



**Universidad
Norbert Wiener**

UNIVERSIDAD PRIVADA NORBERT WIENER

**Facultad de Ciencias de la Salud
Escuela Académico Profesional de Tecnología Médica**

**“DESEMPEÑO DEL MÉTODO DE COLORACIÓN GRAM Y GRAM
MODIFICADO BROWM - BRENN EN EL DIAGNÓSTICO DE
ENDOCARDITIS BACTERIANA INCOR, LIMA AÑOS 2015 - 2020”**

**TRABAJO ACADÉMICO PARA OPTAR EL TÍTULO DE
ESPECIALISTA EN HISTOTECNOLOGÍA**

Presentado por:

**REYNALDO ABDIAS ÁRTICA VICENTE
CÓDIGO ORCID: 0000-0002-8781-6314**

Asesor:

**JUSTO ÁNGELO ASCARZA GALLEGOS
CÓDIGO ORCID: 0000-0002-5137-661X**

Lima – Perú
2021

ÍNDICE

1	EL PROBLEMA	4
1.1	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	4
1.2	FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	6
1.2.1	Problema general	6
1.2.2	Problemas específicos	6
1.3	OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	7
1.3.1	Objetivo general	7
1.3.2	Objetivos específicos	7
1.4	JUSTIFICACIÓN	8
1.5	DELIMITACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	9
1.5.1	Temporal	9
1.5.2	Espacial	9
1.5.3	Recursos	10
2	MARCO TEÓRICO	12
2.1	ANTECEDENTES	12
2.1.1	Internacionales	12
2.1.2	Nacionales	15
2.2	BASES TEÓRICAS	18
2.2.1	Endocarditis infecciosa	18
2.2.2	Coloración gram	23
2.3	FORMULACION DE HIPOTESIS	27
2.3.1	Hipótesis General	27
2.3.2	Hipótesis específicas	27
3	METODOLOGIA	30
3.1	Método de la investigación	30
3.2	Enfoque de la investigación	30
3.3	Tipo de investigación	30
3.4	Diseño de la investigación	31
3.5	Población, muestra y muestreo	32
3.6	Variables y operacionalización	32

3.7	Técnicas es instrumentos de recolección de datos	33
3.7.1	Técnica.....	33
3.7.2	Descripción de instrumentos.....	33
3.7.3	Validación.....	33
3.7.4	Confiabilidad	34
3.8	Plan de procesamiento y recolección de datos	34
3.9	Aspectos éticos	35
4	ASPECTOS ADMINSTRATIVOS	36
4.1	Cronograma de actividades	36
4.2	Presupuesto	36

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Ubicación geográfica de la ubicación del Instituto Nacional de Enfermedades Cardiovasculares. Tomado de Google Maps.	10
-----------------	---	----

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Recursos humanos, financieros, informáticos y materiales para la investigación.	10
Tabla 2.	<i>Clasificación de la endocarditis infecciosa.</i> ⁽¹⁷⁾	22
Tabla 3	Operacionalización de la variable 1	32
Tabla 4.	Operacionalización de la variable 2.....	33
Tabla 5.	Niveles de confiabilidad.....	34
Tabla 6.	Cronograma de Actividades	36
Tabla 7.	Presupuesto	36
Tabla 8.	Matriz de consistencia	42

1 EL PROBLEMA

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La endocarditis infecciosa (EI) es una enfermedad rara definida como un foco infeccioso dentro del corazón, generando un desafío en el campo de la cardiología, presenta una elevada mortalidad que aproximadamente es del 25 - 30% anualmente. Los efectos que provoca son duraderos incluso en pacientes que ya superaron esta enfermedad. Es considerada como la cuarta enfermedad que pone en riesgo la vida de las personas en el mundo.⁽¹⁻⁴⁾

Los microorganismos implicados en la endocarditis infecciosa son diversos y varían según los factores de riesgo que presentan los pacientes. El 80% de los casos están relacionados a estreptococos y estafilococos. El *Staphylococcus aureus*, así como los estafilococos coagulasa negativa, se ha convertido en el organismo causante predominante en el mundo desarrollado, conduce a una forma agresiva de la enfermedad, a menudo en poblaciones de pacientes vulnerables o de edad avanzada. Los casos relacionados a enterococos son considerados la tercera causa de infección en la endocarditis infecciosa. ^(1, 2)

Para el diagnóstico de endocarditis infecciosa el examen patológico es más sensible que el cultivo valvular. La endocarditis infecciosa con cultivo negativo aproximadamente representa el 70% de los casos de endocarditis.⁽⁵⁾

Se ha demostrado que existe un porcentaje de casos de endocarditis negativas al cultivo y a la tinción Gram convencional, pero al realizar la coloración con Gram modificado el resultado es positivo.⁽⁶⁾ Este problema ha traído consigo un incremento en la mortalidad por terapias farmacológicas fallidas.⁽⁷⁾

La contribución del diagnóstico anatomopatológico tiene suma importancia en los casos de endocarditis con hemocultivos negativos.^(3, 8) Sabemos que las coloraciones empleadas en el área de anatomía patológica mejoran notablemente la identificación de ciertos microorganismos, una de ellas es la coloración de Gram, la cual ha sufrido varias modificaciones con el fin de optimizar esta coloración, como por ejemplo la modificación de Brown-Brenn, existe evidencia al aplicar esta técnica en tejidos patológicos, que con el Gram convencional tenían un resultado negativo, el resultado fue totalmente distinto.⁽⁹⁾

En el Perú el Instituto Nacional Cardiovascular (INCOR), como centro de referencia de enfermedades cardiovasculares a nivel nacional, se evidenció un incremento en el número de pacientes con endocarditis infecciosa en estos últimos años.⁽¹⁰⁾ Por este motivo y lo mencionado anteriormente, es de suma importancia encontrar nuevas técnicas que apoyen en el diagnóstico de esta patología, razón por la cual el objetivo de este estudio es evaluar el desempeño

de la coloración Gram y el Gram Brown-Brenn en el diagnóstico de endocarditis infecciosa.

1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

1.2.1 Problema general

¿Cuál es el desempeño de la coloración Gram y el Gram modificado Brown - Brenn para el diagnóstico de Endocarditis bacteriana en el INCOR, Lima 2015-2020?

1.2.2 Problemas específicos

- ¿Cuál es la sensibilidad de la coloración Gram en el diagnóstico de la endocarditis bacteriana en el INCOR, Lima 2015 – 2020?
- ¿Cuál es la especificidad de la coloración Gram en el diagnóstico de la endocarditis bacteriana en el INCOR, Lima 2015 – 2020?
- ¿Cuál es la sensibilidad de la coloración Brown-Brenn en el diagnóstico de la endocarditis bacteriana en el INCOR, Lima años 2015 – 2020?
- ¿Cuál es la especificidad de la coloración Brown-Brenn en el diagnóstico de la endocarditis bacteriana en el INCOR, Lima años 2015 – 2020?

1.3 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.3.1 Objetivo general

Evaluar el desempeño de la coloración Gram y el Gram modificado Brown - Brenn para el diagnóstico de endocarditis bacteriana en el INCOR, Lima 2015-2020.

1.3.2 Objetivos específicos

- Determinar la sensibilidad de la coloración Gram en el diagnóstico de la endocarditis bacteriana en el INCOR, Lima 2015 – 2020.
- Determinar la especificidad de la coloración Gram en el diagnóstico de la endocarditis bacteriana en el INCOR, Lima 2015 – 2020.
- Determinar la sensibilidad de la coloración Brown-Brenn en el diagnóstico de la endocarditis bacteriana en el INCOR, Lima años 2015 – 2020.
- Determinar la especificidad de la coloración Brown-Brenn en el diagnóstico de la endocarditis bacteriana en el INCOR, Lima años 2015 – 2020

1.4 JUSTIFICACIÓN

La endocarditis infecciosa es un problema poco común a nivel mundial que afecta el revestimiento del corazón, que puede llevar a consecuencias fatales. En los estados unidos se estima que presenta una tasa de mortalidad promedio del 30% anualmente. En el Perú no se han realizado estudios de incidencia, pero en los últimos años se ha evidenciado un incremento de casos en el INCOR, convirtiéndose en todo un desafío para los profesionales de salud.

La identificación temprana de esa enfermedad podría mejorar el pronóstico del paciente, ya que el médico podría tener un mejor manejo terapéutico, para ello se requiere el empleo de técnicas histopatológicas que pueden mejorar la identificación de microorganismos, una de estas técnicas sería el empleo de coloraciones más sensibles y específicas; esto sería útil debido a que se han visto reportes de resultados erróneos donde los cultivos de endocarditis son negativos pero al aplicar la coloración modificada de Brown-Brenn el resultado es positivo, ya que se logra distinguir mejor las bacterias gram negativas, razón por la cual se debería optar por el uso en los laboratorios de patología.

En consideración con lo anteriormente expuesto, se realizará esta investigación para evaluar el desempeño en términos de sensibilidad y especificidad de la coloración Gram que se emplea convencionalmente y la coloración Gram de Brown-Brenn para el diagnóstico de endocarditis bacteriana.

1.5 DELIMITACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.5.1 Temporal

La presente investigación se realizará durante los meses de agosto a noviembre del 2021, para ello se contará con muestras recolectadas durante los años 2015 – 2020.

1.5.2 Espacial

Este estudio se realizará en el departamento de histopatología del Instituto Nacional de enfermedades Cardiovasculares.



Figura 1 Ubicación geográfica del Instituto Nacional de Enfermedades Cardiovasculares. Tomado de Google Maps.

1.5.3 Recursos

Tabla 1. Recursos humanos, financieros, informáticos y materiales para la investigación.

RECURSOS HUMANOS		
N°	DESCRIPCIÓN	CANTIDAD
1	Profesionales	1
2	Asesor	1
RECURSOS FINANCIEROS		
1	Coloración Gram	1
2	Coloración Gram Brown – Brenn	1
3	Lámina porta objetos cajá x 100	2

4	Cuchillas para corte histológico	5
5	Bálsamo para montaje de láminas	1
6	Láminas cubre objetos caja x 100	2
7	Lápiz punta de diamante	1
RECURSOS INFORMÁTICOS		
1	Papelería	200
2	Computadora	1
3	USB	1
4	Corrector líquido	1
5	Lapiceros	2
6	Marcador indeleble	3
EQUIPAMIENTO		
1	Microscopio	1
2	Micrótopo	1
3	Baño maría	1

2 MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES

2.1.1 Internacionales

Siguiendo a Vélez Alejandro en el año 2020 en el trabajo denominado Tinción Gram de tejidos, alcances y limitaciones, que tiene como objetivo describir los fundamentos de la coloración Gram aplicada a tejidos, el aporte que brinda en el diagnóstico de infecciones considerándose como técnica adicional para la identificación de microorganismos, así como las limitaciones que presenta. El trabajo emplea un método deductivo, con un instrumento denominado lista de cotejos. Concluyendo que la coloración Gram no solo debe estar orientada a infecciones por bacterias, sino que también a hongos y parásitos, para ello recomienda el uso de las modificaciones de Gram y estandarizarlas, para que así se pueda obtener la mejor tinción de microorganismos. Todo esto se trabajó en muestra de tejidos.⁽⁹⁾

Yuan Ye at col.2020 en el artículo denominado, Identificación histológica de *Propionibacterium acnes* en discos intervertebrales degenerados no piogénicos. Tuvo como objetivo confirmar la presencia de *P. acnes* en discos intervertebrales no piogénicos mediante observación

histológica. Método: se recolectaron discos intervertebrales degenerados de 76 pacientes con lumbalgia y / o ciática, pero sin sintomatología, las muestras positivas se tiñeron con hematoxilina-eosina y la tinción de Brown-Brenn modificada para su posterior estudio microscópico. Se observó que 16 de las muestras eran positivos para *P. acnés*, 7 muestras presentaron microbios visibles en las coloraciones, con el examen microscópico se observó que las bacterias eran Gram positivas y correspondían a *P. acnés*, por lo que se concluyó que la presencia de *P. acnés* podría demostrarse adicionalmente con métodos histológicos.⁽¹¹⁾

Taylor, Richard en el 2016, en la publicación titulada Modificación de la tinción Gram Brown y Brenn para la coloración diferencial de bacterias Gram-positivas y Gram negativas en secciones de tejidos, este es un estudio deductivo donde se evalúa un método no descrito previamente para realizar la coloración Brown y Brenn, la cual permitirá teñir adicionalmente de los organismos Gram positivos, los Gram negativos que presentan por lo general cierta dificultad al teñirlos con la coloración Gram tradicional, en tejidos. Los cambios en esta modificación han mostrado resultados consistentes y fiables en la tinción de organismos Gram-negativos en secciones de tejidos, por lo que el autor concluye que podría emplearse en coloración de tejidos para una mejor distinción en organismos Gram-negativos y Gram-positivos.⁽¹²⁾

Yang Kong en el año 2020 en el trabajo denominado Un nuevo método de tinción Gram mejorado basado en el tubo capilar, el cual tuvo como propósito desarrollar un procedimiento modificado del Gram estandarizado usando un tubo capilar para la identificación bacteriana. El trabajo emplea un método exploratorio comparativo basado en cultivos bacterianos puros, se emplearon 8 cepas de bacterias brindadas por la universidad de Luoyang, a las cuales se realizó la coloración Gram tanto en portaobjetos como en el tubo capilar, en ambos se compararon las bacterias Gram-negativas como las Gram-positivas; los resultados mostraron que la morfología de las cepas era visible en los tubos capilares, además se podían diferenciar muy bien entre Gram-positivas y Gram-negativas. Los autores concluyen que este método además de proporcionar una buena diferenciación emplea volúmenes pequeños de reactivos, motivo por el cual también podría ser un método empleado para otro tipo de coloraciones.⁽¹³⁾

Awinashe, M; Wanjari, S; Parwani, R en el 2013 realizaron el estudio titulado Presencia y ubicación de bacterias en la Patosis Periapical Humana: un estudio histopatológico. El estudio tuvo como objetivo estudiar la presencia y ubicación de bacterias en lesiones periapicales en humanos mediante la coloración Gram de Brown-Brenn modificada. Emplearon un

método descriptivo observacional, donde incluyeron 33 dientes humanos con lesiones periapicales a los cuales después de un proceso de fijación, descalcificación e inclusión, se realizaron cortes que fueron teñidos con tinción hematoxilina-eosina y Brown-Brenn. Se encontraron presencia de bacterias en 28 de las 33 lesiones (17 granulomas y 11 quistes), la mayoría de las bacterias fueron cocos Gram positivos, pocos fueron Gram negativos. Los autores llegan a la conclusión que el desarrollo en este campo es fundamental para un eficaz tratamiento en endodoncia.⁽¹⁴⁾

2.1.2 Nacionales

Siguiendo a Ferrer Carolina y col. En el año 2021, en el trabajo titulado Características clínicas y epidemiológicas en la endocarditis infecciosa en el Hospital Nacional Dos de Mayo, 2014 – 2019, cuyo propósito fue la determinación de las características clínicas y epidemiológicas de la endocarditis infecciosa (EI) en dicho hospital. Para este trabajo se empleó un método descriptivo, retrospectivo y observacional, tomando como población a pacientes mayores de edad con diagnóstico de endocarditis infecciosa, teniendo en cuenta los criterios de Duke, así mismo contaban con hemograma, ecocardiografía y hemocultivo. De los resultados obtenidos el 57.7% tuvieron hemocultivo negativo; presentaron fiebre, disnea como sintomatología siendo predominante el soplo cardiaco (67.6%). La válvula mitral fue la más

afectada en el 51.7% de los pacientes y en el hemograma de los pacientes se observó que el 88% tenían el ancho de distribución eritrocitaria (ADE) por encima de 14.4%. Los autores concluyen que valores elevados de ADE podría usarse como marcador biológico predictivo de enfermedades cardiovasculares.⁽¹⁵⁾

En el año 2020 Berrio Frisancho y col realizaron el estudio titulado Características clínico-epidemiológicas y resultado a corto y largo plazo del tratamiento quirúrgico por insuficiencia aórtica en edad pediátrica en el INCOR. Lima – Perú. El fin de este estudio fue analizar datos epidemiológicos, clínicos, hallazgos y técnicas quirúrgicas en diversos periodos de tiempo en pacientes con insuficiencia aórtica que fueron sometidos a tratamiento quirúrgico, para ello emplearon un método descriptivo, longitudinal y retrospectivo, que incluyo a pacientes < 15 años que fueron sometidos a cirugía cardiaca, con diagnóstico de insuficiencia aórtica, comunicación interventricular y truncus arterioso. Los resultados muestran que la afección clínica más frecuente fue la disnea seguida de palpitaciones y neumonía. El 64.86% tuvo insuficiencia aórtica severa; dentro de las técnicas, la más empleada fue la plastia valvular en el 78.50% de los casos. En el seguimiento se evidencio que a corto plazo la mitad de participantes tuvo una insuficiencia aórtica leve, sin reintervención quirúrgica; a largo plazo el porcentaje fue menor y si hubo reintervenciones

quirúrgicas. La mortalidad fue mayor en los casos de reintervención quirúrgica. Se concluyó que los resultados fueron exitosos con evidencia de mejoría en las patologías cardíacas, además que la mortalidad aumenta cuando hay una reintervención quirúrgica.⁽¹⁶⁾

Polo Gracia del Carmen en el 2020 en el estudio Experiencia de cinco años en el manejo de Endocarditis Infecciosa complicada en un centro de referencia nacional. El objetivo fue evaluar las características epidemiológicas, clínicas microbiológicas, ecocardiográficas y complicaciones en pacientes con endocarditis infecciosa complicada. El estudio fue retrospectivo y descriptivo, se incluyeron 59 casos, obteniendo que el signo más frecuente fue la fiebre (69.49%) y el síntoma predominante fue la disnea (52.5%), el patógeno aislado con mayor frecuencia de los hemocultivos fue *Staphylococcus spp.* Las ecocardiografías mostraron que la afección predominante era a nivel aórtico, generando complicaciones como el bloqueo auriculoventricular principalmente (28.8%). Los autores llegan a la conclusión de que esta patología continúa siendo desafiante, hay evidencia de cambio a nivel de su patología y epidemiología, pero aún no hay un cambio significativo en la mortalidad ya que esta aún se mantiene.⁽¹⁰⁾

2.2 BASES TEÓRICAS

2.2.1 Endocarditis infecciosa

a) Definición

La endocarditis bacteriana está definida como una patología cardíaca caracterizada por una invasión microbiana que afecta a la capa de revestimiento del corazón llamada endocardio y también a las válvulas cardíacas (mitral y tricúspide en su mayoría), provocando una destrucción del tejido que puede tener consecuencias fatales para la salud de la persona si no se trata con anticipación. ⁽¹⁷⁻²⁰⁾

Esta enfermedad se relaciona con una elevada mortalidad intrahospitalaria que fluctúa entre el 25 – 30 % inclusive teniendo un diagnóstico precoz de la enfermedad, un avance en el tratamiento quirúrgico, así como el farmacológico^(20, 21), por este motivo resulta un verdadero desafío para el médico clínico, esto debido a sus características y complejidad que presenta.⁽¹⁸⁾

b) Epidemiología

En los países desarrollados la Endocarditis infecciosa tiene una incidencia de 3 – 10 casos de 100 000 habitantes anualmente. Existe una mayor predisposición por el sexo masculino que por el sexo femenino en esta enfermedad, manteniendo una relación de 3:2 que se puede extender hasta 9:1.⁽²²⁻²⁴⁾ Esta afección por lo general afecta actualmente a personas mayores de 65 años de edad con diferencia de años anteriores que afectaba a personas de 40 años, este cambio se le atribuye al uso farmacológico indiscriminado de antibióticos. También el uso de drogas por vía endovenosa, la degeneración de válvula mitral primordialmente y el uso de dispositivos artificiales desfasaron a los factores clásicos en el siglo XXI ^(22, 25-27)

c) Patogenia

La infección es facilitada por presencia de una lesión a nivel endotelial afectando la barrera cutáneo mucosa, haciendo que sea punto fácil de acceso de gérmenes. El daño valvular por excelencia en primer lugar sucede en la válvula mitral, seguido de la lesión a nivel de la válvula aórtica como segundo lugar. En contraparte cuando se habla de abuso de drogas por vía endovenosa, la válvula afectada en este caso es la tricúspide. ⁽¹⁷⁾

La infección puede suceder tanto en válvulas nativas como en válvulas artificiales. En las válvulas nativas el paso de un flujo a gran velocidad provocará una turbulencia, generando cambios a nivel endocárdico, también provocará un depósito de plaquetas y fibrina, todo esto generará una endocarditis trombótica abacteriana, que cuando sea colonizada por un microorganismo pasará a llamarse endocarditis infecciosa. Mientras que en las válvulas artificiales (biológicas y mecánicas) son más susceptibles a ser colonizadas y desencadenar una infección en los dos meses siguientes a la intervención quirúrgica, esta recibe el nombre de endocarditis protésica precoz, y si supera los dos meses recibe el nombre de endocarditis tardía. En relación al grado de riesgo este es mayor en válvula aórtica que mitral, así como en válvulas mecánicas que biológica. ⁽¹⁷⁾

d) Clasificación

Existen distintas clasificaciones para la endocarditis Infecciosa algunos autores se basan en la evolución que tenga, la comorbilidad del paciente, la virulencia del microorganismo y los factores del huésped pueden dividirse en aguda y subaguda (Tabla 1). ⁽¹⁷⁾ Otros autores para la clasificación de esta patología se basan

en el tipo de válvula, si es nativa o por prótesis, clasificándola de la siguiente manera. ⁽²⁸⁾

- **Endocarditis de válvula nativa (EVN):** La infección está localizada en alguna válvula natural del corazón (mitral, tricúspide, etc), se subdivide en:

AGUDA: Presenta menos de un mes de evolución.

SUBAGUDA: Tiene menos de seis meses de evolución.

CRÓNICA: La patología tiene una evolución por encima de los seis meses.

- **Endocarditis de válvula protésica (EVP):** Aquella que ocurre en una válvula mecánica o biológica similar a una válvula nativa. Se subdivide en:

Precoz: Aquella que se presenta en un periodo menor a un año posterior a la cirugía.

Tardía: Se da en casos mayores a un año posterior a la cirugía.

- **Relacionada con dispositivos intracardiacos:** Aquella que ocurre con marcapasos permanentes o cardiodesfibrilador.

Tabla 2. Clasificación de la endocarditis infecciosa.⁽¹⁷⁾

	AGUDA	SUBAGUDA
Germen	Alta virulencia	Baja virulencia
Válvula cardiaca	Previamente normal o no	Previamente anormal
Morfología	Vegetaciones friables*	Vegetaciones friables*, tejido de granulación en la base.
Evolución	Días a semanas, rápido y agresivo	De semanas a meses
Pronóstico	Malo a pesar del tratamiento	Bueno con tratamiento eficaz

e) Etiología

La etiología de la endocarditis infecciosa es muy diversa, uno de los patógenos más conocido y más virulento que se asocia a esta patología es el *Staphylococcus aureus*, primordialmente es aquellos pacientes con abuso de drogas intravenosas. El agente más común es el *Streptococcus viridans* presente en la cavidad bucal, el cual puede producir bacteriemias debido a procedimientos dentales, este agente está más relacionado con las infecciones subagudas. En los procedimientos quirúrgicos es común la infección por *Enterococcus faecalis*, y en menor proporción por enterococos, Gram negativos y hongos.⁽¹⁷⁾

2.2.2 Coloración Gram

En 1884 Hans Christian Gram describió la tinción que lleva su nombre para la aplicación en la parte microbiológica, esta técnica permite la distinción entre organismos Gram positivos y Gram negativos, siendo de ayuda como un diagnóstico inicial que lleve a un tratamiento farmacológico temprano. (9, 29, 30)

Años después han surgido diversas modificaciones para que esta tinción sea aplicada no solo en el campo de microbiología sino también en otras áreas como en patología, dentro de estas modificaciones encontramos la modificación de Brown-Hopps, Brown-Brenn y Gram-Twort que se han adaptado perfectamente en el ámbito de patología clínica, estas coloraciones deben de cumplir con los 5 criterios de evaluación de una buena coloración.⁽³⁰⁻³³⁾

El Gram modificado de Brown-Brenn fue introducido en el campo de la histología en 1931, para el uso en cortes de tejidos, debido a la dificultad que existía para poder diferenciar los organismos Gram-negativos⁽¹²⁾

Coloración Brown-Brenn

En la coloración Brown-Brenn se emplea la fucsina básica como contraste y el ácido pícrico-acetona como decolorante. En esta coloración se observan las bacterias Gram-positivas de color azul y las Gram-negativas de color rojo^(9, 34)

Soluciones:

a) Solución de Cristal Violeta

Cristal violeta, 10% de alcohol	2 mL
Agua destilada	18 mL
Oxalato de amonio al 1%	80 mL

Mezclar y almacenar, no olvidar agitar antes de usar.

b) Yodo modificado de Gram

Yodo	2 g
Yoduro de potasio	4 g
Agua destilada	400 mL

Disolver el yoduro de potasio en una pequeña proporción de agua destilada, luego adicione yodo y disuelva nuevamente, finalmente complete el volumen con agua destilada.

c) Solución acetona-alcohol etílico

Alcohol etílico absoluto	50 mL
Acetona	50 mL

d) Solución de fucsina básica al 0.5% (stock)

Fucsina básica	0.5 g
Agua destilada	100 mL

Disolver en calor y con ayuda de un agitador magnético

e) Solución de fucsina básica (solución para trabajo)

Solución de fucsina básica (stock)	10 mL
Agua destilada	40 mL

f) Ácido pícrico-acetona

Ácido pícrico	0.1 g
Acetona	100 mL

NOTA: Se recomienda comprar la solución ácido-pícrico ya preparada debido a que el ácido pícrico sólido tiende a ser explosivo.

g) Solución de acetona-xileno

Acetona	50 mL
Xileno	50 mL

Procedimiento:

- 1) Desparafinar y rehidratar las muestras a través de alcoholes graduados en agua destilada.

- 2) Teñir las muestras con solución de cristal violeta, previamente filtrada, durante 1 minuto.
- 3) Enjuagar con agua destilada.
- 4) Teñir con solución de yoduro durante 1 minuto.
- 5) Enjuagar con agua destilada y secar, pero no la sección de tejido.
- 6) Decolorar con alcohol-acetona hasta que el color azul deje de correr (dos inmersiones).
- 7) Teñir con fucsina básica de trabajo por 1 minuto. Asegurarse de agitar los portaobjetos en la fucsina antes de comenzar a cronometrar el tiempo.
- 8) Enjuagar y secar los portaobjetos
- 9) Sumergir en acetona (solo una inmersión)
- 10) Sumergir en ácido pícrico-acetona hasta que las secciones de tejido tengan una coloración rosa amarillenta.
- 11) Sumerja varias veces en la solución acetona-xileno.
- 12) Aclare en xileno y monte las láminas.

2.3 FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS

2.3.1 Hipótesis General

Existe un desempeño favorable en la coloración Gram y Gram modificado Brown - Brenn para el diagnóstico de Endocarditis bacteriana. INCOR, Lima. Años 2015 – 2020

Hi: No existe un desempeño significativo entre la coloración Gram y Gram modificado Brown - Brenn para el diagnóstico de Endocarditis bacteriana. INCOR, Lima. Años 2015 – 2020

H0: Existe un desempeño significativo entre la coloración Gram y Gram modificado Brown - Brenn para el diagnóstico de Endocarditis bacteriana. INCOR, Lima. Años 2015 – 2020

2.3.2 Hipótesis específicas

H1. La coloración Gram muestra buena sensibilidad para el diagnóstico de endocarditis infecciosa en el INCOR, Lima 2015 – 2020.

Ho: No existe buena sensibilidad de la coloración Gram para el diagnóstico de endocarditis infecciosa en el INCOR, Lima 2015 – 2020.

Hi: Existe buena sensibilidad de la coloración Gram para el diagnóstico de endocarditis infecciosa en el INCOR, Lima 2015 – 2020.

H2. La coloración Gram muestra buena especificidad para el diagnóstico de endocarditis infecciosa en el INCOR, Lima 2015 – 2020.

Ho: No existe buena especificidad de la coloración Gram para el diagnóstico de endocarditis infecciosa en el INCOR, Lima 2015 – 2020.

Hi: Existe buena especificidad de la coloración Gram para el diagnóstico de endocarditis infecciosa en el INCOR, Lima 2015 – 2020.

H3. La coloración Gram Brown-Breen muestra buena sensibilidad para el diagnóstico de endocarditis infecciosa en el INCOR, Lima 2015 – 2020.

Ho: No existe buena sensibilidad de la coloración Gram Brown-Breen para el diagnóstico de endocarditis infecciosa en el INCOR, Lima 2015 – 2020.

Hi: Existe buena sensibilidad de la coloración Gram Brown-Breen para el diagnóstico de endocarditis infecciosa en el INCOR, Lima 2015 – 2020.

H4. La coloración Gram muestra buena especificidad para el diagnóstico de endocarditis infecciosa en el INCOR, Lima 2015 – 2020.

Ho: No existe buena especificidad de la coloración Gram Brown-Breen para el diagnóstico de endocarditis infecciosa en el INCOR, Lima 2015 – 2020.

Hi: Existe buena especificidad de la coloración Gram Brown-Breen para el diagnóstico de endocarditis infecciosa en el INCOR, Lima 2015 – 2020.

3 METODOLOGÍA

3.1 Método de la investigación

El método empleado en el estudio es hipotético deductivo porque esta herramienta histopatológica nos ayudará a resolver el problema de investigación a través de una respuesta tentativa denominada hipótesis de investigación. A su vez los resultados se mostrarán estadísticamente, así como la contrastación de la hipótesis.⁽³⁵⁾

3.2 Enfoque de la investigación

El presente trabajo es de investigación tiene un enfoque objetivo, está basado y fundamentado en la revisión de la literatura, describiendo no solamente los conceptos de la variable sino el dimensionamiento de la misma. La información se obtendrá mediante la recolección estadística de datos, además para la recolección se empleará un instrumento de recolección denominado lista de cotejos. La presentación de los resultados será cuantitativa ya que se apoyará de la estadística.⁽³⁶⁾

3.3 Tipo de investigación

Es aplicada neta porque desarrollará en entornos reales y creará un conocimiento específico. El presente trabajo de investigación es de nivel experimental puro, porque hay manipulación de las variables por deducción.

correlacional, razón la por la cual corresponde al tipo de investigación aplicada.⁽³⁵⁾

3.4 Diseño de la investigación

El diseño de investigación del presente estudio es de tipo experimental pura porque habrá manipulación de las variables, además porque habrá dos grupos de muestras a los que se les realizará las coloraciones Gram.⁽³⁶⁾ También es de tipo transversal porque los datos serán recolectados en un momento determinado.⁽³⁷⁾ Teniendo en cuenta el recojo de información en un solo periodo de tiempo; esta se dará con posterioridad a la planificación del presente trabajo de investigación. Dicha planificación es conocida como proyecto de investigación razón por la cual es del tipo prospectivo. Cabe señalar que el título de investigación tiene variable de tiempo el intervalo de los años 2015 – 2020, en dicho periodo de tiempo se obtuvieron las muestras de válvula cardiacas con diagnóstico de endocarditis bacteriana, las mismas que siguieron la técnica de inclusión en parafina obteniendo un taco donde estaban incluidas dichas válvulas, sin embargo, para el presente trabajo de investigación tiene como objetivo asociar dos coloraciones en dichas muestras; para lograr el objetivo, se realizará un nuevo corte con micrótomo a los tacos en mención, así mismo se usarán los colorantes respectivos hasta su observación. Las acciones antes mencionadas se desarrollarán posteriores al proyecto de investigación.⁽³⁷⁾

3.5 Población, muestra y muestreo

La población incluye todas las muestras de válvula cardíacas de los años 2015 al 2020 las mismas que serán trabajadas en el año 2021. El número de válvulas cardíacas suman 30 en dicho periodo.

La muestra coincide con la población razón por la cual no se aplicará una fórmula para determinar dicho parámetro, a su vez la confiabilidad o fiabilidad de los resultados obtenidos no admiten el sesgo de error, toda vez que la muestra coincide con la población.

Con respecto al muestreo este no será considerado debido a que no tenemos fórmula aplicada de tamaño de muestra.

3.6 Variables y operacionalización

Tabla 3 Operacionalización de la variable 1

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	N° DE ITEM	INDICADOR
TINCIÓN GRAM	Es la coloración de referencia para la diferenciación taxonómica de laboratorio de Microbiología	Es la coloración que actualmente se utiliza en las secciones tisulares de válvulas cardíacas para la diferenciación microscópicas de bacterias.	COLORACIÓN TISULAR	1	Tinción general
				2	Claridad de tinción
				3	Tinción citoplasmática
				4	Tinción nuclear
				5	Tinción del material de fondo
			DIFERENCIACIÓN BACTERIANA	1	Gram negativos
				2	Gram positivos

Tabla 4. Operacionalización de la variable 2

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	Nº DE ITEM	INDICADOR
TINCIÓN GRAM MODIFICADO BROWN - BRENN	Es la coloración de referencia para la diferenciación taxonómica de laboratorio de Histotecnología	Es la coloración de referencia en tejidos para la diferenciación bacteriana en el laboratorio de Histotecnología	COLORACIÓN TISULAR	1	Tinción general
				2	Claridad de tinción
				3	Tinción citoplasmática
				4	Tinción nuclear
				5	Tinción del material de fondo
			DIFERENCIACIÓN BACTERIANA	1	Gram negativos
				2	Gram positivos

3.7 Técnicas es instrumentos de recolección de datos

3.7.1 Técnica

Observacional.

3.7.2 Descripción de instrumentos

El instrumento empleado para este proyecto es una lista de cotejos (Anexo 2), el cual será debidamente llenado para posteriormente vaciar los resultados obtenidos a una base de datos y de esta forma organizar la información para su posterior tabulación.

3.7.3 Validación

Para la validación del instrumento, este se realizará a través de juicio de expertos, para ello se presentará la documentación requerida por la universidad. (anexos)

3.7.4 Confiabilidad

Para medir la confiabilidad del instrumento se usará el coeficiente Alfa de Cronbach que permitió determinar la fiabilidad del instrumento. Según Hernández, señala que este coeficiente es útil para medir la fiabilidad de una escala de medida o test.

Tabla 5. Niveles de confiabilidad

Valores	Nivel
De -1 a 0	No es confiable
De 0,01 a 0,49	Baja confiabilidad
De 0,5 a 0,75	Moderada confiabilidad
De 0,76 a 0,89	Fuerte confiabilidad
De 0,9 a 1	Alta confiabilidad

3.8 Plan de procesamiento y recolección de datos

Para el análisis descriptivo y estadístico de los resultados que se obtengan por ambos métodos de evaluación, se procederá a almacenar la información en una base de datos en el programa Microsoft Excel, luego se realizará los cálculos de sensibilidad, especificidad.

La información asentada en la base de datos será revisada con métodos manuales y porcentuales, los resultados serán llevados a Tablas y Gráficos para facilitar su análisis, discusión y presentación.

3.9 Aspectos éticos

El presente estudio será sometido al comité de ética del Instituto Nacional Cardiovascular, así como al de la universidad privada Norbert Wiener. También cabe resaltar que los datos de los pacientes se mantendrán en reserva respetando el derecho de confidencialidad, para ello se asignará un código a cada muestra.

4 ASPECTOS ADMINISTRATIVOS

4.1 Cronograma de actividades

Tabla 6. Cronograma de Actividades

Actividades	Meses					
	Oct -21	Nov-21	Dic - 21	Ene-22	Mar -22	Abr-22
Idea de proyecto						
Planteamiento del problema						
Elaboración						
Determinación de la información						
Pautas para la búsqueda de información						
Elaboración de los antecedentes						
Elaboración de la justificación e importancia del proyecto						
Determinación de objetivos						
Definición						
Identificación de las variables						
Precisión de la metodología de investigación						
Desarrollo del estudio						
Análisis del estudio						
Discusión						
Conclusión y recomendaciones						
Sustentación de tesis						

4.2 Presupuesto

Tabla 7. Presupuesto

N°	DESCRIPCIÓN	CANTIDAD	COSTO UNITARIO	COSTO TOTAL
SERVICIOS NO PERSONALES				
1.	Profesionales	1	500	500
BIENES DE CONSUMO				

1.	Papelería	200	0.10	20.00
2.	Corrector líquido	1	2.50	2.50
3.	Lapiceros	2	0.50	1.00
4.	Marcador indeleble	3	1.50	4.50
5.	USB	1	16.00	16.00
BIENES DE SERVICIOS				
1.	Impresiones	50	0.03	1.50
2.	Movilidad – pasajes	20	1.00	20.00
BIENES DE INVERSIÓN				
1.	Láminas porta objetos caja x 100	2	40.00	40.00
2.	Cuchillas para corte histológico	5	50.00	50.00
3.	Bálsamo para montaje de láminas	1	35.00	35.00
4.	Láminas cubre objetos caja x 100	2	30.00	30.00
5.	Lápiz punta de diamante	1	12.00	12.00
6	COLORACIÓN GRAM	1	45.00	45.00
7	COLOORACIÓN GRAM BROWN - BRENN	1	1200.00	1200.00
TOTAL				2017.50

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Holland TL, Baddour LM, Bayer AS, Hoen B, Miro JM, Fowler VG, Jr. Infective endocarditis. *Nat Rev Dis Primers*. 2016;2:16059.
2. Cahill TJ, Baddour LM, Habib G, Hoen B, Salaun E, Pettersson GB, et al. Challenges in Infective Endocarditis. *Journal of the American College of Cardiology*. 2017;69(3):325-44.
3. Liesman RM, Pritt BS, Maleszewski JJ, Patel R. Laboratory Diagnosis of Infective Endocarditis. *J Clin Microbiol*. 2017;55(9):2599-608.
4. Baca K, Puente H, González F, Leyva K, Rodriguez B, Medina FJRMH. Endocarditis infecciosa secundaria a *Streptococcus gordonii*, complicada con aneurisma y fístula en válvula mitral: Reporte de caso. 2017;28(1):37-41.
5. Fournier PE, Gouriet F, Casalta JP, Lepidi H, Chaudet H, Thuny F, et al. Blood culture-negative endocarditis: Improving the diagnostic yield using new diagnostic tools. *Medicine (Baltimore)*. 2017;96(47):e8392.
6. Morris AJ, Drinkovic D, Pottumarthy S, Strickett MG, MacCulloch D, Lambie N, et al. Gram stain, culture, and histopathological examination findings for heart valves removed because of infective endocarditis. 2003;36(6):697-704.
7. Salsano A, Giacobbe DR, Del Puente F, Natali R, Miette A, Moscatelli S, et al. Culture-negative infective endocarditis (CNIE): impact on postoperative mortality. *Open Med (Wars)*. 2020;15(1):571-9.
8. Iung B. Infective endocarditis. *Epidemiology, pathophysiology and histopathology*. *Presse medicale (Paris, France)* : 1983). 2019;48(5):513-21.
9. Hoyos AV, Tobón GAJJM, Laboratorio. Gram stain of tissue biopsy: scope and pitfalls. 2020;18(11-12):557-73.
10. Lecca GdCP, Torres-Villacorta L, Yarahuaman-Mora J, Lobato-Jeri C, Uribe-Badillo EJAPdCyCC. Experiencia de cinco años en el manejo de endocarditis infecciosa complicada en un centro de referencia nacional. 2020;1(3):172-7.

11. Yuan Y, Zhou Z, Jiao Y, Li C, Zheng Y, Lin Y, et al. Histological Identification of Propionibacterium acnes in Nonpyogenic Degenerated Intervertebral Discs. *BioMed research international*. 2017;2017:6192935.
12. Taylor RD. Modification of the Brown and Brenn gram stain for the differential staining of gram-positive and gram-negative bacteria in tissue sections. *American journal of clinical pathology*. 1966;46(4):472-4.
13. Wu KY, Yang TX. A Novel Improved Gram Staining Method Based on the Capillary Tube. *Pol J Microbiol*. 2020;69(4):503-8.
14. Awinashe M, Wanjari S, Parwani RJJJoPFA. Presence and location of bacteria in human periapical pathosis: a histopathological study. 2013;27(1):9-13.
15. Ferrer Rodríguez C, Fu Llampasi M, Espíritu N, Parhuana Bando A. Características clínicas y epidemiológicas de la endocarditis infecciosa en el Hospital Nacional Dos de Mayo, 2014-2019 %J *Anales de la Facultad de Medicina*. 2020;81:404-9.
16. Berrios JF, Benancio GH, Velarde FC, Crespo ASJRdC-CMINCI. CARACTERÍSTICAS CLÍNICO EPIDEMIOLÓGICAS Y RESULTADOS A CORTO Y LARGO PLAZO DEL TRATAMIENTO QUIRÚRGICO POR INSUFICIENCIA AÓRTICA EN EDAD PEDIÁTRICA EN EL INSTITUTO CARDIOVASCULAR INCOR. LIMA-PERÚ.: EPIDEMIOLOGICAL CLINICAL FEATURES AND RESULTS IN THE SHORT AND LONG TERM OF SURGICAL TREATMENT FOR AORTIC REGURGITATION IN PEDIATRIC PATIENTS AT THE INSTITUTO CARDIOVASCULAR INCOR. LIMA-PERÚ. 2020;6(N1):10-20.
17. Mayd JMJRMS. Endocarditis infecciosa. 2016;1(3):3-6.
18. Burgos LM, Cracco MA, Fernández Oses P, Iribarren AC, Ronderos R, Nacinovich F. [Infective endocarditis in Argentina: what have we learned in the last 25 years ?]. *Medicina*. 2019;79(4):257-64.
19. Guerrero AN, Quesada MC, Castaño DMJRMS. Endocarditis infecciosa. 2021;6(01):1-13.

20. Fernández-Hidalgo N, Almirante BJElyMC. Estado actual de la endocarditis infecciosa: nuevas poblaciones de riesgo, nuevos retos diagnósticos y terapéuticos. 2018;36(2):69-71.
21. Zegri-Reiriz I, de Alarcón A, Muñoz P, Martínez Sellés M, González-Ramallo V, Miro JM, et al. Infective Endocarditis in Patients With Bicuspid Aortic Valve or Mitral Valve Prolapse. *Journal of the American College of Cardiology*. 2018;71(24):2731-40.
22. Conde Mercado JM, Camacho Limas CP, Quintana Cuellar M, De La Torre Saldaña VA, Brito CA, Alonso Bello CDJRHM. Endocarditis infecciosa. 2017;84(3):143-66.
23. García-Arribas D, Olmos C, Vivas D, Vilacosta IJM-PdFMCA. Endocarditis infecciosa. 2017;12(40):2380-95.
24. Elizondo DSP, Núñez IMA, Zúñiga AGRJRMS. Endocarditis infecciosa: una visión actualizada. 2021;6(5):e675-e.
25. Fernández E, Reyes C, Benavides C, Irarrázaval T, Padilla PJRmdC. Relevancia de profilaxis antibiótica ante procedimientos dentales generadores de bacteriemias transitorias. 2018;146(7):899-906.
26. Muñoz P, Kestler M, De Alarcon A, Miro JM, Bermejo J, Rodríguez-Abella H, et al. Current epidemiology and outcome of infective endocarditis: a multicenter, prospective, cohort study. 2015;94(43).
27. Klein M, Wang A. Infective Endocarditis. *J Intensive Care Med*. 2016;31(3):151-63.
28. Vargas NMC, Vásquez MMOJRMS. Endocarditis infecciosa. 2020;5(12):e615-e.
29. Gutiérrez-Arenas EG, Tavera-Valdez AN, Niderhauser-García A, Jaramillo-Rangel G, Ortega-Martínez MGJRdCFyB. Optimización de la tinción de gram para su aplicación en tejidos. 2020:10-.
30. Peck M, Badrick TJJoH. A review of contemporary practice and proficiency with Gram staining in anatomical pathology laboratories. 2017;40(2):54-61.

31. O'Toole GA. Classic spotlight: How the gram stain works. *Am Soc Microbiol*; 2016.
32. Titford MJ. Progress in the development of microscopical techniques for diagnostic pathology. 2009;32(1):9-19.
33. Doddagowda SM, Shashidhar HA, Prasad CSBRJJoc, JCDR dr. Leishman-Giemsa cocktail-is it an effective stain for air dried cytology smears. 2017;11(3):EC16.
34. Morris GB, Ridgway EJ, Suvarna SK. Traditional stains and modern techniques for demonstrating microorganisms in histology. *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques*. 2019:254-79.
35. Bunge M. *Ciencia, técnica y desarrollo*: Editorial Sudamericana; 1997.
36. Fernández Collado C, Baptista Lucio P, Hernández Sampieri RJEMH. *Metodología de la Investigación*. 2014.
37. Supo CJA, Perú: Bioestadístico. com. Seminario de investigación científica.[Internet]. 2014.

ANEXOS

Anexo N°1: Matriz de consistencia

Título de la investigación: “Desempeño del método de coloración Gram y Gram modificado Brown - Brenn en el diagnóstico de Endocarditis bacteriana INCOR, Lima 2015 - 2020”

Tabla 8. Matriz de consistencia

Formulación del Problema	Objetivos	Hipótesis	Variables	Diseño metodológico
<p>Problema General ¿Cuál es el desempeño de la coloración Gram y el Gram modificado de Brown - Brenn para el diagnóstico de Endocarditis bacteriana en el INCOR, Lima 2015-2020?</p>	<p>Objetivo General Evaluar el desempeño de la coloración Gram y el Gram modificado Brown - Brenn para el diagnóstico de endocarditis bacteriana en el INCOR, Lima 2015-2020.</p>	<p>Hipótesis General Existe un desempeño favorable en la coloración Gram y Gram modificado Brown - Brenn para el diagnóstico de Endocarditis bacteriana. INCOR, Lima. Años 2015 – 2020</p>	<p>Variable 1 Gram Dimensión: Determinar la calidad de imagen en las características morfológicas de las bacterias</p>	<p>Tipo de investigación Aplicada, Transversal, retrospectiva</p> <p>Método Hipotético Deductivo</p>
<p>Problemas Específicos P1. ¿Cuál es la sensibilidad de la coloración Gram en el diagnóstico de la endocarditis bacteriana</p>	<p>Objetivos Específicos O1. Determinar la sensibilidad de la coloración Gram en el diagnóstico de la endocarditis bacteriana en el INCOR, Lima 2015 – 2020.</p>	<p>Hipótesis Específicas H1. La coloración Gram muestra buena sensibilidad para el diagnóstico de endocarditis infecciosa en el INCOR, Lima 2015 – 2020.</p>	<p>Variable 2 Gran modificado Brown – Brenn Dimensión: Determinar la calidad de imagen en las características</p>	<p>Diseño de la investigación No experimental</p> <p>Población y muestras</p>

<p>en el INCOR, Lima 2015 – 2020?</p> <p>P2. ¿Cuál es la especificidad de la coloración Gram en el diagnóstico de la endocarditis bacteriana en el INCOR, Lima 2015 – 2020?</p> <p>P3. ¿Cuál es la sensibilidad de la coloración Brown-Brenn en el diagnóstico de la endocarditis bacteriana en el INCOR, Lima años 2015 – 2020?</p> <p>P4. ¿Cuál es la especificidad de la coloración Brown-Brenn en el diagnóstico de la endocarditis bacteriana en el INCOR, Lima años 2015 – 2020?</p>	<p>O2. Determinar la especificidad de la coloración Gram en el diagnóstico de la endocarditis bacteriana en el INCOR, Lima 2015 – 2020.</p> <p>O3. Determinar la sensibilidad de la coloración Brown-Brenn en el diagnóstico de la endocarditis bacteriana en el INCOR, Lima años 2015 – 2020.</p> <p>O4. Determinar la especificidad de la coloración Brown-Brenn en el diagnóstico de la endocarditis bacteriana en el INCOR, Lima años 2015 – 2020</p>	<p>H2. La coloración Gram muestra buena especificidad para el diagnóstico de endocarditis infecciosa en el INCOR, Lima 2015 – 2020.</p> <p>H3. La coloración Gram Brown-Breen muestra buena sensibilidad para el diagnóstico de endocarditis infecciosa en el INCOR, Lima 2015 – 2020.</p> <p>H4. La coloración Gram muestra buena especificidad para el diagnóstico de endocarditis infecciosa en el INCOR, Lima 2015 – 2020</p>	<p>morfológicas de las bacterias</p>	<p>Población: Todas endocarditis INCOR que estén en la base de datos de AP 40</p> <p>Muestra: Todas las endocarditis que tengan buen tejido en base de datos 30 muestras INCOR Lima año 2015 – 2020</p> <p>La muestra comprenderá toda la población</p>
---	--	--	--------------------------------------	---

Fuente: Elaboración propia

Anexo N°2: Instrumento de medición

LISTA DE COTEJO SOBRE LA COLORACIÓN GRAM			
Código interno:			
Fecha de aplicación:			
Apellidos y Nombres del evaluador:			
Lugar de Evaluación:			
INSTRUCCIONES <i>A continuación, presentamos una Lista de cotejos que tiene por objeto evaluar la coloración Gram en válvulas cardiacas con Endocarditis Bacteriana. El presente instrumento presenta una respuesta dicotómica: Si, No. marque la respuesta conveniente</i>			
N°	Evaluación de la calidad de la coloración	SÍ	NO
1	Se evidencia una buena tinción		
2	Se observa una buena claridad en la tinción		
3	Se observa una adecuada tinción del citoplasmática.		
5	Se observa buena tinción de núcleos celulares		
5	Se evidencia una adecuada tinción del marial de fondo		
Evaluación de la diferenciación bacteriana			
1	Existe buena diferenciación entre bacterias Gram negativas y bacterias Gram positivas.		
Glosario de término. <i>Gram; En 1884 Hans Christian Gram describió la tinción que lleva su nombre para la aplicación en la parte microbiológica, esta técnica permite la distinción entre organismos Gram positivos y gramnegativos, siendo de ayuda como un diagnóstico inicial que lleve a un tratamiento farmacológico temprano. (9, 29, 30.33)</i>			

LISTA DE COTEJO SOBRE LA COLORACIÓN GRAM BROWN – BRENN			
Código interno:			
Fecha de aplicación:			
Apellidos y Nombres del evaluador:			
Lugar de Evaluación:			
INSTRUCCIONES <i>A continuación, presentamos una Lista de cotejos que tiene por objeto evaluar la coloración Gram en válvulas cardiacas con Endocarditis Bacteriana. El presente instrumento presenta una respuesta dicotómica: Si, No. marque la respuesta conveniente</i>			
Nº	Evaluación de la calidad de la coloración	SÍ	NO
1	Se evidencia una buena tinción		
2	Se observa una buena claridad en la tinción		
3	Se observa una adecuada tinción del citoplasmática.		
5	Se observa buena tinción de núcleos celulares		
5	Se evidencia una adecuada tinción del marial de fondo		
Evaluación de la diferenciación bacteriana			
1	Existe buena diferenciación entre bacterias Gram negativas y bacterias Gram positivas.		
Glosario de término. <i>Gram; En 1884 Hans Christian Gram describió la tinción que lleva su nombre para la aplicación en la parte microbiológica, esta técnica permite la distinción entre organismos Gram positivos y gramnegativos, siendo de ayuda como un diagnóstico inicial que lleve a un tratamiento farmacológico temprano. (9, 29, 30, 33)</i>			

N°	DIMENSIONES / ítems	Pertinencia		Relevancia		Claridad		Sugerencias	
		SI	NO	SI	NO	SI	NO		
1	VARIABLE 1: TINCIÓN GRAM								
	DIMENSIÓN 1 : COLORACIÓN TISULAR	SI	NO	SI	NO	SI	NO		
	Tinción general								
	Claridad de tinción								
	Tinción citoplasmática								
	Tinción nuclear								
	Tinción del material de fondo								
	DIMENSIÓN 2 : DIFERENCIACIÓN BACTERIANA								
	Gram negativos								
	Gram positivos								
2	VARIABLE 2: TINCIÓN GRAM MODIFICADO BROWN - BRENN								
	DIMENSIÓN 1 : COLORACIÓN TISULAR								
	Tinción general								
	Claridad de tinción								
	Tinción citoplasmática								
	Tinción nuclear								
	Tinción del material de fondo								
	DIMENSIÓN 2 : DIFERENCIACIÓN BACTERIANA								
	Gram negativos								
	Gram positivos								

ANEXO 3. Carta de presentación

CARTA DE PRESENTACIÓN

Doctor:
Juan Carlos Benites Azabache
Presente

Asunto: VALIDACIÓN DE INSTRUMENTOS A TRAVÉS DE JUICIO DE EXPERTO.

Es muy grato comunicarme con usted para expresarle mi saludo y así mismo, hacer de su conocimiento que siendo estudiante del programa de SEGUNDA ESPECIALIDAD EN HISTOTECNOLOGIA requiero validar los instrumentos con los cuales recogeré la información necesaria para desarrollar mi investigación y con la cual optaré EL TÍTULO PROFESIONAL DE ESPECIALISTA EN HISTOTECNOLOGÍA.

El título nombre de mi proyecto de investigación es: **“Desempeño del método de coloración Gram y Gram modificado Brown - Brenn en el diagnóstico de Endocarditis bacteriana INCOR, Lima año 2021”** y siendo imprescindible contar con la aprobación de docentes especializados para aplicar los instrumentos en mención, he considerado conveniente recurrir a Usted, ante su connotada experiencia en temas de SALUD Y EDUCACIÓN.

El expediente de validación que le hago llegar contiene:

- Carta de presentación.
- Matriz de operacionalización de las variables.
- Certificado de validez de contenido de los instrumentos.
- Instrumentos

Expresándole los sentimientos de respeto y consideración, me despido de Usted, no sin antes agradecer por la atención que dispense a la presente.

Atentamente,

Reynaldo Artica Vicente
D.N.I: 4035543