

# Reaktivitas sel-T dan sel-B penderita lepra dan narakontak terhadap beberapa antigen atau epitop *Mycobacterium leprae*

Hardyanto Soebono

Laboratorium Ilmu/Unit Pelayanan Fungsional Penyakit Kulit dan Kelamin  
Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada/RSUP Dr. Sardjito, Yogyakarta

## ABSTRACT

H. Soebono – T cell and B cell reactivities of leprosy patients and their contacts against antigens or epitopes *Mycobacterium leprae*.

This study was aimed at evaluating the T cell and B cell reactivity against *Mycobacterium leprae* antigens or epitopes among leprosy patients and their household contacts in the Indonesian population. Through this study, *M. leprae* epitopes (either protective or suppressive) will be identified and hopefully proved useful for the development of an effective leprosy vaccine in the future.

Fifty-nine leprosy patients consisting of 34 tuberculoid type (TT/BT) and 24 lepromatous type (LL/BL) at Dr. Sardjito General Hospital Yogyakarta and 50 household contacts were recruited for this study. After the informed consent was given, 20 ml venous blood was drawn from each subject for assays of the T cell and B cell reactivities. The T cell reactivity was tested by lymphocyte transformation (LTT) and the B cell reactivity was tested serologically by ELISA. *M. leprae* antigen, PGL-I and some recombinant proteins (65 kD, 30 kD, 45 kD and 43 kD) were used as antigens in both assays. In addition, Phytohemagglutinin (PHA) and Interleukin-2 (IL-2) were used as mitogens in the LTT. Statistical analysis was done by using One way ANOVA and Chi-square tests.

The results showed that cellular immune deficiency in LL/BL patients was found to be specific to the *M. leprae* antigen, but not to mitogens and other antigens. The T-lymphocyte of the patients (either TT/BT or LL/BL) and healthy contacts demonstrated very low reactivities against all recombinant antigens. On the other hand, the sera of LL/BL leprosy patients reacted significantly against all antigens, most strikingly against PGL-I and 43 recombinant protein of *M. leprae*. Whereas, the sera of TT/BT patients and healthy contacts showed no or least reactivity against those antigens.

These data indicate that although in a small proportion *M. leprae* recombinant proteins of 65 kD, 30 kD, 45 kD and 43 kD are recognized by T-cell of leprosy patients and healthy contacts. These antigens contain more B-cell epitopes rather than T-cell epitopes. So, these antigens should be eliminated as soon as a possible candidate in the development of any leprosy vaccine.

**Key words:** leprosy – T-cell and B-cell – *Mycobacterium leprae* antigen – ELISA – tuberculoid and lepromatous types

(Berita Ilmu Kedokteran, Vol. 27, No. 3:129-35, September 1995)

## PENGANTAR

Penyakit lepra merupakan penyakit infeksi kronik pada manusia yang disebabkan oleh *My-*

*cobacterium leprae*. Penyakit ini masih merupakan masalah kesehatan masyarakat di dunia, khususnya di negara-negara berkembang. Hal ini disebabkan karena dampak sosial-psikologis yang diakibatkan penyakit ini. Sejauh ini program pemberantasan penyakit lepra masih didasarkan pada strategi pencegahan sekunder yang berupa

H. Soebono – Department of Dermatology & Venerology, Faculty of Medicine, Gadjah Mada University, Yogyakarta, Indonesia.

deteksi dini dan pemberian kemoterapi pada semua kasus lepra.<sup>1</sup> Vaksinasi yang merupakan suatu strategi pencegahan primer belum banyak dilakukan oleh karena belum ditemukannya vaksin spesifik untuk penyakit ini. Oleh karena itu beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengembangkan vaksin lepra yang diharapkan akan sangat bermanfaat bagi program pemberantasan lepra di masa yang akan datang.

Gambaran klinik penyakit ini bervariasi merupakan spektrum. Spektrum penyakit dibatasi oleh dua kutub yang disebut tipe tuberkuloid (TT) dan tipe lepromatosa (LL). Adanya variasi gambaran klinis ini tergantung pada respon imunitas seluler penderita. Penderita dengan imunitas yang baik akan menunjukkan gejala terbatas berupa lesi tunggal seperti pada tipe tuberkuloid, sedangkan penderita dengan imunitas seluler yang jelek akan menjadi tipe lepromatosa yang ditandai dengan lesi yang luas yang hampir mengenai semua organ tubuh. Di antara kedua tipe kutub ini terdapat tipe-tipe yang disebut tipe *borderline* yaitu *borderline-tuberkuloid* (BT), *mid-borderline* (BB) dan *borderline-lepromatosa* (BL).<sup>2</sup>

Oleh karena respon imun yang berperan dalam mekanisme pertahanan tubuh adalah respon imun seluler, maka vaksin yang ideal untuk lepra adalah vaksin yang dapat memacu respon imun seluler atau reaktivitas sel limfosit T. Dengan kata lain vaksin lepra seharusnya hanya mengandung komponen antigenik (epitop) yang bersifat protektif yaitu epitop sel T, tanpa epitop supresif atau epitop sel-B.<sup>3,4,5</sup> Sejauh ini belum ditemukan vaksin lepra yang spesifik. Vaksin yang ada merupakan vaksin kuman utuh atau vaksin yang berasal dari mikobakterium atipik yang tidak diketahui komponen antigenik yang berperan di dalamnya.<sup>6</sup> Meskipun beberapa antigen protein *M. leprae* telah dapat dipisahkan secara elektroforesis, namun, sulitnya mendapatkan protein yang betul-betul murni menyebabkan kurangnya penelitian terhadap antigen-antigen ini. Di samping itu belum dapat dibiakkannya *M. leprae* secara *in vitro* menyebabkan jumlah antigen protein ini sangat terbatas.<sup>7</sup>

Perkembangan teknologi rekombinan DNA telah memungkinkan produksi yang tidak terbatas dan karakterisasi antigen-antigen *M. leprae* lebih mendalam. Young et al. (1985) pertama kali berhasil mengidentifikasi gen-gen yang menyandi

beberapa protein *M. leprae* pada sistem vektor lambda gt11 dan mengekspresikannya pada *E. coli*.<sup>8</sup> Ternyata protein rekombinan ini dikenal baik oleh antibodi monoklonal<sup>9</sup> maupun serum penderita lepra.<sup>10</sup> Di antara antigen protein ini ternyata protein 65 kD merupakan antigen yang imunodominan baik untuk sel T maupun sel B penderita lepra.<sup>11</sup> Kemudian protein-protein rekombinan baru teridentifikasi yaitu protein 30/31 kD<sup>12</sup>, protein 43 kD<sup>13</sup> dan 45 kD.<sup>14</sup>

Respon imun seluler penderita terhadap antigen, tergantung pada jenis epitop. Selain itu juga tergantung pada sel penyaji antigen dengan molekul HLA (*Human Leucocyte Antigen*)-nya. Dengan kata lain respon imun seluler ini sangat tergantung pada restriksi HLA yang terdapat pada permukaan sel penyaji antigen. Karena adanya polimorfisme sistem HLA dari populasi ke populasi, maka uji reaktivitas imun terhadap epitop-epitop *M. leprae* ini harus dilakukan pada beberapa populasi yang berbeda.<sup>15</sup> Oleh karena itu penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk menguji reaktivitas baik sel-T maupun sel-B pada penderita lepra dan narakontak terhadap beberapa protein rekombinan *M. leprae* pada populasi Indonesia. Dengan penelitian ini diharapkan dapat diidentifikasi epitop-epitop sel-T maupun sel-B atau yang bersifat protektif maupun supresif yang berguna bagi pengembangan vaksin lepra.

## BAHAN DAN CARA

**Subjek.** Sebanyak 56 penderita lepra (32 TT/BT dan 24 LL/BL) yang berobat di RS Dr. Sardjito Yogyakarta dan 50 narakontak diikuti dalam penelitian ini. Diagnosis lepra didasarkan atas gejala klinis, pemeriksaan bakteriologis dan pemeriksaan histopatologis. Tes lepromin dilakukan untuk klasifikasi tipe lepra. Klasifikasi dilakukan menurut sistem Ridley & Jopling.<sup>1</sup> Setelah subjek menandatangani persetujuan untuk ikut dalam penelitian ini (*informed consent*), sebanyak 20 ml darah diambil untuk pemeriksaan laboratorik.

**Reaktivitas sel-T.** Untuk mengukur reaktivitas sel-T dilakukan tes stimulasi limfosit (TSL). Limfosit (sel mononuklear perifer) dari darah diisolasi dengan menggunakan metode sentrifugasi gradien dengan larutan Ficoll-Isopaque. TSL dilakukan menurut metode sebelumnya.<sup>16</sup>

Ringkasnya, setelah limfosit dipisahkan dari darah, kemudian disuspensi menjadi 1 juta sel/ml dalam medium RPMI 1640 yang telah dicampur dengan serum. Ke dalam tiap sumur lempeng kultur (Greiner) dimasukkan suspensi sel sebanyak  $10^5$  dan larutan mitogen atau antigen. Kemudian diinkubasikan dalam suhu  $37^\circ\text{C}$  dengan 5%  $\text{CO}_2$ . Untuk mitogen masa inkubasi 2 hari dan untuk antigen 5 hari. Kira-kira 18 jam sebelum terminasi, ditambahkan  $1\ \mu\text{C}$  larutan  $^3\text{H}$  thymidin dalam 50 ul RPMI 1640. Biakan dipanen pada filter. Level serapan  $^3\text{H}$  thymidin diukur dengan mesin pencacah (*scintillator*) dan dinyatakan dalam cpm (*count per minute*). Semua percobaan dilakukan secara tripel. Antigen yang dipergunakan yaitu antigen *M. leprae* dan antigen rekombinan yaitu protein-protein 65 kD, 30 kD, 45 kD, dan 43 kD. Sebagai kontrol dipergunakan mitogen PHA (*phytohemagglutinin*) dan IL-2 (*interleukin-2*).

**Reaktivitas sel-B.** Reaktivitas sel-B diukur dengan mengukur titer antibodi spesifik dalam serum dengan metode ELISA seperti penelitian sebelumnya.<sup>17</sup> Singkatnya 50  $\mu\text{l}$  antigen dengan konsentrasi 0,1  $\mu\text{g/ml}$  dalam larutan dapar karbonat-bikarbonat (pH 9,6) dilapiskan pada sumur-sumur lempeng mikrotiter berbentuk 'U' selama 16 - 18 jam pada suhu  $37^\circ\text{C}$ . Untuk kontrol, dilapiskan juga 50  $\mu\text{l}$  medium pembawa (BSA atau histidin) pada baris lain dalam lempeng yang sama. Lempeng kemudian dibilas 4 kali dengan larutan salin dapar fosfat (PBS) yang mengandung tween-20 0,1 %. Selanjutnya dilakukan *blocking* dengan menambahkan 100  $\mu\text{l}$  larutan *blocking* (1 % BSA dalam PBS-Tween) ke dalam tiap sumur dan diinkubasi selama 1 jam pada  $37^\circ\text{C}$ . Setelah cairan dibuang kemudian dimasukkan 50  $\mu\text{l}$  serum yang telah diencerkan 1:300, dan diinkubasi selama 1 jam pada  $37^\circ\text{C}$ . Tiap sampel serum diuji secara duplo baik terhadap antigen maupun medium kontrol. Setelah dibilas, kemudian ditambahkan 50  $\mu\text{l}$  konjugat (antibodi anti IgM atau anti IgG) berlabel peroksidase (1:2000) dan diinkubasi lagi selama 1 jam pada suhu yang sama. Setelah dibilas, 50  $\mu\text{l}$  substrat (20 mg o-phenylene diamine dalam 50  $\mu\text{l}$  larutan dapar fosfat sitrat, pH 5,0 dan 10  $\mu\text{l}$  larutan 30% hidrogen peroksida). Setelah 15 menit reaksi dihentikan dengan larutan 2,5 N asam sulfat. Nilai serapan dibaca pada panjang gelom-

bang 492 nm dengan pembaca mikro-ELISA (Titertek Multiskan MCC340/MarkII, Flow Labs., Helsinki). Titer antibodi dalam serum dinyatakan dalam serapan optik (OD) yaitu: OD = serapan pada sumur dengan antigen dikurangi serapan pada sumur tanpa antigen. Setiap lempeng dites juga serum positif dan serum negatif sebagai kontrol. Antigen yang diuji pada tes ELISA ini adalah antigen PGL-I (*phenolic glycolipid-I*) dan antigen protein rekombinan seperti pada TSL.

**Analisis data.** Untuk TSL selain jumlah limfoblas yang dinyatakan dalam cpm, juga dihitung Indeks Stimulasi (IS) yaitu rasio antara jumlah limfoblas pada sel yang distimulasi dengan antigen dengan sel yang tidak distimulasi. Tes stimulasi dinyatakan positif bila Indeks Stimulasi antigen yang bersangkutan mempunyai nilai 3. Perbedaan cpm dan Indeks Stimulasi antara penderita LL/BL, TT/BT dan narakontak dianalisis dengan uji t dan analisis variasi satu jalan, sedangkan perbedaan frekuensi tes positif dianalisis dengan uji  $\chi^2$ .

Untuk ELISA, selain nilai serapan optik, juga dihitung frekuensi seropositivitas masing-masing antigen menurut kelompok. Nilai seropositif didasarkan atas rerata titer antibodi plus 3 SD pada donor darah sehat. Perbedaan rerata titer antibodi antara kelompok diuji dengan ANOVA satu jalan, sedangkan perbedaan frekuensi antar kelompok diuji dengan tes  $\chi^2$ .

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Reaktivitas sel T

TABEL 1 menunjukkan rerata jumlah proliferasi limfosit darah perifer terhadap stimulasi beberapa antigen, sedangkan TABEL 2 menunjukkan rerata Indeks Stimulasinya pada penderita lepra TT/BT, LL/BL dan narakontak.

Dari TABEL 1 di atas terlihat bahwa TSL pada penelitian ini cukup sah karena baik kelompok penderita TT/BT, LL/BL maupun narakontak menunjukkan respon yang baik terhadap stimulasi mitogen PHA maupun IL-2, sedangkan medium menunjukkan proliferasi yang cukup rendah. Rerata proliferasi maupun indeks stimulasi terhadap antigen *M. leprae* sangat baik pada penderita TT/BT dan kontak sehat, dan sangat rendah atau

TABEL 1. – Rerata proliferasi limfosit (cpm+SD) penderita lepra dan narakontak terhadap stimulasi beberapa antigen

Antigen	Penderita lepra		Narakontak (N=48)
	TT/BT (N=32)	LL/BL (N=24)	
Medium	2.064 ± 1.798	1.591 ± 1.488	1.513 ± 1.152
PHA	26.312 ± 19.934	26.429 ± 29.164	14.276 ± 12.377
IL-2	27.907 ± 26.171	27.400 ± 28.374	25.018 ± 20.041
M. leprae	13.461 ± 13.113	5.407 ± 9.138	7.809 ± 7.729 <sup>*)</sup>
M. tuberculosis	20.254 ± 17.332	14.520 ± 13.171	14.138 ± 13.074
65 kD	2.540 ± 1.882	1.689 ± 1.491	2.262 ± 1.882
30 kD	2.787 ± 2.849	2.138 ± 1.984	2.033 ± 2.045
45 kD	3.709 ± 4.471	2.947 ± 2.615	2.584 ± 2.578
43 kD	3.709 ± 4.471	2.947 ± 2.615	2.584 ± 2.578

Keterangan:

<sup>\*)</sup> Terdapat perbedaan bermakna ( $p < 0,01$ ) antara TT/BT dengan LL/BL dan narakontak 65 kD, 30 kD, 45 kD, 43 kD - antigen-antigen rekombinan M. leprae

TABEL 2. – Indeks stimulasi limfosit penderita lepra dan narakontak

Antigen	Penderita lepra		Narakontak	p
	TT/BT	LL/BL		
M. leprae	6,15 ± 3,98	2,75 ± 4,01	4,17 ± 2,56	<0,01 <sup>*)</sup>
M. tuberculosis	9,89 ± 9,74	10,63 ± 9,57	9,19 ± 7,54	>0,05
65 kD	1,07 ± 0,68	1,20 ± 0,50	1,67 ± 1,36	>0,05
30 kD	1,18 ± 1,13	1,06 ± 0,65	1,12 ± 0,86	>0,05
45 kD	1,45 ± 1,79	1,25 ± 0,82	1,26 ± 1,19	>0,05
43 kD	1,78 ± 2,04	1,68 ± 1,67	1,57 ± 1,21	>0,05

Keterangan:

<sup>\*)</sup> Terdapat perbedaan bermakna antara TT/BT, LL/BL dan narakontak 65 kD, 30 kD, 45 kD, 43 kD - antigen-antigen rekombinan M. leprae

TABEL 3. – Frekuensi (%) reaktivitas positif pada TSL terhadap beberapa antigen rekombinan

Antigen	Penderita lepra		Narakontak (N=49)	p
	TT/BT (N=32)	LL/BL (N=24)		
M. leprae	87,9	33,3	56,3	<0,01
M. tuberculosis	84,8	87,5	87,5	>0,05
65 kD	6,1	0	14,6	>0,05
30 kD	6,1	8,3	6,3	>0,05
45 kD	12,1	12,5	4,2	>0,05
43 kD	15,2	12,5	10,4	>0,05

Keterangan:

65 kD, 30 kD, 45 kD, 43 kD - antigen-antigen rekombinan M. leprae

dapat dikatakan tidak responsif pada penderita LL/BL.

Terhadap antigen M. tuberculosis, ketiga kelompok memberikan respon yang baik dan tidak berbeda antara kelompok TT/BT, LL/BL dan kontrol sehat. Dengan demikian jelas bahwa adanya defisiensi imun seluler pada penderita

LL/BL bersifat sangat spesifik yaitu hanya terhadap antigen M. leprae tidak terhadap antigen lain, sebagaimana dilaporkan oleh beberapa peneliti sebelumnya.<sup>18,19</sup> Reaktivitas terhadap keempat protein rekombinan ternyata sangat rendah, yang ditunjukkan dengan Indeks Stimulasinya yang praktis negatif (kurang dari 3).

TABEL 3 menunjukkan frekuensi reaktivitas positif terhadap beberapa antigen pada ketiga kelompok. Reaktivitas terhadap M. leprae menunjukkan frekuensi tertinggi pada penderita TT/BT dan paling rendah pada penderita LL/BL ( $p < 0,01$ ). Sebagian kecil penderita LL/BL (33,3%) menunjukkan reaktivitas terhadap M. leprae, kemungkinan mereka merupakan tipe BL atau tipe LL subpolar yang tidak mengalami defisiensi imun total. Frekuensi reaktivitas positif terhadap M. tuberculosis pada ketiga kelompok tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna. Meskipun protein-protein rekombinan 30 kD, 43 kD dan 45 kD dikenal oleh sel T baik penderita (TT maupun LL) dan narakontak, tetapi karena frekuensinya sangat rendah dan tidak berbeda antara ketiga kelompok, maka tidak jelas apakah ketiga protein tersebut membawa epitop sel-T atau tidak.

Protein 65 kD kemungkinan membawa epitop sel-T oleh karena sel-T penderita TT dan narakontak menunjukkan reaktivitas lebih tinggi dibanding reaktivitas sel-T penderita LL, meskipun hal ini masih memerlukan konfirmasi lebih lanjut karena frekuensinya yang sangat rendah.

### Reaktivitas sel B

TABEL 4 menunjukkan reaktivitas sel B penderita lepra dan narakontak terhadap beberapa antigen yang dinyatakan sebagai titer antibodi spesifik. Antibodi anti PGL-I merupakan IgM, sedangkan antibodi terhadap ke empat antigen rekombinan berasal dari kelas IgG. Dari tabel dapat dilihat bahwa titer antibodi spesifik terhadap semua antigen menunjukkan tertinggi pada kelompok penderita LL/BL dibandingkan penderita TT/BT dan narakontak. Meskipun demikian tampaknya antigen PGL-I, protein 30 kD dan 43 kD memberikan titer antibodi yang lebih tinggi dibandingkan antigen lain pada penderita LL/BL.

Untuk menentukan seropositivitas pada masing-masing antigen, dipergunakan hasil tes ELISA dari donor darah sehat. Nilai ambang positif (*cut-off value*) tes serologi dengan berbagai antigen disajikan pada TABEL 5.

Dengan menggunakan rerata titer antibodi plus 3 SD sebagai nilai ambang seropositif, didapatkan nilai tertinggi pada antigen 30 kD kemudian 45 kD dan paling rendah pada antigen PGL-I.

TABEL 4. - Rerata titer antibodi ELISA ( $OD_{492nm} \pm SD$ ) menurut antigen pada penderita lepra dan narakontak

Antigen	Penderita		Nara kontak (N=50)
	TT/BT (N=32)	LL/BL (N=24)	
PGL-I	0,13 $\pm$ 0,23 <sup>a)</sup>	1,60 $\pm$ 0,55 <sup>b)</sup>	0,07 $\pm$ 0,08 <sup>a)</sup>
65 kD	0,03 $\pm$ 0,03 <sup>a)</sup>	0,36 $\pm$ 0,48 <sup>b)</sup>	0,07 $\pm$ 0,10 <sup>a)</sup>
30 kD	0,43 $\pm$ 0,25 <sup>a)</sup>	1,33 $\pm$ 0,69 <sup>b)</sup>	0,17 $\pm$ 0,19 <sup>c)</sup>
45 kD	0,02 $\pm$ 0,03 <sup>a)</sup>	0,54 $\pm$ 0,55 <sup>b)</sup>	0,14 $\pm$ 0,21 <sup>a)</sup>
43 kD	0,02 $\pm$ 0,02 <sup>a)</sup>	1,58 $\pm$ 0,74 <sup>b)</sup>	0,03 $\pm$ 0,04 <sup>a)</sup>

Keterangan:

Superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna antar kelompok TT/BT, L/BL dan narakontak (ANOVA satu jalan)

PGL-I : *phenolic glycolipid-I*

65 kD, 30 kD, 45 kD, 43 kD - antigen-antigen rekombinan M. leprae

TABEL 5. - Nilai ambang seropositif berbagai antigen pada ELISA

Antigen	Rerata (OD)	SD	Nilai ambang
PGL-I	0,04	0,06	0,22
65 kD	0,08	0,07	0,29
30 kD	0,17	0,20	0,77
45 kD	0,14	0,15	0,59
43 kD	0,08	0,16	0,56

Keterangan:

PGL-I : *phenolic glycolipid-I*

65 kD, 30 kD, 45 kD, 43 kD - antigen-antigen rekombinan M. leprae

TABEL 6. – Frekuensi seropositif ELISA (%) menurut antigen pada penderita lepra dan nara kontak

Antigen	Penderita		Narakontak
	TT/BT	LL/BL	
PGL-I	20,0	100	2,9
65 kD	0	22,2	8,8
30 kD	0	42,1	1,7
45 kD	0	42,1	4,4
43 kD	0	78,9	0

Keterangan:

PGL-I : *phenolic glycolipid-I*

65 kD, 30 kD, 45 kD, 43 kD - antigen-antigen rekombinan M. leprae

TABEL 6 menunjukkan reaktivitas sel B terhadap beberapa antigen yang dinyatakan dalam frekuensi seropositif pada masing-masing kelompok.

Pada penderita lepra ternyata IgM anti PGL-I menunjukkan frekuensi seropositif tertinggi dibandingkan IgG anti protein rekombinan. Pada penderita LL/BL reaktivitas terhadap semua antigen rekombinan ternyata menunjukkan frekuensi yang tertinggi, sedangkan pada penderita TT/BT negatif dan pada narakontak frekuensinya kecil. Dengan demikian dapat diduga bahwa keempat protein rekombinan tampaknya hanya dikenal oleh sel B pada penderita LL/BL, atau dengan kata lain protein 65 kD, 30 kD, 45 kD dan 43 kD mengandung epitop-epitop sel B daripada epitop sel T. Hasil serupa juga dilaporkan oleh beberapa penelitian sebelumnya. Dengan metode *Western blotting*, Sathish et al.<sup>10</sup> menunjukkan bahwa antigen rekombinan 45 kD dikenal baik oleh serum penderita LL tetapi tidak oleh penderita TT. Dengan menggunakan *T-cell line*, *T-cell clone* dan *Western blot* pada penderita dan kontrol sehat, Thole et al.<sup>12</sup> menunjukkan bahwa antigen 30 kD hanya dikenal oleh sel-T pada sebagian kecil penderita TT dan kontrol sehat, tetapi dikenal baik oleh sebagian besar serum penderita LL (90 %).

## KESIMPULAN DAN SARAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa protein-protein M. leprae rekombinan 65 kD, 30 kD, 45 kD dan 43 kD lebih mengandung epitop sel-B daripada epitop sel-T. Dengan demikian epitop-epitop tersebut tidak dapat dipakai sebagai bagian dari subunit vaksin.

Untuk melihat apakah reaktivitas terhadap sel-T dan sel-B ini berhubungan dengan restriksi HLA pada populasi ini, perlu dilakukan penelitian analisis HLA.

## Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada :

1. Proyek Peningkatan Penelitian dan Pengabdian pada Masyarakat Direktorat Pembinaan Penelitian dan Pengabdian pada Masyarakat Dirjen Dikti Depdikbud yang telah memberikan biaya pada penelitian ini (Proyek No. 040.4/P4M/DPPM/L-3311/BBI/1994).
2. Direktur Lembaga Penelitian UGM yang telah memberi kesempatan pada penelitian ini.
3. Kepala Laboratorium Ilmu Hayati UGM dan Kepala Bagian Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin FK-UGM atas ijin pelaksanaan penelitian ini.
4. Prof. Dr. R.R.P de Vries, Department of Immunohematology and Blood Bank, University of Leiden yang telah membantu antigen-antigen rekombinan.

## KEPUSTAKAAN

1. WHO expert committee on leprosy : sixth report. Tech Rep Ser 1988, 768.
2. Ridley DS, Jopling WH. Classification of leprosy according to immunity. A five-group system. Int J Lepr. 1966; 34 : 255-73.
3. Rook GAW. Progress in the immunology of the mycobacterioses. Clin Exp Immunol. 1987; 69: 1-9.
4. Kaufmann SHE. Leprosy and tuberculosis vaccine design. Trop Med Parasit. 1989; 40: 251-57.
5. De Vries RRP. HLA and disease: from epidemiology to immunotherapy. Eur J Clin Invest. 1992; 22:1-8.
6. Soebono H. Pengembangan vaksin lepra. B.K.M. 1992; 7:149-56.
7. Gaylord H, Brennan PJ. Leprosy and the leprosy bacillus: Recent developments in characterization

- of antigens and immunology of the disease. *Ann Rev Microbiol.* 1987; 41:645-57.
8. Young RA, Mehra V, Sweetser D, Buchanan TM, Clark-Curtiss J, Davis RW et al. Genes for the major protein antigens of the leprosy parasite *Mycobacterium leprae*. *Nature* 1985; 316: 450-52.
  9. Engers HD, Abe M, Bloom BR, Mehra V, Britton W, Buchanan TM, et al. Results of World Health Organization sponsored workshop on monoclonal antibodies to *Mycobacterium leprae*. *Infect Immun.* 1985; 48:603-605.
  10. Satish M, Esser, RE, Thole JER & Clark-Curtiss, JE. Identification and characterization of antigenic determinants of *mycobacterium leprae* that react with antibodies in sera of leprosy patients. *Infect. Immun.* 1990; 58:1327-36.
  11. Thole JER, van der Zee R. The 65 kD antigen: molecular studies on a ubiquitous antigen, In: J McFadden, editor. *Molecular biology of mycobacteria*. London: Academic Press, 1990; 37-67.
  12. Thole JER, Schoningh R, Janson AAM, Cornelisse YE, Clark-Curtiss JE, Kolk AHJ, et al. Molecular and immunological analysis of a fibronectin-binding protein antigen secreted by *Mycobacterium leprae*. *Mol Microbiol.* 1992; 6: 153-63.
  13. De Wit TFR, Bekelie S, Osland A, Miko TL, Hermans PWM, van Soolingen D, et al. *Mycobacteria* contain two groEL genes : The second *Mycobacterium leprae* groEL gene is arranged in an operon groES. *Mol Microbiol* 1992; 6:1995-2007.
  14. De Wit TFR, Clark-Curtiss JE, Abebe F, Kolk AHJ, Janson AAM, van Agterveld M et al. A *mycobacterium leprae*-specific gene encoding an immunologically recognized 45 kDa protein. *Mol Microbiol.* 1993; 10:829-37.
  15. De Vries RRP. Regulation of T cell responsiveness against mycobacterial antigens by HLA class 2 immune response genes. *Rev Infect Dis* 1989; 11(Suppl.2) : S400-S403.
  16. Soebono H, Wirohadijoyo YW, Sutjipto, Sumining. *Reaktivitas imunologik penderita setelah vaksinasi*. Laporan Penelitian PAU Bioteknologi UGM, 1993.
  17. Soebono H, Klatser PR. A seroepidemiological study of leprosy in high and low endemic Indonesian villages. *Int J Lepr* 1991; 59: 416-25.
  18. Nath I. Immunology of human leprosy - current status. *Lepr Rev* 1993; Spec Issue: 31S-45S
  19. Godal T. Leprosy immunology - some aspects of the role of the immune system in the pathogenesis of disease. *Lepr Rev.* 1984; 55:407- 414.