

Artikel asli

PERBEDAAN KUALITAS *FRESH FROZEN PLASMA* YANG DICAIRKAN DENGAN METODE KONVENSIONAL DAN DENGAN METODE ALAT FFP THAWER

Didin Retno, Ahmad Riza Zainal, Budi D Machsoos, Djoko Heri Hermanto, Shinta Oktya Wardhani
Bagian/SMF Ilmu Penyakit Dalam FK Universitas Brawijaya/RS Saiful Anwar, Malang
Email: didin.retno@yahoo.com

ABSTRACT

Saiful Anwar Hospital (SAH) doesn't have standardized Fresh Frozen Plasma (FFP) liquefying tools. Standard Operating Procedure (SOP) to liquify FFP at SAH is put the FFP on the table until diluted. Recently a new Thawer of FFP was developed in SAH. In this study we compared between the two methods which are conventional and the new one. Thirty two bag of FFP were divided in two different treatments which is group of new Thawer and the conventional. Each liquefied bag of FFP was recorded the time of liquefaction, aPTT, PPT and INR. Statistical analyses using independent T test or Mann-Whitney as alternative. In this study found mean time of liquefaction of FFP on Thawer group were shorter than conventional method 25.32 ± 3.4 vs 50.38 ± 5.52 minutes and statistically significant ($p < 0.05$). Mean of aPTT on new Thawer group is 36.79 ± 5.94 ; but on conventional method is 36.94 ± 5.53 second ($p = 0.67$). Mean of PPT 11.71 ± 0.95 second on new Thawer group and 11.84 ± 2.22 second on conventional method ($p = 0.249$). Mean INR each group were 1.02 ± 0.08 on new Thawer group and 1.03 ± 0.19 on conventional method ($p = 0.234$). This study shows that new FFP Thawer liquify FFP more quickly than conventional method without decreasing the quality of FFP.

Keywords: FFP, Thawer, conventional

PENDAHULUAN

Penggunaan FFP dalam praktek rumah sakit telah meningkat hingga lebih dari 20% dalam beberapa tahun terakhir. Layanan Transfusi Inggris mengeluarkan FFP 365.547 unit dan 94.114 unit cryoprecipitate di tahun 1999 – 2000; 374.760 unit FFP dan 95.456 unit *cryoprecipitate* pada tahun 2000 – 2001, 385.236 unit FFP, dan 88.253 unit *cryoprecipitate* di 2001 – 2002.¹

Plasma adalah cairan, bagian darah non-seluler, dan mengandung air, elektrolit dan protein. Beberapa tipe dari plasma tersedia untuk transfusi. Semua mengandung protein koagulasi, tapi kandungannya relatif berbeda. Semua bisa digunakan pada pasien dengan defisit koagulasi.²

FFP adalah salah satu preparat plasma yang paling sering digunakan, dipersiapkan dalam waktu

6 – 8 jam dan disimpan pada suhu minus 18° C atau lebih rendah hingga 1 tahun. FFP didapatkan dengan cara memisahkan dari *Whole Blood* (WB) atau melalui plasma pheresis. Satu unit komponen FFP biasanya terdiri dari 200 – 300 ml. FFP mengandung semua protein koagulan dan antikoagulan dengan konsentrasi yang sama dengan yang terdapat pada individu normal.^{3,4}

Karena FFP berada dalam bentuk padat setelah dibekukan dibawah minus 18° C, maka harus dicairkan lebih dahulu sebelum bisa dipergunakan. Beberapa cara yang bisa digunakan untuk mencairkan FFP antara lain: 1). Oven kering (inkubator dengan kontrol suhu): cara ini mengurangi kemungkinan terkontaminasinya kantong FFP dengan mikroba, meskipun biasanya kapasitasnya terbatas; 2). Oven *microwave*: meskipun bisa mencairkan lebih cepat

(2 – 3 menit), tapi punya keterbatasan yakni harga yang mahal dan kapasitas yang juga terbatas; 3). *Water baths*: ini yang paling banyak digunakan, yakni kantong FFP dicairkan dalam bak air yang diatur suhunya yakni sekitar 37° C. Tapi sangat penting untuk meletakkan kantong FFP kedalam kantong plastik bersegel untuk melindunginya dari kontaminasi bakteri.⁵⁻⁷

Di RSSA, karena semua alat tersebut diatas tidak tersedia, maka tidak memungkinkan untuk melakukan pencairan FFP sesuai standar di atas. Standard Operating Prosedur (SOP) pencairan di RSSA adalah dengan cara dibiarkan diatas meja. Prosedur ini membutuhkan waktu kurang lebih 40 – 60 menit. Hal ini tentu saja sangat menyita waktu, sehingga menyulitkan bagi petugas, juga menyebabkan tertundanya terapi pemberian FFP terhadap pasien.

Baru-baru ini, tim Quality Control Cycle (QCC) IRNA I RSSA menemukan suatu alat pencair FFP (FFP Thawer) dengan cara menggoyang-goyang kantong FFP didalam kotak tertutup yang didalamnya terdapat semacam pedal yang dapat berputar satu arah, dan terdapat kipas angin yang mengarah ke dalam pada dinding alat tersebut. Prinsip kerja alat ini terdiri dari 2 hal. Pertama adalah penggoyangan kantong FFP dengan kecepatan 100 putaran permenit (rpm), sehingga diharapkan terjadi peningkatan kecepatan pencairan FFP. Yang kedua adalah dengan menambahkan kipas angin dengan arah kedalam kotak yang tertutup, sehingga diharapkan terjadi peningkatan suhu di dalam alat FFP Thawer.

Penelitian ini bertujuan mengetahui perbedaan waktu pencairan antara kedua metode, dan mengetahui apakah terdapat perbedaan kualitas FFP yang dicairkan antara kedua metode, dalam hal ini dinilai dari pemeriksaan faal hemostasis.

Kualitas FFP ditentukan oleh beberapa faktor, antara lain kuantitas faktor koagulasi yang terkandung didalamnya dan tingkat sterilitas

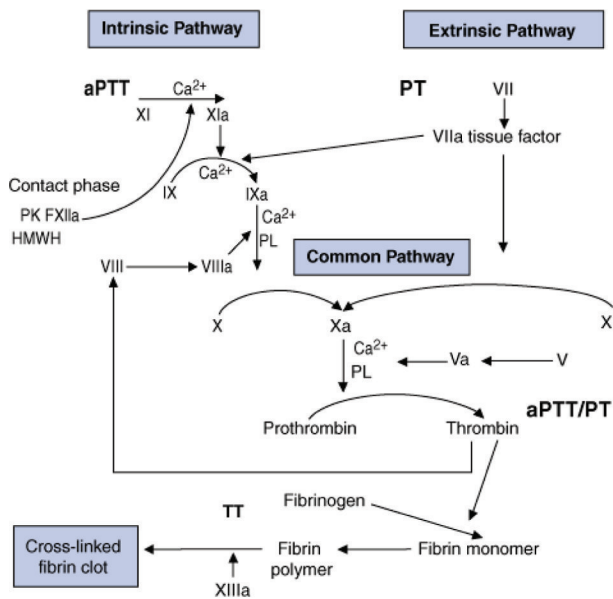
kantong FFP dari kontaminasi bakteri selama proses pencairan.^{8,9}

Faktor koagulasi, sebagaimana protein yang lain, stabilitasnya dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti suhu, kimia (termasuk pH), tenaga fisik (termasuk guncangan), dan biologis (enzim dan mikroorganisme). Suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan denaturasi faktor koagulasi yang merupakan protein, sehingga otomatis mengurangi fungsinya. Tingkat keasaman (pH) yang ekstrem juga akan mengakibatkan denaturasi dan mengurangi faktor koagulasi. Demikian pula guncangan, dapat menyebabkan terjadinya denaturasi faktor koagulasi.¹⁰⁻¹²

Kontaminasi bakteri juga akan sangat berpengaruh terhadap kualitas FFP, selain faktor koagulasi sebagaimana disebutkan diatas, apalagi bila pencairan FFP menggunakan *circulated water bath*.⁵ Untuk mempertahankan kualitas FFP yang sesuai standar yang telah ditetapkan, maka pemrosesan FFP, mulai dari pembuatan hingga pencairan harus sebisa mungkin memperhatikan hal-hal diatas.

Prothrombine Time (PT) dapat digunakan untuk mengukur integritas jalur koagulasi *extrinsic* dan umum (*extrinsic & common coagulation pathways*), yakni faktor I (fibrinogen), II (prothrombin), F V, F VII, dan F X. Sedangkan *activated Partial Thromboplastin Time* (aPTT) mengukur integritas jalur koagulasi *intrinsic* dan umum (*intrinsic & common coagulation pathways*), yakni High-Molecular-Weight Kininogen (HMWK), prekallikrein, serta faktor I (fibrinogen), F II (prothrombin), F V, F VIII, F IX, F X, F XI, & F XII.²² Secara tidak langsung dapat dikatakan, bila terjadi pemanjangan PPT tanpa diikuti pemanjangan aPTT, berarti terjadi defisiensi faktor VII. Pemanjangan aPTT tanpa disertai pemanjangan PPT menandakan defisiensi HMWK, prekallikrein, faktor XII, XI, IX, dan VIII. Sedangkan pemanjangan PPT dan aPTT menunjukkan kemungkinan defisiensi faktor X, V,

prothrombin dan fibrinogen. Hal ini tampak dalam Gambar 1.^{13,14}



Gambar 1. Kaskade koagulasi yang terdiri dari *intrinsic*, *extrinsic* dan *common pathway*, serta pengaruhnya terhadap PPT dan aPTT

BAHAN DAN CARA

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorik, acak, yang dikerjakan pada sediaan FFP (300 ml) yang akan diberikan kepada pasien, yang diperoleh dari PMI Cabang Malang Raya. Proses random menggunakan metode *random number table*, dilakukan oleh peneliti.

Obyek penelitian dikelompokkan secara acak menjadi 2, yaitu: 1). Kelompok perlakuan, yakni FFP yang dicairkan menggunakan alat FFP Thawer; 2). Kelompok kontrol, yakni FFP yang dicairkan secara konvensional. Perlakuan penelitian berupa pencairan FFP dengan menggunakan alat FFP Thawer hingga mencair sempurna (tidak tampak adanya bekuan pada FFP). Sedangkan pada kelompok kontrol, FFP diletakkan diatas meja hingga mencair sempurna.

Evaluasi terhadap obyek penelitian yaitu waktu yang dibutuhkan FFP untuk mencair sempurna (menit). Setelah FFP mencair sempurna, dilakukan

pemeriksaan Faal Hemostasis (FH) yang terdiri dari aPTT, PPT dan INR dengan alat Sysmex CA 500. Pemeriksaan FH dilakukan di Laboratorium Sentral RSSA.

Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah: 1). Sediaan FFP yang diperoleh dari PMI Cabang Malang yang belum mengalami pencairan; 2). FFP diproduksi selama Bulan Januari s/d Desember 2010; 3). FFP diterima pada jam kerja (jam 07:00 – 13:00). Sedangkan kriteria eksklusinya adalah: 1). FFP dengan volume selain 300 ml tiap kantong; 2). FFP yang telah mengalami pencairan

Pengumpulan data pada penelitian ini dilakukan dengan pencatatan waktu pencairan masing-masing FFP. Sedangkan untuk hasil FH, dilakukan pencatatan hasil pemeriksaan FH dari masing-masing sampel FFP. Sampel FFP diberi kode A untuk kelompok perlakuan (pencairan dengan FFP Thawer), dan label B untuk kelompok kontrol (pencairan dengan cara konvensional).

Data disajikan sebagai rerata \pm SD bila data terdistribusi normal, atau nilai median, minimum, maksimum dan interquartile bila data tidak terdistribusi normal. Perbedaan rerata waktu, nilai aPTT, PPT dan INR dianalisis dengan *independent t test* bila memenuhi syarat analisa parametrik. Apabila tidak memenuhi syarat parametrik maka dilakukan uji Mann-Whitney sebagai alternatif. Nilai $p \leq 0,05$ dinyatakan bermakna secara statistik. Analisis statistik menggunakan program SPSS 13.0 for Windows.

HASIL

Dari proses randomisasi data dengan metode tabel angka acak (*random number table*), didapatkan 2 kelompok perlakuan yaitu kelompok Alat Thawer dan Konvensional dengan jumlah n masing-masing 16 FFP. Kelompok A terdiri dari 3 FFP dengan golongan darah O, 4 golongan darah A, 4 golongan darah B dan 5 golongan darah AB. Sedangkan

kelompok Konvensional terdiri dari 5 FFP dengan golongan darah O, 4 golongan darah A, 4 golongan darah B dan 3 golongan darah AB. Semua merupakan golongan darah rhesus positif. Karakteristik dasar yang lain dapat dilihat pada Tabel 1. Dilakukan uji Kruskal-Wallis untuk membandingkan karakteristik dasar kedua kelompok perlakuan, dan didapatkan nilai signifikansi $p > 0,05$ ($p = 0,35$ dan $0,71$), sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak didapatkan perbedaan karakteristik dasar antar kedua kelompok perlakuan.

Rerata waktu pencairan

Rerata waktu yang dibutuhkan kedua kelompok untuk terjadinya pencairan FFP yang sempurna adalah $25,31 \pm 3,40$ menit untuk kelompok alat Thawer dan $50,38 \pm 5,52$ menit untuk kelompok Konvensional. Hasil rerata waktu pencairan kedua kelompok dapat dilihat pada Tabel 2.

Untuk membandingkan rerata waktu kedua kelompok, dilakukan tes normalitas data dengan metode Saphiro-Wilk (karena jumlah sampel total < 50) dan didapatkan nilai signifikansi $p = 0,003$ pada kelompok alat Thawer dan $p = 0,439$ pada kelompok konvensional. Dapat disimpulkan bahwa sebaran data di atas berdistribusi normal ($p > 0,05$). Untuk membandingkan rerata waktu kedua kelompok dilakukan uji independent T. Hasil uji independent T menunjukkan nilai signifikansi $p < 0,001$. Dari sini dapat disimpulkan bahwa rerata waktu yang dibutuhkan untuk mencairkan FFP pada kelompok alat Thawer lebih singkat ($25,31 \pm 3,40$ menit) dibandingkan dengan kelompok konvensional ($50,38 \pm 5,52$ menit) dan bermakna secara statistik ($p < 0,001$). Hasil perbandingan rerata waktu pencairan kedua kelompok dapat dilihat pada Tabel 3.

Rerata nilai aPTT

Rerata nilai aPTT pada kelompok Alat Thawer adalah $36,79 \pm 5,94$, sedangkan pada kelompok konvensional $36,94 \pm 5,53$. Hasil rerata nilai aPTT

kedua kelompok dapat dilihat pada Tabel 2.

Setelah dilakukan uji normalitas data dengan metode Saphiro-Wilk, didapatkan nilai signifikansi $p = 0,103$ pada kelompok alat Thawer dan $p = 0,670$ pada kelompok konvensional. Sehingga dapat disimpulkan bahwa sebaran data terdistribusi normal pada kedua kelompok perlakuan ($p > 0,05$). Karena memenuhi syarat uji parametric, maka untuk membandingkan rerata nilai aPTT kedua kelompok dilakukan uji *independent* T dengan nilai signifikansi $p = 0,942$. Dari hasil ini dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan rerata nilai aPTT antara kedua kelompok perlakuan ($p > 0,05$). Hasil perbandingan rerata nilai aPTT kedua kelompok dapat dilihat pada Tabel 3.

Rerata nilai PPT

Rerata nilai PPT kedua kelompok adalah $11,71 \pm 0,95$ menit untuk kelompok alat Thawer dan $11,84 \pm 2,22$ menit untuk kelompok konvensional. Hasil rerata nilai PPT kedua kelompok dapat dilihat pada Tabel 2. Untuk membandingkan rerata nilai PPT kedua kelompok, dilakukan tes normalitas data dengan metode Saphiro-Wilk dan didapatkan nilai signifikansi $p = 0,059$ pada kelompok alat Thawer dan $p = 0,001$ pada kelompok konvensional. Dapat disimpulkan bahwa sebaran data di atas berdistribusi normal ($p > 0,05$). Karena memenuhi syarat uji parametrik, maka untuk membandingkan rerata waktu kedua kelompok dilakukan uji *independent* T dengan hasil nilai signifikansi $p = 0,249$. Dari hasil ini dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan rerata nilai PPT antara kedua kelompok perlakuan ($p > 0,05$). Hasil perbandingan rerata nilai PPT kedua kelompok dapat dilihat pada Tabel 3.

Rerata nilai INR

Rerata nilai INR kedua kelompok adalah $1.02 \pm 0,08$ untuk kelompok alat Thawer dan $1.03 \pm 0,19$ untuk kelompok konvensional. Hasil rerata nilai INR kedua kelompok dapat dilihat pada Tabel 2. Untuk

membandingkan rerata nilai INR kedua kelompok, dilakukan tes normalitas data dengan metode Saphiro-Wilk dan didapatkan nilai signifikansi $p = 0,089$ pada kelompok alat Thawer dan $p = 0,001$ pada kelompok konvensional. Dapat disimpulkan bahwa sebaran data diatas berdistribusi normal ($p > 0,05$). Karena memenuhi syarat uji parametrik, maka untuk membandingkan rerata waktu kedua kelompok dilakukan uji *independent T* dengan hasil nilai signifikansi $p = 0,234$. Dari hasil ini dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan rerata nilai INR antara kedua kelompok perlakuan ($p > 0,05$). Hasil perbandingan rerata nilai INR kedua kelompok dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 1. Karakteristik dasar

Variabel	Kelompok			P
	Alat Thawer	Konvensional		
Golongan darah#	O	3	5	0,35*
	A	4	4	
	B	4	4	
	AB	5	3	
Lama penyimpanan (bulan)	1	2	2	0,55*
	2	10	8	
	3	4	6	

Rhesus positif
* Uji Kruskal-Wallis

Tabel 2. Analisa deskriptif

Variabel	Deskriptif	Alat Thawer (n = 16)	Konvensional (n = 16)
Waktu (menit)	Rerata ± SD	25,31 ± 3,4	50,38 ± 5,52
	Median (<i>interquartile range</i>)	25,0 (25,0 – 28,75)	50,0 (45,0 – 55,0)
aPTT (detik)	Rerata ± SD	36,79 ± 5,94	36,94 ± 5,53
	Median (<i>interquartile range</i>)	37,15 (31,28 – 40,6)	37,9 (31,48 – 40,63)
PPT(detik)	Rerata ± SD	11,71 ± 0,95	11,84 ± 2,22
	Median (<i>interquartile range</i>)	11,70 (10,93 – 11,98)	11,10 (10,45 – 12,50)
INR	Rerata ± SD	1,02 ± 0,08	1,03 ± 0,19
	Median (<i>interquartile range</i>)	1,02 (0,95 – 1,04)	0,97 (0,91 – 1,08)

SD: Simpang Deviasi

Tabel 3. Perbandingan Rerata dari variabel antar kedua kelompok

Variabel	Rerata ± SD		P
	Alat Thawer	Konvensional	
Waktu pencairan (menit)	25,31 ± 3,40	50,38 ± 5,52	< 0,001 *
aPTT (detik)	36,79 ± 5,94	36,94 ± 5,53	0,942 *
PPT (detik)	11,71 ± 0,95	11,84 ± 2,22	0,249 *
INR	1,02 ± 0,08	1,03 ± 0,19	0,234 *

SD: Simpang Deviasi
*: Uji Independent T

PEMBAHASAN

Kualitas FFP dapat dinilai dari beberapa parameter, yaitu antara lain kuantitas faktor koagulasi yang terkandung didalamnya dan ada tidaknya kontaminasi bakteri dalam kantong FFP tersebut. Kuantitas faktor koagulasi dapat dinilai dari semua kadar faktor koagulasi, yaitu faktor I (fibrinogen), faktor II (prothrombin), faktor V, faktor VII, faktor VIII, faktor IX, faktor X, faktor XI, faktor XII dan faktor XIII. Tapi secara umum, kuantitas faktor koagulasi dalam FFP juga dapat dinilai dari nilai aPTT, PPT dan INR yang menilai jalur koagulasi ekstrinsik atau jalur faktor jaringan

(PPT dan INR), faktor koagulasi jalur intrinsik atau jalur aktivasi kontak (aPTT) dan jalur koagulasi umum (aPTT, PPT dan INR).¹⁵

Perbandingan rerata aPTT, PPT dan INR antara kelompok alat Thawer (FFP yang dicairkan dengan alat thawer) dan kelompok konvensional (FFP yang dicairkan dengan cara konvensional) menunjukkan nilai $p > 0,05$ sehingga H_0 penelitian ini diterima, yaitu tidak terdapat perbedaan antara kedua kelompok. Sedangkan perbandingan rerata waktu pencairan kedua kelompok menghasilkan $p < 0,05$, sehingga H_0 penelitian ini ditolak, yaitu terdapat perbedaan rerata waktu pencairan antar kedua kelompok. Ini membuktikan bahwa penggunaan alat FFP Thawer mempersingkat waktu pencairan FFP tanpa menyebabkan penurunan kualitas FFP, yang ditunjukkan oleh nilai aPTT, PPT dan INR yang tidak berbeda dengan cara konvensional.

Prinsip kerja alat FFP Thawer yang meningkatkan kecepatan pencairan FFP dengan pemutaran searah dengan kecepatan konstan 100 rpm ditambah dengan pemberian kipas angin yang mengarah ke dalam kotak tertutup, mampu meningkatkan kecepatan pencairan FFP tanpa menyebabkan denaturasi protein yang bermakna.

Dari penelitian Reese & Robbins yang meneliti pengaruh guncangan terhadap denaturasi protein (β -Lactoglobulin), didapatkan hasil bahwa dengan kecepatan 100 rpm, tidak didapatkan denaturasi β -Lactoglobulin, sedangkan pada kecepatan 200 rpm didapatkan denaturasi protein dengan laju 0,1 mg/ml/menit. Dengan kecepatan putaran yang lebih tinggi, didapatkan laju denaturasi protein yang eksponensial (laju 1 mg/ml/menit pada 250 rpm dan laju 5 mg/ml/min pada 300 rpm). Sehingga, pada kecepatan putar 100 rpm, diharapkan tidak didapatkan denaturasi dari faktor-faktor koagulasi sehingga nilai aPTT (mewakili faktor intrinsik dan umum), PPT dan INR (mewakili faktor ekstrinsik dan umum) tidak berbeda dengan cara konvensional

yang tidak menggunakan guncangan.¹⁰

Beberapa kelemahan penelitian ini antara lain: 1). Penilaian pencairan FFP dilakukan secara subyektif; 2). Suhu FFP pada awal dan akhir perlakuan tidak diperiksa dikarenakan ketidakterediaan alat; 3). Pengukuran faal hemostasis (aPTT, PPT dan INR) hanya mengukur faktor koagulasi secara kasar, karena idealnya dilakukan pemeriksaan semua faktor koagulasi. Hal ini dikarenakan penelitian ini adalah penelitian pendahuluan untuk mengetahui efek guncangan terhadap faktor koagulasi secara umum; 4). Yang dijadikan pembanding alat FFP Thawer ini bukanlah metode/alat yang standar. Idealnya yang dijadikan pembanding adalah metode/alat pencairan FFP yang standar, yakni *circulated water bath*, oven kering dan oven *microwave*. Ini terpaksa dilakukan karena RSSA tidak memiliki metode/alat standar yang tersebut

KESIMPULAN

Beberapa kesimpulan yang dapat ditarik dari hasil penelitian ini antara lain: 1). Penggunaan alat FFP Thawer dapat mempercepat waktu pencairan FFP, dibandingkan dengan cara konvensional; 2). Tidak terdapat perbedaan kualitas FFP yang dicairkan dengan alat FFP Thawer dan dengan cara konvensional.

Berdasarkan hasil yang kami temukan, maka kami memberikan beberapa saran, seperti perlu penelitian lanjutan tentang efek penggunaan alat FFP Thawer tersebut terhadap masing-masing faktor koagulasi. Selain itu perlu juga dilakukan pemeriksaan suhu FFP sebelum dan sesudah dilakukan pencairan, untuk mengetahui seberapa besar dampak penggunaan FFP Thawer terhadap perubahan suhu FFP yang dicairkannya. Dan terakhir, perlu dilakukan penelitian yang membandingkan penggunaan alat FFP Thawer dengan cara pencairan FFP yang standar, yakni *circulated water bath*, oven kering dan oven *microwave* untuk mendapatkan perbandingan yang lebih baik.

DAFTAR RUJUKAN

1. Stainsby D, Burrowes-King V. A National audit of the use of fresh frozen plasma. NBS. 2001. Available from: [http:// www.nbsweb/med/ca/pf/ffprep.pdf](http://www.nbsweb/med/ca/pf/ffprep.pdf). Accessed on: 16th October 2011.
2. BSCH. BCSH Guidelines on hospital blood bank documentations and procedures. *Journal of Clin LabHaem* 2002;12:209-20.
3. BJH. Guidelines for the use of fresh-frozen plasma, cryoprecipitate and cryosupernatant. The British Society for Haematology 2004;126:11-28.
4. BCSH. BSCH Guidelines for administration of blood products, and management of transfused patients. *Transfusion Medicine* 1999;9:227-38.
5. Council of Europe Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components. 10th ed. Strasbourg: Council of Europe Publishing; 2004.
6. Boström F, Sjö Dahl M, Wehlin L, Egberg N, Lundahl J. Coagulation parameter in apheresis and leukodepleted whole-blood plasma during storage. *Transfusion* 2007;47:460-3.
7. Crookes RL, Hillyer CD. Fresh frozen plasma and related products. In: *Blood banking and transfusion medicine*. 2nd ed. New York: Churchill Livingstone Elsevier; 2007.p. 259-69.
8. Reese ET, Robbins MR. Denaturation of β -lactoglobulin by shaking and its subsequent renaturation. *Journal of Colloid and Interface Science* 1981;83(2):393-400.
9. NBS. Guidelines for the Transfusion Service in the United Kingdom 7th ed. 2005. Available from: [http:// www.nhshealthquality.org](http://www.nhshealthquality.org). Accessed on: 10th October 2011.
10. Lamboo M. Coagulation parameters of thawed fresh-frozen plasma during storage at different temperatures. *Transfusion Medicine* 2007;17:182-6.
11. Isaacs MS. In vitro effects of thawing fresh-frozen plasma at various temperatures 2004;10(2):143-8.
12. Nguyen VT, Morange M, Bensaude O. Protein Denaturation during heat shock and related stress. *The Journal of Biological Chemistry* 1989;264(18):10487-92.
13. Schafer AI. Approach to the patient with bleeding and thrombosis. *Goldman: Cecil Medicine*. 23rd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2007.p.609-15.
14. Handin R. Disorder of coagulation and thrombosis. In: Kasper DL, Fauci AS, Longo DL, Braunwald E, Hauser SL, Jameson JL, editors. *Harrison's principles of Internal Medicine*. 17th ed. New York: The McGraw Hill Companies Inc; 2008.p.680-7.
15. Isaacs MS. In vitro effects of thawing fresh-frozen plasma at various temperatures 2004;10(2):143-8.