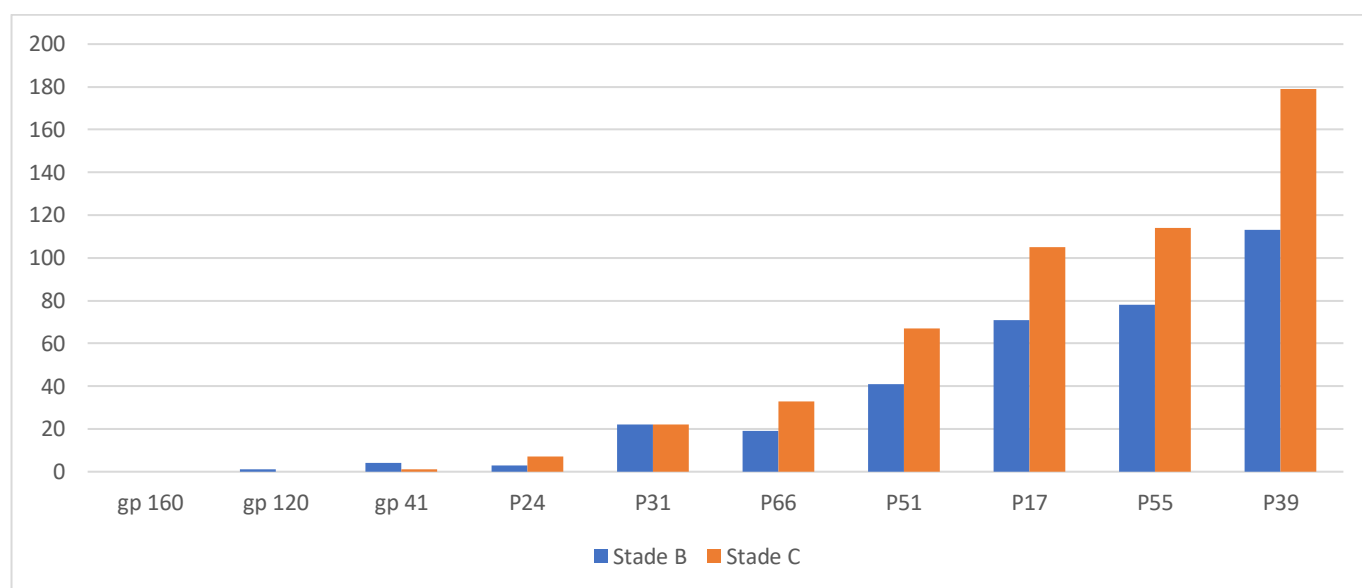


Fig. 3. Répartition des bandes des protéines manquantes au western blot par stade clinique

Tableau 1. Répartition des bandes des protéines manquantes selon le taux de CD4

Type de bande de protéine manquante	CD4 < 200/mm3 %	CD4 ≥ 200/mm3 %	P- value
GP 41	0,19	1,26	0.498
P24	1,58	0,63	0.133
P31	4,15	6,98	0.482
P66	5,92	6,03	0.5
P51	12,25	12,38	0.103
P17	20,35	19,68	0.012
P55	21,34	22,22	0.012
P39	34,18	30,79	0.000

Khi-deux de Pearson

4 DISCUSSION

Le VIH provoque une infection virale chronique conduisant au syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA), aux infections opportunistes et/ou pathologies néoplasiques qui l'accompagnent. Les virus de cette famille sont caractérisés par une enzyme, la transcriptase inverse. On distingue le VIH-1 qui est responsable de la pandémie mondiale avec plus de 33 millions de sujets contaminés, et le VIH-2 découvert en 1986 chez des patients originaires d'Afrique de l'Ouest.

Notre étude donne des informations sur le profil sérologique obtenu par la technique de western blot de 684 patients séropositifs au VIH-1 selon leurs stades cliniques, établis sur la base de la classification CDC 93. L'âge de nos patients variait entre 16 et 79 ans avec une moyenne d'âge de 38.04 ans \pm 10.9 avec une prédominance masculine (62.13%). Sexe ratio H/F = 1,64. Les résultats publiés par le ministère de la santé marocain affirment que la majorité des cas notifiés relèvent de la tranche d'âge des 15-44 ans. Avec presque une égalité entre les deux sexes dans cette tranche d'âge, alors que les hommes sont moins nombreux dans les tranches supérieures à 45 ans (2).

Parmi les patients inclus dans notre étude, 41.52% avaient un PC du WB HIV-1 correspondant à une immunoréactivité pour toutes les protéines du VIH-1, dont 4.92% avaient un profil complet HIV1 avec présence d'une bande HIV2. Alors qu'une étude faite au CHU Marrakech (7) incluant 124 patients a trouvé que la majorité des patients avaient un profil complet (79,8 % de l'ensemble des profils retrouvés). Le reste de nos patients, 58.04 % présentaient un profil HIV-1 incomplet et dont 2.77% avaient un profil incomplet avec bande HIV-2.

La variabilité du spectre des bandes de réponse immunitaire détectées par les tests WB dépend de plusieurs facteurs, dont le stade de l'infection par le VIH (10), (11). En effet, l'ordre chronologique d'apparition des bandes d'anticorps et leurs intensités diffèrent selon le stade clinique de l'infection (9), (12).

Dans notre étude, on a trouvé que les anticorps dirigés contre l'enveloppe; glycoprotéine gp160 et ses produits de clivage gp120 et gp41 ont été détectés dans les échantillons de pratiquement toutes les personnes infectées par le VIH indépendamment du stade clinique, ce qui concorde avec les résultats de la littérature (12) (13) (14). Concernant les profils incomplets (PI) de notre population, P39 et P55 faisaient défaut dans la majorité des cas. Dans la littérature les résultats étaient variables, des études ont trouvé que les gp41 et p55 étaient les plus fréquemment manquants (6), (15). D'autres études ont trouvé que la bande de la protéine p17 qui était la plus manquante (7).

Les anticorps anti-p24 sont des marqueurs pronostiques importants car ils apparaissent rapidement après la primo-infection et disparaissent généralement avec la progression de l'immunodéficience associée à l'infection par le VIH (7) dans notre étude, la bande p24 manquait dans 3 cas de patients au stade B, alors qu'il manquait chez 7 patients de stade C, ce qui concorde avec les résultats publiés par les études européennes et nord-américaine, qui montrent que la perte de cet anticorps est un marqueur de stade avancé du VIH (14), (16), (17).

La bande p55 émerge dans WB lorsqu'il y a des niveaux très élevés d'anticorps p24 ou p17 dans les échantillons (14). Selon plusieurs études elle ne peut pas être détecté à des stades avancés (11), ce qui concorde avec les résultats de la présente étude où on a trouvé que la bande P55 manquait dans 24% des cas de stade B alors qu'elle manquait dans 31.75% des cas de stade C avec une différence significative ($p \leq 0.05$).

Dans une étude de Sivakumar et al. (18), les anticorps anti-p17 ont été déterminés chez 64 % des patients de grade I selon la classification de l'OMS et chez seulement 33 % des patients de grade IV. Ce qui concorde avec les résultats de notre étude où ces anticorps étaient plus caractéristiques des stades précoces avec une différence significative ($p \leq 0.05$). Des études antérieures ont trouvé une relation entre les anticorps contre p17 et une évolution lente de la maladie du VIH (19).

Dans des études menées aux états unis (20), la bande p31 a été déterminée comme étant le dernier anticorps des protéines de la bande WB formé (2 à 4 mois) après l'infection par le VIH. Sudha et al. (12) en Inde ont rapporté qu'elle est le plus souvent absente aux stades initiaux et avancés. R Korkusuz et ses collaborateurs (14) en turkey ont trouvé que la bande p31 était présente chez 88.1% des patients au stade I de la classification OMS et chez 100% des cas au stade IV. Dans notre étude La bande p31 était détecté chez presque le même nombre de cas aux stades B et C de la maladie.

Dans les profils incomplets la bande P39, qui est un fragment de p55, était absente dans 34.76% des cas dans le stade B et dans 49.8% du stade C ($p < 0.05$), ce qui signifie qu'elle est plus présente au stade précoce de la maladie d'une façon significative. Ces résultats concordent avec ceux trouvés par R. Korkusuz et ses collaborateurs (14).

La protéine p66, qui joue un rôle dans la transcription inverse, a été repéré par Sivakumar et al. (18) et Sudha et al. (12) aux taux de 81 % et 97,8 %, respectivement, au stade précoce, et de 100 % et 88,9 %, respectivement, aux stades avancés. Alors que dans notre étude elle était présente dans 94.52% au stade B et dans 90.89% au stade C ($p \geq 0.05$).

La répartition des bandes des protéines manquantes selon le taux de CD4 montre des résultats similaires à la répartition aux stades cliniques, avec disparition statistiquement significative des bandes de P55 ($p < 0.05$), P39 ($p < 0.05$) et P17 ($p < 0.05$) chez les patients avec taux de CD4 $< 200 / \text{mm}^3$. Ces résultats sont similaires à l'étude faite en Turquie (14), qui a trouvé que les bandes P51, P55, P39 et P17 étaient plus absentes chez les patients avec un taux de CD4 faibles mais avec une différence non significative ($p > 0.05$).

A travers les résultats de la littérature et les résultats de notre étude, une relation statistiquement significative entre les stades cliniquement avancés de l'infection par le VIH et l'absence d'anticorps P17, P55 et P39 dans le test WB a été déterminée. Ainsi le test WB est un paramètre important non seulement dans le diagnostic de l'infection par le VIH mais aussi dans le suivi de l'évolution clinique.

5 CONCLUSION

L'étude du profil western blot par rapport aux stades cliniques de l'infection au VIH peut être utile pour prédire les stades des malades séropositifs au VIH dans les situations où le dosage du taux de CD4 et la charge virale ne sont pas disponibles.

REFERENCES

- [1] Principaux repères sur le VIH/sida [Internet]. Disponible sur: <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/hiv-aids>.
- [2] PSNL SIDA_EXE Edité.pdf [Internet]. Disponible sur: https://www.sante.gov.ma/Publications/Guides-Manuels/Documents/2021/PSNL%20SIDA_EXE%20Edit%C3%A9.pdf
- [3] Stratégie Nationale sur les Droits Humains et le VIH_sida 2018-2021 (4) final (1).pdf
Disponible sur: [https://www.sante.gov.ma/Publications/Guides-Manuels/Documents/2020/Strat%C3%A9gie%20Nationale%20sur%20les%20Droits%20Humains%20et%20le%20VIH_sida%202018-2021%20\(4\)%20final%20\(1\).pdf](https://www.sante.gov.ma/Publications/Guides-Manuels/Documents/2020/Strat%C3%A9gie%20Nationale%20sur%20les%20Droits%20Humains%20et%20le%20VIH_sida%202018-2021%20(4)%20final%20(1).pdf)
- [4] Guan M. Frequency, causes, and new challenges of indeterminate results in Western blot confirmatory testing for antibodies to human immunodeficiency virus. *Clin Vaccine Immunol*. juin 2007; 14 (6): 649-59.
- [5] Tebourski F, Slim A, Elgaaied A. The significance of combining World Health Organization and Center for Disease Control criteria to resolve indeterminate human immunodeficiency virus type-1 Western blot results. *Diagn Microbiol Infect Dis*. janv 2004; 48 (1): 59-61.
- [6] Chattopadhyaya D, Aggarwal RK, Kumari S. Profile of antigen-specific antibody response detectable by western blot in relation to diagnostic criteria for human immunodeficiency virus type-1 (HIV-1) infection. *Clin Diagn Virol*. oct 1996; 7 (1): 35-42.
- [7] Admou B, Zougaghi L, Soraa N, Amine M, Tassi N, Kachach M, et al. Profils western-blot et stades cliniques chez les patients séropositifs au VIH au Maroc. *Rev Francoph Lab*. 1 nov 2009; 2009 (416, Supplement 1): 19-22.
- [8] Chadli S, Said HA, Fadil FZ, Benmeliani F, Sardi J, Kharbouch S, et al. Evaluation of the interpretation criteria of Western Blot profiles for the HIV-1 infection diagnosis in a South Moroccan group: Sensitivity, specificity and predictive values of HIV-1 Western Blot method in a South Moroccan group. *Integr J Med Sci* [Internet]. 19 févr 2020 [cité 6 août 2022]; 7. Disponible sur: <https://mbmj.org/index.php/ijms/article/view/125>.
- [9] Liu P, Tang L, Kong WH, Zhu ZR, Xiao P, Wang X, et al. Anti-HIV-1 antibodies based confirmatory results in Wuhan, China, 2012-2018. *PLoS ONE*. 11 sept 2020; 15 (9): e0238282.
- [10] Tuailon E, Sanosyan A, Pisoni A, Liscouët J, Makinson A, Perre PV de. Staging of recent HIV-1 infection using Geenius rapid confirmatory assay compared to INNO-LIA, New Lav and Blot 2.2 assays. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol*. oct 2017; 95: 47-51.
- [11] Huang J, Wang M, Huang C, Liang B, Jiang J, Ning C, et al. Western Blot-Based Logistic Regression Model for the Identification of Recent HIV-1 Infection: A Promising HIV-1 Surveillance Approach for Resource-Limited Regions. *BioMed Res Int*. 14 janv 2018; 2018: 4390318.
- [12] Sudha T, Lakshmi V, Teja VD. Western blot profile in HIV infection. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. oct 2006; 72 (5): 357-60.
- [13] Centers for Disease Control (CDC). Interpretation and use of the western blot assay for serodiagnosis of human immunodeficiency virus type 1 infections. *MMWR Suppl*. 21 juill 1989; 38 (7): 1-7.
- [14] Korkusuz R, Şenoğlu S, Işık ME, Işıkçağan N, Karaosmanoglu H, Altuntaş Aydın Ö. The relationship of antibodies detected in the Western Blot test with clinical and immunological stages in HIV-infected patients. *J Surg Med*. 1 janv 2022; 6 (2): 173-6.

- [15] Garland FC, Garland CF, Gorham ED, Brodine SK. Western blot banding patterns of HIV rapid progressors in the U.S. Navy Seropositive Cohort: implications for vaccine development. Navy Retroviral Working Group. *Ann Epidemiol.* juill 1996; 6 (4): 341-7.
- [16] Distinct IgG recognition patterns during progression of subclinical and clinical infection with lymphadenopathy associated virus/human T lymphotropic virus. - PMC [Internet]. [cité 14 sept 2022]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1339204/>.
- [17] Biggar RJ, Melbye M, Ebbesen P, Alexander S, Nielsen JO, Sarin P, et al. Variation in human T lymphotropic virus III (HTLV-III) antibodies in homosexual men: decline before onset of illness related to acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Br Med J Clin Res Ed.* 12 oct 1985; 291 (6501): 997-8.
- [18] R SM, J SK, R V, G T, Jacob M, Nm S. Western blot pattern in HIV positive individuals in Namakkal, South India. *Internet J Infect Dis* [Internet]. 31 déc 2007 (2). Disponible sur: <https://ispub.com/IJID/6/2/8784>.
- [19] Fiorentini S, Giagulli C, Caccuri F, Magiera AK, Caruso A. HIV-1 matrix protein p17: a candidate antigen for therapeutic vaccines against AIDS. *Pharmacol Ther.* déc 2010; 128 (3): 433-44.
- [20] Fiebig EW, Wright DJ, Rawal BD, Garrett PE, Schumacher RT, Peddada L, et al. Dynamics of HIV viremia and antibody seroconversion in plasma donors: implications for diagnosis and staging of primary HIV infection. *AIDS.* 5 sept 2003; 17 (13): 1871-9.