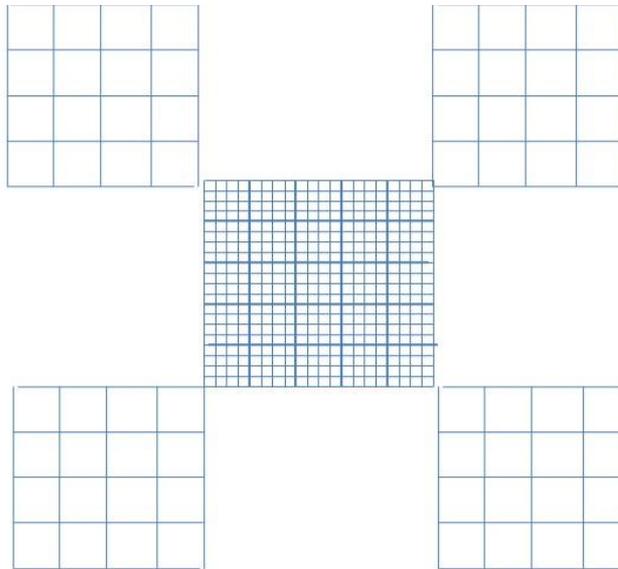


RECUENTO MANUAL DE ERITROCITOS

(Recuento en cámara de
Neubauer mejorada)

FUNDAMENTO

Consiste en realizar una dilución de la muestra de sangre, lleva a cabo el recuento de eritrocitos de un pequeño volumen utilizando para ello una cámara cuentaglóbulos, en nuestro caso y por ser la de uso más extendido, usando la cámara de Neubauer mejorada. A partir de la cifra obtenida, calcularemos el número de eritrocitos o hematíes en las unidades usualmente utilizadas, realizando para ello una estimación estadística teniendo en cuenta la relación de volúmenes (el volumen que nosotros hemos contado realmente y el volumen en que se deben expresar el número de eritrocitos) y la dilución de la muestra.



MATERIAL

Muestra: Sangre anticoagulada con EDTA (Tapón morado)



Materiales:

- Líquido diluyente, puede ser líquido de Hayem o solución salina.
- Cámara de Neubauer mejorada.
- Microscopio.
- Material de laboratorio: pipetas automáticas, tubos, gradillas, etc.



TÉCNICA

1.- Preparamos una dilución 1/200 de la muestra de sangre con líquido de Hayem. Ej.: 20 μl de sangre y 3980 μl de diluyente (3,98 ml).



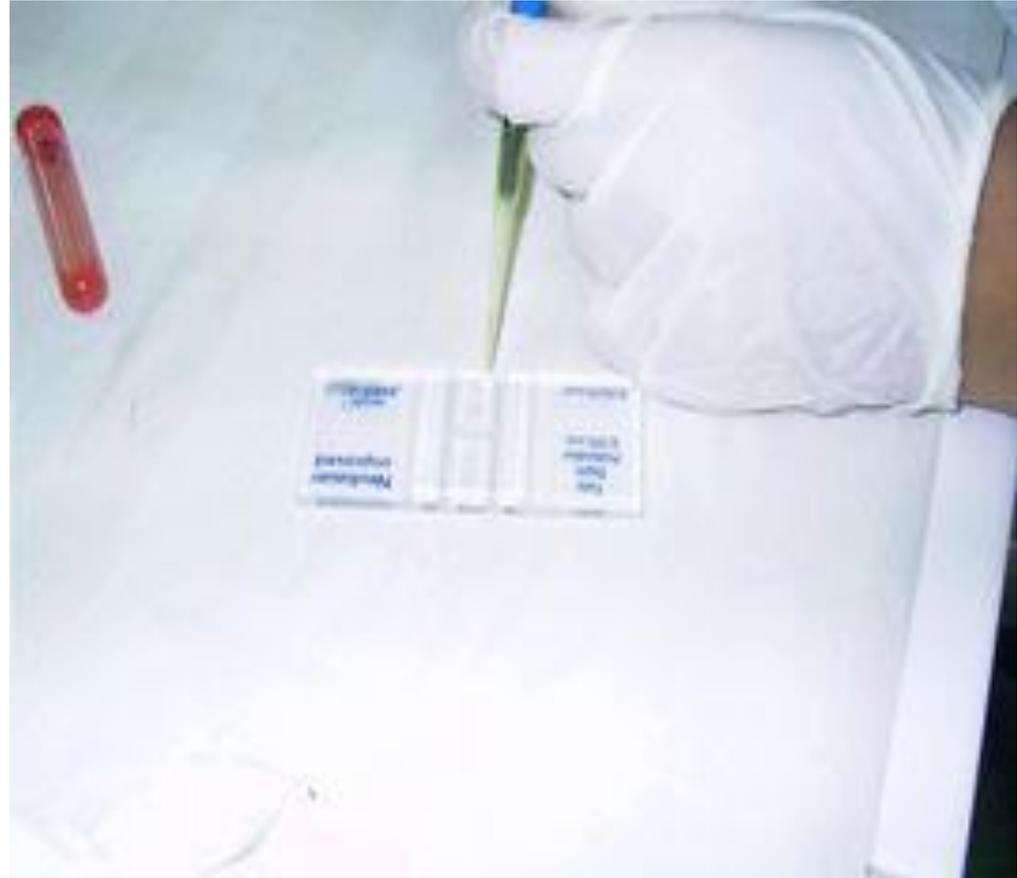
TÉCNICA

2.- Montamos la cámara. Consiste en fijar el cubrecámara sobre la zona de recuento. Para ello desliza el mismo sobre las plataformas de apoyo de la cámara ejerciendo una ligera presión.



TÉCNICA

3.- Llena la cámara con la dilución, usando una pipeta automática o un capilar de hematocrito. Para ello apoya la punta de la pipeta en el hueco que existe entre el cubre cámara y la propia cámara de Neubauer. Llena por capilaridad o descargando muy lentamente la pipeta en la zona de recuento. Dejar reposar de 2 a 3 minutos para que los eritrocitos sedimenten sobre el retículo de recuento.

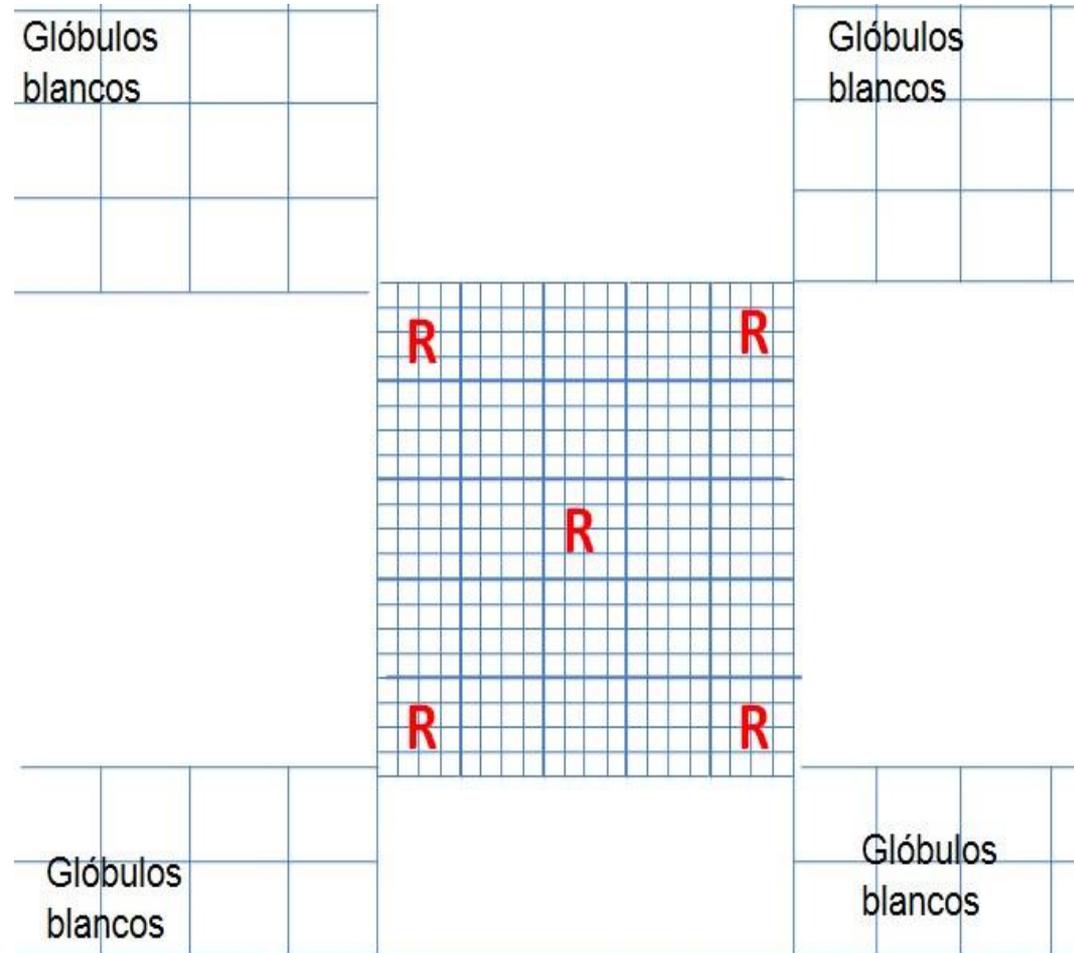


TÉCNICA

4.- Lleva la cámara al microscopio:

- Observa con el objetivo 4X que la distribución de los hematíes es homogénea por toda la zona de recuento.
- Localiza con el objetivo de 10X los cuadrados que vamos a contar.
- Realiza el recuento con el objetivo de 40X.

5.- El procedimiento más utilizado es contar 5 cuadrados medianos (las 4 esquinas y el cuadrado central marcados con la letra **R**) de la zona o retículo destinado al recuento de hematíes.

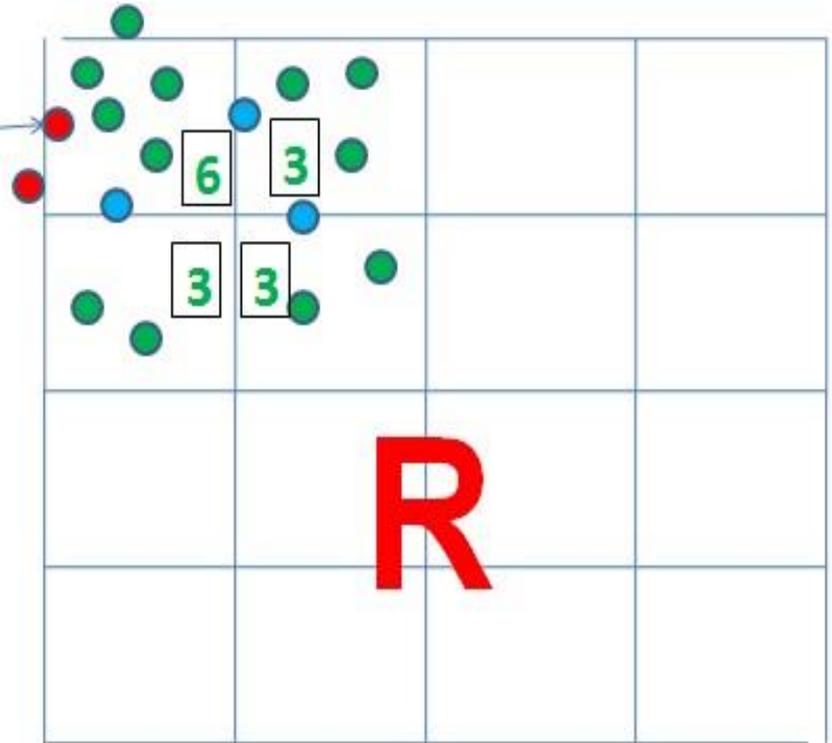


TÉCNICA

6.- La mecánica para contar en cada cuadrado sin cometer errores o dudar sobre que células contar, en especial las depositadas sobre las líneas es la siguiente:

- En cada cuadrado cuenta todos eritrocitos que estén dentro del mismo y además...
- Todos los que toquen las líneas superior y derecha de cada cuadrado.
- Mira la imagen de ejemplo.

Atención, no se cuenta aunque este dentro del cuadro, pero está tocando una línea izquierda.



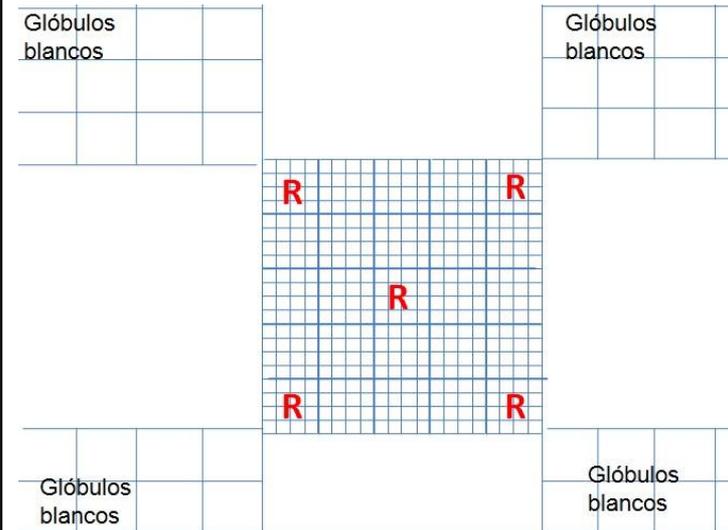
● No se cuentan en ningún cuadro porque tocan las líneas que no se cuentan (izquierda e inferior de cada cuadro)

● Se cuentan en el cuadro donde la línea es la superior o derecha.

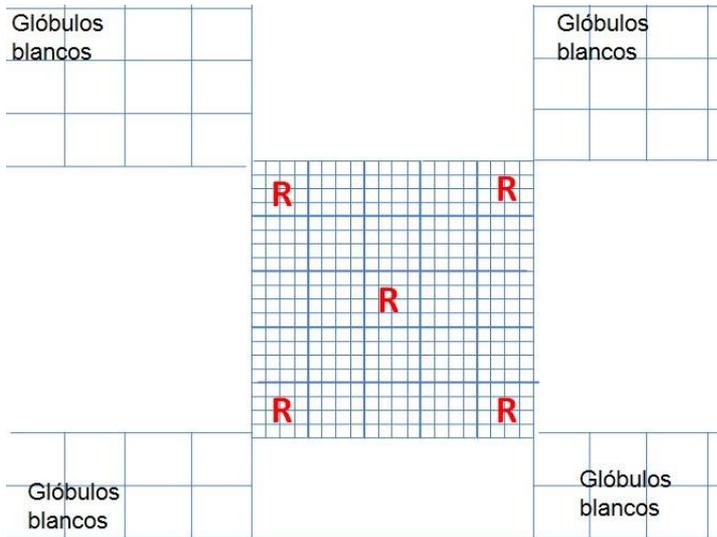
● Se cuentan en ese cuadro

CÁLCULO

- Al contar los 5 cuadrados marcados con **R** hemos contado un volumen de $0,02 \text{ mm}^3$: (lado X lado X altura X 5), es decir ($0,2 \text{ mm} \times 0,2 \text{ mm} \times 0,1 \text{ mm} \times 5$).
- Ahora mediante una proporción hallamos cuantos hematíes hay en un 1 mm^3 o μl . (utiliza si te es más fácil una regla de tres; si en $0,02 \text{ mm}^3$ hay “x” hematíes” en un 1 mm^3 habrá “y” hematíes”.
- Por último, ten en cuenta el número de veces que diluiste la sangre para contar los eritrocitos en la cámara, si es 200 veces, es decir, hiciste una dilución $1/200$, ahora el resultado de la proporción del paso anterior debes de multiplicarlo por 200.



CÁLCULO II(ejemplo)



$$R(90) + R(87) + R(85) + R(81) + R(84) = 427 \text{ hematíes.}$$

$$427 \cdot (1\text{mm}^3 / 0,02 \text{mm}^3) = 2135 \text{ hematíes/mm}^3$$

Por último, multiplicaremos por el factor de dilución, habitualmente 200.

$$2135 \text{ hematíes/mm}^3 \cdot 200 =$$

$$4.270.000 \text{ hematíes/mm}^3$$

CONSIDERACIONES

1. Mantén las reglas de bioseguridad generales; guantes, bata, etc.
2. Prepara todo el equipo y material previamente.
3. Comprueba las condiciones de la muestra: Identificación, ausencia de hemólisis (el sobrenadante no debe estar rojizo), ausencia de burbujas, condiciones de conservación, etc.
4. Los recuentos manuales pueden estar sujetos a grandes variaciones si no se trabaja con extrema pulcritud.
5. Si te demoras en exceso durante el recuento, el volumen de líquido que has depositado en la cámara se va secando, observarás como la gota se va retrayendo, si esto ocurre los datos del recuento no son válidos.
6. Con objeto de paliar este fenómeno, los 2 minutos que debes dejar reposar la cámara antes de empezar a contar, puedes guardarla en una placa petri vacía a la que hemos añadido unas gotas de agua de modo que actúe como “cámara húmeda” y evite la desecación del contenido de la cámara de Neubauer.