

# Método de Dugdale para la Retracción del Coágulo. Estandarización, Evaluación y Comparación con el Método de MacFarlane

N. N. POLINI, J. SELLES Y J. R. A. R. GARCIA.

*Cátedra de Análisis Clínicos II. Departamento de Biología. Universidad Nacional del Sur.*

**Resumen** Se efectuó un estudio comparativo entre los métodos de Dugdale y de MacFarlane para determinar la retracción del coágulo. El método de Dugdale proporciona resultados de 7,5 a 24,8% de suero retenido en el coágulo y hay una estrecha asociación entre éstos y la edad de los sujetos estudiados. Los resultados del método del MacFarlane oscilan entre 35,2 y 54,3% de suero expulsado por el coágulo para los varones y entre 40,5 y 62,5% para las mujeres, siendo estadísticamente significativa esta diferencia. No se halló asociación entre los resultados proporcionados por ambos métodos.

## Introducción

El fenómeno de la retracción del coágulo es un método útil para el estudio de la función plaquetaria alterada y en las trombocitopenias inducidas por drogas (1). Para determinar la extensión de la retracción se han descrito métodos cualitativos simples (2) y métodos cuantitativos basados en la medida del suero expulsado del coágulo, siendo el más difundido el de MacFarlane (3). Nos hemos interesado en el método de Dugdale (4), debido a que se basa en la medida del suero retenido por el coágulo, planteando la determinación desde un ángulo totalmente diferente, lo que abre nuevas perspectivas para el conocimiento del fenómeno de la retracción y, quizás, un método dotado de mayor poder discriminatorio en el diagnóstico de la función plaquetaria alterada.

El método de Dugdale es prácticamente idéntico al de MacFarlane, agregando solamente la ejecución de un microhematocrito al proceso analítico, lo que permite la evaluación simultánea de ambos métodos y su comparación.

El texto de la metodología (4) no aporta mayores precisiones en cuanto a detalles técnicos y valores esperados en sujetos sanos, excepto que éstos deben hallarse por debajo del 20% del suero retenido en el coágulo.

Al efectuar los estudios preliminares para su puesta en marcha, se comprobó que el paso crítico reside en la separación del coágulo luego de operada la retracción, lo que nos llevó a diseñar un extractor del coágulo y estandarizar la técnica, logrando así resultados muy precisos al operar por duplicado.

----

## Dirección Postal:

Departamento de Biología

San Juan 670.

(8000) - Bahía Blanca - República Argentina

En este trabajo se presentan los resultados obtenidos luego de aplicar la metodología desarrollada a un grupo de sujetos sanos, y su evaluación y comparación con el método de MacFarlane.

## Materiales y Métodos

**Extractor del coágulo de sangre.** Construido con alambre de hierro galvanizado de 1 mm de diámetro. Mide 12 cm. de largo total y posee un extremo espiralado de 2 cm. de largo, confeccionado arrollando un extremo de alambre en un clavo de hierro de 4 mm. de diámetro.

**Procedimiento.** Se vierten unos 5 ml de sangre venosa en un tubo de centrifuga graduado al 1/100 y, con la sangre contenida en el tubo, se carga un microhematocrito heparinizado. Se lee el volumen de sangre y se coloca el extractor. Se tapa el tubo con algodón y se coloca en estufa a 37°C durante 4 horas.

Se quita el algodón, se retira el extractor con el coágulo adherido, se espera hasta que no gotee más suero sanguíneo y se lo desecha. Se centrifuga el tubo a alta velocidad durante 3 minutos. Se lee el volumen de los eritrocitos no retenidos en el coágulo y el del suero expulsado.

Se calcula el volumen del coágulo por ciento (VC %) y el volumen de suero retenido por el coágulo por ciento (VSRC %).

$$VC\% = \frac{\text{Vol. sangre} - (\text{Vol. suero} + \text{vol. erit. no ret.})}{\text{Vol. sangre}} \times 100$$

$$VSRC\% = VC\% - (\text{microhematocr.} - \text{erit. no ret})$$

**Grupo de sujetos sanos.** Está constituido por 61 personas de ambos sexos (14 varones y 47 mujeres), y edades comprendidas entre 16 y 45 años, oscilando la edad del 95%

de ellos entre 18 y 31 años. Lo componen 39 alumnos del último año de la carrera de Bioquímica (9 son varones), 20 ingresantes a la Universidad (4 son varones) y un profesor ingresante a la docencia secundaria. Dos varones y 7 mujeres tienen hematocritos considerados por debajo del límite considerado normal (41 y 37% respectivamente). Los resultados de las 7 mujeres con anemia fueron procesados en forma independiente del grupo principal, que quedó constituido por 54 sujetos (14 varones y 40 mujeres).

**Ejecución de las determinaciones.** Todas las determinaciones se efectuaron por duplicado. Las extracciones se hicieron en ayunas, a las 7.30 horas de la mañana.

**Cálculos estadísticos.** Se calculó la imprecisión de los

duplicados mediante la fórmula de Youden (5). Se efectuó la prueba de bondad de ajuste de Kolmogorov Smirnov (6) de los resultados del grupo de mujeres; obtenidos con el método de Dugdale, comprobándose que la distribución no era gaussiana (valor hallado 0,989 para un valor crítico de 0,258  $p < 0,01$ ) por lo que se resolvió describir la muestra mediante el rango, la mediana, la media y el modo. Para verificar si había diferencia por sexo, se utilizó la prueba rápida de Tukey (7). Para medir el grado de asociación se calculó el coeficiente de correlación ( $r$ ) y la recta de regresión lineal por el método de los cuadrados mínimos (8).

### Resultados

En la Tabla I se hallan los resultados del grupo de 54 sujetos

**TABLA I.** Grupo de 54 sujetos (14 varones y 40 mujeres) cuyos hematocritos eran normales. Los resultados están expresados por 100 ml de sangre.

Volúmenes por ciento	Sexo	Rango	Mediana	Media	Modo
Método de Dugdale	varón	8,8 a 21,8	16,2	16,9	15,1
	mujer	7,5 a 24,8	15,8	16,2	13,5
	total	7,5 a 24,8	16,0	16,4	17,7
Método de MacFarlane <sup>1</sup>	varón	35,2 a 54,3	49,4	47,3	53,4
	mujer	40,5 a 62,5	50,0	50,1	50,7
	total	35,2 a 62,5	50,0	49,0	bimodal
Microhematocritos <sup>2</sup>	varón	38,0 a 46,0	43,0	42,8	43,0
	mujer	37,0 a 43,0	39,0	39,2	37,0
	total	35,5 a 64,3	50,0	50,1	50,1
Coágulos					
Erit. no ret. en coag.					
Imprecisión	Dugdale <sup>3</sup>	DE 1,22	CV 7,44%		
	MacFarlane	DE 2,05	CV 4,18%		

1.- La diferencia por sexo es estadísticamente significativa (Tq 16 para un valor crítico de 7  $p < 0,05$ ).

2.- La diferencia por sexo es estadísticamente significativa (Tq 16 para un valor crítico de 7  $p < 0,05$ ).

3.- La diferencia es estadísticamente (F 3,17 para un valor crítico de 1,90  $p < 0,01$ ).

de ambos sexos.

Se halló diferencia significativa por sexo con el método de MacFarlane y entre los microhematocritos, siendo más preciso el método de MacFarlane que el de Dugdale.

En la Tabla II pueden observarse los resultados de los cálculos de asociación estadística del grupo de 54 sujetos. Sólo se halló correlación positiva entre el método de Dug-

**TABLA II.** Resultados del estudio de asociación estadística del grupo de 54 sujetos (14 varones y 40 mujeres). Coeficientes de correlación ( $r$ ) y valores de las pendientes ( $a$ ) e intersecciones ( $b$ ).

	$r$	$a$	$b$
Dugdale y MacFarlane	v - 0,06	- 19,17	- 0,05
	m - 0,02	20,93	0,09
Dugdale y edad <sup>1</sup>	v 0,95	- 11,11	1,21
	m 0,92	9,50	1,09
MacFarlane y edad	v - 0,21	28,30	0,10
	m - 0,13	30,50	- 0,13
Dugdale y microhematocrito	v 0,08	9,90	0,16
	m - 0,03	17,50	- 0,03
MacFarlane y microhematocrito	v 0,15	31,60	0,38
	m 0,01	50,90	- 0,01
Imprecisión Dugdale y microhematocrito	v 0,12	- 0,64	0,06
	m - 0,21	5,37	- 0,10
Imprecisión MacFarlane y microhematocrito	v - 0,05	4,45	- 0,05
	m 0,01	1,67	0,004

1. Excelente correlación para los varones y muy buena para las mujeres.

dale y la edad de los sujetos, siendo excelente para los varones y muy buena para las mujeres. En la Tabla III se hallan los resultados de las 7 mujeres con

microhematocritos con resultado por debajo del límite inferior de normalidad. Puede observarse que se incrementa notablemente la imprecisión de ambos métodos y que existe

**TABLA III.** Resultados del grupo de 7 mujeres con hematocrito por debajo del límite inferior normal, expresados en volúmenes de 100 ml de sangre, y del estudio de asociación estadística. Coeficientes de correlación (r) y valores de las pendientes (a) e intersecciones (b).

Volúmenes por ciento	Rango	Mediana	Media	Modo
Método de Dugdale	11,8 a 22,4	19,4	18,9	18,5
Método de MacFarlane	47,3 a 68,8	50,4	51,0	47,4
Microhematocritos	31,0 a 35,0	34,0	33,6	34,0
Coágulos	41,4 a 52,7	49,6	50,0	46,4
Erit. no ret. en coag.	1,8 a 8,0	2,7	3,5	2,6
Imprecisión	Dugdale DE 4,59	CV 24,28%		
	MacFarlane DE 6,48	CV 12,71%		
Asociaciones	r	a	b	
Dugdale y microhematocrito	0,61	- 27,8	1,39	
MacFarlane y microhematocrito	0,69	112,9	- 1,84	
Imprecisión Dugdale y microhematocrito	0,51	- 31,0	- 1,10	
Imprecisión MacFarlane y microhematocrito	0,45	21,6	0,98	

una leve asociación entre los resultados y los microhematocritos, como así también entre éstos y la imprecisión.

### Discusión

El principal factor involucrado en la extensión del fenómeno de la retracción del coágulo es el número y actividad de las plaquetas. El método de Dugdale mide el suero retenido por el coágulo y el de MacFarlane el expulsado, lo que invita a suponer una estrecha asociación estadística de los resultados (Tabla II), cosa que no ocurrió ( $r = 0,06$  para varones y  $- 0,02$  para mujeres).

Analizando los resultados (Tabla I) obtenidos con el método de Dugdale (media 16,4% y rango de 7,5 a 24,8%), se desprende que los valores del suero retenido por el coágulo oscilan alrededor del + 50% con respecto a su media y efectuando un cálculo similar con el de MacFarlane (media 49,0% y rango de 35,2 a 62,5%), los valores del suero expulsado del coágulo oscilan alrededor del + 20% con respecto a su media.

Con respecto a la fuerte asociación entre los resultados del método de Dugdale y la edad de los sujetos estudiados (Tabla II), no hallamos explicación al respecto, pero opinamos que debe ser un factor o factores independientes del número y actividad de las plaquetas.

Con referencia a la diferencia por sexo hallada con el método de MacFarlane (Tabla I), no descrita en la literatura corriente ni en la consultada (1,2,9), nos parece lógica, pues cuanto menor sea el volumen del coágulo, mayor será la cantidad de suero expulsada del mismo, y habiendo hallado diferencias por sexo entre los hematocritos, también debiera haberla con respecto a la cantidad de suero expulsada del coágulo. Sin embargo, no

se halló correlación entre los resultados y el hematocrito ni entre la precisión y el hematocrito (Tabla II).

Con respecto a los resultados de las 7 mujeres con hematocrito por debajo del límite inferior de normalidad, no difieren de los de las mujeres con hematocrito normal (Tablas I y III). Es oportuno recordar aquí que se ha descrito una asociación entre anemia y los resultados del método de MacFarlane y que existen fórmulas para corregir los resultados en esos casos (9).

En cuanto a los estudios de precisión, el método de MacFarlane es más preciso que el de Dugdale (Tabla II) y no se halló correlación entre la imprecisión y los valores del hematocrito. En el caso de las 7 mujeres con hematocrito bajo, la precisión sufre un deterioro notable, del orden del 376% y 316% para los métodos de Dugdale y MacFarlane respectivamente y se aprecia una leve asociación entre los resultados y los microhematocritos y entre éstos y la imprecisión, lo cual indica que el método opera mejor con niveles eritrocíticos normales.

Con referencia a los 9 sujetos (2 varones y 7 mujeres) con microhematocritos por debajo de lo normal, es oportuno aclarar que todos eran estudiantes universitarios y no vivían con sus padres. La carencia de hierro es la causa más común de anemia (1) y alrededor del 10 al 30% de la población mundial la padece (10). Asumiendo que ésta es la causa de los microhematocritos bajos, el 14,7% de los integrantes de la muestra se hallan en esta circunstancia, lo que si bien nos sorprendió, era esperable.

Y para terminar, nuestra impresión general es que los resultados que proporcionan los métodos Dugdale y MacFarlane, dependen en parte de factores diferentes involucrados en el fenómeno de la retracción del coágulo, por lo que hemos emprendido nuevos estudios para ahondar en la fisiología del proceso.

## Bibliografía

- 1.) WINTROBEM.M.; LEE G.R.; BITHELL T.C.; BOGGS D.R.; ATHENS J.W. and FOERSTER J. Hematología clínica, Intermédica, Buenos Aires, TII, p 15 y 75, 1979.
- 2.) SIBLEY C., "III Procedures used in the thrombosis and hemostasis laboratory" in SCHMIDT R.M., "Hematology procedures manual", Center for Disease Control, Atlanta, p 17, 1978.
- 3.) MACFARLANER.G., "A simple method for measuring clot retraction", Lancet, i: 1199, 1939 in DACIE J.V. and LEWIS S.M., "Practical Haematology", Fourth Ed. J. and A. Churchill Ltd. London, 1974.
- 4.) DUGDALE M., Hematology. Disorders of hemostasis in MILLER S.E. and WELLER J.M. Textbook of Clinical Pathology. The Williams and Wilkins Company, Baltimore, p 165, 1971.
- 5.) YODEN W.J. and STEINER H., "Statistical manual of the Association of Official Analytical Chemists" AOAC, Washington, p 18, 1975.
- 6.) WUG.T., TWOMEY S.L. and THIERS R.E. "Statistical evaluation of method comparison data", Clin.Chem. 1975; 21:315-20.
- 7.) GINDLER E.M. "Some non parametrical statistical tests for quick evaluation of clinical data". Clin.Chem.1975;21:309-14.
- 8.) SNEDECOR G.W. Statistical methods. Fifth Ed. The Iowa State University Press, Ames, Iowa, p 12 y 160, 1962.
- 9.) SUNDERMAN F.W. and BOERNER F. "Normal values in clinical medicine" W.B. Saunders Co. Philadelphia, p 64, 1950.
- 10.) WINTROBE M.M.; LEE G.R.; BITHWLL T.C.; BOGGS D.R.; ATHENS J.W. and FOESTER J. Hematología clínica, Intermédica, Buenos Aires, T.I, p 644-646, 1979.