



TAP LUIS ALBERTO CARRERA PEREIRA
FEDATARIO
Hospital Nacional Hipólito Unanue
MINISTERIO DE SALUD

14 DIC 2023

Este presente documento es
COPIA FIEL DEL ORIGINAL
que he tenido a la vista

Resolución Directoral

Lima 05 de diciembre de 2023

Visto el Expediente N° 23-052254-001, que contiene el Memorando N° 2277-2023-DPCYAP/HNHU, la Jefa del Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica, solicita la aprobación mediante acto resolutivo del siguiente proyecto de Guía de Procedimiento Asistencial: "Frotis de Fuente Primaria con interpretación, con coloración GRAM o GIEMSA o WRIGHT para Bacterias, Hongos o tipos de células (Coloración Gram)";

CONSIDERANDO:

Que, los numerales I y II del Título Preliminar de la Ley N° 26842, Ley General de Salud disponen que la salud es condición indispensable del desarrollo humano y medio fundamental para alcanzar el bienestar individual y colectivo, y que la protección de la salud es de interés público. Por tanto, es responsabilidad del Estado regularla, vigilarla y promoverla;

Que, mediante Decreto Supremo N°013-2006-SA, se aprueba el Reglamento de Establecimiento de Salud y Servicios Médicos de Apoyo, el cual tiene por objetivo establecer los requisitos y condiciones para la operación y funcionamiento de los establecimientos de salud y servicios médicos de apoyo, orientados a garantizar la calidad de sus prestaciones, así como los mecanismos para la verificación, control y evaluación de su cumplimiento, en el segundo párrafo del artículo 5° del acotado Reglamento, establece que los establecimientos de salud y servicios médicos de apoyo deben contar en cada área, unidad o servicio, con manuales de procedimientos, guías de práctica clínica referidos a la atención de los pacientes, personal, suministros, mantenimiento, seguridad y otros que sean necesarios, según sea el caso;

Que, el artículo 3° del Reglamento de Organización y Funciones del Hospital Nacional Hipólito Unanue, aprobado con Resolución Ministerial N° 099-2012/MINSA, señala entre otros, que son funciones generales del Hospital administrar los recursos humanos, materiales económicos y financieros para el logro de la misión y sus objetivos en cumplimiento a las normas vigentes; así como mejorar continuamente la calidad, productividad, eficiencia y eficacia de la atención de la salud, estableciendo las normas y los parámetros necesarios, así como generando una cultura organizacional con valores y actitudes hacia la satisfacción de las necesidades y expectativas del paciente y su entorno familiar;

Que, con Resolución Directoral 158-2021-HNHU-DG del 17 de junio de 2021, se aprobó la Directiva Sanitaria N° 042-HNHU/2021/DG "Directiva Sanitaria para la Elaboración de Guías de Procedimientos Asistenciales en el Hospital Nacional Hipólito

14 DIC 2023

Este presente documento es
COPIA FIEL DEL ORIGINAL
que he tenido a su vista

Unanue V.2', el cual tiene como finalidad contribuir a garantizar que los usuarios reciban atención de calidad respaldadas por Guías Técnicas de Procedimientos Asistenciales basadas en evidencias científicas, buscando el máximo beneficio y mínimo riesgo a los usuarios y el uso racional de recursos en el Hospital Nacional Hipólito Unanue;

Que, el Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica, según el Reglamento de Organización y Funciones del Hospital Nacional Hipólito Unanue, en el literal j) del artículo 75° señala que dentro de sus funciones generales se encuentra: Proponer y aplicar los procedimientos y guías de atención para la atención de los pacientes en la Institución, motivo por el cual la propuesta presentada mediante Memorando N° 2277-2023-DPCYAP/HNHU, que contiene el Informe N°533-SMIyBM-HNHU-2023, del Servicio de Microbiología, Inmunología y Biología Molecular;

Que, asimismo, el artículo 11° del Reglamento de Organización y Funciones del Hospital Nacional Hipólito Unanue, señala que la Oficina de Gestión de la Calidad, se encarga de implementar el Sistema de Gestión de la Calidad en el Hospital para promover la mejora continua de la atención asistencial y administrativa al paciente con la participación activa del personal y en el literal f) del mencionado artículo señala que dentro de sus funciones generales se encuentra: *Asesorar en la formulación de normas, guías de atención y procedimientos de atención al paciente*, razón por la cual presenta la Guía de Procedimiento Asistencial propuesta;

Que, con Nota Informativa N° 495-2023-OGC/HNHU, la Oficina de Gestión de la Calidad remite el Informe N° 410-2023-KMGM/HNHU, a través del cual se informa que el proyecto de Guía de Procedimiento Asistencial: *"Frotis de Fuente Primaria con interpretación, con coloración GRAM o GIEMSA o WRIGHT para Bacterias, Hongos o tipos de células (Coloración Gram)"*, elaborado por el Servicio de Microbiología, Inmunología y Biología Molecular, ha sido evaluado y se encuentra acorde de manera estructural a los lineamientos planteados en la Directiva Sanitaria N° 042-HNHU/2021/DG *"Directiva Sanitaria para la Elaboración de Guías de Procedimientos Asistenciales en el Hospital Nacional Hipólito Unanue V.2"*, aprobada con Resolución Directoral N° 158-2021-HNHU-DG, y que por tanto la Guía de Procedimiento Asistencial propuesta se encuentra apta para su aprobación;

Estando a lo informado por la Oficina de Asesoría Jurídica en su Informe N° 445-2023-OAJ/HNHU;

Con el visto bueno de la Jefa del Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica, del Jefe de la Oficina de Gestión de la Calidad y del Jefe de la Oficina de Asesoría Jurídica; y,

De conformidad con lo dispuesto en la Directiva Sanitaria N° 042-HNHU/2021/DG *"Directiva Sanitaria para la Elaboración de Guías de Procedimientos Asistenciales en el Hospital Nacional Hipólito Unanue V.2"*, aprobada con Resolución Directoral N° 158-2021-



Resolución Directoral

Lima 05 de diciembre de 2023

HNHU-DG y de acuerdo a las facultades establecidas en el Reglamento de Organización y Funciones del Hospital Nacional Hipólito Unanue, aprobado por Resolución Ministerial N° 099-2012/MINSA;

SE RESUELVE:

Artículo 1.- APROBAR la Guía de Procedimiento Asistencial: "*Frotis de Fuente Primaria con interpretación, con coloración GRAM o GIEMSA o WRIGHT para Bacterias, Hongos o tipos de células (Coloración Gram)*", la misma que forma parte de la presente Resolución y por los fundamentos expuestos en la parte considerativa.

Artículo 2.- ENCARGAR al Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica, la ejecución y seguimiento de la Guía de Procedimiento Asistencial aprobada en el artículo 1 de la presente Resolución.

Artículo 3.- DISPONER que la Oficina de Comunicaciones proceda a la publicación de la presente Resolución en la Página Web del Hospital <https://www.gob.pe/hnhu>.

Regístrese y comuníquese.

MINISTERIO DE SALUD
HOSPITAL NACIONAL HIPÓLITO UNANUE
M.C. CARLOS ALBERTO BAZÁN ALFARO
Director General (e)
C.M.P.: 17183

TAM LUIS ALBERTO CERRA PEREIRA
FEDATARIO
Hospital Nacional Hipólito Unanue
MINISTERIO DE SALUD

14 DIC 2023

presente documento es
COPIA FIEL DEL ORIGINAL
que he tenido a la vista

CABA/EDAT
DISTRIBUCIÓN:
() D. Adjunta
() Dpto Patología Clínica y Anatomía Patológica
() CAJ
() Of. Gestión de la Calidad
() Comunicaciones
() OCI
() Archivo

HOSPITAL NACIONAL HIPOLITO UNANUE



**GUIA DE PROCEDIMIENTO ASISTENCIAL:
FROTIS DE FUENTE PRIMARIA CON
INTERPRETACIÓN, CON COLORACION
GRAM O GIEMSA O WRIGHT PARA
BACTERIAS, HONGOS O TIPOS DE CELULAS
(COLORACIÓN GRAM)**



2023





Equipo de Gestión del Hospital Nacional Hipólito Unánue

M.C. Carlos Alberto Bazán Alfaro

Director General

M.C. Carlos Alberto Bazán Alfaro

Director Adjunto

CPC. Arnaldo Rojas Altamirano

Director Administrativo

M.C. Victor Raul Arámbulo Ostos

Jefe de la Oficina de Gestión de La Calidad



Grupo Elaborador de Guía de Procedimiento Asistencial: FROTIS DE FUENTE PRIMARIA CON INTERPRETACIÓN, CON COLORACION GRAM O GIEMSA O WRIGHT PARA BACTERIAS, HONGOS O TIPOS DE CELULAS (COLORACIÓN GRAM)

M.C. PATIÑO SOTO GLADYS LEANDRA

JEFA DEL DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLINICA Y ANATOMIA PATOLOGICA

M.C. SIERRA CHAVEZ ELIZETT

JEFA DEL SERVICIO DE MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR

M.C. CHAVEZ ARIAS MAYRA LIZ

MEDICO ASISTENCIAL DEL SERVICIO DE MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR

LIC. HUALLPA PALOMINO GIANINA

LICENCIADA DE TECNOLOGIA MEDICA DEL SERVICIO DE MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR

Médico Revisor de la Oficina de Gestión de la Calidad:

M.C. Katterin Mery Guzmán Mancilla





DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERESES

Los siguientes profesionales firmantes, declaramos no tener conflicto de interés con respecto a las recomendaciones de la guía de procedimiento asistencial, no tener ningún tipo de relación financiera o haber recibido financiación alguna por cualquier actividad en el ámbito profesional académico o científico.

ELABORADOR DE GUIA DE PROCEDIMIENTO ASISTENCIAL: COLORACION GRAM	DEPARTAMENTO/SERVICIO	FIRMA
M.C. PATIÑO SOTO GLADYS LEANDRA	JEFA DEL DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLINICA Y ANATOMIA PATOLOGICA	 MINISTERIO DE SALUD HOSPITAL NACIONAL HIPOLITO UNANUE Dra. GLADYS LEANDRA PATIÑO SOTO PATOLOGA CLINICA C.M.P. 30761 R.N.E. 27992 Jefa de Departamento Patología Clínica y Anatomía Patológica
M.C. SIERRA CHAVEZ ELIZETT	JEFA DEL SERVICIO DE MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR	 MINISTERIO DE SALUD HOSPITAL NACIONAL "HIPOLITO UNANUE" Dra. Elizett Sierra Chávez JEFE DEL SERVICIO DE MICROBIOLOGIA INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR CMP 48166 RNE 27596
M.C. CHAVEZ ARIAS MAYRA LIZ	MÉDICO ASISTENCIAL DEL SERVICIO DE MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR	 MINISTERIO DE SALUD HOSPITAL NACIONAL "HIPOLITO UNANUE" Dra. Mayra Liz Chávez Arias MÉDICO ASISTENTE DE MICROBIOLOGIA CMP: 069496 RNE: 046565
LIC. HUALLPA PALOMINO JANINA	LICENCIADA DE TECNOLOGIA MEDICA DEL SERVICIO DE MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR	 Lic. Hualpa Palomino Janina Tecnólogo Médico Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica C T M P 12120



LIMA, 28 DE OCTUBRE DEL 2023





INDICE

INTRODUCCIÓN	6
I. FINALIDAD Y JUSTIFICACIÓN.....	7
II. OBJETIVOS	8
2.1. OBJETIVO GENERAL	8
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	8
III. ÁMBITO DE APLICACIÓN.....	8
IV. PROCEDIMIENTO A ESTANDARIZAR	9
V. DISPOSICIONES GENERALES	9
5.1. DEFINICIONES OPERATIVAS.....	9
5.2. CONCEPTOS BÁSICOS	10
5.3. REQUERIMIENTOS BÁSICOS	10
5.3.1. RECURSOS HUMANOS	10
5.3.2. RECURSOS MATERIALES	10
5.4. POBLACION DIANA	11
VI. DISPOSICIONES ESPECÍFICAS	11
6.1. METODOLOGÍA	11
6.2. DESCRIPCIÓN DETALLADA DE ACTIVIDADES Y PROCEDIMIENTOS.....	133
6.3. INDICACIONES.....	18
6.4. CONTRAINDICACIONES.....	188
6.5. COMPLICACIONES.....	199
6.6. RECOMENDACIONES	199
6.7. INDICADORES DE EVALUACIÓN	20
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	21
VIII. ANEXOS.....	222





INTRODUCCIÓN

Las bacterias son organismos unicelulares procariontes, esto quiere decir que están formados por una sola célula carente de núcleo. Su ácido desoxirribonucleico (ADN) se encuentra libre en el citoplasma y no tienen organelos, como las mitocondrias, cloroplastos o aparato de Golgi. A pesar de su sencilla organización celular, cuentan con una pared celular (capa de polisacáridos) que envuelve la célula proporcionándole rigidez y protección. Son tan pequeñas que es imposible verlas a simple vista, solamente cuando llegan a agruparse formando colonias es cuando las podemos reconocer. (1)

Cuentan con una pared celular, cuando las condiciones ambientales se tornan hostiles muchas bacterias forman en su interior estructuras de protección llamadas endosporas, las cuales contienen el material genético y las sustancias necesarias para poder sobrevivir. Algunas son tan resistentes que permiten a la bacteria sobrevivir a altas temperaturas e incluso a largos periodos de tiempo. (1)

Se reproducen asexualmente por medio de una forma de división celular denominada fisión binaria, que produce copias genéticamente idénticas a la célula original. En condiciones ideales, algunas bacterias se duplican en cuestión de minutos por lo que podrían en principio, dar origen a una población de millones de bacterias en poco tiempo. (1)

Para poder identificar más fácilmente a las bacterias, se utiliza una tinción diferencial, llama tinción de Gram, en la que utiliza dos colorantes y clasifica a las bacterias en dos grandes grupos:

La tinción de Gram es una prueba rápida, potente y sencilla que permite al clínico distinguir entre dos clases fundamentales de bacterias, establecer un diagnóstico inicial e iniciar el tratamiento basándose en las diferencias inherentes entre las bacterias. Las bacterias se fijan con calor o se dejan secar sobre el porta, se tiñen con violeta cristal, que es un colorante que se precipita con yodo, y después se elimina el exceso de

GUÍA DE PROCEDIMIENTO ASISTENCIAL: FROTIS DE FUENTE PRIMARIA CON INTERPRETACIÓN, CON COLORACION GRAM O GIEMSA O WRIGHT PARA BACTERIAS, HONGOS O TIPOS DE CELULAS (COLORACIÓN GRAM)





colorante y el no ligado lavando el porta con un decolorante cuya base es la acetona y con agua. Se añade después un contracontraste rojo, la safranina, para teñir las células decoloradas. Las bacterias grampositivas se tiñen de morado porque el colorante queda atrapado en una gruesa capa de peptidoglucanos a modo de malla entrelazada, que rodea a la célula. Las bacterias gramnegativas tienen una capa de peptidoglucanos delgada que no retiene el violeta cristal, de forma que las células se tiñen con la safranina empleada como contra contraste y se ven rojas. (2)

I. FINALIDAD Y JUSTIFICACIÓN

FINALIDAD

La presente Guía de Procedimiento Asistencial, tiene por finalidad estandarizar el procedimiento de la prueba coloración Gram, así como dar a conocer la importancia de las fases preanalítica, analítica y postanalítica en esta prueba.

JUSTIFICACIÓN

Los principios de la tinción de Gram están basados en la composición y estructura de la pared celular de las bacterias, la cual le confiere propiedades determinantes a cada microorganismo. La tinción Gram se basa en colocar como colorante primario cristal violeta, el cual se une a la pared celular bacteriana ya que tiene afinidad con el peptidoglucano de ésta. Posteriormente, se coloca lugol, el cual funciona como mordiente, es decir, para la unión o fijación del colorante e impide la salida del cristal violeta de algunas especies de bacterias, incluso luego del tratamiento con un decolorante, debido a la formación de un complejo cristal violeta-lugol que satura los espacios del peptidoglucano de la pared bacteriana. Posteriormente, se coloca una mezcla de alcohol acetona, la cual deshidrata la pared bacteriana y cierra los poros de ésta, así como también destruye la membrana externa de las bacterias Gram negativas debido a que ésta es soluble a la acción de disolventes orgánicos, como la mezcla de alcohol acetona. Las bacterias Gram positivas, al contener una gran cantidad de peptidoglucano, retienen con mayor fuerza este complejo, mientras que las Gram negativas no lo pueden retener por tener menos cantidad de peptidoglucano en





su pared. Por último, se coloca safranina, la cual funciona como colorante secundario o de contratación y sirve para teñir las bacterias que no pudieron retener el complejo cristal violeta-lugol. Para ello es importante que el personal tenga en cuenta las condiciones preanalíticas de la prueba (fijación de la muestra, coloración y decoloración), y se realice el procedimiento analítico de acuerdo con el Manual de procedimientos vigente.

II. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GENERAL

Contar con una Guía actualizada de Procedimiento Asistencial de la prueba de coloración Gram, para que el personal del Laboratorio de Microbiología realice un procedimiento estandarizado, permitiendo una adecuada coloración, y con esto conllevar a una correcta identificación de los microorganismos causantes de infecciones, para el logro de un tratamiento oportuno y eficaz en los pacientes que acudan a nuestra Institución.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Describir el procedimiento preanalítico, analítico y posanalítico de la prueba de coloración Gram que se realiza en el Laboratorio de Microbiología.
- Difundir la Guía de procedimiento asistencial de la prueba de coloración Gram, a todo el personal asistencial del Hospital Nacional Hipólito Unanue.



III. ÁMBITO DE APLICACIÓN

La presente Guía de Procedimiento Asistencial es de aplicación y cumplimiento obligatorio en el Laboratorio de Microbiología del Servicio de Microbiología, Inmunología y Biología Molecular, así mismo es de aplicación en las diferentes





áreas asistenciales de hospitalización, emergencia y consulta externa, del Hospital Nacional Hipólito Unanue.

IV. PROCEDIMIENTO A ESTANDARIZAR

FROTIS DE FUENTE PRIMARIA CON INTERPRETACIÓN, CON COLORACION GRAM O GIEMSA O WRIGHT PARA BACTERIAS, HONGOS O TIPOS DE CELULAS (COLORACIÓN GRAM)

CODIGO: 87205

V. DISPOSICIONES GENERALES

5.1. DEFINICIONES OPERATIVAS

La tinción o coloración: Es un método sencillo para incrementar el contraste entre la célula y su entorno y por lo tanto contribuye a mejorar la imagen observada. En Microbiología todas las tinciones se realizan a partir de suspensiones de microorganismos extendidas en un portaobjetos (frotis), secadas y fijadas. (3)

Extensión: Se define un extendido sobre un portaobjeto, dicho extendido se puede realizar de un cultivo microbiano en medio solido o de un cultivo bacteriano en medio líquido. (3)

Fijación: Toda muestra biológica colocada sobre un portaobjetos, debe pasar por el proceso de fijación a fin de permanecer fijada al portaobjetos, durante el proceso de tinción y/o coloración. (3)

Lavado: Se define como la eliminación con agua corriente del exceso de colorante sobre la muestra fijada en un portaobjeto. (3)

Bacteria Gram positiva: Se define como una bacteria que contiene una capa gruesa de peptidoglucano con numerosos enlaces cruzados de ácido teicoico. (4)

Bacteria Gram negativa: Se define como una bacteria que contiene una capa delgada con menos cantidad de peptidoglucano. (4)

Cristal violeta: Colorante catiónico que penetra en todas las células bacterianas (tanto Gram positivas como Gram negativas) a través de la pared bacteriana. (5)

Lugol: mordiente, haciendo que el cristal violeta se fije con mayor intensidad a la pared de la célula bacteriana. (5)





Alcohol acetona: Se define como decolorante, ya que en la misma es soluble el complejo I₂/cristal violeta (5)

Safranina: Colorante biológico, de contraste que se utiliza en la Tinción de Gram para proporcionar un color violeta más intenso a las bacterias Gram+ y tiñe de rosa a las bacterias G-. (5)

5.2. CONCEPTOS BÁSICOS

La tinción de Gram: Es una prueba para la detección de bacterias en el lugar donde se sospecha una infección. (6) Es definida como una tinción diferencial, ya que utiliza dos colorantes y clasifica a las bacterias en dos grandes grupos: bacterias Gram negativas y bacterias Gram positivas. (7)

5.3. REQUERIMIENTOS BÁSICOS

5.3.1. RECURSOS HUMANOS

- Técnico de Laboratorio
- Tecnólogo Médico en Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica
- Médico Patólogo Clínico

5.3.2. RECURSOS MATERIALES

❖ APARATOS Y EQUIPOS

- Microscopio
- Cronometro digital

❖ MATERIAL

- Asa bacteriológica
- Portaobjetos
- Mechero Bunsen con manguera
- Piseta
- Goteros para cada reactivo
- Encendedor
- Gradilla





❖ REACTIVOS

- Solución de cristal violeta
- Solución de yodo
- Solución de alcohol acetona
- Safranina
- Aceite de inmersión
- Agua

5.4. POBLACION DIANA

Población de todos los grupos etarios a quienes se les solicite la prueba de coloración Gram.

VI. DISPOSICIONES ESPECÍFICAS

6.1. METODOLOGÍA

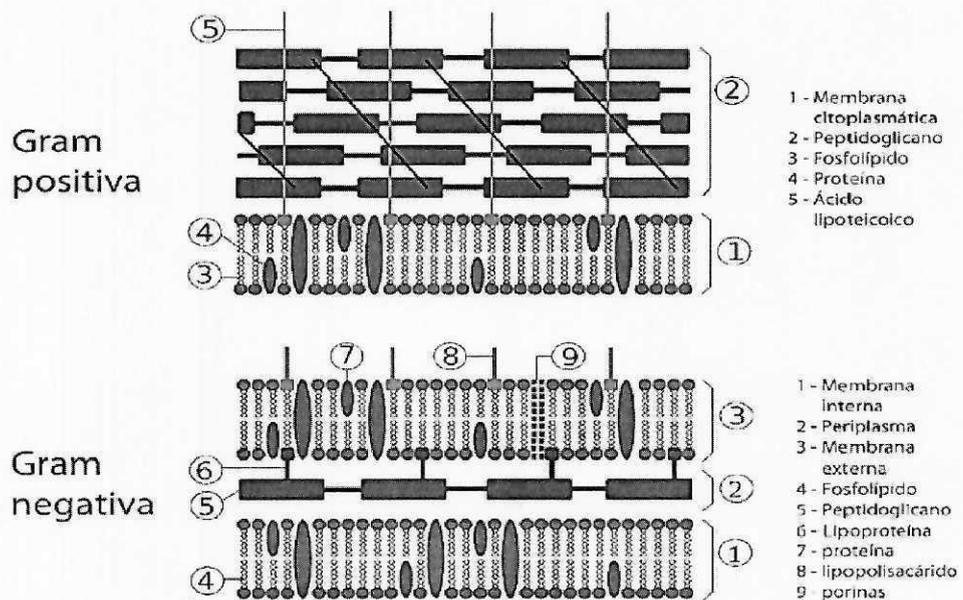
- Se Realizó la búsqueda bibliográfica del término “tinción de la coloración Gram” en los siguientes motores de búsqueda, scielo y el libro. Las tinciones básicas en el Laboratorio de Microbiología: Un enfoque gráfico Roberto C. González Meléndez, Briseida Elizalde Cuevas, Marian Estefanía Cortés Cruz, Manuel Orduña Sánchez

Se encontró lo siguiente:

Hay mucha evidencia que indica que la localización de la reacción de Gram se encuentra en la pared celular. Si los organismos se tiñen con una solución acuosa simple de un colorante básico como la safranina, solo se tiñe el citoplasma. En este caso los organismos teñidos aparecen con espacios incoloros entre ellos, estos espacios son, por supuesto, las paredes celulares no teñidas de los organismos. Los colorantes con los que se cuenta para obtener los mejores resultados en dicha tinción son los colorantes de tetra-, penta- y hexametilparosanilina, así como el metilo de violeta y el cristal violeta. Así mismo, el yodo es por mucho el mejor mordente, los sustitutos más satisfactorios de ser agentes



oxidantes capaces de formar capas con cristal violeta. Al agregar soluciones de yodo a los colorantes recomendados, las capas de color intenso y de estructura desconocida son altamente insolubles en agua y solo son moderadamente solubles en alcoholes de bajo peso molecular. En la reacción de Gram, el yodo se debe aplicar después del colorante, ya que, si las células se exponen al mordente y luego se aplica el colorante, la decoloración será similar para los organismos Gram negativos y los Gram positivos.



Hay bacterias de un mismo género que pueden observarse en la misma muestra como Gram positivas y como Gram negativas, a este evento se le llama tinción Gram variable secundaria a alteración en nutrientes, temperatura, pH o concentración de electrolitos. No todas las bacterias se pueden teñir por esta técnica, ya que carecen de pared celular (micoplasma) o su pared celular tiene una composición química diferente (micobacterias, que cuentan con una gran cantidad de ácidos micólicos). Las muestras útiles para su uso son líquidos estériles, biopsias para cultivo, abscesos, hisopados, crecimiento de colonias aisladas en medios de cultivo.



6.2. DESCRIPCIÓN DETALLADA DE ACTIVIDADES Y PROCEDIMIENTOS

PROCEDIMIENTO PREANALITICO: RECEPCION DE LA MUESTRA

A CARGO DEL TÉCNICO DE LABORATORIO:

El personal Técnico de Laboratorio de Microbiología, recepciona la muestra, quien a su vez debe realizar las siguientes actividades:

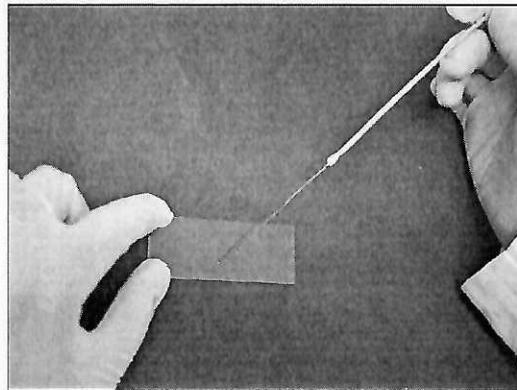
- A. Anotar la fecha y hora de recepción de la muestra.
- B. Registrar el ingreso de la muestra al servicio en el sistema informático de laboratorio (Labcore).
- C. Registrar los datos de filiación del paciente en el sistema Whonet.
- D. Consultar con médico patólogo clínico de existir alguna muestra que no cumpla con los criterios de aceptación antes de ser rechazada.

PROCEDIMIENTO ANALITICO:

A CARGO DEL PROFESIONAL TECNOLOGO MEDICO:

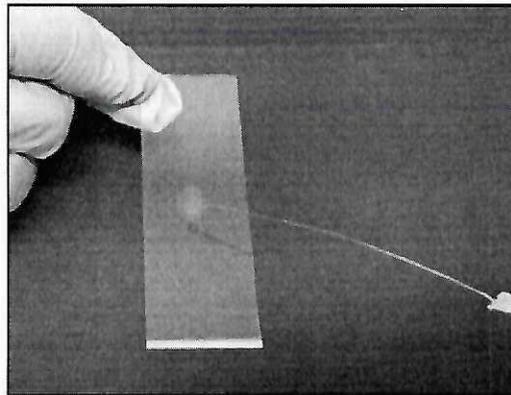
A. El personal Tecnólogo Médico, realiza el procedimiento de tinción Gram. El procedimiento básicamente consta de lo siguiente:

1. Colocar en el portaobjetos una microgota de agua

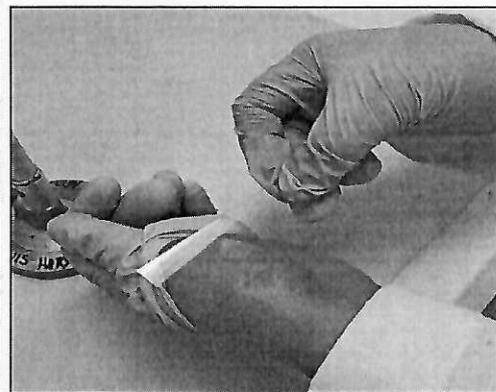
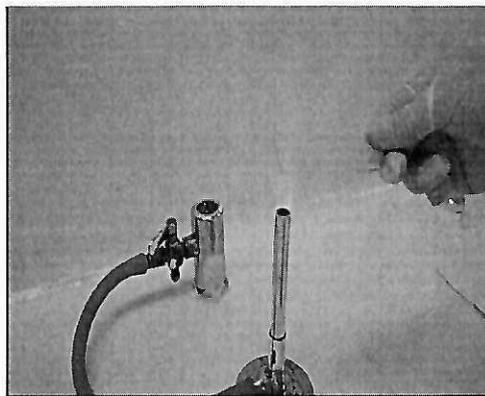


2. Realizar una extensión con el material a estudiar y homogeneizar con ayuda del asa bacteriológica

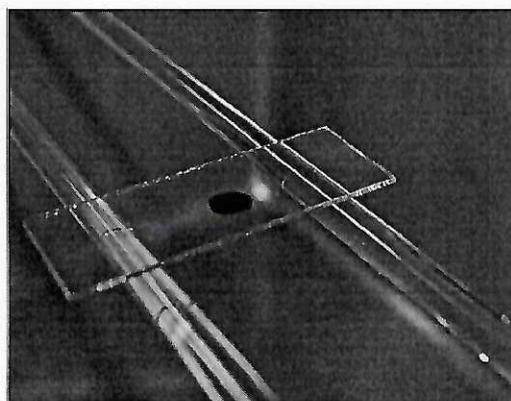




3. Fijar el frotis con calor pasando el portaobjetos de 3 a 4 veces por encima de la llama del mechero Bunsen, cuidando que no se exceda la temperatura de exposición al calor, empleando como referencia que el calor del portaobjetos pueda ser tolerable para la parte interna de la mano.

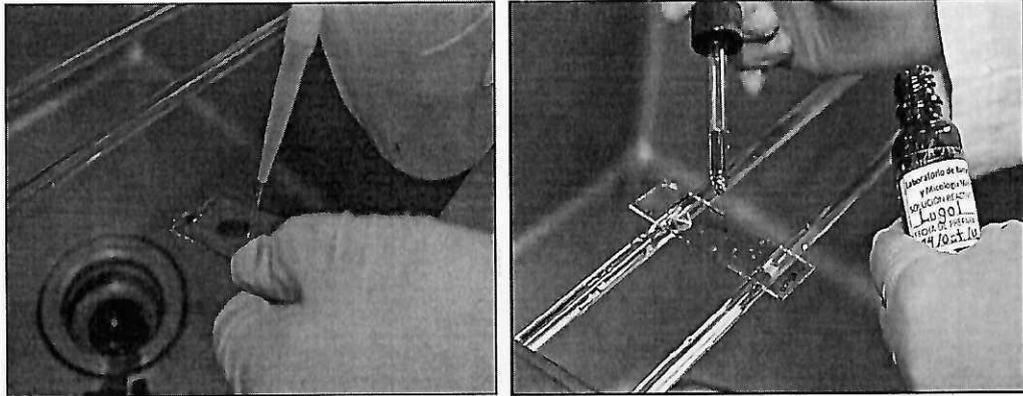


4. Añadir la solución de cristal violeta hasta cubrir la muestra (área del frotis) y se deja actuar durante 10 s

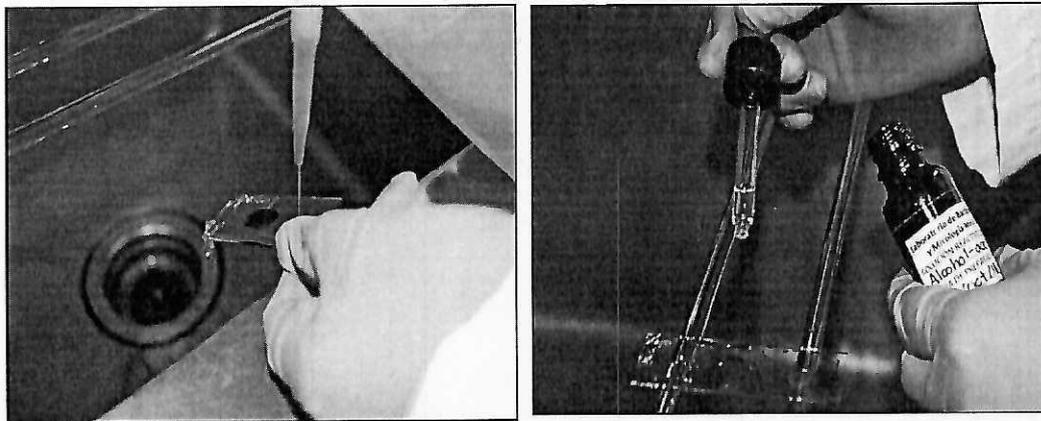


5. Lavar el portaobjetos, se cubre la preparación con lugol y se

deja actuar durante 10 s, antes de la decoloración con acetona.



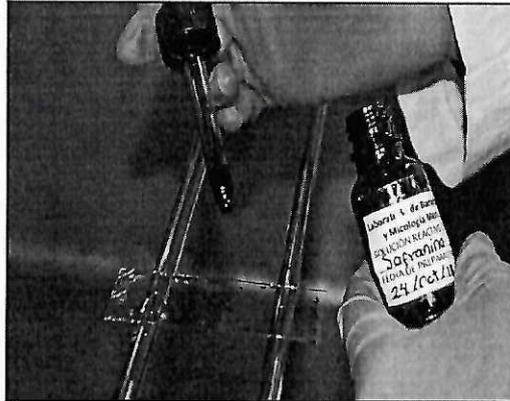
6. Lavar el exceso de yodo. Añadir las gotas suficientes de alcohol acetona, hasta decolorar (o máximo 10 s).



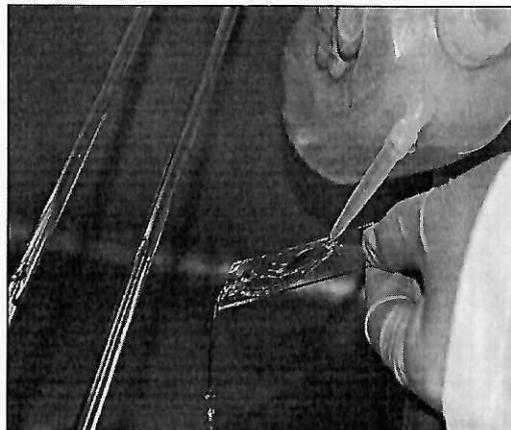
7. Lavar inmediatamente el portaobjetos con agua mediante el chorro de una pisseta.



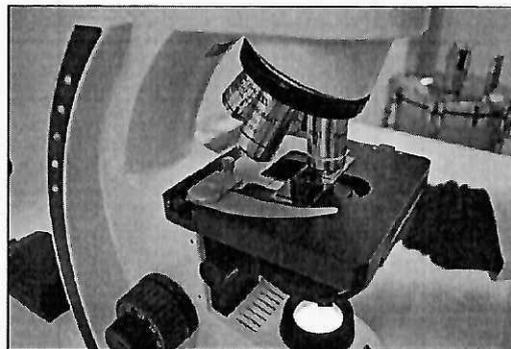
8. Aplicar el colorante de contraste safranina cubriendo la muestra, durante 10 s.



9. Lavar con agua mediante el chorro de una piseta y dejar secar al aire.



10. Observar al microscopio con objetivos de 40X y 100X.



- B. Control de Calidad de colorantes.

A CARGO DEL MEDICO PATOLOGO CLINICO:

- A. Supervisión del adecuado procesamiento de la tinción Gram.
B. Supervisión de aplicación adecuada del control de calidad.





C. Comunicación y coordinación con las áreas asistenciales de la Institución en caso de dudas o información clínica necesaria que pudiera impactar en el resultado o en la interpretación de los resultados de la tinción Gram.

PROCEDIMIENTO POSTANALITICO

A CARGO DEL PERSONAL TECNOLOGO MEDICO

El profesional Tecnólogo Médico, reporta el resultado de la tinción Gram al sistema Whonet e imprime dicho reporte.

A CARGO DEL PERSONAL TECNICO DE LABORATORIO

El Técnico de Laboratorio transcribe el reporte del Tecnólogo Médico al sistema informático de laboratorio (Labcore).

A CARGO DEL MEDICO PATOLOGO CLINICO

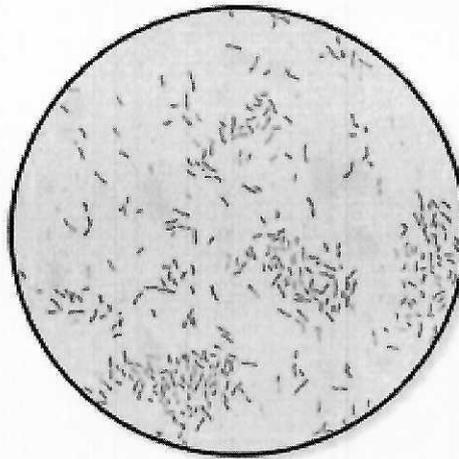
Validación del reporte de la prueba tinción Gram transcrito en el sistema informático Labcore y emisión del informe final.

La validación de la prueba de tinción Gram, requiere de la interpretación de los resultados obtenidos en el laboratorio de microbiología con la información clínica del paciente (obtenida a través de los formatos de solicitud, comunicación con el médico tratante o revisión de la historia clínica).

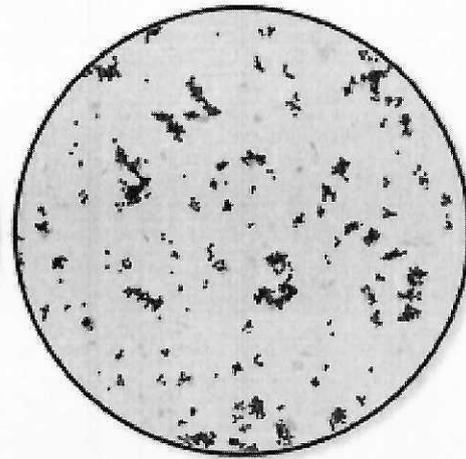
CON RESPECTO A LA INTERPRETACION:

Al final de la realización de esta técnica, los microorganismos Gram positivos se observarán de color azul-violeta y los Gram negativos de color rojo-rosa





Gramnegativas



Grampositivas

6.3. INDICACIONES

- Las bacterias teñidas con Gram deben verse con un microscopio de campo claro con un aumento de 100X con aceite de inmersión. Si el frotis de células está abarrotado, será difícil observar la forma y disposición de las células. (9)
- Cuando vea alguna forma de microorganismo, use microscopía de campo claro y ajuste el brillo suficiente para revelar el color de la muestra. (9)
- La prueba de hilos de KOH se puede utilizar como prueba de confirmación para la tinción de Gram: la formación de hilos (ADN) en KOH al 3 % indica que el aislado es un organismo gramnegativo. (9)

Procedimiento:

- Coloque una gota de KOH al 3% en un portaobjetos de vidrio. Emulsionar en KOH un asa del cultivo de un BA incubado durante 18-24 horas. Continúe mezclando la suspensión durante 60 segundos y, levantando lentamente el bucle, observe la formación de una cuerda. Las células gramnegativas forman una cadena en 60 segundos mientras que las células grampositivas no se ven afectadas.



6.4. CONTRAINDICACIONES

- Los resultados de la tinción de Gram, incluida la morfología del organismo, pueden verse afectados por la antigüedad del aislado, las bacterias que contienen sistemas enzimáticos autolíticos, los cultivos





transferidos de medios con antibióticos, además de muestras recogidas de pacientes que reciben tratamiento con antibióticos. (10)

- El material de fondo y los artefactos también pueden interferir con la interpretación. (10)
- Cualquier tratamiento anterior con antibióticos puede hacer que organismos Gram positivos de una muestra aparezcan como Gram negativos. (10)
- La reacción de tinción de Gram se ve afectada por la alteración física de la pared celular bacteriana o protoplasto. Las paredes celulares de las bacterias Gram positivas interponen una barrera que evita la absorción del complejo colorante desde el citoplasma. Las paredes celulares de las bacterias Gram negativas contienen lípidos solubles en disolventes orgánicos, que luego se liberan para descolorar el citoplasma. Por consiguiente, un microorganismo físicamente alterado por exceso de calor no reacciona a la tinción de Gram de la manera prevista. (10)
- La tinción de Gram proporciona información de identificación primaria solamente, y no está diseñada para sustituir los estudios de cultivo de la muestra. Los resultados de tinción de Gram deben confirmarse con procedimientos adicionales tales como análisis directo de antígenos y cultivos de los medios. (10)

6.5. COMPLICACIONES

No aplica

6.6. RECOMENDACIONES

- Todos los lavados se deben realizar con una piseta o con un chorro fino de agua evitando que caiga directamente sobre el frotis y este se dañe. Además, el enjuague excesivo puede provocar que el colorante se lave de las células. Se debe respetar el orden correcto entre los pasos. Si por error se coloca primero la solución de yodo en vez del cristal violeta, la decoloración será similar para gram negativos y gram positivos. (8)
- Antes de agregar alcohol-acetona se recomienda agitar el portaobjetos para eliminar la mayor cantidad de agua posible. Si no se elimina el exceso de agua y se agrega el alcohol-acetona, este puede diluirse lo que ocasiona que reaccione más rápido de lo normal. (8)
- El tiempo de decoloración se debe ajustar de acuerdo al grosor del frotis evitando decoloraciones insuficientes o excesivas. Una decoloración insuficiente conlleva a resultados gram positivos en bacterias gram negativas y una decoloración excesiva hacer parecer a una bacteria gram positiva en gram negativa o gram variable. (8)





- Evitar dejar actuar al colorante de contratinción más de 30 segundos ya que esto podría desplazar el complejo cristal violeta-yoduro de la pared celular de las bacterias gram positivas. (8)
- Se recomiendan reactivos de tinción recién preparados. Reactivos con tinción más antigua, filtre las manchas antes de usar. (9)
- Se aconseja el uso de cultivos de 18 – 24 h para obtener resultados óptimos, dado que las células recientes tienen una mayor afinidad que las células de más antigüedad para la mayoría de los colorantes. Esto se aplica en especial al caso de las bacterias formadoras de esporas, que son fuertemente Gram positivas cuando se las examina en cultivos recientes, pero que luego se vuelven Gram-variables o Gram positivas

6.7. INDICADORES DE EVALUACIÓN

- Medición de la cantidad de pruebas de test de Graham que se procesa en comparación del resto de pruebas del Laboratorio de Microbiología. (Ver Anexo 03).





VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. GARCIA ALAMO M. Síntesis de recubrimientos de ZnO dopados con Ag con propiedades antibacteriales. MÉXICO, D. F.: INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL. 2013. Disponible en: <https://tesis.ipn.mx/jspui/bitstream/123456789/17353/1/25-1-16735.pdf>
2. Murray P, Rosenthal K, Pfaller M. Microbiología médica. 8a ed. España: Elseiver España; 2017.
3. Gladis J., Horianski M., Castrillo L., Chade M., GUÍA DE PRÁCTICAS DE LABORATORIO. 2da. Ed. Argetina: Editorial Universitaria Universidad Nacional de Misiones. 2019. Disponible en: <https://editorial.unam.edu.ar/index.php/component/hikashop/product/354-guia-de-practicas-de-laboratorio-1%C2%B0-cuatrimestre-2da-ed>
4. Procop G, Church D, Hall G, Janda W, Koneman E, Schreckenberger P, Woods G. Diagnóstico microbiológico. 7a ed. España: Wolters Kluwer; 2018.
5. Ducon, V. & Rincón, J. Modelado e implementación de la tinción de gram. [Internet]. 2010. [citado: 2023, agosto] Disponible en: <http://hdl.handle.net/10554/7011>
6. Tinción de Gram [Internet]. Medlineplus.gov. [citado el 9 de agosto de 2023]. Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/pruebas-de-laboratorio/tincion-de-gram/>
7. Esaú López-Jácome L, Hernández-Durán M, Colín-Castro CA, Ortega-Peña S, Cerón-González G, Franco-Cendejas R, et al. Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología [Internet]. Medigraphic.com. [citado el 9 de agosto de 2023]. Disponible en: https://www.medigraphic.com/pdfs/invd/ir-2014/ir141b.pdf?fbclid=IwAR3z9_ljzoGBF2taww_xeAuX2t1Ck
8. Jimena M, Bado C. La importancia de realizar una correcta tinción de Gram en la identificación bacteriana [Internet]. Microbiologos.cr. [citado el 10 de agosto de 2023]. Disponible en: <http://revista.microbiologos.cr/wp->
9. Smith AC, Hussey MA. Gram stain protocols [Internet]. Asm.org. [citado el 13 de agosto de 2023]. Disponible en: <https://asm.org/getattachment/5c95a063-326b-4b2f-98ce-001de9a5ece3/gram-stain-protocol-2886.pdf>
10. Rev from rev to JOB # [Internet]. Legacy.bd.com. [citado el 13 de agosto de 2023]. Disponible en: <https://legacy.bd.com/resource.aspx?IDX=19184>





PERÚ

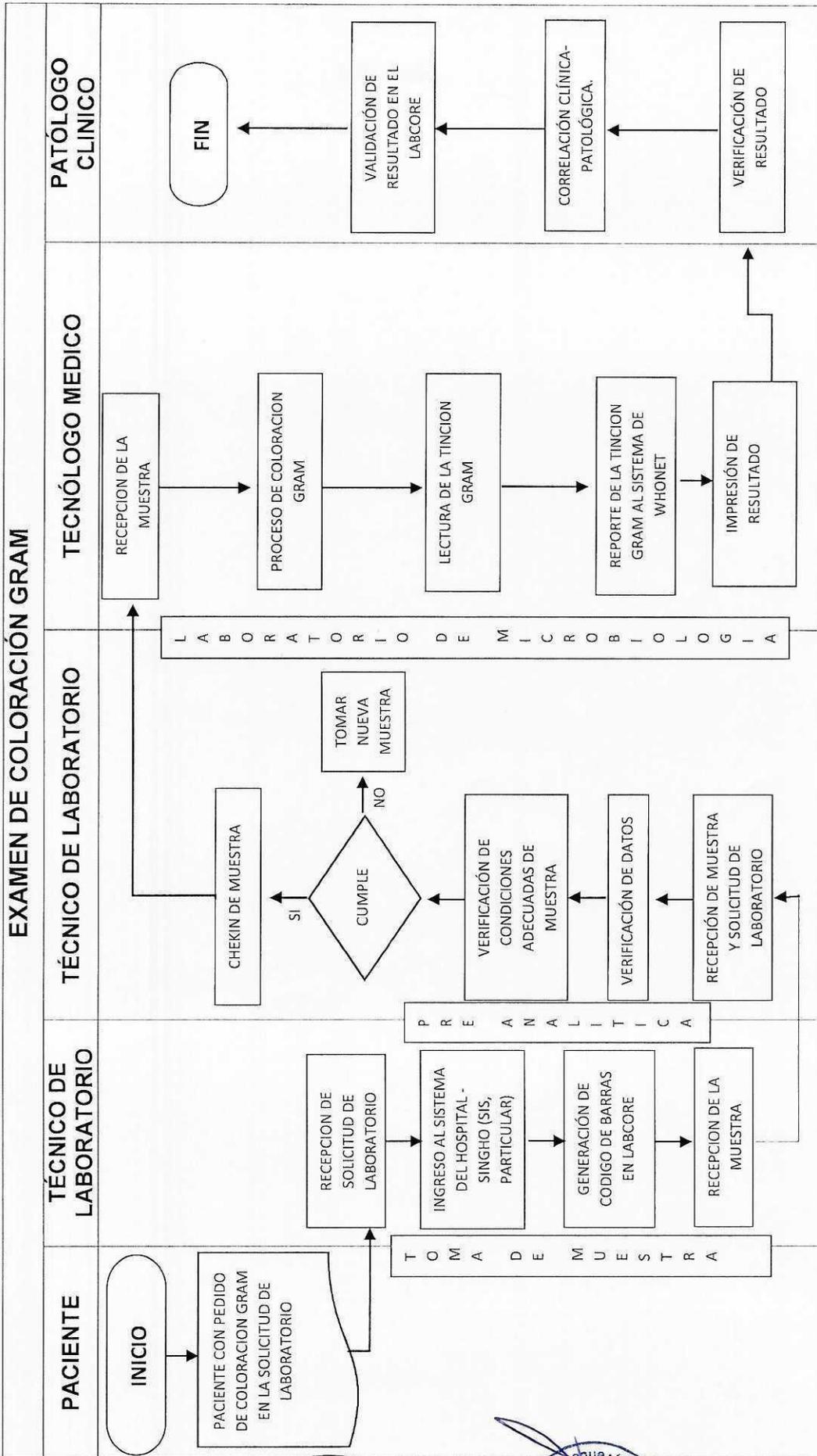
Ministerio de Salud

Hospital Nacional Hipólito Unanue

Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica
Servicio de Microbiología, Inmunología y Biología Molecular
Laboratorio de Microbiología



VIII. ANEXOS





PERÚ

Ministerio de Salud

Hospital Nacional Hipólito Unanue

Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica
Servicio de Microbiología, Inmunología y Biología Molecular
Laboratorio de Microbiología

ANEXO 02

Coloración de Gram. Pasos de la tinción en base a cada uno de los productos que emplea y a la reacción y coloración que va produciendo en las bacterias

Paso de la Tinción	Producto que se emplea	Reacción y coloración de las bacterias	
		GRAM (+)	GRAM (-)
Colorante básico o primario	Cristal violeta (CV)	Bacterias color violeta	Bacterias color violeta
Mordiente	LUGOL (solución yodada)	Se forma el complejo CV-Yodo. Las bacterias continúan teñidas de violeta.	Se forma el complejo CV-Yodo. Las bacterias continúan teñidas de violeta.
Decoloración	Alcohol Acetona	Se deshidratan las paredes celulares. Se contraen los poros. Disminuye la permeabilidad. El complejo CV-I no sale de las células que continúan teñidas de color violeta.	Eliminación por extracción de los lípidos de las paredes celulares (LPS de ME). Aumenta la porosidad. El complejo CV-I se separa de la célula.
Colorante de Contraste	Fucsina básica o Safranina	Células no decoloradas, quedan teñidas de color violeta del colorante básico o primario	Células decoloradas, se tiñen de color rosado con el colorante de contraste o secundario.

Fuente: Desarrollado por Jerke Gladis, 2005.





PERÚ

Ministerio
de Salud

Hospital Nacional Hipólito Unanue

Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica
Servicio de Microbiología, Inmunología y Biología Molecular
Laboratorio de Microbiología

ANEXO 03

TASA DE SOLICITUD DE PRUEBAS DE COLORACION GRAM	
CONCEPTO / DEFINICION	Medición de la cantidad de pruebas de Coloración Gram que se procesa en comparación del resto de pruebas del Laboratorio de Microbiología.
OBJETIVO	Determinar el porcentaje de pruebas de Coloración Gram que se procesa del total de pruebas que procesa el Servicio de Microbiología
FORMULA DE CALCULO	$\frac{\text{N}^\circ \text{ de pruebas de Coloración Gram procesadas en Microbiología} \times 100}{\text{N}^\circ \text{ total de pruebas procesadas en el Laboratorio de Microbiología}}$
FUENTE DE DATOS	Estadística mensual del Laboratorio de Microbiología
PERIODICIDAD	Mensual.
INTERPRETACION	Frecuencia de solicitud de las pruebas de Coloración Gram del HNHU
ESTANDAR	$\geq 25 \%$





PERÚ

Ministerio de Salud

Hospital Nacional Hipólito Unanue

Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica
Servicio de Microbiología, Inmunología y Biología Molecular
Laboratorio de Microbiología

ANEXO 4

DESCRIPCION DE PROCEDIMIENTO ASISTENCIAL

Hospital Nacional Hipólito Unanue	DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLINICA LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA	Versión 1 OCTUBRE-2023
	COLORACION GRAM CPMS: 87205	
Definición: Tinción diferencial donde se utiliza dos colorantes clasificando las bacterias en dos grandes grupos: bacterias Gram (-) y bacterias Gram (+).		
Objetivo: Procedimiento de tinción Gram.		
Requisitos: 1. Solicitud de examen adecuadamente llenada, con firma y sello del médico solicitante, con visto bueno de la Oficina de Seguros o recibo de pago.		
N° Actividad	Descripción de actividades	Responsable
PROCEDIMIENTO PREANALITICO: RECEPCION DE LA MUESTRA:		
A CARGO DEL PERSONAL TÉCNICO DE LABORATORIO		
A	Verificar que cumpla criterios de aceptación de la muestra.	Técnico de Laboratorio
B	Anotar la fecha y hora de recepción de la muestra.	Técnico de Laboratorio
C	Registrar el ingreso de la muestra en el cuaderno de recepción de muestras.	Técnico de Laboratorio
D	Registrar el ingreso de la muestra al servicio en el sistema informático de laboratorio (Labcore).	Técnico de Laboratorio
E	Registrar los datos del paciente en el sistema Whonet.	Técnico de Laboratorio
F	Consultar con médico patólogo clínico de existir alguna muestra que no cumpla con los criterios de aceptación antes de ser rechazada.	Técnico de Laboratorio
A CARGO DEL PERSONAL MEDICO PATOLOGO CLINICO		
A	Supervisión de actividades del personal Técnico de Laboratorio encargado de recepción de la muestra.	Médico Patólogo Clínico
PROCEDIMIENTO ANALITICO: ANALISIS DE UROCULTIVO		
A CARGO DEL PERSONAL TECNOLOGO MEDICO		
A	Control de calidad de los reactivos, coloraciones.	Tecnólogo Médico





B	Colocar en el portaobjetos una microgota de agua.	Tecnólogo Médico
C	Realizar una extensión con el material a estudiar y homogenizar con ayuda del asa bacteriológica.	Tecnólogo Médico
D	Fijar el frotis con calor pasando el portaobjetos de 3 a 4 veces por encima de la llama del mechero Bunsen, cuidando que no se exceda la temperatura de exposición al calor, empleando como referencia que el calor del portaobjetos pueda ser tolerable para la parte interna de la mano.	Tecnólogo Médico
E	Añadir la solución de cristal violeta hasta cubrir la muestra (área de frotis) y se actuar durante 10 segundos.	Tecnólogo Médico
F	Lavar el portaobjetos, se cubre la preparación con lugol y se deja actuar durante 10 segundos, antes de la decoloración con acetona.	Tecnólogo Médico
G	Lavar el exceso de yodo. Añadir las gotas suficientes de alcohol acetona, hasta decolorar (o máximo 10 segundos).	Tecnólogo Médico
H	Lavar inmediatamente el portaobjetos con agua mediante el chorro de una pisetá.	Tecnólogo Médico
I	Aplicar el colorante de contraste safranina cubriendo la muestra, durante 10 segundos.	Tecnólogo Médico
J	Lavar con agua mediante el chorro de una pisetá y dejar secar al aire.	Tecnólogo Médico
K	Observar el microscopio con objetivos de 40x y 100x.	Tecnólogo Médico
A CARGO DEL PERSONAL PATÓLOGO CLÍNICO:		
A	Supervisión del adecuado procesamiento de la coloración Gram	Patólogo Clínico
B	Supervisión de aplicación adecuada del control de calidad que se realiza a reactivos, colorantes.	Patólogo Clínico
C	Comunicación y coordinación con las distintas áreas asistenciales de la Institución en caso necesitar información clínica adicional que pudiera impactar en el resultado, así como en caso de necesitar la toma de una nueva muestra.	Patólogo Clínico
PROCEDIMIENTO POSTANALITICO: REPORTE, VALIDACION, ESTADISTICA		
A CARGO DEL PERSONAL TECNOLOGO MEDICO		
A	El profesional Tecnólogo Médico, reporta el resultado del procedimiento de la coloración Gram al sistema informático Whonet y realiza la impresión de dicho reporte.	Tecnólogo Médico
A CARGO DEL PERSONAL TECNICO DE LABORATORIO		





A	El Técnico de Laboratorio transcribe el reporte del Tecnólogo Médico al sistema informático de laboratorio (Labcore).	Técnico de Laboratorio
A CARGO DEL MEDICO PATOLOGO CLINICO		
A	Validación del reporte de la tinción Gram del sistema informático Labcore y emisión del informe final.	Patólogo Clínico
B	Informe de resultado al médico tratante, en caso de valor crítico. Para realizar la valoración del estado clínico del paciente.	Patólogo Clínico





Hospital Nacional Hipólito Unanue
 Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica
 Servicio de Microbiología, Inmunología y Biología Molecular
 Laboratorio de Microbiología

ANEXO 05

FACTORES DE PRODUCCION DEL PROCEDIMIENTO POR ACTIVIDAD

Descripción de actividades	RR.HH	Insumos		Equipamiento	Infraestructura (ambiente)	Tiempo
		Fungible	No fungible			
PROCEDIMIENTO PREANALITICO						
A CARGO DEL PERSONAL TECNICO DE LABORATORIO						
RECEPCION DE LA MUESTRA						
A. Verificar que cumpla criterios de aceptación de la muestra.	Técnico de Laboratorio				Laboratorio de Microbiología	1 min
B. Anotar la fecha y hora de recepción de la muestra.	Técnico de Laboratorio					30 seg
C. Registrar el ingreso de la muestra en el cuaderno de recepción de muestras.	Técnico de Laboratorio		Cuaderno, Lapicero		Laboratorio de Microbiología	30 seg
D. Registrar el ingreso de la muestra al servicio en el sistema informático de laboratorio (Labcore).	Técnico de Laboratorio			Computadora	Laboratorio de Microbiología	1 min
E. Registrar los datos de filiación del paciente en el sistema Whonet.	Técnico de Laboratorio			Computadora	Laboratorio de Microbiología	1 min
F. Consultar con médico patólogo clínico de existir alguna muestra que no cumpla con los criterios de aceptación antes de ser rechazada.	Técnico de Laboratorio				Laboratorio de Microbiología	1 min
A CARGO DEL MEDICO PATOLOGO CLINICO						
A. Supervisión de actividades del personal Técnico de Laboratorio	Patólogo Clínico		Lapicero	Computadora	Laboratorio de Microbiología	5 min





PERÚ

Ministerio de Salud

Hospital Nacional Hipólito Unanue

Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica
Servicio de Microbiología, Inmunología y Biología Molecular
Laboratorio de Microbiología

encargado de recepción de la muestra.							
PROCEDIMIENTO ANALITICO							
ANALISIS DE UROCULTIVO:							
A CARGO DEL PERSONAL TECNOLOGO MEDICO							
A.	Control de calidad de los reactivos, colorantes.	Tecnólogo Médico	Cristal violeta, lugol, alcohol acetona, safranina			Laboratorio de Microbiología	8-10 min.
B.	Colocar en el portaobjetos una microgota de agua.	Tecnólogo Médico		Portaobjetos		Laboratorio de Microbiología	5 seg.
C.	Realizar una extensión con el material a estudiar y homogenizar con ayuda del asa bacteriológica.	Tecnólogo Médico	Asa bacteriológica			Laboratorio de Microbiología	5 seg.
D.	Fijar el frotis con calor pasando el portaobjetos de 3 a 4 veces por encima de la llama del mechero Bunsen, cuidando que no se exceda la temperatura de exposición al calor, empleando como referencia que el calor del portaobjetos pueda ser tolerable para la parte interna de la mano.	Tecnólogo Médico		Mechero Bunsen		Laboratorio de Microbiología	10 seg.
E.	Añadir la solución de cristal violeta hasta cubrir la muestra (área de frotis) y se actuar.	Tecnólogo Médico			Cristal violeta	Laboratorio de Microbiología	90 seg.
F.	Lavar el portaobjetos, se cubre la preparación con lugol y se deja actuar.	Tecnólogo Médico		Piseta	Lugol	Laboratorio de Microbiología	4 min.
G.	Lavar el exceso de yodo. Añadir las gotas suficientes de alcohol acetona, hasta decolorar.	Tecnólogo Médico		Piseta	Alcohol acetona	Laboratorio de Microbiología	20 seg.





PERÚ

Ministerio de Salud

Hospital Nacional Hipólito Unanue

Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica
Servicio de Microbiología, Inmunología y Biología Molecular
Laboratorio de Microbiología

H. Lavar inmediatamente el portaobjetos con agua mediante el chorro de una piseta.	Tecnólogo Médico	Piseta	Laboratorio de Microbiología	10 seg.
I. Aplicar el colorante de contraste safranina cubriendo la muestra.	Tecnólogo Médico	Safranina	Laboratorio de Microbiología	90 seg.
J. Lavar con agua mediante el chorro de una piseta y dejar secar al aire.	Tecnólogo Médico	Piseta	Laboratorio de Microbiología	10 seg.
K. Observar el microscopio con objetivos de 40x y 100x.	Tecnólogo Médico	Microscopio,	Laboratorio de Microbiología	1 min.

A CARGO DEL PERSONAL PATÓLOGO CLÍNICO:

A. Supervisión del adecuado procesamiento de la coloración Gram realizado por el personal programado.	Patólogo Clínico	Lapicero	Laboratorio de Microbiología	10 min
B. Supervisión de aplicación adecuada del control de calidad que se realiza a reactivos, colorantes.	Patólogo Clínico	Lapicero	Laboratorio de Microbiología	8 – 10 min
C. Comunicación y coordinación con las distintas áreas asistenciales de la Institución en caso necesitar información clínica adicional que pudiera impactar en el resultado, así como en caso de necesitar la toma de una nueva muestra.	Patólogo Clínico	Lapicero	Laboratorio de Microbiología	10 min

PROCEDIMIENTO POSTANALITICO:

REPORTE, VALIDACION, ESTADISTICA

A CARGO DEL PERSONAL TECNOLOGO MEDICO

A. El profesional Técnico Médico, reporta el resultado de las coloración Gram al sistema Whonet e imprime dicho reporte.	Tecnólogo médico	Lapicero	Laboratorio de Microbiología	3 min
--	------------------	----------	------------------------------	-------





PERÚ

Ministerio de Salud

Hospital Nacional Hipólito Unanue
Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica
Servicio de Microbiología, Inmunología y Biología Molecular
Laboratorio de Microbiología

A CARGO DEL TECNICO DE LABORATORIO						
A. Transcribe el reporte del Tecnólogo Médico al sistema informático de laboratorio (Labcore).	Técnico de Laboratorio	Lapicero	Computadora	Laboratorio de Microbiología	3 min	
B. Manejo de desechos de residuos infecciosos.	Técnico de Laboratorio	Tachos a pedal.	Autoclave, Esterilizador de calor seco	Laboratorio de Microbiología	3 min	
Bolsas de bioseguridad, guantes de jebe, agua detergente, agua desionizada,						
A CARGO DEL PERSONAL MEDICO PATOLOGO CLINICO						
A. Validación del reporte de la coloración Gram transcrito en el sistema informático Labcore y emisión del informe final de la coloración Gram.	Patólogo Clínico	Lapicero	Computadora	Laboratorio de Microbiología	4 min	
B. Informe de resultado al médico tratante, en caso de valor crítico. Para realizar la valoración del estado clínico del paciente.	Patólogo Clínico	Lapicero	Computadora	Laboratorio de Microbiología	10 min	

