

La cámara de Neubauer:

Una guía completa para conteos más precisos

Por Domenico Pavone

La cámara de Neubauer (hematocitómetro ó hemocitómetro) es un instrumento muy usado en muchos laboratorios clínicos, microbiológicos e industriales para estimar la cantidad de células en una muestra. La cámara de Neubauer es un instrumento que requiere experticia y conocer sus alcances, limitaciones, ventajas y desventajas. En este artículo te contamos todo sobre la cámara de Neubauer y algunos consejos para un conteo apropiado.

¿Qué es la cámara de Neubauer?

La cámara de Neubauer es una lámina gruesa de vidrio (30 x 70 mm y 4 mm de grosor) similar a un portaobjetos, diseñada para ser colocada en un microscopio. En su superficie hay dos trazados, cada uno independiente del otro (Figura 1). Al colocar un cubreobjetos sobre la cámara es posible cargar una muestra, la cual es observada al microscopio.

Todas las cámaras de Neubauer reportan dos valores cruciales: el área del cuadro más pequeño y la profundidad de la cámara (Figura 1). Estos datos son usados para conocer el volumen de cada sección de la cámara. Al contar el número de células en un área particular, este valor es dividido entre el volumen de la sección donde se contó expresada en mL, dando como resultado el Número de células /mL.

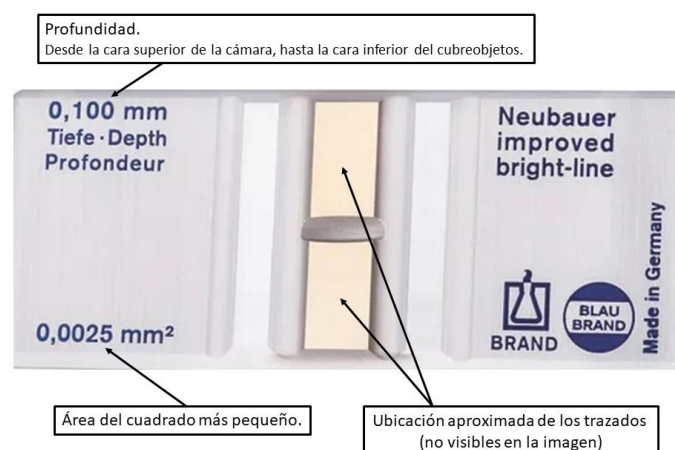


Figura 1. Aspecto de una cámara de Neubauer típica mostrando la ubicación de las dos zonas de conteo y los datos que provee el fabricante para los cálculos.

Cada área de conteo de la cámara de Neubauer tiene una parte central (donde se observan la mayor cantidad de líneas horizontales y verticales entrecruzándose y 4 cuadrados en las esquinas (Figura 2). El área central (marcada como "B" en la Figura 2) se usa para realizar el conteo de células en general, pero en el caso de células

sanguíneas como los glóbulos blancos, se usan los cuadros de las esquinas (señaladas como "A" en la Figura 2), ya que su concentración es menor que los glóbulos rojos y se requiere una mayor área para realizar el conteo. Así, el cuadro central se usa para los glóbulos rojos y plaquetas.

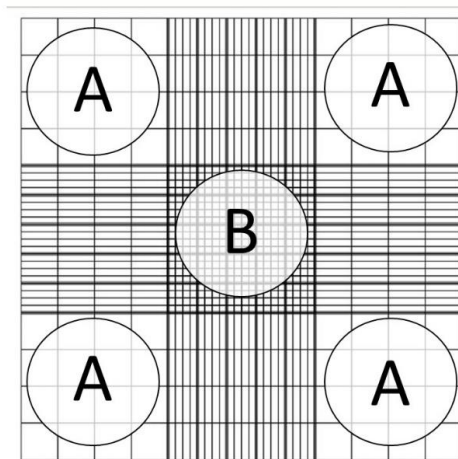


Figura 2. Áreas de trazado de una cámara de Neubauer típica.

Tipos de cámara de Neubauer

En el mercado hay muchas marcas de cámaras de Neubauer, y aunque el principio de funcionamiento es el mismo en cada una de ellas, las áreas de conteo y por consiguiente los volúmenes, pueden cambiar.

Es por ello que antes de usarla, se deben realizar los cálculos de volumen de cada área, para utilizar los valores correctos en los cálculos finales. Los trazados de dos cámaras de Neubauer típicas, pueden observarse en la Figura 3. Con un aumento de 40X es posible observar la totalidad de la cámara. Por ejemplo, en la cámara de la izquierda en la Figura 3, el cuadrado central está dividido en 25 cuadros. Estos cuadros están divididos a su vez en 16 cuadrados más pequeños. De esta forma, el cuadrado central está

compuesto de 400 cuadros pequeños. Nótese que en la cámara de la derecha en la misma Figura, el cuadrado central sólo tiene 16 cuadrados medianos.

¿Cómo se carga la cámara de Neubauer?

Cuando el cubreobjetos es colocado en la cámara de Neubauer cubriendo los trazados, existe una distancia entre la base de la cámara y el propio cubreobjetos. La cámara está diseñada para que esta distancia sea de 0,1 mm. Se debe tener cuidado de no incrementar esta distancia al colocar un exceso de muestra, ya que la profundidad para la cual está diseñada la cámara aumentará y por consiguiente el volumen asociado, dando como resultado un conteo inexacto.

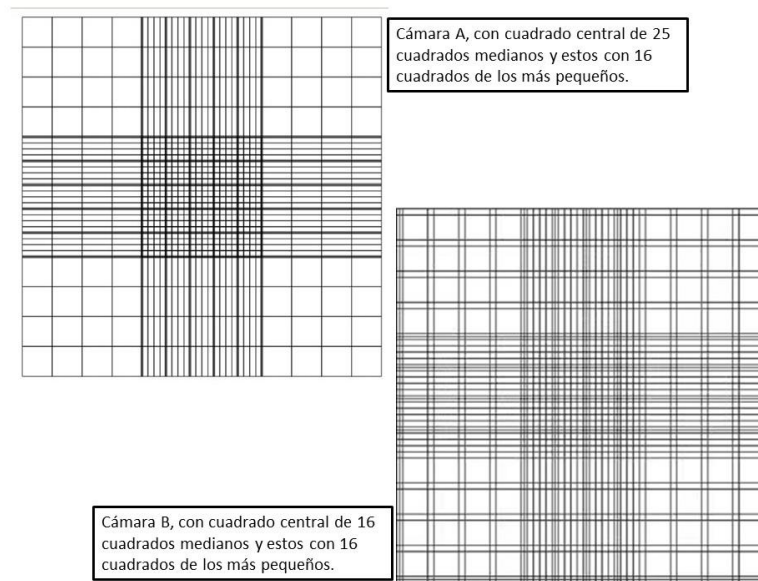


Figura 3. Dos tipos de cámaras de Neubauer detallando las diferencias entre cada una.

Como recomendación, agregue la muestra con una micropipeta (con unos 10 μl es más que suficiente) o con un capilar hasta que se llene la cámara.

Para cargar la cámara, coloque la punta de la pipeta o el capilar en el extremo del cubreobjeto hacia el centro de la cámara. Libere el contenido lentamente, fijándose como el líquido llena el espacio entre la cámara y el cubreobjetos uniformemente. Si quedan atrapadas burbujas o el cubreobjetos se mueve, lave la cámara y cargue de nuevo.

Una vez cargada la cámara, colóquela en el microscopio y ubique el trazado con el objetivo más pequeño y vaya aumentando hasta ver el área que ha escogido para realizar el conteo.

¿Cómo se realiza el conteo en la cámara de Neubauer?

Para el conteo, cada laboratorio puede tener diferentes protocolos, sin embargo, hay una forma común de hacerlo que implica que las células que tocan el lado izquierdo e inferior

del cuadrado que se está observando, son incluidas en el conteo. Sin embargo, las que tocan los lados derecho y superior, no. Este método de no considerar las células sobre algunos bordes puede variar dependiendo de la fuente consultada.

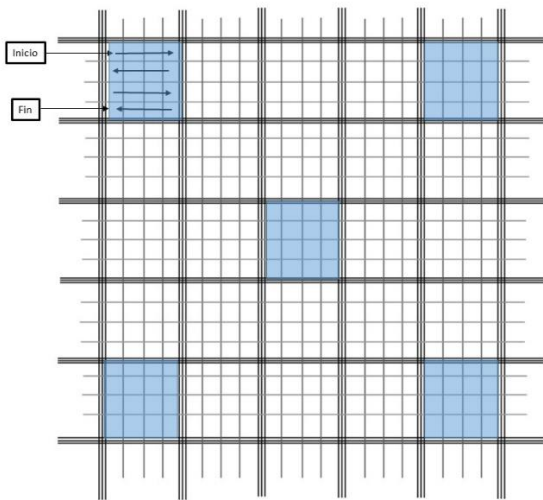
Es importante mencionar que algunos autores han propuesto otra metodología de conteo donde se incluyen todas las células, no importa en qué borde se encuentren, alegando ser más precisa. Puede revisar el artículo en [este enlace](#).

Lo más importante a la hora de contar es utilizar siempre el mismo principio de conteo para todos los integrantes de un laboratorio y especificar en la metodología, cual forma de conteo ha utilizado.

Se recomienda que la dilución de conteo dé como resultado alrededor de 10^6 células /mL, ya que, con concentraciones por debajo de $2,5 \times 10^5$ células /mL la cantidad de células contadas no es suficiente para una estimación adecuada. Por otro lado, por

encima de $2,5 \times 10^6$ es preferible diluir ya que la probabilidad de conteos erróneos se incrementa, así como el tiempo y esfuerzo requerido para procesar la muestra.

En el caso de altas concentraciones, se hace muy fácil confundirse en el conteo, por ello,



se recomienda hacer un conteo en zig-zag de izquierda a derecha y de arriba hacia abajo (Figura 4). Tome en cuenta que mientras mayor sea el número de células contadas, mayor será la exactitud del método.

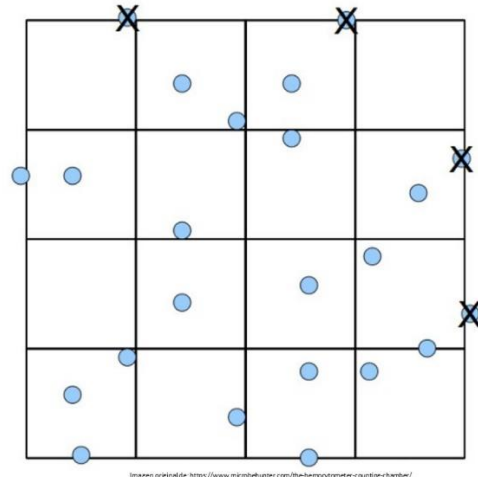


Imagen original de: <https://www.micobehunter.com/the-hemocytometer-counting-chamber/>

Figura 4. Izquierda, cuadrado central mostrando en azul, los cuadros a contar (las esquinas y el centro). Derecha, Detalle de un cuadrado señalado en azul en la figura de la izquierda, mostrando la forma correcta de contar. Las células que tocan los bordes superior y derecho, no se cuentan.

¿Por qué es importante calcular el volumen de la cámara de Neubauer?

La fórmula para calcular el número de células por mL se realiza usando la siguiente ecuación:

$$\text{Nº de células/mL} = \frac{\text{Número de células contadas} \times \text{Dilución}}{\text{Volumen del sector de la cámara usada en el conteo (mL)}}$$

Algo muy importante es usar el volumen correcto, por lo que usted debe calcularlo al adquirir su cámara de Neubauer. Este cálculo se realiza con base en los datos que nos da

el fabricante de la cámara, que generalmente es: $0,0025 \text{ mm}^2$ (área del cuadrado más pequeño y una profundidad de $0,1 \text{ mm}$ (Figura 1). Para calcular el volumen de cada área se usa como base la del cuadrado más pequeño, y partir de esta, se multiplica por el número de cuadros a medida que se va usando un área mayor de la cámara. La Figura 5, muestra algunas medidas importantes para realizar los cálculos. El cálculo específico para cada área, se muestra en la Tabla 1.

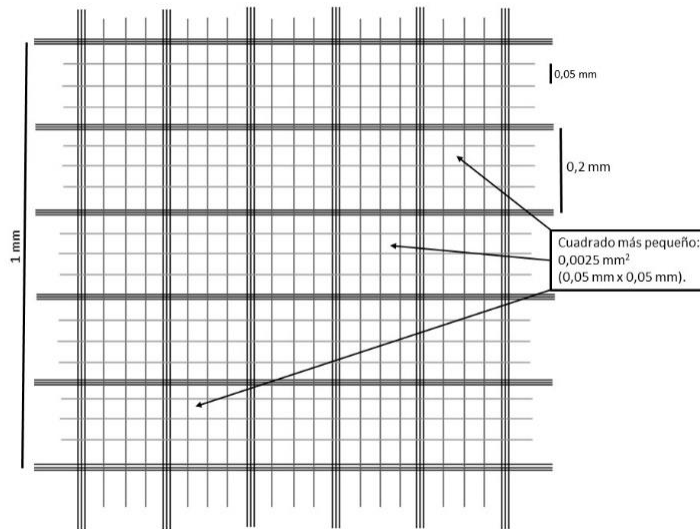


Figura 5. Cuadro central (señalado como “B” en la Figura 2) mostrando algunas medidas clave para los cálculos finales.

Tabla 1. Cálculos de volumen para diferentes áreas de la cámara de Neubauer.

Cuadrado más pequeño	Cuadrado mediano (a la derecha en la Figura 4)	Cuadrado grande (“B” en la Figura 2)
<p>Área = $0,0025 \text{ mm}^2$</p> <p>Por ser un cuadrado, este valor es la multiplicación de dos medidas iguales ($0,05 \text{ mm}$).</p> <p>Convertimos mm en cm: $0,05 \text{ mm} = 0,005 \text{ cm}$</p> <p>El área en cm^2 sería: $0,005 \text{ cm} \times 0,005 \text{ cm} = 0,000025 \text{ cm}^2$</p> <p>La profundidad de la cámara es $0,1 \text{ mm}$ que equivalen a $0,01 \text{ cm}$.</p> <p>El área del cuadrado más pequeño sería: $0,000025 \text{ cm}^2 \times 0,01 \text{ cm} =$ $0,00000025 \text{ cm}^3$ ó mL</p> <p>Si se cuenta sólo en este cuadro más pequeño, habría que dividir el resultado entre este volumen para obtener las células /mL.</p>	<p>Una vez calculado el volumen al contar en el cuadro más pequeño, determinar los volúmenes de áreas más grandes de conteo es más sencillo, porque solo hay que multiplicar por el número de cuadros.</p> <p>Así, si contamos en un cuadrado mediano (señalado en azul en la Figura 4 y que contiene 16 cuadrados de los más pequeños) quedaría:</p> <p>$0,00000025 \text{ mL} \times 16 =$ $0,000004 \text{ mL}$</p>	<p>Para el cuadrado central (señalado como “B” en la Figura 2) multiplicamos el valor anterior por 25, ya que este contiene 25 cuadros:</p> <p>$0,000004 \text{ mL} \times 25 =$ $0,0001 \text{ mL}$</p>

Por lo tanto, si estamos contando en el cuadrado grande central ("B" en la Figura 2) la fórmula sería:

$$\text{Células/mL} = (\text{N}^\circ \text{ de células} \times \text{dilución}) / 0,0001 \text{ mL}$$

En la Figura 4 (izquierda) se señalan en azul los cuadros que se deben contar (cuatro esquinas y el centro). Para ello, cuente el número de células en cada uno de los cinco cuadros, calcule el promedio y multiplique por los 25 cuadros que componen a "B". De esta forma, tendrá el número de células totales para "B" y podrá usar el volumen de 0,0001 mL para realizar el cálculo.

¿Cuál cámara de Neubauer debo comprar?

Si estás buscando comprar una cámara de Neubauer para tu laboratorio o para tus

estudios universitarios, te puedo ayudar con algunas recomendaciones que de forma personal usaría para escoger una para mí.

En primer lugar, a mí me gustan las cámaras con 25 cuadros medianos en el cuadro central, en mi caso facilitan el conteo. Además, jamás compraría una cámara de Neubauer que no tenga las líneas brillantes, las que no las tienen así, son una auténtica pesadilla de conteo. Hay algunas que tienen sujetadores del cubreobjetos para que este no se mueva, esto pudiera ser una ventaja, pero no es crítico. Finalmente, compraría la cámara junto con una caja de cubreobjetos gruesos especiales para la cámara que le dan mayor exactitud al conteo. A continuación, te dejo algunas opciones que te pueden servir, pulsa la foto para seguir el enlace.



7 consejos adicionales al usar la cámara de Neubauer

(1) Es común que el error experimental se encuentre entre el 20 y 30 % debido al pipeteo, las diluciones y la homogeneidad de la muestra en cada alícuota que se toma, ya

sea para cargarla en la cámara o para hacer diluciones. A pesar de este amplio margen de error, la cámara de Neubauer se mantiene como uno de los métodos más usados en la estimación de células en muestras. Pero la clave está en mantener estas fuentes de error en su mínima expresión.

(2) La suspensión para el conteo debe ser homogénea, y las células a contar deben estar separadas entre sí. Por ello, para células que son muy hidrofóbicas como las esporas de los hongos, se recomienda usar agentes tensoactivos como Tween 80 al 0,5 % y agitar muy bien para evitar estas aglomeraciones.

(3) La concentración de células no debe ser ni muy alta ni muy baja. En altas concentraciones, las células se superponen y dificultan el conteo. Por el contrario, si se diluye mucho la muestra y es muy baja la cantidad de células, dará como resultado un mayor error experimental y será necesario contar más cuadros.

(4) ¿Cuántos cuadros debo contar? Mientras más baja la concentración, más cuadros se

deberán contar. Es aconsejable realizar el conteo en dos o más cuadros. Si el resultado es muy diferente, esto es indicativo de errores en el muestreo.

(5) Use cubreobjetos especiales para la cámara de Neubauer, ya que son más gruesos que los cubreobjetos estándar de 0,15 mm, por lo que son menos flexibles y la tensión superficial del fluido no lo deformará.

(6) Si las células se mueven son difíciles de contar, por lo que habrá que usar algún protocolo para inmovilizarlas.

(7) La cámara de Neubauer es mucho más gruesa que un portaobjeto normal, por lo que deberá tener cuidado al enfocar para no chocar el objetivo contra la cámara ya que puede dañarse alguno de los dos.

La cámara de Neubauer es un instrumento muy útil para estimar la cantidad de células en una muestra, pero son muchos los detalles que se deben tomar en cuenta para obtener resultados confiables. Toma nota de los consejos que aquí te damos y mejora tus conteos.



Domenico Pavone es biólogo y especialista en protección vegetal. 20 años como profesor universitario y autor de artículos científicos en microbiología, biotecnología, biocontrol de plagas y enfermedades agrícolas.