

PENGEMBANGAN VAKSIN LEPRO

Hardyanto Soebono
Jurusan Ilmu Kedokteran Medik
Fakultas kedokteran, Universitas Gadjah Mada
Yogyakarta

The problems of current approach to leprosy control through case detection and mass treatment are well understood. Therefore, a primary prevention strategy through vaccination would appear to be the answer. Efforts are now being made to develop a vaccine which is highly effective and efficient. BCG, a vaccine first used for tuberculosis, has proved to have a protective effect against leprosy. Some studies in human subjects have shown that preparation of killed *M. leprae* and BCG can induce cell-mediated immunity in lepromin negative patients and healthy contacts. Large field trials in different population are now underway.

The progress in the field of basic immunology and molecular biology has given impetus to search for a more specific vaccine for leprosy. Use of recombinant DNA technology permit mass production of *M. leprae* antigens at low cost. Studies of these antigens are now still performed in the T cell levels to identify their protective epitopes. In addition, a carrier system for vaccine that should be effective, acceptable and cheap, is also being investigated.

Key Words : leprosy vaccine, BCG, killed *M. leprae* antigens, recombinant antigens, protective epitopes

Pendahuluan

Penyakit lepra merupakan masalah kesehatan masyarakat di dunia dan khususnya di negara-negara sedang berkembang. Hal ini bukan disebabkan karena banyaknya jumlah penderita di dunia, tetapi dampak sosial-psikologis dari penyakit ini. Jumlah penderita lepra di dunia saat ini diperkirakan sekitar 12 juta, delapan puluh persen di antaranya berasal dari daerah tropis. Diperkirakan 1,6 miliar penduduk dunia tinggal di daerah endemik dengan prevalensi lebih dari 1 per 1.000, sehingga mereka dianggap mempunyai risiko tinggi tertular penyakit lepra (Noordeen, 1991).

Sampai saat ini program pemberantasan penyakit lepra masih didasarkan pada strategi pencegahan sekunder berupa deteksi dini dan pemberian kemoterapi untuk mendeteksi semua kasus lepra. Cara ini mempunyai beberapa kendala, misalnya: deteksi dini penyakit lepra ternyata tidak mudah, terbukti sebagian besar kasus baru muncul justru dari individu tanpa riwayat kontak dengan penderita, sehingga pengamatan tidak bisa dibatasi pada kelompok risiko tinggi saja. Di samping itu kuatnya stigma sosial terhadap penyakit lepra menyebabkan penderita enggan berobat sampai penyakit menjadi lanjut. Masalah lain dalam deteksi dini adalah belum ada cara diagnosis infeksi *M. leprae* yang tepat. Pada kemoterapi juga terdapat beberapa masalah, yaitu resistensi kuman terhadap *Diamino Diphenyl Sulphone* (DDS), kuman yang persisten dan, yang terpenting, adalah masalah ketaatan atau keteraturan dalam berobat. Walaupun masalah ini sebagian telah dapat teratasi dengan mulai diterapkannya program pengobatan kombinasi, yang dikenal dengan program *Multi Drug Therapy* (MDT) yang diharapkan dapat mengobati lepra pausibasiler dalam waktu 6 bulan dan mengobati lepra multi-

basiler dalam waktu 2 sampai 3 tahun, namun ternyata insiden kasus baru belum banyak mengalami perubahan (Fine, 1991).

Oleh karena itu usaha pencegahan primer berupa imunisasi atau vaksinasi masih diperlukan dalam program pemberantasan penyakit lepra. Program ini telah menarik perhatian para ahli, sehingga sejak tahun 1975, melalui program IMMLEP/TDR, WHO menetapkan pengembangan vaksin lepra sebagai tujuan utama. Dengan program ini diharapkan dalam waktu dekat dapat dikembangkan suatu vaksin yang efektif dan efisien, yang dapat dipakai dalam program pencegahan dan pemberantasan penyakit lepra. Tulisan ini menguraikan pengembangan vaksin lepra, mulai dari peranan BCG dalam proteksi terhadap lepra, sampai usaha penemuan vaksin generasi baru.

Peranan BCG pada lepra

Dugaan bahwa vaksin BCG bermanfaat untuk pencegahan lepra dimulai sejak tahun 1939 ketika Fernandez mengamati bahwa 90% anak-anak sehat dengan lepromin negatif yang divaksinasi BCG menunjukkan konversi lepromin positif (Fine & Ponnighaus, 1988; Bagshawe *et al.*, 1989). Oleh karena positivitas lepromin dikaitkan dengan lepra bentuk pausibasiler atau tuberkuloid, maka hal ini juga dianggap sebagai indikator resistensi terhadap infeksi dengan *M. leprae*. Dua puluh tahun kemudian, sekitar tahun 1960-an, dimulailah *trial* besar-besaran vaksinasi BCG terhadap lepra di Papua Nugini, Burma, India dan Malawi. Hasilnya memang menunjukkan bahwa vaksinasi BCG mempunyai efek proteksi terhadap lepra, walaupun derajat proteksinya bervariasi, yaitu antara 20% di Burma dan 80% di Uganda (lihat Tabel 1).

Beberapa kemungkinan mengapa terdapat perbedaan dalam derajat proteksi vaksin, yang dinyatakan dalam daya-guna vaksin tersebut, antara lain adalah: perbedaan sediaan BCG yang dipakai, perbedaan ekologi lokasi *trial* dan perbedaan dalam mikobakterium lingkungan yang mempengaruhi respons imun oleh BCG (Fine & Ponnighaus, 1988). Namun, dari penelitian-penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa vaksinasi BCG mempunyai efek proteksi terhadap lepra, walaupun derajat proteksinya bervariasi dan bahwa efek proteksi tersebut kebanyakan ditujukan terhadap lepra tipe pausibasiler.

Tabel 1. Daya-guna vaksin BCG terhadap lepra di beberapa negara

Negara	Jumlah populasi	Lama Pengamatan (tahun)	EV	Sumber
Uganda	16.150	8	80%	Stanley <i>et al.</i> , 1981
Papua Nugini	5.356	15	48%	Bagshawe <i>et al.</i> , 1989
Burma	28.220	14	20%	Lwin <i>et al.</i> , 1985
India Selatan	210.337	5 - 10	30%	Tripathy, 1983
Malawi	112.000	6 - 10	50%	Fine <i>et al.</i> , 1986

EV : Efikasi (daya-guna) Vaksin

Vaksin lepra generasi pertama

Walaupun telah terbukti secara epidemiologis bahwa BCG mempunyai efek proteksi terhadap lepra, tetapi masih timbul skeptisisme di antara para ahli. Hal inilah yang kemudian mendorong mereka untuk mencari pendekatan lain untuk vaksin lepra. Beberapa peneliti telah menggunakan cara pendekatan langsung dan lebih praktis, yaitu dengan kuman lepra mati (*killed M. leprae/KML*) atau dengan mikobakterium atipik lain.

Ada dua alasan mendasar dalam pendekatan ini. Pertama, bahwa induksi tanggapan imunitas seluler terhadap *M. leprae* akan menimbulkan kekebalan (Bloom, 1983; Bloom & Godal, 1983). Alasan ini didasarkan atas pengamatan pada spektrum lepra sendiri. Penderita lepra tipe TT (*tuberkuloid*) dan BT (*borderline tuberkuloid*) menunjukkan derajat imunitas seluler yang kuat dan mampu membatasi perkembangbiakan *M. leprae*, walaupun proses ini dapat menimbulkan kerusakan jaringan dan menjadi masalah klinis baru. Sedangkan penderita lepra tipe LL (*lepromatosa*) dan BL (*borderline lepromatosa*) yang mempunyai defek imunitas seluler tidak atau kurang mampu menghambat perkembangbiakan kuman lepra. Sebaliknya, ada korelasi negatif antara kadar antibodi pada penderita lepra dengan kemampuan menghambat perkembangan kuman lepra. Kadar antibodi tinggi umumnya lebih banyak dijumpai pada tipe LL dari pada tipe TT. Bukti lain yang menyokong asumsi ini adalah bahwa orang-orang dengan lepromin positif yang kemudian terkena lepra tidak pernah menjadi tipe *lepromatosa*. Mereka hanya akan menderita tipe *borderline* atau *tuberkuloid* (Dharmendra & Catterjee, 1955).

Alasan kedua yang didasarkan atas eksperimen adalah bahwa *M. leprae* dan mikobakteria lain dapat merangsang imunitas seluler terhadap beberapa antigen *M. leprae*. Hal ini dapat diperhatikan pada tes Mitsuda yang dibaca setelah 28 hari, tidak hanya 24 sampai 48 jam, seperti tes untuk imunitas seluler yang lain. Ini disebabkan karena tes tidak hanya mengukur imunitas seluler yang ada, tetapi juga berlaku sebagai mikrovaksin yang berarti dapat mensensitisasi orang-orang yang responsif terhadap antigen kuman lepra dalam 28 hari, atau meningkatkan sensitisasi yang telah ada. Ternyata pada orang-orang sehat dari daerah non endemik lepra menunjukkan Mitsuda positif (Shepard, 1984). Bukti lain menunjukkan bahwa KML, walaupun tanpa bahan imunogenik lain dapat merangsang reaksi hipersensitifitas lambat pada tikus dan marmot. Pada tikus, vaksinasi BCG dapat menghambat perkembangbiakan dan diseminasi kuman reaksi silang dengan beberapa antigen mikobakterial lain (Bloom, 1986).

1. Vaksin dari *M. leprae*

Vaksin dari *M. leprae* yaitu KML lebih banyak dikombinasi dengan BCG karena diharapkan akan lebih meningkatkan efek proteksinya di samping efek proteksi terhadap tuberkulosis (Fine & Ponnighaus, 1988). Penelitian di Venezuela menunjukkan bahwa campuran KML plus BCG dapat meningkatkan status imunitas beberapa penderita lepra tipe BL dan LL dengan defek imunitas seluler sebelumnya (Convit *et al.*, 1983). Analog dengan penemuan tersebut, seharusnya vaksin mempunyai efek yang sama terhadap orang-orang kontak. Oleh karena itu sejak tahun 1984 WHO/TDR telah mensponsori penelitian di negara tersebut, dengan membandingkan efek proteksi KML

plus BCG dengan BCG saja terhadap kira-kira 30.000 orang kontak. Namun hasilnya baru tampak dalam waktu 5 sampai 10 tahun kemudian (Noordeen, 1985). Vaksin *M. leprae* yang diproduksi oleh IMMLEP diuji pertama kali di negara non endemik pada tahun 1983, pada 31 sukarelawan Norwegia, yang sebelumnya divaksinasi BCG dan sudah diketahui bahwa KML bersifat imunogenik dan ditoleransi dengan baik (Gill *et al.*, 1987). Berdasarkan hasil di sini, kemudian dilakukan penelitian sensitisasi pada populasi endemik di Malawi. Dibandingkan dengan KML atau BCG saja, ternyata campuran KML dan BCG lebih sering memacu sensitisasi (Ponnighaus & Fine, 1986). Saat ini di Malawi dilaksanakan penelitian imunoprofilaktik berskala luas untuk membandingkan efek proteksi KML plus BCG dengan BCG saja (Fine & Ponnighaus, 1988).

2. Vaksin dari mikobakteria atipik

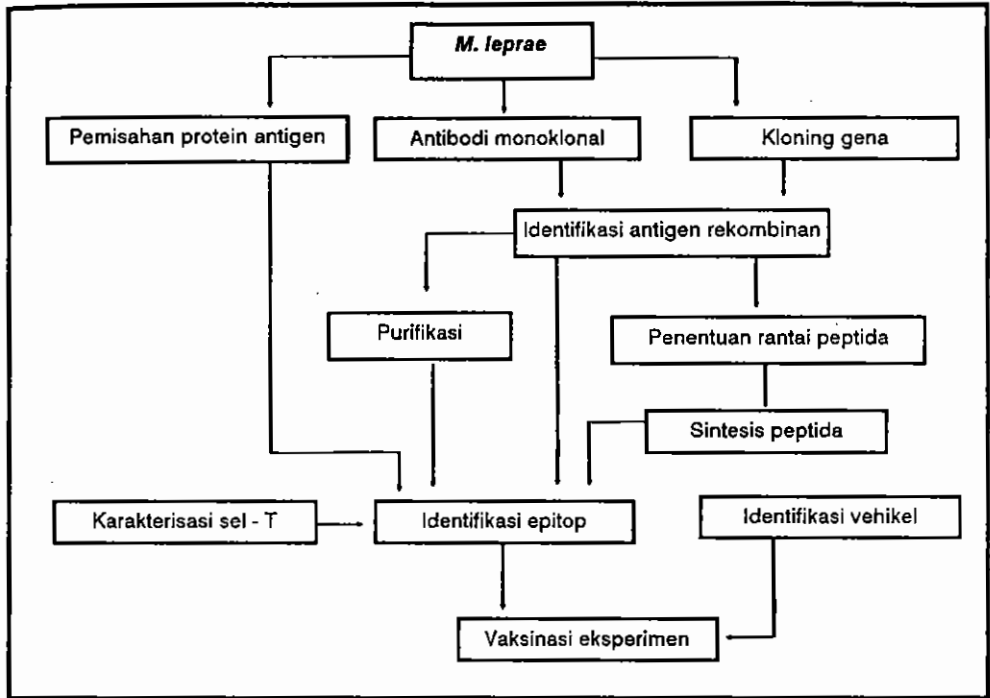
Ada dua vaksin dari mikobakteria atipik yang telah dikembangkan di India. Asumsinya adalah bahwa mikobakteria atipik mempunyai antigenisitas silang dengan *M. leprae* sehingga dapat menginduksi respons imunitas terhadap *M. leprae*. Vaksin pertama disebut vaksin *Indian Cancer Research Centre* (ICRC) menggunakan kuman yang dapat dibiakkan, yaitu anggota dari kompleks *Mycobacterium avium* yang disinari dengan kobalt. Secara klinis vaksin ini telah diuji terhadap 7 penderita lepra tipe LL dan 11 penderita tipe BB atau BL, semuanya dengan reaksi Mitsuda negatif. Dilaporkan bahwa 68% penderita LL dan 91% penderita BB atau BL menunjukkan konversi positif dan perbaikan histologik yang bermakna, serta efek samping yang tidak berarti (Noordeen & Sansariqq, 1984). Pada orang sehat kontak maupun non-kontak dengan lepromin negatif pemberian vaksin ICRC intradermal dapat memberikan konversi lepromin positif setelah 8 minggu, setelah 1 tahun konversi ini menjadi 90% dan menetap paling sedikit selama 3 tahun (Chaturvedi *et al.*, 1987).

Vaksin kedua, menggunakan *Mycobacterium w* yang dipanaskan. Penelitian yang dilakukan terhadap 54 penderita lepra multibasiler (terdiri atas tipe BB, BL dan LL), semuanya dengan Mitsuda negatif, menunjukkan konversi Mitsuda 100% pada penderita BB, serta 86% pada penderita BL dan 61% penderita LL setelah injeksi setiap 3 bulan selama 1 tahun. Demikian pula terjadi perbaikan klinis, bakteriologis dan histopatologis (Talwar *et al.*, 1990). Walaupun secara klinis kedua vaksin tersebut cukup bermanfaat sebagai imunoterapi pada penderita lepra multibasiler dan mampu mengkonversi lepromin, namun kegunaan untuk imunoprofilaksi terhadap infeksi maupun penyakit masih belum terbukti. Demikian pula pada percobaan telapak kaki tikus, kedua vaksin tersebut belum terbukti dapat mencegah infeksi *M. leprae* (WHO, 1988).

Vaksin lepra generasi kedua

Perkembangan imunologi dasar dan biologi molekuler telah mengubah strategi dalam pengembangan vaksin lepra, yaitu tidak lagi menggunakan seluruh kuman sebagai vaksin, melainkan mulai dipikirkan penggunaan fraksi-fraksi atau komponen-komponen imunogenik dari kuman lepra baik dari purifikasi organisme maupun dari teknologi rekombinan DNA atau sintesis secara kimiawi. Strategi ini didasarkan atas konsep bahwa komponen *M. leprae* yang berperan dalam proteksi dan patogenesis merupakan komponen yang berbeda (Rook, 1987), misalnya: *pbenolic glycolipid-I* dari

M. leprae diduga berperan dalam supresi sel-T dan merupakan pertahanan kuman dari serangan makrofag (Mehra *et al.*, 1984). Suatu antigen calon vaksin yang rasional seharusnya terdiri atas komponen protektif tanpa komponen supresif (Rook, 1987). Strategi pengembangan vaksin lepra dengan pendekatan ini dilakukan melalui beberapa tahap seperti terlihat pada Gambar 1.



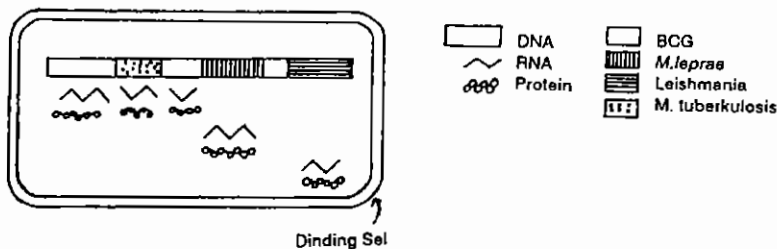
Gambar 1. Diagram desain pengembangan vaksin lepra (Sumber: Kaufman, 1989)

Beberapa antigen protektif yang biasanya berupa polipeptida telah dapat diidentifikasi secara imunologis dan dibuat dengan teknologi rekombinan. Dengan elektroforesis dapat ditunjukkan bahwa *M. leprae* terdiri tidak kurang dari 50 protein dengan berat molekul mulai dari 10 kD sampai lebih dari 100 kD (Gaylord & Brennan, 1987). Selanjutnya dengan antibodi monoklonal dari protein sebanyak itu telah dapat diseleksi 5 protein yang imunogenik spesifik *M. leprae* yaitu : protein-protein 65 kD, 36 kD, 28 kD, 18 kD dan 12 kD (Engers *et al.*, 1986). Munculnya teknologi rekombinan DNA telah memungkinkan seluruh genom dari *M. leprae* dapat diekspresikan pada *E. coli* dengan menggunakan vektor sistem faga *lambda* (λ gt11) (Young *et al.*, 1985). Dengan teknologi ini berarti memungkinkan produksi antigen *M. leprae* tanpa batas, sehingga hambatan yang selama ini menjadi masalah dalam penelitian lepra disebabkan karena belum dapat dibiakkannya *M. leprae* secara *in vitro*, dapat segera diatasi. Selama ini

kebutuhan antigen kuman lepra hanya diperoleh dari inokulasi armadillo atau dari telapak kaki tikus yang biayanya sangat mahal.

Oleh karena protein-protein tersebut diseleksi dengan menggunakan antibodi monoklonal, padahal imunitas terhadap lepra merupakan fungsi dari sel limfosit-T, maka identifikasi antigen protektif perlu dilakukan pada tingkat sel-T. Tahap berikutnya dilakukan untuk mencari epitop-epitop protektif dengan menggunakan klon-klon sel-T spesifik (Mustafa *et al.*, 1988). Menentukan epitop dari antigen mikobakterial ini sulit, karena suatu protein mikobakterial ternyata tersusun atas epitop protektif dan supresif (Ottenhof *et al.*, 1986). Belum lagi masalah kecocokan sistem *Human Leucocyte Antigens* (HLA) yang ternyata mempunyai peran penting dalam seleksi epitop suatu antigen atau protein yang akan disajikan kepada sel-T (de Vries, 1989). Karena banyaknya polimorfisme sistem HLA dalam populasi, ada kemungkinan bahwa tiap individu memerlukan epitop yang berbeda dari suatu protein untuk merangsang sel-T. Sejauh jumlah peptida yang diperlukan masih kecil, pembuatan vaksin yang mengandung beberapa epitop masih mungkin dilakukan, namun jika terlalu besar jumlahnya kemungkinan strategi pengembangan vaksin dengan cara ini akan menjadi sulit untuk diwujudkan (Kaufmann, 1989).

Andaikata peptida protektif yang dimaksud telah dapat diketemukan, tahap berikutnya adalah menentukan vehikel (*carrier system*) yang akan dipakai untuk membawa gena calon vaksin tersebut. Ada beberapa kemungkinan, antara lain: virus R- vaccinia, mutan Aro-Salmonella dan BCG (Bloom & Jacobs, 1989). Virus R-vaccinia dipilih karena terbukti mempunyai kemampuan tinggi memacu respons sel-T (*T-helper* maupun *T-cytotoxic*) pada pelbagai sistem. Aro-Salmonella merupakan mutan yang selain dapat menginduksi sel-T, juga dapat digunakan secara oral dan transfer gena dari klon DNA rekombinan mudah. Vaksin BCG dipilih sebagai vehikel dengan harapan dengan penambahan antigen-antigen spesifik akan dapat memperbaiki vaksin BCG sehingga dapat dipergunakan sebagai vehikel multivaksin (Bloom, 1986) (lihat Gambar 2).



Gambar 2. Skema vaksin ideal yang mampu mengekspresikan antigen protektif spesifik dari beberapa kuman infeksi (Sumber: Bloom, 1986).

Di samping itu keuntungan BCG bila digunakan sebagai vehikel vaksin rekombinan adalah: (1) vaksin BCG yang telah dipergunakan oleh berjuta-juta penduduk di dunia dengan komplikasi serius sangat kecil; (2) BCG merupakan vaksin yang di-

anjurkan pada bayi baru lahir; (3) pemberian vaksinasi sekali telah dapat merangsang imunitas seluler terhadap tuberkuloprotein selama 5 sampai 50 tahun; (4) BCG merupakan *adjuvant* yang paling efektif dan; (5) BCG merupakan vaksin yang murah (Bloom *et al.*, 1989).

Kesimpulan

Vaksin lepra merupakan suatu alternatif penting dalam strategi pencegahan primer terhadap lepra. Perkembangan vaksin lepra dimulai secara kebetulan dari vaksin BCG yang ternyata mempunyai efek proteksi terhadap lepra, walaupun efek proteksinya bervariasi dari populasi ke populasi. Vaksin berikutnya adalah vaksin *M. leprae* dan vaksin mikobakteria atipik yang banyak diteliti di India.

Walaupun semula penelitian pengembangan vaksin lepra mengalami banyak hambatan karena belum dapat dibiakkannya *M. leprae* secara *in vitro*, namun dengan kemajuan di bidang imunologi dasar dan biologi molekuler saat ini telah memberi harapan dalam pengembangan vaksin lepra yang efektif dan efisien. Saat ini masih diteliti kemungkinan vaksin lepra generasi kedua yang lebih spesifik, yang didasarkan atas identifikasi epitop yang lebih tepat.

Kepustakaan

- Bagshawe, A., Scott, C.C., Russell, D.A., Wigley S.C., Merianos, A., & Berry, G. 1989 BCG vaccination in leprosy: final result of the trial in Karimui, Papua New Guinea, 1963-1979. *Bull. WHO* 67: 389-399.
- Bloom, B.R. 1983 Rationales for vaccines against leprosy. *Int. J. Lepr.* 51: 505-509.
- Bloom, B.R., & Godal, T. 1983 Serial primary health care: strategy for control of disease in the developing world. *Rev. Infect. Dis.* 5: 765-780.
- Bloom, B.R. 1986 Learning from leprosy: a perspective, on immunology and the third world. *J. Immunol.* 137: 1-10.
- Bloom, B.R., & Jacobs, W. 1989 New strategies for leprosy and tuberculosis and for development of Bacillus-Calmette-Guerin into multivaccine Vehicle. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 569: 155-173.
- Bloom, B.R., Salgame, P., Mehra, V., Kato, H., Modlin, R., Rea, T., Brennan, P., Convit, J., Lugozi, L., Snapper, S., & Jacobs, W. 1989 Vaccine development. On relating immunology to the third world : some studies on leprosy. *Immunology* 2: 87-90.
- Chaturvedi, V.M., Chirmule, N.B., Yellapurkar, M.W., Saikh, S.U., & Deo, M.G. 1987 Effects of ICRC anti leprosy vaccine in healthy subjects. *Int. J. Lepr.* 55: 657-666.
- Convit, J., Aranzazu, N., Ulrich, M., Zuniga, M., de Aragon, M.E., Alvarado, J., & Reyes, O. 1983 Investigations related to the development of leprosy vaccine. *Int. J. Lepr.* 51: 531-539.
- de Vries, R.R.P. 1989 Regulation of T cell responsiveness against mycobacterial antigens by HLA class 2 immune response genes. *Rev. Infect. Dis.* 11(2): 400-403.
- Dharmendra, & Catterjee, K.R. 1955 Prognostic value of the lepromin test in contacts of leprosy cases. *Lepr. India* 27: 149- 152.
- Engers, H.D., Houda, V., Bennedsen, J. Buchanan, T.M., Chaparas, S.D., & Kadival, G. 1986 Results of a World Health Organization sponsored workshop to characterize antigen recognized by mycobacteria-specific monoclonal antibodies. *Infect. Immun.* 51: 718-720.
- Fine, P.E.M., Ponnighaus, J.M., Maine, N., Clarkson, J.A., & Bliss, L. 1986 Protective Efficacy of BCG against leprosy in Northern Malawi. *Lancet* ii: 499-502.
- Fine, P.E.M., & Ponnighaus, J.M. 1988 Leprosy in Malawi. 2. Background, design and prospects of the Karonga prevention trial, a leprosy vaccine trial in Northern Malawi. *Transc. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.* 82: 810-817.

- Fine, P.E.M. 1991 Current issues in the epidemiology of leprosy. *International Meeting on Epidemiology of Leprosy in Relation to Control*. Jakarta, Indonesia.
- Gaylord, H., & Brennan, P.J. 1987 Leprosy and the leprosy bacillus: recent developments in characterization of antigens and immunology of the disease. *Ann. Rev. Microbiol.* 41: 645-675.
- Gill, H.K., Mustafa, A.S., & Godal, T. 1987 *In vitro* proliferation of lymphocytes from human volunteers vaccinated with armadillo-derived killed-*M. leprae*. *Int. J. Lepr.* 55: 30-35.
- Kaufmann, S.H.E. 1989 Leprosy and tuberculosis vaccine design. *Trop. Med. Parasit.* 40: 251-257.
- Lwin, K., Sundaressan, T., Gyi, Mg., Bechelli, L.M., Tamondong, C., Garbajosa, P.G., Sansariqq, H., & Noordeen, S.K. 1985 BCG Vaccination of children against leprosy: fourteen year findings of the trial in Burma. *Bull. WHO.* 63: 1069-1078.
- Mehra, V., Brennan, P.J., Rada, E., Convit, J., & Bloom, B.R. 1984 Lymphocyte suppression in leprosy induced by unique *M. leprae* glycolipid. *Nature* 308: 194-196.
- Mustafa, A.S., Oftung, F., Deggerdal, A., Gill, H.K., Young, R.A., & Godal, T. 1988 Gene isolation with human T lymphocyte probes. Isolation of a gene that expressed an epitope recognized by T cells specific for *Mycobacterium bovis* BCG and pathogenic mycobacteria. *J. Immunol.* 141: 2729-2733.
- Noordeen, S.K., & Sansariqq, H. 1984 Immunization against leprosy: progress and prospects. *Bull. WHO* 62: 1-6.
- Noordeen, S.K. 1985 Vaccination against leprosy. Recent advances and practical implications. *Lepr. Rev.* 56: 1-3.
- Noordeen, S.K. 1991 A look at world leprosy. *Lepr. Rev.* 62: 72-86.
- Ottenhof, T.H.M., Elferink, D.G., Klatser, P.R., & de Vries, R.R.P. 1986 Cloned suppressor T cells from a lepromatous leprosy patient suppress *Mycobacterium leprae* reactive helper cells. *Nature* 322: 462-464.
- Ponnighaus, J.M., & Fine, P.E.M. 1986 The karonga prevention trial - which BCG. *Lepr. Rev.* 57 (suppl. 2): 285-292.
- Rook, G.A.W. 1987 Progress in the immunology of the mycobacterioses. *Clin. Exp. Immunol.* 69: 1-9.
- Shepard, C.C. 1984 Immunity to leprosy and the Mitsuda reaction. *Int. J. Lepr.* 52: 74-77.
- Stanley, S.J., Howland, C., Stone, M.M., & Sutherland, I. 1981 BCG vaccination of children against leprosy in Uganda: final results. *Int. Hyg. Camb.* 87: 233-248.
- Talwar, G.P., Zaheer, S.A., Mukherjee, R., Walia, R., Misra, R.S., Sharma, A.K., Kar, H.K., Mukherjee, A., Parida, S.K., Suresh, N.R., Nair, S.K., & Pandey, R.M. 1990 Immunotherapeutic effects of a vaccine based on a saprophytic cultivable mycobacterium, *Mycobacterium w.* in multibacillary leprosy patients. *Vaccine* 8: 121-129.
- Tripathy, S.P. 1983 The case for BCG. *Ann. Nat. Acad. Med. Sci. (India)* 19: 11-21.
- WHO 1988 WHO expert committee on leprosy: sixth report. *Tech. Rep. Ser.* 768.
- Young, R.A., Mehra, V., Sweetser, D., Buchanan, T.m., Clark-Curtiss, J., Davis, R.W., & Bloom, B.R. 1985 Genes for the major protein antigens of the leprosy parasite *Mycobacterium leprae*. *Nature* 316: 450-452.