

Prevalensi dan Derajat Infeksi *Anisakis* sp. pada Saluran Pencernaan Ikan Kerapu Lumpur (*Epinephelus sexfasciatus*) di TPI Brondong Lamongan

Syamsul Arifudin dan Nurlita Abdulgani

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS)

Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111

E-mail: nurlita@bio.its.ac.id

Abstrak—Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat prevalensi dan derajat infeksi *Anisakis* sp. pada saluran pencernaan ikan kerapu lumpur (*Epinephelus sexfasciatus*) di tempat pelelangan ikan brondong Lamongan. Pengambilan sampel sebanyak 30 ekor ikan dengan ukuran ≥ 22 cm. Organ yang diamati lambung dan usus, kemudian dilakukan perhitungan prevalensi dan derajat infeksi *Anisakis* sp. Hasil dari penelitian ini menunjukkan prevalensi *Anisakis* sp. pada saluran pencernaan (meliputi lambung dan usus) ikan kerapu lumpur (*Epinephelus sexfasciatus*) sebesar 100%. Sedangkan derajat infeksi *Anisakis* sp. sebesar 4 individu *Anisakis* sp. pada organ lambung dan 7 individu *Anisakis* sp. pada organ usus dalam satu individu ikan kerapu lumpur (*Epinephelus sexfasciatus*).

Kata Kunci—Prevalensi, derajat infeksi, *Anisakis* sp., *Epinephelus sexfasciatus*

I. PENDAHULUAN

TPI Brondong Tempat Pelelangan Ikan terbesar di Jawa Timur berada di Kabupaten Lamongan. TPI Brondong memiliki peranan strategis dalam pengembangan perikanan dan kelautan, yaitu sebagai pusat atau sentral kegiatan perikanan laut serta berperan penting dalam meningkatkan Pendapatan Anggaran Daerah (PAD). Hasil tangkapan laut nelayan TPI Brondong Lamongan didominasi oleh ikan-ikan yang mempunyai nilai ekonomis tinggi, diantaranya ikan kerapu lumpur. Ikan kerapu lumpur merupakan salah satu komoditas yang potensial untuk dikembangkan karena termasuk ikan laut ekonomis yang pemasarannya tidak hanya domestik maupun internasional. Kerapu lumpur biasanya di ekspor ke Singapura, Taiwan, Hongkong, dan Thailand Potensi tersebut bisa menurun apabila ikan terserang penyakit salah satunya penyakit endoparasit yang *zoonosis* [1].

Zoonosis adalah infeksi yang secara alamiah dapat berpindah antara hewan dengan manusia, misalnya Anisakiasis, infeksi pada manusia yang disebabkan oleh larva Nematoda dari family Anisakidae yang hidup di usus ikan

laut. Manusia terinfeksi *Anisakis* sp. bila memakan ikan mentah, penggaraman, pengasapan kurang sempurna, dan pemasakan kurang matang yang mengandung larva *Anisakis* sp.. Efek yang timbul dapat berupa inlamsi, pendarahan dan pembengkakan pada usus [2], [3]. Pengamatan pada beberapa perairan Indonesia menunjukkan ikan kerapu termasuk prevalensi larva Anisakidae yang cukup tinggi Selat Sunda (25%), Laut Bali (43%) dan Laut Nusa Tenggara Timur (17%). Infeksi *Anisakis* sp. Pada ikan kerapu juga di di perairan Glondong Gede Tuban [4].

Derajat infeksi dan prevalensi digunakan untuk mengetahui tingkat infeksi *Anisakis* sp. Prevalensi menggambarkan persentase ikan kerapu yang terinfeksi oleh parasit *Anisakis* sp. tertentu dalam populasi ikan, sedangkan derajat infeksi atau intensitas rata-rata menggambarkan jumlah parasit *Anisakis* sp. yang ditemukan pada ikan yang diperiksa dan terinfeksi [5].

Larva parasitik Nematoda stadium dewasa pada ikan laut pada umumnya ditemukan pada usus, mesenterium dan otot ikan. Larva *Anisakis* sp. terdapat juga di dalam daging ikan, distribusi larva *Anisakis* sp. dalam jaringan ikan *horse-mackerel* adalah pada rongga perut 61.2%, organ viseral 37% dan jaringan otot 1.8% [6], [7]. prevalensi infeksi *Anisakis* sp. menurut lokasi parasit dalam jaringan ikan adalah rongga perut 83%, organ viseral 45.6% dan jaringan otot 3.3%. Derajat infeksi *Anisakis* sp. pada lambung ikan tongkol mencapai 29,17 % [8].

II. METODOLOGI

A. Pengambilan sampel

Pengambilan sampel sebanyak 30 ekor ikan. Sampel yang diambil adalah ikan Kerapu lumpur yang memiliki ukuran ≥ 22 cm yang tertangkap oleh nelayan dan dipasarkan di TPI brondong Lamongan. Pengawetan sampel menggunakan *ice box* yang diisi dry es diharapkan dengan perlakuan ini akan menghambat pembusukan sampel.

B. Pemeriksaan sampel

Pemeriksaan parasit *Anisakis* sp. pada bagian lambung dan usus dilakukan dengan membuat sayatan pada bagian ventral ikan. Sayatan dimulai dari kloaka ke arah anterior sampai operkulum untuk mengambil organ pencernaan. Organ dipisahkan berdasarkan kategori lambung (mulai pangkal kerongkongan hingga bagian anterior usus) dan usus (mulai dari pangkal lambung hingga anus). Organ lambung dan usus yang telah diambil, direndam dengan larutan fisiologis (NaCl 0,9%) dan ditambahkan buffer formalin 5%. Dikeluarkan perlahan isi lambung dan usus kemudian dipipet untuk diamati menggunakan mikroskop.

C. Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara deskriptif kuantitatif dari 30 ikan sampel yang diambil di Tempat Pelelangan Ikan Brondong Lamongan. Penghitungan Derajat infeksi *Anisakis* sp menggunakan rumus :[9]

$$\text{Derajat infeksi (I)} = \frac{\text{Jumlah Parasit } Anisakis \text{ sp. yang Menginfeksi lambung / usus}}{\text{Jumlah } Epinephelus \text{ sexfasciatus} \text{ terinfeksi } Anisakis \text{ sp. pada lambung / usus}}$$

$$\text{Prevalensi} = \frac{\text{Jumlah } Epinephelus \text{ sexfasciatus} \text{ yang terinfeksi } Anisakis \text{ sp.}}{\text{Jumlah } Epinephelus \text{ sexfasciatus} \text{ yang diamati}} \times 100 \%$$

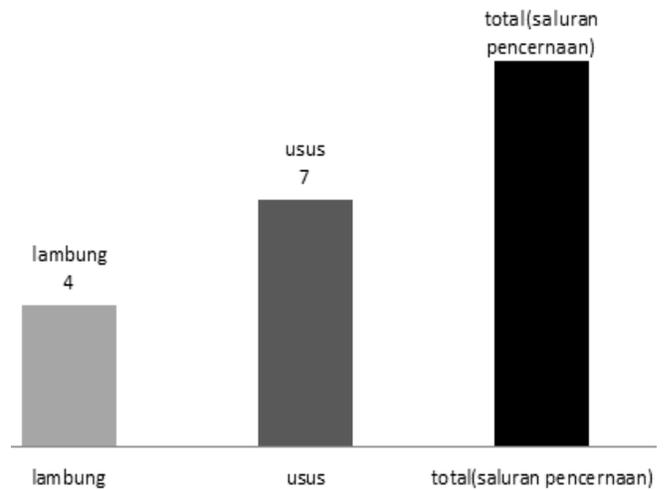
Data hasil pengamatan berupa jumlah *Anisakis* sp. yang di temukan pada lambung dan usus dicatat dalam tabel (lampiran), dilakukan analisis statistika menggunakan uji T.

III. HASIL DAN DISKUSI

A. Hasil Penghinyungan Derajat Infeksi

Derajat infeksi merupakan jumlah rata-rata parasit per ikan yang terinfeksi [10], yang di dalam penelitian ini, parasit yang diamati adalah *Anisakis* sp. sedangkan objek ikan yang terinfeksi adalah ikan kerapu lumpur (*Epinephelus sexfasciatus*) berukuran ≥ 22 cm yang terdapat di TPI Brondong Lamongan. Berdasarkan penghitungan derajat infeksi (selanjutnya disebut DI) *Anisakis* sp. diketahui bahwa rata-rata jumlah *Anisakis* sp dalam saluran pencernaan ikan kerapu lumpur yang dipasarkan di TPI Brondong Lamongan sebanyak 11 individu *Anisakis* sp per 1 individu ikan (gambar 1). Dalam penelitian ini dilakukan perbandingan jumlah DI pada dua organ pencernaan yaitu lambung dan usus yang bertujuan untuk mengetahui dimanakah lokasi preferensial serta distribusi *Anisakis* sp. pada organ saluran pencernaan ikan kerapu lumpur.

Berdasarkan gambar 1 terlihat bahwa terdapat perbedaan derajat infeksi (DI) *Anisakis* sp. pada usus dan lambung, yaitu berturut-turut 4 dan 7 individu *Anisakis* sp per organ. Perbedaan DI pada lambung dan usus mengindikasikan bahwa *Anisakis* sp. terdistribusi pada organ lambung dan usus dengan lokasi preferensial *Anisakis* sp. di organ usus. Hasil analisis uji T menunjukkan adanya perbedaan nyata nilai DI antara organ lambung dan organ usus ($p < 0,05$) yaitu P-



Gambar. 1. Derajat infeksi *Anisakis* sp. pada ikan kerapu lumpur

value= 0,025.

Mikrohabitat parasit adalah lingkungan atau tempat yang mendukung kehidupan parasit. Lingkungan atau tempat tinggal tersebut harus tersedia makanan, oksigen dan faktor lainnya termasuk di dalamnya kompetisi antar spesies [11]. Persebaran *Anisakis* pada beberapa organ yaitu untuk melengkapi siklus hidupnya[12]. Derajat infeksi lebih tinggi pada organ usus daripada lambung menunjukkan bahwa usus merupakan lokasi preferensial bagi *Anisakis* sp. Faktor preferensial tersebut dapat dipengaruhi oleh faktor kemudahan untuk mendapatkan nutrisi. Usus halus menyediakan sumber nutrisi bagi nematoda antara lain darah, sel jaringan, cairan tubuh dan sari-sari makanan yang terkandung dalam lumen usus halus [13]. Saluran pencernaan ikan merupakan organ yang paling banyak diserang oleh cacing *Anisakis* sp. Habitat dan penyebaran cacing parasit pada usus dapat dipengaruhi oleh struktur dan fisiologis usus sehingga mempengaruhi keberadaan dan jumlah parasit [14]. Hal ini menyebabkan tingginya infeksi di usus dari pada lambung karena di perkirakan usus merupakan tempat memproses makanan dan absorpsi nutrisi, Oleh karena itu *Anisakis* sp lebih banyak di temukan di daerah intestinum untuk memanfaatkan sisa – sisa bahan organik dalam tubuh ikan [15].

Secara umum, infeksi patogen parasitik jarang mengakibatkan wabah penyakit yang bersifat sporadis. Namun hal ini dapat terjadi pada intensitas penyerangan yang sangat tinggi dan areal terbatas. Akibat yang ditimbulkan oleh adanya infeksi patogen parasitik secara ekonomis sangat merugikan. Selain dapat mengakibatkan kematian, juga dapat menurunkan bobot tubuh, ketahanan tubuh, dan kualitas sehingga ikan mudah terinfeksi oleh patogen lain seperti jamur, bakteri, dan virus. Parasit yang mampu hidup pada usus halus memiliki kemampuan untuk resisten terhadap mekanisme pencernaan baik proses kimiawi di dalam inangnya, tahan atau mampu melawan respon imun dari inangnya, dan mampu bertahan di dalam usus halus yang anaerob karena suplai oksigen diperoleh denganmenghisap nutrisi

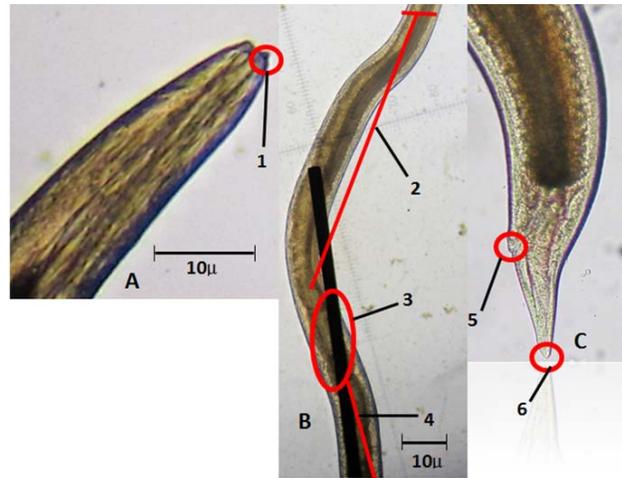
yang mengalir bersama pembuluh darah vena di lumen usus [16]. Endoparasit umumnya memiliki struktur tubuh yang mampu beradaptasi dengan kondisi di dalam usus seperti pada *Anisakis* sp. memiliki lapisan epidermis kulit yang menyekresi sebuah lapisan kutikula yang berfungsi untuk melindungi tubuhnya dari enzim pencernaan di dalam usus halus [17]. Selain itu, *intestinal parasite* mampu melindungi diri dari enzim pencernaan yang disekresikan oleh inang. Parasit ini mensekresi *muco protein* untuk menetralkan enzim inang. Parasit yang tidak memproduksi *muco protein* akan tercerna dalam usus halus [18].

B. Prevalensi *Anisakis* sp.

Prevalensi adalah prosentase ikan yang terserang parasit dalam keseluruhan populasi yang ditemukan terjadi pada ikan pada waktu tertentu dengan mengabaikan kapan mereka terjangkit [19]. Berdasarkan analisis *Anisakis* sp dari 30 sampel ikan kerapu lumpur (*Epinephelus sexfasciatus*) di TPI Brondong Lamongan diketahui bahwa semua sampel mengalami infeksi sehingga dapat dikatakan nilai prevalensi adalah 100%, kategori nilai prevalensi sebesar 100%, termasuk ke dalam kategori “Selalu”. Kategori *always* atau selalu menggambarkan bahwa cacing parasit selalu menginfeksi ikan kerapu lumpur sebagai inang perantara yang umum dari *Anisakis* sp. (99-100%) [20],[21]. Penelitian lain, mendapatkan hasil serupa yakni nilai prevalensi sebesar 100% pada *Epinephelus polyphkadion* [22]. Nilai prevalensi *Anisakis* sp. ini termasuk tinggi karena dapat menjadi indikasi keberadaan *Anisakis* sp pada hospes intermediet diantaranya *crustacea* dan *cephalopoda* (cumi-cumi).

Hasil pengamatan terhadap lambung ikan kerapu lumpur, sebagian besar berisi udang, cumi-cumi serta sebagian kecil rajungan. Ikan kerapu dikenal sebagai predator yang memakan segala jenis ikan, krustasea (jenis udang dan kepiting) dan sepalopoda (jenis cumicumi) [23]. Jenis-jenis pakan tersebut berpotensi menjadi hospes intermediet pertama bagi *Anisakis* sp. dan akan tertular ke tubuh kerapu lumpur (hospes intermediet 2) melalui jalur makanan. Telur yang keluar bersama feses hospes definitifnya akan menetas di air. Larva stadium kedua yang keluar dari telur akan ditelan oleh hospes perantara pertama lalu berkembang menjadi larva stadium ketiga awal. Hospes intermediet pertamanya adalah udang *Thysanoessa* dan *Euphausia*. Bila hospes intermediet ini dimakan oleh hospes perantara kedua contohnya ikan kerapu lumpur (*Epinephelus sexfasciatus*), di dalam tubuhnya larva berkembang menjadi larva stadium ketiga lanjut [24].

Morfologi *Anisakis* sp stadium ketiga terdapat kutikula yang keras, tiga bibir (satu dorsal dan dua bilobal), gigi menonjol untuk melubangi terdapat pada ventral mulut, lubang sekresi terdapat diantara bibir bilobal, *Anisakis* sp. mempunyai lubang pencernaan yang sederhana (esophagus, ventriculus, intestine) panjang total *Anisakis* sp. 10-29 mm. Larva *Anisakis simplex* mempunyai panjang 11,2-34,5 mm, lebar



Gambar 2. Morfologi *Anisakis* sp. larva stadium 3; A. bagian kepala dengan boring tooth(1); B. bagian esophagus(2), ventrikulus(3), intestine(4); C. Bagian ekor anal opening(5), ekor(6).

0,44-0,55 mm usofagusnya relatif panjang dan disertai oleh jaringan kelenjar, tidak mempunyai apendiks atau sekum, bibirnya tidak jelas, giginya menonjol ke depan mempunyai saluran pencernaan yang sederhana yaitu usofagus, ventrikulus dan usus halus (*intestine*) (Hurst; Sakanari dan McKerrow 1989). Berbeda dengan ukuran cacing dewasa jantan yaitu 38-60 mm dan untuk cacing dewasa betina yaitu 45-80 mm [25].

Hospes perantara kedua dan hospes parateniknya meliputi ikan (*pisces*) laut, cumi-cumi dari berbagai jenis, dan membentuk rantai penularan satu dengan yang lain sedemikian kompleksnya. Hasil studi isi lambung ikan kerapu lumpur mendukung infeksi *Anisakis* sp. melalui proses meamakan jenis *crustacea* dan *cephalopoda* sehingga nilai prevalensi tinggi mencapai 100% pada ikan kerapu lumpur. Nilai prevalensi yang tergolong tinggi ini dapat berpotensi zoonosis. *Anisakis* sp dapat menginfeksi manusia (*Anisakiasis*) melalui mekanisme memakan ikan *Epinephelus sexfasciatus* yang kurang masak, karena anisakis masih bisa bertahan hidup pada suhu <70° C dan disimpan pada temperatur >-20 Oc [26]. Resiko zoonosis dapat terjadi tidak hanya dengan megkonsumsi ikan yang kurang matang, tetapi juga pada saat kontak langsung dengan ikan pada proses preparasi sebelum diolah. Resiko zoonosis terhadap manusia diungkapkan bahwa parasit biasanya masuk ke tubuh manusia adalah larva stadium ketiga yang masuk bersama ikan yang dimakan [27]. Dalam tubuh manusia larva akan hidup dan pada umumnya tetap sebagai larva stadium ketiga, larva tersebut menembus jaringan mukosa usus berdasarkan penyebabnya, kasus infeksi pada umumnya tidak menunjukkan gejala tetapi kadang-kadang larvanya bisa ditemukan ketika larva hidup keluar melalui muntah atau dalam feses [28]. Masa inkubasi *Anisakiasis* intestinal adalah 7 hari dan menunjukkan beberapa gejala antara lain rasa sakit pada perut bagian bawah, mual, muntah, demam, diare, dan adanya darah dalam feses [29]. Selanjutnya pada proses pencegahan agar tidak mengkonsumsi ikan yang kurang

matang, sebaiknya memakan ikan yang matang seperti hasil penggorengan karena minyak goreng memiliki titik didih 200°C.

IV. KESIMPULAN

Prevalensi *Anisakis* sp. pada saluran pencernaan (meliputi lambung dan usus) ikan kerapu lumpur (*Epinephelus sexfasciatus*) 100 %. Sedangkan derajat infeksi *Anisakis* sp. sebesar 4 individu *Anisakis* sp. pada organ lambung dan 7 individu *Anisakis* sp. pada organ usus dalam satu individu ikan kerapu lumpur (*Epinephelus sexfasciatus*). Saran untuk penelitian selanjutnya supaya melanjutkan perhitungan derajat infeksi untuk semua organ ikan kerapu lumpur (*Epinephelus sexfasciatus*) dan melakukan identifikasi tingkat molekuler sehingga dapat mengidentifikasi sampai spesies.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] L. Sitorus, *Prospek Pengembangan Usaha Budidaya Ikan Kerapu Lumpur Pada Keramba Jaring Apung Di PT Sembilan-sembilan Sibolga Sumatra Utara*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor, Bogor (2004).
- [2] Grabda, *Marine Fish Parasitology*. PWN – Polois hScientific Publisher, Warszawa (1991).
- [3] P.N. Acha and B. Szyfres, *Zoonosis and Communicable Diseases Common to Man and Animals*. Volume III : Parasitoses. 3rd Ed. Washington DC: Pan American Health Organization (2003).
- [4] A.P.D. Nurhayati, D. Hidayati dan Karimatul.” Identifikasi parasit pada insang dan usus halus ikan Kerapu (*Epinephelus sexfasciatus*) yang tertangkap di Perairan Glondong Gede”. Tugas Akhir. Jurusan Biologi Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya, (2010).
- [5] Anshary, H. *Modul Parasitologi Ikan*. Univesitas Hasanudin.
- [6] Rocka A. 2004. *Nematodes of the Antarctic Fishes*. Pol Polar Res 25:135-152 (2008).
- [7] A . Roepstorff, H. Karl, B. Bloemsmas, and HH Huss. “Catch Handling and the Possible Migration of *Anisakis* Larvae in Herring, *Clupea harengus*”. *J Food Prot*, 56, (1993) 783-787
- [8] M.A. Ira, *Infeksi Larva Anisakis Pada Ikan Tongkol (Euthynnus sp.) yang di Daratinkan di Tarakan*. Universitas Borneo, Tarakan, (2010).
- [9] Rueckert, S., W. Hagen, A. T. Yuniar, and H. W. Palm. “Metazoan Fish Parasites of Segara Anakan Lagoon, Indonesia, and their Potential Use as Biological Indicators”. *Reg. Environ Change* 9, (2009) 315-328.
- [10] R.I. Mulyana, Riadi, S.L. Angka, A. Rukyani, “Pemakaian Sistem Saringan untuk Mencegah Infeksi Parasit pada Benih Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.) di Kolam”, di *Prosiding Seminar II Penyakit Ikan dan Udang*. Balai Penelitian Perikanan Air Tawar, Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Bogor (1990).
- [11] William and Johns. *Parasitic Worm of Fish*. Tailor and Francis Publisher: Sidney, (1993).
- [12] G.M. Gidelli, A. Isaac, R.M. Takemoto, and G.C. Pavanelli, *Endoparasite Infracomunitates Of Hemisorubim platyrhincos (Valenciennes, 1980) Of The Baia River, Upper Parana River Floodplain, Brazil : Specific Composition And Ecological Aspects*, (2003).
- [13] Roberts. *Foundation Of Parasitology*. 6th edition, University Of Miami, McGraw Hill, (2000).
- [14] Desrina dan G. Kusumastuti, *Profil Cacing Pada Ikan Jeruk (Abbalistes stelatus) yang didaratkan di TPI Batang*. In Press, (1996).
- [15] L.O.A.R. Saputra, *Deteksi Morfologi Dan Molekuler parasit Anisakis spp Pada Ikan Tongkol (Auxis thazard)*. Skripsi. Jurusan Perikanan. Universitas Hasanuddin. Makassar, (2011).
- [16] C. Bryant dan B. Carolyn, *Biochemical Adaptation in Parasite*. Chapman and Hall: London (1989).
- [17] S. Lorenzo, “Usefulness of Currently Available Methods for The Diagnosis of *Anisakis simplex* allergy”. *Allergy* 55, (2000) 627-633.
- [18] Grabda, *Marine Fish Parasitology*. PWN – Polois hScientific Publisher, Warszawa (1991).
- [19] Mulyana, R.I. Riadi, S.L. Angka, dan A. Rukyani, *Pemakaian Sistem Saringan untuk Mencegah Infeksi Parasit pada Benih Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.) di Kolam*. Prosiding Seminar II Penyakit Ikan dan Udang. Balai Penelitian Perikanan Air Tawar, Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Bogor (1990).
- [20] E.H. Williams Jr dan L. Bunkley –Williams, *Parasites Of Offshore Big Game fishes in Puerto Rico and Western Atlantic*. Puerto Rico. Department of Natural and Environmental Resources and The University of Puerto Rico, (1996).
- [21] A.R. Hariyadi, *Pemetaan Infestasi Cacing Parasitik dan Resiko Zoonosis pada Ikan Laut di Perairan Indonesia Bagian Selatan*. Tesis. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, Bogor (2006).
- [22] O.A.M. Maghrabi, Sh.S. Jamal-Lail and W.Y. Gharabawi, “Biological Studies on some Helminthic Parasites Infecting Certain *Epinephelus* spp. in The Red Sea”, *Jeddah Coast. J. App. Sci.*, Vol.2, No. 1, (2010) 52-60.
- [23] P.C. Heemstra, and J.E. Randall, *FAO Species Catalogue*. Vol. 16. *Groupers of the world (family Serranidae, subfamily Epinephelinae)*. An annotated and illustrated catalogue of the grouper, rockcod, hind, coral grouper and lyretail species known to date. Rome: FAO. FAO Fish. Synop. Vol. 125 No. 16 (1993) 382.
- [24] L.O. Baladin, “Studi ketahanan hidup larva anisakidae dengan Suhu pembekuan dan pengaraman pada ikan Kembung (*Rastrelliger* spp.)”. *Thesis*. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor (2007).
- [25] L. Iglesias, A. Valero, and F. J. Adroher. “Some factors which influence the in Vitro maintenance of *Anisakis simplex* (Nematoda)”. *Folia Parasitologica* 44, 1997, 291-30.
- [26] P.N. Acha and B. Szyfres, *Zoonosis and Communicable Diseases Common to Man and Animals*. Volume III : Parasitoses. 3rd Ed. Washington DC: Pan American Health Organization (2003).
- [27] I. Miyazaki, *An Illustrated Book of Helminthic Zoonosis*. Tokyo International Medical Foundation of Japan, (1991).
- [28] P.N. Acha and B. Szyfres, *Zoonosis and Communicable Diseases Common to Man and Animals*. Volume III : Parasitoses. 3rd Ed. Washington DC: Pan American Health Organization, (2003).
- [29] J.D. Ortega and C. M. Cocera, *Guidelines in pathology induced by Anisakis*. *Alergol Immunol Clin*, 15 (2000) 267-272.