
PENELITIAN

ANTI-HIV DAN SUBTIPE HIV PADA PASIEN HEMODIALISIS

(*Anti-HIV and HIV Subtype in Hemodialysis Patients*)

Retno Handajani^{1,3}, Mochammad Thaha², Mochamad Amin³,
Citrawati Dyah Kencono Wungu¹, Edhi Rianto¹, Pranawa²

ABSTRACT

Anti-Human Immunodeficiency Virus (Anti-HIV) was performed from 100 plasma Chronic Kidney Disease (CKD) stage 5 patients with continuous hemodialysis (HD) at the Hemodialysis Instalation Dr Soetomo hospital, Surabaya, Indonesia, using three (3) kind of reagents: Tri-line HIV Rapid test Device from Acon for HIV 1/2/O as strips form, Foresight HIV 1/2/O Antibody EIA Test Kit from Acon and Anti-HIV 1+2/Subtype O ELISA from Axiom. HIV RNA and HIV subtype were detected by Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) based on HIV gag region and analysis of DNA result. Seventy three % patients were hemodialysed twice in a week and only 14% with duration more than five (5) years. Most of the patients (43%) were hemodialysed between 100–300 times. From the 100 plasma samples was obtained only one (1%) man patient plasma sample with positive anti-HIV. A weak positive of RT-PCR result was not succeed to be sequenced for determining the HIV subtype. This cause was suspected due to low levels of HIV RNA in blood. The results of this study was expected can be used as an additional management consideration of hemodialysis patients at the Hemodialysis Unit.

Key words: Hemodialysis, anti-HIV, subtype HIV

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mendeteksi *Anti-Human Immunodeficiency Virus* (Anti-HIV) dan sub tipe HIV pada 100 plasma darah pasien Penyakit Ginjal Kronis (PGK) stadium ke-5 yang menjalani hemodialisis (HD) berkelanjutan di Instalasi Hemodialisis RSUD Dr Soetomo Surabaya, Indonesia. Deteksi Anti-HIV menggunakan tiga (3) jenis reagensia, yaitu *Tri-line HIV Rapid test Device* dari Acon untuk HIV 1/2/O berupa strip, *Foresight HIV 1/2/O Antibody EIA Test Kit* dari Acon dan *Anti-HIV 1+2/Subtype O ELISA* dari Axiom. Pada sampel dengan anti-HIV positif dilakukan deteksi RNA HIV dengan *Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) berdasarkan regio gag HIV, kemudian dilanjutkan dengan sekuensing DNA HIV untuk menentukan sub tipe HIV. Sebanyak 73% pasien menjalani HD 2 x seminggu dan hanya 14% yang telah melakukan HD lebih dari 5 tahun. Sebagian besar pasien (43%) telah menjalani HD antara 100–300 kali. Dari 100 sampel darah, didapatkan 1(1%) sampel plasma pasien laki-laki dengan hasil anti-HIV yang positif. Hasil pemeriksaan PCR, didapatkan RNA HIV positif lemah yang tidak berhasil disekuensing untuk ditentukan subtipe nya. Hal ini diduga karena kadar RNA-HIV dalam darah yang rendah. Diharapkan hasil penelitian yang didapatkan ini dapat dijadikan tambahan pertimbangan pengelolaan pasien HD di Instalasi Hemodialisis.

Kata kunci: Hemodialisis, anti-HIV, sub tipe HIV

PENDAHULUAN

Infeksi *Human Immunodeficiency Virus* (HIV) secara mendunia (global) masih menjadi masalah kesehatan. Menurut UNAIDS (2013), lebih dari 90% (dengan taksiran jumlah 4.734.000) orang hidup dengan HIV berdiam di 12 negara di Asia dan Pasifik. Lebih dari 90% dari pengidap infeksi HIV baru ditemukan di Kamboja, Cina, India, Indonesia, Malaysia, Myanmar, Nepal, Pakistan, Papua Nugini, Filipina, Thailand dan

Vietnam. Jumlah orang yang hidup dengan HIV di Indonesia juga tinggi dan infeksi HIV baru meningkat 2,6 kali antara tahun 2001 (diperkirakan infeksi baru HIV sebanyak 29.000 orang) dan 2012 (diperkirakan infeksi baru HIV sebanyak 76.000 orang). Pada tahun 2012, Indonesia menempati urutan negara ketiga dengan jumlah infeksi HIV baru dan didapatkan 610.000 orang diperkirakan hidup dengan HIV. Diperkirakan kematian akibat AIDS di Asia dan Pasifik sebanyak 270.000 pada tahun 2012.¹

¹ Departemen Biokimia Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga, Surabaya. E-mail: retnohh@gmail.com

² Departemen-SMF Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga, Surabaya

³ *Institute of Tropical Disease*, Universitas Airlangga, Surabaya

Tatalaksana pemeriksaan laboratoris untuk HIV di Indonesia sesuai dengan panduan nasional yang berlaku pada saat ini, yaitu dengan menggunakan strategi tiga (3) jenis reagensia yang selalu didahului dengan penasehatan pra uji. Untuk uji pemeriksaan yang pertama digunakan uji pemeriksaan yang cepat dengan kepekaan cukup tinggi, kemudian dilanjutkan dengan uji pemeriksaan kedua dan ketiga yang mempunyai kepekaan tinggi dan lebih tinggi lagi.²

Antibodi biasanya (97%) baru dapat terdeteksi sejak dua (2) minggu hingga tiga (3) bulan setelah terinfeksi HIV. Masa tersebut disebut *window period*. Oleh karena itu bila hasil menguji HIV negatif dalam masa tiga (3) bulan setelah kemungkinan terinfeksi, maka perlu diuji ulang.²

Human Immunodeficiency Virus dapat ditularkan secara parenteral, sama seperti jalur penularan Virus Hepatitis B (VHB) dan C (VHC).³ Pasien yang menjalani Hemodialisis (HD) merupakan salah satu kelompok pasien yang menghadapi bahaya tinggi untuk tertular infeksi VHB dan VHC, sehingga dirasakan perlu pula diteliti kemungkinan penularan infeksi HIV ini pada pasien HD. Infeksi HIV ini dapat memperberat kondisi pasien dengan Penyakit Ginjal Kronis (PGK) stadium ke 5 yang menjalani HD. Di negara lain, Barril⁴ dan Bosevska⁵ melaporkan jumlah pengidap infeksi HIV dan subtipe HIV yang berbeda pada pasien HD. Mengingat belum ada data mengenai HIV di Instalasi Hemodialisis RSUD Dr Soetomo, maka tujuan penelitian ini adalah mendeteksi anti-*Human Immunodeficiency Virus* (anti-HIV) dan subtipe HIV pada pasien PGK stadium ke 5 yang menjalani HD di Instalasi Hemodialisis RSUD Dr Soetomo Surabaya, Indonesia.

METODE

Penelitian ini merupakan kajian potong lintang. Sampel darah diambil dari 100 pasien HD di Instalasi Hemodialisis RSUD Dr. Soetomo, Surabaya, Jawa Timur, pada masa waktu bulan Juli 2013, setelah mendapatkan persetujuan dari Komite Etik di RSUD Dr Soetomo Surabaya dan yang bersangkutan menandatangani surat persetujuan tindakan. Data pasien dicatat dan dijaga kerahasiaannya.

Darah yang diambil ditempatkan dalam tabung pemusing steril dengan antikoagulan, kemudian dipusingkan untuk mendapatkan plasmanya. Plasma yang telah dipisah, dipindahkan ke dalam dua (2) tabung *ependorf* steril ukuran 1,5 mL secara steril pula dan disimpan pada suhu -80° C sampai saat pemeriksaan antibodi terhadap HIV (anti-HIV) dan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dilakukan.

Pemeriksaan Anti-HIV plasma darah dilakukan menggunakan tiga (3) jenis reagensia : *Tri-line HIV Rapid test Device* berbentuk strip dari *Acon* untuk HIV 1/2/O, *Foresight HIV 1/2/O Antibody EIA Test Kit* dari *Acon* serta Anti-HIV 1+2/*Subtype O* ELISA dari *Axiom* yang dilaksanakan sesuai dengan cara yang dimuat dalam petunjuk yang terlampir.

Untuk tujuan mengetahui adanya replikasi HIV yang aktif dan mendapatkan subtipe HIV, sampel dengan anti-HIV positif dilanjutkan dengan pemeriksaan *Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) menggunakan pasangan primer dari daerah gen gag p17 HIV yang pernah dipublikasi dan sekuensing untuk mengidentifikasi subtipe HIV.⁵⁻⁹

HASIL DAN PEMBAHASAN

Seratus pasien HD di RSUD Dr Soetomo Surabaya Jawa Timur dalam penelitian ini, mempunyai rerata umur 45,86 tahun dengan kisaran umur 18 (delapan belas) sampai 70 (tujuh puluh) tahun. Ciri sampel penelitian ini ditampilkan di Tabel 1.

Jumlah pasien HD dengan kekerapan HD dua kali dalam seminggu sangat tinggi (73%) dengan pasien laki-laki lebih banyak daripada perempuan.

Jumlah pasien dengan masa waktu HD kurang dari tiga (3) tahun lebih banyak dari masa waktu HD 3–5 tahun. Masa waktu HD terpendek adalah satu (1) bulan (dengan HD sekali dalam seminggu dan telah dijalani empat/4 kali HD). Masa waktu HD terpanjang adalah 11 tahun (saat-saat akhir dua kali HD dalam seminggu dan telah dijalani 934 kali HD). Sebagian besar pasien (86%) memiliki lama masa waktu HD sampai dengan lima (5) tahun.

Jumlah ulangan HD yang telah dijalani pasien HD beragam, dengan kisaran HD 4-934 kali dengan rerata 207,38 kali. Sebagian besar pasien (43%) telah menjalani HD dengan kisaran 100-300 kali. Semua pasien yang menjalani HD dalam penelitian ini pernah mendapat transfusi darah, dengan keragaman rentang waktu pemberian transfusi yang pertama tahun 2002 sampai dengan tahun 2013 dan kisaran kekerapan satu (1) sampai 15 kali dengan rerata transfusi 5,32 kali.

Ke 100 plasma pasien tersebut semua diperiksa anti-HIV dengan tiga (3) jenis reagensia. Hasil memeriksa anti-HIV ditampilkan di Tabel 2.

Mengingat penelitian ini juga bertujuan untuk menentukan subtipe HIV, maka pada sampel dengan anti-HIV positif dalam penelitian ini dilanjutkan dengan pemeriksaan RT-PCR dengan menggunakan primer daerah gen gag p17 HIV. Hasil pemeriksaan dengan RT-PCR yang diperoleh menunjukkan pita

Tabel 1. Ciri sampel pasien hemodialisis

Ciri sampel	Laki-laki (%)	Perempuan (%)	Jumlah keseluruhan
Jenis kelamin	51 (51%)	49 (49%)	100 (100%)
Rerata umur dalam tahun (kisaran)	43,7 (20 – 63)	48,3 (18 – 70)	45,86 18- 70
≤ 20	1 (1%)	1 (1%)	2/100 (2%)
21 – 40	18 (18%)	6 (6%)	24/100 (24%)
41 – 60	29 (29%)	38 (38%)	67/100 (67%)
> 60	3 (3%)	4 (4%)	7/100 (7%)
Kekerapan hemodialisis			
1x / minggu	8 (8%)	10 (10%)	18/100 (18%)
1x / 5 hari	3 (3%)	6 (6%)	9/100 (9%)
2x / minggu	40 (40%)	33 (33%)	73/100 (73%)
Lama menjalani hemodialisis (tahun)			
≤ 3	35 (35%)	24 (24%)	59/100 (59%)
> 3 – 5	10 (10%)	17 (17%)	27/100 (27%)
> 5	6 (6%)	8 (8%)	14/100 (14%)
Jumlah ulangan hemodialisis			
≤ 100	18 (18%)	15 (15%)	33/100 (33%)
> 100 – 300	24 (24%)	19 (19%)	43/100 (43%)
> 300	9 (9%)	15 (15%)	24/100 (24%)
Pekerjaan			
Ibu Rumah Tangga	0 (0%)	28 (28%)	28/100 (28%)
Pengemudi	2 (2%)	0 (0%)	2/100 (2%)
Mahasiswa	1 (1%)	0 (0%)	1/100 (1%)
Swasta	35 (35%)	14 (14%)	49/100 (49%)
Pegawai Negeri	9 (9%)	5 (5%)	14/100 (14%)
Petani	1 (1%)	1 (1%)	2/100 (2%)
Pensiunan Pegawai	3 (3%)	1 (1%)	4/100 (4%)
Rerata kekerapan transfusi dan kisaran (kali)	5 (1-15)	5.45 (1-15)	5.32 (1-15)

Tabel 2. Hasil menguji pemeriksaan laboratorik pasien hemodialisis

Anti-HIV antibodi	Laki-laki	Perempuan	Jumlah keseluruhan (%)
Positif	1/51	0/49	1/100 (1%)
<i>Rapid test Strip Device from Acon for HIV 1/2/O</i>	1/51	0/49	1/100 (1%)
<i>Foresight HIV 1/2/O Antibody EIA Test Kit from Acon</i>	1/51	0/49	1/100 (1%)
<i>Anti-HIV 1+2/Subtype O ELISA from Axiom</i>	1/51	0/49	1/100 (1%)
Negatif	50/51	49/49	99/100 (99%)
<i>Rapid test Strip Device from Acon for HIV 1/2/O</i>	50/51	49/49	99/100 (99%)
<i>Foresight HIV 1/2/O Antibody EIA Test Kit from Acon</i>	50/51	49/49	99/100 (99%)
<i>Anti-HIV 1+2/Subtype O ELISA from Axiom</i>	50/51	49/49	99/100 (99%)

yang positif lemah pada elektroforesis dan tidak berhasil disekuensing untuk penentuan sub tipe HIV. Pengulangan RT-PCR pada sampel ini tidak berhasil mendapatkan hasil positif.

Meskipun HD meningkatkan mutu hidup pasien, tetapi pasien HD tersebut merupakan kelompok pasien dengan predisposisi tinggi terinfeksi jalur penularan melalui darah, contoh: VHB, VHC dan HIV.³ Penularan HIV secara parenteral ini merupakan alasan untuk deteksi anti-HIV pada pasien HD pada penelitian ini. Infeksi dengan HIV, sebagaimana halnya seperti infeksi dengan VHB dan VHC, merupakan alasan meningkatnya angka kesakitan dan kematian pada

pasien HD yang juga mengidap penyakit ginjal tahap akhir. Salah satu ciri pada gagal ginjal adalah terjadinya gangguan fungsi imunologis yang berakibat kemampuan pasien untuk menyingkirkan virus kurang.⁵

Pada tahun 1994, Sato¹⁰ mengusulkan strategi pemeriksaan laboratorik untuk HIV yang tidak menggunakan *Western Blott*. Pada saat itu, dalam salah satu strategi yang diusulkan, digunakan tiga tata pengujian anti-HIV berdasarkan kepekaan dan kekhasan tiga (3) macam teknik *ELISA/Rapid/Simple* (ERS). Pada pengujian tahap pertama, serum diuji antibodi HIV menggunakan uji ERS pertama. Pada

tahap kedua, serum yang reaktif dengan pengujian ERS pertama kemudian dilakukan uji dengan ERS kedua dan pada tahap ketiga, serum yang reaktif dengan uji ERS kedua kemudian diuji dengan uji ERS yang ketiga.¹⁰

Pada penelitian ini, penggunaan ketiga macam pemeriksaan untuk antibodi terhadap HIV ini selain sesuai dengan panduan Nasional di Indonesia³ saat ini, juga dimaksudkan untuk menghindari kesalahan dalam mendiagnosis, mengingat diagnosis terinfeksi HIV berdampak sangat luas, tidak hanya terhadap pasien. Dampak ini juga terhadap lingkungan sekitarnya maupun terhadap upaya pengendalian yang dilakukan pemerintah. Di atas telah dikemukakan bahwa untuk uji pemeriksaan yang pertama digunakan uji cepat dengan kepekaan yang cukup tinggi, kemudian dilanjutkan dengan perangkat uji kedua dan ketiga yang berkepekaan tinggi dan lebih tinggi lagi.²

Pada penelitian ini, digunakan strategi tiga (3) pengujian, yaitu dengan menggunakan: *Tri-line HIV Rapid test Strip Device* dari *Acon* untuk HIV 1/2/O, *Foresight HIV 1/2/O Antibody EIA Test Kit* dari *Acon* dan *Anti-HIV 1+2/Subtype O ELISA from Axiom*.

Hasil memeriksa antibodi untuk HIV pada 100 plasma pasien HD dalam penelitian ini hanya didapatkan satu pengidap laki-laki (1%) dengan anti-HIV positif terhadap ketiga macam pemeriksaan anti-HIV tersebut dengan nilai jauh di atas nilai *cut off*. Pada 99 plasma pasien yang lain memberikan hasil memeriksa anti-HIV yang negatif. Pada penelitian ini, kebetulan pasien laki-laki dengan anti-HIV positif tersebut menjalani HD dengan cara *Peritoneal Dialysis*, sehingga diharapkan bahaya penularan di Instalasi Hemodialisis tidak terlalu besar.

Prevalensi infeksi HIV didapatkan berbeda di antara pasien HD pada berbagai negara dan wilayah geografis. Di Spanyol, dari 4.692 pasien dengan pengobatan penggantian ginjal, yang sebagian besar pasien ini menjalani HD, paling tidak dengan *peritoneal hemodialysis*, Barril⁴ mendapatkan prevalensi infeksi HIV sebesar 1,15%.⁴ Bosevska⁵ di Skopje, Macedonia mengemukakan tidak mendapatkan anti-HIV positif dari 178 pasien HD yang dikumpulkan pada tahun 2005 dari dua Unit Hemodialisis.⁵ Pada tahun 2013, Halle³ melaporkan tingkat anti-HIV positif sebesar 10,6% dari 166 pasien HD di Douala-Kamerun³ dan hasil ini lebih tinggi daripada yang dilaporkan Onyekwere di Lagos, Nigeria.¹¹ Pada tahun 2007 Onyekwere¹¹ melaporkan anti-HIV positif sebesar 6% di pasien yang menjalani HD di Rumah Sakit kota Lagos, Nigeria. Tingkat prevalensi di Lagos ini tidak berbeda dengan prevalensi anti-HIV di pasien non-HD yang lain.¹¹

Untuk tujuan mengetahui keberadaan replikasi aktif HIV dan mendapatkan subtype HIV, sampel dengan anti-HIV positif dilanjutkan dengan pemeriksaan PCR menggunakan pasangan primer dari daerah gen gag p17 HIV yang pernah dipublikasi untuk mengidentifikasi subtype HIV.⁷⁻⁹ Primer tersebut pernah digunakan peneliti dalam kajian sebelumnya dengan hasil pemeriksaan RT-PCR dan sekuensing yang baik, sehingga dapat dianalisis.⁹ Pada penelitian ini identifikasi hasil RT-PCR yang dengan elektroforesis menunjukkan pita positif lemah pada sampel dengan pemeriksaan anti-HIV positif, berarti pada pasien HD ini masih mengandung RNA HIV, sehingga masih mempunyai kemampuan untuk menularkan virus HIV tersebut. Sayangnya, sekuensing tidak berhasil dengan baik sehingga subtype HIV tidak berhasil diidentifikasi. Walaupun telah diupayakan mengulang RT-PCR, tetapi tidak berhasil mendapatkan hasil yang positif. Hal ini diduga karena titer HIV RNA yang rendah dalam darah. Pasien dengan anti-HIV positif pada penelitian ini memang sedang dalam pengobatan HIV. Hasil pemeriksaan RT-PCR ini juga dikuatkan dengan resampling empat (4) bulan kemudian dan didapatkan hasil anti-HIV masih positif, tetapi dengan pemeriksaan PCR kuantitatif, RNA HIV tidak terdeteksi.

Hasil yang serupa yaitu sampel dengan anti-HIV positif, tetapi RNA HIV yang didapatkan negatif berdasarkan genom gag HIV pernah ditemukan pada penelitian sebelumnya di Italia dan dikemukakan kemungkinan alasan yang menjadi penyebab, yaitu mutasi/perubahan nukleotida di tempat primer melekat, suhu *melting* yang rendah, atau kuantitas proviral DNA di bawah ambang batas kepekaan alat.¹² Penurunan *viral load* setelah pengobatan menunjukkan kemanjuran pengobatan dan peningkatan hasil klinis.⁸ Peneliti yang lain menemukan bahwa pasien HIV yang memiliki *viral load* darah tidak terdeteksi, HIV masih terdeteksi dalam air mani¹³ dan antara 5–48% HIV masih terdapat di cairan vagina serta rektum.¹⁴

SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian ini, dari 100 sampel yang diperiksa terdeteksi anti-HIV 1% pada pasien HD dengan hasil pemeriksaan PCR, RNA HIV yang positif lemah dan tidak berhasil disekuensing untuk ditentukan subtype HIV, yang diduga karena kadar RNA-HIV yang rendah dalam darah.

Diharapkan hasil meneliti ini dapat dijadikan tambahan pertimbangan pengelolaan pasien PGK stadium ke 5 yang menjalani HD di Instalasi Hemodialisis RSUD Dr. Soetomo Surabaya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional, Indonesia yang telah memberikan dukungan dana melalui Universitas Airlangga, kepada semua pasien HD yang telah bersedia menjadi subjek penelitian ini dan kepada semua staf di Instalasi HD RSUD Dr Soetomo, Surabaya serta para staf di *Institute of Tropical Disease* Universitas Airlangga untuk semua bantuan yang diberikan pada penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. HIV in Asia and the Pasific. Unaid report 2013, p.11-14. UNAIDS / JC2558. ISBN 978-92-9253-049-5. Regional Support Team for Asia and the Pacific 9th floor, Block A United Nations Building Rajadamnern Nok Avenue, Bangkok 10200, Thailand (unaid.org).
2. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Direktorat Jenderal Pengendalian Penyakit Menular dan Penyehatan Lingkungan. Panduan Tatalaksana Klinis Infeksi HIV pada orang Dewasa dan Remaja. Dalam Pedoman Nasional Terapi Anti Retro Virus. Ed II., Jakarta, DepKes, 2007; 3 - 4.
3. Halle MP, Luma HN, Temfack E, Tchamago V, Kaze FF, Ashuntantang G, Biwole SM. Prevalence of Hepatitis B Surface Antigen and Anti-HIV Antibodies Among Hemodialysis patients in Douala-Cameron. *Health Sci. Dis.* 2013; 14(3): 1-5.
4. Barril G, Trullás JC, González-Parra E, Moreno A, Bergada E, Jofre R, Martínez-Ara J, de Sequera P, Oliver JA, Arrieta J, Miró JM. Prevalence of HIV-1-infection in dialysis units in Spain and potential candidates for renal transplantation: results of a Spanish survey. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2005; 23(6): 335-9.
5. Bosevska G, Kuzmanovska G, Sikole A, Dzekova-Vidimliski P, Polenakovic M. Screening for Hepatitis B, C and HIV Infection among Patients on Haemodialysis (Cross Sectional Analysis among Patients from Two Dialysis Units in the Period January to July. 2005. *Contributions, Sec. Biol. Med. Sci., MASA, XXX/2,* 2009; 159-174.
6. Leitner T, D. Escanilla, S. Marquinq, J. Wahlberg, C. Brostrom, HB. Hasson, M. Uhlen and J. Albert. Biological and Molecular Characterization of Subtype D, G, and A/D Recombinant HIV-1 Transmission in Sweden. *Virology*, 1995; 209: 136-146.
7. Leitner T and Jan Albert J. Reconstruction of HIV-1 transmission chains for forensic purposes. *AIDS Rev* 2000; 2: 241-251
8. Antunes R, Figueiredo S, Bartolo I, Pinheiro M, Rosado L, Soares I, Lourenc H, and Taveira N. Plasma Samples from A Pediatric Population Predominantly Infected with Human Immunodeficiency Virus Type 1 Subtype G and BG Recombinant Forms. *Journal of Clinical Microbiology.* 2003; 41(7): 3361–3367.
9. Nasronudin, Lusida MI, Handajani R, Lindawati, Efendi F, Takako Utsumi. Analisis Molekuler Phylogenetic Human Immunodeficiency Virus (HIV) pada Pasien di Surabaya, Jawa Timur. *Maj Kedokt Indon.* 2010; 60(4): 172-177.
10. Sato PA, Maskill WJ, Tamashiro H and Heymann DL. Strategies for laboratory HIV testing: an examination of alternative approaches not requiring Western blot. *Bulletin of the World Health Organization*, 1994; 72(1): 129-134.
11. Onyekwere CA, Awobusuyi and Ogbera AO. Patern of Hepatitis and HIV Infection among Dialysis Patients in Urban Hospitals in Lagos; Implication for Control. *Nigerian Medical Practitioner.* 2007; 51(5): 100-102.
12. Buonaguro L, Petrizzo A, Tagliamonte M, Vitone F, Re MC, Pilotti E, Casoli C, Sbreglia C, Perrella O, Tornesello ML and Buonaguro FM. Molecular and phylogenetic analysis of HIV-1 variants circulating in Italy. *Infectious Agents and Cancer* 2008; 3:13, Open Access <http://www.infectagentscancer.com/content/3/1/13>.
13. Sheth PM, Yi TJ, Kovacs C, Kemal KS, Jones RB, Osborne B, Pilon R, Porte C la, Mazzulli, T, Burger H, Welsler B and Kaul R. Mucosal correlates of isolated HIV semen shedding during effective antiretroviral therapy. *Mucosal Immunology.* 2012; 5(3): 248–57.
14. Wilton J. Undetectable blood viral load and HIV transmission risk systematic review. In *CATIE-News. Canada's source for HIV and Hepatitis C Virus: results of a Information. CATIE's bite-sized HIV and hepatitis C news bulletins,* 7 March 2013; 1-3. Canada's source for HIV and Hepatitis C information.