



Antigen untuk Metode Serologi Deteksi Antibodi Anti-HIV

Ika Puspita Dewi

Fakultas Farmasi, Universitas Jember, Jember, Indonesia

ABSTRAK

HIV dapat ditetapkan diagnosis dengan berbagai metode. Berbagai metode uji serologi antara lain EIA yang telah dikembangkan dari generasi satu sampai generasi keempat sampai uji cepat deteksi antibodi anti-HIV. Deteksi antibodi spesifik patogen menggunakan antigen tertentu yang berasal dari patogen tersebut. Antigen bisa berasal dari protein baik hasil isolasi maupun protein rekombinan, dan/ atau menggunakan peptida baik rekombinan maupun sintetik.

Kata kunci: Antigen, EIA, peptida, protein, uji serologi

ABSTRACT

HIV can be diagnosed with varieties of the methods. Various serological test methods such as EIA have been developed from the first to the fourth generation to rapid test to detect anti-HIV antibody. Pathogen-specific antibodies can be detected by using a specific antigen derived from the pathogen. Antigens may originate from either isolated proteins or recombinant proteins, and or use either recombinant or synthetic peptides. Ika Puspita Dewi. Antigen for Serology Method of Anti-HIV Antibodies Detection.

Keywords: Antigen, EIA, peptide, protein, serology assay

PENDAHULUAN

Jumlah kumulatif kasus HIV dan AIDS pertama kali ditemukan di Indonesia tahun 1987 sampai dengan Juni 2014 yang dilaporkan sebanyak 142.961 kasus, sedangkan jumlah kumulatif kasus AIDS sebanyak 55.623 orang.¹ Diagnosis lebih awal memudahkan akses perawatan dan pengobatan, sehingga dapat meningkatkan luaran pasien. Deteksi dini juga penting untuk pencegahan dan pengurangan tingkat penularan di masyarakat.² Informasi dari uji laboratorium juga bermanfaat untuk profilaksis, prognosis, manajemen kesehatan, determinasi, pemantauan pasien, dan skrining donor darah dan jaringan, serta kepentingan epidemiologi untuk memperkirakan insidens HIV-1 populasi.^{3,4}

Indonesia dengan prevalensi HIV di bawah 10% menggunakan metode diagnosis strategi III, yaitu menggunakan tiga jenis reagen yang berbeda sensitivitas dan spesifitasnya. Masing-masing reagen harus memiliki sensitivitas minimal 99% untuk reagen pertama, 98% untuk reagen kedua, dan 99% untuk reagen ketiga.⁵ Tes HIV dapat menggunakan tes cepat (rapid) HIV atau dengan reagen ELISA (*Enzym Linked*

Immunosorbent Assay).⁵ Tinjauan pustaka ini akan membahas metode serologi dan antigen yang digunakan.

Metode Serologi Diagnosis HIV

Salah satu pendekatan uji serologi yang paling banyak dilakukan sebagai penanda infeksi HIV adalah deteksi antibodi anti-HIV. Uji awal diagnosis HIV dapat dengan uji imunologi menggunakan antibodi imunoglobulin G (IgG) terhadap HIV. Deteksi antibodi dapat dilakukan beberapa hari setelah infeksi tergantung antigen yang digunakan.⁶

Virus HIV yang masuk ke dalam tubuh akan menginfeksi sel targetnya, yaitu sel CD4+ atau sel lain seperti monosit, makrofag, dan sel dendritik. Setelah 3-12 minggu infeksi, respons imun akan bekerja melawan virus, diketahui dengan adanya antibodi dalam darah. Tahap ini disebut sebagai serokonversi. Diagnostik rutin HIV di laboratorium biasanya didasarkan pada produksi antibodi, termasuk tes cepat dan ELISA.⁴

Deteksi antibodi HIV dapat dilakukan sesuai saat produksi antibodi tersebut. Antibodi pertama kali ditemukan pada 8 hari setelah

T_0 yaitu saat pertama kali virus ditemukan di dalam darah. Antibodi bebas dalam plasma pertama kali merupakan antibodi spesifik protein gp41 HIV yang muncul 13 hari setelah T_0 . Antibodi spesifik protein gp120 muncul 14 hari setelah antibodi pertama, juga produksi antibodi spesifik *envelop* HIV non-netralisasi lainnya, seperti antibodi spesifik *CD4-binding site*, *MPER*, dan *CD4-inducible epitopes*. Respons antibodi mukosal Imunoglobulin A (IgA) pertama kali dideteksi tiga minggu setelah T_0 juga mengenali gp41 virus HIV.⁷

Uji antibodi spesifik HIV pertama kali dilakukan pada tahun 1985 dengan metode *enzyme immunoassay* (EIA) atau ELISA.⁸ Generasi pertama EIA mendeteksi IgG plasma atau serum dengan menggunakan lisat virus. Partikel virus yang telah terpecah ini dapat mengikat antibodi pasien HIV dengan konjugat anti-antibodi IgG.^{9,10} Metode ini dapat memberikan hasil positif 6-8 minggu setelah terjadi infeksi, kurang sensitif ataupun spesifik.^{8,10} Generasi kedua menguji plasma atau serum menggunakan antigen rekombinan ataupun sintetik, baik berupa protein maupun peptida. Metode ini dapat mendeteksi satu minggu lebih awal dibandingkan generasi pertama.

Alamat Korespondensi email: ikapdewi@unej.ac.id



Seperti generasi pertama, generasi kedua ini menggunakan reagen pewarna yang akan berubah warna sebagai tanda adanya IgG anti-HIV pada sampel. Metode ini memiliki spesifisitas lebih baik dibandingkan metode pertama.^{9,10}

Metode uji generasi ketiga berkembang signifikan. Antigen yang digunakan, baik protein rekombinan maupun peptida sintetik, dapat mendeteksi baik IgG maupun IgM melalui perubahan warna karena penambahan enzim yang spesifik terhadap antibodi-antibodi tersebut. Oleh karena itu, metode ini sering disebut sebagai *sandwich*. Deteksi dapat dilakukan tiga minggu setelah terjadi infeksi. Metode ini juga lebih sensitif dibandingkan metode sebelumnya.⁸⁻¹⁰

Generasi EIA keempat hadir di Amerika Serikat pada tahun 2010.⁸ Generasi keempat ini dapat mendeteksi p24 serta antibodi IgG dan IgM HIV-1/2 sekaligus. Metode ini menggunakan dasar deteksi antigen p24 dengan ELISA.^{11,12} Dasar ELISA adalah reaksi antara antigen-antibodi yang dengan penambahan reagen pewarna akan menghasilkan perubahan warna yang menandakan adanya antibodi anti-HIV dan antigen p24. Deteksi antigen p24 menghasilkan waktu deteksi lebih awal dibandingkan metode-metode sebelumnya karena dapat dideteksi sebelum adanya respons imun yang memproduksi antibodi. Waktu deteksi sekitar 5-7 hari setelah T_0 , yaitu saat pertama kali virus ditemukan di dalam darah.^{8,10,13}

ELISA merupakan metode pilihan untuk diagnosis HIV.² Namun, metode ini memiliki beberapa kelemahan antara lain memerlukan tenaga lebih, waktu lebih lama, peralatan lebih banyak, dan personil berpengalaman; hal-hal ini memicu peralihan dari metode ELISA ke uji cepat. Lien, *et al*, melaporkan bahwa kemampuan *rapid test* dan ELISA kurang lebih sama.¹⁴ Penelitian lain menyebutkan adanya kelemahan *rapid assay* terutama sensitivitas dan spesifisitas uji.²

Rapid test dapat menggunakan sampel cairan oral, darah, plasma, atau serum. Uji ini mendeteksi IgG dan IgM HIV. Ikatan antigen-antibodi akan memberikan perubahan warna sebagai penanda positif.¹⁰ *Rapid test* dapat mendeteksi sampel dalam 30 menit atau kurang. Uji ini dapat mendeteksi HIV-

1 ataupun HIV-2.² Keuntungannya adalah tidak menggunakan peralatan canggih laboratorium. *Rapid test* akan memudahkan akses terhadap tes HIV karena bisa diterapkan di luar laboratorium.¹⁵ Sensitivitas dan spesifisitas alat uji cepat dapat mencapai 99,3-100% dan 99,70-99,9% dengan rentang kepercayaan sebesar 95% per produk.^{8,10} Namun, beberapa penelitian melaporkan sensitivitas dan spesifisitas yang rendah.⁸ Uji cepat ini dapat dibandingkan performanya dengan EIA generasi pertama ataupun kedua,¹⁶ penelitian lain¹⁷ menyebutkan enam alat *rapid test* dapat dibandingkan dengan EIA generasi ketiga.⁸

Metode lain untuk deteksi antibodi antara lain *western blot*, imunofluoresens, chemiluminesens, dan *multiplex flow immunoassay*.^{13,18} *Western blot* sering digunakan, metode ini dapat memeriksa beberapa protein sekaligus, berbeda dengan metode ELISA dan biasanya digunakan sebagai tes konfirmasi. Antigen yang dapat dikenali *Western blot* bisa berasal dari protein (p) HIV atau glikoprotein (gp), antara lain p17, p24, p31, gp41, p51, p55, p66, gp120, gp160.^{17,18} Imunofluoresens digunakan hampir sama dengan *Western blot* yaitu sebagai tes konfirmasi setelah EIA.¹³ Chemiluminesens menggunakan energi kimia yang diemisikan menjadi cahaya. Salah satu tes skrining HIV yang menggunakan metode ini adalah Liaison XL Murex HIV Ab/Ag yang merupakan EIA generasi ke-4.¹⁹ *Multiplex flow immunoassay* untuk tes HIV salah satunya adalah BioPlex 2200 HIV Ag-Ab dapat mendeteksi dan membedakan antigen p24 HIV-1, antibodi HIV-1 (group M dan O), dan antibodi HIV-2 sekaligus.²⁰

Antigen untuk Uji Serologi Antibodi anti-HIV

Salah satu cara diagnosis infeksi patogen adalah deteksi antibodi spesifik patogen menggunakan antigen tertentu yang berasal dari patogen tersebut. Berbagai metode seperti EIA, *rapid assay*, *western blot*, imunofluoresens, chemiluminesens, ataupun *multiplex flow immunoassay* menggunakan antigen yang dapat berasal dari protein, baik hasil isolasi maupun protein rekombinan, dan/ atau peptida baik rekombinan maupun sintetik.^{10,18-20}

Antigen Berupa Protein

Antigen berupa protein berasal dari proses

isolasi dan purifikasi protein ataupun hasil rekayasa genetik.^{10,18} Protein yang dipilih adalah yang telah diketahui merupakan target sistem imun, khususnya untuk pembentukan antibodi. Protein yang memberikan respons humoral biasanya adalah yang berada di permukaan atau yang mudah diakses oleh sistem imun.³ Protein yang digunakan sebagai antigen pada HIV adalah protein struktural ataupun glikoprotein, misalnya p17, p24, p31, gp41, p51, p55, p66, gp120, gp41, dan gp160.^{3,17,18}

Protein untuk antigen dapat diproduksi dengan purifikasi atau dengan metode rekombinan. Berbagai metode purifikasi untuk memperoleh protein yang akan digunakan untuk antigen, seperti kromatografi afinitas dan kromatografi gel eksklusi.²¹ Metode lebih mudah adalah metode DNA rekombinan.²² Metode ini memungkinkan produksi dalam jumlah besar, purifikasi lebih mudah dan kontrol kualitas.

Penggunaan protein sebagai antigen diagnostik memiliki kelemahan yaitu rendahnya spesifisitas yang memungkinkan timbulnya reaksi silang;²³ untuk mencegah reaksi silang tersebut diperlukan beberapa tes diagnostik tambahan silang.²³ Bagian protein yang dikenali oleh sistem imun atau epitop biasanya berupa beberapa asam amino. Pengetahuan tentang protein atau epitop yang mudah dikenali oleh sistem imun perlu diprioritaskan baik untuk pengembangan antigen untuk diagnostik ataupun produksi vaksin. Salah satu cara mengatasi kelemahan spesifisitas protein adalah dengan penggantian protein dengan antigen berupa epitop. Epitop berbentuk linier merupakan cara langsung untuk menangkap ikatan antigen-antibodi pada sampel serum.²⁴

Antigen Berupa Peptida

Peptida dapat didesain hanya mengandung situs ikatan antibodi yang spesifik terhadap antigen. Situs dipilih yang memiliki afinitas kuat, sehingga akan mengurangi risiko reaksi silang. Peptida berukuran pendek sehingga relatif mudah disintesis dengan hasil dan kemurnian tinggi, serta lebih murah dibandingkan produksi protein antigen.^{25,26}

Peptida sebagai antigen dalam alat diagnostik umumnya berasal dari daerah lestari yang menyandi epitop virus. Peptida sebagai



antigen untuk tes diagnostik terbukti meningkatkan sensitivitas dan spesifisitas.²⁵ Peptida dapat didesain sehingga hanya mengandung bagian yang berikatan dengan antibodi yang spesifik terhadap patogen tertentu.^{25,27} Hal tersebut untuk mengurangi reaksi silang karena kemiripan epitop. Selain itu, ukuran epitop tempat berikatannya antibodi sebenarnya hanya sekitar 8-10²⁷ atau 10-20 asam amino.²⁶ Peptida yang berukuran sesuai epitop tersebut afinitasnya akan lebih kuat untuk berikatan dengan antibodi. Hal ini lebih menguntungkan dibanding antigen protein yang berukuran lebih besar.²⁵⁻²⁷

Antigen dapat dirancang berdasarkan sekuens protein ataupun peptida gen yang sudah terdapat di literatur. Hal penting dalam penentuan antigen adalah sifat antigenisitasnya, yaitu kemampuan antigen tersebut untuk diikat oleh antibodi.²⁸ Bagian protein yang dikenali sistem imun, yaitu epitop merupakan target penting untuk menentukan antigen untuk diagnosis sehingga penentuan daerah epitop atau yang disebut juga *antigenic determinant* merupakan hal paling mendasar dalam merancang antigen dalam diagnosis terutama yang bentuknya peptida. Epitop yang penting dalam pengenalan antibodi adalah epitop sel B. Epitop dapat diketahui dari studi literatur penelitian sebelumnya ataupun dapat diketahui dari studi komputasional. Ada beberapa perangkat lunak yang dapat digunakan untuk mengetahui epitop suatu protein.²⁹

Peptida yang digunakan sebagai antigen bisa diperoleh dari metode rekombinan seperti halnya protein atau melalui pembuatan peptida sintesis.²⁶ Metode rekombinan melibatkan insersi sekuens asam nukleat tertentu pada vektor pembawa, umumnya digunakan plasmid, kemudian sekuens tersebut diekspresikan atau dilakukan *over expression* pada vektor tertentu seperti bakteri.²⁶ Peptida sintetik merupakan sekuens asam amino *domain* tertentu dari suatu antigen, biasanya sepanjang 10-20 asam amino.^{23,26} Peptida tersebut dibuat dari asam amino yang disintesis dan digabung, sehingga membentuk molekul tunggal atau kompleks supramolekul atau hanya dicampur secara mekanik.^{26,28} Pembuatan peptida sintetik ini memiliki keuntungan antara lain aman, mudah distandarisasi, spesifik, reproduibel, dan mudah dikembangkan

untuk produksi dalam skala besar secara *in vitro*. Peptida sintetik sudah luas digunakan dalam diagnostik, antara lain untuk kanker, alergi, penyakit autoimun, infeksi virus, bakteri, dan parasit.²⁸

Peptida sintetik yang digunakan sebagai antigen umumnya dapat berikatan dengan sekuens bagian tertentu pada antibodi atau protein yang bentuknya linier. Peptida demikian disebut sebagai peptida linier. Jumlah epitop linier lebih sedikit dibandingkan

epitop *discontinue*, sehingga diperlukan perancangan peptida yang bisa mengenali bagian tersebut.²⁸ Epitop peptida yang digunakan sebagai antigen biasanya berasal dari protein yang dikenali oleh antibodi seperti protein env HIV-1.

Aplikasi

Protein dan peptida umumnya digunakan sebagai antigen dalam alat diagnostik antibodi anti-HIV. Alat diagnostik ini sudah banyak yang disetujui *Food and Administration* (FDA) dan

Table. Alat diagnostik yang telah disetujui FDA dan antigen yang digunakan.³⁰

| Nama Dagang | Format Uji | Jenis uji | Antigen untuk Deteksi Antibodi |
|--|---|---------------|--|
| Fluorognost HIV-1 IFA | Imunofluorosensi | Anti-antibodi | Protein HIV-1 |
| Cambridge Biotech HIV-1 Western Blot Kit | Western blot | Anti-antibodi | Protein (p) dan glikoprotein (gp) HIV-1 (p17, p24, p31, gp41, p51, p55, p66, gp120 dan gp160) |
| GS HIV-1 Western Blot | Western blot | Anti-antibodi | Peptida sintetik HIV-1 grup O, protein rekombinan gp160 dan p24 HIV-1, peptida rekombinan daerah imunodominan gp36 HIV-2 |
| Avioq HIV-1 Microelisa System | EIA | Anti-antibodi | Protein lisat virus HIV-1 murni |
| Maxim (Calypte) HIV-1 Urine EIA | EIA | Anti-antibodi | Peptida rekombinan protein envelope HIV-1 |
| INSTI HIV-1/HIV-2 Antibody Test | Rapid Immunoassay | Anti-antibodi | Protein rekombinan HIV-1 dan HIV-2 |
| Reveal Rapid HIV-1 Antibody Test | Rapid Immunoassay | Anti-antibodi | Peptidasintetikbagianlestariproteinstruktural HIV |
| Cambridge Biotech HIV-1 Urine Western Blot Kit | Western blot | Anti-antibodi | Fraksi spesifik protein HIV |
| Abbott Prism HIV-O Plus Assay | Chemiluminescent Immunoassay (ChLIA) | Anti-antibodi | Protein env HIV-1 grup M, Protein env HIV-1 grup O, Protein env HIV-2, dan peptida sintetik |
| Geenius HIV 1/2 Supplemental Assay | HIV Detection Test | Anti-antibodi | Protein rekombinan daerah konservasi (lestari) dan peptida sintetik HIV-1 dan HIV-2 |
| Genetic Systems HIV-1/ HIV-2 Plus O EIA | EIA | Anti-antibodi | Protein rekombinan daerah konservasi (lestari) dan peptida sintetik HIV-1 (grup M dan O) dan HIV-2 |
| ADVIA Centaur HIV 1/O/2 Rapid Test | Microparticle Chemi-luminometric Immunoassay | Anti-antibodi | Protein rekombinan : protein env (gp41/120), core protein (p24) dan protein env HIV-2 (gp36) dan peptida sintetik HIV-1 grup O |
| VITROS HIV-1/HIV-2 Reagent Pack and Calibrator | Imunometrik | Anti-antibodi | Antigen rekombinan : env14, env AL, env10, dan p24 |
| Multispot HIV-1/HIV-2 Rapid Test | Rapid Immunoassay | Anti-antibodi | Protein rekombinan HIV-1 (gp41 env), peptida HIV-1 (gp41 env), dan peptida HIV-2 (gp36 env) |
| SURE CHECK HIV 1/2 ASSAY | Rapid Immunoassay | Anti-antibodi | Antigen HIV-1 dan HIV-2 |
| HIV 1/2 STAT-PAK ASSAY | Rapid Immunoassay | Anti-antibodi | Antigen HIV-1 dan HIV-2 dan <i>antibody binding protein</i> |
| OraQuick ADVANCE Rapid HIV-1/2 Antibody Test | Rapid Immunoassay | Anti-antibodi | Peptida sintetik yang berasal dari protein env |
| Chembio DPP® HIV 1/2 Assay | Rapid Immuno-chromatographic Assay | Anti-antibodi | Antigen HIV-1 dan HIV-2 |
| Uni-Gold™ Recombigen® HIV-1/2 | Rapid EIA | Anti-antibodi | Protein rekombinan mewakili daerah imunodominan protein env HIV-1 |
| BioPlex 2200 HIV Ag-Ab Assay | Multiplex flow immunoassay | Combo assay | Peptidasintetik |
| ADVIA Centaur HIV Ag/ Ab Combo (CHIV) Assay | Microparticle Chemi-luminometric Immunoassay | Combo assay | Antigen rekombinan protein env virus (gp41/120 HIV-1 dan gp36 HIV-2), peptida sintetik HIV-1 grup O |
| ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo | Chemiluminescent Microparticle Immunoassay (CMIA) | Combo assay | Antigen HIV-1 (grup M dan O) |
| GS HIV Ag/Ab Combo EIA | EIA | Combo assay | Protein rekombinan HIV-1 gp160, peptida sintetik tiruan epitope HIV-1 grup O dan epitope imunodominan env HIV-2 |
| Alere Determine™ HIV-1/2 Ag/Ab Combo | Immunoassay | Combo assay | Rekombinan antigen HIV-1 dan HIV-2 |



beredar di pasaran. Contoh beberapa produk diagnostik HIV yang telah disetujui FDA dan antigen yang digunakan dapat dilihat pada tabel.³⁰

RINGKASAN

Uji serologi yang paling banyak dilakukan

sebagai penanda infeksi HIV adalah deteksi antibodi anti-HIV. Deteksi antibodi HIV dilakukan dengan metode *enzyme immunoassay* (EIA) yang telah dikembangkan dari generasi pertama sampai keempat, *rapid test*, *western blot*, imunofluoresens, *chemiluminesens*, dan *multiplex flow*

immunoassay. Antigen yang digunakan dalam deteksi antibodi HIV dapat berasal dari protein baik hasil isolasi maupun protein rekombinan, dan/ atau peptida baik rekombinan maupun sintetik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia nomor 15 tahun 2015 tentang pelayanan laboratorium pemeriksa HIV dan infeksi oportunistik. 2015.
2. Mehra B, Bhattar S, Bhalla P, Rawat D. Rapid tests versus ELISA for screening of HIV infection: Our experience from a voluntary counselling and testing facility of a tertiary care centre in North India. *ISRN AIDS Hindawi*. 2014;2014:296840.
3. Tiwari RP, Jain A, Khan Z, Kumar P, Bhriugu V, Bisen PS. Designing of novel antigenic peptide cocktail for the detection of antibodies to HIV-1/2 by ELISA. *J Immunol Methods* 2013;387(1–2):157–66.
4. Shetty S, Prabhu S. Laboratory tests for HIV: Diagnosing, monitoring and managing AIDS-an overview. *Int J Oral & Maxillofacial Patho*. 2011;2(1):20–8.
5. Kemenkes RI. Pedoman nasional tes dan konseling HIV dan AIDS. Jakarta; 2013.
6. Mcmichael AJ, Borrow P, Tomaras GD, Goonetilleke N, Haynes BF. The immune response during acute HIV-1 infection: Clues for vaccine development. *Nat Rev Immunol*. 2010;10(1):11–23.
7. Lampejo T, Pillay D. HIV virology, testing and monitoring. *Med (United Kingdom)*. 2013;41(8):420–4.
8. Cornett JK, Kirn TJ. Laboratory diagnosis of HIV in adults: A review of current methods. *Clin Infect Dis*. 2013;57(5):712–8.
9. Branson BM. The future of HIV prevention. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2010;55(Supplement 2):102–5.
10. Daskalakis D. HIV diagnostic testing: Evolving technology and testing strategies. *Top Antivir Med*. 2011;19(1):18–22.
11. Speers D, Phillips P, Dyer J. Combination assay detecting both human immunodeficiency virus (HIV) p24 antigen and anti-HIV antibodies opens a second diagnostic window. *J Clin Microbiol*. 2005;43(10):5397.
12. Saville RD, Constantine NT, Cleghorn FR, Jack N, Bartholomew C, Edwards J, et al. Fourth-generation enzyme-linked immunosorbent assay for the simultaneous detection of human immunodeficiency virus antigen and antibody. *J Clin Microbiol*. 2001;39(7):2518–24.
13. Alexander TS. Human immunodeficiency virus diagnostic testing : 30 Years of evolution. *Clin Vaccines Immunol*. 2016;23(4):249–53.
14. Lien TX, Tien NTK, Chanpong GF, Cuc CT, Yen VT, Soderquist R, et al. Evaluation of rapid diagnostic tests for the detection of human immunodeficiency virus types 1 and 2, hepatitis B surface antigen, and syphilis in Ho Chi Minh City, Vietnam. *Am J Trop Med Hyg*. 2000;62(2):301-9.
15. Almazini P. Rapid test makin cepat mendeteksi antibodi HIV. *CDK*. 2011;38(2):137–40.
16. Greenwald JL, Burstein GR, Pincus J, Branson B. A rapid review of rapid HIV antibody tests. *Curr Infect Dis Rep*. 2006;8:125-31.
17. Delaney KP, Branson BM, Uniyal A, Phillips S, Candal D, Owen SM, et al. Evaluation of the performance characteristics of 6 rapid HIV antibody tests. *CID*. 2011;52(15 January):257–63.
18. Branson BM, Owen SM, Wesolowski LG, Benett B, Werner BG, Wroblewski KE, et al. Laboratory testing for the diagnosis of HIV infection : Updated recommendations - Guidelines and recommendations. Centers for Disease Control and Prevention and Association of Public Health Laboratories; 2014. p. 1-66.
19. Alonso R, Roa PL, Suárez M, Bouza E. New automated chemiluminescence immunoassay for simultaneous but separate detection of human immunodeficiency virus antigens and antibodies. *J Clin Microbiol*. 2014;52(5):1467–70.
20. Bio-Rad Laboratories. BioPlex 2200 system: HIV Ag-Ab, Instructions for use. USER MANUAL. 2015;38.
21. Movahedi A (R), Hampson DJ. New ways to identify novel bacterial antigens for vaccine development. *Vet Microbiol*. 2008;131(1–2):1–13.
22. Structural Genomics Consortium, Architecture et Fonction des Macromolécules Biologiques, Berkeley Structural Genomics Center, China Structural Genomics Consortium, Integrated Center for Structure and Function Innovation, Israel Structural Proteomics Cente and S-C. Protein production and purification. *Nat Methods*. 2008;5(2):135-46.
23. Carmona SJ, Sartor PA, Leguizamón MS, Campetella OE, Agüero F. Diagnostic peptide discovery: Prioritization of pathogen diagnostic markers using multiple features. *PLoS One*. 2012;7(12):e50748.
24. Andresen H, Bier FF. Chapter 8 peptide microarrays for serum antibody diagnostics. In: Bilitewski U, editor. *Microchip methods in diagnostics*. Humana Press; 2009. p. 123–34.
25. Pau CP, Luo W, McDougal JS. Chimeric multiple antigenic peptides for simultaneous detection of specific antibodies to HIV-1 groups M, N, O, and HIV-2. *J Immunol Methods*. 2007;318(1–2):59–64.
26. Hancock DC, Reilly NJO. Synthetic peptides as antigens for antibody production in methods in molecular biology. 3rd Ed. Burns R, editor. Vol. 295. Humana Press; 2005. p. 13-25.
27. Lines JA, Yu Z, Dedkova LM, Chen S. Design and expression of a short peptide as an HIV detection probe. *Biochem Biophys Res Commun*. 2014;443(1):308–12.
28. Ponomarenko JV, van Regenmortel MHV. B-Cell epitope prediction BT - Structural bioinformatics. In: Gu J, Bourne PE, editors. *Structural bioinformatics second edition*. John Wiley and Sons; 2009. p. 849–79.
29. Potocnakova L, Bhide M, Pulzova LB. An introduction to B-Cell epitope mapping and in silico epitope prediction. *J Immunol Res*. 2016;2016.
30. US Food and Drug Administration. Complete list of donor screening assays for infectious agents and HIV diagnostic assays. *Infectious Disease Test [Internet]*. 2016. Available from: <https://www.fda.gov/biologicsbloodvaccines/bloodbloodproducts/approvedproducts/licensedproductsblas/blooddonorscreening/infectiousdisease/ucm080466.htm>