

UNA SENCILLA MICROFORJA

NORBERTO J. PALLERONI¹

SUMMARY. A simple microforge which can easily be constructed as the complement of any micromanipulator is described. With this instrument, it is possible to give practically any desired shape to glass capillaries or rods to build the microinstruments for micromanipulations, with a precision comparable to the much more expensive commercial microforges. Some of the operations are described and illustrated.

Desde las clásicas contribuciones de SCHOUTEN, CHAMBERS y PETERFI hasta nuestros días, las técnicas de micromanipulación se han visto facilitadas progresivamente por la difusión, en escala comercial, de un buen número de aparatos con los cuales se logra en forma muy satisfactoria la reducción apropiada en la amplitud de los movimientos para hacerlos controlables con el microscopio. En los micromanipuladores construidos en los últimos años se ha impuesto la tendencia a controlar los movimientos horizontales mediante una palanca única, y el microinstrumento repite en la escala microscópica los desplazamientos que el operador efectúa moviendo la palanca.

Puede decirse, sin caer en grave error, que los micromanipuladores construidos desde hace unos 40 años satisfacen los requerimientos de la micromanipulación, y el operador no encuentra mayores dificultades luego de un corto período de acostumbramiento a la posición de los controles. La dificultad mayor en la micromanipulación consiste en la construcción de los instrumentos apropiados para la tarea que se va a realizar, y es en este aspecto donde incide la pericia del operador de forma más directa que en la micromanipulación

misma.

En su clásico artículo del año 1920, PETERFI (1) describe un mechero provisto de una rama lateral delgada a la cual puede acoplarse una aguja de inyecciones. Por regulación del flujo de gas, puede lograrse al extremo de la aguja una llama de pocos milímetros de alto, con la cual es posible estirar varillas o capilares de vidrio

¹ Profesor Titular de Microbiología Agrícola e Industrial en la Facultad de Ciencias Agrarias.

hasta las dimensiones y formas apropiadas para el trabajo. Uno de esos mecheros se ve a la derecha en la figura 2. En nuestra opinión, el procedimiento manual con micromechero es uno de los mejores por la rapidez y la economía, para la confección de micropipetas y microagujas, que son los microinstrumentos más usuales.

En 1932 PIERRE DE FONBRUNE ideó un nuevo sistema de micromanipulación que, con el perfeccionamiento de años posteriores, se concretó en uno de los aparatos que alcanzó mayor popularidad. El micromanipulador de DE FONBRUNE apareció descrito en 1949 en un excelente libro (2) que no puede dejar de leer «el que se halle interesado» en la práctica de las técnicas de micromanipulación. El autor se propuso resolver los distintos aspectos de la micromanipulación, y dedica la mitad del libro a la descripción y uso de una microforja de su invención, dispositivo con el cual la construcción de los micro instrumentos se convierte en una operación tan sencilla como la micromanipulación propiamente dicha.

En general puede decirse que no hay mucha diferencia entre el rendimiento de los micromanipuladores de PETERFI y de DE FONBRUNE, porque con ambos es posible la realización de las tareas más diversas bajo el control microscópico. Pero en cambio, entre el humilde mechero de PETERFI y la elaborada microforja de DE FONBRUNE hay una distancia enorme. Desgraciadamente, la diferencia se refleja en el precio, ya que la microforja supera en precio al micromanipulador mismo.

Como dijimos, el micromechero es tal vez el mejor dispositivo no sólo en cuanto a economía sino también en lo que se refiere a la rapidez, pero requiere poseer cierta habilidad manual. En ausencia

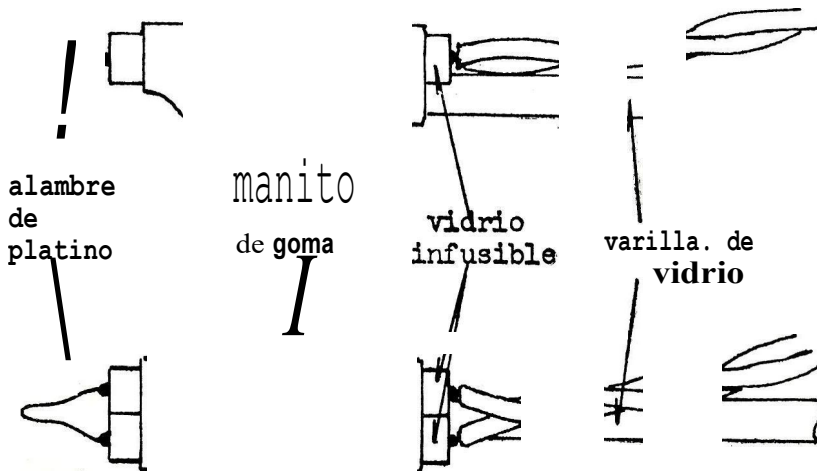


Figura 1.

de ésta, la microforja aparece como el instrumento indispensable, y también lo es cuando se desea una absoluta reproducibilidad en las dimensiones y la forma del instrumento de trabajo.

Ya que la microforja es una especie de micromanipulador para la confección de las herramientas de trabajo, puede adaptarse el micromanipulador, sin mucho gasto, para la fabricación de esas herramientas, sin necesidad de realizar una inversión que eleve demasiado el costo, de por sí elevado, del micromanipulador. Las operaciones descritas en el presente artículo han sido efectuadas con el micromanipulador de PETERFI, utilizando en uno de los portainstrumentos el dispositivo esquematizado en la figura 1. Un alambre de platino de 0,2 mm de diámetro fue conectado a dos conductores de diámetro considerablemente mayor, los cuales pasan por el interior de dos trozos de vidrio infusible como los que se utilizan en algunos triángulos para el sostén de crisoles durante las calcinaciones. Los dos trozos de vidrio son fijados a una varilla maciza de vidrio mediante un trozo de caño de goma a modo de manguito. La varilla se ajusta al portainstrumentos de la izquierda del micromanipulador. El sistema puede ser movido en todas las direcciones mediante los controles del aparato. Los conductores se conectan a un transformador variable de los utilizados para la alimentación de las lámparas de 6 voltios y 5 amperios (a la izquierda en la figura 2). El portainstrumentos de la derecha lleva el trozo de capilar o de varilla que se desea convertir en herramienta, y los controles correspondientes, también permiten moverlo en todas direcciones. Las operaciones pueden ser observadas con comodidad con una lupa o microscopio estereoscópico apoyado a un ángulo apropiado (figura 2).

En las figuras siguientes se representan diversas operaciones efectuadas con la microforja que se describe, y han sido fotografiadas directamente durante el trabajo aplicando una cámara Leica con carro de cambio a uno de los oculares de la lupa. En las fotografías que muestran el filamento, puede usarse como escala el diámetro de éste (0,2 mm). Para las figuras 10, 11, 12, 13, 22, 23, 27, 28 y 29, la escala se halla indicada en la figura 30, donde cada división corresponde a 20 micrones.

Las figuras 3 a 9 representan los pasos en la fabricación de una micropipeta. El capilar de vidrio de la figura 3 ha sido obtenido por estiramiento de una pipeta Pasteur con una llama veladora común. El capilar ha sido doblado en forma de gancho, y se ha colgado un peso apropiado. El alambre de platino caliente es acercado a un punto de la porción vertical del capilar (figura 4) y el tubo comienza a estirarse (figura 5). El estiramiento se continúa por etapas acercando cada vez con cuidado el alambre caliente a la parte inferior de la zona adelgazada. Cuando se ha llegado a una longitud conveniente, se acerca el alambre no muy caliente a la región más delgada (figura

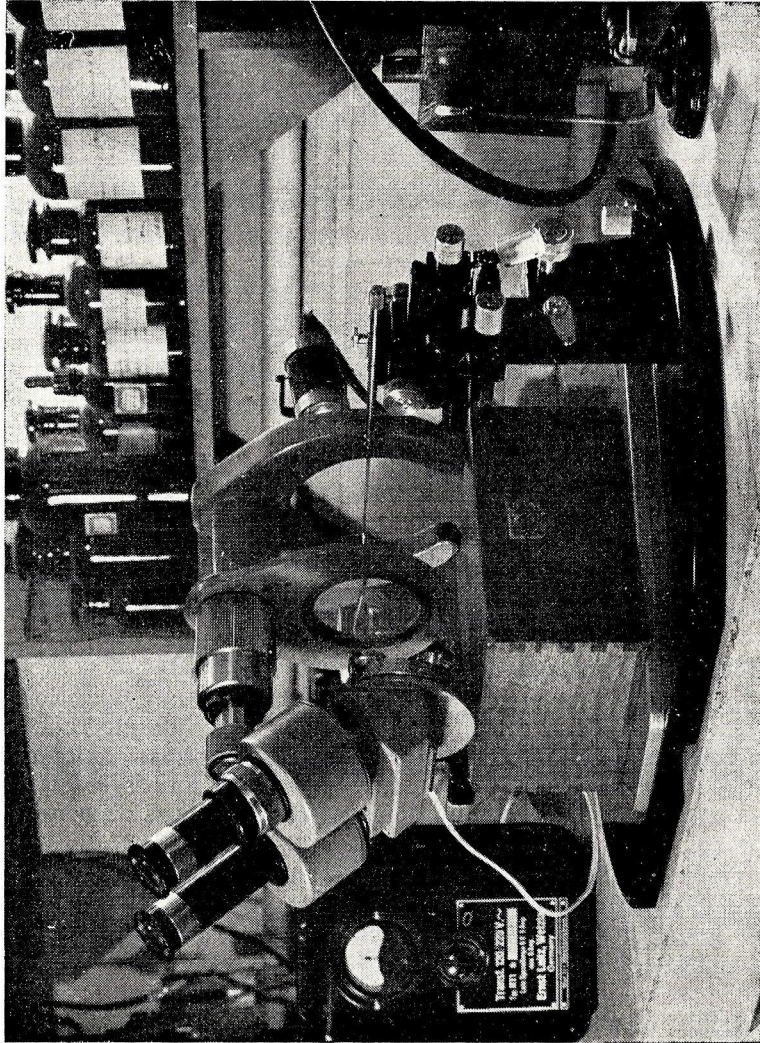


Figura 2.

8), y en cuanto se produce la rotura del capilar (figura 9) se interrumpe el calentamiento. En la práctica no hay mucho peligro de fundir el extremo de la micropipeta porque al caer el peso, ésta se separa rápidamente del filamento caliente.

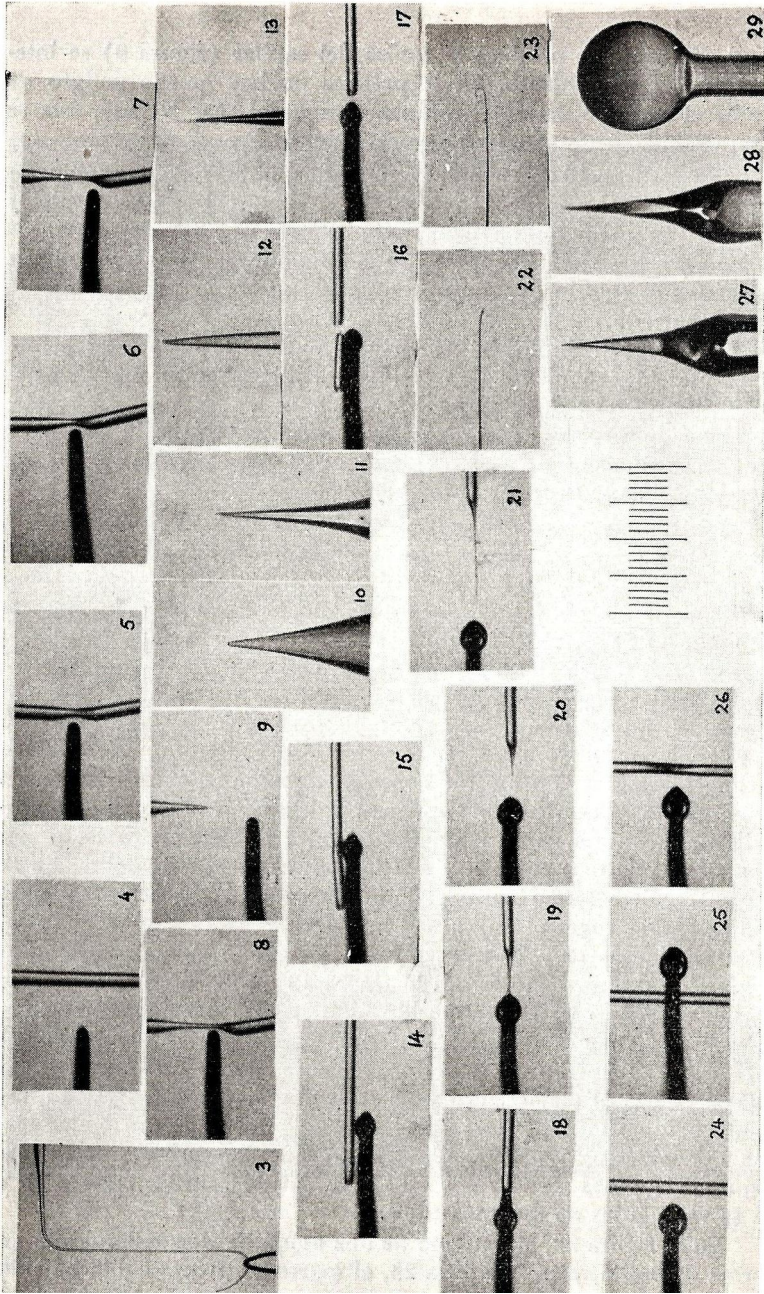
Las figuras 10 a 13 muestran distintos tipos de micropipetas obtenidas por el método descrito. En la figura 13 se ve una pipeta de menos de un micrón de diámetro en la boca, que ha sido sumergida en agua y retirada rápidamente con el objeto de mostrar que se halla abierta en el extremo, según puede verse por el menisco del líquido que ha entrado.

Tal como lo indica DE FONBRUNE en su libro, del cual hemos tomado el procedimiento descrito, el diámetro de las micropipetas es función lineal del peso aplicado al capilar durante su confección. También depende del tipo de vidrio utilizado. Desde el punto de vista de la constancia de las dimensiones, el método de la microforja es evidentemente superior al método manual.

Las figuras 14 a 17 muestran las distintas operaciones mediante las cuales se puede realizar el corte de un capilar y el pulido del borde en la zona del corte. En la figura 14, el capilar ha sido apoyado sobre el filamento de platino. Es de notar que tanto en esta fotografía como en las otras, el filamento de platino retiene una pequeña porción de vidrio que se ha fundido a su alrededor en las operaciones en las cuales el vidrio y el platino caliente han tomado contacto directo. El capilar es apoyado en el filamento frío, y luego comienza el calentamiento (figura 15). El capilar se adhiere al platino y se inclina levemente. En ese momento se interrumpe el calentamiento bruscamente, con lo cual el capilar se quiebra por una acción combinada de la diferencia de temperatura entre la zona en contacto con el platino y la más alejada, y por la contracción del alambre. En la figura 17, el extremo del capilar es acercado al filamento caliente, con lo cual se logra el pulido del borde.

Las figuras 18 y 19 indican las dos etapas fundamentales en la confección de microagujas. En la figura 18 un trozo de capilar o de varilla de vidrio ha sido adherido al filamento caliente, que funde al vidrio, y luego, la confección de la aguja se logra retirando el capilar del filamento o viceversa. Dependiendo de la velocidad con que se realiza el alejamiento y de la temperatura del filamento, así también como la naturaleza del vidrio, se pueden lograr agujas largas y delgadas o cortas y resistentes a voluntad, según el tipo de trabajo que se desea realizar con esos instrumentos. En las figuras 20 y 21 se ven agujas de distintos tipos.

En la figura 22, el extremo de una aguja ha sido redondeado en forma de bolita, y en la figura 23, el extremo de otra aguja ha sido convertido en gancho. Estas dos formas se obtienen por acercamiento de la aguja terminada al filamento caliente. La bolita se logra por



acercamiento a un filamento más caliente que para lograr el gancho.

En las figuras 24 a 26 se observan las etapas en la confección de un estrangulamiento interno en un tubo capilar sin afectar el diámetro exterior. En la figura 24 el capilar está fuera del arco que forma el filamento. En la figura 25, se ha hecho pasar el capilar dentro del arco y se comienza el calentamiento, que ocurre de manera relativamente uniforme alrededor del capilar, lo cual determina la acumulación de vidrio en el interior para dar un estrangulamiento (figura 25).

Las figuras 27 y 28 muestran una misma micropipeta de tipo especial. En este caso se trata de una aguja al extremo de un capilar, el cual tiene comunicación con el exterior por un orificio lateral. La figura 27 muestra el extremo de la aguja en foco, mientras en la figura 28 se ha tratado de enfocar el orificio lateral y la aguja aparece fuera de foco. La confección del instrumento se efectúa estirando previamente la aguja al extremo del capilar, y luego practicando el orificio lateral por soplado, mientras se mantiene próximo el filamento al punto elegido. Este tipo de instrumento, tal como lo señala DE FONBRUNE, puede ser de utilidad para la inyección de soluciones a células o tejidos sin correr el peligro de taponamiento del extremo de la micropipeta. La aguja penetra en el material y el líquido puede salir por la parte lateral.

En la figura 29 se muestra otro de los instrumentos que pueden ser fabricados con la microforja. En este caso se trata de una esferita de vidrio que ha sido lograda soplando por el capilar luego de calentar el vidrio que cerraba la luz del capilar en su extremo.

Las operaciones ilustradas permiten demostrar que es posible fabricar los microinstrumentos destinados a las operaciones de micromanipulación, aprovechando los mecanismos del micromanipulador de que se dispone, sin hacerse necesario la adquisición de una microforja especial. En cada caso particular, el operador elegirá las mejores condiciones de adaptación de su micromanipulador para hacerlo funcionar como microforja. Usualmente, tal adaptación no resulta difícil, y los micromanipuladores corrientes están contruidos con una precisión aún mayor que la requerida en una microforja.

RESUMEN

En el presente artículo se describe una microforja que puede ser construída fácilmente como accesorio de cualquier micromanipulador. Con este sencillo instrumento, es posible fabricar prácticamente cualquier microinstrumento para uso en la micromanipulación, a partir de capilares o varillas de vidrio, con precisión comparable a la que se logra con microforjas comerciales mucho más costosas. En el artículo se describen e ilustran algunas de las operaciones.

BIBLIOGRAFIA

1. PETERFI, T., *Mikrurgische Methodik, en Abderhalden Handb. der Biolog. Arbeitsmeth.*, Cap. 5°, 2° parte, p. 480, 1920.
3. DE FONBRUNE, P., *Technique de Micromanipulation*, Paris, 1949.