



DATOS DEL PROYECTO

Título del Proyecto: Puesta a punto de la técnica de microscopía electrónica para el diagnóstico viral de gastroenteritis

-

- Número ID del proyecto:185

- Área de conocimiento: Ciencias de la Salud

- Facultad o Servicio: Facultad de Química

- Nombre completo de los-as Integrantes del equipo: Valentina Sauer; Ana Claudia Fagúndez

- Correo electrónico del/de la estudiante referente: valesauer@gmail.com

- Nombre completo del/de la docente orientador-a: Carolina Marquez

- Correo electrónico del/de la docente orientador-a: cmarquez@fq.edu.uy

INFORME FINAL

(desde ítem 1 a 7 la extensión máxima POR ÍTEM es de una carilla)

a) Transcriba los objetivos del proyecto tal cual figuraban en la solicitud financiada

Objetivo general:

- Contribuir al conocimiento de la gastroenteritis viral en nuestro medio y a la enseñanza de virología clínica.

Objetivos específicos:

- Puesta a punto de la técnica de microscopía electrónica para el diagnóstico de gastroenteritis de etiología viral.
- Identificación de los distintos virus patógenos causantes de enteropatías, a saber: *Rotaviridae*, *Adenoviridae*, *Astroviridae*, *Caliciviridae* (Norovirus y Sapovirus) y *Picobirnaviridae*, por la técnica de microscopía electrónica.



b) Enumere y describa las principales actividades desarrolladas en el marco de su proyecto.

2.1 *Comunicación con los responsables de dos laboratorios de microbiología de salud pública de Montevideo para la obtención de muestras de materia fecal.* Se solicitó el acceso a las muestras recibidas de pacientes con sintomatología de gastroenteritis y que hubieran sido previamente analizadas para la búsqueda de los agentes virales más prevalentes mediante las técnicas rutinarias utilizadas en cada Institución.

2.2 *Recolección de las muestras.*

Se obtuvieron muestras de un solo laboratorio de microbiología. Se coordinó con la encargada del laboratorio la frecuencia de retiro de las muestras para su traslado y conservación en el laboratorio de Bacteriología y Virología Clínica de la Facultad de Química.

2.3 *Preparación de reactivos y materiales:*

Se prepararon los materiales y las soluciones específicas para el tratamiento de las muestras clínicas (esterilización por calor seco y autoclave).

2.4 *Tratamiento de las muestras clínicas:*

-*Puesta a punto del procedimiento de utilización de la ultracentrífuga:* la ultracentrífuga no había sido utilizada aún en el laboratorio ya que era un equipo nuevo por lo que no existía un protocolo de uso. Por lo tanto, se leyó detenidamente su manual y se escribió un protocolo (*Anexo I*), el cual quedó al servicio del resto de los integrantes del laboratorio.
-Se prepararon las muestras según indica el protocolo adjunto en *Anexo II*, hasta el punto 3 inclusive.
-Se realizó la última etapa del protocolo que constó en la tinción de la muestra en el *Laboratorio de Microscopía Electrónica de Facultad de Ciencias*

2.5 *Capacitación en la colocación de la muestra para su observación por el microscopio electrónico de transmisión.*

2.6 *Capacitación en la búsqueda y medida de partículas virales frente a un microscopio electrónico de transmisión.*

2.7 *Observación de las muestras y fotografiado de estructuras de relevancia por ser homogéneas y con aspecto de partícula viral.*

2.8 *Análisis de los resultados obtenidos y conclusión de los mismos.*

3.0 *Elaboración del informe final y póster*

c) Indique si se han efectuado todas las etapas planteadas en el cronograma de ejecución del proyecto. En caso de que su cronograma haya sufrido alteraciones o no se haya podido cumplir con todas las etapas definidas en el cronograma, aclare los motivos de tal situación. Las etapas planteadas en el proyecto fueron las siguientes:

- 1- Recolección de muestras y construcción con las mismas de una base de datos.
- 2- Puesta a punto del procedimiento para el tratamiento de las muestras.
- 3- Capacitación en el uso de la microscopía electrónica con aquellas muestras positivas para Rotavirus y Adenovirus, determinando a su vez la posible presencia de otros virus.
- 4- Análisis de muestras negativas para *Rotavirus*, *Adenovirus* y *Norovirus* por microscopía electrónica.
- 5- Análisis de resultados y conclusiones.
- 6- Elaboración de la comunicación científica.

Se cumplieron las etapas 1), 2) y 3), la etapa 6) se realizará en el próximo congreso de Bioquímica Clínica mientras que no se llegó a cumplir la etapa 5).

Las etapas 1), 2) y 3) se llevaron a cabo en forma simultánea y no consecutiva y a continuación se detallan los motivos:

-Contando con la información brindada por los especialistas en ME decidimos que no era viable acumular varias muestras para luego procesarlas más adelante ya que para obtener una muestra de alta calidad en la cual pudieran observarse las partículas virales con su estructura íntegra (fundamental para la identificación), se debía procesar y observar al ME lo más inmediatamente posible y de preferencia en el mismo día.

-El tiempo de conservación de las muestras por refrigeración no debía ser mayor a una semana lo cual impidió recolectar varias muestras a la vez.

La etapa 4) no se alcanzó a cumplir debido a que:

-Los tiempos de observación al Microscopio Electrónico, resultaron ser bastante mayores de lo esperado debido a la falta de conocimiento en el uso del ME y a la falta de entrenamiento en el reconocimiento de partículas virales (parte de los objetivos del presente proyecto).

Se debió hacer un recorrido exhaustivo por cada campo para la toma de fotografías y medidas. Por lo cual, en cada visita al laboratorio de duración de 3 horas se llegaba a visualizar una o dos muestras dependiendo de la calidad de la muestra.

-La observación al ME por primera vez de 3 muestras positivas por técnicas comerciales llevó un alto número de horas de observación que representó cerca del 50% de las horas financiadas para este proyecto y por lo tanto dejando un margen muy limitado de horas para la observación de muestras clínicas negativas.

- d) **Indique los principales resultados obtenidos. Aclare hasta qué punto coinciden - o no - con los resultados esperados por parte del equipo.**

Los resultados esperados según lo estipulado en el proyecto eran:

- 1) Encontrar las condiciones óptimas para la aplicación de la microscopía electrónica en la identificación de patógenos virales causantes de gastroenteritis.**

Si bien no se encontraron las condiciones óptimas se perfeccionó notablemente el protocolo de detección e identificación de agentes virales tanto en su etapa pre-analítica como analítica como se detalla a continuación:

-El transporte de las muestras debe realizarse bajo refrigeración y el período de conservación en heladera debe ser menos a una semana antes de su procesamiento.

-Se observó que las muestras deben ser procesadas en su totalidad preferentemente en un mismo día de forma de obtener una muestra de alta calidad, para que los virus mantengan su estructura lo más intacta posible. --

-Para el tratamiento de heces líquidas es conveniente proceder de acuerdo al protocolo detallado en el Anexo I, mientras que en el caso de tratarse de heces sólidas se debe tener en cuenta el tamaño final del sedimento luego de la ultracentrifugación. Se deben realizar diluciones seriadas de los sedimentos hasta obtener una carga de materia que no sature la rejilla y que a su vez no sea tan diluída como para ser fácilmente observable en el ME.

-El tiempo utilizado durante la tinción negativa de la muestra debe ser preferentemente menor a los 40 segundos indicados en el protocolo de inicio con el fin de mejorar la visualización de las estructuras.

- 2) Encontrar una alta correlación en lo identificado por ME respecto a las técnicas convencionales.**

Se analizaron 7 muestras de las cuales las últimas 3 no se encontraron en buen estado por lo que no se pudieron analizar las imágenes obtenidas. Seis muestras eran controles positivos y la otra muestra no había sido analizada para ninguno de los tres virus por laboratorio de origen. Se analizaron muestras clínicas positivas para Rotavirus, Adenovirus y Norovirus por técnicas comerciales de inmunocromatografía y de aglutinación en látex encontrándose correlación para la detección de *Rotavirus* y *Adenovirus* pero no así para *Norovirus*. En algunas muestras se detectó además del agente esperado presuntas partículas virales que podrían corresponder a agente virales potenciales de gastroenteritis. De confirmarse este hallazgo se trataría de co-infecciones.

Muestra 2: Positiva para *Norovirus*. Se observaron algunas pocas partículas virales con un tamaño promedio de diámetro de 54 nm, no concordante con el tamaño esperado para las partículas de *Norovirus* (30-35 nm) como se muestra en la Tabla 1 y 2 en *Anexo III* y fotos en *Anexo IV*. Sería necesario repetir el análisis por MET para confirmar este hallazgo no previsto, de volver a detectarse este grupo de partículas sería interesante realizar un cultivo celular para su aislamiento y/o la confirmación de sus componentes.

Muestra 3: Positiva para *Rotavirus*. Se observaron 2 grupos de partículas de tamaños de diámetro promedios de 74 nm y 53 nm. Siendo el primero concordante con lo descrito para *Rotavirus* (70 nm), y las imágenes registradas guardan similitud con el mismo. El segundo grupo de partículas amerita su confirmación e identificación por cultivo celular, ver Tabla 1 y 2 (*Anexo III*).

Muestra 4: Positiva para para *Adenovirus*. Se observaron partículas de promedio de diámetro de 71 nm, que por su tamaño podrían corresponder a *Adenovirus*, sin embargo el estado de la muestra no permitió observar claras morfologías. También se observó un grupo de partículas de promedio de 33 nm de diámetro, que podría ser concordante con cualquiera de los siguientes virus: *Picornavirus* (35 nm), *Astrovirus* (28-30 nm) o *Calcivirus* (27-38 nm), patógenos también causantes de gastroenteritis. Se propone la búsqueda de estos tres agentes virales por métodos de amplificación del material genético.

- 3) En aquellas muestras negativas para Rotavirus y Adenovirus por los métodos conven-**

cionales, encontrar otros agentes virales que puedan explicar el cuadro clínico presente, y en las muestras positivas, determinar si existe una co-infección.

Como se explicó en la sección c), el objetivo 4) no se pudo abordar en su totalidad si bien se logró analizar una única muestra que no tenía datos (Muestra 1). Al ME, se observaron partículas de morfología similar a las de Adenovirus, y con un promedio de diámetro concordante con el descrito en bibliografía (70-90 nm). Se registraron también partículas de un promedio de diámetro de 50 nm. Esta muestra si bien no se recibió como negativa para los tres virus en estudio desde el laboratorio de origen, no fue analizada y la observación por MET bajo el protocolo perfeccionado permitió la observación de potenciales partículas consistentes con un agente viral prevalente como es el Adenovirus que debería confirmarse por técnicas moleculares.

e) Indique si los resultados parciales o finales del proyecto fueron difundidos a través de alguna actividad (charlas, seminarios, talleres, prensa, edición de materiales impresos, etc.).

No aún, pero es la intención del equipo de trabajo poder continuar con la observación de más muestras y difundir los resultados posiblemente en el próximo congreso de Bioquímica Clínica.

f) En caso de haber enfrentado dificultades en el desarrollo del proyecto de investigación, realice una breve descripción de las mismas.

-No fue posible obtener las muestras clínicas provenientes de la población infantil en el tiempo esperado por falta de coordinación con la Institución de Salud.

-La recepción de muestras clínicas para el análisis de agentes virales en la población infantil fue muy baja en comparación a otros años dentro de la Institución lo cual comprometió el inicio y la continuidad en el análisis de las muestras.

-El microscopio electrónico estuvo bajo reparación, hecho que retrasó el comienzo del estudio.

g) En base a su experiencia de trabajo en equipo en el marco de este Programa, le solicitamos que realice sugerencias o comentarios para ser tomados en cuenta en futuras ediciones del mismo.

El dinero puede no ser muy suficiente para proyectos del área científica, donde en general el gasto en reactivos y materiales es imprescindible y de costos más bien elevados.

Si bien es bien recibido un tiempo de prórroga frente a la ocurrencia de dificultades e imprevistos durante la ejecución del proyecto, consideramos que el mismo es escaso.

8) **Resumen publicable de no más de 250 palabras** que sea accesible para un público amplio, y en un lenguaje dirigido a no especialistas en la temática de la investigación. En este resumen se debe dar cuenta de los objetivos del proyecto, los pasos seguidos para cumplirlos y los principales resultados alcanzados.

El objetivo del presente trabajo constó en el análisis virológico de muestras de materia fecal provenientes de pacientes con gastroenteritis mediante el uso de un microscopio electrónico de transmisión (MET). Las muestras fueron proporcionadas por un centro de salud público de Montevideo previamente analizadas por técnicas comerciales de inmunocromatografía y/o aglutinación en látex para la búsqueda de los tres agentes virales más prevalentes causantes de gastroenteritis, como son Adenovirus, Rotavirus y Norovirus. Las muestras se transportaron al Laboratorio de Bacteriología y Virología clínica de Facultad de Química, para su conservación y posterior procesamiento.

A partir de muestras clínicas positivas para Rotavirus, Adenovirus y Norovirus, por técnicas comerciales, se observaron al MET (Laboratorio de MET de Facultad de Ciencias-UdelaR) en busca de estructuras homogéneas en morfología y tamaño. Se detectaron presuntas partículas virales consistentes con las características descritas para dos de los tres virus analizados y otras de tamaño consistentes con otros géneros que requieren confirmación. La conclusión más relevante de este trabajo fue la puesta a punto de los procedimientos de conservación y tratamiento de las muestras para su utilización en futuros diagnósticos de gastroenteritis virales por ME. El hallazgo de diferentes grupos de tamaños de partículas en una misma muestra refuerza el potencial de la MET para detectar una mezcla de virus y descubrir nuevos agentes víricos directamente de la muestra de los pacientes. Cabe destacar que la ejecución de este proyecto nos permitió como estudiantes acercarnos a técnicas sofisticadas y reservadas para laboratorio de referencia.

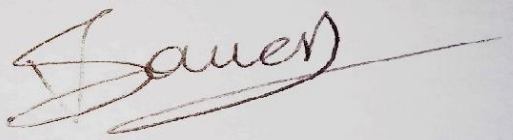
9) En la siguiente tabla ingrese la información solicitada en relación a los **equipos y la bibliografía adquiridos con fondos del PAIE**. Recuerde que debe entregar todos los ítems adquiridos en los dos rubros antes mencionados, para que éstos formen parte del acervo de su institución y puedan ser utilizados por equipos financiados en posteriores ediciones de este programa.

EQUIPOS	
cantidad	ítem - descripción
Ninguno	

BIBLIOGRAFÍA	
cantidad	autor(es), título, editorial, año
Ninguno	

Desde el 1/12/2015 y hasta el 15/12/2015 se deberá entregar a los Ayudantes I+D de los Servicios lo siguiente:

- Un CD con el informe final en formato .odt o .pdf. Y con el póster en su versión digital en formato .jpg o .pdf
- Equipos y bibliografía adquiridos con fondos del PAIE (declarados en la lista conformada en el ítem 8 de este documento)

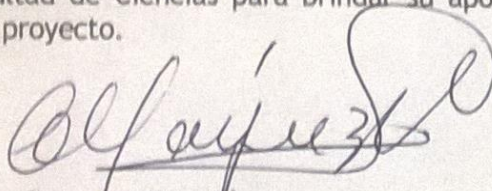


.....
FIRMA DEL ESTUDIANTE RESPONSABLE

Se solicita al docente orientador que brinde una opinión general acerca del desempeño de su equipo de estudiantes durante el transcurso de la investigación y que evalúe en forma breve los resultados expuestos a través de este informe y el contenido de su resumen publicable. (máx 200 palabras)

Comentarios del docente orientador:

Las estudiantes Ana Fagúndez y Valentina Sauer se desempeñaron con autonomía y responsabilidad dentro del laboratorio de Bacteriología Clínica de la Facultad de Química. En el transcurso de la investigación surgieron dificultades técnicas que supieron manejar y resolver con madurez, sosteniendo el compromiso asumido hasta la fecha de presentación del informe. Los resultados alcanzados son muy valiosos puesto que serán de gran utilidad en futuros estudios de diagnósticos de gastroenteritis virales por MET a desarrollar por nuestro laboratorio de investigación. El hallazgo de tamaños de partículas no consistentes con los tres agentes virales mas prevalentes de gastroenteritis y con la posible presencia de co-infecciones en la muestra pone en evidencia el gran entrenamiento que se necesita para confirmar un diagnóstico por MET. El contenido del resumen publicable es correcto y está claramente escrito. A su vez quiero destacar la disposición del grupo del Laboratorio del MET de la Facultad de Ciencias para brindar su apoyo académico y técnico permitiéndonos la ejecución de este proyecto.



Dra. Carolina Márquez

.....
FIRMA DEL DOCENTE ORIENTADOR

Anexo I

ULTRACENTRÍFUGA THERMO – SORVALL MX 150+

MANUAL DE USO

Especificaciones:

Rotor: modelo S80 – AT3

Capacidad: 8 tubos

Volumen máximo / tubo: 8,3 ml

Capacidad total: 66,4 ml

Velocidad máxima: 80.000 rpm o 347.440 g

IMP.: nivelar los tubos en ± 4 mm

Operación:

1. Prender el interruptor (SWITCH ON/OFF)
2. Abrir la tapa deslizándola hacia atrás
3. Retirar el rotor y colocarlo en su base
4. Limpiar la superficie magnética del rotor de posibles polvos metálicos
5. Abrir el rotor (se desenrosca) y colocar los tubos con las muestras (previamente secados por fuera), de forma que queden en posiciones opuestas tubos de igual peso (o nivelados en ± 4 mm de llenado).
6. Retirar de la tapa del rotor los 2 anillos de goma en forma de O (uno grande en la parte más externa y uno más pequeño en el centro), verificar que no tengan roturas ni grietas (en caso de estar dañados, existen 2 repuestos de cada uno en la caja del equipo), y untarlos con la grasa para vacío provista. Volver a posicionarlos en el rotor.
7. Cubrir el cuerpo del rotor (en el centro del mismo) y su contraparte en la tapa, con una fina capa del lubricante provisto.
8. Colocar nuevamente la tapa del rotor (enroscando) y ajustar con la mano.
9. Colocar el rotor en la centrifuga y cerrarla.
10. Ajustar los parámetros velocidad, tiempo, temperatura y vacío en caso de ser requerido, en la pantalla (táctil) y oprimir START

PREPARACIÓN DE MUESTRA DE HECES

PARA ANÁLISIS AL MET MEDIANTE TINCIÓN NEGATIVA

1.

a) Si es necesario fijar la muestra:

- Heces sólidas: tamaño equivalente a un garbanzo + 9 ml de PBS + 1ml de glutaraldehído al 25% (final GA al 2%)
- Heces líquidas: 6 ml + 6 ml de PBS + 1ml de glutaraldehído al 25% (final GA al 2%)

Esperar 15 minutos a temperatura ambiente.

b) Si no es necesario fijar la muestra:

- Heces sólidas: tamaño equivalente a un garbanzo + 10 ml de PBS
- Heces líquidas: 6 a 7 ml + 6 a 7 ml de PBS

2. Centrifugar a 3000g, 4°C, 30 min. (Si es necesario por la turbidez, se vuelve a centrifugar el sobrenadante: S.N.). Se pasan 10 ml del S.N. a un tubo de ultracentrífuga.

¿Interesa observar parásitos por M.E.?

a) No: El sedimento se descarta

b) Sí: El sedimento se fija con GA 2% y se prepara para ultramicrotomía.

3. Ultracentrifugar el S.N. a 35000 rpm, 4°C, 60 min. Se descarta el S.N.

TINCIÓN NEGATIVA

1. Descarga iónica de las rejillas inmediatamente antes de la adsorción de la muestra.
2. Resuspender el sedimento en 50 a 100 µl del remanente, ó de agua bidestilada, y pasarlo a un tubo eppendorf.
3. Se esperan de 5 a 7 min de adsorción.
4. Realizar 1 ó 2 lavados con agua bidestilada.
5. Tinción negativa con PTA, dejar 40 segundos.

(El sobrenadante del sedimento resuspendido se guarda en la heladera por si se repite)

Resultados

Tabla 1- Análisis de las muestras clínicas por Microscopia Electrónica de Transmisión mediante medidas de las partículas halladas.

Nº muestra clínica *	Nº campos Y Nº medidas	Diámetros de partículas (nm)
1	Campo 1: 10 Campo 2: 6 Campo 3: 3 Campo 4: 5 TOTAL CAMPOS:4 TOTAL OBS.: 24	Campo 1: 64,4; 70,9; 99,2; 94,6; 66,7; 85,8; 74,5; 68,5; 72,5; 79,3 Campo 2: 45,7; 94,5; 93,2; 41,9; 96,7; 109 Campo 3: 72,3; 58,2; 78,5 Campo 4: 89,4; 68,2; 63,6; 53,4; 58,7
2	Campo 1: 1 Campo 2: 1 Campo 3: 1 Campo 4: 1 TOTAL CAMPOS: 4 TOTAL OBS.: 4	Campo 1: 69,9 Campo 2: 45,6 Campo 3: 51,5 Campo 4: 46,6
3	Campo 1: 1 Campo 2: 5 Campo 3: 1 Campo 4: 1 Campo 5: 3 Campo 6: 3 TOTAL CAMPOS:6 TOTAL OBS.: 14	Campo 1: 112 Campo 2: 54,2; 68,3; 227; 401; 85,5 Campo 3: 68,1 Campo 4: 66,8 Campo 5: 53,2; 58,8; 45,6 Campo 6: 84,7; 74,2; 70,9
4	Campo 1: 4 Campo 2: 4 Campo 3: 5 TOTAL CAMPOS: 3 TOTAL OBS.: 13	Campo 1: 44,3; 28,2; 23,1; 110 Campo 2: 161; 65,3; 83,2; 78,3 Campo 3: 80,6; 58,0; 60,7; 126; 38,6

Aclaraciones: *se procesaron un total de 7 muestras de las cuales 3 se encontraban muy deterioradas al momento de analizarlas por lo que no se obtuvo información de sus imágenes.

Procesamiento de datos

Tabla 2. Comparación de los agentes virales detectados por el método comercial y por Microscopía Electrónica de Transmisión.

Nº de muestra	Agente viral según laboratorio de origen ^a	Intervalo de medidas (nm) / nº de medidas ^b	Promedio de diámetros de las partículas presentes en mayor proporción (nm) ^b	Morfología y tamaño de partículas consistente con:
1	No realizado	66-90 / 10 40-65 / 7	80 50	Adenovirus (?) Para estudiar ^c
2	Norovirus (+)	46-69 / 4	54	No concordante ^c
3	Rotavirus (+)	60-84 / 7	74	Rotavirus
4	Adenovirus(+)	60-80 / 7 23-44 / 4	71 33	Adenovirus (?) Para estudiar ^c

Aclaraciones:

^a Inmuno-Cromatografía para detección de Adenovirus y Norovirus. Aglutinación en látex para detección de Rotavirus.

^b Medidas de partículas virales en ME presentes en la muestra de estudio

^c Aplicar métodos moleculares o cultivo viral para la búsqueda de otros virus

Gráficos

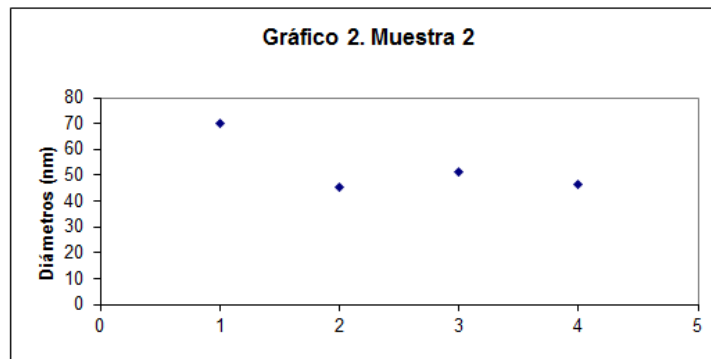
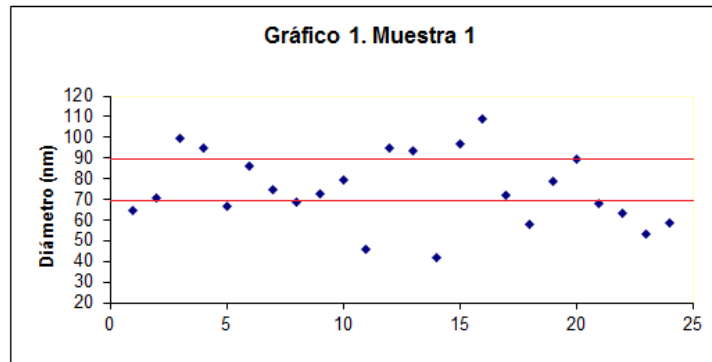


Gráfico 3. Muestra 3

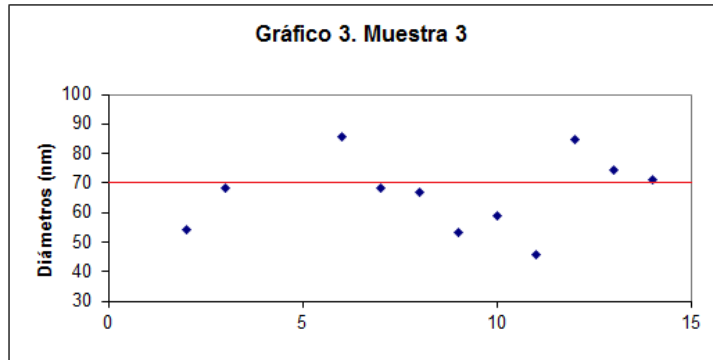
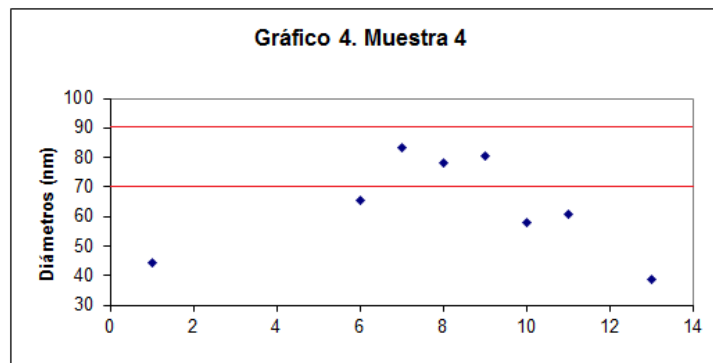
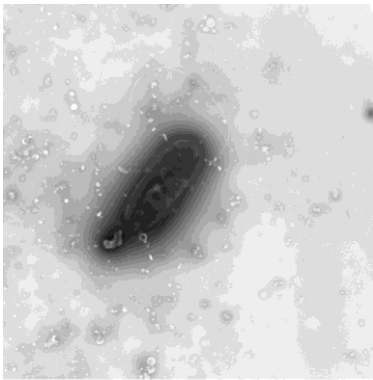


Gráfico 4. Muestra 4



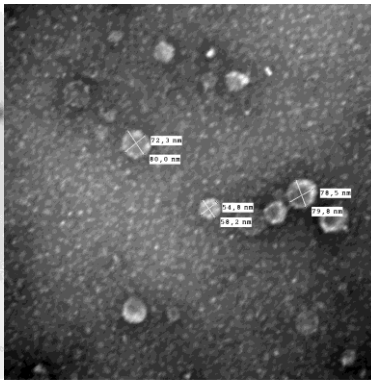
Anexo IV

SELECCIÓN DE FOTOS DE MUESTRA N° 1:



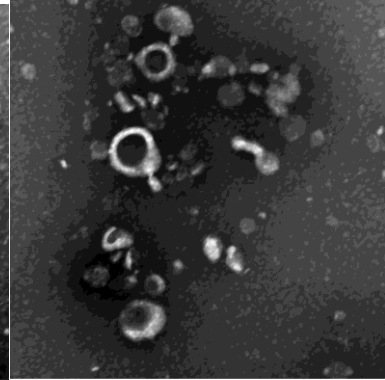
027 Muestra1.tif
027 Muestra1 bacteria penoremeica.tif
Print Mag: 987x @ 7 mm

100 nm
HV=100,0kV
Direct Mag: 12600x
AMT Camera System



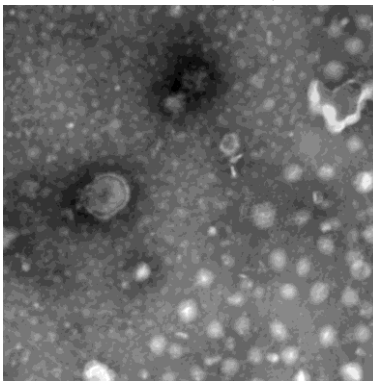
028 Muestra1 medidas.tif
028 Muestra1 medidas.tif
Print Mag: 6580x @ 7 mm

100 nm
HV=100,0kV
Direct Mag: 80000x
AMT Camera System



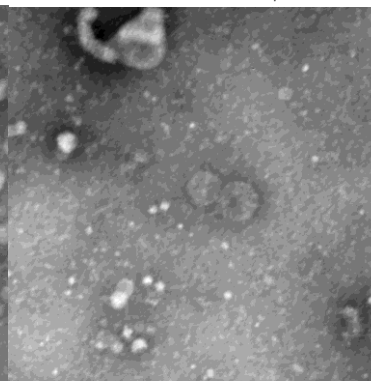
024 Muestra1.tif
024 Muestra1.tif
Print Mag: 8230x @ 7 mm

100 nm
HV=100,0kV
Direct Mag: 18800x
AMT Camera System



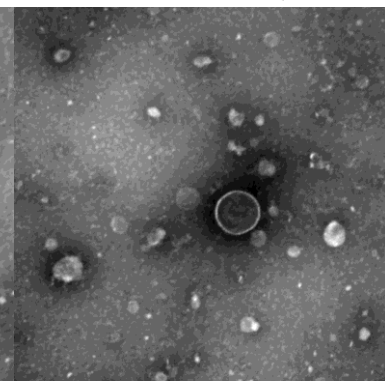
012 Muestra1.tif
012 Muestra1.tif
Print Mag: 8230x @ 7 mm

100 nm
HV=100,0kV
Direct Mag: 100000x
AMT Camera System



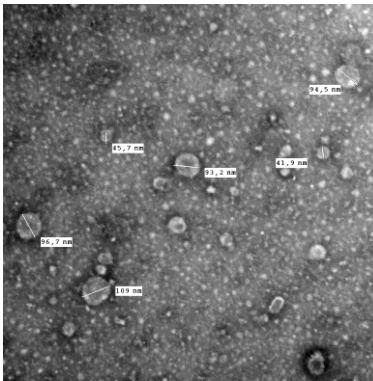
018 Muestra1.tif
018 Muestra1.tif
Print Mag: 8230x @ 7 mm

100 nm
HV=100,0kV
Direct Mag: 100000x
AMT Camera System



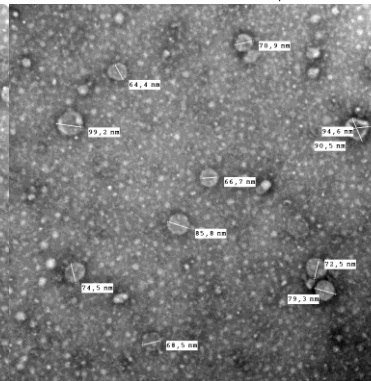
007 Muestra1.tif
007 Muestra1.tif
Print Mag: 4930x @ 7 mm

100 nm
HV=100,0kV
Direct Mag: 60000x
AMT Camera System



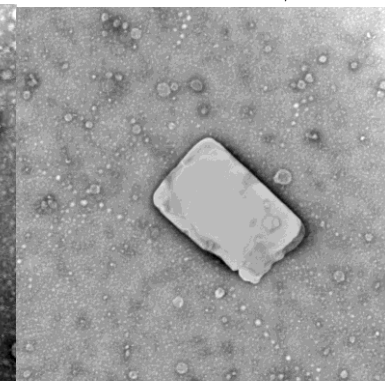
006 Muestra1 medidas.tif
006 Muestra1 medidas.tif
Print Mag: 4930x @ 7 mm

100 nm
HV=100,0kV
Direct Mag: 68800x
AMT Camera System



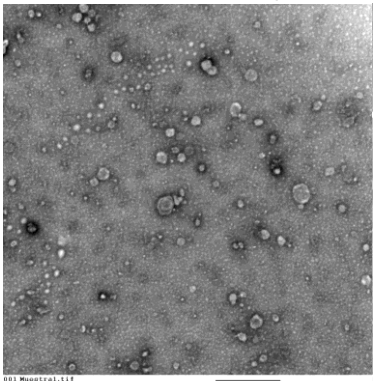
004 Muestra1 medidas.tif
004 Muestra1 medidas.tif
Print Mag: 4930x @ 7 mm

100 nm
HV=100,0kV
Direct Mag: 68800x
AMT Camera System



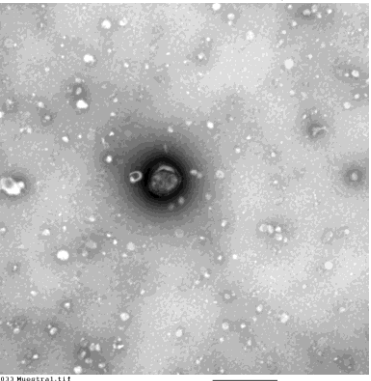
002 Muestra1.tif
002 Muestra1.tif
Print Mag: 2460x @ 7 mm

500 nm
HV=100,0kV
Direct Mag: 30000x
AMT Camera System



003 Muestra1.tif
003 Muestra1.tif
Print Mag: 2460x @ 7 mm

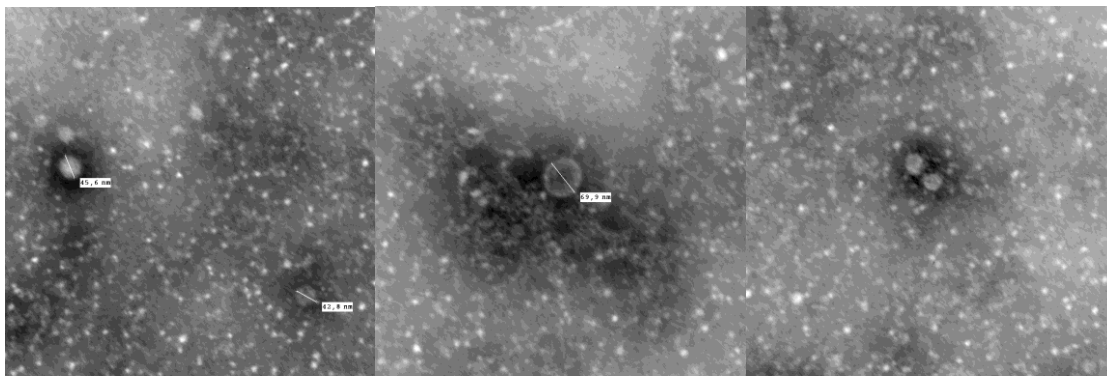
500 nm
HV=100,0kV
Direct Mag: 30000x
AMT Camera System



033 Muestra1.tif
033 Muestra1.tif
Print Mag: 2460x @ 7 mm

500 nm
HV=100,0kV
Direct Mag: 30000x
AMT Camera System

SELECCIÓN DE FOTOS DE MUESTRA N° 2:



018 muestra 2 moro medidas.tif
018 muestra 2 moro medidas
Print Mag: 9870x @ 7 mm

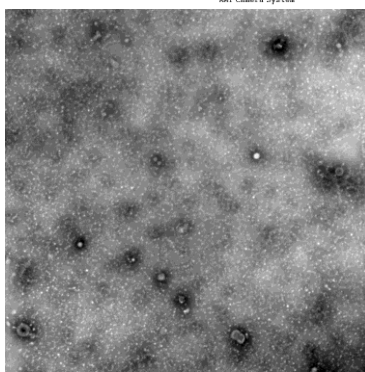
100 nm
HV-100.0kV
Direct Mag: 120000x
AMT Camera System

019 muestra 2 moro medidas.tif
019 muestra 2 moro medidas.tif
Print Mag: 9870x @ 7 mm

100 nm
HV-100.0kV
Direct Mag: 120000x
AMT Camera System

018 muestra 2 moro.tif
018 muestra 2 moro.tif
Print Mag: 9870x @ 7 mm

100 nm
HV-100.0kV
Direct Mag: 120000x
AMT Camera System



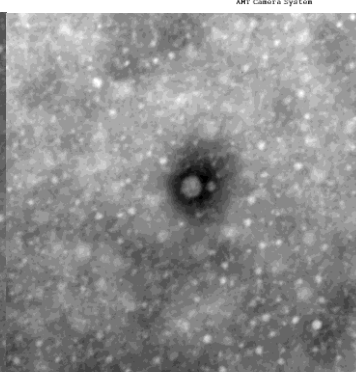
017 muestra 2 moro.tif
017 muestra 2 moro
Print Mag: 2050x @ 7 mm

500 nm
HV-100.0kV
Direct Mag: 75000x
AMT Camera System



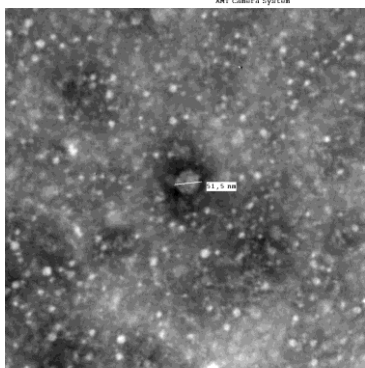
013 muestra 2 moro.tif
013 muestra 2 moro
Print Mag: 9870x @ 7 mm

100 nm
HV-100.0kV
Direct Mag: 120000x
AMT Camera System



010 muestra 2 moro.tif
010 muestra 2 moro
Print Mag: 9870x @ 7 mm

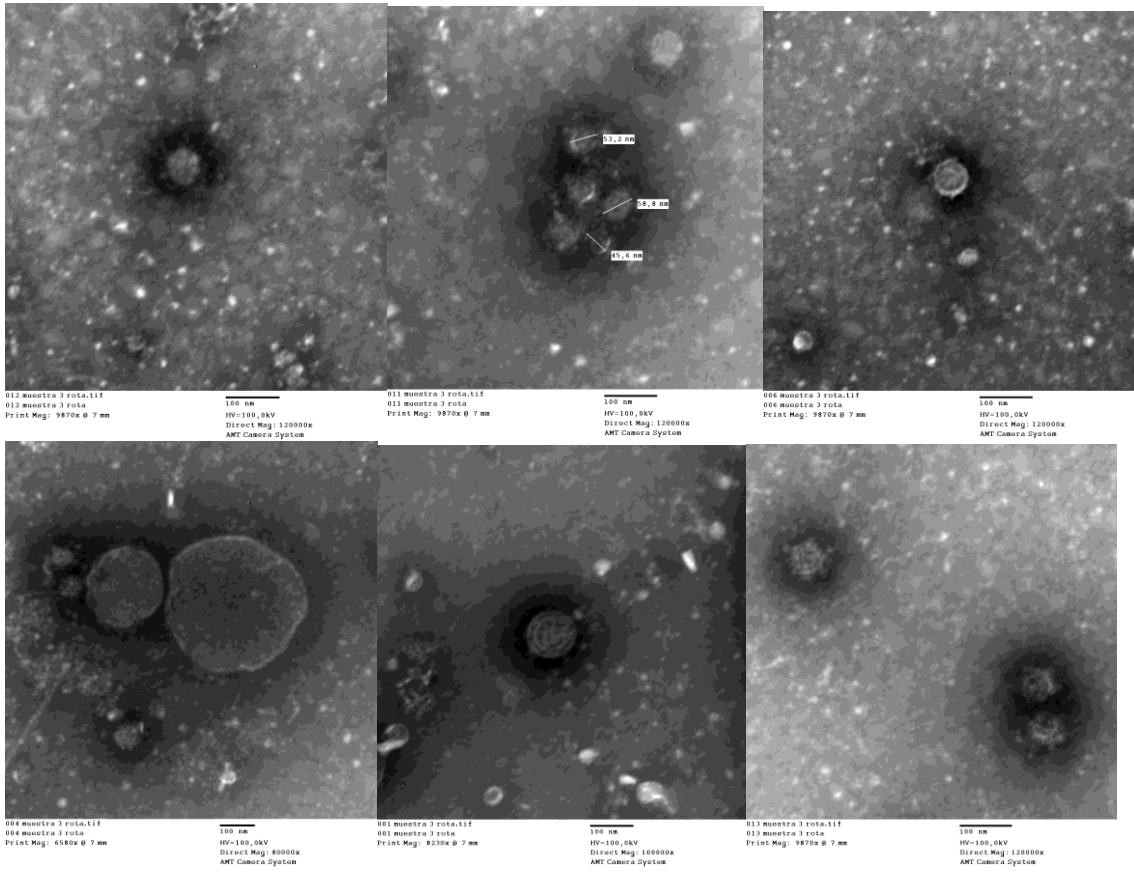
100 nm
HV-100.0kV
Direct Mag: 120000x
AMT Camera System



002 muestra 2 moro.tif
002 muestra 2 moro
Print Mag: 9870x @ 7 mm

100 nm
HV-100.0kV
Direct Mag: 120000x
AMT Camera System

SELECCIÓN DE FOTOS MUESTRA N° 3



SELECCIÓN DE FOTOS DE MUESTRA N° 4

