

TINCIÓN SIRIUS RED

La tinción de Rojo Sirio (Sirius Red) es una de las mejores técnicas histoquímicas de colágeno. Se utiliza para la visualización de fibras de colágeno I y III, además de músculo. Puede visualizarse mediante microscopía óptica estándar o luz polarizada, lo que da lugar a la birrefringencia de las fibras de colágeno para distinguir entre tipo I y III.

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. Teñir con Solución Picro-Sirius Red 60 min.

4. Agua acidificada al 0,5% (ir cambiando el agua 2 veces y en el tercer cambio dejar 3 min).

5. Eliminar la mayor parte de agua de los portaobjetos agitándolos enérgicamente o secándolos con papel de filtro.

6. Deshidratar:

- Etanol 100% 2min
- Etanol 100% 2min
- Etanol 100% 2min

7. 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%.

Preparación de reactivos:➤ Picrosirius Red Solution:

Para 250mL: 0,25 gr. Direct Red 80 + 250 mL de solución acuosa saturada de ácido pícrico.
Filtrarla tras la preparación.

➤ Agua acidificada al 0,5%: 5mL de ácido acético glacial + 1L de Agua (puede ser del grifo o destilada).Referencias:

Direct Red 80 (Merck): ref. 365548-5G

Solución acuosa saturada de ácido pícrico (1.3% en agua) (Merck): ref. P6744-1GA.

Resultados:

- ✓ Colágeno: rojo.
- ✓ Fibras musculares: amarillo.
- ✓ Citoplasma: amarillo.

En el microscopio de luz polarizada el resultado es:

- Tipo I (fibras gruesas): birrefringencia Amarillo/Naranja
- Tipo III (fibras finas): birrefringencia verde.