

İNTRAVENÖZ İMMÜNOGLOBULİNLER VE HEPATİT C VİRUS BULAŞI: 5 YILLIK İZLEM

INTRAVENOUS IMMUNOGLOBULINS AND HEPATITIS C VIRUS
TRANSMISSION: A 5-YEARS FOLLOW-UP

Meral TÜRKER*, **Işın YAPRAK***, **Haldun ÖNİZ***, **Berna ATABAY***
Esra ARUN ÖZER*, **Can ÖZTÜRK***, **Hasan KILIÇ***
Gönül BAKIR**, **Hakan ABACIOĞLU*****

ÖZET: Hematolojik ve otoimmün hastalıkların tedavisinde kullanıma giren intravenöz immünoglobulinler (IVIG), çok sayıda vericiden elde edilen bir plazma ürünüdür. Son yıllarda geliştirilen etkin viral inaktivasyon yöntemlerine karşın, IVIG'in halen hepatit C virus (HCV) bulaş riski taşıdığı bilinmektedir. Bu çalışmada, hastanemiz Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Klinikleri Hematoloji Ünitesinde IVIG kullanma endikasyonu konulan, daha önce kan ve kan ürünü almamış, 1-18 yaş arasındaki (ortalama: 5.8 ± 3.6 yıl) 23 kız, 9 erkek olmak üzere toplam 32 olgu IVIG kullanımı sonrası HCV bulaşı yönünden araştırılmıştır. IVIG preparatı olarak, viral inaktivasyonun çözücü deterjan (S/D), pastörizasyon (P) ve pH4+pepsin (pH4-P) yöntemleriyle yapıldığı 3 ayrı ürün kullanılmıştır. Olgular IVIG öncesinde (0. gün) ve sonrasında 5 yıl süre ile (3, 9, 24 ve 60. aylarda) anti-HCV, HCV-RNA (18-24. ayda) ve karaciğer fonksiyon testleri (KCFT) yönünden izlenmişlerdir. Ayrıca, her olgu için kullanılan IVIG preparatlarından rastgele yöntemle seçilen birer üründe de (toplam 32 ürün) anti-HCV varlığı araştırılmıştır. IVIG öncesi, olguların %21.9'unda anti-HAV (anti-hepatit A virus) IgG ve %31.3'ünde anti-HBs (anti-hepatit B virus yüzey antijen) pozitif bulunurken, anti-HCV tümünde negatif olarak belirlenmiştir. IVIG sonrası izlemde, sadece bir hastanın üçüncü ay kontrolünde anti-HCV pozitif bulunmuş, ancak daha sonraki aylarda bu hastanın tüm örnekleri negatif olarak tesbit edilmiştir. Test edilen IVIG ürünlerinin %6.2'sinde (2/32) de anti-HCV pozitifliği saptanmış, ancak bu ürünlerin verilmiş olduğu hastaların 5 yıllık izlemi boyunca klinik, biyokimyasal ve serolojik belirleyiciler negatif seyretmiştir. Bu bulgularla, enzim immünoassay yöntemiyle saptanan anti-HCV pozitiflikleri "yalancı pozitiflik" olarak değerlendirilmiştir. Hiçbir örnek ve IVIG ürününde HCV-RNA pozitifliği saptanmamıştır. Sonuç olarak, kullanılan üç ayrı ticari IVIG preparatının güvenilir olduğu, ancak yine de kullanım endikasyonları ve olguların izleminde HCV bulaşı yönünden duyarlı olunması gerektiği kanısına varılmıştır.

* SSK Tepecik Eğitim Hastanesi Çocuk Klinikleri, İzmir.

** SSK Tepecik Eğitim Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji, İzmir.

*** Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir.

Anahtar kelimeler: *İntravenöz immünoglobulin, hepatit C virusu, viral inaktivasyon yöntemleri.*

SUMMARY: Intravenous immunoglobulin (IVIG) products which are derived from plasma of various donors, have been widely used in patients with hematologic and autoimmune diseases. Despite the recently developed effective viral inactivation methods, IVIG preparations may still have a risk for hepatitis C virus (HCV) transmission. In this study, a total of 32 patients (23 female, 9 male) ages between 1-18 years old (mean age: 5.8 ± 3.6 years) who had an indication for IVIG administration and never been transfused by blood or any blood derivatives in Pediatrics Clinics Haematology Unit of our hospital, were investigated in terms of HCV transfection after IVIG use. Three IVIG products prepared by different viral inactivation techniques including solvent detergent (S/D), pasteurization (P) and pH4+pepsin (pH4-P) methods, were included to the study. The cases were followed up during five years (at the beginning and 3rd, 9th, 24th and 60th months after IVIG administration) for the presence of anti-HCV antibodies, HCV-RNA and alanine aminotransferase (ALT) levels. Additionally, anti-HCV was searched in an IVIG sample which was randomly selected from the products used for each one of the patients. Before the IVIG therapy, all the patients were found to be anti-HCV negative, 21.9% were positive for hepatitis A virus (HAV) IgG and 31.3% were positive for anti-HBs (antibodies to surface antigen of hepatitis B virus). In the follow-up period after the first IVIG administration, anti-HCV was found to be positive in only one sample of a patient collected at the third month, and 2 of 32 (6.2%) IVIG samples. The clinical, biochemical and serological markers were found to be negative in terms of HCV transmission in these two cases as well as all the other cases, in the 5 years follow-up period. So these findings supported that anti-HCV positivities detected by enzyme immunoassay method, were "false positivities". No HCV-RNA positivities were detected by reverse transcriptase-polymerase chain reaction in none of the patients' sera and IVIG products. In conclusion, the IVIG products prepared by three different inactivation methods were thought to be safe by means of HCV transmission, however, they should be used carefully and the patients should be followed-up periodically.

Key words: Intravenous immunoglobulin, hepatitis C virus, viral inactivation methods.

GİRİŞ

Hematolojik ve otoimmün hastalıkların tedavisinde artan oranlarda kullanıma giren intravenöz immünoglobulinler (IVIG), çok sayıda vericiden elde edilen pahalı bir plazma ürünüdür¹. Kan vericilerinin 1980'li yılların ortalarından itibaren hepatit B (HBV) ve insan immünyetmezlik virusu (HIV), 1990'lı yılların başından itibaren de hepatit C virusu (HCV) yönünden taramaya başlaması, kan ve kan ürünleri yoluyla bu etkenlerin bulaşını önemli düzeyde azaltmıştır. Ancak IVIG uygulanan olgularda, hepatit C enfeksiyonlarının bildirilmesi HCV bulaşının önemini koruduğunu göstermektedir²⁻⁵.

Intravenöz immünoglobulinler, "Cohn fraksınasyonu" adı verilen soğuk etanol ayırıştırma tekniğinin ikinci aşamasında elde edilmekte ve bu sırada viral inaktivasyon da gerçekleşmektedir^{1,6}. Ancak lipit çeperli virusların inaktivasyonunun oldukça güç olduğu bilinmektedir. Dolayısıyla, bu yöntemle hazırlanan IVIG'lerin kullanıldığı hastalarda HCV enfeksiyonlarının rapor edilmekte olması, çeşitli ek viral inaktivasyon (pastörizasyon, çözücü/deterjan, pH4, pH4+pepsin, %33 sorbitol muamelesi, vb.) yöntemlerinin kullanıma girmesine ve birbirlerine üstünlüklerinin araştırılmasına neden olmuştur^{4,5,7,8}. Kan ve kan ürünleri ile tedavi gereken hastalarda, kullanılacak olan ürünün elde edildiği vericilerin güvenilir yöntemlerle taranmış olması ve viral inaktivasyonun güvenilir bir yöntemle yapılmış olması büyük önem taşımaktadır⁹.

Bu çalışmada, virus inaktivasyonunun farklı yöntemlerle yapıldığı üç ayrı IVIG preparatını kullanan olguların klinik, serolojik ve biyokimyasal bulguları beş yıl süreyle takip edilmiş ve IVIG ürünleriyle oluşması muhtemel HCV bulaşı yönünden araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya, Sosyal Sigortalar Kurumu (SSK) Tepecik Eğitim Hastanesi Çocuk Klinikleri Hematoloji Ünitesine Ocak 1993-Mart 1996 yılları arasında başvuran ve IVIG kullanma endikasyonu konulan, daha önce kan ve plazma ürünü uygulanmamış toplam 32 olgu dahil edildi. Olgularda, çözücü/deterjan (Solvent Detergent, S/D; Isiven, Interko), pastörizasyon (P; Nordimmun, Onko) ve pH4+pepsin (pH4-P; Sandoglobulin, Sandoz) viral inaktivasyon yöntemleri ile hazırlanan 3 ayrı IVIG preparatı kullanıldı.

Hastalarda IVIG tedavisine başlamadan önce (0.gün) ve 3, 9, 24 ve 60. aylarda, hepatit A (anti-HAV IgG), hepatit B (anti-HBs) ve hepatit C (anti-HCV) virus belirleyicileri mikro enzim immünoassay (ELISA) metoduyla ticari kitler kullanılarak (Organon Teknika) üretici firmanın önerilerine göre araştırıldı. Anti-HCV için 2. kuşak ELISA testi olan Organon Ubi HCV EIA kiti kullanıldı. Hastaların ALT (alanin aminotransferaz) değerleri de aynı sürelerde (0.gün ve 3, 9, 24, 60. ay) çalışıldı.

Olguların serum örneklerinde HCV-RNA ise, IVIG verildikten sonraki 18. ve 24. aylarda reverse transkriptaz-polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) yöntemi ile araştırıldı. Bu amaçla, -20°C'de dondurularak saklanan serumlardan RNA ekstraksiyonu modifiye acid guanidium thiocyanate-phenol-chloroform metodu ile yapıldı ve reverse transkripsiyon ile cDNA yapımı sağlandı¹⁰. Daha sonra birinci ve ikinci PCR aşamaları gerçekleştirilerek PCR ürününün gösterilmesinde %2'lik agaroz jel elektroforezi kullanıldı¹⁰.

Olgulara ikinci kez IVIG verilmesi gerektiğinde aynı lot numaralı ürün kullanıldı. Ayrıca IVIG ürünlerinin aynı lot numaralı olanlarından rastgele seçilen örneklerde (32 ürün) anti-HCV araştırıldı.

BULGULAR

Çalışmaya alınan hastaların ve IVIG preparatlarının özellikleri Tablo I'de verilmiştir.

Tablo 1: Çalışmaya Alınan 32 Olgunun ve IVIG Ürünlerinin Özellikleri

Yaş aralığı	1-18 yıl
Yaş ortalaması $\pm$ SD	5.8 $\pm$ 3.6 yıl
Cinsiyet (K/E)	23/9
IVIG endikasyonu	
İdiopatik trombositopenik purpura	27 olgu
Otoimmün hemolitik anemi	4 olgu
Refrakter epilepsi, polinöropati	1 olgu
IVIG preparatının inaktivasyon şekli	
Çözücü/deterjan	12 olgu (6.1 $\pm$ 3.5)*
Pastörizasyon	13 olgu (6.0 $\pm$ 4.0)*
pH4+pepsin	7 olgu (5.0 $\pm$ 3.4)*
IVIG preparatlarının kullanım şekli	1 gr/kg/gün, 1. ve 3. günlerde
IVIG uygulama öncesi bulgular	
Ortalama bazal ALT** değeri (U/L)	22.9 $\pm$ 9.5
Anti-HCV pozitifliği	Yok
Anti-HAV IgG pozitifliği	7 olgu (%21.9)
Anti-HBs pozitifliği	10 olgu (%31.3)

* Olguların yaş ortalaması $\pm$ SD yıl.

** Normal değer aralığı: 5-40 U/L.

IVIG uygulamasından sonra 3, 9, 24 ve 60. aylarda 32 hastadan alınan toplam 128 serum örneğinin 1'inde anti-HCV pozitifliği saptanırken, 18 ve 24. aylarda alınan toplam 64 serum örneğinin hiçbirisinde HCV-RNA belirlenmemiştir. Anti-HCV pozitif olarak saptanan tek örnek, S/D yöntemi ile hazırlanan IVIG preparatı alan bir hastanın üçüncü ay serumu olup bu hastanın diğer aylardaki örnekleri negatif bulunmuştur.

Üç farklı yöntemle viral inaktivasyonun yapıldığı IVIG ürünlerinden her bir hastaya verilmeden önce rastgele seçilen 32 örneğin 2'sinde (%6.2) ise anti-HCV pozitif bulunmuş ve bunların her ikisinin de pastörizasyon yöntemiyle hazırlanan preparatlar olduğu tespit edilmiştir.

Hastaların ALT düzeyleri değerlendirildiğinde, tüm olgulardan IVIG uygulamasından sonraki 3, 9, 24 ve 60. aylarda alınan serum örneklerinin normal sınırlarda (ortalama: 18.2 $\pm$ 12.9 U/L) olduğu belirlenmiş ve S/D, P ve pH4-P ürünlerinin kullanıldığı gruplar arasında benzer ortalama ALT değerleri saptanmıştır (sırasıyla, 19.8 $\pm$ 14.6, 22.8 $\pm$ 9.5 ve 20.1 $\pm$ 12.4 U/L).

TARTIŞMA

Enfekte kan ve kan ürünlerinin transfüzyonu, HCV enfeksiyonunun önde gelen nedenidir. Transfüzyon sonrası hepatitlerin %90'ının non-A non-B hepatiti (NANBH) olduğu gösterilmiştir¹¹⁻¹³. İlk kez Choo ve arkadaşları¹⁴ tarafından

tanımlanan HCV, Flavivirus ailesinde sınıflandırılan lipid zarflı, tek sarmallı bir RNA virusudur. Serolojik tanıda büyük önem taşıyan anti-HCV antikorlarının saptanmasına yönelik testler ise, regülatör proteinlerden oluşan bir antijenin (c100-3), rekombinant DNA tekniği ile elde edilmesinin ardından kullanıma girmiştir¹⁵. Böylece birçok ülkede, vericilerin HBV ve HIV taramasına ek olarak anti-HCV yönünden de taramaya alınmasıyla transfüzyon sonrası enfeksiyonların önemli oranda azaltılması amaçlanmıştır. Olası HCV bulaş riskinin 20 yıl öncesine oranla %72 oranında azaldığı bildirilmektedir⁹.

Hematolojik ve otoimmün hastalıkların tedavisinde giderek artan oranda kullanılan IVIG preparatları, 1000'den fazla vericiden elde edilen pahalı bir plazma ürünüdür^{1,2,16}. Cohn soğuk etanol ayrıştırma tekniği ile elde edilen IVIG preparatlarının, enfeksiyon etkenlerinin inaktivasyonu yönünden güvenli olduğunun düşünülmesine karşın, çalışmalarda bu ürünlerle HCV bulaşının mümkün olduğu gösterilmiştir^{6,11-13,1-20}. Lever ve arkadaşları²¹, IVIG'le tedavi edilen 12 hastada NANBH geliştiğini göstermişler, Oesh ve arkadaşları²² da, IVIG'le tedavi edilen 16 olgudan 7'sinde aminotransferaz düzeyinin yükseldiğini ve 1'inde kronik aktif hepatit geliştiğini bildirmişlerdir. Bjoro ve arkadaşları²³ ise, IVIG preparatı verilen 29 hastanın 17'sinde HCV-RNA pozitifliği saptamış ve uzun süreli izlem sonuçlarını yayınlamışlardır. Dodd ve arkadaşları²⁴, HCV bulaşı yönünden ürün seropozitivitesini araştırmışlar ve çoğu IVIG preparatı olan toplam 30 plazma ürününde anti-HCV pozitiflik oranının %90 olduğunu belirlemişlerdir. 1990'lı yılların başında Amerika Birleşik Devletleri'nin 24 eyaletinde IVIG kullanımına bağlı 100'den fazla HCV enfeksiyonunun rapor edilmesi sonunda, Amerika Allerji ve İmmünoloji Akademisi, IVIG preparatlarının kullanımında gerekli kayıtların tutulmasını ve hastaların uzun süre izlenmesini zorunlu kılan resmi olmayan bir klavuz hazırlamıştır²⁵.

Bu bulgulara dayanılarak, transfüzyonla HCV bulaş riskinin azaltılması için IVIG ürünlerinde uygulanmak üzere daha etkili viral inaktivasyon yöntemleri üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Araştırmalar, S/D inaktivasyon yönteminin lipit çeperli viruslar (HBV, HCV ve HIV) için en güvenilir virusidal yöntem olduğunu, HAV ve Parvoviruslar gibi virusların ise ısıya duyarlı olmaları nedeniyle, yüksek ısı, pH4 ve pastörizasyon (60°C'de 10 saat) ile inaktive edilebileceğini göstermiştir^{1,16}.

Bu yayınların ışığında çalışmamızda, farklı viral inaktivasyon yöntemleri kullanılarak hazırlanmış IVIG preparatları ile tedavi edilen olguların HCV enfeksiyonu yönünden klinik, serolojik ve biyokimyasal olarak uzun süre izlenmesi amaçlanmıştır. Daha önce hiçbir kan ya da kan ürünü verilmemiş olan olguların tümünde IVIG tedavisi öncesi anti-HCV negatif bulunmuştur. IVIG sonrası 60 ay süreyle izlenen 32 olgunun yalnızca birinin tek örneğinde ELISA ile anti-HCV pozitif olarak saptanmıştır. Bu hasta S/D grubunda olup, pozitifliğin belirlendiği örnek, üçüncü ayda alınan ve IVIG sonrası ilk kontrol serum örneğidir. Aynı olgunun 9, 24 ve 60. aylarda tekrarlanan anti-HCV sonuçları ile 18 ve 24. ay HCV-RNA sonucu negatif olup, izlem boyunca alınan tüm örneklerinde karaciğer fonksiyon testleri de normal sınırlarda seyrettiğinden saptanan tek pozitif sonuç "yalancı pozitiflik" olarak yorumlanmıştır. Aynı şekilde pastörizasyon yöntemi ile hazırlanan IVIG ürünlerinin ikisinde saptanan anti-HCV pozitifliği de, bu ürünlerin verildiği hastaların takibinde HCV enfeksiyonu yönünden hiçbir klinik, serolojik, moleküler biyolojik ve

biyokimyasal bulgu saptanamaması nedeniyle "yalancı pozitiflik" olarak değerlendirilmiştir. Diğer tüm hasta ve ürün örnekleri anti-HCV ve/veya HCV-RNA açısından negatif bulunmuş, hastalarda ALT düzeyleri normal sınırlarda seyretmiştir.

Anti-HCV antikorlarının saptanması, hepatit C enfeksiyonlarının laboratuvar tanısında vazgeçilmez bir yöntemdir. Bu amaçla özellikle tarama için kullanılan ELISA testleri üç ayrı kuşak halinde geliştirilmiş ve her bir kuşağın duyarlılığı bir öncekine göre daha da yükseltilmiştir¹⁵. Buna rağmen ELISA yönteminde yalancı pozitiflik hala bir sorun olmaya devam etmekte ve ELISA sonuçlarının ek bir test ile (örneğin, rekombinant immünoblot assay) desteklenmesi gerektiği vurgulanmaktadır^{15,26}. Ancak ne yazık ki çalışmamızda, yalancı pozitif olarak kabul ettiğimiz sonuçların daha ileri bir serolojik yöntemle doğrulanması mümkün olamamıştır. Çalışmamızda, toplam 160 (128 hasta serumu+32 ürün) örneğin üçünde (%1.9) saptadığımız yalancı pozitiflik, kullandığımız ikinci kuşak ELISA yönteminin duyarlılığı ile ilgili bir sonuçtur düşüncesindeyiz. Nitekim Kobayashi ve arkadaşları²⁷ üçüncü kuşak ELISA test sonuçlarının, ikinci kuşağa göre HCV-RNA bulgularıyla daha büyük bir uyum gösterdiğini vurgulamaktadır.

Sonuç olarak, kullanılan IVIG preparatlarının güvenli olduğu, ancak yine de kullanım endikasyonu halinde, sadece HCV değil bilinen ya da bilinmeyen diğer etkenlerin olası bulaş riskinin tamamıyla ortadan kaldırılamayacağı düşünülerek kan ve kan ürünü kullanma konusunda bilinçli ve seçici olunması ve olguların uzun süreli izlenmeleri gerektiği kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Schiff RL: Intravenous gammaglobulin, pharmacology, clinical uses and mechanism of action. *Pediatr Allergy Immunol* 1994, 5: 127-156.
2. Bednarik J, Kadanka Z: Adverse effects of administration of intravenous human immunoglobulins. *Cas Lek Cesk* 1999, 138: 647-649.
3. Berger A, Doerr HW, Scharrer I, Weber B: Follow-up of for HIV infected individuals after administration of hepatitis C virus and GBV-C/hepatitis G virus contaminated intravenous immunoglobulin: Evidence for HCV but not for GBV-C/HGV transmission. *J Med Virol* 1997, 53: 25-30.
4. Sewel WA, Mullighan CG, Christie J, Chapel HM: Hepatitis C after intravenous immunoglobulin. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1997, 79: 466-467.
5. Macy E: Hepatitis C virus and intravenous immune globulin. *JAMA* 1996, 276: 1563-1567.
6. Hammalainan E, Suomela H, Ukkonen P: Virus inactivation during intravenous immunoglobulin production. *Vax Sang* 1992, 63: 6-11.
7. Chandra S, Cavanaugh JE, Lin CM, et al: Virus reduction in the preparation of intravenous immune globulin: In vitro experiments. *Transfusion* 1999, 39: 249-257.
8. Miekka SI, Busby TF, Reid B, Pollock R, Ralston A, Drohan WN: New methods for inactivation of lipid-enveloped and non-enveloped viruses. *Haemophilia* 1998, 4: 402-408.
9. Theodossiades G, Makris M: Transfusion-transmitted infections: Epidemiology, risks and prevention. *J Hellenic Soc Haematol* 2001, 4: 24-38.
10. Chomezynski P, Succhi N: Single step method of RNA isolation by acid guanidium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* 1987, 162: 156-159.
11. Williams PE, Yap PL, Caillon J, Crawford RJ: Non-A non-B hepatitis transmission by intravenous immunoglobulin. *Lancet* 1988, i: 501.

12. Hein RH, McQue JP, Hink J: Non-A, non-B hepatitis and intravenous immunoglobulin. *Lancet* 1985, i: 404-405.
13. Trepo C, Hantz O, Vitviski L: Non-A, non-B hepatitis after intravenous gammaglobulin. *Lancet* 1986, i: 322-323.
14. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Cperby LR, Bradley DW, Haughton M: Isolation of a C DNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B hepatitis. *Br Med Bull* 1990, 46: 423-441.
15. Gretch DR: Diagnostic tests for hepatitis C. *Hepatology* 1997, 26 (3 Suppl 1): 43S-47S.
16. Manucci PM: Modern treatment of hemophilia: From the shadows towards the light. *Trombosis Haemostasis* 1993, 70: 17-22.
17. Alter HJ, Purcell RH, Holland PV, et al: Clinical and serological analysis of transfusion associated hepatitis. *Lancet* 1975, 2: 838-841.
18. Lockneer D, Bratt G, Lindborg A, Törnebohm E: Acute unidentified hepatitis in a hypogammaglobulinemic patient on intravenous gammaglobulin successfully treated with interferon. *Acta Med Scand* 1987, 221: 413-415.
19. Williams E, Yap PL, Gillian J, Urbanat SJ, Galca G: Transmission of non-A, non-B hepatitis by pH4-treated intravenous immunoglobulin. *Vox Sang* 1989, 57: 15-18.
20. Weiland O, Mattson L, Glauman H: Non-A, non-B hepatitis after intravenous gammaglobulin. *Lancet* 1986, i: 976-977.
21. Lever AM, Webster AD, Brown D, Thomas HC: Non-A, non-B hepatitis occurring in agammaglobulinemic patient after intravenous immunoglobulin. *Lancet* 1984, i: 1062-1064.
22. Oehs HD, Fischer SH, Virant FS, Lee ML, Wedwood RJ: Non-A, non-B hepatitis and immunoglobulin. *Lancet* 1985, i: 104-105.
23. Bjoro K, Proland SS, Yun Z, Sumdal HT: Hepatitis C infection in patients with primary hypogammaglobulinemia after treatment with contaminated immunoglobulin. *N Engl J Med* 1984, 331: 1607-1611.
24. Dodd LG, McBride JH, Gitnick GL, Howanitz PJ, Rodgerson DO: Hepatitis C virus antibody in human immunoglobulins. *Am J Clin Pathol* 1992, 97: 108-113.
25. Outbreak of hepatitis C associated with intravenous immunoglobulin administration in United States October 1993-June 1994. *MMWR, Morb Mortal Wkly Rep* 1994, 43: 505-509.
26. McFarlane IG, et al: Hepatitis C virus antibodies in chronic active hepatitis: Pathogenetic factor or false positive result? *Lancet* 1990, 335: 754-755.
27. Kobayashi J, Nishibu M, Hashimoto T: Evaluation of the third generation reagents for anti-HCV antibody measurement in comparison with three second generation methods. *Rinsho-Byori* 1997, 45: 87-91.