· 论著 ·

混合冷沉淀凝血因子质量标准探索

李小春 刘星辰
(成都市血液中心,四川 成都 610020)

摘要:目的 建立基于实测数据的混合冷沉淀凝血因子质量标准,解决单袋冷沉淀因个体差异导致的凝血因子含量波动大、临床剂量不精准的问题。**方法** 纳入 120 袋不同血型新鲜冰冻血浆,分别采用离心法和虹吸法制备单袋冷沉淀,每 5 袋同血型、同方法冷沉淀汇集为一袋混合冷沉淀。测定原料血浆、单袋冷沉淀及混合冷沉淀的Ⅷ因子含量、纤维蛋白原含量及容量,计算回收率与变异系数,分析混合工艺对产品质量均一性的影响。**结果** 混合冷沉淀的Ⅷ因子含量、纤维蛋白原含量及容量均显著高于单袋冷沉淀。混合后Ⅷ因子含量的变异系数由单袋的 34.9%~35.2%降至 18.2%~20.7%,纤维蛋白原含量的变异系数由 27.0%~28.6%降至 13.1%~13.4%。混合操作对Ⅷ因子及纤维蛋白原回收率无显著影响($P>0.05$)。**结论** 基于 5 袋汇集制备混合冷沉淀,建议质量标准为:Ⅷ因子含量≥400 IU/袋、纤维蛋白原含量≥750 mg/袋、容量 200~250 mL/袋,无菌试验合格。该标准可为混合冷沉淀的规模化制备与临床应用提供依据。

关键词:混合冷沉淀;Ⅷ因子;纤维蛋白原;质量标准;汇集制备
中图分类号:R973+.2 R457.1+4 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2026)8-1125-05
DOI:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2026.08.019

Exploration of quality standards for pooled cryoprecipitate coagulation factors

LI Xiaochun, LIU Xingchen.
Chengdu Blood Center, Chengdu 6111020, *China.*

Abstract: Objective To establish quality standards for pooled cryoprecipitate based on measured data, addressing the issues of wide variability in coagulation factor content attributable to individual donor differences and imprecise clinical dosing with single-bag cryoprecipitate. **Methods** A total of 120 bags of fresh frozen plasma of different ABO blood groups were enrolled. Single-bag cryoprecipitate was prepared using either the centrifugation method or the siphonage method. For each blood group and each preparation method, every five single units of the same blood group were pooled into one bag of pooled cryoprecipitate. Factor Ⅷ content, fibrinogen content, and volume were measured in source plasma, single-bag cryoprecipitate, and pooled cryoprecipitate. Recovery rates and coefficients of variation were calculated, and the effect of the pooling process on product homogeneity was analyzed. **Results** The factor Ⅷ content, fibrinogen content, and volume of pooled cryoprecipitate were significantly higher than those of single-unit cryoprecipitate and were linearly correlated with the number of units pooled. After pooling, the coefficient of variation for factor Ⅷ content decreased from 34.9%-35.2% (single units) to 18.2%-20.7% (pools), and the coefficient of variation for fibrinogen content decreased from 27.0%-28.6% to 13.1%-13.4%. The pooling procedure had no significant effect on the recovery rates of factor Ⅷ or fibrinogen ($P>0.05$). **Conclusion** For pooled cryoprecipitate prepared by pooling five single units, the proposed quality standards are: factor Ⅷ content ≥400 IU/bag, fibrinogen content ≥ 750 mg/bag, volume 200-250 mL/bag, and sterility test negative. These standards can provide a basis for large-scale preparation and clinical application of pooled cryoprecipitate.

Key words: pooled cryoprecipitate; factor Ⅷ; fibrinogen; quality standards; pooled preparation

冷沉淀凝血因子富含Ⅷ因子、纤维蛋白原、VWF、Ⅻ因子及纤维结合蛋白,是治疗凝血功能障碍、围术期及创伤性大出血的重要血液制品[1]。目前国内临床主要使用单袋冷沉淀,即由 200 mL 或 400 mL 全血分离的新鲜冰冻血浆制备而成。然而,由于献血者个体差异及制备工艺的不同,单袋冷沉淀中关键凝血因子含量波动较大,临床剂量难以精准控制,存在疗效不足或血栓形成的风险[2]。

基金项目:成都市血液中心课题(202201)
第一作者/通讯作者简介:李小春(1980-),男,副主任技师,Email:31879193@qq.com

当患者需要大剂量补充纤维蛋白原或Ⅷ因子时，常需在病房临时将多袋单袋冷沉淀混合使用。此过程增加了操作步骤、微生物污染风险及质量管理难度。因此，开发混合冷沉淀（Pooled Cryoprecipitate），即在血站通过无菌接驳技术将多袋同血型单袋冷沉淀汇集于一袋，实现标准化、规模化制备，已成为行业发展趋势[3]。

目前，国内外对混合冷沉淀的质量标准尚未统一。美国 AABB 标准要求每袋冷沉淀（单袋）纤维蛋白原≥150 mg、Ⅷ因子≥80 IU，混合冷沉淀则需乘以汇集袋数[4]；欧洲部分国家推荐汇集 5～6 袋单袋冷沉淀，但未明确具体含量标准。国内尚无混合冷沉淀的专项质量标准，亟需基于实测数据建立科学、可行的质量控制指标。

本研究旨在通过大样本实验，测定单袋及混合冷沉淀的Ⅷ因子、纤维蛋白原含量及容量，分析汇集制备工艺对血液成分质量及均一性的影响，为建立混合冷沉淀的质量标准提供数据支撑。

1　材料与方法

1.1　原料血浆

选取本中心由 400 mL 全血分离制备的新鲜冰冻血浆（Fresh Frozen Plasma，FFP）120 袋，血型分布为 A、B、O、AB 各 30 袋。所有全血来源于符合《献血者健康检查要求》（GB 18467-2011）的健康献血者，血液检测合格。血浆于采血后 6 h 内完成分离速冻，储存于-30℃以下，保存期 1 年。

1.2　主要仪器与试剂

主要仪器：大容量低温离心机（ThermoFisher）、全自动冷沉淀制备仪（佛山沃塘）、平板式血浆速冻机（武汉贝索）、CS-1300 全自动血凝分析仪（Sysmex）。

主要试剂：乏凝血因子Ⅷ试剂（西门子，批号 560868B）、纤维蛋白原试剂（西门子，批号 567425）、APTT 试剂、$CaCl_2$ 溶液、缓冲液及清洗液。质控品（批号 556746、507940 等）用于室内质控。

1.3　实验设计

采用按血型分层、随机分组设计。将 A、B、O、AB 四种血型的 FFP 分别作为独立区组，每个血型 30 袋。在每个血型区组内，将血浆随机分配至离心法制备组和虹吸法制备组，每组各 15 袋。随后，在每个血型、每个方法组内，将 5 袋同血型、同方法制备的单袋冷沉淀进行汇集，两种制备方法分别制备出 12 袋混合冷沉淀（每种血型各 3 袋，每袋由 5 袋单袋汇集），共计获得 24 袋混合冷沉淀，制备流程图流程，见图 1。

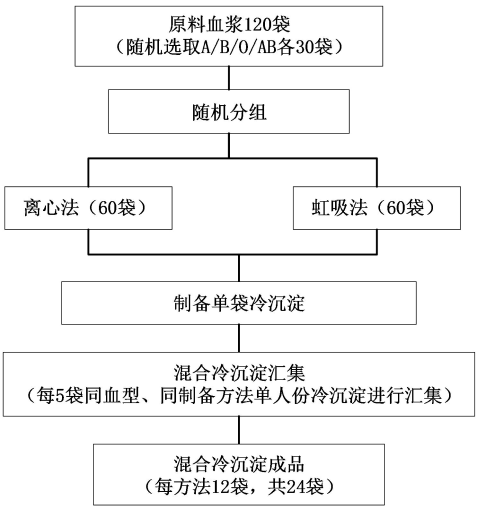


图 1　混合冷沉淀制备流程图

Figure 1　Flowchart for thepooled cryoprecipitate process

1.4　样品采集与检测

检测指标：Ⅷ因子活性采用一期法测定，检测前血浆样本按照 1∶10 比例用乏Ⅷ因子试剂检测，纤维蛋白原含量采用 Clauss 法测定。

因血浆及冷沉淀密度近似 1 g/mL，质量数值与体积数值基本相等，故统一以称量重量替代体积进行换算计算。

取样环节（称重均扣除空袋重量）：

1）原料血浆：对 FFP 称重并换算容量，取样约 10 mL，测定Ⅷ因子浓度（C_1）与纤维蛋白原浓度（A_1）；

2）单袋冷沉淀：对制备完成的冷沉淀称重（M_2），取样约 10 mL，测定Ⅷ因子浓度（C_2）与纤维蛋白原浓度（A_2）；

3）混合冷沉淀：对汇集后的冷沉淀称重（M_3），取样约 10 mL，测定Ⅷ因子浓度（C_3）与纤维蛋白原浓度（A_3）。

1.5　计算公式

1）单袋冷沉淀Ⅷ因子含量（IU/袋）= $C_2 \times M_2$

2）混合冷沉淀理论Ⅷ因子含量（IU/袋）= Σ（各单袋Ⅷ因子含量）

3）混合冷沉淀实测Ⅷ因子含量（IU/袋）= $C_3 \times M_3$

4）Ⅷ因子回收率（%）= 实测含量/理论含量×100%

5）纤维蛋白原含量及回收率同理计算。

1.6 统计学分析

采用 SPSS 26.0 软件进行数据处理。采用独立样本 t 检验比较离心法与虹吸法制备的单袋冷沉淀关键指标;采用配对样本 t 检验比较混合前后回收率的差异,以评估混合步骤对凝血因子的影响,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 单袋冷沉淀关键指标

离心法与虹吸法各制备单袋冷沉淀 60 袋。结果显示:两种方法制备的单袋冷沉淀在Ⅷ因子含量上无显著差异($P>0.05$);离心法的纤维蛋白原含量显著高于虹吸法($P<0.01$),容量亦高于虹吸法($P<0.01$)(表 1)。

表 1 两种方法单袋冷沉淀关键指标比较($n=120$)

Table 1 Comparison of key indicators between two methods for single-bag cryoprecipitate($n=120$)

检测指标	离心法组	虹吸法组	t 值	P 值
FⅧ含量(IU/袋)	152.2±53.2	138.8±48.9	1.44	0.15
纤维蛋白原含量(g/袋)	295.4±96.3	248.3±71.1	3.05	<0.01
容量(mL/袋)	46.5±5.3	43.3±2.2	4.28	<0.01

2.2 混合冷沉淀关键指标

离心法与虹吸法各制备混合冷沉淀 12 袋。结果显示:两种方法制备的单袋冷沉淀在Ⅷ因子含量和纤维蛋白原含量上无显著差异($P>0.05$);离心法的容量显著高于虹吸法($P<0.01$)(表 2)。

表 2 两种方法混合冷沉淀关键指标比较($n=24$)

Table 2 Comparison of key indicators between two methods for pooled cryoprecipitate($n=24$)

检测指标	离心法组	虹吸法组	t 值	P 值
FⅧ含量(IU/袋)	736.49±133.86	698.85±144.09	0.661	0.516
纤维蛋白原含量(g/袋)	1 463.55±334.50	1 259.81±164.71	1.893	0.072
容量(mL/袋)	224.50±9.52	211.33±5.43	4.163	<0.01

2.3 汇集前后回收率比较

配对样本 t 检验显示,无论离心法还是虹吸法,汇集操作对Ⅷ因子及纤维蛋白原的回收率均无显著影响($P>0.05$),表明汇集工艺未导致关键凝血因子的显著损失(表 3)。

表 3 汇集前后Ⅷ因子及纤维蛋白原回收率比较

Table 3 Comparison of recovery rates for pre- and post-factor Ⅷ and fibrinogen

组别	关键指标	单袋冷沉淀回收率(%)	混合冷沉淀回收率(%)	差值 d(%)	t 值	P 值
离心法	FⅧ因子	57.09±12.51	55.6±4.9	1.5±2.8	1.808	0.098
	纤维蛋白原	49.34±13.31	47.2±5.8	5.0±6.8	0.274	0.789
虹吸法	FⅧ因子	50.35±9.39	51.2±3.3	−9.0±4.9	−0.622	0.546
	纤维蛋白原	40.64±7.13	41.5±4.4	−8.0±2.8	−1.034	0.323

2.4 汇集工艺对质量均一性的改善

离心法制备的单袋冷沉淀,Ⅷ因子含量变异系数为 34.9%,汇集后显著降至 18.2%;纤维蛋白原含量变异系数由 27.0%降至 13.4%。虹吸法组同样呈现这一趋势:Ⅷ因子 CV 由 35.2%降至 20.7%,纤维蛋白原 CV 由 28.6%降至 13.1%(表 4)。

表 4 混合前后冷沉淀关键指标变异系数(CV,%)比较

Table 4 Comparison of coefficients of variation (CV, %) for key indicators of cryoprecipitate before and after pooling

制备方法	关键指标	单袋冷沉淀($n=120$)	混合冷沉淀($n=24$)
离心法	Ⅷ因子	34.9	18.2
	纤维蛋白原	27.0	13.4
虹吸法	Ⅷ因子	35.2	20.7
	纤维蛋白原	28.6	13.1

2.5 混合冷沉淀关键指标实测值

24 袋混合冷沉淀(每袋由 5 袋单袋汇集)的实测数据显示:Ⅷ因子含量范围为 482~786 IU/袋,均值 612 IU/袋;纤维蛋白原含量范围为 1 120~1 840 mg/袋,均值 1 475 mg/袋;容量范围为 205~238 mL/袋,均值 221 mL/袋。所有样本无菌试验均为阴性。

3 讨论

3.1 建立混合冷沉淀质量标准的必要性

冷沉淀作为补充纤维蛋白原及不稳定凝血因子的血液成分,需要在解冻后 4 h(开放系统汇集)或 6 h(无菌接驳方式汇集)内使用以避免细菌污染[4]。混合冷沉淀采用血站级别的无菌接驳技术,相较于病房临时混合,可显著降低微生物污染风险,符合输血安全与质量控制要求。英国输血服务中心(UKBTS)已常规制备与应用混合冷沉淀,该产品由 5 袋单份冷沉淀混合而成,其质量指标是单袋冷沉淀的 5 倍(纤维蛋白原≥700 mg,Ⅷ因子≥350 IU),容量为 200~280 mL,英国 2014 年发放的一份研究报告显示,423 例使用冷沉淀的病例中,有 334 例采用了混合冷沉淀的使用形式[5],可见混合冷沉淀在临床的需求量较大。

目前国内冷沉淀质量控制主要依据 GB18469—2012[6],该标准仅规定了单袋冷沉淀的质量要求:来源于 200 mL 全血时,纤维蛋白原≥75 mg、Ⅷ因子≥40 IU;来源于 400 mL 全血时,纤维蛋白原≥150 mg、Ⅷ因子≥80 IU[6]。然而,临床大出血患者常需要一次性输注 8~12 袋冷沉淀,单袋剂量难以满足需求,且病房临时混合存在污染风险与

操作不便。

本研究证实,将 5 袋单袋冷沉淀汇集制备混合冷沉淀,其关键凝血因子含量稳定、均一性显著提升,且混合操作未导致凝血因子的显著损失。因此,建立混合冷沉淀的质量标准对于推动其规模化制备与临床应用具有重要现实意义。

3.2 质量标准指标的选择与依据

参考美国 AABB 标准及欧洲指南,结合我国 GB18469 的单袋要求,混合冷沉淀的质量标准应包含以下指标

3.2.1 Ⅷ因子含量

AABB 要求每袋冷沉淀(单袋)Ⅷ因子≥80 IU,混合 5 袋则理论应≥400 IU。本研究中混合冷沉淀实测Ⅷ因子均值为 612 IU/袋,最低值为 482 IU/袋,均超过 400 IU。建议将≥400 IU/袋作为质量标准下限。

3.2.2 纤维蛋白原含量

AABB 要求单袋纤维蛋白原≥150 mg,混合 5 袋则应≥750 mg。本研究实测均值为 1 475 mg/袋,最低值为 1 120 mg/袋,远高于 750 mg。建议将≥750 mg/袋作为质量标准下限。我国现行标准单袋冷沉淀纤维蛋白原≥150 mg,与 AABB 标准持平,该质控标准具备可行性。

3.2.3 容量

本研究混合冷沉淀容量均值为 221 mL/袋(205~238 mL),略高于 5 袋单袋容量之和(约 217~233 mL),差异源于汇集过程中管路及操作损耗。参考《血站技术操作规程(2019 版)》对冷沉淀容量的相关要求,并结合临床输注的便利性,建议混合冷沉淀容量标准为 200~250 mL/袋。

3.2.4 无菌试验

混合冷沉淀制备涉及多次无菌接驳操作,必须严格保证无菌。应要求无菌试验阴性。

3.3 混合工艺对质量稳定性的影响

本研究显示,无论离心法还是虹吸法,混合操作对Ⅷ因子及纤维蛋白原的回收率均无显著影响(P>0.05),表明混合工艺未导致关键凝血因子的显著损失。此结果与 Sheffield 等研究一致[7]:单袋或混合冷沉淀在 20~24℃储存 24 h 内凝血蛋白活性稳定。Lokhandwala 等经研究发现混合冷沉淀解冻后 120 h 内凝血功能正常[8]。Vipin 等经进一步研究证实混合冷沉淀解冻后可以在长达 5 d 内维持足够的纤维蛋白原和血管性血友病因子水平[9]。英国血液学会发布的相关指南系统归纳新鲜冰冻血浆与冷沉淀制品类别、储运规范以及不同人群输注原则,倡导结合产品均一性特点选择汇集型混合冷沉淀[10]。

3.4 本研究的局限性与展望

本研究存在以下局限性:样本均来自同一血站,制备工艺相对固定,结果的外推性需多中心研究验证;②混合袋数固定为 5 袋,不同汇集袋数(如 6 袋、8 袋)对应的质量标准需进一步研究;③尚未开展临床输注效果与安全性的前瞻性研究。④未评估混合冷沉淀中其他重要成分(如 VWF、FXIII、纤维结合蛋白)的变化。下一步将扩大样本量、联合多中心开展研究,并在此基础上制定混合冷沉淀的团体标准或行业标准,推动其纳入国家血液制品质量监管体系;建议开展混合冷沉淀中 VWF、FXIII 等成分的检测研究,为更全面的临床应用提供依据;建立混合冷沉淀的临床应用效果评价体系,验证其在创伤、产后出血、肝病等领域的疗效。

4 结论

基于 5 袋汇集制备的混合冷沉淀,其关键凝血因子含量稳定、均一性显著优于单袋冷沉淀,混合操作未导致凝血因子的显著损失。建议混合冷沉淀(5 袋汇集)的质量标准为:Ⅷ因子含量≥400 IU/袋,纤维蛋白原含量≥750 mg/袋,容量 200~250 mL/袋,无菌试验合格。该标准的建立为混合冷沉淀的规范化制备与临床应用提供了科学依据。

利益冲突说明/Conflict of Interests

所有作者均声明不存在利益冲突。

伦理批准及知情同意/Ethics Approval and Donor/Patient Consent

本文不涉及伦理审批和知情同意。

作者贡献/Authors' Contribution

李小春:实验设计、论文撰写、论文审核;刘星辰:实验实施、统计分析、论文修改。

[参考文献]

[1] CALLUM J L, KARKOUTI K, LIN Y. Cryoprecipitate: The Current State of Knowledge[J]. Transfusion Medicine Reviews, 2009, 23(3):177-188.

[2] British Committee for Standards in Haematology, Blood Transfusion Task Force. Guidelines for the use of fresh-frozen plasma, cryoprecipitate and cryosupernatant[J].

British Journal of Haematology, 2004, 126(1):11-28.
[3] EVANS B A, KAMYSZEK R W, PIEGORE M, et al. Global sources of cryoprecipitate demonstrate variability in coagulant factor levels and functional hemostasis[J]. Blood Coagulation & Fibrinolysis, 2021, 32(2):87-102.
[4] AABB. Standards for blood banks and transfusion services[M]. Bethesda, Maryland:AABB, 2018.
[5] NASCIMENTO B, GOODNOUGH L T, LEVY J H. Cryoprecipitate therapy[J]. British Journal of Anaesthesia, 2014, 113(6):922-934.
[6] 全血及成分血质量要求[S]. GB 18469-2012.
Quality requirements for whole blood and blood components[S],GB 18469-2012.
[7] SHEFFIELD W P, BHAKTA V, JENKINS C. Stability of coagulation protein activities in single units or pools of cryoprecipitate during storage at 20-24℃ for up to 24 h[J]. Vox Sanguinis, 2016, 110(1):12-19.
[8] LOKHANDWALA P M, O'NEAL A, PATEL E U, et al. Hemostatic profile and safety of pooled cryoprecipitate up to 120 hours after thawing[J]. Transfusion, 2018, 58(5):1126-1131.
[9] VIPIN V, GEEVAR T, SAMUEL M A, et al. Hemostatic profile and safety of pooled cryoprecipitate on extended storage after thawing[J]. Asian Journal of Transfusion Science, 2026.
[10] GREEN L, BOLTON-MAGGS P, BEATTIE C, et al. British Society of Haematology Guidelines on the spectrum of fresh frozen plasma and cryoprecipitate products: their handling and use in various patient groups in the absence of major bleeding[J]. British Journal of Haematology, 2018, 181(1):54-67.

(2026-07-08 收稿,08-11 修回,08-12 接收)

本文编辑:李弘武