

## **LATERAL FLOW IMMUNO ASSAY DEVELOPMENT AS ISOTERMAL AMPLIFICATION DETECTION FOR SEROTYPE DENV-3 AND DENV-4 DENGUE VIRUS**

Dhian Prastowo  
14/371107/PMU/08210

### **ABSTRACT**

*Dengue virus is the cause of the disease Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) which is transmitted by the intermeditory vector Aedes spp. Dengue hemorrhagic fever disease to be one of the main problem in Indonesia. In Indonesia found the fourth serotype but more often found serotype DENV-3. Early detection, rapid and accurate for the disease is expected to reduce the fatality rate caused. Dengue virus RNA detection is done with the Nucleic Acid Sequence-Based Amplification (NASBA) isothermally at a temperature of 41° C so as to eliminate the use Polymerase Chain Reaction (PCR) machine. NASBA amplicon detection results performed by Lateral Flow Immunoassay (LFIA) simple and faster.*

*This study was conducted to prove the adequacy of the design of primer NASBA and design of probes LFIA to specific detect dengue virus serotype DENV-3 and DENV-4. The study begins dengue virus RNA isolation from cell culture C6 / 36. To design new primers for NASBA and new probes for LFIA to detect dengue virus DENV-3 and DENV-4. RT-PCR reactions performed to test the ability of primer can run on NASBA reaction for DENV-3 and DENV-4. NASBA reactions performed on dengue virus serotype DENV-3 and DENV-4 were isolated from cell culture C6 / 36. Sensitivity test NASBA reaction is then performed by dilution storied RNA Dengue virus serotype DENV-3 and DENV-4. Specificity test using the RNA Chikungunya (CHIKV), Japanese Encephalitis (JEV) and Zika (ZIKV) virus. NASBA reaction product is then visualized on agarose gel electrophoresis and LFIA.*

*NASBA with the new primer design that have been developed can be used for the specific and sensitif detection results of isothermal amplification for Dengue virus serotype DENV-3 and DENV-4, indicated by the appearance of the product band on the size of 196 bp (DENV-3) and 144 bp (DENV-4) on agarose gel electrophoresis visualization. LFIA method to new design probes can be used for the detection results of isothermal amplification Dengue virus serotype DENV-3 and DENV-4 with the of positive line in the test line and control line on LFIA. NASBA and LFIA method for detection of dengue virus isothermal amplification product has a sensitivity to a concentration of 1 pg / ml, lower than RT-PCR (0.1 pg / ml). LFIA methods specific to Dengue virus serotype DENV-3 and DENV-4 and not on the Chikungunya, Japanese Encephalitis and Zika virus.*

**Keywords:** *Dengue virus DENV-3 and DENV-4, Isothermal Amplification, LFIA*

## **PENGEMBANGAN *LATERAL FLOW IMMUNO ASSAY* SEBAGAI ALAT DETEKSI AMPLIFIKASI ISOTERMAL VIRUS DENGUE SEROTIPE DENV-3 DAN DENV-4**

Dhian Prastowo  
14/371107/PMU/08210

### **INTISARI**

Virus Dengue merupakan penyebab penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) yang ditularkan oleh perantara vektor *Aedes* spp. Di Indonesia ditemukan empat jenis serotipe tetapi yang lebih sering ditemukan adalah serotipe DENV-3. Deteksi dini, cepat dan akurat terhadap virus dengue serotipe DENV-3 dan DENV-4 diharapkan mampu mengurangi tingkat kefatalan yang ditimbulkan. Deteksi RNA virus dengue dilakukan dengan reaksi *Nucleic Acid Sequence-Based Amplification* (NASBA) secara isothermal pada suhu 41°C sehingga mengurangi penggunaan alat *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang mahal. Deteksi amplicon hasil NASBA dilakukan dengan *Lateral Flow Immunoassay* (LFIA) yang lebih sederhana dan cepat.

Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan kemampuan spesifisitas dan sensitivitas rancangan primer NASBA dan rancangan *probe* LFIA yang baru untuk mendeteksi virus dengue serotipe DENV-3 dan DENV-4. Penelitian diawali isolasi RNA virus dengue dari kultur sel C6/36. Dilakukan perancangan primer untuk NASBA deteksi virus dengue serotipe DENV-3 dan DENV-4. Uji reaksi RT-PCR dilakukan untuk menguji kemampuan primer dapat berjalan secara spesifik dan sensitif untuk virus dengue DENV-3 dan DENV-4 pada reaksi NASBA. Selanjutnya reaksi NASBA dilakukan pada virus dengue serotipe DENV-3 dan DENV-4 yang diisolasi dari kultur sel C6/36. Uji sensitivitas reaksi NASBA dilakukan dengan pengenceran bertingkat RNA virus dengue serotipe DENV-3 dan DENV-4. Uji spesifisitas menggunakan RNA virus Chikungunya (CHIKV), Japanese Encephalitis (JE) dan Zika (ZIKV). Produk reaksi NASBA tersebut kemudian dilihat pada elektroforesis gel agarose dan LFIA.

Metode NASBA dengan rancangan primer yang baru dapat digunakan untuk deteksi hasil amplifikasi isothermal secara spesifik dan sensitif virus dengue serotipe DENV-3 dan DENV-4, ditunjukkan dengan munculnya pita produk pada ukuran 196 bp (DENV-3) dan 144 bp (DENV-4) pada visualisasi elektroforesis gel agarose. Metode LFIA dengan rancangan *probe* yang baru dapat digunakan untuk deteksi hasil amplifikasi isothermal virus Dengue serotipe DENV-3 dan DENV-4 dengan munculnya garis positif pada garis uji dan kontrol pada LFIA. Metode NASBA dan LFIA untuk deteksi hasil amplifikasi isothermal virus dengue memiliki sensitivitas hingga konsentrasi 1 pg/ $\mu$ l, lebih rendah daripada RT-PCR (0,1 pg/  $\mu$ l). Metode LFIA spesifik pada virus dengue serotipe DENV-3 dan DENV-4 dan tidak pada virus Chikungunya, Japanese Encephalitis dan Zika.

*Kata kunci: Virus Dengue DENV-3 dan DENV-4, Amplifikasi Isothermal, LFIA*