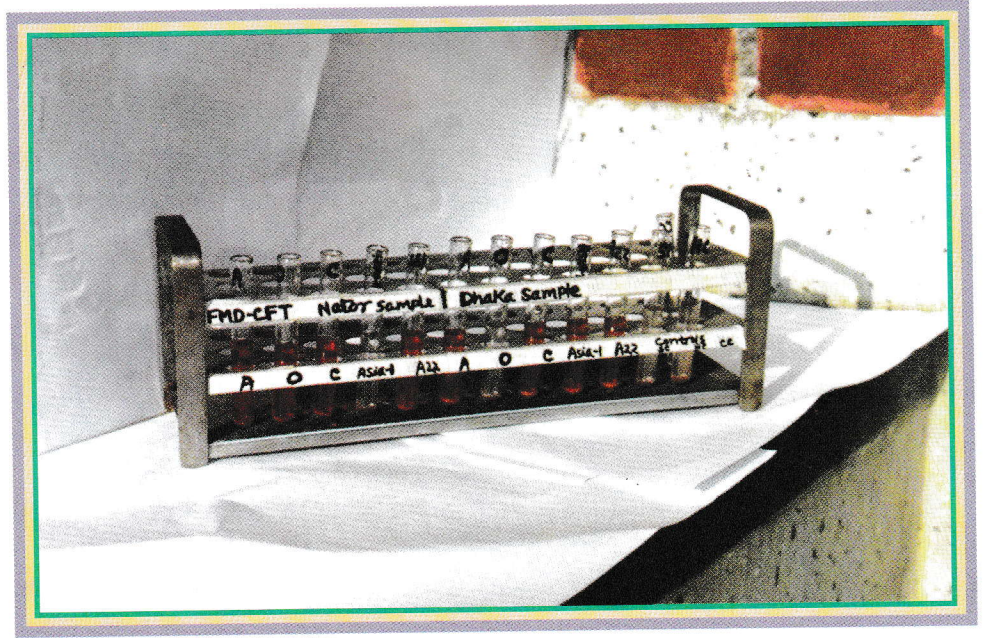


# কমপ্লিমেন্ট ফিক্সেশন পরীক্ষার জন্য মূল্য-সাশ্রয়ী হিমোলাইসিন

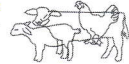
## ভূমিকা

কমপ্লিমেন্ট ফিক্সেশন পরীক্ষা বিভিন্ন রোগ নির্ণয়ের জন্য ব্যবহৃত হয়। বাংলাদেশে ক্ষুরারোগ ভাইরাস শনাক্ত করণ এবং ভাইরাস টাইপ নির্ণয়ের জন্য এ পরীক্ষা পদ্ধতি ব্যবহৃত হয়। এ পরীক্ষা পদ্ধতি যে কোনো সাধারণ গবেষণাগারে কার্যকরীভাবে স্বল্প খরচে ব্যবহার করা যায়। এ পরীক্ষার একটি গুরুত্বপূর্ণ অংশ হচ্ছে হিমোলাইসিন যা বিএলআরআইতে উদ্ভাবন করা হয়েছে এবং এ হিমোলাইসিন বর্তমানে বিএলআরআইতে তৈরি করা হচ্ছে। হিমোলাইসিন স্থানীয়ভাবে তৈরি হওয়ায় কমপ্লিমেন্ট ফিক্সেশন পরীক্ষা পশুসম্পদ অধিদপ্তরের এলআরআই (মহাখালি), সিডিআইএল, এফডিআইএল এবং জেলা পশু হাসপাতালসমূহে চালু করা সহজ হবে। ফলে, কোনো এলাকায় ক্ষুরারোগ দেখা দেয়ার সাথে সাথে স্থানীয়ভাবে ভাইরাস শনাক্ত করে এবং তার টাইপ নির্ণয় করে রোগ দমনের জন্য দ্রুত কার্যকর ব্যবস্থা গ্রহণ করা সহজ হবে।



## প্রযুক্তির বৈশিষ্ট্য

- হিমোলাইসিন একটি রোগ নির্ণায়ক রি-এজেন্ট যা কমপ্লিমেন্ট ফিক্সেশন পরীক্ষায় ব্যবহৃত হিমোলাইটিক সিস্টেম এর একটি গুরুত্বপূর্ণ অংশ। হিমোলাইসিনকে Anti-sheep RBC বা Amboceptor বলা হয়।
- পূর্বে হিমোলাইসিন শত শত বৈদেশিক মুদ্রা ব্যয় করে বিদেশ থেকে আমদানি করা হতো এবং এজন্য কয়েক মাস সময় লাগত।
- হিমোলাইসিন স্থানীয়ভাবে তৈরি করে কমপ্লিমেন্ট ফিক্সেশন পরীক্ষাকে মূল্য সাশ্রয়ী এবং সহজতর করা হয়েছে।



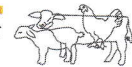
(ঘ) বিদেশ থেকে আমদানীকৃত এবং দেশে প্রস্তুত হিমোলাইসিন সমান ভাবে কার্যকরী।

### হিমোলাইসিন তৈরির নির্দেশিকা

একটি জীবাণুমুক্ত কনিক্যাল ফাস্কে কিছু জীবাণুমুক্ত গ্লাস বিড নিয়ে ভেড়া থেকে রক্ত সংগ্রহ করে ঐ ফাস্কে নিতে হবে এবং ফাস্কেটি ৫-১০ মিনিট অনবরত নাড়তে হবে যাতে রক্ত জমাট না বাঁধে। তারপর উক্ত রক্ত একটি সেন্ট্রিফিউজ টিউবে নিয়ে ২০০০ আরপি এম-এ ৫মিঃ সেন্ট্রিফিউজ করে টিউবের নীচের অংশে তলানীপড়া লাল রং এর RBC-গুলো ছাড়া টিউবের উপরি ভাগের প্লাজমা এবং সাদা বাফি কোট অংশ পাসচার পিপেটের মাধ্যমে সংগ্রহ করে ফেলে দিতে হবে। এর পর তলানীপড়া RBC এর সাথে জীবাণুমুক্ত সাধারণ স্যালাইন যোগ করে টিউবের মুখ ভালভাবে বন্ধ করে টিউবটি উপর নিচ করে RBC গুলো স্যালাইনে রিসাসপেন্ড করতে হবে। টিউবটি পুনরায় সেন্ট্রিফিউজ করে আগের মত তলানীপড়া RBC বাদে উপরি ভাগের স্যালাইন ফেলে দিতে হবে। এভাবে যতক্ষণ পর্যন্ত RBC-এর উপরি ভাগের স্যালাইন স্বচ্ছ না হয়, ততক্ষণ পর্যন্ত RBC-কে স্যালাইন দ্বারা ধৌত করতে হবে। ধৌত করার পর তলায় জমে থাকা RBC-এর সাথে সমপরিমাণ স্যালাইন যোগ করে RBC সাসপেনশন তৈরি করতে হবে। এর পর সেখান থেকে RBC নিয়ে স্যালাইনে ৪% RBC সাসপেনশন তৈরি করতে হবে। এই সাসপেনশন তিনটি রোগমুক্ত সুস্থ্য খরগোসের প্রতিটিতে দুইদিন পরপর ৭ টি ইনজেকশনের মাধ্যমে কানের শিরায় প্রয়োগ করতে হবে। প্রতিটি ইনজেকশনে ৪% RBC-এর পরিমাণ হলো যথাক্রমে ১মটি ০.২ মি.লি., ২য়টি ০.৩ মি.লি., ৩য়টি ০.৫ মি.লি., ৪র্থটি ০.৭ মি.লি., ৫মটি ০.৯ মি.লি., ৬ষ্ঠ এবং ৭মটি ১ মি.লি. করে। শেষ ইনজেকশন প্রদানের ৭দিন পর খরগোস ৩টি জীবাণুমুক্ত পরিবেশে জবাই করে প্রতিটি খরগোসের রক্ত আলাদা ভাবে পরিস্কার জীবাণুমুক্ত বিকারে সংগ্রহ করতে হবে। বিকার ৩টি এলুমিনিয়াম ফয়েল দিয়ে ঢেকে প্রথমে ২-৩ ঘন্টা স্বাভাবিক তাপমাত্রায় রাখতে হবে। তারপর ৪° সেঃ তাপমাত্রায় ১-২ ঘন্টা রেখে বিকার ৩টি থেকে সিরাম সংগ্রহ করে একটি জীবাণুমুক্ত বোতলে একত্রিত করে রাখতে হবে। এই সিরাম ৫৬° সেঃ তাপমাত্রায় ৩০ মিঃ ওয়াটার বাথে রেখে এর মধ্যে থাকা কমপ্লিমেন্ট নষ্ট করতে হবে। এই কমপ্লিমেন্ট বিহীন সিরাম পরবর্তিতে হিমোলাইসিন হিসেবে ব্যবহৃত হবে। কমপ্লিমেন্টফিক্সেশন পরীক্ষায় ব্যবহারের পূর্বে হিমোলাইসিন টাইট্রেশন করে এর শক্তি জেনে নিতে হবে। হিমোলাইসিন টাইট্রেশনের জন্য কমপ্লিমেন্ট ও ভেড়ার ধৌতকৃত RBC (৪%) দরকার হবে। টাইট্রেশনের পূর্বে ৩টি রোগমুক্ত সুস্থ্য পুরুষ গিনিপিগ (৫০০-৭০০ গ্রাম ওজনের) থেকে পূর্বোল্লিখিত নিয়মে সিরাম সংগ্রহ করে ৩ মিঃ লিঃ গ্লাসভায়ালে ১ মিঃলিঃ করে ভাগ করে -২০° সেঃ-এ সংরক্ষণ করতে হবে। এই সিরামই কমপ্লিমেন্ট হিসেবে ব্যবহৃত হবে।

হিমোলাইসিন টাইট্রেশনের জন্য বিভিন্ন ডাইলুশনের রি-এজেন্ট নিম্ন লিখিত ভাবে তৈরি করতে হবে

- ✿ ১ঃ ১০০ ডাইলুশন হিমোলাইসিন : ৯.৯ মি.লি. স্যালাইন + ০.১ মি.লি. হিমোলাইসিন।
- ✿ ১ঃ ১৫০ ডাইলুশন হিমোলাইসিন : ২.৫ মি.লি. স্যালাইন + ৫ মি.লি. ১ঃ ১০০ ডাইলুশন হিমোলাইসিন।
- ✿ ১ঃ ২৫ ডাইলুশন কমপ্লিমেন্ট : ১৪.৪ মি.লি. স্যালাইন + ০.৬ মি.লি. কমপ্লিমেন্ট।
- ✿ ৪% RBC : ১৪.৪ মি.লি. স্যালাইন + ০.৬ মি.লি. ধৌত RBC।



উপরোক্ত বিভিন্ন ডাইলুশনের রি-এজেন্টগুলো তৈরির পর ১৭টি ৩ মি. লি. টিউব র্যাকে নিয়ে সেগুলোর শনাক্তকরণ নম্বর (১-১৭) বসাতে হবে। এর পর, ৩নং হতে ১৪নং পর্যন্ত এবং ১৭নং টিউবসমূহে ০.৫ মিঃলিঃ করে সাধারণ স্যালাইন নিতে হবে। টিউব নং ১৫ এবং ১৬-তে ১ মি. লি. করে স্যালাইন নিতে হবে। টিউব নং ১-এ ১ঃ১০০ ডাইলুশনের ১ মি. লি. হিমোলাইসিন এবং টিউব নং ২-এ ১ঃ১৫০ ডাইলুশনের ১ মি. লি. হিমোলাইসিন নিতে হবে। টিউব নং ১ থেকে ০.৫ মিঃ লিঃ টিউব নং ৩-এ স্থানান্তর করে ভালভাবে মিশাতে হবে এবং সেখান থেকে ০.৫ মি. লি. টিউব নং ৫-এ স্থানান্তর করে মেশাতে হবে। এভাবে টিউব নং ১৩ পর্যন্ত বেজোড় সংখ্যার টিউবগুলোতে হিমোলাইসিন ডাইলুশন করতে হবে এবং ১৩ নং টিউবের মিশ্রণ থেকে ০.৫ মি. লি. ফেলে দিতে হবে। একই প্রক্রিয়ায় টিউব নং ২ হতে ১৪ পর্যন্ত হিমোলাইসিন ডাইলুশন করতে হবে। এই প্রক্রিয়ায় ১ নং হতে ১৪ নং টিউব পর্যন্ত হিমোলাইসিনের ডাইলুশন হবে যথাক্রমে ১ঃ১০০, ১ঃ১৫০, ১ঃ২০০, ১ঃ৩০০, ১ঃ৪০০, ১ঃ৬০০, ১ঃ৮০০, ১ঃ১২০০, ১ঃ১৬০০, ১ঃ২৪০০, ১ঃ৩২০০, ১ঃ৪৮০০, ১ঃ৬৪০০ এবং ১ঃ৯৬০০। টিউব নং ১৬-তে এক ড্রপ মূল হিমোলাইসিন যোগ করতে হবে। টিউব নং ১৫ এবং ১৬ ছাড়া সবগুলোতে ০.৫ মি. লি. কমপ্লিমেন্ট (১ঃ২৫) যোগ করতে হবে। শেষে প্রতিটি টিউবে ০.৫ মি. লি. ৪% RBC যোগ করতে হবে। টিউব নং ১৫, ১৬ এবং ১৭ কে যথাক্রমে স্যালাইন কন্ট্রোল, হিমোলাইসিন কন্ট্রোল এবং কমপ্লিমেন্ট কন্ট্রোল হিসেবে গণ্য করতে হবে। এরপর র্যাকসহ টিউবগুলো ৩৭° সেঃ তাপমাত্রায় ৩০ মি. রেখে টাইট্রেশন ফলাফল রেকর্ড করতে হবে। এ ক্ষেত্রে পরীক্ষা সঠিক ইলেকট্রোল টিউবসমূহে হিমোলাইসিন হবে না। পূর্ণ হিমোলাইসিন হয়েছে এ ধরনের সর্বোচ্চ ডাইলুশনের রিসিপ্রক্যালই হবে হিমোলাইসিনের টিটার। ফলাফলে যদি দেখা যায় ১২ নং টিউব পর্যন্ত পূর্ণ হিমোলাইসিন হয়েছে এবং ১৩ ও ১৪ নং টিউবসমূহে RBC তলানি হিসাবে রয়েছে সেক্ষেত্রে, ১২ নং টিউবের ডাইলুশন ১ঃ৪৮০০ হিসেবে হিমোলাইসিনের টিটার হবে ৪৮০০।

#### হিমোলাইসিন সংরক্ষণ

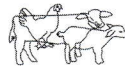
হিমোলাইসিন টাইট্রেশনের পর ৩ মি. লি. গ্লাস ভায়ালে ১ মি. লি. করে ভাগ করে ব্যবহারের পূর্ব পর্যন্ত -২০° সেঃ তাপমাত্রায় সংরক্ষণ করতে হবে।

#### হিমোলাইসিন ব্যবহার পদ্ধতি

কমপ্লিমেন্ট ফিক্সেশন পরীক্ষায় টিটার-এর ৪ গুণ ক্ষমতা সম্পন্ন হিমোলাইসিন ব্যবহার করতে হবে। অর্থাৎ টিটার ৪৮০০ হলে ১ঃ১২০০ ডাইলুশনের হিমোলাইসিন ব্যবহৃত হবে। হিমোলাইসিন (১ঃ১২০০ ডাইলুশন) সমপরিমাণ ৪% RBC এর সঙ্গে যোগ করে কমপ্লিমেন্ট ফিক্সেশন পরীক্ষায় হিমোলাইটিক সিস্টেম তৈরির জন্য ব্যবহৃত হবে।

#### আয়-ব্যয় (প্রযুক্তি ব্যবহারের লাভ ক্ষতি)

- ✿ এই পরীক্ষায় সাধারণ ভাবে ব্যয়ঃআয় = ১ঃ৫, অর্থাৎ ১ টাকা খরচ করে ৫ টাকা আয় হতে পারে। এছাড়াও নিম্ন লিখিত উপায়ে পরোক্ষভাবে (Indirect) লাভ হতে পারে।



- ✿ এই হিমোলাইসিন মূল্য সাশ্রয়ী ও সহজলভ্য।
- ✿ কমপ্লিমেন্ট ফিফোশন পরীক্ষা সহজ হবে এবং সহজেই ক্ষুরারোগ ভাইরাস শনাক্তকরণ ও টাইপিং করা সম্ভব হবে, যা ক্ষুরারোগ দমনে কার্যকর ভূমিকা পালন করবে।
- ✿ অন্যান্য রোগজীবাণুর শনাক্তকরণেও কমপ্লিমেন্ট ফিফোশন পরীক্ষা সহজে ব্যবহার করা যাবে।
- ✿ কমপ্লিমেন্ট ফিফোশন পরীক্ষার জন্য হিমোলাইসিন বিদেশ থেকে আমদানি করার প্রয়োজন হবে না বলে বৈদেশিক মুদ্রার সাশ্রয় হবে।

#### ব্যবহার সম্ভাবনা (কোন ঋতুতে কোন অঞ্চলে ব্যবহারযোগ্য)

এই প্রযুক্তি সারা বছরই ব্যবহার করা যায়। যেসব অঞ্চলে এ প্রযুক্তির ব্যবহার হতে পারে সেগুলো হলোঃ ভেটেরিনারি এবং মেডিক্যাল গবেষণা এবং শিক্ষা প্রতিষ্ঠানসমূহ; পশুসম্পদ গবেষণা প্রতিষ্ঠান, মহাখালি, ঢাকা; কেন্দ্রীয় এবং আঞ্চলিক পশুরোগ অনুসন্ধান গবেষণাগারসমূহ; কেন্দ্রীয় এবং জেলা ভেটেরিনারি এবং মেডিক্যাল হাসপাতালসমূহ; সারাদেশে বিভিন্ন রোগ নির্ণয় কেন্দ্রসমূহ।

#### প্রযুক্তি ব্যবহারে সতর্কতা/ বিশেষ পরামর্শ

হিমোলাইসিন উৎপাদন করার সময় লক্ষ্য রাখতে হবে যে, ব্যবহৃত খরগোশগুলো অবশ্যই যেন স্বাস্থ্যবান হয়।

প্রযুক্তির উদ্ভাবকঃ ড. শাহ মোঃ জিকরুল হক চৌধুরী,  
ড. মোঃ এরসাদুজ্জামান ও ড. কাজী মোঃ কমর উদ্দিন

