

## **La Microscopia Estereoscópica entra en una nueva dimensión**

*Autores: Daniel Göggel / Meinrad Berchtel  
Leica Microsystems*

Ya desde su introducción por Horatio S. Greenough, la microscopia estereoscópica se basa en fundamentos ópticos, que habían sido investigados por Ernst Abbe, sobre todo. Durante más de un siglo, ingeniosos diseñadores e ingenieros ópticos han trabajado para llevar el aumento, la resolución y la fidelidad en la reproducción hasta los límites de lo que es posible desde el punto de vista óptico. Al hacerlo, siempre se han visto vinculados con la relación alterna entre estos tres factores: cuanto mayor debe ser la resolución de un microscopio, mayor será el ángulo de convergencia entre la trayectoria izquierda y derecha de rayos y menor la distancia de trabajo disponible. Si se incrementa la distancia de los ejes ópticos, se distorsionará la reproducción tridimensional que obtiene el observador. Un cubo en el objeto aparece entonces en una imagen tridimensional en forma de torre alta.

### **Los límites existen para ser sobrepasados.**

El Leica M205 C es el primer microscopio estereoscópico del mundo que dispone de una amplitud de zoom de 20.5:1. Pero esto no ha sido suficiente para los ingenieros de Leica. Sólo la amplitud de zoom aumentada resulta poco objetiva si el aumento adicionalmente alcanzado sólo provoca un aumento denominado "vacío". Con el aumento en vacío se describe una situación consistente en que aunque el aumento va en incremento, no se aumenta la resolución óptica en la medida adecuada.

Con FusionOptics™, de reciente desarrollo, en Leica han conseguido sobrepasar los límites existentes de la microscopia estereoscópica clásica. Con el nuevo concepto óptico, además del aumento, también se incrementa la resolución hasta 525 Lp/mm de forma continua. Esto concuerda con un tamaño estructural de 952 nm. Dicha prestación se puede aumentar hasta 1050Lp/mm (un tamaño estructural de 476nm) con la correspondiente configuración.

Este incremento significativo del rendimiento afecta naturalmente el trabajo diario, en el cual las muestras se disponen sobre la platina del microscopio con total libertad de movimientos gracias a la enorme distancia de trabajo disponible de la nueva generación de objetivos. Con el nuevo concepto se logra acceder a algunos ámbitos que hasta el momento permanecían ocultos.



New Leica M205 C Stereomicroscope



## El secreto de FusionOptics™

FusionOptics™ saca partido de un órgano que ha ido evolucionando a lo largo de los siglos. El cerebro humano resulta excepcional en muchos aspectos. Además de pensar y guiar al cuerpo humano, de una memoria de datos inmensa, actúa en muchos ámbitos de la vida sin que el ser humano sea realmente consciente de ello. La percepción visual se lleva a cabo mediante dos sensores, los ojos humanos. Posteriormente, el cerebro procesa el par de imágenes estereoscópicas en una imagen espacial conocida. Es decir, no sólo surge una imagen bidimensional, sino también la correspondiente percepción de profundidad. Este efecto se aprovecha en la microscopía estereoscópica, permitiendo la manipulación, control, etc. tridimensional de las mínimas estructuras espaciales.



Pero, además el cerebro proporciona otras prestaciones asombrosas. La ametropía, tal como se presenta en muchos seres humanos, como por ejemplo ambliopía en un ojo, se compensa sin mayor dificultad. FusionOptics™, desarrollada en colaboración con el Instituto para Neuroinformática de la Universidad y ETH de Zurich saca partido a este efecto. El canal derecho de imagen aporta una elevada resolución, el izquierdo la denominada profundidad de campo, es decir, el campo nítido visible. Este enfoque óptico proporciona dos ventajas esenciales. Con este concepto, se puede incrementar, por un lado la resolución óptica enormemente en comparación con los conceptos existentes, y por el otro, mejorar la percepción de profundidad en gran medida en comparación con el enfoque clásico. El cerebro fusiona las dos imágenes, diferentes en su esencia, en una imagen espacial. Además, es posible incrementar la resolución sin aumentar el ángulo de convergencia entre ambas trayectorias de rayos. Esta tecnología tan fascinante fue desarrollada por el departamento de investigación suizo de Leica Microsystems en Heerbrugg. La teoría científica anexa procede del Instituto para Neuroinformática de la Universidad y ETH de Zurich y ha sido forjada bajo la dirección del Dr. Kiper. Los conocimientos adquiridos de esta forma, pudieron ser puestos en práctica en un microscopio estereoscópico por primera vez.

## Integración en el sistema a un nuevo nivel

Los microscopios estereoscópicos existentes hasta el momento se distinguían por estar fabricados con un sinfín de componentes. Además, para la iluminación se requería echar mano de complejos accesorios. Aunque cada uno de los componentes es compatible, desde el punto de vista mecánico, se precisa de mucho espacio y no terminan de encajar entre sí. La tecnología de diodos luminosos con visión de futuro ofrece un estupendo concepto en materia de soluciones para eliminar dichas deficiencias. Los diodos luminosos son pequeños y, en contra a lo que ocurre con las bombillas halógenas convencionales, consumen poca corriente. La última generación se distingue por una intensidad luminosa excepcional pudiéndose direccionar de forma individual. Gracias a estas nuevas posibilidades, por primera vez se ha logrado integrar la iluminación en todo el sistema, eliminándose así la sensación de ser un cuerpo ajeno.

De esta forma, se generan interesantes opciones de aplicación, como la carga segura de la totalidad de las configuraciones para la documentación. Combinándolo con el software, este sistema resulta el medio ideal para alcanzar la visión de una microscopía reproducible. Otro factor interesante e importante es que la ejecución de todo el sistema resulta compacta.

La finalidad de la iluminación en un microscopio estereoscópico consiste en la visualización óptima de estructuras que se deban examinar. En la clásica microscopía con luz incidente, una iluminación homogénea por sí misma, a menudo no es suficiente. Opcionalmente, se emplea una iluminación con cuello de cisne, la cual genera diversas proyecciones de sombras debido a los diferentes ángulos de incidencia, y por lo tanto, diversos contrastes. Gracias a la posición fija de los diodos luminosos, en una serie de preparados iguales se pueden verificar los puntos críticos de forma más rápida y sencilla. Así, se logra ganar tiempo en gran medida en comparación con la compleja búsqueda de errores existente hasta el momento.

### **Los componentes clave de la microscopía estereoscópica moderna: la colección LED5000**

Con la colección LED5000, Leica presenta por primera vez una solución reproducible para la iluminación. En el caso de LED5000 MCI se trata de una iluminación multicontrastes, la cual permite un sinfín de diversas opciones de contraste gracias a un total de 9 diodos luminosos Power desde tres ángulos de incidencia diferentes, e incluso desde 3 direcciones diferentes. Esta iluminación cuenta con la ventaja de que los errores que a menudo quedan ocultos se vuelven visibles. Gracias a la posición firmemente definida de los diodos luminosos, en una serie de preparados iguales se pueden verificar los puntos críticos de forma más rápida y sencilla. Así, se logra ganar un valioso tiempo en comparación con la compleja búsqueda de errores existente hasta el momento.



La lámpara anular LED5000 presenta unas ventajas similares. Aquí también se pueden direccionar segmentos individuales de la lámpara anular selectivamente. El círculo entero proporciona la iluminación clara y homogénea de un preparado a la que se está habituado. Adicionalmente, los semicírculos y cuadrantes se pueden seleccionar para diferentes contrastes. Se deberá tener en cuenta que debido a los ángulos de incidencia de la luz más pronunciados, en la lámpara anular se logra una formación de sombras y/ contraste inferiores si se compara con la iluminación en LED5000 MCI. Al incorporar estas dos iluminaciones en el software LAS de Leica se integran los últimos componentes importantes del sistema.

### **Aplicaciones**

Los parámetros de funcionamiento permiten un sinfín de aplicaciones que habían permanecido ocultas hasta el momento. Gracias a la imagen estereoscópica, incluso en aumentos elevados, se pueden obtener evidencias cualitativas y cuantitativas para muestras extensas en cuanto a su espacio. Lo que, en un entorno industrial, puede ser el examen de estructuras mínimas en micromecánicas, p. ej., o la detección mejorada o más exacta de mutaciones en muestras biológicas en el ámbito de la genética. El nuevo microscopio estereoscópico M205 C de Leica Microsystems se adapta perfectamente a la tendencia de las estructuras reducidas.

NOVIEMBRE 2008