

RIDASCREEN[®] HSV 1 IgG, IgM

Art. No.: K5121 (IgG)
K5131 (IgM)



R-Biopharm AG, An der neuen Bergstraße 17, D-64297 Darmstadt, Germany
Tel.: +49 (0) 61 51 81 02-0 / Telefax: +49 (0) 61 51 81 02-20



1. Anwendungsbereich

Für die *in vitro* Diagnostik. Die RIDASCREEN® HSV 1 Tests sind Enzymimmunoassays zum quantitativen Nachweis von IgG- oder IgM-Antikörpern gegen das Herpes-simplex-Virus Typ 1 (HSV 1) in humanem Serum.

Die Tests sollten bei begründetem Verdacht auf eine Infektion mit HSV 1 oder zur Abklärung des Immunstatus durchgeführt werden.

2. Zusammenfassung und Erklärung des Tests

Aufgrund der Reaktion des Immunsystems kommt es nach einer Infektion mit HSV zur Bildung von spezifischen Antikörpern gegen den Erreger. Diese können im Serum mit Hilfe von immunologischen Verfahren nachgewiesen werden. Für die Aussagekraft eines Tests ist dabei neben der Auswahl des verwendeten, Erreger-spezifischen Antigens auch die verwendete Testmethode von Bedeutung.

3. Testprinzip

Gereinigte Antigene sind an eine Mikrotiterplatte gebunden. In Patientenproben vorhandene Antikörper binden an die Antigene und werden in einem zweiten Schritt mit Enzym-markierten Anti-human-Antikörpern (Konjugat) nachgewiesen. Durch das Enzym wird ein farbloses Substrat (H_2O_2/TMB) zu einem blauen Endprodukt umgesetzt. Die enzymatische Reaktion wird durch Zugabe von Schwefelsäure beendet. Dabei erfolgt gleichzeitig ein Farbumschlag von blau nach gelb. Die abschließende Messung erfolgt in einem Photometer bei 450 nm (Referenzwellenlänge ≥ 620 nm).

4. Packungsinhalt

Tab. 1: Packungsinhalt (Die Reagenzien einer Packung reichen für 96 Bestimmungen)

			K 5121 IgG	K 5131 IgM
Plate	96 Best.	Mikrotiterplatte; 12 Mikrotiterstreifen (teilbar) im Halterahmen; beschichtet mit rekombinantem Glykoprotein-G1 (gG1) von HSV 1	X	
Plate	96 Best.	Mikrotiterplatte; 12 Mikrotiterstreifen (teilbar) im Halterahmen; beschichtet mit Vollantigen von HSV 1		X
SeroPP	110 ml	Probenpuffer, gebrauchsfertig; Phosphat-gepufferte NaCl-Lsg., gelb gefärbt	X	X
SeroWP	100 ml	Waschpuffer, 10fach konzentriert; Tris-gepufferte NaCl-Lsg.	X	X
Control IgG + <i>grüner Deckel</i>	2,5 ml	Standardkontrolle IgG, gebrauchsfertig; verdünntes Humanserum, grün gefärbt	X	
Control IgM + <i>roter Deckel</i>	2,5 ml	Standardkontrolle IgM, gebrauchsfertig; verdünntes Humanserum, rot gefärbt		X
Control IgG - <i>farbloser Deckel</i>	1,2 ml	Negativkontrolle IgG, gebrauchsfertig; verdünntes Humanserum	X	
Control IgM - <i>farbloser Deckel</i>	1,2 ml	Negativkontrolle IgM, gebrauchsfertig; verdünntes Humanserum		X
Control IgG A <i>grüner Deckel</i>	1,2 ml	Qualitätskontrolle A IgG, gebrauchsfertig; verdünntes Humanserum	X	
Control IgG B <i>grüner Deckel</i>	1,2 ml	Qualitätskontrolle B IgG, gebrauchsfertig; verdünntes Humanserum	X	
Control IgM A <i>roter Deckel</i>	1,2 ml	Qualitätskontrolle A IgM, gebrauchsfertig; verdünntes Humanserum		X
Control IgM B <i>roter Deckel</i>	1,2 ml	Qualitätskontrolle B IgM, gebrauchsfertig; verdünntes Humanserum		X
SeroG LD <i>grüner Deckel</i>	12 ml	Anti-human-IgG-Konjugat LD (Ziege), gebrauchsfertig; Peroxidase-konjug. Antikörper in stabil. Proteinlösung	X	
SeroM LD <i>roter Deckel</i>	12 ml	Anti-human-IgM-Konjugat LD (Ziege), gebrauchsfertig; Peroxidase-konjug. Antikörper in stabil. Proteinlösung		X
SeroSC	12 ml	Substrat H ₂ O ₂ /Tetramethylbenzidin; gebrauchsfertig	X	X
Stop	12 ml	Stopp-Reagenz 1 N Schwefelsäure; gebrauchsfertig	X	X

Gefahrstoffangabe gemäß Kennzeichnungspflicht. Weitere Details siehe Material Safety Data Sheets (MSDS) auf www.r-biopharm.com.

5. Reagenzien und ihre Lagerung

Das Testkit ist bei einer Lagerung von 2 – 8 °C bis zu dem auf dem Etikett aufgedruckten Verfallsdatum verwendbar. Der verdünnte Waschpuffer ist bei einer Lagerung von 2 – 8 °C vier Wochen, bei einer Lagerung bei Raumtemperatur (20 – 25 °C) eine Woche haltbar. Nach Erreichen des Verfallsdatums kann keine Qualitätsgarantie mehr übernommen werden.

Der Alu-Beutel, in dem sich die Mikrotiterplatte befindet, ist so zu öffnen, dass der Klippverschluss nicht abgetrennt wird. Nicht benötigte Mikrotiterstreifen sind sofort im verschlossenen Alu-Beutel bei 2 – 8 °C zu lagern.

Eine Kontamination der Reagenzien ist ebenso zu vermeiden wie eine direkte Lichteinwirkung auf das farblose Substrat.

6. Zusätzlich benötigte Reagenzien – erforderliches Zubehör

6.1. Reagenzien

- destilliertes oder deionisiertes Wasser

6.2. Zubehör

- Brutschrank bei 37 °C
- Probenröhrchen
- Vortex Mixer
- Mikropipetten für 10 – 100 µl und 100 – 1000 µl Volumina
- Messzylinder (1000 ml)
- Stoppuhr
- Waschgerät für Mikrotiterplatten oder Mehrkanalpipette
- Photometer für Mikrotiterplatten (450 nm, Referenzfilter ≥ 620 nm)
- Filterpapier (Labortücher)
- Abfallbehälter mit einer 0,5 %igen Natriumhypochloritlösung

7. Vorsichtsmaßnahmen

Nur für die *in vitro* Diagnostik.

Dieser Test ist nur von geschultem Laborpersonal durchzuführen. Die Richtlinien zur Arbeit in medizinischen Laboratorien sind zu beachten. Die Gebrauchsanweisung zur Durchführung des Tests ist strikt einzuhalten. Proben oder Reagenzien nicht mit dem Mund pipettieren. Kontakt mit verletzter Haut oder Schleimhäuten vermeiden. Während des Umgangs mit Reagenzien und Proben persönliche Schutzausrüstung (geeignetes Handschuhmaterial, Kittel, Schutzbrille) tragen und nach Abschluss des Tests die Hände waschen. In Bereichen, in denen mit Proben gearbeitet wird, nicht rauchen, essen oder trinken.

Weitere Details, siehe Material Safety Data Sheets (MSDS) www.r-biopharm.com.

Die im Kit befindlichen Kontrollseren (Standardkontrolle, Negativkontrolle, Qualitätskontrolle A und Qualitätskontrolle B) wurden auf HIV- und HCV-Ak sowie HbsAg untersucht und für negativ befunden. Dennoch sollten sie, ebenso wie die Patientenproben und alle Materialien, die mit ihnen in Berührung kommen, als potentiell infektiös behandelt und entsprechend den jeweiligen nationalen Sicherheitsbestimmungen gehandhabt werden.

Alle Reagenzien und Materialien müssen nach Gebrauch sachgerecht und eigenverantwortlich entsorgt werden. Bitte beachten sie bei der Entsorgung die jeweils national geltenden Vorschriften!

8. Sammlung und Lagerung der Proben

Der Test ist für die Untersuchung humaner Serumproben entwickelt worden. Nach der Blutentnahme sollte zur Vermeidung einer Hämolyse das Serum möglichst schnell vom Blutkuchen getrennt werden. Die Proben sind bis zur Testung kühl oder gefroren zu lagern. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen von Proben ist unbedingt zu vermeiden, ebenso mikrobielle Kontamination. Die Verwendung von Hitze inaktivierten, lipämischen, hämolytischen, ikterischen oder trüben Proben kann zu verfälschten Ergebnissen führen.

Tab. 2: Probenlagerung

unverdünntes Serum		verdünntes Serum
2 – 8 °C	-20 °C	2 – 8 °C
1 Woche	> 1 Woche	7 Stunden

9. Testdurchführung

9.1. Allgemeines

Vor Verwendung sind alle Reagenzien und die Mikrotiterstreifen auf Raumtemperatur (20 – 25 °C) zu bringen. Die Mikrotiterstreifen sind erst nach Erreichen der Raumtemperatur dem Alu-Beutel zu entnehmen. Die Reagenzien sind unmittelbar vor der Verwendung gut zu mischen. Nach dem Gebrauch ist das Kit sofort wieder bei 2 – 8 °C zu lagern.

Es sollte nur soviel Reagenz entnommen werden, wie für die Durchführung des Tests benötigt wird. Überschüssiges Reagenz darf nicht in die Gefäße zurückgegeben werden, da dies zu einer Kontamination führen kann.

Die Mikrotiterstreifen können nicht mehrfach verwendet werden. Reagenzien und Mikrotiterstreifen dürfen nicht verwendet werden, wenn die Verpackung beschädigt ist oder die Gefäße undicht sind.

Einige der im Kit enthaltenen Reagenzien sind nicht testspezifisch. Diese mit Sero gekennzeichneten Reagenzien (z. B. **SeroPP**) können auch bei anderen RIDASCREEN® Sero ELISA mit entsprechenden Reagenzien verwendet werden.

Die Kontrollseren sind chargenspezifisch. Ein Austausch der Kontrollseren zwischen Kits verschiedener Chargennummern ist nicht zulässig.

Die RIDASCREEN® Sero ELISA Qualitätskontrollen A bzw. B werden als zusätzliche, spezifische Kontrollproben für den entsprechenden RIDASCREEN® Sero ELISA Testkit angeboten. Dabei handelt es sich um Kontrollproben zur zusätzlichen Qualitätssicherung, die optional eingesetzt werden können. Sie enthalten humanes Kontrollserum mit unterschiedlichen Antikörperkonzentrationen.

9.2. Herstellung des Waschpuffers

1 Teil des Waschpuffer-Konzentrates **SeroWP** wird mit 9 Teilen destillierten Wassers gemischt. Hierfür werden 100 ml des Konzentrates in einen 1000 ml Standzylinder gegeben und mit destilliertem Wasser auf 1000 ml aufgefüllt. Eventuell im Konzentrat vorhandene Kristalle sind vorher durch Erwärmen (Wasserbad bei 37 °C) zu lösen. Der verdünnte Waschpuffer ist bei einer Lagerung von 2 – 8 °C vier Wochen, bei einer Lagerung bei Raumtemperatur (20 – 25 °C) eine Woche haltbar.

9.3. Vorbereitung der Proben

Die zu untersuchenden Serumproben werden vor Testbeginn mit dem Probenpuffer **SeroPP** 1:100 verdünnt.

z. B. 10 µl Serum + 990 µl **SeroPP**

Für IgM-Bestimmungen wird empfohlen, Seren vor der Testung einer IgG-Absorption (z. B. mit dem RIDA® RF-Absorbens, Art. No. Z0202) zu unterziehen.

Achtung!

Negativkontrolle, Standardkontrolle, Qualitätskontrolle A und Qualitätskontrolle B sind gebrauchsfertig und dürfen nicht verdünnt oder absorbiert werden.

9.4. Erste Inkubation

Nach dem Einstecken einer ausreichenden Zahl von Kavitäten in den Halterahmen werden von den verdünnten Seren und gebrauchsfertigen Kontrollen jeweils 100 µl in die entsprechenden Vertiefungen pipettiert, die Position A1 (Reagenzienleerwert) bleibt frei. Die Negativkontrolle **Control IgG | -** bzw. **Control IgM | -** wird einfach und die Standardkontrolle **Control IgG | +** bzw. **Control IgM | +** doppelt mitgeführt. Die Qualitätskontrollen **Control IgG | A** und **Control IgG | B** bzw. die Qualitätskontrollen **Control IgM | A** und **Control IgM | B** werden einfach mitgeführt. Die Platte wird 30 Minuten bei 37 °C in einem Brutschrank inkubiert. Dabei sollte der Boden der Kavitäten keinen Kontakt zu gut wärmeleitenden Materialien haben. Die Mikrotiterplatte ist während der Inkubation abzudecken.

Die der Bestimmung (IgG bzw. IgM) entsprechenden Kontrollen sind zu verwenden.

A1	Reagenzienleerwert
B1	Negativkontrolle
C1	Standardkontrolle
D1	Standardkontrolle
E1	Qualitätskontrolle A
F1	Qualitätskontrolle B
G1,H1	Patientenserum 1,2 usw.

Achtung!

Die Mikrotiterplatte darf nicht in ein kühles Inkubationsbehältnis gestellt werden, das sich erst während der Inkubation auf 37 °C erwärmt. Das Behältnis muss schon vorab an 37 °C adaptiert sein.

9.5. Waschen

Die Kavitäten sollten in einen Abfallbehälter mit Hypochloritlösung zur Desinfektion entleert werden. Anschließend wird die Platte auf saugfähigem Papier ausgeklopft, um die Restfeuchtigkeit zu entfernen. Danach wird 4 mal mit jeweils 300 µl Waschpuffer gewaschen. Dabei ist nach jedem Waschgang für eine komplette Entleerung durch Ausklopfen auf einer unbenutzten Stelle des Papiers zu sorgen.

Bei Verwendung eines Waschautomaten ist auf die korrekte Einstellung des Gerätes auf den verwendeten Plattentyp zu achten. Nach dem Waschen sollte die Platte auf saugfähigem, sauberem Papier ausgeklopft werden, um die Restfeuchtigkeit zu entfernen.

9.6. Zweite Inkubation

Zugabe von 100 µl Anti-human-IgG-Konjugat LD **SeroG LD** bzw. Anti-human-IgM-Konjugat LD **SeroM LD** in die entsprechenden Vertiefungen (einschließlich A1). Anschließend wird die Platte für 30 Minuten bei 37 °C in einem Brutschrank inkubiert (siehe Pkt. 9.4.).

9.7. Waschen

4maliges Waschen gemäß Pkt. 9.5.

9.8. Dritte Inkubation

Zugabe von 100 µl Substrat **SeroSC** in alle Vertiefungen. Anschließend wird die Platte für 30 Minuten bei 37 °C in einem Brutschrank inkubiert. Danach wird durch Zugabe von 100 µl Stopplösung **Stop** in alle Vertiefungen die Reaktion gestoppt. Nach vorsichtigem Mischen (leichtes Tippen an den Plattenrand) wird die Extinktion in einem Plattenphotometer bei 450 nm gemessen (Referenzwellenlänge ≥ 620 nm). Der Abgleich des Nullwertes erfolgt gegen den Reagenzienleerwert (Position A1).

10. Qualitätskontrolle und Anzeichen für Reagenzienverfall

Für die Qualitätskontrolle sind bei jeder Testdurchführung Standardkontrolle (Doppelbestimmung) und Negativkontrolle mitzuführen. Der Test ist korrekt verlaufen, wenn der Extinktionsmittelwert der Standardkontrolle bei 450/620 nm in dem Wertebereich liegt, der auf dem beigefügten Datenblatt angegeben ist. Weichen die beiden Einzelmessungen um mehr als 20% vom Mittelwert ab, muss der Test wiederholt werden. Die Negativkontrolle muss bei 450/620 nm einen Extinktionswert $< 0,3$ aufweisen.

Die RIDASCREEN® Sero ELISA Qualitätskontrollen A bzw. B sind zusätzliche Kontrollproben zur Qualitätssicherung, die optional eingesetzt werden können. Die Zielbereiche sind dem beigefügten, chargen-spezifischen Qualitätszertifikat zu entnehmen. Die erzielten Werte (U/ml, IU/ml oder mIU/ml) dienen dem Anwender als Richtwerte für die laborinterne Qualitätssicherung.

Eine Abweichung von den geforderten Werten sowie eine Reagenzentrübung oder Blaufärbung des Substrates vor Zugabe in die Kavitäten können ein Hinweis auf einen Reagenzienverfall sein.

Sollten die vorgegebenen Werte nicht erfüllt sein, ist vor einer Testwiederholung folgendes zu überprüfen:

- Haltbarkeit der verwendeten Reagenzien

- Funktionsfähigkeit der eingesetzten Geräte (z. B. Kalibrierung)
- Korrekte Testdurchführung
- Visuelle Kontrolle der Kitkomponenten auf Kontamination oder Undichtigkeit; eine bläulich gefärbte Substratlösung darf nicht mehr verwendet werden

Sind nach Testwiederholung die Bedingungen wiederum nicht erfüllt, wenden Sie sich bitte an den Hersteller.

11. Auswertung und Interpretation

Die Auswertung des Tests kann auf drei unterschiedliche Arten durchgeführt werden:

1. über die beiliegende Standardkurve
2. über die Wertetabelle (siehe beiliegendes Datenblatt)
3. mathematisch nach der 4-Parameter-Methode oder der α -Methode

Von allen Extinktionswerten muss vor der Auswertung der Reagenzienleerwert abgezogen werden.

11.1. Auswertung über die Standardkurve

Um eine Auswertung mittels Standardkurve durchzuführen, muss zunächst über den Mittelwert der Standardkontrolle eine Korrektur der Tagesschwankung vorgenommen werden. Aus dem Sollwert der Standardkontrolle und dem aktuell gemessenen Wert der Kontrolle wird der Korrekturfaktor F berechnet. Der chargenabhängige Sollwert ist auf dem beiliegenden Datenblatt vermerkt.

$$F = \frac{\text{Sollwert der Standardkontrolle}}{\text{Extinktionsmittelwert der Standardkontrolle}}$$

Mit dem Faktor F werden alle OD-Werte der Proben multipliziert. Mit diesen korrigierten Werten wird dann der entsprechende U/ml-Wert in der Standardkurve abgelesen.

11.2. Auswertung über die Wertetabelle

	U/ml	Wertebereich der Standardkontrolle	
			0,85 - 0,91
-	< 16,0		< 0,26
?	16,0 - 20,0		0,26 - 0,30
+	20,1 - 50,0		0,31 - 0,54
	50,1 - 100,0		0,55 - 0,78
	100,1 - 200,0		0,79 - 1,04
	200,1 - 400,0		1,05 - 1,29
	400,1 - 1000,0		1,30 - 1,65
	> 1000,0		> 1,65

Abb. 1: Beispiel für eine IgG-Bestimmung
(Auszug aus einem chargenspezifischen Datenblatt)

Der Extinktionsmittelwert der Standardkontrolle bestimmt in der Wertetabelle die Spalte mit dem Wertebereich, der für die aktuelle Messung gültig ist. Innerhalb der Spalte wird der gemessene Extinktionswert der Probe dem passenden Extinktionsbereich zugeordnet und in der zweiten Spalte von links der entsprechende Titer in U/ml abgelesen.

Der Extinktionsmittelwert der Standardkontrolle beträgt bei einer Messung beispielsweise 0,86. In diesem Fall ist für die Ermittlung des Ergebnisses die Spalte mit dem Bereich 0,85 bis 0,91 aus der Tabelle entscheidend. Eine Patientenprobe mit einem Extinktionswert von 0,65 liegt dann in einem Titer-Bereich von 50,1 bis 100,0 Units/ml. (Die genannten Werte sind als Beispiel zu sehen und können von den aktuellen Werten des Datenblattes abweichen.)

Die Bewertung des ermittelten Ergebnisses - positiv (+), negativ (-) oder grenzwertig (?) - ist der ersten Spalte der Wertetabelle zu entnehmen.

11.3. Mathematische Auswertung

Die benötigten Werte für eine mathematische Auswertung nach der 4-Parameter-Auswertung oder der α -Methode sind auf dem beiliegenden Datenblatt vermerkt.

11.4. Testergebnis

Tab. 3: Bewertung der ermittelten Units

	IgG	IgM
negativ	< 16 U/ml	< 16 U/ml
grenzwertig	16 - 20 U/ml	16 - 20 U/ml
positiv	> 20 U/ml	> 20 U/ml

12. Grenzen der Methode

Der RIDASCREEN® HSV 1 ELISA weist IgG- bzw. IgM-Antikörper gegen HSV 1 nach. Ein Zusammenhang zwischen der Höhe des gemessenen Extinktionswertes und dem Auftreten oder der Schwere klinischer Symptome kann nicht abgeleitet werden. Die erzielten Ergebnisse sind immer in Verbindung mit dem klinischen Bild zu interpretieren.

Der IgG-Test enthält als Antigen das Glykoprotein G1 (gG1). Dieses ist hoch spezifisch für den Nachweis von IgG-Antikörpern gegen HSV 1. Die bekannten Kreuzreaktionen mit Antikörpern gegen HSV 2 bei der Verwendung von Vollantigen treten in diesem Test nicht auf. Nur so wird der eindeutige Nachweis einer bestehenden HSV 1-Infektion auf serologischer Basis möglich.

IgM-Antikörper sind zumeist gegen andere Antigene gerichtet als das Glykoprotein G1. Deshalb enthält der IgM-Test Vollantigen von HSV 1. Dieses besitzt zum Teil ähnliche Epitope wie HSV 2-Antigen. IgM-Antikörper gegen HSV 2 können somit im Test zu einem positiven Signal führen. Der Test ist jedoch so eingestellt, dass ein deutlich positiverer IgM-Befund im HSV 1-Test im Vergleich zum RIDASCREEN® HSV 2 ELISA als ein Hinweis auf eine HSV 1-Infektion gedeutet werden kann. Zur Verbesserung der Diagnostik wird deshalb empfohlen, parallel auf Antikörper gegen HSV 1 und HSV 2 zu untersuchen.

Ein positiver IgM-Befund ist nicht in allen Fällen beweisend für eine Primärinfektion. Bei Rezidiven kann es in Einzelfällen erneut zur Bildung von IgM-Antikörpern kommen.

Ein negatives Ergebnis schließt eine HSV-Infektion nicht aus. Zu einem frühen Zeitpunkt der Infektion kann die Antikörperbildung noch so gering sein, dass eine Untersuchung hierauf negativ ausfällt. Bei bestehendem klinischen Verdacht sollte in diesem Fall nach zwei bis vier Wochen ein Folgeserum untersucht werden.

Generell sollten bei serologischen Untersuchungen zur Verbesserung der diagnostischen Aussage immer zwei aufeinander folgende Seren eines Patienten untersucht werden. Wichtig für die Interpretation eines Befundes ist der Verlauf des Titers.

Ein positives Ergebnis schließt die Anwesenheit anderer infektiöser Erreger als Ursache für eine Erkrankung nicht aus.

13. Leistungsmerkmale

Tab. 4: Inter-Assay-Varianz (n=30)

<u>Inter-Assay-Varianz</u>	<u>IgG</u>		<u>IgM</u>	
	OD	VK	OD	VK
Serum 1	1,152	11,0 %	1,050	1,9 %
Serum 2	0,596	13,6 %	0,434	3,3 %
Serum 3	0,036	n/a	0,151	n/a

Tab. 5: Intra-Assay-Varianz (*n=23; n=24)

<u>Intra-Assay-Varianz</u>	<u>IgG*</u>		<u>IgM</u>	
	OD	VK	OD	VK
Serum 1	1,158	5,7 %	1,009	2,0 %
Serum 2	0,559	5,7 %	0,432	3,1 %
Serum 3	0,015	n/a	0,150	n/a

Tab. 6: Sensitivität und Spezifität im Vergleich zu zwei anderen, kommerziellen ELISA

	IgG	IgM
Sensitivität	97.7 %	96.8 %
Spezifität	100.0 %	97.2 %

Tab. 7: Ergebnisse mit 200 untersuchten Blutspendeseren aus einem Blutspendezentrum in Deutschland

200 Blutspendeseren	IgG	IgM
negativ	53,5%	93,5%
grenzwertig	0,5%	1,5%
positiv	46,0%	5,0%

Literatur

1. Hashido, M., Kawana, T.: Herpes simplex virus-specific IgM, IgA and IgG subclass antibody responses in primary and nonprimary genital herpes patients. *Microbiol. Immunol.* 41 (5): 415-420 (1997)
2. Juto, P., Settergren, B.: Specific serum IgA, IgG and IgM antibody determination by a modified indirect ELISA-technique in primary and recurrent herpes simplex virus infection. *J. Virol. Methods* 20 (1): 45-55 (1988)
3. Kunkel, M., Oberender, H.: Herpes simplex virus type 2 infection. Etiology, clinical aspects, diagnosis, therapy, HSV-2 and cervix cancer. *Zentralbl. Gynakol.* 107 (24): 1473-1478 (1985)
4. Morris, G.E., Coleman, R.M., Best, J.M., Benetato, B.B., Nahmias, A.J.: Persistence of serum IgA antibodies to herpes simplex, varicella-zoster, cytomegalovirus, and rubella virus detected by enzyme-linked immunosorbent assays. *J. Med. Virol.* 16 (4): 343-349 (1985)
5. Rabie-Finger, H., Valentine-Thon, E., Steinmann, J., Nehrkorn, A.: Serological responses to herpes simplex virus type 1 (HSV-1) analysed with enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and western blot (WB). *Acta Virol.* 35 (2): 113-126 (1991)
6. Webb, D.H., Fife, K.H.: Genital herpes simplex virus infections. *Infect. Dis. Clin. North Am.* 1 (1): 97-122 (1987)