

**Pasantía en el Grupo de Genética Médica - Laboratorio  
Integrado de Medicina Especializada (LIME): Diagnóstico  
genético prenatal y de leucemias**

Estudiante

**Juanita Agudelo Posada**

Director(es)

**Gonzalo Vásquez Palacio Esp. Msc**

Codirector(es)

**Juliana Martínez Garro Msc**

Trabajo de Grado

**En la modalidad de *Pasantía***

**Programa de Biología**

Universidad CES

Medellín

Septiembre 2020

# **Pasantía en el Grupo de Genética Médica - Laboratorio Integrado de Medicina Especializada (LIME): Diagnóstico genético prenatal y de leucemias**

Juanita Agudelo Posada

## **Resumen**

Se ejecutó una pasantía en el Grupo de Genética Médica del Laboratorio de Medicina Personalizada (LIME), enfocada al fortalecimiento de la formación académica recibida en el pregrado en el ámbito clínico, así como en el desarrollo de las habilidades y aptitudes necesarias para aplicar técnicas de diagnóstico genético prenatal y de leucemias. Durante la pasantía se realizaron actividades prácticas y revisiones de temas relacionados, con el acompañamiento del Dr. Gonzalo Vásquez Palacio y el equipo de trabajo del área de Genética y Molecular del LIME, con el apoyo de la profesora Juliana Martínez. Durante la estancia en el laboratorio, se obtuvieron conocimientos en la realización de pruebas moleculares y se adquirió experiencia en la metodología de trabajo de un laboratorio especializado en el diagnóstico clínico de enfermedades genéticas.

**Palabras clave:** Trastornos genéticos, Citogenética, Biología molecular.

## TABLA DE CONTENIDO

<b>1. PRESENTACIÓN</b> .....	5
<b>2. RESEÑA DE LA INSTITUCIÓN</b> .....	5
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	6
3.1 OBJETIVO GENERAL .....	6
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	6
<b>4. LOGROS ALCANZADOS</b> .....	7
<b>5. DIFICULTADES</b> .....	7
<b>6. RESULTADOS</b> .....	7
6.1 COMPONENTE TEÓRICO .....	7
6.2 COMPONENTE PRÁCTICO .....	7
<b>7. CONCLUSIONES</b> .....	11
<b>8. RECOMENDACIONES</b> .....	11
<b>9. AGRADECIMIENTOS</b> .....	11
<b>10. ANEXOS</b> .....	11
<b>11. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	14

## **1. Presentación**

De acuerdo con la Fundación March of Dimes, la cual se dedica a velar por la salud materna e infantil, entre el 10% y 15% de los embarazos terminan en la pérdida del mismo (1). Muchos de los infantes que logran nacer, sufren de algún tipo de anomalía congénita, que puede generarle discapacidades crónicas, afectando tanto su salud como el bienestar de su familia e impactando los sistemas de salud y la sociedad en general. Según cifras de la Organización Mundial de la Salud, 303.000 recién nacidos mueren al año antes de las 4 semanas de vida debido a estas anomalías (2).

Aunque no se conoce la causa de la mitad de estos trastornos, se estima que el 25% pueden estar relacionadas a factores genéticos. Por esta razón nace el diagnóstico genético prenatal, como una herramienta para detectar posibles malformaciones embriofetales, pérdida de la gestación, retardo del crecimiento intrauterino, síndromes de origen genético como las trisomías, entre otras patologías (3).

Por otro lado, la leucemia es un tipo de cáncer que afecta las células sanguíneas y es el más común entre personas de 0 a 19 años, con una incidencia de 80.491 casos reportados y 32.761 pacientes fallecidos en el año 2020 a nivel mundial(4).

Tanto en leucemias como en enfermedades congénitas, un diagnóstico temprano y oportuno puede permitir a profesionales de la salud tomar las medidas pertinentes en cuanto al tratamiento de la enfermedad, que puedan disminuir sus efectos o prevenirlos, en caso de ser posible, mejorando el pronóstico de la misma.

Durante la pasantía en el Laboratorio Integrado de Medicina Especializada (LIME) se realizan rotaciones de un mes de duración en el área de Genética y Molecular, con el objetivo de brindar al estudiante una experiencia laboral, sumada a conocimientos sobre las técnicas y procedimientos utilizados para realizar el diagnóstico de enfermedades de origen genético, como algunos tipos de leucemia y trastornos congénitos.

## **2. Reseña de la institución**

La Universidad de Antioquia fue fundada en el 1803 y actualmente es reconocida como una de las instituciones de educación superior más importantes del país. Es una institución estatal del orden departamental. Sin embargo, está descentralizada del departamento de Antioquia, siendo un ente universitario autónomo con régimen especial, estando vinculada al Ministerio de Educación Nacional en lo que tiene refieren las políticas y la planeación del sector educativo y en relación con el Sistema Nacional de Ciencia y Tecnología (5).

La institución está conformada por 26 unidades académicas, que se dividen en 14 facultades, 4 escuelas, 4 institutos y 3 corporaciones, con una oferta académica de aproximadamente 130 programas de pregrado (6).

En el año 1993 se instituyó la Ley 100, con lo que los servicios básicos de salud que prestaba la Universidad de Antioquia a sus trabajadores y empleados, se convirtieron en el Programa de Salud de la Universidad. Ahí nace la idea de la Institución Prestadora de Servicios de Salud de la Universidad de Antioquia IPS Universitaria, para ofrecer servicios de salud en todos los niveles de complejidad. En 1998 la IPS Universitaria comienza labores como una corporación mixta sin ánimo de lucro, que ha ampliado su oferta de servicios hasta la actualidad, donde presta servicios como consulta general y especializada, ayudas diagnósticas, urgencias, cirugía, hospitalización, unidades de cuidados intensivos y especiales, trasplantes y, de la mano de la Universidad de Antioquia, desarrollo en investigación e innovación (7).

En el año 2019, la Facultad de Medicina de la Universidad de Antioquia, en alianza con la Fundación Universidad de Antioquia y la IPS Universitaria fundó el Laboratorio Integrado de Medicina Especializada (LIME), uniendo en un mismo espacio los laboratorios de Pediatría, Hematología, Farmacología, Toxicología, Genética y el Centro Especializado de Infecciones Respiratorias (CEDIR), con el fin de optimizar los procesos de investigación académica en un área polifuncional. El laboratorio también ofrece servicios en farmacogenética, siendo el primer laboratorio del país que permite la atención personalizada de pacientes que necesiten conocer la efectividad de los medicamentos antes de la prescripción (8).

### **3. Objetivos**

#### **3.1 Objetivo general**

Consolidar la formación de una estudiante de Biología interesada en adquirir conocimientos en el área de la genética para aplicarlos en su desarrollo profesional.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Adquirir habilidades en los aspectos básicos de los estudios cromosómicos y en las técnicas de diagnóstico genético prenatal y de leucemias.
- Obtener los conocimientos básicos, habilidades y aptitudes para reconocer las patologías relacionadas con el diagnóstico prenatal y las leucemias.
- Conocer las indicaciones para la remisión de la gestante al programa de diagnóstico prenatal y recomendar la prueba genética más adecuada, según los hallazgos de cada caso y la habilidad para correlacionarlos con otras pruebas prenatales tales como: ecografía, amniocentesis y pruebas bioquímicas.
- Desarrollar habilidades para interpretar correctamente los resultados del cariotipo y FISH con el fin de confirmar el diagnóstico presuntivo.
- Integrar los conocimientos adquiridos con las otras áreas tales como: ginecología, reproducción, genética, endocrinología y bioética.
- Conocer las nuevas técnicas de diagnóstico genómico prenatal, su utilidad, ventajas, limitaciones e interpretaciones.

## **4. Logros alcanzados**

- Apropiación de conocimientos sobre las enfermedades genéticas prenatales y las leucemias, la asociación de su pronóstico con genotipo presentado, así como sobre las técnicas utilizadas rutinariamente para realizar su diagnóstico y sus bases moleculares.
- Integración de los conocimientos adquiridos durante la formación de pregrado con su aplicación práctica en el área del diagnóstico genético.
- Capacitación en la realización de las diversas técnicas genéticas y moleculares utilizadas para realizar diagnóstico genético prenatal y de leucemias.
- Adquisición de habilidades prácticas en técnicas como cariotipo y bandedo cromosómico, que aportan a la formación profesional.
- Obtención de experiencia en un entorno laboral, que permite un acercamiento hacia los lineamientos, las responsabilidades y la forma de trabajar al que se enfrenta una persona en su vida profesional.

## **5. Dificultades**

Anteriormente, los practicantes recibidos por el LIME eran ingresados por medio de la Facultad de Medicina de la Universidad de Antioquia. Sin embargo, hubo un cambio de lineamientos recientemente según el cual, los practicantes deben ser registrados desde la IPS Universitaria directamente. Este nuevo procedimiento requiere más trámites, más requisitos y, por tanto, más tiempo para obtener el aval para ingresar al laboratorio, lo cual retrasó en una semana el ingreso al laboratorio y el comienzo de las actividades presenciales. Por esta razón, se amplió el tiempo de la pasantía para superar esta dificultad.

## **6. Resultados**

### **6.1 Componente teórico**

Teniendo como objetivo afianzar los conocimientos adquiridos durante el pregrado de biología y potenciarlos con un enfoque clínico, específicamente hacia el área de diagnóstico genético, se realizaron un total de 8 seminarios, cada uno de una duración aproximada de 2 horas. Cada seminario era respecto a un tema relacionado con las técnicas que se aplican rutinariamente en el laboratorio de Genética y Molecular del LIME, con el fin de tener un conocimiento previo de las mismas a la hora de realizar el trabajo práctico. El tema, escogido por el Dr. Gonzalo Vásquez Palacio, era notificado con una semana de antelación con bibliografía recomendada, para realizar la lectura y la comprensión pertinente para presentarlo. Entre las temáticas revisadas se encuentran bases de genética como la estructura del ADN y la variación genética en humanos, como también protocolos para realizar técnicas específicas como cariotipos, citogenética, FISH y PCR.

Así mismo, a medida que se desarrollaba cada componente práctico, los profesionales a cargo de cada técnica proponían ejercicios teóricos y lecturas de artículos astringentes a la técnica molecular que se estaba aplicando, con el fin de profundizar en los conocimientos de la misma.

## **6.2 Componente práctico**

Durante el tiempo que duró la rotación, se realizó un acompañamiento a los profesionales del área de Genética y Molecular en las diferentes técnicas moleculares que llevan a cabo. Debido a que el LIME es un laboratorio de diagnóstico y trata muestras de pacientes, los datos sobre la cantidad de muestras procesadas y los resultados obtenidos de las mismas es confidencial. Sin embargo, a continuación se encontrará una descripción general de los procesos a los cuales se les hizo acompañamiento en la pasantía.

### **6.2.1 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)**

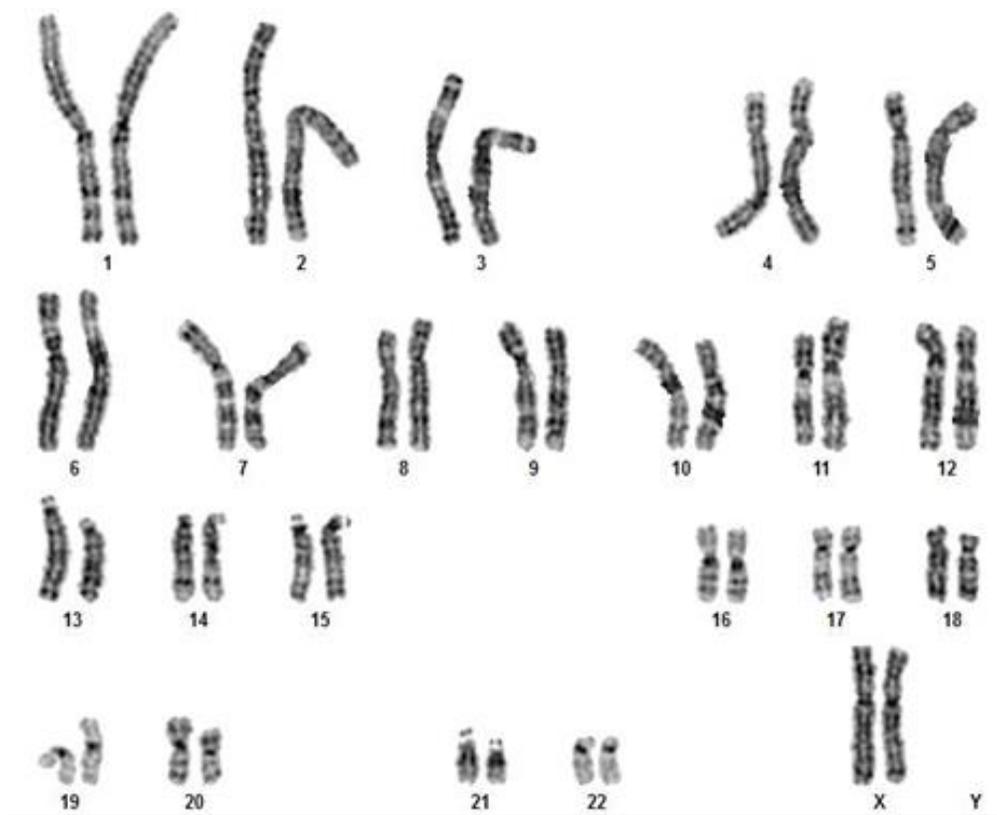
Se realizó acompañamiento a la profesional encargada de realizar el proceso de diagnóstico de mutaciones específicas por medio de PCR, donde hubo un aprendizaje y una formación en la ejecución de cada una de las etapas del proceso. Como paso inicial, se extraía el ADN de la muestra por medio de un kit basado en columnas de Sílice. El ADN obtenido es purificado, suspendido en un búfer y finalmente almacenado hasta el momento de realizar el análisis correspondiente. Se tienen estandarizados protocolos para diagnosticar diversas mutaciones por PCR, entre ellas se encuentran mutaciones de importancia clínica para el tratamiento de las leucemias como la P190, la cual suele tener un mal pronóstico y da indicios a los profesionales de la salud que se debe realizar un tratamiento diferencial a los pacientes que la presentan. Estas mutaciones se diagnostican por medio de una qPCR con sondas TaqMan específicas para el gen mutado, haciendo uso de un kit comercial y un equipo de detección.

Del mismo modo se siguió de cerca las etapas de un proyecto desarrollado en el laboratorio, el cual tenía como objetivo secuenciar la proteína el transcripto de la proteína Spike del SARS-CoV-2, con el fin de estandarizar un protocolo para detectar variantes del virus en la población antioqueña. Debido a que la capacidad del equipo de secuenciación es menor al tamaño de la proteína, fue necesario diseñar varios primers para que amplificaran distintos fragmentos de la proteína, que se superpusieran entre ellos para permitir reconstruir la secuencia luego del análisis. Se acompañó tanto los pasos de PCR, como los de electroforesis para verificar la presencia de amplicones y finalmente la secuenciación con su respectivo análisis.

### **6.2.2 Citogenética**

Se realizó acompañamiento a la profesional encargada de realizar el proceso de diagnóstico de aberraciones cromosómicas por medio de la realización de cariotipos. Además, hubo una participación durante el proceso, adquiriendo experticia en la realización del proceso de montaje del cariotipo. Se realizó una siembra de cultivo de una muestra de sangre periférica

propia, se incubó durante 2 días, se efectuó el proceso necesario para la obtención de glóbulos blancos purificados y se realizó el arresto mitótico para la obtención de metafases. La muestra fue goteada en un portaobjetos y sometida a un tratamiento con tripsina para ser posteriormente teñida con Giemsa y fijada en un portaobjetos para observar las metafases al microscopio. Finalmente se organizaron los cromosomas y se estudiaron con la ayuda de un software. De esta misma forma, se acompañó el proceso del análisis de otras muestras de pacientes para detectar si presentaban algún tipo de anomalía y confirmar o descartar las sospechas del médico tratante. Para el análisis del cariotipo propio, se armaron 50 metafases, correspondientes a 12 placas celulares, para verificar si existía algún tipo de anomalía. Se reveló un cariotipo normal en todas las metafases analizadas y se obtuvo un cariotipo normal femenino 46,XX (Figura 1). Finalmente, se realizó el reporte correspondiente al análisis del cariotipo de la estudiante, el cual se puede encontrar en la sección de anexos.



**Figura 1.** Cariotipo obtenido del cultivo de linfocitos de sangre periférica estimulados con mitógeno, utilizando la técnica de bandeo G. La resolución de las bandas obtenidas oscila entre 475-675 y se observa un cariotipo normal femenino 46,XX.

### **6.2.3 Hibridación fluorescente in situ (FISH)**

Se acompañó a la profesional encargada de realizar el proceso de diagnóstico de aberraciones cromosómicas por medio de FISH. Para esto se realizaron cultivos celulares de médula ósea, se efectuó el proceso necesario para la obtención de glóbulos blancos purificados y se obtuvieron sus núcleos. Estos se gotearon en un portaobjetos, del cual se delineó una zona específica en la cual se agregó la sonda, se colocó un cubreobjetos y se selló con pegante. Para lograr que la sonda se hibride al ADN de los núcleos, se dejan a 72°C por dos minutos y posteriormente a 37°C por 19 horas. Posteriormente, se realiza el análisis correspondiente con la ayuda de un microscopio de fluorescencia. Para las muestras procesadas, se utilizaron 3 tipos de sondas diferentes para diagnosticar mutaciones de tipo deleción, translocación y break apart.

### **6.2.4 Citometría de flujo**

Se acompañó el procesamiento de muestras para el diagnóstico de enfermedad mínima residual de leucemias y recuento CD4 – CD8, utilizando la técnica de citometría de flujo. Se utilizó la metodología descrita por EuroFlow para cada caso. En las muestras de leucemias, el análisis se realizó con la ayuda del programa BD FACSDiva y se utilizaron como marcadores los anticuerpos CD20, CD45, CD123, CD66C, CD34, CD10 y CD38. En las muestras de recuento, el análisis se realizó con la ayuda del programa BD FACSCanto y se utilizaron como marcadores los anticuerpos CD3, CD16, CD45, CD4, CD8 y CD56.

### **6.2.5 Procesamiento de pruebas Covid**

Se participó en las diversas etapas relativas al procesamiento de las muestras de SARS-CoV-2. Se realizó extracción del ARN de muestras de pacientes sospechosos de Covid-19 de manera manual y semiautomática, ambas metodologías basadas en perlas, siguiendo las instrucciones del kit comercial. El ARN obtenido es purificado y suspendido en un búfer para seguir con el proceso. El siguiente paso implica la aplicación de una PCR en tiempo real o qPCR en la cual se amplifica el gen E del virus y se utiliza como marcador endógeno el gen RNAsa P humano. Finalmente se interpreta el resultado con la ayuda de un software.

En caso de que se necesitaran los resultados de la prueba de manera urgente, como en el caso de los viajeros, se aplicaba una tecnología llamada ID NOW, la cual emplea la PCR isotérmica para entregar resultados en aproximadamente 15 minutos. La alta eficiencia de esta técnica radica en que, como su nombre lo indica, toda la reacción se realiza a una misma temperatura, ahorrándose las fluctuaciones de temperatura necesarias para una PCR convencional.

## **7. Conclusiones**

Realizar una pasantía es una gran oportunidad para afianzar los conocimientos y las habilidades obtenidas durante la carrera. Además, es un espacio que permite un acercamiento a los desafíos y las responsabilidades que se deben afrontar en un entorno laboral, promoviendo tanto el crecimiento personal como profesional.

Esta experiencia permitió adquirir conocimientos y desarrollar destrezas en la aplicación de diferentes técnicas genéticas y moleculares utilizadas para realizar diagnóstico médico, así como pericias necesarias para el desempeño en un laboratorio como la aplicación de protocolos, de las prácticas de bioseguridad y el manejo de equipos e instrumental.

## **8. Recomendaciones**

Para futuros posibles estudiantes que deseen realizar su pasantía en el LIME, se recomienda investigar con tiempo sobre el proceso regular y sobre los requisitos que deben cumplir para poder ingresar a la institución, así como avisar con tiempo a la universidad para ser registrados en la página de la IPS Universitaria. Con el acompañamiento de la facultad y la claridad del proceso, este podría realizarse de una manera más eficiente para cumplir con los tiempos establecidos y no retrasarse como sucedió con esta pasantía. También es recomendable matricular como materias electivas genética humana y técnicas moleculares, para tener las bases teóricas de los procesos realizados en el laboratorio.

## **9. Agradecimientos**

Agradezco especialmente a la profesora Juliana Martínez, por acompañarme de manera permanente durante todas las etapas de mi proceso, ayudándome a sortear todos los retos que se presentaron en el camino y proponiendo soluciones asertivas a los problemas que iban surgiendo.

Al profesor Gonzalo Vásquez Palacio, por instruirme en todas las técnicas que apliqué durante mi pasantía y acompañarme durante todo el proceso con la mejor disposición para ayudarme.

A todos los profesionales del área de genética del LIME, por guiarme durante mi proceso de aprendizaje y por responder con paciencia a cualquier duda que surgiera en el camino.

## **10. Anexos**

**INFORME DE RESULTADOS****FECHA Y HORA DEL INFORME:** 19/11/2021, 9:30 AM**INFORMACIÓN DEL PACIENTE**

**NOMBRE:** JUANITA AGUDELO POSADA  
**IDENTIFICACIÓN:** 1037669260  
**DIRECCIÓN:** CALLE 48 FF SUR No 42 C-113  
**ENTIDAD REMITENTE:** ROTACION  
**ANÁLISIS REQUERIDO:** Cariotipo con bandeó G  
**IMPRESIÓN DIAGNÓSTICA:** PRACTICA

**CÓDIGO LIME Nº:** 001-2021ST  
**EDAD:** 22 años  
**FECHA DE NACIMIENTO:** 06/07/1999  
**TELÉFONO:** 5599976  
**CÓDIGO CUPS:** 908404  
**TIPO DE INGRESO:** AMBULATORIO

**INFORMACIÓN DE LA MUESTRA**

**TIPO DE MUESTRA:** SANGRE PERIFERICA  
**CONDICIONES DE LA MUESTRA:** Buena  
**FECHA Y HORA DE TOMA DE LA MUESTRA:** 13/09/2021  
**FECHA Y HORA DE RECEPCIÓN DE LA MUESTRA:** 13/09/2021, 10:00 AM

**VOLUMEN:** 9mL

**RESULTADO****CARIOTIPO: 46,XX**

**TIPO DE CULTIVO:** linfocitos de sangre periférica estimulados con mitógeno.  
**BANDEAMIENTO:** GTG  
**CARIOTIPOS DE REFERENCIA\*:** Femenino 46,XX  
**RESOLUCIÓN DE BANDAS:** 475-675  
Masculino 46,XY

**NUMERO DE METAFASES:** 50**INTERPRETACION:** el análisis citogenético del tejido, con la técnica de bandas utilizada, revelo un cariotipo normal en todas las metafases.**VER ANEXO.** Registros fotográficos.**ELABORADO:** Juanita Agudelo Posada**VERIFICADO:** Gloria Cecilia Ramírez Gaviria. Bacterióloga, MSc. Registro 5-1586**\*ISCN:** An International System for Human Cytogenomic Nomenclature (2020)

"La interpretación y aplicación clínica de los resultados de Laboratorio corresponde exclusivamente al Médico remitente"

**INFORME DE RESULTADOS****ANEXO**

**NOMBRE:** JUANITA AGUDELO POSADA  
**IDENTIFICACIÓN:** 1037669260

**CÓDIGO LIME N°:** 001-2021ST

**CARIOTIPO (ISCN\*):** 46,XX

**OBSERVACIONES Y/O RECOMENDACIONES:** Este cariotipo fue realizado por la estudiante como parte de las actividades formativas dentro del marco de su pasantía en el área de genética y biología molecular del LIME.

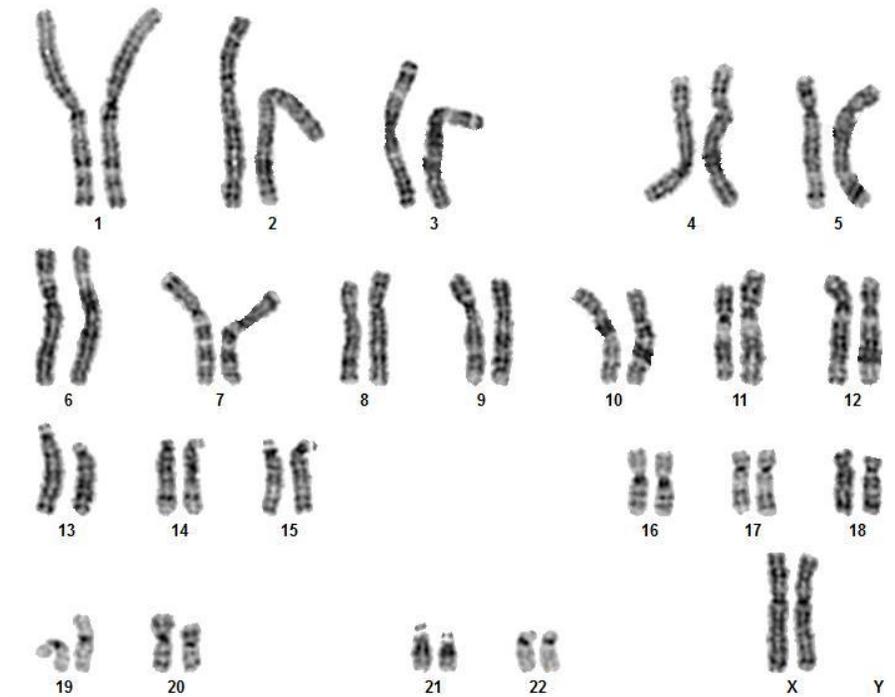


Imagen de Placa/Célula: 7 – 7/8

**ELABORADO:** Juanita Agudelo Posada

**VERIFICADO:** Gloria Cecilia Ramírez Gaviria. Bacterióloga, MSc. Registro 5-1586

**REVISADO:** Gonzalo Vásquez Palacio. Biol.Esp. MSc. Matrícula Profesional. 70107766  
Coordinador de la Pasantía.



"La interpretación y aplicación clínica de los resultados de Laboratorio corresponde exclusivamente al Médico remitente"

**Laboratorio Integrado de Medicina Especializada (LIME) – Facultad de Medicina**  
**Dirección:** Calle 64 No. 51-31, IPS Universitaria Ambulatoria - Sede Prado, Bloque B piso 2  
**Correo:** [lime@udea.edu.co](mailto:lime@udea.edu.co) · **Teléfono:** 219 2380 – 219 6022  
Medellín - Colombia

## 11. Bibliografía

1. Miscarriage [Internet]. March of Dimes. 2017 [citado 16 de Septiembre de 2021]. Disponible en: <https://www.marchofdimes.org/complications/miscarriage.aspx>
2. Anomalías congénitas [Internet]. Organización Mundial de la Salud. 2020 [citado 16 de Septiembre de 2021]. Disponible en: <https://www.who.int/mediacentre/news/releases/2007/pr04/es/>
3. Carrasco Salas P, Gómez González C, Prior de Castro C, Cuesta Peredo A, Santamaría González M, Granell Escobar R, et al. Estudios genéticos en diagnóstico prenatal. Recomendación (2018). Revista del Laboratorio Clínico. enero de 2019;12(1):27-37.
4. Leukemia [Internet]. GLOBOCAN. 2020 [citado 16 de Septiembre de 2021]. Disponible en: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/36-Leukaemia-fact-sheet.pdf>
5. Entidades descentralizadas: Universidad de Antioquia [Internet]. Antioquia honesta. 2020 [citado 16 de Septiembre de 2021]. Disponible en: <https://www.antioquiahonesta.com/entidades-descentralizadas/universidad-de-antioquia/>
6. Unidades académicas [Internet]. Universidad de Antioquia. 2020 [citado 16 de Septiembre de 2021]. Disponible en: <https://www.udea.edu.co/wps/portal/udea/web/inicio/institucional/unidades-academicas/>
7. Reseña Histórica [Internet]. IPS Universitaria. 2020 [citado 16 de Septiembre de 2021]. Disponible en: <https://ipsuniversitaria.com.co/resena-historica/>
8. Creamos Laboratorio Integrado de Medicina Especializada para investigaciones sin precedentes en Colombia [Internet]. Universidad de Antioquia. 2020 [citado 16 de Septiembre de 2021]. Disponible en: <https://egresadosmedicinaudea.org/laboratorio-ips/>