



Introducción de metodología docente multimedia en las prácticas de hematología: recuento de células sanguíneas mediante el uso de la cámara Neubauer

Multimedia teaching methodology in hematology practices: blood cell count using Neubauer chamber

Begoña Pineda Merlo^a, María Pascual Mora^b, Ana Lloret Alcañiz^c, Elena Obrador Pla^d y Marta Piqueras Franco^e

^aUniversitat de València, Facultad de Medicina y Odontología, begona.pineda@uv.es; bepimer@upvnet.upv.es, <https://orcid.org/0000-0002-8939-9059>,

^bUniversitat de València, Facultad de Medicina y Odontología, maria.pascual@uv.es, <https://orcid.org/0000-0003-1420-631X>,

^cUniversitat de València, Facultad de Medicina y Odontología, ana.lloret@uv.es, <https://orcid.org/0000-0003-0266-0304>,

^dUniversitat de València, Facultad de Medicina y Odontología, elena.obrador@uv.es, <https://orcid.org/0000-0002-5934-5543> y

^eUniversitat de València, Facultad de Medicina y Odontología, marta.piqueras@uv.es, <https://orcid.org/0000-0002-3748-7444>.

How to cite: Pineda B, Pascual M, Lloret A, Obrador E y Piqueras M. 2022. Multimedia teaching methodology in hematology practices: blood cell counting using Neubauer chamber. En libro de actas: *VIII Congreso de Innovación Educativa y Docencia en Red*. Valencia, 6 - 8 de julio de 2022. <https://doi.org/10.4995/INRED2022.2022.15920>

Abstract

Blood cell count is a technique widely used both in clinical and in research, and is essential in the area of health in order to identify the presence of hematological alterations. With the aim of incorporating teaching innovation and improvement methods in the Hematology practices of the Physiology subject, in the Medicine Degree and in different degrees of Health Sciences area, we opted for the use of multimedia material based on the projection of a video that include the following aspects: 1) Introduction of the basis of the blood cell count. 2) Structure and use of the Neubauer camera. 3) Manipulation and preparation of blood samples. 4) Management of the microscope. 5) Count and calculation of the concentration of erythrocytes and leukocytes in the sample. 6) Interpretation of values. The expected results with the introduction of this methodology are: 1) Strengthen the understanding of Physiology concepts related to practice. 2) Optimize class time improving the development of the session. 3) Maintain and improve the attention, motivation, reflection and actions of the students in the laboratory.

Keywords: *innovation, multimedia teaching methodology, video, practical class, blood cell count, erythrocytes, leukocytes, Neubauer chamber*

Resumen

El recuento de células sanguíneas es una técnica muy utilizada de forma rutinaria, tanto en clínica como en investigación, y resulta imprescindible en el área de la salud para poder identificar la presencia de alguna alteración a nivel hematológico. Con el objetivo de incorporar métodos de innovación y mejora docente en las prácticas de Hematología de la asignatura de Fisiología, impartida en el Grado de Medicina y en distintos grados del área de las Ciencias de la Salud, optamos por el uso de material multimedia basado en la proyección de un vídeo que recoge los siguientes aspectos: 1) Introducción del fundamento del recuento celular sanguíneo. 2) Estructura y uso de la cámara Neubauer. 3) Manipulación y preparación de muestras de sangre. 4) Manejo del microscopio. 5) Recuento y cálculo de la concentración de eritrocitos y leucocitos en la muestra. 6) Interpretación de los valores. Los resultados previstos de la introducción de esta metodología son: 1) Reforzar la comprensión de los conceptos de Fisiología referentes a la práctica. 2) Optimizar el tiempo en clase repercutiendo positivamente en el desarrollo de la sesión. 3) Mantener y mejorar la atención, la motivación, la reflexión y las acciones del alumnado.

Palabras clave: *innovación, metodología docente multimedia, vídeo, clase práctica, recuento de células sanguíneas, eritrocitos, leucocitos, cámara Neubauer..*

1. Introducción

La sangre cumple múltiples funciones en nuestro organismo. Su composición y propiedades pueden verse modificadas en situaciones fisiológicas y patológicas muy diversas. Estas variaciones pueden detectarse mediante diferentes pruebas hematológicas, como es el caso del recuento de células sanguíneas (RCS), un estudio hematológico que consiste en la determinación de la concentración de las células presentes en la sangre circulante (eritrocitos, leucocitos y plaquetas y eventualmente reticulocitos).

El RCS es una técnica muy utilizada de forma rutinaria, tanto en clínica como en investigación, y que aporta información importante sobre el estado de los pacientes, por lo que su conocimiento resulta imprescindible en el área de la salud para poder identificar la presencia de alguna alteración a nivel hematológico.

Tradicionalmente el RCS se ha realizado mediante el uso de un dispositivo llamado cámara de Neubauer (también llamado cámara de recuento o hemocitómetro) y la ayuda de un microscopio óptico aunque, actualmente, el recuento de células sanguíneas suele realizarse por citometría del flujo por tratarse de un método de análisis más rápido y más económico. Pese a ello, debe señalarse que el RCS por microscopía óptica mediante la cámara de Neubauer es todavía a día de hoy un método de referencia internacional, por lo que se considera indispensable el conocimiento de su uso tanto en el campo de la hematología como en el de la investigación.

Teniendo en cuenta que es una técnica hematológica de gran importancia, el recuento de células sanguíneas es una actividad de laboratorio que se realiza en la asignatura de Fisiología Medica I del Grado de Medicina (Asignatura 34450, grupos AR, B, C y V) y también en diferentes Grados de Ciencias de la Salud de la Universidad de Valencia como:

- Farmacia (34070)
- Fisioterapia (34365)
- Nutrición Humana y Dietética (33932)
- Podología (34325)
- Enfermería (34365)
- Ciencias de la Actividad Física y el Deporte (33207)

Teniendo en cuenta la importancia de la práctica en los diferentes grados mencionados, se planteó introducir métodos de innovación docente mediante la incorporación de material multimedia.

2. Objetivos

Con la finalidad de incorporar métodos de innovación docente y mejorar el modelo de la práctica de RCS actual, optamos por el uso de material multimedia complementario. Para ello, hemos creado un vídeo en el que se muestra cómo realizar un recuento de células sanguíneas en el laboratorio mediante el uso de la cámara Neubauer.

El objetivo principal de esta innovación docente es conseguir que los estudiantes de los grados mencionados anteriormente (cada uno de estos grados se estima un número aproximado de 300 alumnos) se familiaricen con el material, la técnica y los conceptos necesarios para realizar el RCS mediante la visualización del vídeo antes de realizar la práctica en el laboratorio y, de esta forma, favorecer la comprensión y el aprendizaje de la práctica además de potenciar la atención y la motivación del alumnado en clase.

3. Desarrollo de la innovación

La creación del vídeo como material multimedia de mejora docente ha sido realizada con ayuda del Soporte Técnico del Servicio de Formación Permanente e Innovación Educativa (SFPIE) de la Universidad de Valencia gracias a la concesión de un proyecto de innovación docente por la Universidad de Valencia (UV-SFPIE_RMD18-951047), y ha sido grabado en las instalaciones del Servicio de Cultivos Celulares de la Unidad Central de Investigación de la Facultad de Medicina de Valencia.

El vídeo recoge los siguientes aspectos de la práctica: 3.1) Introducción del fundamento del recuento celular sanguíneo. 3.2) Estructura y uso de la cámara Neubauer. 3.3) Manipulación y preparación de muestras de sangre. 3.4) Manejo del microscopio. 3.5) Recuento y cálculo de la concentración de eritrocitos y leucocitos en la muestra. 3.6) Interpretación de los valores.

A continuación se detalla el contenido de cada una de las partes del vídeo y se muestran imágenes extraídas del mismo:

3.1 Introducción del fundamento del recuento celular sanguíneo

El recuento de células sanguíneas es la determinación del nº de células que tenemos en la sangre por unidad de volumen (Figura 1). Es una técnica muy utilizada de forma rutinaria, tanto en clínica como en investigación, y resulta imprescindible en el área de la salud para poder identificar la presencia de alguna alteración a nivel hematológico.

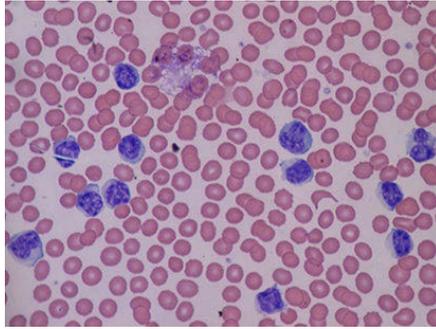


Fig.1 Microfotografía de células sanguíneas

Para realizar un recuento de células sanguíneas o de cualquier otro tipo celular, se pueden utilizar métodos automatizados, como es el caso de los citómetros (Figura 2), muy utilizados en el ambiente hospitalario, o métodos manuales como es el caso de la cámara Neubauer y el microscopio óptico, muy utilizados sobre todo en investigación (Figura 3).



Fig.2 Imagen de un citómetro



Fig.3 Imagen de un microscopio

3.2 Estructura y uso de la cámara Neubauer

La cámara Neubauer (Figura 4), también denominada cámara de recuento, cámara cuentaglóbulos o hemocitómetro), es un dispositivo que permite determinar al microscopio el nº de células por unidad de volumen de un líquido que, en el caso de la sangre podría ser, por ejemplo, el nº de eritrocitos por unidad de sangre o mm³.



Fig.4 Imagen de la cámara Neubauer

Se trata de un portaobjetos de vidrio grueso atravesado por unos surcos transversales y longitudinales que dividen a la cámara en 4 zonas (Figura 5): dos zonas laterales (rojo) donde se apoyará el cubreobjetos, y dos zonas centrales (azul) donde se depositará la muestra de sangre y se podrá realizar el recuento celular gracias a la existencia de una cuadrícula visible al microscopio.

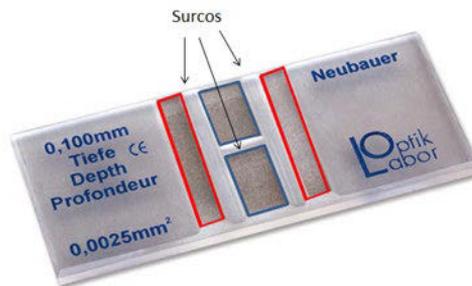


Fig.5 Imagen de la estructura de la cámara Neubauer

Hay que tener en cuenta que, si miramos la cámara de perfil, la zona lateral de la cámara difiere en altura de la zona central en 0.1 mm (Figura 6). Este dato será importante para calcular el nº de células en la muestra.



Fig.6 Imagen del perfil de la altura de la cámara Neubauer

La cuadrícula que encontramos en la zona central de la cámara es la que nos permitirá hacer el recuento de células. Vista al microscopio (figura 7) esta cuadrícula presenta un aspecto de cruz en la que se pueden diferenciar 9 cuadrados de los cuales los más importantes serán el cuadrado central (5), donde se realizará el recuento de eritrocitos, y los 4 cuadrados laterales (1, 3, 7 y 9) donde se realizará el recuento de leucocitos.

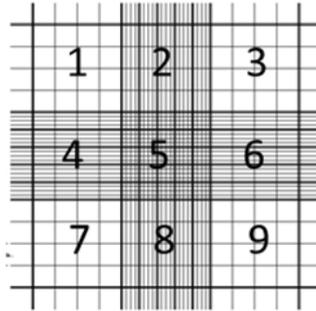


Fig.7 Imagen de la estructura de la cuadrícula de la cámara Neubauer

3.3 Manipulación y preparación de muestras de sangre.

Una vez recibida la muestra de sangre, en un tubo anticoagulante, lo primero que se deberá hacer será invertir suavemente el tubo para la homogeneización de la muestra. Para facilitar el recuento celular se realizará una dilución de la muestra de sangre (Figura 8 y 9). En el caso de los eritrocitos, el reactivo utilizado es el líquido Dacie que se trata de un líquido isotónico que no rompe a las células y que además, contiene formaldehído, como fijador celular, y citrato sódico, como anticoagulante. En un tubo limpio, se hará una dilución 1/200 poniendo 995ul de Dacie y 1 ul de sangre mezclando nuevamente con suavidad para su homogeneización.

Para recuento de leucocitos se realizará del mismo modo pero teniendo en cuenta las siguientes excepciones: el diluyente utilizado es el líquido Turkey. Se trata de un líquido hipotónico que contiene ácido glaciario que lisa los hematíes de la muestra facilitando una mejor visión de los leucocitos al microscopio. Además, contiene violeta de genciana que permite teñir ligeramente a los glóbulos blancos puesto que estos son incoloros. Teniendo en cuenta que el nº de glóbulos blancos en sangre es menor que el nº de eritrocitos la dilución utilizada en este caso será menor (1/20) por lo que se utilizará 150ul del reactivo Turkey y 50 ul de la muestra de sangre.



Fig.8 Manipulación de la muestra de sangre



Fig.9 Preparación de las diluciones

Tras realizar las diluciones correspondientes y con la cámara limpia, se colocará un cubre en la superficie de la cámara (Figura 10). Con una pipeta se tomará 10 μ l de la muestra de sangre diluida y se la depositará poco a poco en la cámara apoyando la punta de la pipeta en los laterales superior o inferior del cubre e introduciendo la muestra con suavidad para evitar que la muestra se desborde o que se produzcan burbujas. Es recomendable mantener cierta inclinación entre la punta de la pipeta y la cámara para facilitar la entrada de la muestra por capilaridad (Figura 11).



Fig.10 Montaje de la cámara Neubauer



Fig.11 Llenado de la cámara Neubauer con la muestra

3.4 Manejo del microscopio

Una vez tenemos la muestra en la cámara ya puede observarse al microscopio (Figura 12). El enfoque se empezará con el objetivo 4x para localizar y enfocar la cuadrícula y comprobar que la distribución de las células es homogénea. Tras realizar el enfoque se cambiará al objetivo hasta llegar al de 40 x para poder observar las células a más aumentos realizando únicamente el ajuste del enfoque micrométrico (Figura 13).



Fig.12 Imagen del enfoque de la cuadrícula de la cámara Neubauer al microscopio

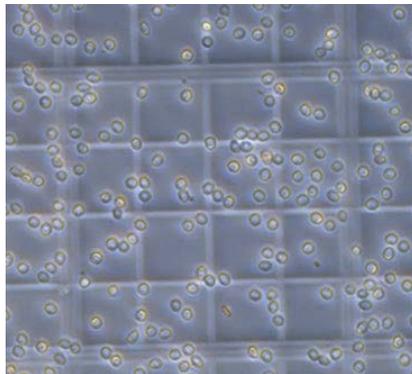


Fig.13 Imagen al microscopio de la distribución de las células en la cuadrícula

3.5 Recuento y cálculo de la concentración de eritrocitos y leucocitos en la muestra

El recuento de eritrocitos se realiza en el cuadrado central de la cuadrícula. Se trata de un cuadrado de 5x5 dividido al mismo tiempo en 16 cuadraditos pequeños cada uno (Figura 14).

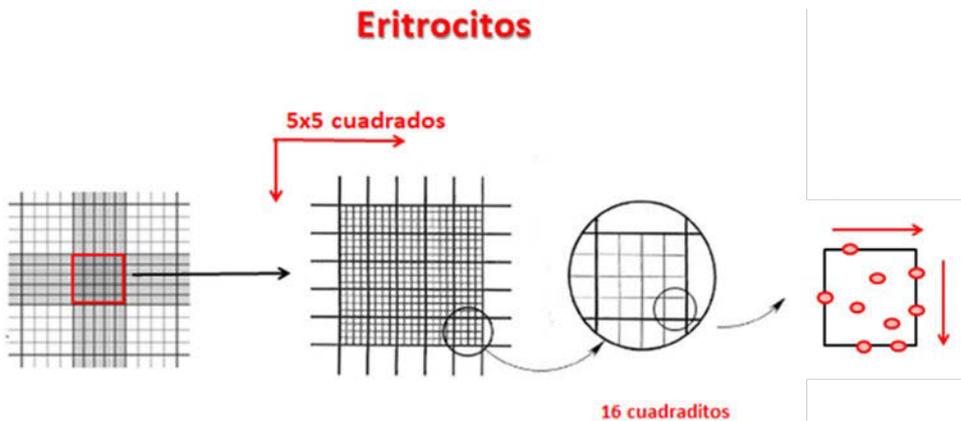


Fig.14 Imagen de la estructura de la cuadrícula central para el recuento de eritrocitos

Para un buen recuento, se recomienda contar 80 cuadraditos como mínimo teniendo en cuenta solo los eritrocitos que quedan dentro y los que se encuentran sobre los bordes superior e izquierdo, y hacer la media. Para calcular el nº de eritrocitos por mm³ en nuestra muestra hay que tener en cuenta el volumen de cada cuadradito. Puesto que tienen una superficie de 0.0025 mm² y la altura de la cámara hemos visto que es de 0.1 mm, el volumen de cada

cuadradito será de 0.00025 mm³, por lo tanto, ya podremos saber cuántos eritrocitos por mm³ tenemos en nuestra muestra diluida. Si a este resultado lo multiplicamos por el factor de dilución aplicado (200) tendremos el nº de eritrocitos / mm³ que tenemos en la muestra original (1).

$$[(\text{n}^\circ \text{ de glóbulos rojos totales})/80] * 1 \text{ mm}^3 / 0.00025 \text{ mm}^3 * 200 \quad (1)$$

Los glóbulos blancos son de menor tamaño que los glóbulos rojos por lo que el recuento se hará en los 4 cuadrados laterales. Cada uno de ellos está dividido en 16 cuadrados pequeños (Figura 15).

Leucocitos

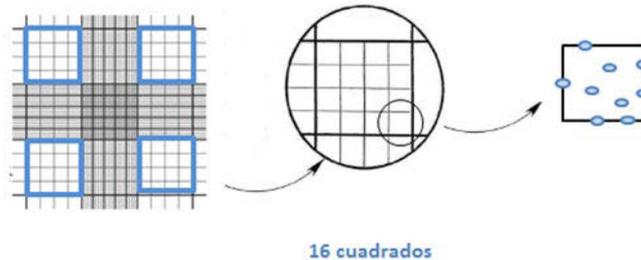


Fig.15 Imagen de la estructura de las cuadrículas laterales para el recuento de eritrocitos

Para un buen recuento celular, se cuentan las células contenidas en el interior de los 16 cuadrados pequeños y las del margen superior y derecho, es decir, se cuentan los 4 cuadrados grandes en su totalidad y se hará su media. Como estos cuadrados grandes tienen 1 mm² de superficie y conocemos la altura de la cámara (0.1 mm), el volumen de cada cuadrado será de 0.1 mm³ por lo que podremos saber el nº de glóbulos blancos por mm³ en la muestra diluida, que multiplicado por su factor de dilución (20) nos daría el nº de glóbulos blancos por mm³ en la muestra original (2).

$$[(\text{nº de glóbulos blancos totales})/4] * 1 \text{ mm}^3 / 0.1 \text{ mm}^3 * 20 \quad (2)$$

3.6 Interpretación de los valores

Los valores obtenidos del recuento de células sanguíneas siempre deben interpretarse junto con otros parámetros como la forma y aspecto de los glóbulos rojos, concentración de hemoglobina, hematocrito, y junto a índices hemáticos como VCM (volumen corpuscular medio), HCM (hemoglobina corpuscular media) y CCMH (concentración corpuscular media de hemoglobina). Aun así, se estima que un recuento normal de eritrocitos debe que estar en torno a 4-5 millones de eritrocitos/ mm³ de sangre. Valores disminuidos estarán relacionados con cuadros de anemia mientras que valores aumentados estarán relacionados con deshidratación, cardiopatías, tabaquismo y enfermedades pulmonares crónicas.

Para el recuento de leucocitos, los valores normales están entre 5.000 y 11.000 leucocitos/mm³ de sangre. Cualquier valor alejado de estos intervalos se consideraría anómalo. Un aumento en los valores de leucocitos estaría relacionado con algún proceso infeccioso, toma de medicamentos, etc... mientras que una disminución (leucopenia) estaría relacionada con alguna patología a nivel de la médula ósea.

4. Resultados

El vídeo ha sido depositado en el servidor multimedia de videostreaming de la Universitat de València (MMedia) para que los alumnos puedan acceder a él mediante el enlace proporcionado por el profesorado a través de Aula Virtual (https://mmedia.uv.es/html5/g/cream/64760_neubauer.mp4) y así poder visualizarlo antes de la realización de la práctica en el laboratorio. Además, el Servicio de Formación Permanente e Innovación Educativa (SFPIE) también creó un enlace en Youtube para poder acceder a través de él al vídeo (<https://www.youtube.com/watch?v=G0wmfyn3hqA>)

Los resultados previstos tras la incorporación del vídeo a la práctica de recuento de células sanguíneas son:

- Mejorar la calidad de la docencia en las prácticas de Hematología de la asignatura de Fisiología Médica del Grado de Medicina. Al mismo tiempo, el material docente multimedia propuesto se podrá difundir y aplicar con el mismo objetivo a la asignatura de Fisiología en diferentes Grados de Ciencias de la Salud (Farmacia, Fisioterapia, Nutrición Humana y Dietética, Podología, Enfermería y Ciencias de la Actividad Física y el Deporte)

- Reforzar la comprensión de los conceptos de Fisiología referentes a la práctica en cuestión (células sanguíneas, manejo del microscopio y técnica de recuento celular, valores normales...)

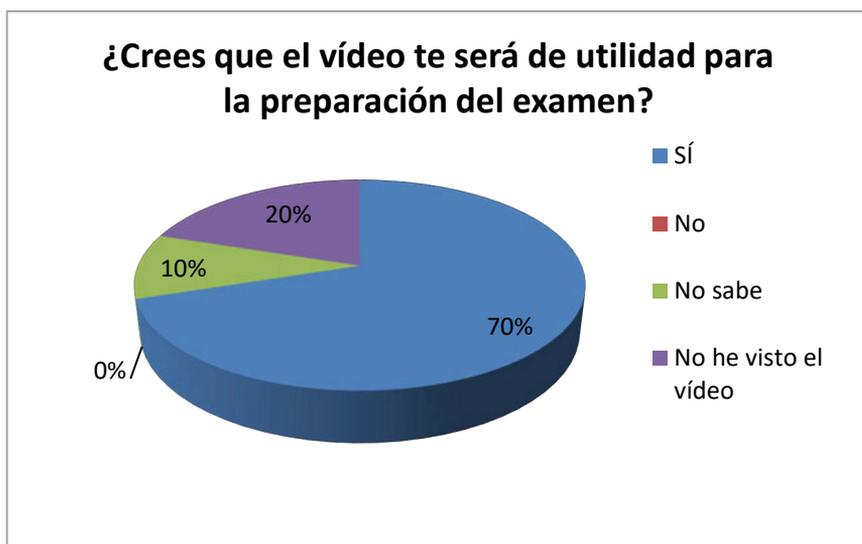
- Optimizar el tiempo en clase: Con el material multimedia se espera que se afiancen antes los conceptos a explicar en clase, que se creen menos dudas entre el alumnado sobre los objetivos propuestos y sobre la ejecución de la práctica, y que todo ello repercuta positivamente en el tiempo establecido para la realización de la práctica.

- Con la incorporación del material multimedia en clase, se pretende mantener y mejorar la atención, la motivación, la reflexión y las acciones del alumnado.

- Además de servir como material que ayudará a mejorar la práctica en los aspectos comentados anteriormente, el vídeo también podrá servir a los alumnos como material de consulta y refuerzo para su estudio de cara a los exámenes.

- Teniendo en cuenta la situación que vivimos debido a la pandemia, en la que algunas prácticas no se han podido realizar de forma presencial, o en caso de poderse realizar presencialmente, algunos alumnos no las han podido realizar por confinamiento, el vídeo propuesto quedaría como una propuesta alternativa a la realización de la práctica en el laboratorio.

Para comprobar la consecución de los resultados esperados del método de innovación docente propuesto, se realizó una breve encuesta a los alumnos para que evaluaran de forma anónima distintos aspectos relacionados con la utilidad del material multimedia elaborado: si les ha ayudado a entender mejor la práctica, si les ha beneficiado para la ejecución de la práctica en el laboratorio, si el material ha sido de ayuda para el estudio, etc. Los resultados obtenidos de las encuestas realizadas durante el curso 2021-22 se muestran a continuación:





Como muestras los resultados, el grado de aceptación del vídeo entre los estudiantes es elevado pese a que un 20% de los alumnos confirman no haber visto el vídeo. Aproximadamente un 70% de los alumnos creen que el vídeo que se ha creado es de utilidad para el aprendizaje de la práctica y como material de apoyo para el estudio de cara a los exámenes. Un 70% de los encuestados recomienda el vídeo para otros estudiantes del área de la salud .

Otra forma de evaluar la utilidad del material multimedia es valorando el número de visitas que tiene el vídeo en la web. Actualmente presenta 62.787 visualizaciones.

Destacar que, derivado de este proyecto se ha desarrollado un segundo proyecto de innovación docente, concedido por la Universidad de Valencia (UV-SFPIE_PID-1642143), cuyo objetivo principal es ampliar el contenido del vídeo expuesto pero incorporando una tercera técnica de recuento de células sanguíneas como es la determinación de la fórmula leucocitaria, es decir, el cálculo del número de cada tipo de leucocitos que tenemos en sangre. Además, otro objetivo importante de este segundo proyecto es traducir el contenido del vídeo original del castellano al valenciano e inglés. De este modo se pretende alcanzar dos objetivos: por un lado, ofrecer una visión general de cómo relizar un recuento completo de eritrocitos y leucocitos, y por otro lado, cubrir las demandas de las diferentes lenguas en las que se imparte la asignatura en la Universidad de Valencia (castellano, valenciano e inglés), cumpliendo con la normativa establecida por la Universidad de Valencia y promoviendo la satisfacción de los alumnos por recibir la docencia en la lengua solicitada.

5. Conclusiones

“Innovación docente” es hacer algo diferente a lo que habitualmente hacemos en clase. Así pues, con la metodología propuesta, se pretende alcanzar un modelo docente evolucionado de la práctica, que mejore

al modelo docente anterior con la incorporación de elementos complementarios (vídeo) que proporcionen un aprendizaje más dinámico y promuevan la atención y motivación del alumnado.

6. Referencias

RUBIO, F., GARCIA, B. y CARRASCO M. (2004). Fundamentos y técnicas de análisis hematológicos y citológicos. Madrid: Ed. Thomson-Paraninfo.

VIVES, J. LL. Y AGUILAR, J.L. (2014). Técnicas de laboratorio en hematología. Madrid: Ed. Elsevier