

血浆中丙型肝炎病毒核酸在不同保存条件下的稳定性*

刘悦越[‡],高加梅[#],范行良,杜加亮,刘 艳,国 泰[△](中国食品药品检定研究院,北京 100050)

【摘要】 目的 探讨不同保存条件和时间对丙型肝炎病毒(HCV)RNA 稳定性的影响。**方法** 将 22 份血浆样本置于-20 ℃保存 4 周,4 ℃保存 12 d,室温(20~25 ℃)保存 7 d,反复冻融 5 次,采用荧光定量聚合酶链反应测定 HCV RNA 水平,考察 HCV RNA 稳定性。**结果** 样本在-20 ℃保存 4 周 HCV RNA 平均下降幅度小于或等于 0.14 lg,±95%CI≤0.20 lg;4 ℃保存 12 d HCV RNA 平均下降幅度小于或等于 0.39 lg,4 ℃保存 12 d 时 95%CI 下限为-0.50 lg,<12 d 时±95%CI≤0.24 lg;室温保存 7 d HCV RNA 平均下降幅度小于或等于 0.40 lg,室温保存 7 d 处理组 95%CI 下限为-0.53 lg,<7 d 时±95%CI≤0.29 lg;反复冻融 5 次 HCV RNA 平均下降幅度小于或等于 0.10 lg,±95%CI≤0.15 lg。**结论** 血浆样本在-20 ℃保存 4 周、4 ℃保存 9 d、室温保存 5 d 和反复冻融 5 次时,对 HCV RNA 水平影响不明显,但 4 ℃保存 12 d 或室温保存 7 d 后,RNA 水平显著降低,所以应避免在这种条件和时间下保存和运输血浆。

【关键词】 丙型肝炎; 核酸; 稳定性

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.03.001 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)03-0289-03

Stability of hepatitis C virus nucleic acid in plasma stored on different conditions* LIU Yue-yue, GAO Jia-mei[#], FAN Xing-liang, DU Jia-liang, LIU Yan, GUO Tai[△] (National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

【Abstract】 Objective To investigate effects of different storage conditions and time on stability of HCV RNA. **Methods** Totally 22 plasma samples were stored at different conditions as bellow: -20 ℃ for 4 weeks; 4 ℃ for 12 days; room temperature(20-25 ℃) for 7 days; 5 freeze-thaw cycles. HCV RNA was determined by RT-PCR to investigate the stability of it. **Results** The average decline of HCV RNA concentration was less than or equal to 0.14 lg and ±95%CI≤0.20 lg when samples were stored at -20 ℃ for 4 weeks. The average decline of HCV RNA concentration was less than or equal to 0.39 lg and ±95%CI≥-0.50 lg when samples were stored at 4 ℃ for 12 days. But ±95%CI≤0.24 lg when samples were stored at 4 ℃ less than 12 days. The average decline of HCV RNA concentration was less than or equal to 0.40 lg and ±95%CI≥-0.53 lg when samples were stored at room temperature for 7 days. But ±95%CI≤0.29 lg when samples were stored at room temperature less than 7 days. The average decline of HCV RNA concentration was less than or equal to 0.10 lg and ±95%CI≤0.15 lg when samples were frozen and thawed for 5 times. **Conclusion** HCV RNA is stable in plasma samples stored at -20 ℃ for 4 weeks, 4 ℃ for 9 days, room temperature for 5 days or after 5 freeze-thaw cycles. But HCV RNA concentration declined dramatically when samples were stored at 4 ℃ for 12 days and room temperature for 7 days. The storage and transportation should be avoided in these conditions.

【Key words】 hepatitis C; nucleic acids; stability

对丙型肝炎病毒(HCV)进行核酸筛查能够显著缩短 HCV 筛查的窗口期^[1],同时,定量测定 HCV RNA 是临床诊断、临床抗病毒药物治疗评估和预后的重要指标^[2]。但由于 RNA 不稳定,易受环境影响,因此样本保存和处理不当会直接影响 HCV 筛查或核酸定量的检出率和准确性。另一方面,HCV 核酸标准品的存放条件也对其质量有影响,会进一步影响对诊断试剂的评价和试验结果的判断。一些研究者曾报道不同的样本采集处理,如血清、血浆、不同抗凝剂下的抗凝全血在不同保存温度下会影响 HCV RNA 的稳定性^[3-4],但其着重点在于样本的采集处理对 HCV RNA 稳定性的影响。在保存温度方面考察的时间较短,且针对 HCV RNA 水平较高,约为 10⁶ copy/mL 的强阳性样本,由于 HCV 核酸标准品的标准存

放条件为-70 ℃及以下,因此本研究以样本置于-70 ℃作为对照,采用涵盖 HCV RNA 水平高、中、低的水浆样本,全面考虑样本可能存放的温度环境和时间,系统考察不同保存温度在较长时间内和反复冻融对 HCV RNA 稳定性的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料 22 份血浆样本均来自献血员,经检测 HCV RNA 为阳性。

1.2 仪器与试剂 ABI7500 荧光定量聚合酶链反应(PCR)仪。HCV 核酸定量检测试剂盒(PCR-荧光探针法)[凯杰生物工程(深圳)有限公司]。

1.3 方法

1.3.1 样本处理 将 22 份 HCV RNA 阳性血浆样本分别分

* 基金项目:国家科技重大专项课题资助项目(2012ZX10004702)。

作者简介:刘悦越,女,硕士,助理研究员,主要从事生物制品质量研究。 # 同为第一作者。

△ 通讯作者,E-mail:guotai@nifdc.org.cn。

装于 1.5 mL 无菌离心管中,每管 1 mL,采用不同温度保存处理,设为处理组。将分装好的样本分别放置于以下条件:−20 ℃保存 1、2、3、4 周;4 ℃保存 3、6、9、12 d;室温(20~25 ℃)保存 1、3、5、7 d;冻融处理:反复冻融 1、3、5 次。处理完成后,放入−70 ℃冻存,等待统一检测,并以分装后即刻放入−70 ℃冻存的样本作为对照组。

1.3.2 HCV RNA 水平测定 采用凯杰生物工程(深圳)有限公司的 HCV 核酸定量检测试剂盒(PCR-荧光探针法)进行核酸提取和 PCR 扩增检测。核酸提取:按照试剂盒说明提取核酸。同时设 HCV 阴性对照品、HCV 临界阳性对照品、HCV 强阳性对照品。向 1.5 mL 的灭菌离心管中分别加入 25 μL 蛋白酶溶液。并加入待测样本 200 μL 和新鲜配制的裂解液,盖上盖子,振荡 15 s,充分混匀,于 56 ℃温浴 15 min。加入 250 μL 无水乙醇,盖上盖子,彻底混匀(振荡 15 s)。15~25 ℃下静置 5 min,转入加套管的核酸纯化柱,6 000 g 离心 1 min。倒掉套管中的废液,将提取柱重新放入套管中。向核酸纯化柱中加入 500 μL 洗液 1,6 000 g 离心 1 min,倒掉套管中的废液,将提取柱重新放入套管中。加入 500 μL 洗液 2,6 000 g 离心 1 min,倒掉收集管中的废液,将提取柱重新放入收集管中。加入 500 μL 无水乙醇,6 000 g 离心 1 min,丢弃套管,将提取柱放入新的收集管中,20 000 g 高速离心 3 min,彻底去除乙醇。丢弃收集管,将核酸纯化柱放入干净的 1.5 mL 离心管中,打开提取柱的盖子,56 ℃温浴 3 min,以彻底去除残留的液体。将核酸纯化柱放入另一干净的 1.5 mL 离心管中,加入 60 μL 洗脱液,盖上盖子,20~25 ℃静置 5 min。20 000 g 高速离心 1 min,收集滤出液,做好标记,4 ℃保存备用。提取的病毒核酸应在 2 h 内用于 PCR 扩增。PCR 扩增检测:按照试剂盒说明配置反应液,每个反应体系含有 HCV RT-PCR 反应液 28 μL,酶混合物 2 μL。取待测样品的核酸提取物 20 μL,反应总体积 50 μL。扩增和检测参数为 50 ℃,30 min;95 ℃,15 min;95 ℃,15 s,50 ℃,45 s,72 ℃,15 s,荧光信号收集设在 50 ℃,45 个循环;反应体系 50 μL。扩增检测的结果根据设置的 HCV 定量标准品相应浓度由仪器软件自动分析给出结果。

1.4 统计学处理 将样本各处理组各时间点的检测结果进行对数转换,并计算均数和标准差。计算处理组与对照组的差值平均值、标准差和差值的 95%置信区间(CI)。采用 SPSS 19.0 软件对各组处理的结果进行 Friedman 检验,比较同一温度下所有处理组与对照组结果差异是否有统计学意义。如差异有统计学意义,再进行各处理组与对照组结果比较,统计两组差异是否有统计学意义,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。分子试验的试验内标准差为 0.50 lg,因此如果差值或 95%CI 在±0.50 lg 以下,即不认为核酸水平显著降低^[5-7]。

2 结 果

2.1 样本中 HCV RNA 水平 本研究中 22 份样本 HCV RNA 水平及其对数转换值见表 1。对分装后即刻放入−70 ℃冻存的对照组样本进行检测,其 HCV RNA 水平在 $7.76\times 10^2\sim 2.60\times 10^6$ U/mL,覆盖高、中、低浓度,均值为 1.95×10^5 U/mL。

2.2 −20 ℃保存对血浆 HCV RNA 稳定性的影响 处理组与对照组差值平均值、标准差和差值的 95%CI 见表 2。各处理组 HCV RNA 平均下降幅度小于或等于 0.14 lg,±95%CI≤0.20 lg。−20 ℃保存 1 周和 2 周的结果与对照组之间差异无统计学意义($P>0.05$),−20 ℃保存 3 周和 4 周的结果与对照组之间差异有统计学意义($P<0.05$),但−20 ℃保存 3 周

和 4 周之间结果差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 1 22 份样本 HCV RNA 水平

样本编号	HCV RNA 水平 (U/mL)	HCV RNA 水平对 数转换值(lg U/mL)
1	2.23E+05	5.35
2	4.17E+05	5.62
3	4.31E+05	5.63
4	1.85E+05	5.27
5	3.03E+05	5.48
6	1.92E+05	5.28
7	2.96E+04	4.47
8	2.85E+03	3.45
9	7.01E+05	5.85
10	7.76E+02	2.89
11	2.24E+04	4.35
12	3.67E+04	4.56
13	2.94E+05	5.47
14	1.01E+06	6.00
15	2.19E+06	6.34
16	9.30E+05	5.97
17	3.55E+05	5.55
18	1.98E+05	5.30
19	4.02E+05	5.60
20	7.97E+05	5.90
21	2.60E+06	6.41
22	4.30E+05	5.63

表 2 −20 ℃保存不同时间的血浆 HCV RNA 稳定性($n=22$)

组别	HCV RNA 水平 (lg U/mL)		HCV RNA 水平 差值(lg U/mL)		95%CI (lg)	
	均值	标准差	均值	标准差	下限	上限
对照组	5.29	0.87	—	—	—	—
处理组保存	1 周	5.32	0.91	0.03	0.16	−0.05 0.10
	2 周	5.28	0.90	−0.01	0.13	−0.07 0.04
	3 周	5.16	0.95	−0.13	0.16	−0.20 −0.05
	4 周	5.16	0.94	−0.14	0.15	−0.20 −0.07

注:—表示无数据。

2.3 4 ℃保存对血浆 HCV RNA 稳定性的影响 处理组与对照组差值平均值、标准差和差值的 95%CI 见表 3。各处理组 HCV RNA 平均下降幅度小于或等于 0.39 lg,4 ℃保存 12 d 处理组的 95%CI 下限为−0.50 lg,其他处理组±95%CI≤0.24 lg。4 ℃保存 3、6、9、12 d 的结果与对照组之间差异均有统计学意义($P<0.05$),但 4 ℃保存 3、6、9 d 之间结果差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.4 室温保存对血浆 HCV RNA 稳定性的影响 处理组与对照组差值平均值、标准差和差值的 95%CI 见表 4。各处理组 HCV RNA 平均下降幅度小于或等于 0.40 lg,室温保存 7 d

处理组的 95%CI 下限为 -0.53 lg,其他处理组 ± 95%CI ≤ 0.29 lg。室温保存 1 d 的结果与对照组之间差异无统计学意义 ($P>0.05$),保存 3、5、7 d 的结果与对照组之间差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。

表 3 4 ℃ 保存不同时间血浆 HCV RNA 稳定性 (n=22)

组别	HCV RNA 水平 (lg U/mL)		HCV RNA 水平 差值(lg U/mL)		95%CI (lg)	
	均值	标准差	均值	标准差	下限	上限
对照组	5.29	0.87	—	—	—	—
处理组保存	3 d	5.15	0.97	-0.14	0.16	-0.21 -0.06
	6 d	5.12	0.88	-0.17	0.17	-0.24 -0.10
	9 d	5.16	0.94	-0.13	0.16	-0.20 -0.06
	12 d	4.90	0.98	-0.39	0.25	-0.50 -0.28

注:—表示无数据。

表 4 室温保存不同时间血浆 HCV RNA 稳定性 (n=22)

组别	HCV RNA 水平 (lg U/mL)		HCV RNA 水平 差值(lg U/mL)		95%CI (lg)	
	均值	标准差	均值	标准差	下限	上限
对照组	5.29	0.87	—	—	—	—
处理组保存	1 d	5.21	0.95	-0.08	0.13	-0.14 -0.03
	3 d	5.11	0.91	-0.18	0.17	-0.25 -0.10
	5 d	5.11	0.97	-0.18	0.26	-0.29 -0.06
	7 d	4.89	0.97	-0.40	0.28	-0.53 -0.28

注:—表示无数据。

2.5 反复冻融对血浆 HCV RNA 稳定性的影响 处理组与对照组差值平均值、标准差和差值的 95%CI 见表 5。各处理组 HCV RNA 平均下降幅度小于或等于 0.10 lg,处理组 ± 95%CI ≤ 0.15 lg。反复冻融 3 次的结果与对照组之间差异无统计学意义 ($P>0.05$),但反复冻融 1 次和 5 次的结果与对照组之间差异有统计学意义 ($P<0.05$),反复冻融 1 次和 5 次的结果之间差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

表 5 反复冻融的血浆 HCV RNA 稳定性 (n=22)

冻融 次数	HCV RNA 水平 (lg U/mL)		HCV RNA 水平 差值(lg U/mL)		95%CI (lg)	
	均值	标准差	均值	标准差	下限	上限
对照组	5.29	0.87	—	—	—	—
处理组冻融	1 次	5.20	0.93	-0.10	0.14	-0.15 -0.03
	3 次	5.26	0.89	-0.03	0.11	-0.08 0.02
	5 次	5.20	0.87	-0.09	0.13	-0.15 -0.04

注:—表示无数据。

3 讨 论

HCV 核酸检测在血液筛查预防经输血传播丙型肝炎、临床诊断、评价抗病毒治疗效果和预后中至关重要^[8],待测样本在保存和运输中 RNA 裂解直接影响病毒的检出,从而增加检测结果为假阴性的可能性。因此待测样本必须在适当条件下进行保存和运输,以保证检测结果的准确性和可重复性。

差异有无统计学意义仅仅是统计结论,不一定在现实中有

意义,使用方法和样本量、样本中 RNA 水平分布的不同会影响结果,因此并不具有决定性作用。判断 HCV RNA 水平是否显著降低还需要结合专业知识,目前尚无行业标准,根据文献一般认为分子试验的试验内标准差为 0.50 lg。因此如果差值或 95%CI 在 ± 0.50 lg 以下,即不认为核酸水平显著降低^[5-7]。

曾有一些学者针对 HCV 血样的保存进行研究。Baleriola 等^[5]报道样本在 -20 ℃ 冻存 1.2 年后,HCV RNA 水平与对照组相比,差异有统计学意义,但降低不超过 0.50 lg,认为这种 RNA 损失在试验误差范围内,对临床判断的影响不大^[6]。本研究结果发现,样本在 -20 ℃ 保存 1 周和 2 周的结果与对照组比较差异无统计学意义,-20 ℃ 保存 3 周和 4 周的结果与对照组比较差异有统计学意义。样本在 -20 ℃ 冻存 1 周后,与对照组相比,HCV RNA 水平增加 0.03 lg,这种水平升高可能是由于试验误差引起的;冻存 2~4 周后,HCV RNA 水平平均有所下降,但均不超过 0.14 lg,± 95%CI 也小于 0.20 lg。

Gessoni 等^[7]指出,在 4 ℃ 保存 7 d 的全血样本 HCV RNA 水平未见显著降低。Sener 等^[8]的研究表明,非抗凝样本在 4 ℃ 保存 5 周,其 HCV RNA 水平仍然稳定。本研究中 4 ℃ 保存 3~12 d 的结果与对照组比较差异均有统计学意义,但各处理组 HCV RNA 平均下降幅度不超过 0.39 lg,值得注意的是 4 ℃ 保存 12 d 后处理组的 95%CI 下限为 -0.50 lg,达到了人们普遍接受的分子试验内标准差,其他处理组 ± 95%CI 不超过 0.24 lg。因此,样本在 4 ℃ 保存 12 d 可能会影响 RNA 水平的检测。

Grant 等^[9]研究表明,血浆样本在 25 ℃ 放置 5 d,HCV RNA 水平 (0.20 lg) 显著降低。Comert 等^[6]的研究表明,室温下放置 1、2、3 d 与对照组比较差异有统计学意义,但处理组与对照组的 HCV RNA 差值平均值不超过 0.20 lg。而本研究室室温保存 1 d 的结果与对照组比较差异无统计学意义,保存 3、6、9 d 的结果与对照组之间差异均有统计学意义。各处理组 HCV RNA 平均下降幅度不超过 0.40 lg,但室温保存 7 d 处理组的 95%CI 下限为 -0.53 lg,分子试验内标准差其他处理组 ± 95%CI 均小于 0.29 lg,说明样本在室温保存 7 d 可能会使 HCV RNA 水平明显降低。

RNA 保存最常用的方法是冻存,已有一些学者针对冻存对 HCV RNA 的影响进行了研究^[10-11]。近期 Baleriola 等^[5]报道,样本在 -70 ℃ 冻存 9 年后,HCV RNA 水平与对照组相比,差异有统计学意义,但降低不超过 0.50 lg,认为这种 RNA 损失在试验误差范围内,对临床判断的影响不大。但是反复冻融会影响 HCV RNA 的稳定性。Gessoni 等^[7]指出,反复冻融 5 次后 HCV RNA 水平显著降低。但 Comert 等^[6]的研究表明,样本经过反复冻融 10 次,与对照组差异仍无统计学意义。本研究中反复冻融 3 次的结果与对照组之间差异无统计学意义,但反复冻融 1 次和 5 次的结果与对照组之间差异有统计学意义,各处理组 HCV RNA 平均下降幅度不超过 0.10 lg,处理组 ± 95%CI 不超过 0.15 lg。

以往一些研究结果差异在一定程度上可能与样本的选择,如血清或血浆,乙二胺四乙酸抗凝或柠檬酸盐抗凝等,HCV RNA 检测的方法、统计学方法、判断标准及样本量的不同有关。本研究选择 22 份覆盖 HCV RNA 高、中、低浓度的血浆样本,通过不同的保存条件和不同的时间,可以总结出:血浆样本在 -20 ℃ 保存 4 周、4 ℃ 保存 9 d、室温保(下转第 294 页)

看,该仪器有以下几个特点:(1)系统的重现性好、精密度高。对每一份标本只做一次检验就可以发出报告,这要求检测系统检出的结果必须具备良好的重现性。精密度是检测重现性的关键指标,在所检测的 12 个项目中, $S_{批内}$ 和 $S_{总}$ 均低于厂家声明,说明精密度良好,测定结果稳定。(2)检测结果准确度高。与参加卫生部临床检验中心室间质评的检测系统比对,结果偏移均在 CLIA'88 规定的范围内。说明 Cobas c701 全自动生化分析仪检测结果准确,可以用于临床标本检测。(3)线性范围良好。通过线性范围的验证,检测系统具有良好的线性(回归系数为 0.999 4~1.000 0),测定项目期望值与测定值相关系数良好,符合临床测试要求。

全自动生化分析仪测定过程涉及光学、生物化学、分析化学、热工学、精密机械、自动化控制、电子等学科^[7]。为了保证该检测系统检验结果的准确性和可靠性,仪器应由持上岗证的专人负责操作和维护,并严格按照操作规程进行操作和保养,定期进行维护保养、清洗比色杯等,这样才能得到有效保证^[8-9]。

综上所述,罗氏 Cobas c701 全自动生化分析仪是具有良好的精密度、准确度,线性良好的检测系统。该仪器既能满足临床要求,又符合标准化实验室质量管理的要求,是一种经济实用的全自动生化分析仪。

参考文献

[1] 魏昊,丛玉隆.医学实验室质量管理与认可指南[M].北京:中国计量出版社,2004:72-75.

(上接第 291 页)

存 5 d 和反复冻融 5 次,对 HCV RNA 检测影响不明显,但 4 ℃ 保存 12 d 和室温保存 7 d 后, RNA 水平显著降低,应避免在这种条件和时间内保存和运输血浆。

参考文献

[1] Zou S, Dorsey KA, Notari EP, et al. Prevalence, incidence, and residual risk of human immunodeficiency virus and hepatitis C virus infections among United States blood donors since the introduction of nucleic acid testing [J]. Transfusion, 2010, 50(7): 1495-1504.

[2] Halfon P, Bourlière M, Pénaranda G, et al. Real-time PCR assays for hepatitis C virus (HCV) RNA quantitation are adequate for clinical management of patients with chronic HCV infection [J]. J Clin Microbiol, 2006, 44(7): 2507-2511.

[3] 刘长利,任芙蓉,吕秋霜,等.不同处理和保存条件下体外 HCV RNA 稳定性研究[J].中国实验血液学杂志,2006, 14(6): 1238-1243.

[4] 刘长利,任芙蓉,吕秋霜,等.对丙型肝炎病毒核酸稳定性的研究[J].临床输血与检验,2007,9(3): 217-221.

[5] Baleriola C, Johal H, Jacka B, et al. Stability of hepatitis C virus, HIV, and hepatitis B virus nucleic acids in plasma samples after long-term storage at -20 ℃ and -70 ℃ [J]. J Clin Microbiol, 2011, 49(9): 3163-3167.

[2] 丛玉隆,冯仁丰,陈晓东.临床实验室管理学[M].北京:中国医药科技出版社,2004:111-123.

[3] 中华人民共和国卫生部.医疗机构临床实验室管理办法[S].北京:中华人民共和国卫生部,2006.

[4] 中国合格评定国家认可委员会. ISO15189:2007 医学实验室质量和能力的认可准则[S].北京:中国合格评定国家认可委员会,2008.

[5] Centers for Disease Control, Prevention. Centers for Medicare & Medicaid services, HHS. Medicare, Medicaid, and CLIA programs; laboratory requirements relating to quality systems and certain personnel qualifications, final rule[J]. Fed Register, 2003, 68(36): 3640-3714.

[6] Clinical Laboratory Standards Institute. User verification of performance for precision and trueness; approved guideline[S]. PA, USA: CLSI, 2005.

[7] 尚晓泓,胡晓丽,王海龙,等.日立 7600-020 型全自动生化分析仪干扰、交叉污染的实验研究[J].中国医学装备, 2007, 4(11): 17-22.

[8] 王燕. TBA-40FR 全自动生化分析仪应用评价[J].西部医学, 2009, 21(5): 842-843.

[9] 曾亦佳.浅谈生化分析仪的性能评价[J].亚太传统医药, 2010, 6(9): 165-167.

(收稿日期:2014-08-04 修回日期:2014-10-28)

[6] Comert F, Aktas E, Terzi HA, et al. Evaluation of hepatitis C virus RNA stability in room temperature and multiple freeze-thaw cycles by COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan HCV [J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2013, 75(1): 81-85.

[7] Gessoni G, Barin P, Frigato A, et al. The stability of hepatitis C virus RNA after storage at +4 degrees C [J]. J Viral Hepat, 2000, 7(4): 283-286.

[8] Sener K, Yapar M, Bedir O, et al. Stability of hepatitis C virus RNA in blood samples by TaqMan real-time PCR [J]. J Clin Lab Anal, 2010, 24(3): 134-138.

[9] Grant PR, Kitchen A, Barbara JA, et al. Effects of handling and storage of blood on the stability of hepatitis C virus RNA: implications for NAT testing in transfusion practice [J]. Vox Sang, 2000, 78(3): 137-142.

[10] José M, Curtu S, Gajardo R, et al. The effect of storage at different temperatures on the stability of Hepatitis C virus RNA in plasma samples [J]. Biologicals, 2003, 31(1): 1-8.

[11] José M, Gajardo R, Jorquera JI. Stability of HCV, HIV-1 and HBV nucleic acids in plasma samples under long-term storage [J]. Biologicals, 2005, 33(1): 9-16.

(收稿日期:2014-07-04 修回日期:2014-10-22)