

## 2.1 On peut voir des virus?

Bienvenue. Comme vous le savez, les virus sont des agents très petits. Si nous voulons les voir nous devons utiliser le microscope électronique. Il s'agit d'un instrument qui utilise un faisceau d'électrons comme source d'illumination. Comme la longueur d'onde d'un électron peut être 100 000 fois plus petite que celle des photons de lumière visible, le microscope électronique a une puissance supérieure de la résolution optique, et vous pouvez voir la structure des objets plus petits.

Le microscope électronique a permis la première identification de l'agent d'importants processus viraux, tel à partir de la maladie d'Ebola, le syndrome respiratoire sévère (ou SRAS) coronavirus, et d'autres causées par des virus inconnus. Il est également utilisé pour identifier les virus fastidieux, qui ne poussent pas bien dans la culture, comme, par exemple, des virus intestinaux, ou pour ceux pour lesquels il n'y a aucuns réactifs spécifiques, ou pour distinguer les différents virus dans les infections doubles.

Le microscope électronique original, qui est celui utilisé dans le diagnostic, est appelé « microscope électronique en transmission » ou « TEM. Les échantillons les plus fréquemment utilisés sont l'urine ou les selles du patient, mais d'autres types d'échantillons peuvent également être utilisés. Un inconvénient du microscope électronique est sa faible sensibilité, car il doit y avoir au moins 10 demi-millions de virus par millilitre. Pour augmenter la sensibilité, il faut concentrer les particules de virus présents dans l'échantillon, habituellement par centrifugation : tout d'abord à basse vitesse pour régler les éléments plus lourds de l'échantillon, y compris les bactéries et les cellules et puis par centrifugation le surnageant à haute vitesse, pour régler les virus. Une autre façon de concentrer les virus utilise des anticorps, ils regroupent des virus et permettent de tourner à un rythme plus lent. Des anticorps spécifiques peuvent être utilisés Lorsque nous soupçonnons un virus spécifique, ou d'un pool d'immunoglobulines non spécifiques, que le groupe virus sans discernement.

Nous avons donc déjà les virus concentrées dans un petit volume. Pour les voir, nous déposons l'échantillon sur une grille spéciale recouverte de carbone. Une coloration négative permet de voir les virus. Il est nommé comme ça parce que les réactifs ne peuvent pénétrer à l'intérieur des structures et ils restent à l'extérieur, marquant la silhouette, par exemple, des virus.

Si l'échantillon que nous utilisons est des cellules ou tissus ceux-ci sont trop épais pour le faisceau d'électrons pour pouvoir traverser et nous devons préparer les sections minces. Il s'agit d'un problème en soi, car si l'infection est focale, la zone où se trouvent les virus peut-être manquer.

Tout cela semble compliqué. Mais avec la pratique, dans les laboratoires spécialisés Il faut 2,5 à 3 heures pour le compléter. Si nous suivons attentivement les étapes de la technique nous aurons la récompense de voir virus de différentes morphologies, comme on le voit dans ces images.

Si nous voulons confirmer de quel virus il s'agit, ou recherchez-le dans les structures cellulaires, nous pouvons utiliser des anticorps monoclonaux marqués d'or. Elles réagissent avec les protéines spécifiques du virus ou cellule si nous voulons voir son emplacement. Les anticorps monoclonaux différents peuvent même être marqués avec des particules d'or de différentes tailles pour être en mesure d'identifier plus d'une protéine en même temps.

Regardez la façon dont nous pouvons voir ici les marquages de ces rhabdovirus des particules d'or. Vous pouvez reconnaître ces virus facilement par la forme de balle qu'elles possèdent.

Comme avec toutes les techniques, nouveaux types de microscopes électroniques ont été développés.

Avec le microscope électronique à balayage (ou SEM) la surface de l'échantillon est analysée avec un faisceau concentré d'électrons pour produire l'image. Les électrons interagissent avec les atomes de l'échantillon, produisant des signaux différents qui contiennent des informations sur la topographie et la composition de la surface. Il a une résolution de nanomètres ! Elle peut être combinée avec la cryomicroscopie de l'électron, qui gèle l'échantillon rapidement dans l'azote liquide pour que les structures ne changent pas. Cette technique permet de nombreuses photos des angles différents, et un programme d'ordinateur reconstitue la structure 3D. Comme vous pouvez le voir sur ces images, les images obtenues par ces deux techniques peuvent être colorés artificiellement, et ils sont spectaculaires.

Dans cette vidéo, nous avons vu des applications de la microscopie électronique, Comment préparer les échantillons, Comment peut-on situer les protéines en utilisant des anticorps et différentes variantes de cet instrument. Sur internet vous pouvez trouver de nombreuses images de virus vus sous un microscope. Nous vous encourageons à regarder pour certains.

Je vous remercie beaucoup pour votre attention.