



এভিয়ান ইনফ্লুয়েঞ্জা রোগের (H5N1)
এইচআই (HI) পরীক্ষার জন্য
এইচএ (HA) এন্টিজেন



বাংলাদেশ প্রাণিসম্পদ গবেষণা ইনস্টিটিউট

সাভার, ঢাকা-১৩৪১

ভূমিকা :

এভিয়ান ইনফুয়েঞ্জা মুরগি তথা পাখি জাতীয় প্রাণীর ভাইরাসজনিত একটি মারাত্মক সংক্রামক রোগ। এ রোগের ভাইরাসের বিস্তৃতি বিশ্বব্যাপি। পোল্ট্রি শিল্পের জন্য এ রোগ হুমকিস্বরূপ। সকল বয়সের ও সকল জাতের মুরগি এ রোগের ভাইরাস দ্বারা আক্রান্ত হতে পারে। এ রোগে বাড়ন্ত মুরগিতে মৃত্যুর হার বয়স্ক মুরগির তুলনায় বেশী। ব্যাপকভাবে এভিয়ান ইনফুয়েঞ্জা রোগের সংক্রমণ হয়েছে এমন দেশগুলি এভিয়ান ইনফুয়েঞ্জা রোগ নিয়ন্ত্রণে ভ্যাকসিন দিয়ে আসছে। দেশে এভিয়ান ইনফুয়েঞ্জা নিয়ন্ত্রণে ভ্যাকসিন ছাড়া অন্যান্য পদ্ধতিগুলি প্রয়োগ করে তেমন সাফল্য পাওয়া যায় নাই। এরই প্রেক্ষিতে এ রোগ নিয়ন্ত্রণে সরকার ভ্যাকসিনকে সহযোগী হিসাবে প্রয়োগের সিদ্ধান্ত গ্রহণ করেছে।

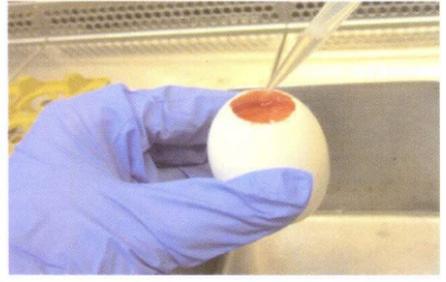
দেশের বিজ্ঞানীরা মনে করেন, সঠিকভাবে ভ্যাকসিন প্রয়োগ করা হলে খামারীরা উপকৃত হবে এবং এ রোগ প্রত্যাশিত পর্যায়ে নিয়ন্ত্রণে থাকবে। একই সাথে এ শিল্পে নতুন বিনিয়োগ হবে। বাংলাদেশ সরকার বিগত বৎসরগুলির অভিজ্ঞতা এবং এ শিল্পের সাথে সংশ্লিষ্টদের পরামর্শে গত ২০১২ সাল হতে প্রথমে দেশের দুইটি জেলায় পরীক্ষামূলকভাবে এ রোগের ভ্যাকসিন দেওয়া শুরু করে। উক্ত জেলাগুলিতে ভ্যাকসিন প্রদানের পর রোগটি নিয়ন্ত্রণে আশাব্যঞ্জক ফল পাওয়ায় পরবর্তীতে তা সারা দেশের জন্য উন্মুক্ত করে দেয়া হয়। কিন্তু খামারে ভ্যাকসিন দেয়ার পর তার কার্যকারিতা যাচাই করার জন্য মানসম্পন্ন এন্টিজেন সহজলভ্য না হওয়ায় ভ্যাকসিন পরবর্তী পর্যবেক্ষণ এবং ভ্যাকসিন এর কার্যকারিতা যাচাই করা সম্ভব হচ্ছিল না। বিষয়টি বিবেচনা করে এভিয়ান ইনফুয়েঞ্জা রোগের এইচ আই পরীক্ষার জন্য এন্টিজেন উদ্ভাবন এর গবেষণা কার্যক্রম শুরু করা হয়।

উদ্দেশ্য :

- ক) দেশে বিরাজমান (Circulating) এভিয়ান ইনফুয়েঞ্জা ভাইরাস থেকে তৈরীকৃত এন্টিজেনের মাধ্যমে এভিয়ান ইনফুয়েঞ্জা ভ্যাকসিনকৃত মুরগির এন্টিবডি যাচাই।
- খ) সহজ ও স্বল্পমূল্যে এভিয়ান ইনফুয়েঞ্জা এন্টিজেন তৈরী করা।

বৈশিষ্ট্য :

- ক) এভিয়ান ইনফুয়েঞ্জা ভাইরাসের নমুনা থেকে RT-PCR করে H₅N₁ ভাইরাস সনাক্ত এবং Sequence করে নিশ্চিত করা হয়।
- খ) এন্টিবডি মুক্ত মুরগির (SPF) দ্রুপে H₅N₁ ভাইরাস কালচার করে এ এন্টিজেন প্রস্তুত করা হয়।
- গ) কালচারকৃত মুরগির দ্রুপের এলানটয়িক ফুইড পুনরায় RT-PCR করে H₅N₁ ভাইরাস এর উপস্থিতি নিশ্চিত করা হয়।
- ঘ) কালচারকৃত H₅N₁ ভাইরাস ফরমালিন দিয়ে নিষ্ক্রিয় করা হয়।
- ঙ) প্রস্তুতকৃত এন্টিজেনে H₅N₁ ভাইরাসের মাত্রা 4HA ইউনিট ২৫৬ রাখা হয়।



ভাইরাসের স্ট্রেইন নির্বাচন :

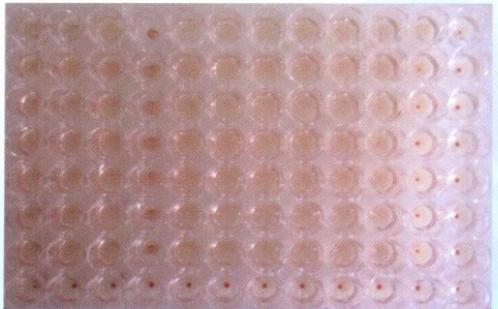
রেফারেন্স এন্টিজেন উৎপাদনের জন্য বাংলাদেশে বিগত ২০১৫ সাল থেকে বিভিন্ন সময়ে বিরাজমান এভিয়ান ইনফ্লুয়েঞ্জা ভাইরাসের স্ট্রেইন A/H5N1 থেকে প্রজাতি (species) এবং বিরাজমান সময়ের উপর ভিত্তি করে পাঁচটি আইসোলেট নির্বাচন করা হয়।

A/H5N1/2015/NRL-AI/205; A/H5N1/2015/NRL-AI/305; A/H5N1/2016/NRL-AI/253; A/H5N1/2016/NRL-AI/700; A/H5N1/2017/NRL-AI/603

নির্বাচিত এভিয়ান ইনফ্লুয়েঞ্জা ভাইরাস আইসোলেট গুলির চারিত্রিক গুণাবলী (characterization) হিমাগ্লোটিনিন (HA) এবং নিউরামিনিডেজ (NA) জিনের রিয়েল টাইম RT-PCR করে নির্ধারণ করা হয়। পরবর্তীতে হিমাগ্লোটিনিন জিনের সিকুয়েন্স ডাটা বিশ্লেষণের মাধ্যমে নির্বাচিত পাঁচটি A/H5N1 ভাইরাস আইসোলেটের মধ্যে যা ২.৩.২.১(এ) সাব ক্লেড ভুক্ত এবং বাংলাদেশে বিরাজমান অন্যান্য ভাইরাসের সাথে শতভাগ আইডেনটিক্যাল (A/H5N1/2017/NRL-AI/603) সেই আইসোলেটটি রেফারেন্স এন্টিজেন উৎপাদনের জন্য চূড়ান্তভাবে নির্বাচন করা হয়। ভাইরাস আইসোলেটটিতে অন্যান্য ইনফ্লুয়েঞ্জা ভাইরাস টাইপ 'এ' বা অপরাপর হিমাগ্লোটিনিন ভাইরাস যেমন ইনফেকসাস ব্রুকাইটিস (আই.বি.ভি), ইনফেকসাস লেরিস্পেট্রোকাইটিস (আই.এল.টি) এবং রাণীক্ষিত ভাইরাস (এন.ডি.ভি) মুক্ত কিনা তা রিয়েলটাইম RT-PCR পদ্ধতিতে পরীক্ষা করা হয়।

ভাইরাস কালচার :

চূড়ান্তভাবে নির্বাচিত A/H5N1/2017/NRL-AI/603 ভাইরাস আইসোলেটটি ৯-১০ দিন বয়সী ডিমের ভ্রুণে কালচার করা হয়। প্রতিটি ডিম থেকে এলানটয়িক ফুইড সংগ্রহের সময় ১ ড্রপ বা ৪০ মাইক্রো লিটার একটি গ্লাস স্লাইডে নিয়ে তার সাথে সমপরিমাণ ৩% মুরগির লোহিত কণিকা (Chicken RBC) মিশানো হয়। ইনফ্লুয়েঞ্জা ভাইরাস থাকলে এলানটয়িক ফুইড RBC কে এগুটিনেইট করবে। প্রকারান্তরে



ভাইরাস না থাকলে এবং কন্ট্রোল গ্রুপের এলানটয়িক ফুইডে কোন প্রকার এগুটিনেশন দেখা যাবে না। অতঃপর, পজেটিভ এলানটয়িক ফুইডে এভিয়ান ইনফ্লুয়েঞ্জা ভাইরাসের মাত্রা নির্ণয় করার জন্য হিমাগুটিনেশন (এইচ.এ) পরীক্ষা করা হয়। উচ্চ মাত্রা (এইচ.এ ইউনিট ২৫৬ বা তদুর্ধ্ব) টাইটার সম্বলিত এলানটয়িক ফুইড -৮০° সে. তাপমাত্রায় সংরক্ষণ করা হয়। এন্টিজেনের বিশুদ্ধতা নির্ণয়ের জন্য অন্যান্য এভিয়ান ইনফ্লুয়েঞ্জা ভাইরাস A/H7N9 ও A/H9N2 রিয়েলটাইম RT-PCR এর মাধ্যমে পরীক্ষা করা হয়। এরপর, অপরাপর হিমাগুটিনেটিং ভাইরাস যথা আই.এল.টি, আই.বি.ভি এবং এন.ডি ভাইরাসের উপস্থিতি ও রিয়েলটাইম RT-PCR এর মাধ্যমে নিশ্চিত করা হয়। পরিশুদ্ধ এন্টিজেন এর সাথে ১ঃ১৬০০ ডাইলুশন হিসাবে ফরমালিন বা BEI যোগ করে ভালোভাবে মিশাতে হবে। ১০ মিনিট আল্ট্রা-সেন্ট্রিফিউজ করে সুপারনেটেড সংগ্রহ করে হিমাগুটিনেশনের (এইচএ) মাধ্যমে এন্টিজেনের ক্ষমতা নির্ণয় করা হয়। এন্টিজেনের ভাইরাস যথাযথ ভাবে নিষ্ক্রিয় হয়েছে কিনা তা পুনঃপুন (তিনবার) এম্বায়োনেটেড এগ এ ইনোকুলেশনের মাধ্যমে নিশ্চিত করা হয়।

উৎপাদিত এন্টিজেন ব্যাকটেরিয়া মুক্ত নিশ্চিতকরণ

- উৎপাদিত এন্টিজেনের বাহ্যিক বৈশিষ্ট্য যথা অস্বচ্ছতা (Turbidity) পরীক্ষার মাধ্যমে ব্যাকটেরিয়াল সংক্রমণ (contamination) নির্ধারণ করা হয়।
- নন-সিলেকটিভ ব্যাকটেরিয়াল মিডিয়ায় (যথা-নিউট্রিয়েন্ট আগার) এক লোপ পরিমাণ এন্টিজেন নিয়ে স্প্রেড করে ৩৭° সেঃ তাপমাত্রায় ২৪ ঘন্টা ব্যাকটেরিওলজিক্যাল ইনকিউবেটরে ইনকিউবেট করা হয়। অনুজীবের কলোনি (colony) পরীক্ষণের মাধ্যমে এন্টিজেনে ব্যাকটেরিয়ার উপস্থিতি পর্যবেক্ষণ করা হয়।
- কোন এন্টিজেনে ব্যাকটেরিয়ার উপস্থিতি পাওয়া গেলে তা বাতিল করা হয়। কেবলমাত্র বিশুদ্ধ এন্টিজেনই এইচ আই পরীক্ষার জন্য প্রস্তুত রাখা হয়।

উপযোগিতা

উদ্ভাবিত HA এন্টিজেন HI পরীক্ষার জন্য অত্যন্ত উপযোগী। যে কোন গবেষণাগারে এবং মাঠ পর্যায়ে ব্যবহারের জন্য নিরাপদ।

গবেষণা ও প্রযুক্তি উদ্ভাবক :

- * ড. মোঃ গিয়াসউদ্দিন, প্রধান বৈজ্ঞানিক কর্মকর্তা ও বিভাগীয় প্রধান, প্রাণিস্বাস্থ্য গবেষণা বিভাগ এবং পরিচালক, এন.আর.এল-এ.আই
- * ড. মুহাম্মদ আব্দুস সামাদ, উর্দ্ধতন বৈজ্ঞানিক কর্মকর্তা, প্রাণিস্বাস্থ্য গবেষণা বিভাগ
- * ডাঃ মোঃ রেজাউল করিম, বৈজ্ঞানিক কর্মকর্তা, প্রাণিস্বাস্থ্য গবেষণা বিভাগ
- * ডাঃ মোঃ জুলফিকার আলী, বৈজ্ঞানিক কর্মকর্তা, প্রাণিস্বাস্থ্য গবেষণা বিভাগ

গবেষণা সমন্বয়কারী

ড. নাথুরাম সরকার, মহাপরিচালক, বাংলাদেশ প্রাণিসম্পদ গবেষণা ইনস্টিটিউট, সাভার, ঢাকা।



বাংলাদেশ প্রাণিসম্পদ গবেষণা ইনস্টিটিউট

সাভার, ঢাকা-১৩৪১, ফোন: ৭৭৯১৬৭০-২, ফ্যাক্স: ৮৮০-২-৭৭৯১৬৭৫

ই-মেইল: infoblri@gmail.com, web: www.blri.gov.bd