

## পিপিআর ভাইরাসের বিরুদ্ধে এন্টিবডি নির্ণয়ে C-EISA পদ্ধতি ভূমিকা

পিপিআর ছাগল ও ভেড়ার একটি ভাইরাসজনিত মারাত্মক সংক্রমকব্যাধি। ছাগলের এই রোগে আক্রান্তের হার প্রায় ৪০-১০০ ভাগ এবং মৃত্যুর হার ৪৫-৯০ ভাগ। পিপিআর রোগ প্রতিরোধের একমাত্র উপায় হলো টিকা প্রদান। পিপিআর রোগের টিকা বাংলাদেশ পশুসম্পদ গবেষণা ইনসিটিউট কর্তৃক উন্নীত হয়ে বর্তমানে মাঠ-পর্যায়ে ব্যাপক হারে ব্যবহৃত হচ্ছে। কিন্তু অনেক সময় খামারিদের কাছ হতে অভিযোগ আসে যে টিকা প্রদানের পরও ছাগলের পিপিআর রোগ প্রতিরোধ ঠিকমত হচ্ছে না। যার মানে হচ্ছে পিপিআর টিকা প্রদানের পরও ছাগলের রোগ প্রতিরোধ ক্ষমতা বা এন্টিবডি তৈরি হচ্ছে না, হলেও কতটুকু তৈরি হচ্ছে সেটার ওপর নির্ভর করছে ছাগলের পিপিআর রোগ প্রতিরোধ ক্ষমতা আছে কি নেই। ছাগলের দেহে পিপিআর রোগ প্রতিরোধ ক্ষমতা বা অ্যান্টিবডি পরিমাপ করার জন্য বিএলআরআই কর্তৃক উন্নীত করা হয়েছে C-EISA (Competitive Enzyme Immuno Slide Assay) পদ্ধতি। এই পদ্ধতিতে পিপিআর ভ্যাকসিনের কার্যকারিতা পরীক্ষণ ছাড়াও ছাগলের পিপিআর রোগ হয়ে যাওয়ার পর যে সব ছাগল জীবিত থাকে তাদের দেহে কি পরিমাণ অ্যান্টিবডি তৈরি হয়েছে সেটাও জানা যাবে।

তাছাড়া পিপিআর টিকাকৃত ছাগী হতে জন্ম নেয়া বাচ্চা কি পরিমাণ মেটারনাল অ্যান্টিবডি (মা হতে প্রাপ্ত রোগ প্রতিরোধ ক্ষমতা) প্রাপ্ত হয়েছে সেটাও এই পদ্ধতির মাধ্যমে বের করা সম্ভব। মেটারনাল অ্যান্টিবডি নির্ণয় করা গেলে কতদিন বয়সে বাচ্চাকে টিকা দিতে হবে সেটা খুব সহজেই জানা যাবে। এই পদ্ধতির মাধ্যমে টিকাকৃত অথবা পিপিআর রোগ হতে সেরে ওঠা ছাগলের দেহে কি পরিমাণ অ্যান্টিবডি আছে সেটা জেনে সেই ছাগল হতে সিরাম সংগ্রহ করে পিপিআর আক্রান্ত ছাগলে রোগের প্রাথমিক পর্যায়ে প্রয়োগ করতে পারলে ভালো ফলাফল পাওয়া যায় বা রোগক্রান্ত ছাগলে দ্রুত সুস্থ হয়ে উঠে।

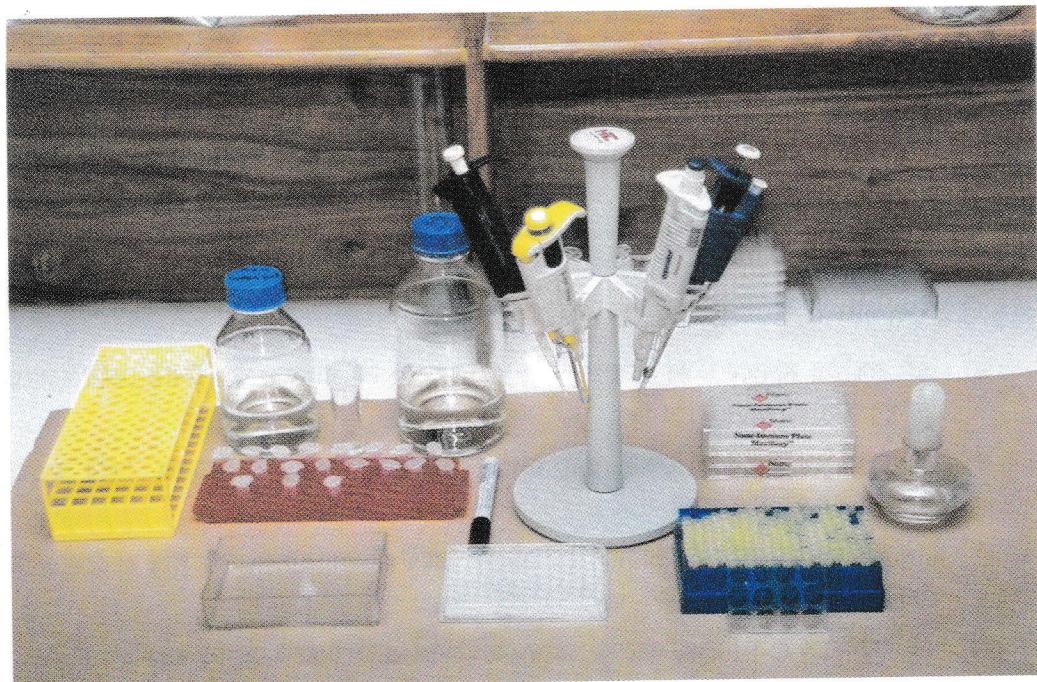
### প্রযুক্তির বৈশিষ্ট্য

- ✿ এই পদ্ধতির মাধ্যমে টিকা প্রয়োগকৃত ছাগলের দেহে কি পরিমাণ অ্যান্টিবডি তৈরি হয়েছে তা খুব সহজেই জানা যাবে।
- ✿ পিপিআর রোগ থেকে সেরে ওঠা ছাগলের পিপিআর রোগের বিরুদ্ধে তৈরি হওয়া অ্যান্টিবডির পরিমাণ জানা যাবে।
- ✿ ছাগলের বাচ্চার দেহে কী পরিমাণ মেটারনাল অ্যান্টিবডি মা ছাগল হতে প্রাপ্ত হয়েছে সেটা বের করা যাবে।
- ✿ এই পদ্ধতিতে C-ELISA পদ্ধতির চেয়ে কেমিক্যাল ও রিয়েজেন্ট অর্ধেক খরচ হয়।
- ✿ এই পদ্ধতিতে স্বল্প সময়ে অ্যান্টিবডির পরিমাণ বের করা যায়।



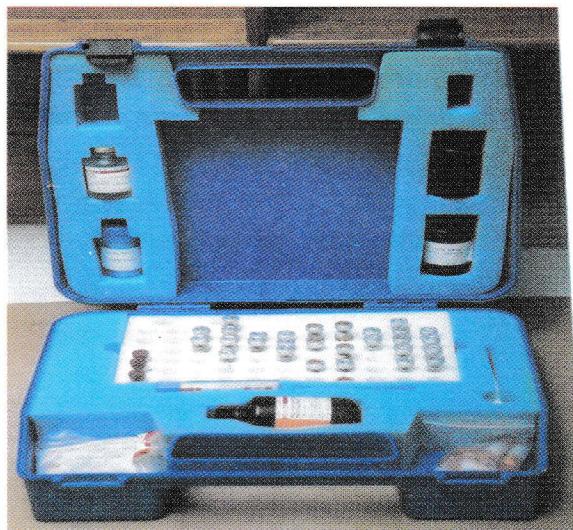
## প্রয়োজনীয় কেমিক্যাল এবং রিয়েজেন্টস এবং যন্ত্রপাতি

- ✿ সিরাম
- ✿ পিপিআর অ্যান্টিজেন
- ✿ পিপিআর সুনির্দিষ্ট মনোক্লোনাল অ্যান্টিবডি
- ✿ কনজুগেট (অ্যান্টি-মাউস ইমিউনো-গুবিউলিন জি)
- ✿ সাবস্ট্রেইট (হাইড্রোজেন পারঅক্সাইড যুক্ত অর্থে ফিনাইলিন ডাইএমিন)
- ✿ বুকিং বাফার
- ✿ ওয়াশিং বাফার
- ✿ মাইক্রো-পিপেট
- ✿ ভি ডি আর এল স্লাইড
- ✿ ইলাইজা প্লেট
- ✿ ইলাইজা রিডার

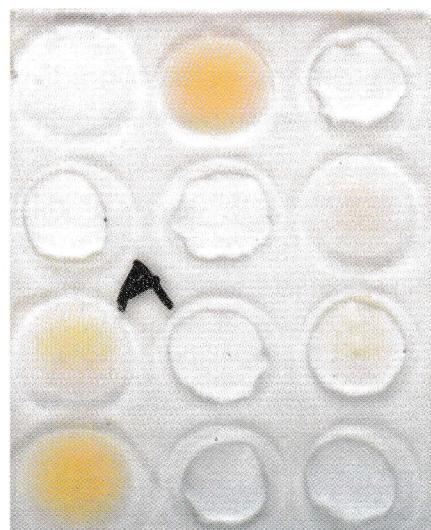


চিত্র ১৪: C-EISA পদ্ধতির জন্য প্রয়োজনীয় যন্ত্রপাতি





চিত্র ২৪ C-EISA পদ্ধতির জন্য প্রয়োজনীয় ক্যামিক্যালস ও রিয়েজেন্টস



চিত্র ৩৫ C-EISA পদ্ধতিতে প্রাপ্ত ফলাফল

## C-EISA পদ্ধতি

- ✿ ভি ডি আর এল স্লাইডের (১২টি গর্তযুক্ত কাঁচের স্লাইড) প্রত্যেকটি গর্তে পিপিআর অ্যান্টিজেনের প্রলেপ দিয়ে বরফ শীতল এসিটোনে ১৫ মিনিট রেখে দিতে হবে।
- ✿ এসিটোন হতে স্লাইডটি বের করে স্লাইডের প্রথম কলামের ১নং, ২নং, ৩নং এবং ৪ং গর্তে যথাক্রমে ব্লকিং বাফার, স্ট্রং পজিটিভ পিপিআর অ্যান্টিবডি, উইক পজিটিভ পিপিআর অ্যান্টিবডি এবং পিপিআর সুনির্দিষ্ট মনোক্লোনাল অ্যান্টিবডি দিতে হবে। দ্বিতীয় কলামের প্রথম গর্তে পিপিআর নেগেটিভ অ্যান্টিবডি দেয়ার পর দ্বিতীয় ও তৃতীয় কলামের বাকি গর্তে পরীক্ষণ সিরাম দিতে হবে। অতঃপর প্রথম কলামের ১নং গর্ত বাদে বাকি সবগুলো গর্তে পিপিআর সুনির্দিষ্ট মনোক্লোনাল অ্যান্টিবডি দিয়ে ৩৭° সে. তাপমাত্রায় ইনকিউবেটরে ১ ঘন্টা রেখে দিতে হবে।
- ✿ ইনকিউবেটরে হতে বের করার পর অ্যান্টি-মাউস ইমিউনো-গুরিউলিন জি প্রত্যেক গর্তে যুক্ত করে আবার ১ ঘন্টা ইনকিবেটরে রেখে দিতে হবে।
- ✿ পুনরায় ইনকিউবেটরে হতে বের করার পর হাইড্রোজেন পারঅক্সাইড যুক্ত অর্থো ফিনাইলিন ডাইএমিন (OPD) যুক্ত করে ১৫ মিনিট অপেক্ষা করার পর বিক্রিয়ার সোনালী হলুদ বর্ণের ঘণত্ব অনুসারে অ্যান্টিবডির পরিমাণ সম্পর্কে ধারণা করা যেতে পারে। সুনির্দিষ্টভাবে অ্যান্টিবডির পরিমাণ জানার জন্য ইলাইজা রিডার -এ ৪৯২ nm ফিল্টারের মাধ্যমে রিডিং নিতে হবে এবং প্রাপ্ত OD (Optical density) value হতে অ্যান্টিবডির পরিমাণ বের করতে হবে।



## C-EISA পদ্ধতি ব্যবহারের সুবিধা

যেহেতু C-EISA পদ্ধতির মাধ্যমে টিকা প্রদানের আগে ও পরে, পিপিআর আক্রান্ত ছাগল সুস্থ হওয়ার পর এবং ছাগলের বাচার মেটারনাল অ্যান্টিবিডি নির্ণয় করা যায়, সেহেতু ছাগলের দেহে প্রাণ্ত অ্যান্টিবিডির পরিমাণ হতে ছাগলের টিকা প্রদান সম্পর্কে ধারণা করা সম্ভব। সুতরাং C-EISA পদ্ধতি প্রয়োগে একদিকে সুস্থ ছাগলের দেহে অ্যান্টিবিডির পরিমাণ ও টিকা প্রদান সম্পর্কে ধারণা করা যাবে, অন্যদিকে পিপিআর আক্রান্ত ছাগলকে সুস্থ ছাগল থেকে পিপিআর অ্যান্টিবিডি সম্মত সিরাম প্রদান করে ছাগলের জীবন রক্ষা করা সম্ভব হবে।

প্রযুক্তির উত্তাবক : ডা. মোঃ রফিকুল ইসলাম, ড. এম, জে, এফ, এ, তৈমুর,  
ডা. মোঃ গিয়াসউদ্দিন ও ড. মোঃ এরসাদুজ্জামান

