

Tinción de PERL'S: Azul-Prusia/ Nuclear Fast Red

La tinción de Perls sirve para identificar los iones férricos. La hemosiderina contiene hierro que se libera con el HCl y reacciona con el ferricianuro potásico dando ferrocianuro férrico, produciéndose un color azul. Identifica hierro almacenado en macrófagos y tejidos. Como contratinción se usa el Nuclear Fast Red, que teñirá de rojo-rosa los núcleos.

Protocolo:

1. Desparafinar:

- Xilol 5 min
- Xilol 5 min

2. Hidratar:

- Etanol 100% 3 min
- Etanol 100% 3 min
- Etanol 96% 3 min
- Etanol 70% 3 min
- Agua destilada corriendo 5 min.

3. Tinción Hierro: reactivo de Perls 15 min.

4. Aclarar: Agua destilada 2 min.

5. Tinción núcleos: Nuclear Fast Red al 0,1% 5 min (filtrado previamente).

6. Lavar:

- Agua de grifo 10 min.
- Agua destilada 3 min.

7. Deshidratar:

- Etanol 96% meter y sacar.
- Etanol 96% 3 min.
- Etanol 100% 3 min.
- Etanol 100% 3 min.

8. Montaje:

- Xilol 5 min.
- Xilol 5 min.
- Montaje de los portas con Micro-Mount. Dejar secar O/N.
- Limpiar exceso de medio de montaje con cuchilla y Etanol 70%.

- Si los cortes son de criostato, sacar los portas del -80° y dejar 2h a RT y empezar en el H₂O anterior al paso 3.

Preparación del reactivo de Perls:

Se hace la mezcla en el momento 1:1 entre HCl 2% y ferricianuro al 2%

- 100 ml de ferriano al 2%: 2 g de $K_4 Fe (CN)_6 \cdot 3 H_2O$ + 100 ml de milliQ.
 - 100 ml de HCl al 2%: 5,40 ml de HCl 37% + 94,6 ml de agua milliQ.
-
- Para 50 ml de reactivo de Perls (Coplín): 25 ml de HCl 2% (1,35 ml de HCl 37% + 23,65 ml de milliQ) + 25 ml de ferricianuro 2% (0,5 g de $K_4 Fe (CN)_6 \cdot 3 H_2O$ + 25 ml de milliQ).

Resultados:

- ✓ Núcleos: color rojo
- ✓ Citoplasma: rosado
- ✓ Hemosiderina de macrófagos y nanopartículas férricas: azul