

Filtro microbiano protegido *

Acción centrífuga sobre pequeños volúmenes

POR LOS DOCTORES

J. J. MONTEVERDE** Y A. L. DURLACH ***

En el estudio de *Virales*, la filtración es una operación rutinaria y en el laboratorio muchas veces es necesario, para propósitos diversos, proceder a la filtración de pequeños volúmenes de líquidos apropiados conteniendo virus

Varios modelos de filtros se utilizan para tales fines. En nuestra experiencia, durante años hemos utilizado el filtro Boerner, que permite filtrar pequeños volúmenes de líquido, con mínima retención. Mediante la fuerza centrífuga, obtenida con una centrífuga común, que gire alrededor de 2.000 r. p. m., en escasos minutos fue posible obtener filtrados, dado que estos filtros se adaptan a los receptáculos para tubos de centrífugas comunes. El filtro Boerner resultó un elemento útil en el laboratorio, en razón de prestar señalados servicios; sin embargo notamos algunos inconvenientes, como por ejemplo: las repetidas esterilizaciones alteran la goma en la que el filtro se adapta al tubo receptáculo; la falta de tapa en el receptáculo superior que recibe el volumen a filtrar obliga a obturar con algodón o de otra manera, y este procedimiento, a pesar de las precauciones que suelen adoptarse, no asegura que algunos taponés de algodón puedan tomar contacto con el líquido, o salten si se usa otro tipo de cierre, con la ulterior posibilidad de circulación de microgotas

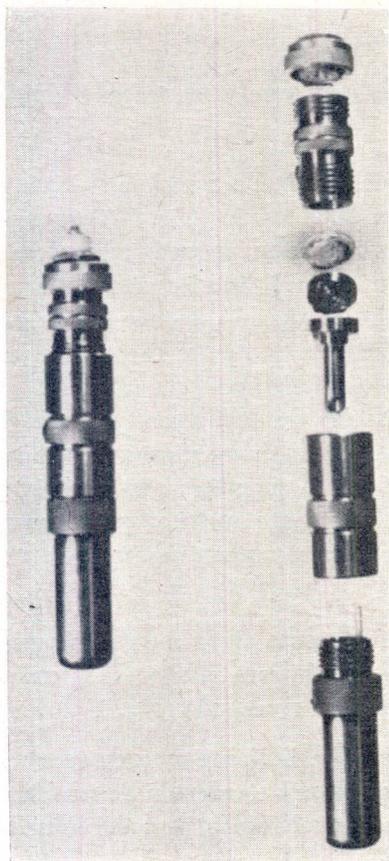
* Nota técnica de la Cátedra de Microbiología. Escuela Veterinaria. Fac. Agr. y Vet. Buenos Aires, 1960.

** y *** Profesor Titular y Jefe de Trabajos Prácticos, respectivamente de la Cátedra mencionada en la llamada anterior.

en el ámbito que rodea la centrífuga; la rotura del tubo de vidrio que recibe el filtrado y, por ende, la contaminación de la centrífuga.

Es sabido que, durante las maniobras con algunas *Virales*, el empleo de la fuerza centrífuga requiere cuidados especiales a fin de evitar contaminaciones del ambiente, a veces con peligro para las personas, por-

FILTRO MICROBIANO PROTEGIDO



- A. — Tapa (aluminio)
- B. — Tubo superior de carga y ajuste (acero inoxidable)
- C. — Disco filtrante (Seitz o similar)
- D. — Disco cribado (acero inoxidable)
- E. — Embudo (acero inoxidable)
- F. — Tubo soporte (acero inoxidable)
- G. — Receptáculo inferior (latón) con el tubo receptor de vidrio.

Fig. 1

que facilitan contaminaciones de medios de cultivo, de materiales de vidrio o de cultivos que se trata de conservar en pureza.

Para abreviar algunos de estos inconvenientes, diseñamos un modelo de filtro protegido, (fig. 1) que está basado en el filtro Boerner. Nuestros

diseños y esquemas fueron entregados para su construcción ¹ y después de una serie de estudios y trabajos se prepararon dos unidades que son las únicas que existen hasta ahora. Posteriormente y con el propósito de completar la presentación de esta simple nota, resultó necesario preparar una serie de planos ² y finalmente tomar algunas fotografías ³. Los autores desean dejar expresa constancia de su agradecimiento a todas las personas que han colaborado en esta tarea.

Descripción del nuevo filtro.

El filtro que presentamos tiene los detalles que se destacan a continuación:

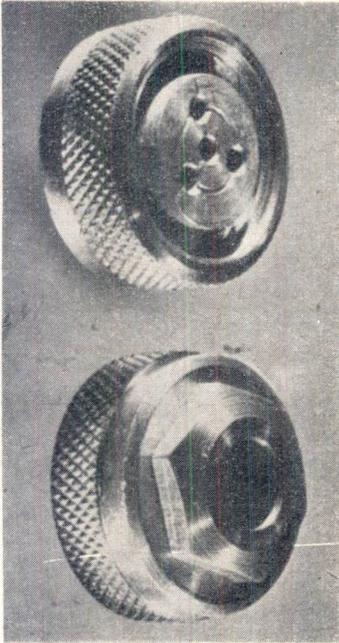
- a. — El tubo superior, de carga y ajuste, destinado a recibir el líquido a filtrar (Fig. 1-B) lleva una tapa de aluminio (Fig. 1-A) que se ajusta mediante una rosca; esta tapa tiene un pequeño receptáculo cuyo fondo permite comunicación con el interior, pero que al mismo tiempo impide que el tapón de algodón, que se coloca en el citado receptáculo, pueda ponerse en contacto directo con el líquido o requiera algún tipo especial de contención (Fig. 2). El tubo superior (Fig. 1-B), por medio de otra rosca, produce el ajuste del disco filtrante (Fig. 1-C) dejando una superficie libre de 1 cm. de diámetro; en este aspecto la superficie que comprime todo el borde del disco es lo suficientemente ancha y pulida para asegurarlo (como se comprenderá, este aspecto es importante para el buen funcionamiento).
- b. — El tubo soporte (Fig. 1-F) también presenta algunos detalles especiales, entre ellos un amplio apoyo para la cara inferior de la criba (Fig. 1-D) y un bien calculado paso para el embudo (Fig. 1-E).
- c. — La criba o disco cribado-acanalado (Fig. 1-D) presenta en su cara superior, que contacta con el disco filtrante, además de perforaciones, canales circulares para facilitar el rápido paso del líquido filtrado hacia el embudo (Fig. 3).

¹ Al Sr. A. Fuster corresponde el mérito de haber realizado la construcción de los 2 primeros filtros protegidos, poniendo en la tarea especial dedicación y competencia.

² El Sr. Prof. Ing. Agr. A. E. Foglia tomó a su cargo la tarea de preparar los diversos planos y ajustarlos a una serie de requisitos que permitirán disponer de todos los detalles necesarios para ulteriores reproducciones.

³ El Sr. A. Da Fonseca prestó su colaboración en la parte fotográfica.

FILTRO MICROBIANO PROTEGIDO
TAPA

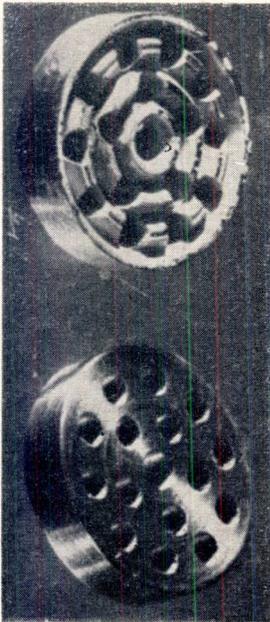


Tapa. — Parte inferior. Rosca y criba del receptáculo para el tapón de algodón.

Tapa — Parte superior. En el centro parte hueca para alojar el tapón de algodón.

Fig. 2

FILTRO MICROBIANO PROTEGIDO
DISCO CRIBADO



Cara superior de la criba con sus canales circulares.
Sobre esta cara apoya el disco filtrante.

Cara inferior de la criba que apoya en el tubo intermediario.

Fig. 3

- d. — El receptáculo inferior (Fig. 1-G), que contiene el tubo de vidrio colector del líquido filtrado, va atornillado al tubo intermediario y, en caso de rotura de éste, impide la contaminación de la centrifuga y su ámbito.
- e. — Puede asegurarse aún más la protección aplicando tela adhesiva, previa impregnación con un desinfectante adecuado, en las uniones entre tubo soporte y los tubos superior y receptáculo inferior.
- f. — El peso total de cada dispositivo es de 118 gramos. En nuevas construcciones este peso tenderá a reducirse.
- g. — El filtro puede librarse de materiales peligrosos por esterilización en autoclave, por ebullición, por llameado o por inmersión en soluciones microbicidas.
- h. — El largo total del filtro armado es de 11,5 cm. y su diámetro externo mayor es de 2 cm.

Recomendaciones para su uso.

Como *clarificante* puede funcionar adaptando sobre la criba un pequeño disco, que puede recortarse a partir de una placa clarificante de las que se expenden en el comercio.

Como *esterilizante* puede funcionar adaptando sobre la criba un pequeño disco esterilizante (tipo EK Seitz o similares). El disco debe ser bien circular y al presionarlo, atornillando las piezas metálicas sobre él, las mismas deben dejar una marca que demuestre el ajuste que evite escape de líquido por los bordes. *

Preparación y empleo.

Teniendo todas las partes metálicas bien limpias y separadas se procede a introducir en el tubo soporte el embudo y sobre él la criba, teniendo la precaución que la parte acanalada se encuentre hacia arriba. Sobre ésta se aplicará el disco filtrante elegido, bien circular y de un diámetro que entre muy justo por el tubo; el ajuste sobre la criba queda favorecido atornillando el tubo receptáculo superior, el cual presiona sobre los bordes del material filtrante. Se desatornilla ahora el tubo receptáculo superior (Fig. 1-B) y se observa si el disco filtrante está bien colocado y si el «sello» que ha dejado por la periferia del mismo el espesor del tubo superior asegura continuidad, a fin de evitar escape

* Mientras este filtro se ensayaba, el Dr. C. Hobohm, del Instituto de Fiebre Aftosa, INTA, lo probó con membranas filtrantes de tipo «Gradocol» preparadas por él mismo, y observó que se obtenían con el filtro resultados del todo comparables con los que se obtienen al aplicar presión.

del líquido; estando esto bien, se vuelve a ajustar «a fondo» el tubo receptáculo superior. Luego se atornilla la tapa y en el receptáculo de ésta se introduce algodón para obturarla. Se coloca ahora el tubo colector de vidrio, perfectamente limpio, en el receptáculo metálico inferior y, antes de atornillar éste al tubo intermedio, se asegura que la parte inferior del embudo penetre en el interior del tubo de vidrio.

Es importante que las piezas que corresponden a cada filtro tengan una marca, así cada filtro completo tendrá el mismo peso; por lo tanto se revisará si todas las partes metálicas corresponden al filtro que se usa.

Luego se envuelve en papel, se lleva a 120° C durante 20 ó 30 minutos y posteriormente se lleva a un horno para su secado. En esta forma se lo tiene listo para su uso. Llegado el momento se rompe el papel que envuelve el filtro y se procede a atornillar nuevamente «a fondo», insistiendo en la unión del tubo receptáculo superior contra el material filtrante y en la del tubo receptáculo inferior con el tubo soporte. Se retira la tapa y se agrega con las precauciones necesarias el líquido a filtrar en el receptáculo superior (pueden agregarse volúmenes tan pequeños como 0,2 ml; lo habitual es agregar de 0.5 ml a 2 ml). Finalmente se atornilla la tapa, provista de un pequeño tapón de algodón.

Habitualmente, en cada operación de filtrado, se usan dos filtros debidamente equilibrados en su peso, pero también es útil buscarse otro contrapeso adecuado si se desea usar un solo filtro.

Teniendo en cuenta que el peso de cada punto del filtro, al girar en un campo centrífugo, es proporcional al cuadrado de su distancia del eje de revolución de la centrífuga, se comprenderá que no se lo puede equilibrar, en el vaso opuesto, con municiones o trozos metálicos, sino que debe usarse otro filtro, cargado con igual cantidad del líquido de suspensión usado o, en todo caso, un trozo de caño de hierro de tamaño y peso similar.

Los dos filtros se adaptan ahora, en oposición, en los receptáculos metálicos de una centrífuga —nosotros empleamos una centrífuga de ángulo— y a una velocidad de aproximadamente de 1.000 a 1.200 r. p. m. se obtiene el paso del líquido, a través del material filtrante, en breve lapso (generalmente 1 a 3 minutos, si el líquido es límpido y acuoso).

El líquido a filtrar es forzado a través del elemento filtrante por la fuerza centrífuga (FCR.) que es proporcional al cuadrado del número de revoluciones (N), a la distancia (r) del elemento filtrante del eje de revolución de la centrífuga, a la altura (h) de la columna de líquido sobre el elemento filtrante y a la densidad (w) del líquido a filtrar.

$$FCR = K r N^2 w h$$

Si $K = 0,00001117$, FCR queda expresado en gramos por cm^2 , y se puede entonces calcular la fuerza que actúa sobre el elemento filtrante y homologarla a la presión con que se suele filtrar, cuando se usa el filtro Seitz usual.

Para una columna de agua ($w = 1$) de 1 cm. de altura ($h = 1$), y el elemento filtrante a 10 cm. del eje de revolución de la centrífuga, se obtienen los siguientes valores:

r. p. m.	g/cm^2	Atmósferas (aproximado)
1.200	161	0,16
2.000	446,8	0,45
3.000	1005,6	1,000

Una vez detenida la centrífuga, se procede a retirar el filtro de ésta. En esta operación se aconsejan las siguientes precauciones, sobre todo cuando se trata de materiales muy peligrosos: empleo de guantes, tapa boca, careta protectora, inmersión rápida del filtro en soluciones virulicidas-germicidas, etc. Teniendo cerca una olla conteniendo agua caliente (80° aproximadamente) se desatornilla el tubo protector inferior que contiene el tubo; antes de separar las partes se destapa la olla y con suaves movimientos se sumerge el filtro, excepto el receptáculo inferior que contiene el tubo con el filtrado. Prestamente el tubo de vidrio, sin sacarlo del receptáculo metálico, es llameado y con pipeta estéril se retira el líquido obtenido, que se pasa con todas las precauciones a un tubo estéril. Hecho esto el receptáculo metálico, con el tubo de vidrio, es suavemente sumergido en el agua caliente que contiene la olla y la pipeta empleada también se introduce en el agua caliente o en un recipiente «ad hoc». Se adapta la tapa a la olla y todo se hierve durante 15 a 20 minutos. Posteriormente se desarma el filtro, se limpian sus piezas cuidadosamente y luego se vuelve a preparar para nuevas filtraciones.

NOTA: Por razones de espacio en el presente trabajo no se publican los 8 planos preparados por el Ing. Agr. A. Foglia. Para quienes estén interesados en ellos los mismos figuran en el original existente en la Biblioteca de la Fac. de Agr. y Vet. de Buenos Aires.

RESUMEN

Se describe un pequeño filtro metálico para uso microbiológico. Aprovechando la fuerza centrífuga, pueden filtrarse pequeños volúmenes (de 0.5 a 2 ml) a través de un disco de Seitz, o similar, de 1 cm. de diámetro. El filtro es colocado en una centrífuga común de laboratorio y se

lo hace girar a unas 1.000 r. p. m. obteniéndose así sobre el disco una presión que equivale a aproximadamente 0.2 atm. El filtro ha sido construído de manera tal que (a) todas las partes que toman contacto con el líquido son de acero inoxidable o de vidrio; y (b) constituye un sistema aceptablemente cerrado, que evita la posibilidad de que microgotas contaminen el ámbito, aun si se llegara a romper el tubo de vidrio que recibe el filtrado.

SUMMARY

PROTECTED MICROBIOLOGICAL FILTER, FOR SMALL VOLUMES ACTED UPON BY CENTRIFUGAL FORCE

A small, all-metal microbiological filter has been designed. Small quantities of fluid (0.5 to 2 ml) can be forced through a filter disc (Seitz or similar) with a diameter of 1 cm. using centrifugal force. The filter is placed in an ordinary laboratory centrifuge and run at about 1.000 r. p. m. At this speed a pressure of approximately 0.2 atmospheres (about 3 pounds per square inch) is exerted on the filter disc. The filter is constructed so that (a) all parts coming into contact with the filtered fluid are of stainless steel or glass and (b) it constitutes a perfectly closed system, so that no danger of spilling exists, even if the glass tube, which is to receive the filtrate, should break by accident.

ZUSAMMENFASSUNG

KLEINER BAKTERIOLOGISCHER ZENTRIFUGENFILTER

Es wird ein kleiner Metalfilterhalter beschrieben. Kleine Mengen (0,5 bis 2 ml) Flüssigkeit können durch Zentrifugalkraft durch eine Seitzschicht, mit 1 cm Durchmesser, geschleudert werden. Zu diesem Zwecke wird der Filterhalter in eine gewöhnliche Laboratoriums-Zentrifuge eingesetzt, und mit 1000 U. p. M. gedreht; dadurch wird auf die Filterschicht ein Druck von ungefähr 0,2 atü ausgeübt. Der Filterhalter ist so gebaut dass (a) alle Teile die mit der Flüssigkeit in Berührung kommen aus rostfreiem Stahl oder Glass sind, und (b) er ein ganz geschlossenes System bildet, sodass die Gefahr einer Ausschleuderung von Tröpfchen völlig ausgeschlossen ist, auch wenn das untere Glassröhrchen brechen sollte.