



Septiembre 2023

# Laboratorio del Hospital del Rey. Catálogo razonado de microscopios y accesorios. II parte



GOBIERNO  
DE ESPAÑA

MINISTERIO  
DE CIENCIA  
E INNOVACIÓN



Instituto  
de Salud  
Carlos III

Biblioteca Nacional  
de Ciencias de la Salud

**Biblioteca Nacional de Ciencias de la Salud  
Instituto de Salud Carlos III  
Ministerio de Ciencia e Innovación**

Avda. Monforte de Lemos, 5 - Pabellón 8  
28029 MADRID (ESPAÑA)  
Tel.: 91 822 25 52

Laboratorio del Hospital del Rey. Catálogo razonado de microscopios y accesorios. II Parte

Publicación incluida en el programa editorial del Ministerio de Ciencia e Innovación.

Catálogo general de publicaciones oficiales:

<https://cpage.mpr.gob.es/>

Para obtener este informe de forma gratuita en Internet:

<https://repisalud.isciii.es/handle/20.500.12105/2405>



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.es>

Edita: Instituto de Salud Carlos III

Ministerio de Ciencia e Innovación

NIPO pdf: 834230134

NIPO epub: 834230129

DOI: <https://doi.org/10.4321/repisalud.16579>

Diseño y maquetación: Diseño Gráfico Gallego y Asociados, S. L.

**Autores:**

María Antonia Meseguer Peinado

Margarita Baquero Mochales

Lourdes Mariño Gutiérrez

**Fotografías:**

Margarita Baquero Mochales

**Fotografía de la cubierta:**

Fachada del Museo de Sanidad e Higiene Pública

**Para citar esta monografía:**

Meseguer Peinado M. A., Baquero Mochales M., Mariño Gutiérrez L. Hospital del Rey. Catálogo razonado de microscopios y accesorios. II Parte. Madrid; Instituto de Salud Carlos III, Biblioteca Nacional de Ciencias de la Salud y Escuela Nacional de Sanidad: 2023.

# Índice

Introducción.....	5
Microscopio binocular ERNST LEITZ WEZTLAR .....	7
El primer microscopio binocular funcional .....	9
Microscopio NIKON LABOPHOT 2-F.....	11
Microscopio óptico.....	12
Microscopio de fluorescencia .....	13
Fundamento de la microscopía de fluorescencia .....	14
Microscopio de campo oscuro.....	16
Microscopio de contraste de fases .....	20
Apuntes históricos de la empresa NIKON .....	24
Microscopio trinocular CARL ZEISS WEST GERMANY.....	26
Microscopio invertido de contraste de fase ZEISS. Modelo ID-03 .....	29
Fundamento de la microscopía invertida.....	33
Apuntes biográficos e históricos.....	34
Bibliografía.....	37

## Introducción

Este segundo volumen del Catálogo Razonado de Microscopios del Hospital del Rey (Museo de Sanidad e Higiene Pública) tiene como objeto la incorporación a la colección de microscopios catalogados en el volumen I de otros ejemplares que son muestras representativas de los avances en las técnicas de microscopia a lo largo del pasado siglo.

Si la invención del microscopio compuesto tuvo lugar a comienzos del siglo XVII (Zacharias Janssen, 1608), el resto de la centuria y el siguiente siglo se caracterizaron por la sucesiva incorporación al aparato de importantes avances mecánicos que aumentaron su estabilidad y su facilidad de uso (el pie en forma de herradura que servirá de soporte para la platina, el condensador y el espejo, la columna vertical con el piñón para el enfoque de precisión, el portatubo con su pieza prismática de tres ángulos, el tornillo micrométrico, el revólver para objetivos, así como como la incorporación de objetivos acromáticos).

De forma alternativa, el siglo XIX se caracterizó por el perfeccionamiento de los sistemas ópticos debido, en gran medida, a las aportaciones realizadas por Ernst Abbe en 1877, por encargo de Carl Zeiss. A él se deben la microscopía de inmersión, el establecimiento del uso de objetivos apocromáticos y la exposición de los fundamentos matemáticos que condicionan la formación de la imagen en el microscopio compuesto, el perfeccionamiento de los sistemas ópticos y los distintos tipos de condensadores. Durante este siglo, la producción de los microscopios, hasta entonces en pequeños talleres artesanales, pasó a ser industrial con la creación de empresas de la embergadura de Carl Zeiss, que abrió su taller en Jena (1847), la empresa Leitz, fundada por Ernst Leitz en 1869, basada en su precursor el “Optisches Institut” en Wetzlar, fundado previamente por Carl Kellner (1849), la empresa Reichter de Viena (1876), Hensoldt en Thuringia (1850), entre otras.

Pero ha sido durante el siglo XX, cuando la evolución del microscopio, además de contar con nuevas incorporaciones a la mecánica (fuente de luz al pie del microscopio, disposición coaxial del mecanismo para el enfoque macro y el micrométrico, mandos para el movimiento en dos coordenadas de la platina cuadrada deslizante, revólver giratorio intercambiable, etc...), se ha

caracterizado por el desarrollo de nuevas técnicas de observación microscópica gracias a la incorporación de numerosos accesorios y dispositivos modulares, compatibles entre sí, y enfocados a la consecución de una observación detallada de las estructuras celulares internas de los organismos eucariotas y procariotas, que han transformado el microscopio en un instrumento de precisión de gran versatilidad y compatibilidad de empleo.

De este modo, surgieron los microscopios de fluorescencia que, mediante técnicas de tinción con fluoróforos o el empleo de anticuerpos conjugados fluorescentes, permiten observar células o estructuras celulares concretas; los microscopios de campo oscuro, contraste de fases e invertido, que mediante condensadores especiales permiten la observación de células y microorganismos vivos y sin teñir; y los microscopios electrónico y confocal de rayo láser para la observación y el análisis de las estructuras celulares a nivel molecular.

El conjunto de microscopios reunidos entre los dos volúmenes (fabricados entre los años 1910 y 1988 en Europa y Japón) constituye una pequeña muestra representativa de la evolución de estos aparatos a lo largo del siglo XX.

## Microscopio binocular ERNST LEITZ WEZTLAR



**Fecha de fabricación:** 1932.

**Fabricante:** Ernst Leitz Weztlar.

**Procedencia:** perteneció a uno de los laboratorios de Ramón y Cajal en el Instituto Alfonso XIII y posteriormente pasó al Dr. Pérez Gallardo (CNMVIS, Majadahonda). Donado por el Dr. Rafael Nájera.

**Dimensiones:** Altura = 32,5 cm; Profundidad = 22 cm.

**Descripción:** microscopio binocular Ernst Leitz Weztlar. Número de serie: 266120.

*Estativo.* Pie en herradura, brazo curvado y platina de carro cuadrada. Todo ello lacado en negro.

En la platina, dos pinzas de sujeción y carro móvil para desplazamiento de la preparación.

Para la fijación de las coordenadas de una imagen microscópica determinada, la platina dispone de dos reglas situadas en el borde interno cercano al

mango, regulables mediante una rueda de latón. Una, situada en el extremo izquierdo, y enfrentada a una pequeña muesca situada en la pinza de sujeción del portaobjetos (para inmovilizarlo), tiene una graduación de 100, 76, 70, 62, 48 y, la otra, situada en el extremo derecho, tiene una graduación de 0 a 60 mm, con su correspondiente nonio de 0 a 10 mm.

En la parte anterior del borde lateral derecho dispone de una regla de 60 a 100 mm, con su correspondiente nonio de 0 a 10 mm, regulable mediante una rueda de latón.

La parte superior de la columna o brazo dispone de dos ruedas macrométricas sin graduación y de dos ruedas micrométricas con graduación de 0 a 50 mm e intervalo de 0,002 mm, situadas por debajo de las anteriores. Todas ellas de latón dorado.

En la parte superior de la cremallera está inscrito el número de serie.

En el brazo se observa la inscripción D.R.P. (“Deutsches Reichs Patent”). Nombre de las patentes alemanas en el periodo anterior a 1945. Los modelos de la posguerra llevan las iniciales D.B.P.: Deutsches Bundes Patent. (Alemania Federal).



Entre el pie y el brazo, en el lateral derecho, existe una palanca metálica para modificar el grado de inclinación de la platina.



### **Sistema óptico**

Consta de dos oculares Ernst Leitz Weizlar Periplan. OK 15xB, uno de ellos desplazable de forma giratoria, y de una escala graduada para la regulación de la distancia interpupilar de 55 a 75 mm. Todo ello en latón dorado.

El revolver posee cuatro posiciones y alberga cuatro objetivos Ernst Weizlar de latón dorado, en cuyas camisas están marcadas las siguientes inscripciones: Oel Immersion 1/12, Apert. 1.30 (100 X) semiapocromático; Oel Immersion 1/12, Apert. 1.30 (100 X), que carece de la lente; 6L (45X) y 3 (10X). En su cara superior convexa, la inscripción Ernst Leitz Weizlar.

### **Sistema de iluminación**

Sin fuente de luz incorporada. Espejo circular plano-cóncavo para iluminación incidente procedente de una fuente de luz externa.

El condensador, sin inscripción del fabricante que lo identifique, consta de una lente superior plana incluida en un cilindro metálico que se apoya sobre una pieza circular, en cuya parte inferior está situada la segunda lente y el diafragma.

### **El primer microscopio binocular funcional**

El primer intento de construcción de un microscopio binocular fue realizado en 1678 por Cherubin d'Orleans mediante la combinación de dos microscopios binoculares, basándose probablemente, en unas indicaciones publicadas en 1645 por Antonius Maria Schyrleus de Rheita (*"Oculus Enoch et Aliae sive Radius Sidero Mysticus"*) en las que se describe conceptualmente el primer microscopio binocular (1).

El microscopio aquí descrito obedece al diseño desarrollado por Ernst Leitz II y el físico alemán Felix Jentsch (1882-1946) y representa el primer microscopio binocular funcional lanzado al comercio. Leitz II y Jentsch realizaron una modificación consistente en la inclusión dentro del tubo nasal de un prisma que permitía separar el haz de luz procedente de la fuente de iluminación y su desviación hacia ambos oculares, observándose así la misma imagen por ambos ojos sin pérdida alguna de calidad.

Su comercialización se llevó a cabo en el año 1913 y después del final de la Primera Guerra Mundial, en 1918, este diseño se convirtió en el arquetipo de todos los microscopios binoculares (2).

### **Apuntes históricos de la Empresa LEITZ**

La historia de la empresa ha sido expuesta en la publicación “*Laboratorio del Hospital del Rey. Catálogo razonado de microscopios y accesorios*” (3).

## Microscopio NIKON LABOPHOT 2-F



**Fecha de fabricación.** ca. 1980.

**Procedencia:** donación de los Doctores Enrique Gómez Mampaso y Manuel Martínez Ferrer.

**Fabricante:** NIKON, Japan.

**Dimensiones:** Altura = 46,5 cm x 20 cm de ancho x 100 cm de profundidad.

**Número de serie:** 246959 Nikon, Japan.

La serie de microscopios Labophot de Nikon, introducida en el mercado al comienzo de los años 80, ofrece un sistema modular altamente versátil y adaptable a diferentes campos de trabajo microscópico, como la investigación, la clínica, la educación o la industria. Para ello, además de la microscopía de luz, cuenta con la posibilidad de incorporar diferentes accesorios que permiten estudios por epifluorescencia, campo oscuro, contraste de fases, microfotografía, etc.

## Microscopio óptico

**Descripción:** Microscopio óptico binocular Labophot 2-F.

*Estativo.* Compuesto por: una base rectangular, brazo vertical y platina rectangular de 18 cm de ancho x 14 cm de largo, con dos pinzas de sujeción y carro móvil para desplazamiento de la preparación. La platina consta de una regla graduada de 0 a 70 mm y de su correspondiente nonio de 10 mm, situada en el borde interno. En el lateral derecho, otra regla graduada de 80 a 130 mm con un nonio de 10 mm. La regulación de ambas reglas se realiza mediante dos tornillos incluidos en un vástago situado en el lateral derecho.

En los laterales del brazo dispone de dos ruedas macro y micrométricas, estando la rueda derecha graduada de 0 a 200 mm. Revolver con cinco posiciones.

## Sistema óptico

*NIKON CF.* Rango de aumentos: 40 - 1000x.

Consta de dos oculares CFW 10x con adaptador de la distancia inter-pupilar mediante escala ocular de 55 a 75 mm, número de serie: 198917.

Objetivos Nikon plan acromáticos con camisas marcadas con distintos colores:

Banda roja, 4/01 (160/-).

Banda amarilla, 10/0,25 (160/-).

Banda verde, 20/0,4 (160/017).

Banda azul, 40/065 (160/0,17).

Banda blanca, 100/1,25 oil (160/0,17).

Este ejemplar no dispone del objetivo necesario para microscopia de fase.

### Objetivos Nikon Labophot 2-F



### Sistema de iluminación

Sistema de iluminación tipo Köhler para microscopía mediante una lámpara de 6v, 20w. Fusible de 0,5A. Interruptor de la intensidad de la luz, situado en el frontal izquierdo, mediante una rueda graduada del 1 al 6.

Apertura numérica (AN): 1,25.

Condensador tipo ABBE Nikon (Phase Contrast 1.25 N° 67705 Japan), desplazable mediante tornillo situado en el lateral izquierdo, con 6 posiciones: posición 0 luz transmitida; DF para campo oscuro y cuatro posiciones para contraste de fases (Ph1, Ph2, Ph3, Ph4). El cuerpo del condensador se fija a dos anillos mediante tres tornillos. Su altura se regula mediante un tornillo moleteado.

Los fundamentos de la microscopía óptica han sido expuestos en la publicación “*Laboratorio del Hospital del Rey. Catálogo razonado de microscopios y accesorios*” (3).

### Microscopio de fluorescencia

**Descripción:** Consta de dos elementos.

*La Fuente de alimentación* eléctrica independiente (Nikon Model HB-10101AF), con contador horario.

La *unidad de epi-fluorescencia* que, a su vez, tiene tres elementos que van unidos entre sí y están situados sobre el brazo del microscopio:

- Torreta situada entre oculares y objetivos, con espacio para dos cubos. Estos cubos contienen los filtros de excitación, de emisión o de barrera y el espejo dicróico, y son desplazables respecto al eje óptico por medio de dos vástagos exteriores (posiciones G y V) para intercalarse según se realice una observación microscópica convencional o con fluorescencia. El microscopio descrito dispone de un único cubo (B-2A. DM510).
- Cilindro horizontal (Nikon 2253769) que contiene dos diafragmas: uno de campo (desplazable desde el exterior, “*open y close*”) y otro para apertura del condensador de fluorescencia, con dos filtros de densidad neutra ND2 y ND4. Dispone de una palanca externa obturadora del rayo (posiciones *O, F, C*).
- Módulo porta-lámparas que contiene una lámpara de mercurio de 100w.

#### **Unidad de epi-fluorescencia**



#### **Fundamento de la microscopía de fluorescencia**

La microscopía de fluorescencia es una forma especial de la microscopía óptica basada en la capacidad que poseen determinadas partículas, denomi-

nadas fluorocromos, para reemitir luz después de ser excitadas con un foco de luz de una determinada longitud de onda.

La fluorescencia es uno de los fenómenos físicos más utilizados en microscopía biológica y analítica, principalmente por su alta sensibilidad y especificidad.

Como resultado de la radiación electromagnética emitida por las moléculas que han absorbido la excitación primaria, se obtiene una imagen iluminada de una mayor longitud de onda que puede ser fácilmente observada.

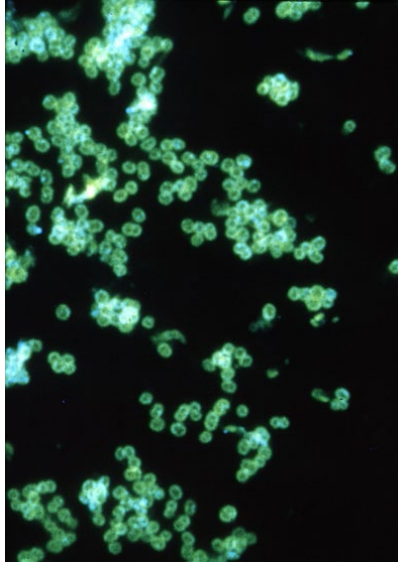
Para dejar pasar únicamente la emisión secundaria deseada se deben colocar filtros apropiados debajo del condensador y encima del objetivo. Un primer filtro de excitación transmite sólo la luz que es capaz de excitar la muestra con su colorante particular. Después, la luz emitida por la muestra tiene que pasar a través del filtro de emisión antes de que llegue al detector. Este filtro sólo permite pasar luz con una longitud de onda distinta, como la luz emitida por la muestra. Cuanto más selectivos sean estos filtros mejor contraste de imagen se obtendrá en el microscopio, el fondo será más oscuro y la fluorescencia más brillante y contrastada.

La microscopía de fluorescencia se utiliza para observar sustancias con autofluorescencia, como la vitamina A, o teñidas con fluorocromo, así como anticuerpos o proteínas previamente marcados con fluorocromo. Los fluorocromos o fluoróforos son moléculas con propiedades luminescentes. La luminiscencia de estas partículas es un fenómeno de vida corta.

Los fluorocromos son moléculas capaces de absorber fotones y, a su vez, emitir fotones de menor energía (mayor longitud de onda). Los fluoróforos son la parte responsable de la emisión de fluorescencia.

El tipo de fluoróforo o fluorocromo a utilizar está en dependencia con el tipo de microorganismo o célula que se vaya a investigar: fluorescein isothiocyanate (FITC), Acridine Orange, Alexa Fluor 488, Auramine O, BOBO-1, BO-PRO-1, Calcein, Coriphosphine O, BODIPY FL, Fluo-3, green fluorescent protein (GFP; and red-shifted variants), oxacarbocyanine dyes (DiO), SYTO, y SYTOX Green, DAPI (unión a adenina y timina del ADN) para teñir células muertas (4,5).

### **Neisseria gonorrhoeae. Inmunofluorescencia**



Fuente: <https://es.wikipedia.org/wiki/Neisseria>

### **Microscopio de campo oscuro**

#### **Descripción**

El microscopio dispone de un condensador de campo oscuro que cuando se sitúa en la posición DF (dark field) interpone su diafragma en la luz proveniente de la lámpara, de modo que pase por el costado de la lente reduciéndola a un cono de luz, consiguiendo de este modo un fondo oscuro sobre el que se destacan iluminadas las estructuras a observar.

#### **Condensador en posición de campo oscuro (DF)**



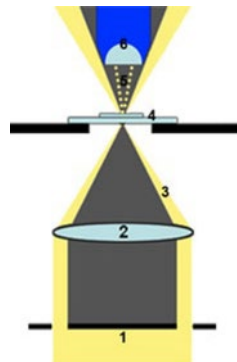


### **Fundamento del campo oscuro**

El principio del campo oscuro parte del fenómeno físico de la dispersión de la luz por las partículas coloidales denominado “Efecto Tyndall”, que permite su observación sin necesidad de tinción e incluso la visión de células y microorganismos vivos y en movimiento.

El condensador modifica el haz de luz de un microscopio óptico normal de modo que los rayos se desvíen lateralmente por su periferia creando un fondo oscuro en la imagen, sobre el que destacan las estructuras a observar como partículas brillantes y transparentes. Para intensificar el haz de luz los condensadores configurados para este tipo de microscopía disponen de varios espejos en su interior (6).

**1- Diafragma central. 2- Condensador. 3- Cono de luz. 4- Portaobjetos. 5- Muestra. 6- Objetivo**



Fuente: [https://es.frwiki.wiki/wiki/Microscopie\\_en\\_champ\\_sombre](https://es.frwiki.wiki/wiki/Microscopie_en_champ_sombre)

El diafragma, situado debajo del condensador, consta de un círculo central opaco (negro) rodeado por otro círculo exterior vacío por el que atraviesa la luz.

### **Diafragma de campo oscuro**



### **Apuntes biográficos de la microscopía de campo oscuro**

La microscopía de campo oscuro ya era practicada desde el siglo XVII, cuando Antonie van Leeuwenhoek, Robert Hooke y Christian Huygens, utilizando una vela colocada oblicuamente de tal forma que la luz no incidiera directamente sobre la lente, observaban los componentes celulares de la sangre y los pequeños organismos.

Joseph Bancroft Reade (1801-1870) fue el primero en añadir un dispositivo especial para campo oscuro, incorporando a la iluminación lateral una lente que enfocaba la luz sobre la muestra para que la luz no desviada pasara por el objetivo.

Francis Herbert Wenham (1824-1908), aportó entre 1852 y 1856 nuevos principios sobre la iluminación del campo oscuro y desarrolló dos tipos de condensadores con luz axial reflejada en un paraboloide hueco, de plata o de vidrio macizo, obteniendo de esta manera una reflexión total.

Posteriormente, con el fin de evitar las aberraciones cromáticas producidas por la refracción en las superficies de vidrio, se desarrollaron condensadores de espejo.

Al final el siglo XIX, Ernst Abbe (1840-1905) aplicó los nuevos conceptos de la “refracción óptica” y sentó las bases de la óptica moderna con la creación del condensador que lleva su nombre. Walter Gebhardt (1870-1918), diseñó para la casa Zeiss un condensador tipo Abbe con un diafragma central para la iluminación de campo oscuro.

La inmersión de la preparación en Bálamo del Canadá u otro aceite entre el condensador y el portaobjetos permitió la utilización de objetivos secos con una apertura de hasta 0,95.

A partir de 1906, el descubrimiento del *Treponema pallidum*, agente etiológico de la sífilis, dio un gran impulso a la microscopía de campo oscuro en el diagnóstico microbiológico, ya que permitía la observación de la espiroqueta en movimiento directamente en muestras frescas.

#### **Treponema pallidum. Campo oscuro**



Fuente: Fotografía cortesía de Louisa Lu, MD

<https://www.labmedica.es/inmunologia/articulos/294794312>

Los trabajos de Abbe dejaron claro el papel decisivo de la refracción en la formación de la imagen lo que, posteriormente, condujo al desarrollo del denominado “condensador de campo oscuro-brillante”, que por medio de una palanca permite realizar un cambio entre el campo claro y el campo oscuro.

A partir de 1907 las empresas Leitz y Zeiss desarrollaron condensadores con dos superficies reflectantes diseñados, respectivamente, por Ignatowski y Henry Wilhelm Fiedrich Siedentopf (1872-1940) junto a su colaborador el químico Richard Adolf Zsigmondy (1860-1929) (7), de manejo más fácil que los condensadores anteriores. La segunda superficie reflectante debía tener una sección transversal cardiode, difícil de mecanizar, por lo que Zeiss la sustituyó por una superficie esférica que produjo un efecto similar. Sin embargo, el dispositivo se vendió con el nombre de “condensador cardiode” (6).

### **Richard Adolf Zsigmondy**



Fuente: [https://es.wikipedia.org/wiki/Richard\\_Zsigmondy](https://es.wikipedia.org/wiki/Richard_Zsigmondy)

### **Henry Friedrich Wilhelm Siedentopf**



Fuente: <https://www.fisicanet.com.ar/biografias/cientificas/s/siedentopf-henry-friedrich-wilhelm>

## **Microscopio de contraste de fases**

### **Descripción**

La microscopía de contraste de fases permite la observación de las estructuras internas de las muestras biológicas vivas (microorganismos, células, tejidos, etc.) sin necesidad de la utilización de colorantes. Es un procedimiento que visualiza detalles estructurales de la muestra que no son visibles con otros tipos de microscopios y su observación se basa en la diferencia de fases existente entre las distintas ondas de luz que pasan a través de la muestra.

Cuando un foco de luz atraviesa la muestra se divide en dos: la luz de iluminación y la luz dispersada, producida por la refracción de las ondas al contacto con la muestra. El microscopio de contraste de fases manipula la luz de iluminación para aumentar el contraste de la luz dispersada.

*Sistema óptico e iluminación.* El sistema óptico del microscopio de contraste de fases es similar al de un microscopio óptico convencional al que se le añaden dos componentes especiales: el objetivo, que contiene el anillo de fase y el filtro, y un condensador con un disco que proyecta la luz de forma anular denominado “diafragma anular” (8).

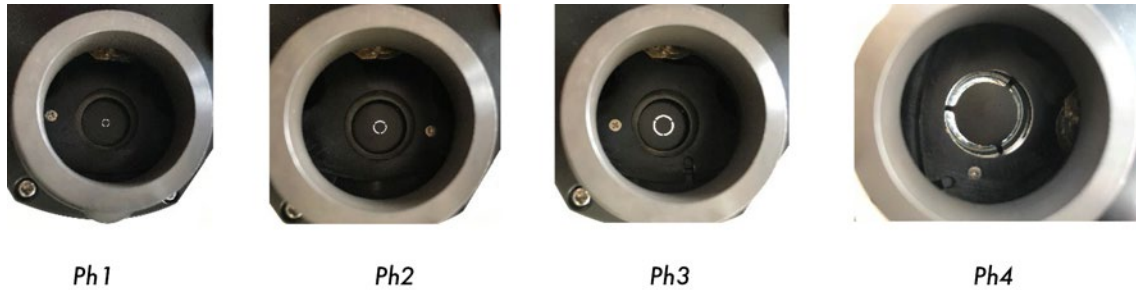
La función del anillo de fase del objetivo es retrasar  $90^\circ$  la onda de la luz de iluminación, mientras que la luz dispersada por la muestra no se ve afectada. El filtro del objetivo reduce la amplitud de la onda, de manera que el resultado es una superposición perfecta en los valles y las crestas de las ondas. Esta configuración se conoce como contraste de fases negativo. En la imagen resultante, las estructuras vivas se observan brillantes en contraste con el fondo oscuro.

El condensador posee cuatro posiciones que corresponden a diferentes tamaños del disco o “diafragma anular”: Ph1, Ph2, Ph3 y Ph4.

#### **Condensador para contraste de fase**



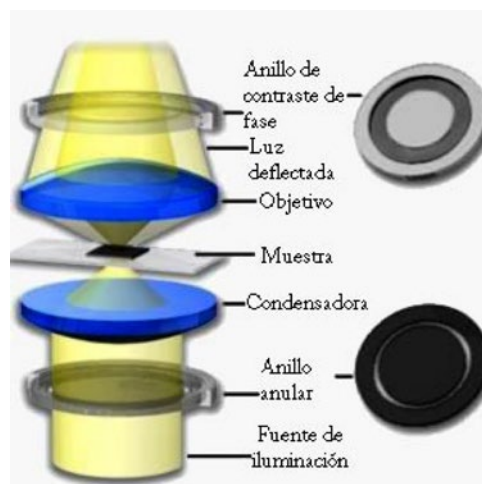
### Diafragmas anulares del condensador



### Fundamento de la microscopía de contraste de fases

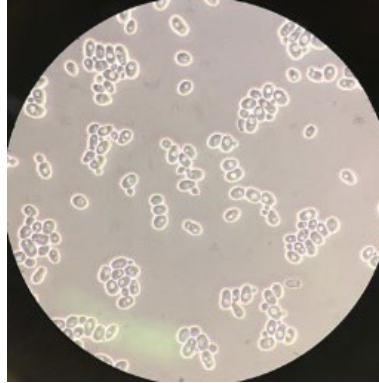
En la observación al microscopio convencional la mayoría de las células vivas absorben muy poca luz, por lo que no se produce ningún contraste en la imagen visible. Por otra parte, las células presentan diversos espesores e índices de refracción, lo que conduce a las diferencias de fases de las ondas de luz que pasan a través de ellas. La fase de un haz de luz es inobservable a la vista (lo que se aprecia es la intensidad, no la fase). Frits Zernike calculó la forma para conseguir que las diferencias de fase se apreciaran en la imagen al igual que la intensidad, logrando visualizar detalles que no era posible apreciar en un microscopio convencional y en imágenes de alta resolución y contraste (9).

### Óptica del microscopio de contraste de fases



Fuente: <https://www.revista.unam.mx/vol.6/num7/art70/art70-2.htm>

### Hongo unicelular. Microscopio de contraste de fases

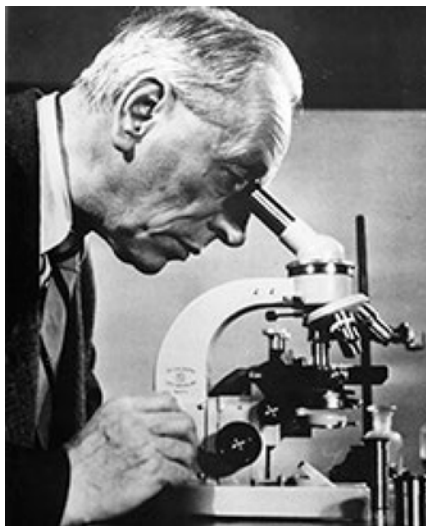


Fuente: <https://www.mundomicroscopio.com/microscopio-de-contraste-de-fases/>

### Apuntes biográficos e históricos

El microscopio de contraste de fases debe su origen al físico neerlandés Frits Zernike (Amsterdam, 1888-Groningen, 1966). Profesor de Física y de Mecánica cuántica en la Universidad de Groningen, sus trabajos sobre óptica física le llevaron a la creación del método de observación por contraste de fases y a la invención en 1932 del microscopio del mismo nombre. Zernike recibió el Premio Nobel de Física en 1953 por su invención, así como por sus contribuciones a la óptica y la difracción de rayos X (10).

### Frits Zernike



Fuente: <https://www.preceden.com/timelines/690664-historia-de-la-microbiolog-a>

### Apuntes históricos de la empresa NIKON

La empresa Nikon de instrumentación óptica tuvo su origen en 1917, cuando tres pequeñas empresas japonesas fabricantes de óptica de precisión se fusionaron para formar una única denominada Nippon Kogaku KK (Japan Optical Industries Corporation), en abreviatura Nikko (11).

#### Logotipo



Fuente: <http://www.nipponkogakuklub.com/NKK/NikonHistory.html>

Durante las siguientes décadas la marca se expandió dedicándose a la fabricación de microscopios para lo cual incorporó al equipo, en 1921, seis técnicos alemanes, produciendo en 1925 el primer microscopio con revólver



rotativo y objetivos intercambiables (el microscopio “Joico”). Los primeros microscopios se comercializaron con la marca Nikko. A partir de 1932, las lentes y los objetivos pasaron a llamarse Nikkor.

#### Logotipo



Fuente: <http://www.nipponkogakuklub.com/NKK/NikonHistory.html>

Junto con la división dedicada a los microscopios, la compañía se especializó en la fabricación de lentes ópticas para otras marcas (incluidas las de las primeras cámaras fotográficas Hansa Canon de la empresa Kyanon), productos industriales para la medición e inspección óptica, autocolimadores, el proyector de perfil y sistemas automatizados basados en la visión.

Posteriormente, en el año 1946 diseñaron su propia cámara fotográfica que salió al mercado en 1948 junto con la nueva denominación Nikon.

En las décadas siguientes, Nikon fue lanzando varias series de nuevos microscopios. Así, en la de los setenta, una vez establecido el sistema óptico CF, Nikon presentó los microscopios de las series “Optiphot” y “Labophot”, en la de los ochenta el microscopio invertido “Diaphot” y en la de los noventa aportó aún más innovaciones con la introducción de la gama “Eclipse” de óptica al infinito, e introdujo los innovadores microscopios polarizantes y estereoscópicos, además de productos para el creciente mercado de la medición y la inspección.

En el milenio actual incorporó soluciones de captura de imágenes digitales para microscopía, liderando el mercado de las cámaras fotográficas automáticas. Así, en 2009 con la adquisición de Metris, se produjo la nueva división Nikon Metrology ampliándose su cartera de productos con instrumentos de medición óptica en 3D. Actualmente, la nueva división ofrece la gama más amplia de soluciones de metrología para aplicaciones que van desde la electrónica en miniatura a la de los aviones (12).

## Microscopio trinocular CARL ZEISS WEST GERMANY



**Fecha de fabricación:** comienzo/mediados de 1980 (dato proporcionado por Zeiss History).

**Fabricante:** Carl Zeiss. West Germany.

**Procedencia:** Escuela Nacional de Sanidad.

**Dimensiones:** Altura = 46 cm x 16 cm de ancho x 27 cm de profundidad.

**Descripción:** Microscopio óptico trinocular. Número de serie: 040811 470914-9902/55.

El microscopio trinocular es un microscopio binocular convencional equipado con un tercer ocular que posibilita su empleo en los ámbitos profesional y docente.

La adaptación en el tercer ocular de una cámara y/o la conexión a una pantalla permite la obtención de imágenes de alta calidad. En el ámbito educativo, el tercer ocular posibilita el estudio simultáneo de las preparaciones por dos observadores.

*Estativo:* Compuesto por una base rectangular con bordes ovalados y brazo en asa de metal gris. Platina de baquelita negra rectangular de 16 cm de ancho x 14 cm de largo, con tres pinzas de sujeción y carro móvil para desplazamiento de la preparación. La platina tiene en el borde interno una regla graduada fija de 60 a 140 mm. Dentro de la propia platina y paralela a la anterior hay otra regla graduada de 0 a 40 mm. La regulación de ambas reglas se realiza mediante una pieza que incluye una pinza lateral y dos pequeñas centrales.

En los laterales del brazo dispone de dos ruedas macro y micrométricas, graduadas de 0 a 350 mm.

En la base se sitúa el botón de encendido y apagado.

En la parte superior del asa se sitúa el revolver con cinco posiciones.

### **Sistema óptico**

*Zeiss.* Rango de aumentos: 2,5 - 1000 X.

Consta de dos oculares de baquelita negra colocados en ángulo de 45°, con un rango de aumento de 1,25 X, y un tercer ocular montado verticalmente en el cabezal.

El cabezal contiene un prisma interno especial que divide la luz incidente en tres haces idénticos.

El espacio inter-ocular (CPL W 10X/18) cuenta con un adaptador de la distancia inter-pupilar mediante una escala ocular de 55 a 75 mm, Zeiss West Germany. Número de serie: 47 30 15 -9901.

- 1. Ocular derecho: logotipo de Zeiss West Germany graduado entre = 0, +, y -.
- 2. Ocular izquierdo: logotipo de Karl Zeiss, sin graduación.
- 3. Ocular superior: logotipo de Carl Zeiss en la tapa.

Revolver con cinco posiciones y cuatro objetivos Zeiss West Germany con camisas marcadas con distintos colores y la nomenclatura: F (Corrección óptica), Aumento/apertura numérica.

Banda roja, F 2,5/0,08. 46 01 05.

Banda amarilla, F 10/0,25. 46 04 05.

Banda azul, F 40/0,65. 46 07 05.

Banda blanca, F 100/1,25 Oil. 46 19 05.

### **Sistema de iluminación**

Cable de conexión a la red.

Fuente de iluminación en la base con diafragma regulable mediante rueda de 0 a 20 mm.

El cuerpo del condensador se fija a un anillo mediante tres tornillos. Su altura se regula mediante un tornillo moleteado.

Condensador tipo ABBE con diafragma regulable mediante un pequeño vástago lateral y una lente central (0,5) abatible mediante otro vástago.

### **Apuntes históricos de la Empresa Zeiss**

La historia de la empresa ha sido expuesta en la publicación “*Laboratorio del Hospital del Rey. Catálogo razonado de microscopios y accesorios*” (3).

## Microscopio invertido de contraste de fase ZEISS. Modelo ID-03



El microscopio invertido de contraste de fases es un microscopio biológico que permite la observación de cultivos celulares y microorganismos vivos, sin preparación previa, así como la monitorización de sus actividades (crecimiento, comportamiento). Para la consecución de estos efectos, tanto la fuente de luz como el condensador están ubicados por encima de la platina, mientras que el revolver con los objetivos está colocado por debajo de la platina que es fija.

**Fecha de fabricación:** 1988 (dato proporcionado por Zeiss History).

**Fabricante:** Carl Zeiss West Germany

**Procedencia:** Clínica Puerta de Hierro. Instituto Nacional de la Salud. Madrid.

**Donación:** Escuela Nacional de Sanidad.

**Dimensiones:** Altura = 48 cm; Profundidad = 40 cm.

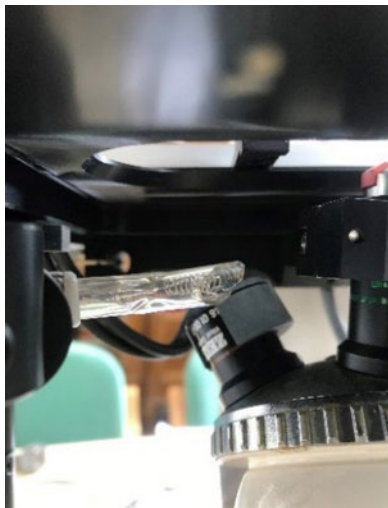
**Descripción:** microscopio invertido con contraste de fases. Número de serie: 414088, situado en la cara inferior del pie.

*Estativo.* Pie rectangular (25 x 17 cm) con botón de encendido (on/off), brazo recto lacados en blanco y platina rectangular fija (27 x 21 cm) lacada en negro.

Para la fijación de la placa de cultivo celular o microbiano, la platina dispone de un sistema de sujeción controlado mediante un mando coaxial vertical que permite el desplazamiento de la muestra en las direcciones horizontal y vertical con un margen de 85 a 135 mm. Escalas y reglas adaptables a gran variedad de recipientes (placas Petri, placas de microtest, etc.).

Debajo de la platina existe una pieza suplementaria horizontal y graduable en altura, de la que sale una conexión multicanal y dos cables. El cable de la izquierda conecta con una resistencia eléctrica incluida en una ampolla de cristal (rota) con una entrada para una sonda de plástico. El cable de la derecha termina en un par de electrodos unidos por un pequeño cable metálico (arco voltaico). El contacto de los electrodos respecto a la lente del objetivo es graduable.

**Resistencia eléctrica incluida en ampolla de cristal (rota)**



**Electrodos (arco voltaico)**



Los dispositivos que soportan la resistencia eléctrica y los electrodos son extraíbles y en ellos no se observa inscripción de marca alguna, lo que induce a pensar que no forman parte del equipo original Carl Zeiss y han sido instalados con posterioridad.

La aplicación de una resistencia eléctrica en la platina del microscopio tendría como función el mantenimiento de la temperatura adecuada de la placa que contiene el cultivo celular durante el exámen. La función de los electrodos de arco voltaico sería la estimulación eléctrica de las células.

En la parte inferior del brazo se encuentran los ajustes macrométrico (sin graduación) y micrométrico (0 a 400 mm) en un único anillo concéntrico para el enfoque de los objetivos.

**Sistema óptico**

Consta de dos oculares de baquelita negra con tapas superiores, colocados en ángulo de 45° Zeiss West Germany 46 42 44-9901. Kpl W 16x/16. El ocular de la derecha carece de la tapa lateral.

El espacio inter-ocular cuenta con un adaptador de la distancia inter-pupilar mediante una escala ocular de 55 a 75 mm.

El revolver tiene cuatro posiciones y dos objetivos. Uno con banda marrón, Zeiss West Germany 46 3,2/0,007.160/-. 460100-99 y otro con banda verde cuyo aumento no es accesible a la visión.

### Oculares



### Sistema de iluminación

Cable de conexión a la red situado en el estativo.

Sobre la platina se sitúa un vástago metálico regulable en altura mediante dos tornillos, del que sale un brazo perpendicular que soporta una torre que contiene la fuente de iluminación y el condensador. La fuente de iluminación contiene una lámpara Relamp 6V max 20W.

Condensador con diafragma regulable mediante una pequeña palanca.

Entre la fuente de iluminación y el condensador se encuentra una bandeja horizontal, que presenta una rotura que la hace inmovilizable, con dos posiciones. Una de ellas corresponde al anillo soporte para el filtro del contraste de fases Ph1 (32 mm de diámetro).



### Dispositivo para contraste de fases



### Fundamento de la microscopía invertida

La iluminación por encima de la platina, junto con la posición de los objetivos por debajo de ella, permiten la observación de las células vivas y microorganismos en la base de los recipientes que los contienen y en su medio de cultivo adecuado, facilitando la realización de exámenes que no son posibles con los microscopios convencionales y durante una escala de tiempo de horas e incluso días.

Sin embargo, este tipo de microscopios presentan algunas características diferentes respecto a los convencionales como:

La mayor complejidad de los prismas ópticos, al ser necesario cambiar la dirección de la luz prácticamente  $180^\circ$  para dirigirla hacia los oculares.

La fijación de la platina, ya que en el ajuste con los tornillos micrométrico o macrométrico, lo que se moviliza es el revólver con los objetivos, para mantener la estabilidad de la muestra durante el enfoque.

Los objetivos, tienen una limitación del máximo aumento sin perder calidad de imagen en comparación con los objetivos de los microscopios convencionales, ya que en éstos últimos los objetivos están optimizados para un espesor

específico del cubreobjetos, mientras que en los microscopios invertidos, en cambio, no pueden estarlo, ya que los contenedores de vidrio o plástico tienen distintos grosores.

Los objetivos de inmersión no siempre están disponibles en este tipo de microscopios, debido a la dificultad de utilizarlos en posición inversa.

Este tipo de microscopios suele poseer además accesorios como cámaras, mecanismos de estabilización, iluminación fluorescente, escáner confocal y otros (13).

### **Apuntes biográficos e históricos**

El primer intento de visión microscópica invertida se debe a Charles Chevalier (1804-1859), dueño de uno de los talleres de óptica y microscopía más importantes de París, y el primero en aplicar el objetivo apocromático para la corrección de las aberraciones esféricas de las lentes. Chevalier, inventó en 1834 un dispositivo de inversión muy complejo aplicable al microscopio convencional que presentaba grandes dificultades de manejo (14).

La invención definitiva del microscopio invertido se debe a John Lawrence Smith (1818-Charleston, Carolina del Sur-1883 Louisville, Louisiana), químico, mineralogista y médico. Smith viajó a Europa para ampliar sus estudios de química, mineralogía, física y geología, concretamente en París y en Giessen (Alemania), donde trabajó con Justus von Liebig. De regreso a los Estados Unidos en 1843 se decantó por la mejora de los métodos de análisis químico y su aplicación, ejerciendo como profesor de química en la Universidad de Tulane (Louisiana).

Entre 1846 y 1850, Smith trabajó para el gobierno de Turquía investigando sus recursos minerales, y descubriendo depósitos de carbón, cromo, esmeril y el mineral liebigite (15).

De regresó a los Estados Unidos en 1850, perfeccionó el microscopio invertido, un invento en el que había comenzado a trabajar durante su estancia en el extranjero, diseñando un modelo de microscopio que superaba en gran medida al dispositivo de Chevalier (16).

### **John Lawrence Smith**



Fuente: [https://en.wikipedia.org/wiki/J.\\_Lawrence\\_Smith](https://en.wikipedia.org/wiki/J._Lawrence_Smith)

### **Microscopio invertido de Smith. 1850**



Fuente: <https://campus.usal.es/~histología/Microscopios/museo28.htm>

Ese mismo año, Albert Nachet, que fue discípulo de Chevalier hasta 1834 y uno de los mejores fabricantes de microscopios de Francia, basándose en los dibujos y especificaciones de Smith construyó y dio a conocer el primer ejemplar de este tipo de microscopio al que denominó “microscopio químico” y, un año más tarde, lo presentó en la Exposición de Londres de 1851 con el nombre de “Nachet Chemical Microscope”. A lo largo de 25 años, junto con su hijo Albert, construyó numerosos ejemplares y modificaciones del mismo, sin mencionar nunca a su verdadero inventor (14).

## Bibliografía

1. Cronología de la evolución del microscopio [sede web]. España [acceso, 12 de agosto de 2023]. Disponible en: <https://www.mundomicroscopio.com/cronologia/>
2. Ernst Leitz. El primer microscopio binocular funcional [sede web]. Alemania [acceso, 14 de febrero de 2023]. Disponible en: <https://www.ernst-leitz-stiftung.org/index.php/2015-02-16-22-14-52>
3. Mariño Gutiérrez, L.; Baquero Mochales, M.; Meseguer Peinado, M.A. Laboratorio del Hospital del Rey. Catálogo razonado de microscopios y accesorios. Madrid; Instituto de Salud Carlos III, Escuela Nacional de Sanidad, Biblioteca Nacional de Ciencias de la Salud: 2014.
4. Colaboradores de Wikipedia. Microscopio de fluorescencia [Internet]. [2022] [Consultado, 14 de febrero de 2023]. Disponible en: [https://es.wikipedia.org/wiki/Microscopio\\_de\\_fluorescencia](https://es.wikipedia.org/wiki/Microscopio_de_fluorescencia)
5. ¿Qué es un microscopio de fluorescencia? Microplanet [sede web]. Barcelona [acceso, 14 de febrero de 2023]. Disponible en: <https://www.bioindicacion.com/blog/que-es-microscopio-fluorescencia/>
6. Colaboradores de Wikipedia. Microscopio de campo oscuro [Internet]. [2015] [Consultado, 3 de marzo de 2023]. Disponible en: [https://es.frwiki.wiki/wiki/Microscopie\\_en\\_champ\\_sombre](https://es.frwiki.wiki/wiki/Microscopie_en_champ_sombre)
7. Richard Adolph Zsigmondy y Henry Fiedrich Siedentopf. Microscopio de campo oscuro [sede web]. Granada [acceso, 3 de abril de 2023]. Disponible en: <https://patrimonio.ugr.es/obra-del-mes/microscopio-de-zsigmondi/>
8. Microscopio de contraste de fases [sede web]. España [acceso, 15 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://www.mundomicroscopio.com>
9. Colaboradores de Wikipedia. Microscopio de contrastes de fases. Frits Zernike. [Internet]. [2022] [Consultado, 9 de junio de 2023]. Disponible en: [https://es.wikipedia.org/wiki/Frits\\_Zernike](https://es.wikipedia.org/wiki/Frits_Zernike)

10. Colaboradores de Wikipedia. Frits Zernike [Internet]. [2023] [Consultado, 9 de junio de 2023]. Disponible en: <https://es-cademic.com/dic.nsf/eswiki/502805>
11. Nikon - History -Nippon Kogaku Klub [sede web]. Japón [acceso, 20 de junio de 2023]. Disponible en: [https://www.nipponkogakuklub.com/NKK/Nikon\\_History.html](https://www.nipponkogakuklub.com/NKK/Nikon_History.html)
12. Nikon Industrial Metrology [sede web]. Japón [acceso, 20 de junio de 2023]. Disponible en: <https://www.nikonmetrology.com/es/acerca-de-nosotros/historia-de-nikon-metrology>
13. El microscopio invertido [sede web]. España [acceso, 23 de julio de 2023]. Disponible en: <https://www.mundomicroscopio.com/microscopio-invertido/>
14. Microscopio invertido Chevalier [sede web]. España [acceso, 12 de julio de 2023]. Disponible en: <https://campus.usal.es/~histologia/museo/Microscopios/museo28/museo28.htm>
15. Colaboradores de Wikipedia [Internet]. [2023] [Consultado, 9 de agosto de 2023]. Disponible en: [https://en.wikipedia.org/wiki/J.\\_Lawrence\\_Smith\\_\(chemist\)](https://en.wikipedia.org/wiki/J._Lawrence_Smith_(chemist))
16. Smith JL. The inverted microscope-a new form of microscope. American Journal of Science, and Arts. 1852;14: 233-241.

