

2.1 Can we see viruses?

2.1 ¿Podemos ver a los virus?

Bienvenido de nuevo. Como bien sabes, los virus son agentes muy pequeños. Si queremos llegar a verlos tenemos que recurrir al microscopio electrónico, un instrumento que emplea un haz de electrones como fuente de iluminación. Como la longitud de onda de un electrón puede ser 100.000 veces más pequeña que la de los fotones de la luz visible, el microscopio electrónico tiene mayor poder de resolución que el óptico, y se puede ver la estructura de objetos más pequeños.

El microscopio electrónico ha permitido la primera identificación de procesos víricos importantes, tales como la enfermedad de Ébola, el síndrome respiratorio y severo (o SARS) por coronavirus, y otros causados por virus desconocidos hasta entonces. También se emplea para identificar virus fastidiosos, que no crecen bien en cultivo, como son, por ejemplo, los virus intestinales, o para aquellos para los que no existen reactivos específicos, o para diferenciar los distintos virus en las infecciones duales.

El microscopio electrónico original, que es el que se utiliza en diagnóstico, se denomina “de transmisión” o TEM. Las muestras más empleadas son la orina o las heces del paciente, pero también se pueden emplear otro tipo de muestras. Un inconveniente del microscopio electrónico es la baja sensibilidad, ya que tiene que haber al menos 10 millones de virus por mililitro. Por esto hay que concentrar las partículas víricas presentes en la muestra, generalmente por centrifugación: primero a baja velocidad para sedimentar los elementos más pesados de la muestra, que son las células y las bacterias, y luego centrifugando el sobrenadante a alta velocidad, para sedimentar los virus. Otra forma de concentrar los virus es empleando anticuerpos, que aglutinan los virus y permite centrifugar a menor velocidad. Se pueden emplear anticuerpos específicos, cuando se sospecha de un virus concreto, o un pool de inmunoglobulinas inespecíficas, que aglutinan virus de forma indiscriminada.

Así que ya tenemos los virus concentrados en un pequeño volumen. Para verlos, se deposita la muestra en una rejilla especial recubierta de carbono. Para ver los virus se recurre a la tinción negativa. Se llama así porque los reactivos no pueden penetrar en el interior de las estructuras y se quedan en el exterior, marcando la silueta, por ejemplo, de los virus.

Si la muestra que empleamos son células o tejidos estos son demasiado gruesos como para poder ser atravesados por el haz de electrones, por lo que hay que preparar secciones muy finas. Esto es un problema en sí mismo, puesto que si la infección es focal, puede perderse el área donde se localiza el virus.

Todo esto parece complicado ¿verdad? Pero con práctica, en los laboratorios especializados tardan de 2,5 a 3 horas en completarlo. Si hemos seguido bien los pasos de la técnica tendremos la recompensa de ver virus de diferentes morfologías, como los que tenemos en estas imágenes.

Si queremos confirmar la identificación del virus, o localizarlo en las distintas estructuras celulares, se pueden emplear anticuerpos monoclonales marcados con oro, que reaccionan con proteínas concretas del virus o de la célula si queremos ver su localización. Incluso se pueden marcar diferentes anticuerpos monoclonales con partículas de oro de diferentes tamaños para poder identificar más de una proteína simultáneamente.

Mira que bien se observan aquí las partículas de oro marcando estos rabdovirus que los reconocerás fácilmente por la forma de bala que poseen.

Como con todas las técnicas, se han ido desarrollando nuevos tipos.

Con el microscopio electrónico de barrido (o SEM) se analiza la superficie de la muestra con un haz concentrado de electrones para producir la imagen. Los electrones interactúan con los átomos de la muestra, produciendo diferentes señales que contienen información sobre la topografía y composición de la superficie. ¡La resolución es de nanómetros! Se puede combinar con la criomicroscopía electrónica, en la que se congela rápidamente la muestra en nitrógeno líquido para que no se alteren las estructuras. Esta técnica permite realizar muchas fotos en diferentes ángulos, y un programa de ordenador reconstruye la estructura 3D. Como ves en estas imágenes, las imágenes resultantes de estas dos técnicas se pueden colorear artificialmente, y quedan espectaculares.

En este video hemos visto los usos del microscopio electrónico, cómo se preparan las muestras, cómo se pueden localizar las proteínas mediante anticuerpos y distintas variantes de este instrumento. En internet puedes encontrar muchas imágenes de virus vistos al microscopio. Anímate a buscar algunas.

Muchas gracias por tu atención.