

Presenta:

Erick Villegas Martínez

Materia:

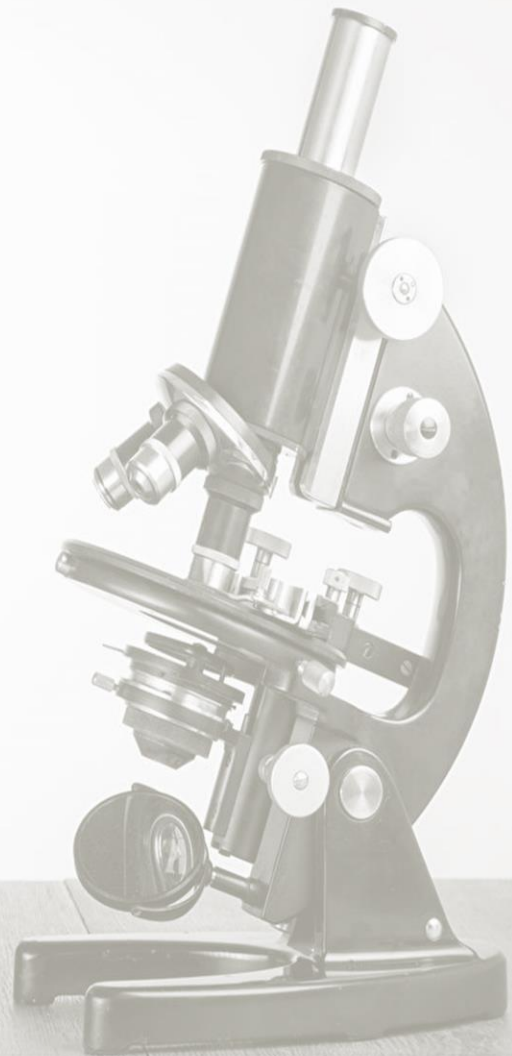
Microbiología y parasitología

Asesor :

Enrique Eduardo Arreola

Tema:

El Microscopio



Introducción

Inicialmente el hombre se vio en la urgencia de resolver las necesidades más primarias, fue creando las herramientas que le permitieron transformar la realidad y comenzar un proceso civilizador que no ha cesado en su evolución. El estudio de los mecanismos de procesamiento y representación de la información visual que percibe un ser vivo, se remonta a los orígenes de la ciencia y la filosofía. Desde la época de los griegos clásicos se han formulado teorías acerca de cómo percibe el ser humano su realidad exterior y de qué manera usa y representa la información captada por sus sentidos. Más cercanos en la historia, están los estudios de Kepler del análisis geométrico de la formación de la imagen en el ojo, los de Newton sobre visión en color, y en el siglo XX, los de Helmholtz acerca de la óptica fisiológica y Wertheimer sobre el movimiento aparente de agrupaciones de puntos o campos. Estos trabajos han establecido las bases de las teorías de percepción visual. Los trabajos de David Marr, sobre el sistema de visión humano dan soluciones a los problemas de este y de la visión a través de mecanismos artificiales.

El microscopio fue una herramienta la cual se fue puliendo para hacerla más precisa y por ende alentó más las investigaciones y teorías y abrió otra puerta así la investigación.

El microscopio

A pesar de que los microorganismos ya existían antes que el hombre y de haber sido durante milenios los responsables de las enfermedades infecciosas, epidemias y pandemias, los conocimientos que tuvo el individuo sobre el origen de las enfermedades eran precarios y meramente especulativos debido al tamaño minúsculo de estos gérmenes y de no disponer de instrumentos técnicos como el microscopio que facilitaran su observación, es decir, los hombres sabios, los investigadores de aquellas épocas estaban ciegos hasta que se inventó esta herramienta. La Microscopía es la ciencia que se ocupa de los usos y de las aplicaciones interpretativas de los microscopios.

En el siglo XVI Leonardo da Vinci y Francisco Maurolyco insisten en las ventajas de aplicación de estas lentes para el estudio de los pequeños objetos. Se destacan también durante esta época en los estudios de óptica Leonardo y Thomas Digges, Juan Bautista De La Porta y Thomas Mufet que se dedican especialmente a la observación de pequeños insectos. En el libro "Magia Naturalis" de Juan Bautista Della Porta, publicado en 1588 se establecen los principios de las lentes de cristal.

El microscopio compuesto diseñado y construido por el inglés Robert Hooke en el año 1665, se basó en el principio funcional del telescopio astronómico, inventado a principios de ese siglo por el físico-matemático, italiano, Galileo Galilei.

Se coincide al caracterizar los finales del siglo XVIII y principios del XIX como productivos puesto que, debido al concurso de muchos científicos y maestros que crearon los microscopios acromáticos, se lograron observaciones microscópicas más auténticas y fue posible pasar al estudio sistemático de los tejidos animales y vegetales más diversos.

El médico y fisiólogo italiano Marcello Malpighi sería de los primeros en ver tejidos vivos bajo el lente. A Malpighi se le considera el fundador de la Anatomía Microscópica y uno de los más importantes biólogos de todos los tiempos. Nacido en Crevalcore, provincia de Bolonia, Italia, cursó sus estudios en la Universidad de Bolonia donde consiguió el doctorado en Medicina y Filosofía (1653). En Bolonia laboró en la cátedra de Medicina Teórica y realizó sus primeros trabajos microscópicos, luego en Messina extendió sus estudios anatómicos, limitados a la especie humana, a todos los seres vivos.

Es justo reconocer el papel abnegado de los investigadores de aquellas épocas los cuales, a pesar de que los instrumentos ópticos no eran lo suficientemente poderosos como para reconocer la naturaleza íntima de la célula, lograban llegar con muchas dificultades a deducciones, a conclusiones atinadas, tal es el caso de Malpighi cuya categorización de los tejidos en parénquima y prosénquima, dada en sus principales tratados, corresponde a la que en la actualidad se admite; además no separó los problemas anatómicos de los fisiológicos pues a su

criterio las investigaciones estructurales conducían al conocimiento de las funciones fisiológicas.

Entre 1623 y 1723 vivió el hombre considerado padre del microscopio, el holandés Anton van Leeuwenhoek. Fue el primero que vio y describió las bacterias, la levadura, la vida existente dentro de una gota de agua y la circulación de corpúsculos sanguíneos en los vasos capilares pues inventó el microscopio en las Provincias Unidas.

Leeuwenhoek llevó a cabo improvisadamente sus investigaciones, por afición, pasión hacia los descubrimientos; estas investigaciones fueron dispersas y diversas según su insaciable curiosidad pues no tenía objetivos definidos al carecer de formación académica, de dominio de las lenguas extranjeras, de trato con otros entendidos y su profesión era el comercio.

En 1668 Anton van Leeuwenhoek tomando como referencia el invento de Hooke, fabricó un microscopio al cual dotó de poderosos lentes de aumentos y empleando técnicas más efectivas, logró observar todo lo visto por Hooke. Así con la aparición del microscopio óptico, observó microbios, sangre, plumas, pólvora, pelos, insectos, minerales, fibras musculares, peces, espermios, semillas, árboles y plantas. Observó también la placa dental compuesta por depósitos blandos con microbios y restos de comida.

Se conoce que el holandés fue auxiliado por un médico anatomista Regnier de Graaf, en conjunto escribían cartas a la Sociedad Royal en las que incluían dibujos de sus observaciones con certeras anotaciones.

Van Leeuwenhoek era un óptico, un tallador de lentes. Su habilidad radicaba en el pulido de sus pequeños lentes, que montaba en estructuras metálicas, de bronce, plata y de oro. Eran microscopios simples, pues sólo disponían de un lente, permitiendo un campo de visión muy estrecho, el sistema de iluminación nunca lo comunicó. El microscopio de mayor aumento conocido es el conservado en el Museo de la Universidad de Utrecht, capaz de aumentar la imagen 275 veces, con un poder de resolución de 1,4 μm . Sus microscopios que sumaban en total 247 aparatos con 419 lentes se caracterizaban generalmente por tener objetivos de pequeño diámetro y corta distancia confocal.

Leeuwenhoek describió con gran detalle un mundo impensable hasta entonces y logró ser un hombre reconocido en su momento por el resto de la sociedad. Su mejor conclusión fue la negación de la generación espontánea, derivada del descubrimiento de los espermatozoides, que constituirían la semilla humana, y de otras observaciones sobre la reproducción en insectos, como la presencia de huevos en la hembra del piojo.

Quedaría para períodos posteriores la relación de la presencia de los microorganismos en los tejidos y líquidos humanos con la génesis y transmisión de las enfermedades, la explicación de la fermentación, la putrefacción y otros procesos biológicos.

Cuando se habla de los padres de la microbiología vienen a la mente los nombres de Koch y de Pasteur. Se descubrieron muchos gérmenes responsables de enfermedades infecciosas gracias a

los trabajos de ambos y al impulso que le dieron a la Microbiología entre finales del siglo XIX y principios del siglo XX, donde se destacan el aislamiento de los agentes causales de gonorrea (Neisser, 1879), difteria (Klebs, 1883 y Loeffler, 1884), tétanos (Nicolai, 1885 y Kitasato, 1889), neumonía (Fraenkel, 1886), meningitis (Weichelbaun, 1887), peste bubónica (Yersin, 1894), leishmaniasis (Leishman y Donovan, 1903), sífilis (Schaudinn y Hoffman, 1905), y la fiebre de las montañas rocosas (Ricketts, 1909) lo cual hubiera sido imposible sin la existencia del útil microscopio.

En las postrimerías del siglo XIX y en los inicios del XX el microscopio ya se presenta en la forma con la cual lo relacionamos con los maestros de la microbiología. Este instrumento va a tener el ya conocido pie en forma de herradura que servirá de soporte para la platina, el condensador y el espejo. En el pie o también en la platina se encontraba montada la columna vertical con el piñón para el enfoque de precisión. En su pieza de guía prismática de tres ángulos se encontraba una pieza de unión con el tubo, el portatubos, que se desplazaba en sentido vertical mediante un tornillo denominado micrométrico que podía girarse en torno al eje vertical.

El movimiento ascendente o descendente del tubo se efectuaba mediante un piñón para el enfoque aproximado que se llama tornillo macrométrico. La tubuladura del ocular es extensible, 2 a 3 objetivos podían cambiarse fácil y rápidamente mediante un revólver, y el condensador estaba equipado con un diafragma de apertura de acuerdo con la forma indicada por Abbe.

Estos aditamentos surgieron, se perfeccionaron en este tiempo por aspectos puramente prácticos, para facilitar su uso, pero también fue surgiendo la necesidad de un instrumento que si bien no presentaba formas superfluas tampoco se mostrara con el aspecto de una improvisación tomada de un trípode de laboratorio.

Kohler en 1904 emplea las radiaciones ultravioletas, con un sistema de lentes de cuarzo, sustancia permeable a las radiaciones de corta longitud de onda; marca con ello una nueva etapa en el estudio de microorganismos cuyo tamaño los hacía invisibles a la observación con microscopio corriente. Posteriormente en 1930 se crean los estativos de diferentes gamas. El portatubos cambió, al presentar una estructura completamente nueva derivada de la forma parabólica. En lugar de la visual vertical incómoda, se modificó y se adaptó un eje montado entre el pie y el portatubos, mediante un ángulo visual fisiológico de 45 grados con relación a la superficie de la platina, que permitía una gran mejora en la observación. La disposición más baja de los tornillos del piñón ofreció la posibilidad de mantener brazos y manos en una posición más cómoda y más distendida.

El progreso en sí estuvo dado por la creación de equipos más funcionales, por la simplificación del manejo, en el sentido de adaptación cada vez mayor a las condiciones anatómicas y fisiológicas del usuario; el microscopio pasó a ser un equipo tipo norma cuyas posibilidades de adaptación a los deseos del usuario abarcaban toda una gama de posibilidades de aplicación, desde los más sencillos análisis de rutina hasta los más complicados trabajos científicos.

Se sumaron la incorporación de la fuente de luz al pie, la disposición coaxial del mecanismo para el enfoque aproximado (macro) y el de precisión (micro), así como los botones para el movimiento en dos coordenadas de la platina cuadrada de movimiento en cruz, que permitió desplazamientos de dos lados, de la platina deslizante y el revólver giratorio intercambiable. El desarrollo contiguo creó otros tipos de microscopios que utilizaban la fuente de luz visible como el microscopio de polarización, de contraste de fases, de interferencia y campo oscuro o los que usaban fuente de luz invisible como el de luz ultravioleta y gracias a los trabajos de Max Knoll y Ernst Ruska el moderno microscopio electrónico.

Se estima que este último tipo de microscopio, el electrónico, ha hecho posible resolver el detalle celular a nivel molecular y ha permitido a los científicos poder observar las estructuras detalladas de organismos procariontas y eucariontas; en el campo de la virología es valiosísimo pues ha posibilitado la observación e identificación de los virus.

En la década de 1930 los alemanes Max Knoll y Ernst Ruska lo coinventaron. En este microscopio se produce una aceleración de los electrones al vacío hasta que su longitud de onda es muy corta, una cienmilésima parte de la longitud de la luz blanca. Los rayos de estos electrones a alta velocidad son enfocados en una muestra de célula y absorbidos o dispersados por las partes de la célula para formar una imagen en una placa fotográfica sensible. Si se lleva este procedimiento al límite es posible ver objetos tan pequeños como el diámetro de un átomo. De hecho, puede aumentar los objetos hasta un millón de veces. El primer microscopio diseñado por Ruska, fue lanzado al mercado por Siemens en 1939. Ello sirvió para que otros países se abocaran a esto y así aparecieron prototipos en los Estados Unidos de América, Inglaterra, Francia, Canadá y Japón.

Se conoce que la microscopía en campo iluminado o claro es la más usada para la observación de frotis coloreados, para examinar características morfológicas y la movilidad de los organismos en preparaciones denominadas "gotas colgantes" o "en fresco"; otro tipo de microscopio compuesto, el estereoscópico es muy útil para examinar las características de las colonias de bacterias, hongos, cultivos de tejidos y organismos parásitos.

El microscopio de contraste de fases matiza los tonos del gris claro al muy oscuro. Se fundamenta en el hecho de que las ondas luminosas que pasan a través de objetos transparentes, como las células, emergen en fases diferentes, depende de las propiedades de los materiales que atraviesan. En 1934, Zernike desarrolló métodos ópticos para separar ondas luminosas incidentes y difractadas, se amplifica así la diferencia de fase entre ellas. Un sistema óptico especial convierte esta diferencia de fase en una diferencia de intensidad, de este modo, unas estructuras aparecen más oscuras que otras, se utiliza para diferenciar las estructuras internas de células vivas.

Este microscopio tiene la ventaja de visualizar detalles en organismos vivos pues con el microscopio ordinario lo usual es la observación de preparaciones de materiales muertos y teñidos.

El microscopio de fluorescencia se basa en el principio de remoción de la iluminación incidente por absorción selectiva, transmisión de la luz absorbida por la muestra y reemitida con diferente longitud de onda. Los compuestos capaces de absorber luz de una determinada longitud de onda y de emitir luz de mayor longitud de onda, se denominan fluorocromos. Diferentes fluorocromos son utilizados: la auramina, la naranja de acridina, de uso en la tinción directa de microorganismos, se utilizan en la detección de microorganismos en hemocultivos y para la observación de bacilos acidorresistentes en frotis y otros como el isotiocianato de fluoresceína pueden ser conjugados a anticuerpos y se emplean en técnicas conocidas como inmunofluorescencia las que pueden ser directa e indirecta.

Respecto al electrónico están el de transmisión, el cual posee un cañón de electrones y produce una corriente de electrones monocromáticos que mediante un sistema de lentes y condensadores, choca con la muestra, al ser transmitidos parte de ellos y una lente objetivo la convierte en imagen, que es proyectada sobre una pantalla de fósforo, para que el usuario pueda verla y también el electrónico de barrido, en este, un cañón emite un rayo de electrones de alta energía que viaja hacia abajo, iluminando la muestra, a través de una serie de lentes magnéticas, condensadores y antenas, diseñadas para dirigir los electrones a un punto, golpeando la muestra, los electrones secundarios quedan sueltos, en la superficie de la muestra, un detector cuenta los electrones y envía las señales al amplificador, la imagen final se forma con el número de

electron
es
emitidos

desde cada punto de la muestra, en blanco y negro y con carácter tridimensional.²⁵ El primero en crearse de este tipo fue el de transmisión el cual tiene muchas características en común con el microscopio luminoso, de campo claro.

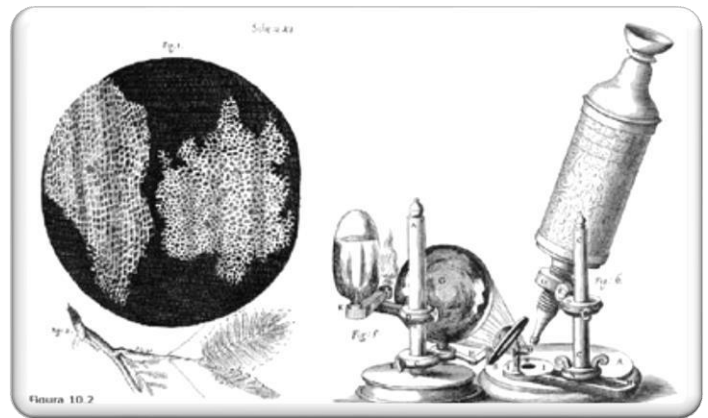
Tipos de microscopios.

- En 1590 Zacharias Janssen creó el microscopio óptico. También se le conoce como microscopio de luz o microscopio de campo claro

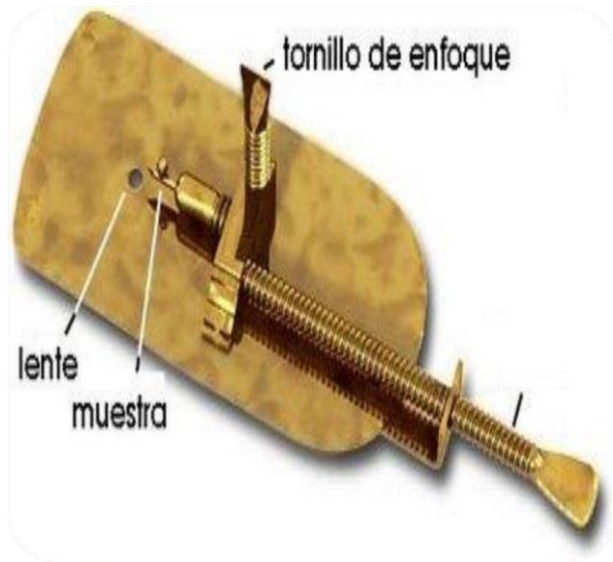


- **1610. Galileo Galilei;** Fabricó un pequeño **microscopio compuesto** de aproximadamente 12 cm de largo, con una lente **convexa** y otra **cóncava**, con éste observó y describió los patrones geométricos de los ojos de las abejas. Es por esta razón que a este italiano se le considera como el primer científico que efectuó una investigación biológica a través de un microscopio.

- 1665, Robert Hooke; Científico inglés que publicó en 1665 el libro *Micrographia*, en éste se describe, por primera vez, cómo fabricó las lentes de aumento que posteriormente utilizó en la construcción de un microscopio compuesto, con el que realizó numerosas observaciones y cuyos



resultados se encuentran en el libro antes mencionado.



- 1673, Anton van Leeuwenhoek; El holandés Leeuwenhoek dedicó cuarenta años de su vida al diseño y construcción de numerosos microscopios simples, los cuales estaban constituidos por una



□ 1758, John

lente de 3 mm de diámetro que él mismo tallaba y con los que lograba aumentar el tamaño de los objetos que observaba hasta 300 veces debido a su excelente calidad. **Con estos microscopios observó todo lo que le rodeaba, pudiendo describir, por primera vez, protozoarios y bacterias a los que llamó animálculos**

Dollond; Construyó

lentes acromáticos mediante la combinación de vidrios flint y crown, que son dos materiales que tienen diferente índice de refracción; combinándolos logró obtener mejores imágenes.



- 1826, Joseph Jackson Lister; Comerciante inglés que construyó un microscopio compuesto acromático, considerado el más importante jamás hecho hasta ese momento. Encontró la distancia óptima entre las dos lentes para mejorar el enfoque y eliminar las aberraciones cromáticas, también introdujo mejoras en el funcionamiento, lo que permitió que las observaciones de los tejidos fueran vistas con mayor claridad.

- 1834, Microscopio de luz polarizada, William Henry Fox Talbot: construye el primer microscopio de luz polarizada

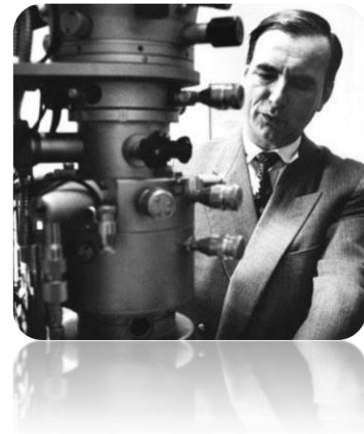
- **1902** Richard Adolf Zsigmondy inventa el ultramicroscopio. Este tipo de microscopio permite observar muestras con mejores \square **1904** August Köhler y Moritz von Rohr desarrollan el microscopio de luz ultravioleta.



resoluciones que las del microscopio óptico.



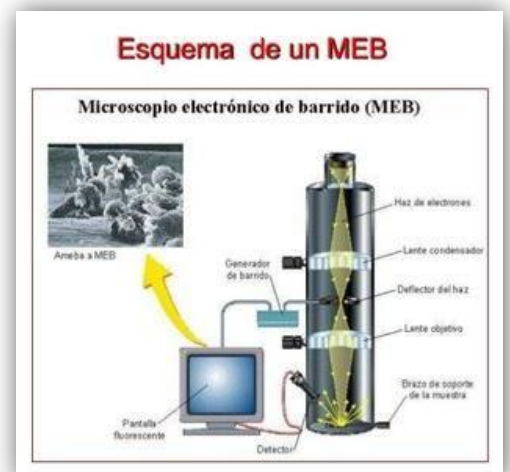
- **1913** Leitz empieza a comercializar el primer microscopio binocular plenamente funcional desarrollado por Felix Jentsch.

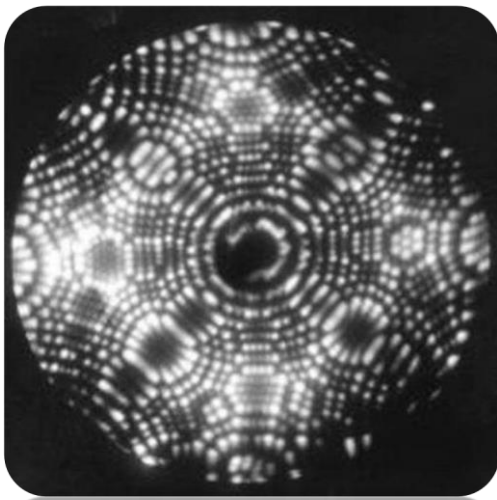


1935 microscopio de contraste Frits Zernike inventa el microscopio de contraste de fases que permite observar muestras biológicas transparentes. En 1953 recibe el premio Nobel.



- **1937** Manfred von Ardenne inventa el microscopio electrónico de barrido.





□ 1955 El átomo El físico alemán Erwin Müller y el estudiante Kanwar Bahadur fueron los primeros en ver un átomo con un microscopio de iones en campo.

• 1

9
3
1

E
r
n
s
t

R
u
s
k
a

,
j
u
n

□ 1957 Microscopio confocal Marvin Minsky patenta el microscopio confocal



□ 1983 Confocal laser La empresa comercializar el primer microscopio conf

to con el ingeniero Max Knoll construye el primer prototipo del microscopio electrónico de transmisión.

□

- Hitachi High-Technologies (Tokio, Japón) está construyendo el microscopio en el Japón. Cuando esté instalado a finales de 2010, ocupará una sala especialmente adaptada, propia, en uno de los edificios científicos de la Universidad de Victoria (UVic; Victoria,



BC, Canadá) Se espera que empiece a funcionar a comienzos de 2011.

- El **microscopio** electrónico de barrido de transmisión holográfica de 7 toneladas de 4,5 metros de altura o STEHM, el primer **microscopio** de este tipo en el **mundo**, llegó a las universidades de algunas regiones el año pasado.



Usos del microscopio

El uso en oftalmología así como en neurocirugía del microscopio para operaciones quirúrgicas se desarrolló a un ritmo muy lento.

Las especialidades en que mas se utiliza son Cirugía Ortopedica y Traumatologia, Cirugia Plástica, Cirugia Maxilofacial, Cirugia Oftamologica y Cirugia Otorrinolaringologica, de acuerdo con un artículo del Dr. Salvador Fernández García: "La microcirugía es una técnica quirúrgica" de la Asociación Española de Microcirugía.

- **Oftalmología:** para colocar suturas muy precisas en la cornea
- **Otorrinolaringología:** para realizar procedimientos muy precisos en el oído
- **Microcirugía nerviosa:** para unir pequeños nervios de forma muy precisa
- **Microcirugía vascular:** para unir vasos sanguíneos muy finos. Esto se realiza para revascularizar partes del cuerpo que han sido dañadas tras un accidente (por ejemplo un reimplante de dedo) o para coger zonas del cuerpo superfluas para reconstruir otras mas importantes
- **Cirugía de la mano:** reimplantes, reconstrucción del dedo pulgar amputado con un dedo del pie para conseguir una mano funcional. La pérdida del pulgar significa perder el 50 % de la función de la mano
- **Cirugía reconstructiva de cabeza y cuello postumoración** . Así se puede reconstruir una mandíbula, la lengua o el suelo de la boca.

- **Cirugía reconstructiva de la mama postmastectomía:** Se puede reconstruir una mama con tejido abdominal
- **Cirugía reconstructiva para cubrir falta de tejidos en cualquier parte del cuerpo.**

Microscopio óptico

En el microscopio óptico la muestra es iluminada mediante luz visible. Esto significa que existe un foco de luz apuntando hacia la muestra. Esa misma luz es conducida a través del objetivo y del ocular hasta llegar a formar la imagen en el ojo del observador. Este es el tipo de microscopio más habitual pero su resolución está limitada por la difracción de la luz. El aumento máximo que se puede obtener con este tipo de microscopio alcanza alrededor de 1500x.

Microscopio electrónico

En el microscopio electrónico la muestra no es iluminada con luz sino que se utilizan **electrones**. Los electrones impactan contra la muestra dentro de una **cámara de vacío**. Existen diferentes tipos de microscopio electrónico pero su principio de funcionamiento se basa siempre en capturar los electrones dispersados u omitidos por la muestra y así poder reconstruir una imagen.

La ventaja principal de este tipo de microscopio es que puede obtenerse un nivel de **aumento muy superior** al del resto de microscopios. Sin embargo, es necesario preparar la muestra y colocarla en una cámara de vacío de modo que no es posible observar muestras biológicas vivas. Los dos tipos de microscopio electrónicos principales son el **microscopio electrónico de barrido** y el **microscopio electrónico de transmisión**.



Microscopio de luz ultravioleta

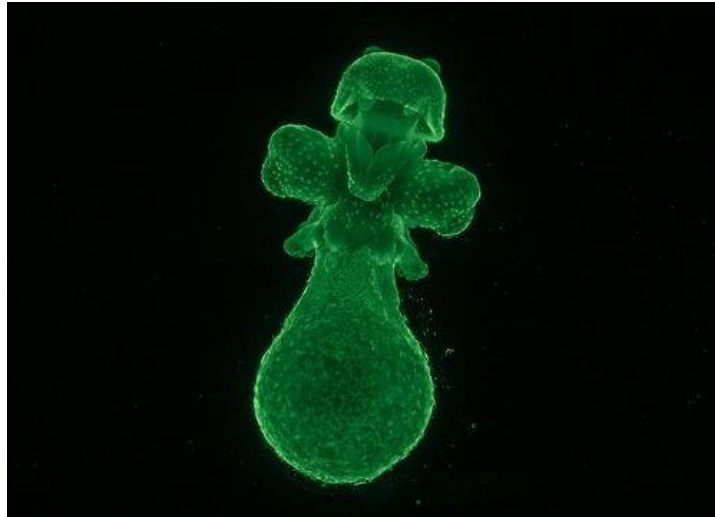
Los **microscopios de luz ultravioleta** iluminan la muestra, como el nombre indica, con **luz ultravioleta**. Este tipo de luz tiene una longitud de onda más corta que la luz visible utilizada en los microscopios ópticos. La ventaja principal de utilizar esta técnica es que puede alcanzarse una **resolución mejor** que con luz visible. Además, el contraste obtenido en la muestra es distinto que en los microscopios ópticos. De este modo, con el microscopio de luz ultravioleta pueden observar muestras que aparecen transparentes si son observadas con luz visible.

Microscopio de luz polarizada

También conocido como **microscopio petrográfico**. Este microscopio es en realidad un tipo de microscopio óptico al que se le han añadido dos **polarizadores**. Esto significa que la onda de luz utilizada para observar la muestra tiene una dirección de oscilación concreta. Este tipo de microscopio es muy útil para observar **estructuras cristalinas** de rocas y minerales.

Microscopio de fluorescencia

Los **microscopios de fluorescencia** son aquellos que utilizan las propiedades de fluorescencia para generar una imagen de la muestra. Este microscopio permite observar sustancias que emiten **luz propia** cuando son iluminadas con una longitud de onda determinada. Para ello la muestra es habitualmente iluminada con una **lámpara xenón** o con una **lámpara de vapor de mercurio**. Estos microscopios incorporan además filtros de luz para aislar la luz correspondiente a la muestra.



Conclusión

Las lentes y sus propiedades ópticas fueron descritas por Euclides, Ptolomeo y Alhazen en tiempos tempranos. En el siglo XVI Leonardo Da Vinci y Francisco Maurolico también las estudiaron; a finales de este siglo, Hans y Zacharias Janssen construyeron el primer microscopio compuesto. Galileo Galilei fue uno de los primeros en utilizarlo en la ciencia al igual que Athanasius Kircher. En 1665 el físico inglés Robert Hooke realizó descubrimientos físicos y biológicos con un microscopio. Los primeros microscopistas del siglo XVII fueron el anatomista Marcello Malpighi, Anthony Van Leeuwenhoek y otros que detallaron células, tejidos y bacterias. En el siglo XIX Pasteur y Koch enrumbaron la Microbiología y los microscopios perfeccionados por Amici, Brewster, Chevalier, Lister, Abbe, Kohler se utilizaron cada vez más en este campo.

Por lo tanto la herramienta del microscopio impulso a muchos autores asu descubrimientos.

Bibliografía

Lera, R. M. (agosto de 2015). *sciElo*. Obtenido de sciElo:

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-81202015000200010

MUÑOZ, P. D. (2011). *unam*. Recuperado el 2022, de unam:

<https://www.iztacala.unam.mx/rivas/NOTAS/Notas19Tecnologia/micosos.html>

Parraga A, F. R. (2014). *una mirada retrospectiva sobre la evolución histórica de las formas del microscopio*.

Cuad Hosp Clín: Cuad Hosp Clín.