REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Historia del microscopio y su repercusión en la Microbiología History of the microscope and its repercussion on Microbiology

Rita María Sánchez Lera^I, Ninfa Rosa Oliva García^{II}

- Doctora en Medicina. Especialista de Primer Grado en Medicina General Integral.
 Residente de Microbiología. Profesor Instructor. Centro Provincial de Higiene,
 Epidemiología y Microbiología, Camagüey.
- II. Doctora en Medicina. Especialista de Primer Grado en Medicina General Integral. Especialista de Primer Grado en Microbiología. Máster en Atención Integral a la Mujer. Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología, Camagüey.

RESUMEN

El microscopio constituye un instrumento de vital importancia para la Microbiología y para muchas otras ramas de la Medicina. Se realizó una revisión bibliográfica con el objetivo de profundizar los conocimientos sobre el microscopio, sobre la historia de este en el período comprendido desde su creación hasta la actualidad a nivel mundial y más brevemente en Cuba. El trabajo aborda también, con una corta descripción, los diferentes tipos existentes así como algunas de las aplicaciones más importantes en la Microbiología.

Palabras clave: microscopio electrónico, historia, microbiología.

ABSTRACT

This bibliographic review was carried out with the objective to deepen the existing knowledge about the history of the microscope since its origin up to date worldwide which and in Cuba, taking into account that it constitutes an instrument of vital importance for microbiology and for many other branches of medicine. This work also deals with a brief description of the different types of microscopes as well as some of the most important applications in microbiology.

Keywords: electronic microscope, history, microbiology.

INTRODUCCIÓN

Desde los albores de la humanidad han sido fundamentales los descubrimientos y la evolución de la tecnología junto a ellos, los cuales han influido en las diferentes perspectivas que se han utilizado para analizar la vida.

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. Desde el descubrimiento del fuego, invención de herramientas y desarrollo del lenguaje, hasta los más recientes desarrollos que han permitido la desintegración del átomo y el uso de energía atómica, la exploración del cosmos y el desarrollo de múltiples disciplinas o campos del saber, como la biotecnología, nanotecnología e infotecnología, el ser humano, sujeto pensante, dotado de inteligencia, memoria y voluntad, ha realizado numerosos aportes.¹

Las autoras del trabajo consideran que uno de los períodos más activos en cuanto al progreso científico-técnico de la humanidad fue en Europa fundamentalmente, durante los siglos XVI al XVIII, al desarrollarse la física, la química, la medicina renacentista y con el advenimiento de la Revolución Industrial, se realizaron investigaciones científicas importantes; debido en gran medida a los progresos de la óptica en esta época los científicos pudieron adentrarse en el mundo de los organismos microscópicos.

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.²

Se considera que aportes como los del alemán *Johannes Kepler*, el cual en su libro *Ad Vitellionem Paralipomena*, en 1604, sugirió que la intensidad de la luz desde una fuente varía

inversamente con el cuadrado de la distancia desde la fuente, explicó la visión como la formación de una imagen en la retina por medio del lente y describió las causas de la miopía y la hipermetropía; como los de *Isaac Newton* en Inglaterra, en 1672, el que detalló la descomposición de la luz blanca en sus colores componentes al hacerla pasar por un prisma, que dio inicio a la ciencia del color; también los del checo *Max Wertheimer*, en 1912, sobre el movimiento aparente, el que es percibido cuando, en ciertas condiciones, dos objetos estacionarios son presentados en sucesión, ayudaron a la comprensión del mecanismo complejo de la visión y de los objetos que permitían perfeccionarla.

Los organismos vivos han sido estudiados bajo muy diferentes puntos de vista en relación con el ambiente. Cada época ha introducido experiencias y conocimientos que han desarrollado nuevas perspectivas para estudiarlos y definirlos. Antes de la fabricación de los microscopios era imposible ver las bacterias. El instrumento básico para el diagnóstico lo representa el microscopio óptico, el cual continúa siendo imprescindible en los laboratorios de investigación y de diagnóstico.³⁻⁵

La mayoría de los investigadores consideran que la microbiología y la microscopía están indisolublemente unidas, pues uno de los aspectos que más impulsó al desarrollo de la primera fue la aparición del microscopio a finales del siglo XVI.

A partir del descubrimiento del mundo microscópico, a finales del siglo XVII, por *Anton van Leeuwenhoek* se da inicio al estudio de un campo abundante y diverso que lleva al descubrimiento de la célula, y permite a *Matthias Schleiden* y *Theodor Schwann* presentar la doctrina de la célula la cual postula que las plantas y los animales no son un todo indivisible, sino que son compuestos, hechos de innumerables células, y cada célula en sí misma es un organismo, con los atributos esenciales de la vida.³

La aparición de los lentes y del microscopio, la observación de protozoos y bacterias y el desarrollo de las habilidades alcanzadas en el campo de la microscopía fueron marcando avances en el conocimiento de los organismos vivos, en la comprensión de su morfología, estructuras constituyentes, comportamiento, aspectos que hasta entonces eran desconocidos, por ser estos seres imperceptibles para el ojo humano a simple vista, lo que posibilitó que después los estudiosos pudieran relacionarlos con la etiología de procesos morbosos y letales.

El conocimiento es visto como un proceso integrado que se inicia con el interés y la curiosidad, se construye a través de la investigación y crece en múltiples disciplinas científicas básicas y aplicadas, que innovan y avanzan hacia el desarrollo y bienestar social, cultural y económico. En el estado actual de conocimientos, aún se tiene como sueño no muy lejano ver la materia a escala atómica, seguir los procesos biológicos en tiempo real y en tres dimensiones.^{1, 5}

En una sociedad influenciada por la ciencia y la tecnología, todo ciudadano necesita de una cultura científico-tecnológica para entender, integrarse y actuar en el mundo que lo rodea. Dado el amplio espectro que abarcan las ciencias en la vida del hombre, los objetivos de su enseñanza dentro del espacio obligatorio del sistema educativo no deben apuntar a la formación de científicos tradicionales, sino a impartir un concepto de ciencia para todos que desarrolle actitudes y aptitudes científicas que tengan utilidad genuina en la vida real, actual. Por ello se realizó una revisión bibliográfica con el objetivo de profundizar los conocimientos acerca del microscopio y su historia en el período comprendido desde su creación hasta la actualidad a nivel mundial y en Cuba.

DESARROLLO

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 año 3000 a.C. aproximadamente se considera que, por vez primera, se produjo el vidrio. Existen cuentas egipcias de cristal del 2500 a.C. El lente conocido más antiguo estaba hecho de cristal de roca pulido de 4 centímetros de ancho y fue encontrado en la antigua Nínive, en la legendaria Mesopotamia. Se han hallado en Creta lentes biconvexos que datan de entre 3000 y 1200 antes de Cristo. Entre los años 965 y 1020, *Ibn-al-Haitham* (también conocido como *Alhazen*) utilizó para sus investigaciones espejos esféricos y parabólicos. En

el año 1000, un inventor desconocido realiza el primer objeto para ayuda visual, llamado la piedra de leer, era un segmento de una esfera de cristal que al ser colocada sobre el material de lectura amplificaba las letras. ⁶

Se considera además que los primeros usos de los lentes como medios para amplificar las imágenes y algunas de sus propiedades ópticas como las superficies curvas transcendieron a otras civilizaciones tales como la griega y la romana pues fueron estudiadas por *Euclides* y *Ptolomeo* sabios que reflejaron estas cuestiones en sus escritos.

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 Moufet* 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.⁷

El sistema de lentes del microscopio es fundamental para lograr una eficaz resolución de este, pues del lente o lentes deriva en gran medida la calidad de la imagen percibida por el ojo humano.

En 1590 dos constructores holandeses de gafas, *Hans Janssen* y su hijo *Zacharias* (finales del siglo XVI y principios del XVII), construyeron un aparato con lentes de aumento que permitía ver los objetos más pequeños. Combinaron dos lentes convexos en un tubo opaco y obtuvieron de esta manera una mayor perfección en la observación de pequeños objetos con lo cual se fundan los principios del microscopio compuesto y el telescopio.^{8, 7}

El microscopio de *Zacharias* es utilizado y perfeccionado por varios experimentadores y conocido en todos los países, se empleó su sistema óptico en astronomía por *Galileo Galilei* quien publicó sus observaciones al igual que *Kepler*. En 1609 *Galileo Galilei* construyó el primer microscopio simple. De 1617 a 1619, apareció ya un microscopio de dos lentes con un solo objetivo convexo y un ocular, cuyo autor, según se supone, fue el físico *Cornelius Drebbel*. En 1637 *René Descartes* en su libro "Dioptrique", describe un microscopio compuesto, constituido por dos lentes, un ocular plano-cóncavo y un objetivo biconvexo.^{7,8}

Resulta peculiar el aspecto de los microscopios de aquellas épocas los cuales tenían un carácter artístico, reflejo del sentido del arte, de la decoración en esos períodos; en el siglo XVII los tubos se presentaban en formas de cilindros de cartón ricamente ornamentados; las superficies de las monturas tanto del objeto como del ocular presentaban sectores rica y profusamente trabajados con motivos finos realizados manualmente, torneados y cuidados con dedicación; los trípodes usados como soportes del tubo eran poco prácticos con formas de estilo barroco, muchos microscopios tenían como pie o base una caja de madera gustosamente labrada.

Athanasius Kircher (1602-1680), sacerdote jesuita alemán, en 1659, con ayuda de un adecuado microscopio compuesto, habría visto bacterias, que también son células, describiéndolas en la sangre de enfermos de peste como unas culebrillas o pequeñísimos gusanillos. Kircher fue hijo del filósofo Johannes Kircher, doctor en teología de la Universidad de Maguncia, adquirió en el seminario de Paderborn una sólida cultura, que incluía el dominio del griego y del hebreo, así como conocimientos en humanidades, matemáticas y ciencias naturales y poseía estudios de filosofía y de teología. Su microscopio consistía en un tubo con un lente en cada extremo con el tubo dispuesto horizontalmente.^{8, 4,7}

Pese a los progresos, aún en estas épocas, la imperfección de los microscopios unido a la concepción metafísica del mundo no permitió dar pasos esenciales con respecto al conocimiento de las regularidades de la estructura microscópica de los animales y las plantas.

El físico inglés *Robert Hooke* se interesó por todas las ciencias: astronomía, microscopía, mecánica, óptica, geología, fisiología. Inventó multitud de aparatos para observar, medir y registrar fenómenos de la naturaleza. *Hooke* se esforzó en aumentar el alcance de los sentidos, para observar, medir, registrar, analizar y entender lo percibido. *Micrographia* (Pequeños dibujos) es de 1665, cuando *Hooke* tenía treinta años. La escribió en inglés y la dedicó a *Carlos II*. Fue un éxito e influyó sobre interesados en la ciencia y legos. *Hooke* registra e ilustra con su propia mano cincuenta y siete observaciones microscópicas de minerales, vegetales (entre ellas la observación de la estructura del corcho) y animales. *Micrographia* se trata en realidad de un tratado sobre los descubrimientos físicos y biológicos que hizo, con la aplicación de un microscopio que él mismo había construido. 9,10

Se valora de primordial el trabajo realizado por *Hooke* en esta época quien perfeccionó aún más el microscopio, permitiéndole realizar la primera descripción de la célula, observar la estructura fina de los tejidos; su obra "Micrografía de algunas descripciones fisiológicas de cuerpos diminutos realizado por lentes de ampliación" fue editada por la Real Sociedad de Londres y logró gran repercusión en su tiempo.

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*.¹¹

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.^{4,12,13}

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.^{6,14,15}

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.^{11,4,16}

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 um. Sus microscopios que sumaban en total 247 aparatos con 419 lentes se caracterizaban generalmente por tener objetivos de pequeño diámetro y corta distancia confocal.^{4,7}

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.^{4,17}

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*. ¹⁸Se 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 (*Nicolaier*, 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 esta época se lograron progresos en la óptica del microscopio que siguen siendo el fundamento de la microscopía moderna, en cambio el estilo de su construcción y estructura mecánica son casi los mismos. *Amici* en 1812, perfecciona las lentes e implanta la observación con inmersión al agua, *Brewster*, en el mismo año usa la inmersión con otros líquidos con índice de refracción más elevado. En 1820 *Chevalier* introduce los objetivos compuestos y son perfeccionados por *Joseph Jackson Lister*, en 1830, el inventor de las lentes apocromáticas. En 1866 *Carlos Abbe* establece el uso de objetivos apocromáticos mejor perfeccionados junto a la técnica de la inmersión homogénea con aceite de cedro, descubierta antes por *Stephen* y expone los fundamentos matemáticos que condicionan la formación de la imagen en el microscopio compuesto; en 1873 crea la subplatina y en 1899 los distintos tipos de condensadores.⁷

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*.⁷

Estos aditamentos surgieron, se perfeccionaron en este tiempo por aspectos puramente prácticos, para facilitar su uso, pero también fue surgiendo la necesitad 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.⁷

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.⁷

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 procariotas y eucariotas; 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.^{6,19}

Se coincide al atribuirle un peso fundamental al hecho de que este microscopio use una corriente de electrones en lugar de rayos luminosos para producir la imagen ampliada de un objeto pues es esto lo que le confiere su gran resolución al tener los electrones una longitud de onda mucho más corta que los fotones de luz blanca. En la microscopía la mejor resolución microscópica se obtiene usando la menor longitud de onda y un lente objetivo de la mayor apertura numérica posible.

El microscopio, herramienta fundamental del microbiólogo, llegará a Cuba, de manos de quien años después será honrado con el título de Benefactor de la Humanidad, el insigne médico cubano *Carlos Juan Finlay*, quien a su regreso de Estados Unidos en 1855, después de graduarse de médico, trajo el instrumento y con él comenzó sus estudios sobre fiebre amarilla. El doctor *Carlos Juan Finlay* fue quien lo puso al servicio de la microbiología en general en el país. Igualmente, el doctor *Francisco Rodríguez Rodríguez* traerá un microscopio desde París en 1877 para fundar ese mismo año en La Habana el primer

laboratorio clínico. Otros médicos notables de la época pronto se familiarizan con la microscopía, como los doctores *Joaquín García Lebredo y Lladó* y *Enrique Núñez Rossié*. ^{20,21,8}

La llegada del microscopio a Cuba fue vital para la realización de investigaciones sobre la fiebre amarilla, filariosis y paludismo principalmente pues sirvió a hombres de ciencia en el país.

En 1900 se creó en Cuba, en la Facultad de Medicina y Farmacia de la Universidad de La Habana, la cátedra de Bacteriología y Patología experimental, su primer catedrático fue el doctor *Arístides Agramonte Simoni*. También en 1900 se estableció la cátedra de Microscopía Clínica y cinco años más tarde el doctor *Emilio Martínez* publicaba su notable obra "Manual de Microscopía y Química Clínica". En 1902 aparece el interesante artículo "Las investigaciones microbianas en Cuba" del doctor *Luis Adams*. Científicos como el doctor *Alberto Recio Forns*, profesor titular de Microscopía y Química Clínicas de la Facultad de Medicina de la Universidad de La Habana, lograron verdadero prestigio. Actualmente, en el Museo de medicina tropical Carlos Juan Finlay se pueden apreciar cuatro microscopios antiguos mono-oculares, enchapados en bronce, usados en la Cátedra 20 de Parasitología y Medicina Tropical de la Universidad de La Habana, entre 1924 y 1940.^{22,23}

Pese a que en el período de la república burguesa la práctica de la medicina fue una práctica privada, concentrada casi exclusivamente en la capital del país, los verdaderos científicos cubanos continuaron realizando esfuerzos ingentes apoyados en la microscopía para luchar contra las enfermedades, actuación que se mantendrá en tiempos posteriores y se potenciará luego del triunfo revolucionario en 1959 donde se lleva la práctica bacteriológica y por consiguiente la microscopía a todo el país.

Existen diferentes tipos de microscopio, los luminosos son los que utilizan luz visible con el fin de hacer observable un espécimen. Entre estos se encuentran el microscopio luminoso simple, compuesto por una sola lente de aumento, de gran campo, que produce una imagen vertical, estas lentes son útiles para la disección, para las mediciones y para el examen de reacciones de aglutinación, en microbiología se usan en los contadores de colonias, y el luminoso compuesto que consta de dos sistemas de lentes, el objetivo que forma una diminuta imagen real invertida en el plano focal de otra lente y la lente ocular la cual

magnifica la imagen para que el observador pueda resolverla, pueden tener una o dos lentes oculares y se denomina microscopio monocular o binocular respectivamente.²⁴

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.^{25,24}

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.

En la microscopía en campo oscuro se utiliza el mismo microscopio luminoso, empleando un condensador cuya apertura numérica es mayor que la del objetivo así bloquea los rayos de luz directos al igual que desvía la luz de un espejo al lado del condensador en un ángulo oblicuo. De esta manera se crea un campo oscuro que contrasta contra los bordes destacados de los microorganismos. Como los objetos luminosos contra fondo oscuro son percibidos por el ojo más fácilmente, este tipo de iluminación para observación microscópica es útil para visualizar flagelos bacterianos y bacterias espirilares mal definidas con la microscopía de campo claro y de contraste de fase. ²⁴Este instrumento es utilísimo para el diagnóstico microbiológico de la bacteria *Treponema pallidum* agente causal de la sífilis y de Leptospira interrogans causante de la leptospirosis.

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.²⁴

Se considera a la inmunofluorescencia directa como técnica muy utilizada en los laboratorios para identificar, de manera relativamente rápida, antígenos virales en células de especimenes clínicos y para el diagnóstico de agentes microbianos como: *Bordetella pertussis, Legionella pneumophila, Streptococcus pyogenes, Francisella tularensis, Chlamydia trachomatis, Cryptosporidium parvum y Giardia lamblia* entre otros.

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

El conocimiento actual adquirido a través de la investigación del pasado constituye un valioso recurso para lograr profesionales instruidos, con formación científica demostrable, con habilidades y destrezas heredadas a través de la sabiduría, sacrificio y tenacidad de los investigadores, de los innovadores precedentes; al constatar la creatividad y trascendencia de sus obras, de sus instrumentos debe existir el compromiso de continuar esta loable historia.

CONCLUSIONES

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 Galiei 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, Brewester, Chevalier, Lister, Abbe, Kohler se utilizaron cada vez más en este campo. A Cuba llegó con Finlay en 1855; también lo usaron Francisco Rodríguez, García Lebredo, Núñez Rossié, Agramonte Simoni, Emilio Martínez, Luis Adams, Recio Forns.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Vega MA. Aspectos y avances en ciencia, tecnología e innovación. Polis Rev Latin [Internet]. 2012 dic [citado 16 may 2014]; 11(33):[aprox. 19 p.]. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0718-65682012000300022&script=sci_arttext&tlng=pt
- Mesa Yepes H, Branch Bedoya JW, Pérez Ortega G. Clasificación de poros en carbones tratados térmicamente empleando microscopía asistida por computador. Bol cienc tierra [Internet]. 2009 may [citado 16 may 2014]; 25:[aprox. 15 p.]. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-36302009000100006&script=sci_arttext
- 3. Herrero Uribe L. Del mecanicismo a la complejidad en la biología. Rev biol trop [Internet]. 2008 mar [citado 16 may 2014]; 56(1):[aprox. 10 p.]. Disponible en: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S0034-77442008000100030&script=sci arttext&tIng=pt
- 4. Ledermann W. ¿Quién las vio primero?. Rev chil infectol [Internet]. 2012 jun [citado 16 may 2014]; 29(3):[aprox. 8 p.]. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0716-10182012000300017&script=sci arttext&tlng=e

- Javier MV, Enciso G. Patología molecular: aspectos básicos. Rev avan cienc vet [Internet]. 2010 dic [citado 16 may 2014]; 10(1):[aprox. 15 p.]. Disponible en: http://www.cyberhumanitatis.uchile.cl/index.php/ACV/article/viewArticle/10435/10491
- Avalos Ceja GR. La odisea del hombre para entender la luz y la visión. Imag ópt [Internet]. 2005 jul-ago [citado 16 may 2014]; 7:[aprox. 15 p.]. Disponible en: http://www.imagenoptica.com.mx/pdf/revista38/ArtOdisea.pdf
- Parraga A, Fernández R. Una mirada retrospectiva sobre la evolución histórica de las formas del microscopio. Cuad Hosp Clín [Internet]. 1994 [citado 16 may 2014];
 40(1):[aprox. 6 p.]. Disponible en: http://saludpublica.bvsp.org.bo/textocompleto/facmed/chc1994400109.pdf
- Delgado García G, Delgado Rodríguez G. Breve historia de la microbiología y parasitología médicas. En: Llop Hernández A, Valdés-Dapena Vivanco M, Zuazo Silva JL, editores. Microbiología y parasitología médicas. Tl. La Habana: ECIMED; 2001.p.3-8.
- Barcat JA. Robert Hooke (1635-1703). Rev Med Buen Air [Internet]. 2003 nov-dic [citado 16 may 2014]; 63(6):[aprox. 5 p.]. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S0025-76802003000600014&script=sci_arttext
- 10. Cortés Gabaudan F. Célula: Estudio de una metáfora y de un cambio de significado. Panace [Internet]. 2008 [citado 16 may 2014]; 9(27):[aprox. 5 p.]. Disponible en: http://www.medtrad.org/panacea/IndiceGeneral/n27_entremeses-gabaudan2.pdf
- 11. González Alfaro J, González González B, Barrial González RT. Laboratorio de microbiología. Instrumentación y principios básicos. La Habana: ECIMED; 2004. p. 95-96.
- 12. Caballero González JE. Apuntes para la historia de la docencia de la Histología en Cuba. Siglo XVIII al XX. Rev Medisur [Internet]. 2012 [citado 16 may 2014]; 10(4):[aprox. 5 p.]. Disponible en: http://www.medisur.sld.cu/index.php/medisur/article/view/2123/1000
- 13. Strasburger E. Homenaje a Marcello Malpighi por Eduard Strasburger. Bol Soc Argent Bot [Internet]. 2011 jul-dic [citado 16 may 2014]; 46(3-4):[aprox. 8 p.]. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S1851-23722011000200016&script=sci_arttext&tlng=pt

- 14. Rosler R, Young P. La lección de anatomía del doctor Nicolaes Tulp: el comienzo de una utopía médica. Rev méd Chile [Internet]. 2011abr [citado 16 may 2014]; 139(4):[aprox. 6 p.]. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0034-98872011000400018&script=sci_arttext
- 15. Góngora-Biachi RA. La sangre en la historia de la humanidad. Rev Biomed [Internet]. 2005 [citado 16 may 2014]; 16:[aprox. 7 p.]. Disponible en: http://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2005/bio054h.pdf
- 16. Díaz Caballero AJ, Vivas Reyes R, Puerta L, Ahumedo Monterrosa M, Arévalo Tovar L, Cabrales Salgado R, Herrera Herrera A. Biopelículas como expresión del mecanismo de quorum sensing: Una revisión. Avan Period [Internet]. 2011 dic [citado 16 may 2014]; 23(3):[aprox. 7 p.]. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S1699-65852011000300005&script=sci_arttext&tlng=idioma
- 17. García Cáceres U. Aspectos de la Historia de la Medicina del Perú durante la fundación de la Escuela de Medicina Cayetano Heredia y su tiempo (1797-1861) (Parte I). Acta méd peru [Internet]. 2011abr-jun [citado 16 may 2014]; 28(2):[aprox. 10 p.]. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1728-59172011000200008&script=sci_arttext
- 18. Ledermann W. En memoria de Lister. Rev chil infectol [Internet]. 2008 oct [citado 16 may 2014]; 25(5):[aprox. 5 p.]. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182008000500006
- 19. Hernández F. Historia de la microscopía electrónica. Rev Cost Cienc Méd [Internet].
 1987 [citado 16 may 2014]; 8(4):[aprox. 4 p.]. Disponible en:
 http://www.binasss.sa.cr/revistas/rccm/v8n4/art1.pdf
- 20. Nodarse Hernández R. Carlos J. Finlay y Juan N. Dávalos: dos figuras cimeras de la microbiología médica. Breve reseña histórica de los orígenes de esta ciencia en Cuba. Rev Cub Med Mil [Internet]. 2008 jul-sep [citado 16 may 2014]; 37(3):[aprox. 8 p.]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0138-65572008000300012&script=sci_arttext

- 21. Delgado García G. Breves apuntes sobre la historia de la microbiología y parasitología médicas en Cuba. Rev Educ Med Super [Internet]. 2009 oct-dic [citado 16 may 2014]; 23(4):[aprox. 5 p.]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0864-21412009000400011&script=sci_arttext
- 22. Madrigal Lomba R. Laboratorio Clínico. Apuntes históricos. Rev Med Electrón [Internet]. 2009 may-jun [citado 16 may 2014]; 31(3):[aprox. 5 p.]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1684-18242009000300020&script=sci_arttext
- 23. Cabrera Cantelar N, Morales Pérez M, Cantelar Martínez B, Cantelar de Francisco N, Lorié Cantelar D, Cabrera Cantelar M. Museo de medicina tropical Carlos J. Finlay: fuente inagotable de conocimientos. Rev haban cienc méd [Internet]. 2010 jul-sep [citado 16 may 2014]; 9(3):[aprox. 4 p.]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1729-519X2010000300002&script=sci_arttext
- 24. Zuazo Silva JL. Microscopía y coloraciones. En: Llop Hernández A, Valdés-Dapena Vivanco M, Zuazo Silva JL, editores. Microbiología y parasitología médicas. Tl. La Habana: ECIMED; 2001.p.19-28.
- 25. Salinas Casado J. El estudio de la orina. Luis Cifuentes Delatte en el paso del arte a la ciencia. Arch Esp Urol [Internet]. 2008 dic [citado 16 may 2014]; 61(10):[aprox. 10 p.]. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S0004-06142008001000003&script=sci_arttext&tlng=e

Recibido: 30/10/2014

Aprobado: 19/01/2015

Rita María Sánchez Lera. Doctora en Medicina. Especialista de Primer Grado en Medicina General Integral. Residente de Microbiología. Profesor Instructor. Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología, Camagüey.