



SALUD
SECRETARÍA DE SALUD

**MANUAL DE PROCEDIMIENTOS ESPECÍFICOS
DE LA CLÍNICA DE CÁNCER HEREDITARIO**



REV: 00

HOJA: 1

DE: 10

**MANUAL DE PROCEDIMIENTOS ESPECÍFICOS
DE LA CLÍNICA DE CÁNCER HEREDITARIO**

CONTROL DE EMISIÓN

	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		



SALUD
SECRETARÍA DE SALUD

**MANUAL DE PROCEDIMIENTOS ESPECÍFICOS
DE LA CLÍNICA DE CÁNCER HEREDITARIO**



REV: 00

HOJA: 2

DE: 10

INDICE

	HOJA
INTRODUCCIÓN	3
I.- OBJETIVO DEL MANUAL	4
II.- MARCO JURÍDICO	4
III.- PROCEDIMIENTOS:	10
1. PROCEDIMIENTO PARA LA GENERACIÓN DE CITAS DE PRIMERA VEZ A LA CLÍNICA DE CÁNCER HEREDITARIO	
2. PROCEDIMIENTO PARA LA ATENCIÓN DE PACIENTES DE PRIMERA VEZ EN LA CLÍNICA DE CÁNCER HEREDITARIO	
3. PROCEDIMIENTO PARA LA ATENCIÓN DE PACIENTES SUBSECUENTES EN LA CLÍNICA DE CÁNCER HEREDITARIO	
4. PROCEDIMIENTO PARA LA ADMINISTRACIÓN DE BASES DE DATOS ASOCIADOS A LA INVESTIGACIÓN	

CONTROL DE EMISIÓN

	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS ESPECÍFICOS DE LA CLÍNICA DE CÁNCER HEREDITARIO		REV: 00
			HOJA: 3
			DE: 10

INTRODUCCIÓN

En cumplimiento a lo dispuesto en el Artículo 19 de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal y al Artículo 16 fracción XIV del Reglamento Interior de la Secretaría de Salud; así como a los Lineamientos para la Elaboración, Actualización y Baja de Normas Internas del Instituto Nacional de Cancerología, se ha elaborado el presente manual de procedimientos de la Clínica de Cáncer Hereditario, adscrito a la Dirección de Investigación, en razón de la importancia de contar con herramientas administrativas vigentes que permitan desarrollar eficientemente las atribuciones, funciones y actividades asignadas.

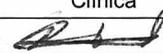
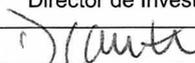
El presente Manual de Procedimientos tiene como propósito contar con una guía clara y específica que garantice la óptima operación y desarrollo de las diferentes actividades de la Clínica de Cáncer Hereditario, así como el de servir como un instrumento de apoyo y mejora Institucional.

Su elaboración se realizó en apego a la Guía Técnica para la Elaboración y Actualización de Manuales de Procedimientos de la Secretaría de Salud vigente, considerando las modificaciones al Estatuto Orgánico del Instituto Nacional de Cancerología, autorizadas por la Junta de Gobierno en la Primera Sesión Ordinaria 2021 y publicadas en el DOF el 03 de agosto de 2021.

Este documento contiene: Portada, Índice, Introducción, Objetivo del Manual, Marco Jurídico, y Procedimientos, con su respectiva Denominación, Propósito, Alcance a nivel interno y externo, Políticas de Operación, Normas y Lineamientos, Descripción del Procedimiento, Diagrama de Flujo, Documentos de Referencia, Registros, Glosario, Cambios de Versión, y Anexos.

El manual se actualizará de conformidad a lo indicado en los Lineamientos para la Elaboración, Actualización y Baja de Normas Internas del Instituto Nacional de Cancerología, y cuando existan modificaciones a la estructura orgánica o normatividad aplicable, el área responsable será la Clínica de Cáncer Hereditario en colaboración con la Subdirección de Planeación.

Su difusión se realizará a través del Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario, quién lo dará a conocer a su personal adscrito y permanecerá para su consulta en la Normateca Interna de la página web del Instituto.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS ESPECÍFICOS DE LA CLÍNICA DE CÁNCER HEREDITARIO		REV: 00
			HOJA: 4
			DE: 10

I.- OBJETIVO DEL MANUAL

Contar con un documento que sirva de instrumento para poder guiar procesos de atención clínica, de diagnóstico molecular/citogenético, e investigación, que se realizan en la Clínica de Cáncer Hereditario (CCH).

El seguimiento de dicho instrumento permitirá delimitar y alinear las actividades de la CCH, delimitar los riesgos e identificar áreas de oportunidad.

II.- MARCO JURÍDICO

La Clínica de Cáncer Hereditario se encuentra sustentado en el marco jurídico-normativo siguiente:

Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos.
D.O.F. 5-02-1917. Última reforma D.O.F. 28-05-2021

LEYES

Ley Orgánica de la Administración Pública Federal.
D.O.F. 29-12-1976. Última reforma D.O.F. 20-10-2021

Ley Federal de las Entidades Paraestatales.
D.O.F. 14-05-1986. Última reforma D.O.F. 01-03-2019.

Ley de los Institutos Nacionales de Salud.
D.O.F. 26-05-2000. Última reforma D.O.F. 29-11-2019.

Ley General de Salud.
D.O.F. 07-11-1984. Última reforma D.O.F. 22-11-2021.

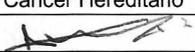
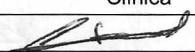
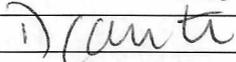
Ley General de Responsabilidades Administrativas.
D.O.F. 22-11-2021.

Ley Federal de Presupuesto y Responsabilidad Hacendaria.
D.O.F. 30-03-2006. Última reforma D.O.F. 20-05-2021.

Ley General de Transparencia y Acceso a la Información Pública.
D.O.F. 20-05-2021.

Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública
D.O.F. 09-05 2016. Última reforma D.O.F. 20-05-2021.

Ley de Planeación.
D.O.F. 05-01-1983. Última reforma D.O.F. 16-02-2018.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS ESPECÍFICOS DE LA CLÍNICA DE CÁNCER HEREDITARIO		REV: 00
			HOJA: 5
			DE: 10

Ley General de Bienes Nacionales.
D.O.F. 20-05-2004. Última reforma D.O.F. 14-09-2021.

Ley Federal del Trabajo.
D.O.F. 01-04-1970. Última reforma D.O.F. 31-07-2021.

Ley Federal de los Trabajadores al Servicio del Estado, Reglamentaria del Apartado B) del Artículo 123 Constitucional.
D.O.F. 28-12-1963. Última reforma D.O.F. 22-11-2021.

Ley Federal de Procedimiento Administrativo.
D.O.F. 04-08-1994. Última reforma D.O.F. 18-05-2018.

Ley del Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado.
D.O.F. 31-03-2007. Última reforma D.O.F. 22-11-2021.

Ley de Adquisiciones, Arrendamientos y Servicios del Sector Público.
D.O.F. 04-01-2000. Última reforma D.O.F. 20-05-2021.

Ley Federal para Prevenir y Eliminar la Discriminación.
D.O.F. 11-06-2003. Última reforma D.O.F. 22-11-2021.

Ley General de Acceso de las Mujeres a una Vida Libre de Violencia.
D.O.F. 01-02-2007. Última reforma D.O.F. 01-06-2021.

Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente.
D.O.F. 28-01-1988. Última reforma D.O.F. 21-10-2021.

Ley General para la Igualdad entre Mujeres y Hombres.
D.O.F. 02-08-2006. Última reforma D.O.F. 21-10-2021.

Ley General para la Inclusión de las Personas con Discapacidad.
D.O.F. 30-05-2011. Última reforma D.O.F. 12-07-2018.

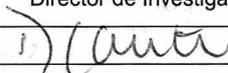
Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos.
D.O.F. 08-10-2003. Última reforma D.O.F. 18-01-2021.

Ley Federal de Archivos.
D.O.F. 23-01-2012.

Ley General de Protección de Datos Personales en Posesión de Sujetos Obligados.
D.O.F. 26-01-2017.

REGLAMENTOS

Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Prestación de Servicios de Atención Médica.
D.O.F. 14-05-1986. Última reforma D.O.F. 17-07-2018.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS ESPECÍFICOS DE LA CLÍNICA DE CÁNCER HEREDITARIO		REV: 00
			HOJA: 6
			DE: 10

Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud.
D.O.F. 06-01-1987. Última reforma D.O.F. 02-04-2014.

Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Control Sanitario de Actividades, Establecimientos, Productos y Servicios.
D.O.F.18-01-1988. Última reforma D.O.F. 28-12-2004.

Reglamento de la Ley de Adquisiciones, Arrendamientos y Servicios del Sector Público.
D.O.F. 28-07-2010. Última reforma publicada DOF 14-06-2021

Reglamento de la Ley Federal de Archivos.
D.O.F. 13-05-2014.

DECRETOS

Decreto por el que se crea el Instituto Nacional de Cancerología.
D.O.F. 19-11-1946.

Decreto que establece las medidas para el uso eficiente, transparente y eficaz de los recursos públicos, y las acciones de disciplina presupuestaria en el ejercicio del gasto público, así como para la modernización de la Administración Pública Federal.
D.O.F. 10-12-2012. Reformado D.O.F. 30-12-2013.

Decreto por el que se establece la regulación en materia de Datos Abiertos.
D.O.F. 20-02-2015

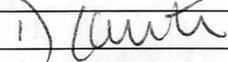
ACUERDOS

Acuerdo por el que se establecen las bases generales para la rendición de cuentas de la Administración Pública Federal y para realizar la entrega-recepción de los asuntos a cargo de los servidores públicos y de los recursos que tengan asignados al momento de separarse de su empleo, cargo o comisión.
D.O.F. 06-07-2017.

Acuerdo por el que se establecen los Lineamientos Generales para la regulación de los procesos de entrega-recepción y de rendición de cuentas de la Administración Pública Federal.
D.O.F. 24-07-2017.

Acuerdo por el que se establece que las instalaciones públicas del Sistema Nacional de Salud sólo deberán utilizar los insumos establecidos en el cuadro básico para el primer nivel de atención médica y, para segundo y tercer nivel, el catálogo de insumos.
D.O.F. 24-12-2002. Reformado 06-12-2019.

Acuerdo por el que se emiten las Disposiciones Generales para la Integración y Funcionamiento de los Comités de Ética en Investigación y se establecen las unidades hospitalarias que deben contar con ellos, de conformidad con los criterios establecidos por la Comisión Nacional de Bioética.
D.O.F. 31-10-2012. Reformado 11-01-2016, Reformado 10-12-2020

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS ESPECÍFICOS DE LA CLÍNICA DE CÁNCER HEREDITARIO		REV: 00
			HOJA: 7
			DE: 10

Acuerdo del Consejo Nacional del Sistema Nacional de Transparencia, Acceso a la Información Pública y Protección de Datos Personales, por el que se aprueban los Lineamientos para la Organización y Conservación de los Archivos.

D.O.F. 04-05-2016.

Acuerdo del Consejo Nacional del Sistema Nacional de Transparencia, Acceso a la Información Pública y Protección de Datos Personales, por el que se emiten los Criterios para que los Sujetos Obligados Garanticen Condiciones de Accesibilidad que Permitan el Ejercicio de los Derechos Humanos de Acceso a la Información y Protección de Datos Personales a Grupos Vulnerables.

D.O.F. 04-05-2016.

Acuerdo del Consejo Nacional del Sistema Nacional de Transparencia, Acceso a la Información Pública y Protección de Datos Personales, por el que se aprueban los Lineamientos para la elaboración, ejecución y evaluación del Programa Nacional de Transparencia y Acceso a la Información.

D.O.F. 04-05-2016.

Acuerdo del Consejo Nacional del Sistema Nacional de Transparencia, Acceso a la Información Pública y Protección de Datos Personales, por el que se aprueban los Lineamientos para la implementación y operación de la Plataforma Nacional de Transparencia.

D.O.F. 04-05-2016.

Acuerdo del Consejo Nacional del Sistema Nacional de Transparencia, Acceso a la Información Pública y Protección de Datos Personales, por el que se aprueban los lineamientos que deberán observar los sujetos obligados para la atención de requerimientos, observaciones, recomendaciones y criterios que emita el Sistema Nacional de Transparencia, Acceso a la Información Pública y Protección de Datos Personales.

D.O.F. 04-05-2016.

Acuerdo mediante el cual el Instituto Nacional de Transparencia, Acceso a la Información y Protección de Datos Personales, aprueba el padrón de sujetos obligados del ámbito federal, en términos de la Ley General de Transparencia y Acceso a la Información Pública.

D.O.F. 04-05-2016.Reformado 29-08-2019.

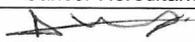
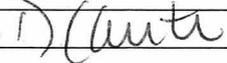
Acuerdo por el que se aprueban los Lineamientos que establecen el procedimiento de verificación y seguimiento del cumplimiento de las obligaciones de Transparencia que deben publicar los sujetos obligados del ámbito federal en los portales de internet y en la Plataforma Nacional de Transparencia, así como el Manual de procedimientos y metodología de evaluación para verificar el cumplimiento de las obligaciones de transparencia que deben de publicar los sujetos obligados del ámbito federal en los portales de Internet y en la Plataforma Nacional de Transparencia.

D.O.F. 20-02-2017 Reformado 14-07-2019.

Acuerdo mediante el cual se aprueban los Lineamientos Generales que establecen los criterios para el cumplimiento de las obligaciones de transparencia y acceso a la información a cargo de las personas físicas y morales que reciben y ejercen recursos públicos o realicen actos de autoridad.

D.O.F. 13-03-2017

Acuerdo mediante el cual se aprueban las directrices para llevar a cabo la verificación diagnóstica establecida en el artículo tercero transitorio de los Lineamientos Técnicos Generales para la publicación,

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS ESPECÍFICOS DE LA CLÍNICA DE CÁNCER HEREDITARIO		REV: 00
			HOJA: 8
			DE: 10

homologación y estandarización de la información de las obligaciones establecidas en el título quinto y en la fracción IV del artículo 31 de la Ley General de Transparencia y Acceso a la Información Pública, que deben difundir los sujetos obligados en los portales de internet y en la Plataforma Nacional de Transparencia, así como la atención a la denuncia por incumplimiento a las obligaciones de transparencia.

D.O.F. 11-05-2017

Acuerdo del Consejo Nacional del Sistema Nacional de Transparencia, Acceso a la Información Pública y Protección de Datos Personales, por el que se aprueban los Lineamientos generales en materia de clasificación y desclasificación de la información, así como para la elaboración de versiones públicas.

D.O.F. 15-04-2016. Reformado D.O.F. 29-07-2016

NORMAS

Norma Oficial Mexicana NOM-012-SSA3-2012, que establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos.

D.O.F. 04-01-2013.

Norma Oficial Mexicana NOM-004-SSA3-2012, del expediente clínico.

D.O.F. 15-10-2012.

Norma Oficial Mexicana NOM-024-SSA3-2012, Sistemas de información de registro electrónico para la salud. Intercambio de información en salud.

D.O.F. 30-11-2012.

NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002. Protección Ambiental-Salud ambiental-Residuos peligrosos biológico-infecciosos- Clasificación y especificaciones de manejo.

D.O.F. 17-02-2003.

Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-2013, Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a que deben sujetarse los Terceros Autorizados que realicen las pruebas de intercambiabilidad. Requisitos para realizar los estudios de biocomparabilidad. Requisitos a que deben sujetarse los Terceros Autorizados, Centros de Investigación o Instituciones Hospitalarias que realicen las pruebas de biocomparabilidad.

D.O.F. 20-09-2013.

DISPOSICIONES NORMATIVAS INTERNAS.

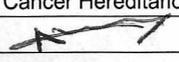
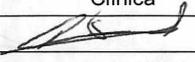
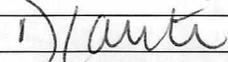
Estatuto Orgánico del Instituto Nacional de Cancerología.

Aprobado en sesión de la H. Junta de Gobierno el 09-04-2021. Reformado D.O.F. 03-08-2021.

OTRAS DISPOSICIONES LEGALES

Lineamientos generales para el establecimiento de acciones permanentes que aseguren la integridad y el comportamiento ético de los servidores públicos en el desempeño de sus empleos, cargos o comisiones.

D.O.F. 06-03-2012.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS ESPECÍFICOS DE LA CLÍNICA DE CÁNCER HEREDITARIO		REV: 00
			HOJA: 9
			DE: 10

Lineamientos generales para la organización y conservación de los archivos de las dependencias y entidades de la Administración Pública Federal.

D.O.F. 15-06-2016.

Manual Administrativo de Aplicación General en Materia de Adquisiciones, Arrendamientos y Servicios del Sector Público.

D.O.F. 09-08-2010. Reformado D.O.F. 03-02-2016.

Guía de Implementación de la Política de Datos Abiertos.

D.O.F. 12-12-2017

PLANES Y PROGRAMAS

Plan Nacional de Desarrollo 2019-2024

D.O.F. 12-07-2019.

Programa Sectorial de Salud 2020-2024.

D.O.F. 17-08-2020.

Programa Nacional de Protección Civil 2019-2024.

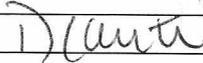
D.O.F. 12-03-2019.

Programa Nacional para la Igualdad y no Discriminación 2021-2024.

D.O.F. 05-03-2021.

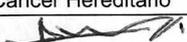
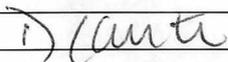
Programa Nacional de Derechos Humanos 2021-2024.

D.O.F. 10-12-2020.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

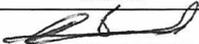
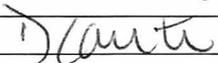
 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS ESPECÍFICOS DE LA CLÍNICA DE CÁNCER HEREDITARIO		REV: 00
			HOJA: 10
			DE: 10

III.- PROCEDIMIENTOS

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 1
	1. Procedimiento para la generación de citas de primera vez a la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 11

1. PROCEDIMIENTO PARA LA GENERACIÓN DE CITAS DE PRIMERA VEZ A LA CLÍNICA DE CÁNCER HEREDITARIO

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 2
	1. Procedimiento para la generación de citas de primera vez a la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 11

1. PROPÓSITO

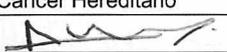
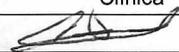
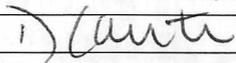
Generar citas de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario, con la finalidad de ofrecer atención multidisciplinaria e integral, mediante la detección oportuna de pacientes con alto riesgo para padecer cáncer.

2. ALCANCE

- 2.1 A Nivel Interno: el procedimiento es aplicable a la Dirección de Investigación, a través de la Clínica de Cáncer Hereditario, que recibe al paciente, verifica referencia y agenda cita de primera vez explicándole al paciente la información que deberá traer para el día de la cita.

3. POLÍTICAS DE OPERACIÓN, NORMAS Y LINEAMIENTOS

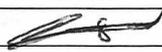
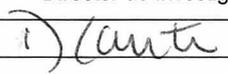
- 3.1 La Clínica de Cáncer Hereditario (CCH) brindará atención a pacientes del Instituto Nacional de Cancerología en un horario de 8:00 a 16:00 horas, de lunes a viernes. Para citas de primera vez se atenderá de martes a viernes, por lo que al día se agendan máximo 6 pacientes de primera vez, ya que la duración de la consulta es, al menos, una hora por paciente.
- 3.2 Para la atención de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario, los pacientes del Instituto Nacional de Cancerología deben ser referidos por el servicio médico tratante, quien haya identificado factores de riesgo o antecedentes de sospecha de un síndrome de cáncer hereditario.
- 3.2 Se deberá corroborar la referencia para la atención a la Clínica de Cáncer Hereditario, a través de la nota escrita por el médico tratante solicitando el carnet del paciente y se verificará en la nota del expediente clínico electrónico la referencia. En el caso que no se encuentre una referencia en la nota médica, se aceptará como evidencia de referencia, alguno de los formatos utilizados en el Instituto, ya sea en el carnet o en un documento anexo al mismo, con firma/nombre/sello, del médico que canaliza a la consulta.
- 3.3 Una vez que se corrobore la referencia para la atención a la Clínica de Cáncer Hereditario, se le explicará y entregará de forma impresa al paciente, el formato Genética Consulta de Inclusión, con la información que deberá traer para el día de la cita.
- 3.4 Todo paciente deberá proporcionar la siguiente información, con el mayor detalle posible, con el fin de elaborar un árbol genealógico de al menos 3 generaciones:
- Edad actual y/o al fallecimiento de sus padres, hijos y hermanos.
 - Edad actual y/o al fallecimiento de tías y tíos (maternos y paternos).
 - Lista de familiares con cáncer (parentesco; tipo de cáncer; edad al diagnóstico; edad actual o de fallecimiento).
 - Reportes médicos, de patología, o actas/certificados de defunción, donde se indique el tipo de tumor que padecieron los familiares (El documento con mayor valor informativo es el reporte de Histología/Patología).

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 3
	1. Procedimiento para la generación de citas de primera vez a la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 11

3.5 Una vez asignada la fecha de consulta se imprime la papeleta de cita en la cual se detalla:

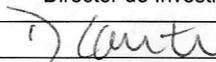
- Nombre y expediente del paciente
- Día y hora de la consulta
- Consultorio en el cual se efectuará la consulta médica
- Datos del personal administrativo que emitió la papeleta
- Fecha y hora de emisión de papeleta

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 4
	1. Procedimiento para la generación de citas de primera vez a la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 11

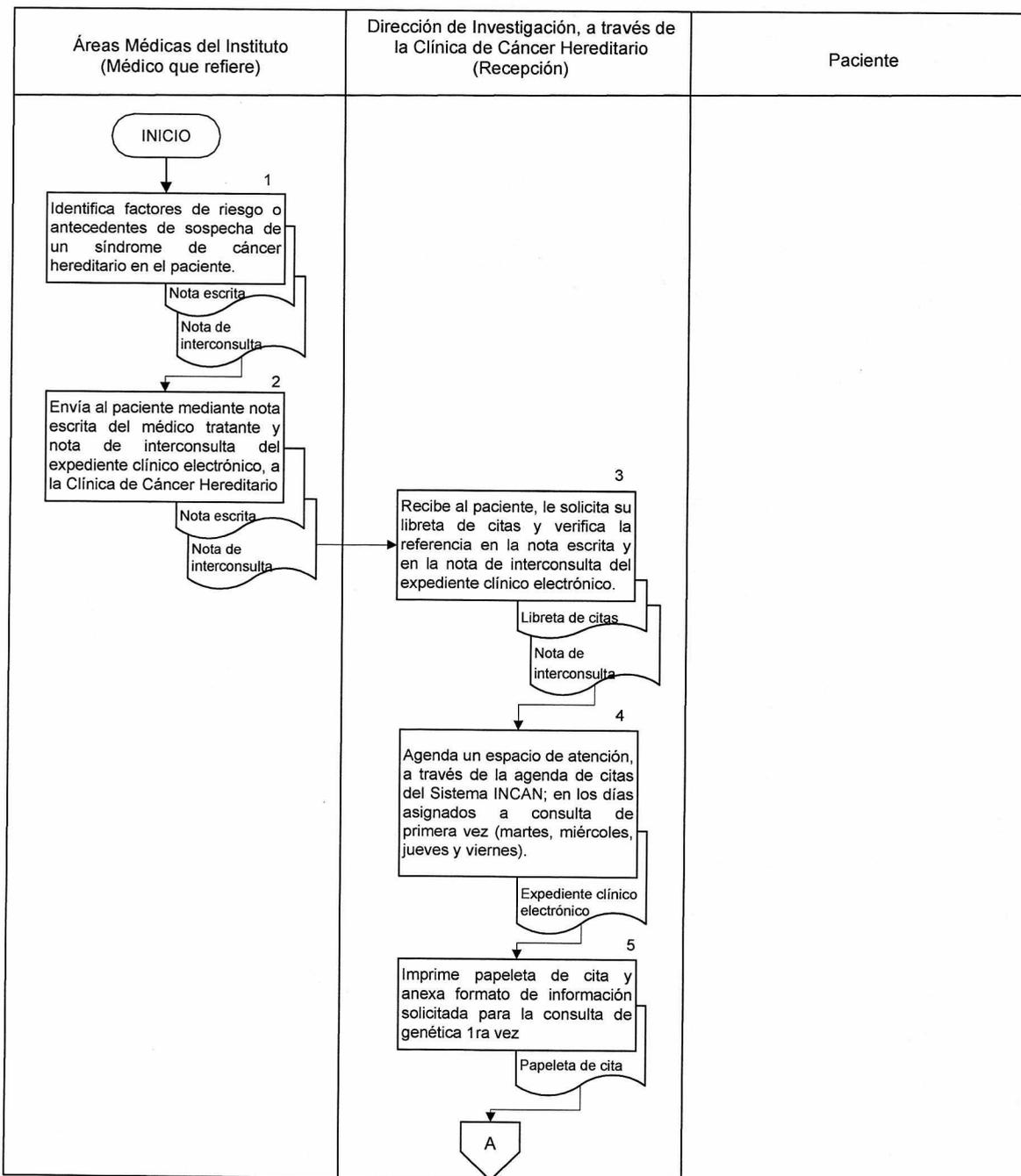
4. DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO

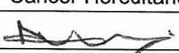
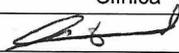
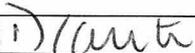
Responsable	No. Act.	Descripción de actividades	Documentos o Anexos
Áreas Médicas del Instituto (Médico que refiere)	1	Identifica : factores de riesgo o antecedentes de sospecha de un síndrome de cáncer hereditario en el paciente.	<ul style="list-style-type: none"> - Nota escrita - Nota de interconsulta
	2	Envía al paciente mediante nota escrita del médico tratante y nota de interconsulta del expediente clínico electrónico, a la Clínica de Cáncer Hereditario.	
Dirección de Investigación, a través de la Clínica de Cáncer Hereditario (Recepción)	3	Recibe al paciente, le solicita su libreta de citas y verifica la referencia en la nota escrita y en la nota de interconsulta del expediente clínico electrónico.	<ul style="list-style-type: none"> - Libreta de citas - Nota escrita - Nota de interconsulta - Papeleta de cita - Formato Genética Consulta de Inclusión
	4	Agenda un espacio de atención, a través de la agenda de citas del Sistema INCAN; en los días asignados a consulta de primera vez (martes, miércoles, jueves y viernes).	
	5	Imprime papeleta de cita y anexa formato de información solicitada para la consulta de genética 1ra vez.	
	6	Entrega papeleta de cita, libreta de citas y formato de información al paciente explicándole la información que deberá traer para el día de la cita.	
Paciente	7	Recibe papeleta, libreta de citas, así como formato Genética Consulta de Inclusión, con información a considerar para la consulta de primera vez.	<ul style="list-style-type: none"> - Libreta de citas - Papeleta de cita. - Formato Genética Consulta de Inclusión
	8	Acude el día y hora de su cita programada. TERMINA	

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

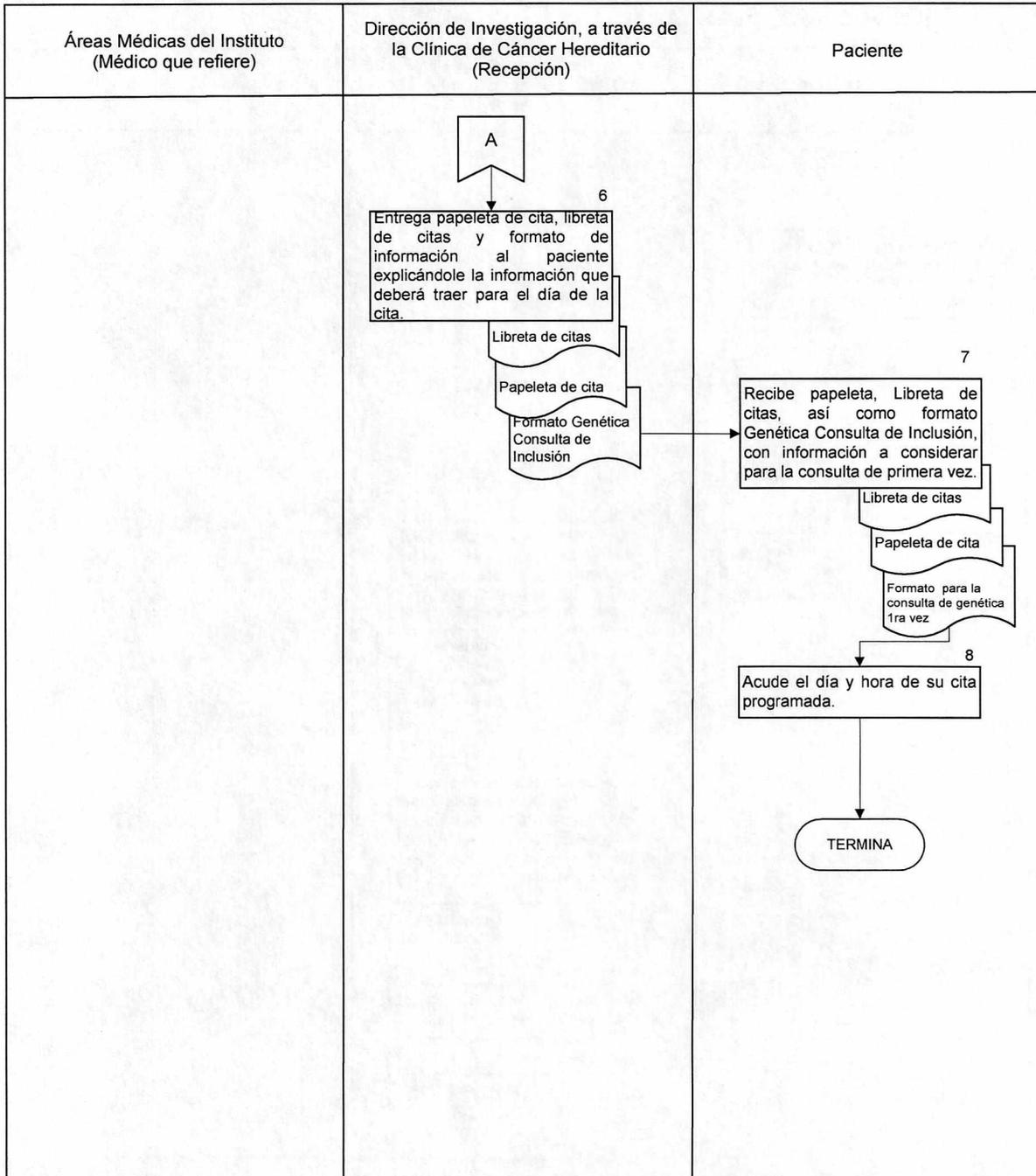
	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 5
	1. Procedimiento para la generación de citas de primera vez a la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 11

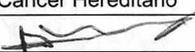
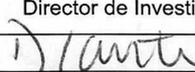
5. DIAGRAMA DE FLUJO



CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 6
	1. Procedimiento para la generación de citas de primera vez a la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 11



CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 7
	1. Procedimiento para la generación de citas de primera vez a la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 11

6. DOCUMENTOS DE REFERENCIA

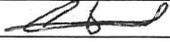
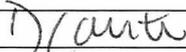
Documentos	Código (cuando aplique)
6.1 Ley Orgánica de la Administración Pública Federal	N/P
6.2 Ley de los Institutos Nacionales de Salud	N/P
6.3 Reglamento Interior de la Secretaría de Salud	N/P
6.4 Reglamento Interior de la Secretaría de la Función Pública	N/P
6.5 Estructura Orgánica Autorizada, vigente (Estructura, dictamen y oficio de la SFP)	N/P
6.6 Estatuto Orgánico y Decreto de creación del Instituto Nacional de Cancerología	N/P
6.7 Manual de Organización Específico del Instituto Nacional de Cancerología	N/P
6.8 Manual de Organización de la Dirección de Investigación	M.O./1.0.91.0.1
6.9 Guía Técnica para la Elaboración y Actualización de Manuales de Procedimientos de la Secretaría de Salud vigente	N/P
6.10 Lineamientos para la Elaboración, Actualización y Baja de Normas Internas del Instituto Nacional de Cancerología	N/P

7. REGISTROS

Registros	Tiempo de Conservación	Responsable de Conservarlo	Código de Registro o Identificación Única
Expediente Clínico Electrónico	Indefinido	Sistema INCAN	Número de expediente y nombre del paciente

8. GLOSARIO DEL PROCEDIMIENTO

- 8.1 Cáncer Hereditario:** Presentación de un padecimiento oncológico en donde es posible identificar a otros individuos en la misma familia con antecedentes contundentes de cáncer, con un patrón determinado de asociación y generalmente a edades tempranas de inicio.
- 8.2 CCH:** Clínica de Cáncer Hereditario.
- 8.3 Expediente clínico:** Al conjunto único de información y datos personales de un paciente, que se integra dentro de todo tipo de establecimiento para la atención médica, ya sea público, social o privado, el cual, consta de documentos escritos, gráficos, imagenológicos, electrónicos, magnéticos, electromagnéticos, ópticos, magneto-ópticos y de cualquier otra índole, en los cuales, el

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 8
	1. Procedimiento para la generación de citas de primera vez a la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 11

personal de salud deberá hacer los registros, anotaciones, en su caso, constancias y certificaciones correspondientes a su intervención en la atención médica del paciente, con apego a las disposiciones jurídicas aplicables.

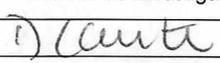
- 8.4 Formato:** Instrumento de registro estructurado, en donde se concentra información específica para un fin determinado.
- 8.5 Historia Clínica:** Documentar los antecedentes personales patológicos y no patológicos, resaltando los posibles factores ambientales de riesgo para el padecimiento actual, así como una exploración física.
- 8.6 Sistema INCAN:** Sistema informático vigente del Instituto Nacional de Cancerología.

9. CAMBIOS DE VERSIÓN EN EL PROCEDIMIENTO

Número de Revisión	Fecha de la Actualización	Descripción del Cambio
No Aplica	No Aplica	No Aplica

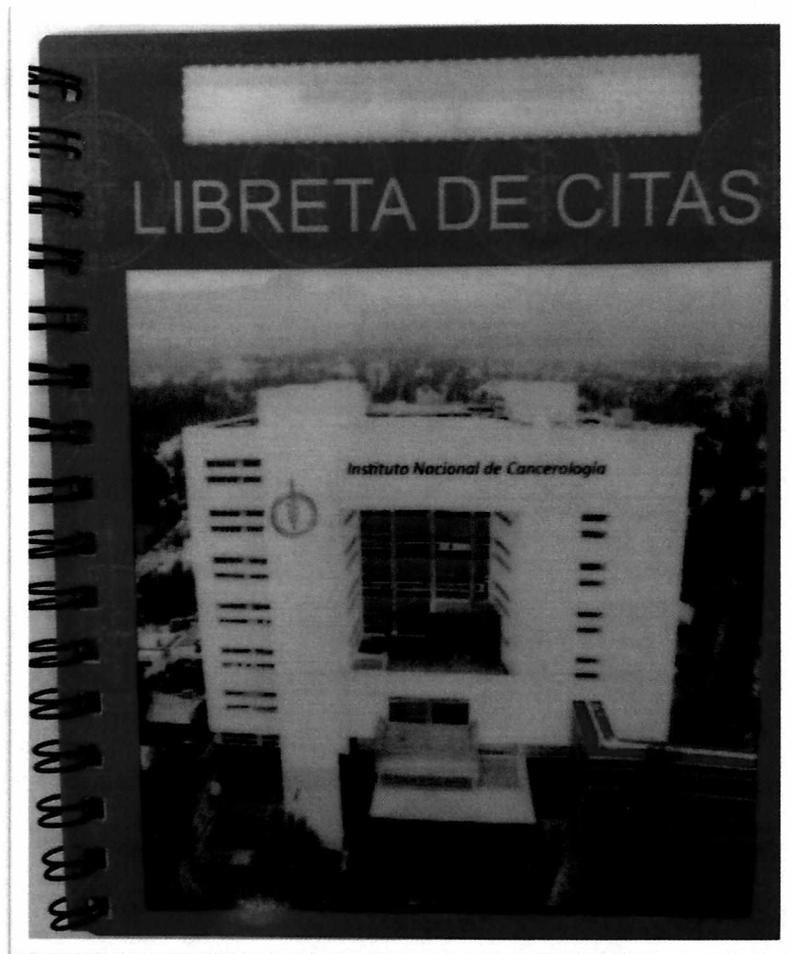
10. ANEXOS

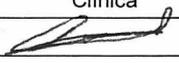
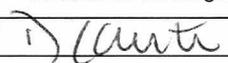
- 10.1** Libreta de citas
- 10.2** Papeleta de cita
- 10.3** Formato Genética Consulta de Inclusión

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 9
	1.Procedimiento para la generación de citas de primera vez a la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 11

10.1 Libreta de citas

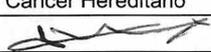
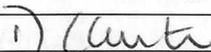


CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 10
	1. Procedimiento para la generación de citas de primera vez a la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 11

10.2 Papeleta de Cita

	Instituto Nacional de Cancerología de México		
	NOMBRE DEL PACIENTE (GEN000129)		 <small>v 3.0.1</small>
Su próxima cita es el día: <input type="text" value="Jueves 08 de Julio de 2021 a las: 12:00 p.m."/>			
CCH1 GENÉTICA	CONSULTA PROTOCOLO CCH1 GENÉTICA / Por orden médica	08-07-2021 12:00 p.m.	
FALTA DE PAGO		ID único:	49718237
Indicaciones:			
Consultorio:	CCH1 GENÉTICA		
			
"ANTES DE RETIRARSE, VERIFIQUE QUE LA INFORMACIÓN IMPRESA SEA LA CORRECTA Y COINCIDA CON SUS DATOS"			
Usuario que generó la cita: RENTERIA TREJO NIEVES GUADALUPE		Impreso el día 07/07/2021 a las 11:53 hrs.	Pág. 1 de 1
Usuario que imprime: RENTERIA TREJO NIEVES GUADALUPE			20498

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

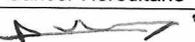
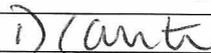
 SALUD SECRETARÍA DE SALUD	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 11
	1. Procedimiento para la generación de citas de primera vez a la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 11

10.3 Formato Genética Consulta de Inclusión

**INFORMACIÓN NECESARIA PARA
CONSULTA DE PRIMERA VEZ
EN CLÍNICA DE CÁNCER HEREDITARIO (GENÉTICA)**

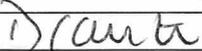


- ❖ **Edad actual de madre, padre, hermanas (os) e hijas (os)**
 - ❖ En caso de fallecimiento, la edad a la que fallecieron.
- ❖ **Edad actual de tías y tíos (hermanas (os) de madre y padre), así como el número de hijas e hijos que tienen o tuvieron.**
 - ❖ En caso de fallecimiento, la edad a la que fallecieron.
- ❖ **Lista de familiares que padecen o padecieron cáncer:**
 - ❖ Especificar el parentesco; tipo de cáncer o tumor; edad al diagnóstico; edad actual o al fallecimiento.
 - ❖ Traer reportes médicos, de patología o actas/certificados de defunción que indiquen el diagnóstico de los familiares con cáncer (copias).
 - ❖ La información con mayor valor informativo del diagnóstico se encuentra en el reporte de patología/histología.
 - ❖ De no contar con documentos o reportes del diagnóstico, investigar al menos, la localización del cáncer o tumor (por ejemplo, si fue cáncer de ovario, útero o cervico-uterino).

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 1
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

2. PROCEDIMIENTO PARA LA ATENCIÓN DE PACIENTES DE PRIMERA VEZ EN LA CLÍNICA DE CÁNCER HEREDITARIO

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 2
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

1. PROPÓSITO

Brindar atención de calidad y calidez a los pacientes que acuden a cita de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario, a fin de determinar si son pacientes de alto riesgo hereditario de cáncer, ameritando un diagnóstico y seguimiento específico en la Clínica de Cáncer Hereditario (CCH).

2. ALCANCE

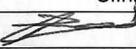
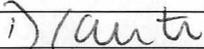
- 2.1 A Nivel Interno: el procedimiento es aplicable a la Dirección de investigación, a través de la Clínica de Cáncer Hereditario, que verifica si el paciente cumple con criterios de Síndrome de Cáncer Hereditario, brinda el asesoramiento oportuno, informándole las limitaciones y ventajas del mismo al paciente y realiza estudio molecular, en su caso.

3. POLÍTICAS DE OPERACIÓN, NORMAS Y LINEAMIENTOS

- 3.1 La Clínica de Cáncer Hereditario brindará atención a pacientes del Instituto Nacional de Cancerología en un horario de 8:00 a 16:00 horas, de lunes a viernes. Para citas de primera vez se atenderá de martes a viernes, por lo que al día se agendan máximo 6 pacientes de primera vez, ya que la duración de la consulta es, al menos, una hora por paciente.
- 3.2 El laboratorio de la CCH realizará acciones de diagnóstico molecular y citogenético, así como investigación, en un horario de 8:00 a 18:00 horas.
- 3.3 Para poder llevar acabo estudio sanguíneo, se deberá contar con el consentimiento del paciente, sin embargo, su negativa no será condicionante para el seguimiento y atención futura.

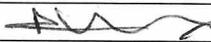
Primera Fase: Consulta de 1ª Vez (1ª Consulta)

- 3.4 Se realiza el abordaje al paciente evaluando la causa de la consulta (motivo de referencia) que debería estar orientado en los criterios generales de sospecha en cáncer hereditario. Sin embargo, el paciente con deseos de conocer su riesgo de heredar o padecer cáncer puede ser referido independientemente de sus antecedentes familiares oncológicos.
- 3.5 Se realiza el árbol genealógico de tres generaciones enfatizando los antecedentes oncológicos, grados de parentesco de los afectados, edad al diagnóstico y/o defunción, evolución y complicaciones presentados. Es de suma importancia contar con la documentación necesaria para comprobar la veracidad de la información proporcionada por el paciente (informes médicos e histopatológicos, en la medida de lo posible) ya que determinará la toma de decisiones respecto al resto del abordaje. De tal manera que, de considerarse necesario, se darán consultas subsecuentes para ampliar/verificar la información de los antecedentes relevantes de la genealogía.
- 3.6 Se documentarán los antecedentes personales patológicos y no patológicos, resaltando los posibles factores ambientales de riesgo para el padecimiento actual.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 3
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

- 3.7** Se realizará una exploración física completa y no sólo focalizada a la región o área afectada, con el fin de encontrar dismorfias u otras alteraciones que permitan integrar una entidad sindrómica o que permitan detectar extensión o complicaciones inherentes al diagnóstico de base.
- 3.8** Se revisarán los estudios paraclínicos (bioquímicos, de gabinete, histopatología, moleculares si cuenta con ellos) para poder realizar una evaluación integral del paciente y su padecimiento.
- 3.9** De acuerdo a lo anterior, se determinará la posibilidad de que el paciente tenga el riesgo de presentar un Síndrome de Cáncer Hereditario.
- 3.10** Se brindará asesoramiento genético de acuerdo al riesgo determinado. De encontrarse que no corresponde a una entidad hereditaria, se informaran los mecanismos genéticos del cáncer en general (adecuado a su nivel de escolaridad y cultura), el carácter de esporádico de su padecimiento y los factores de riesgo asociados; las medidas de prevención poblacionales, extensibles a su familia y se le indicará continuar su seguimiento por su/sus médicos tratantes con cita abierta para aclarar dudas o reforzar la información.
- 3.11** Si el paciente presenta el diagnóstico clínico de un Síndrome de Cáncer Hereditario, se brindará el asesoramiento genético oportuno, informándole las limitaciones y ventajas del mismo. Se agendará una cita posterior para continuar con su atención.
- 3.12** Se analizará el diagnóstico clínico concluido para determinar si se encuentra ante una familia de bajo o alto riesgo, lo cual se determinará de acuerdo al número de afectados en la familia; edades al momento del diagnóstico y edades al fallecimiento, si fuera el caso; número de neoplasias por individuo; evolución de las neoplasias, respuesta al tratamiento y pronóstico.
- 3.13** Si se encontrará ante una familia de bajo riesgo, la conducta estaría enfocada a la vigilancia, seguimiento y prevención de acuerdo al síndrome de cáncer hereditario, para lo cual se harían visitas subsecuentes con la periodicidad que se considera pertinente de acuerdo a la historia natural de la enfermedad (ej. semestral o anual). Las medidas serían extensibles a los familiares en riesgo que desearan someterse a la misma.
- 3.14** En una familia de alto riesgo, se propondría la realización del estudio molecular de encontrarse disponible. Si no se encontrará disponible (razones técnicas, económicas o institucionales) se propondría al paciente medidas de vigilancia, seguimiento y prevención, así como toma de muestra de sangre periférica para obtención de DNA para la construcción de un banco, en caso de que existiera el estudio molecular en un tiempo futuro (previo consentimiento informado). El hecho de que el paciente no aceptará la toma de muestra para la construcción de un banco de DNA, no sería condicionante para continuar con su seguimiento de la misma forma que a los pacientes que si aceptan donar una muestra.
- 3.15** En caso de contar con disponibilidad del estudio, se obtendrá una muestra 10 a 15 ml. de sangre periférica, mediante técnicas de asepsia y antisepsia y previo consentimiento informado, y se procesará de acuerdo a los lineamientos técnicos para obtención de DNA y el respectivo análisis según el gen/genes involucrados.

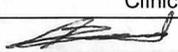
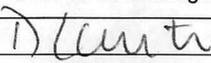
CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 4
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

4. DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO

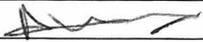
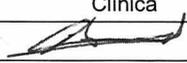
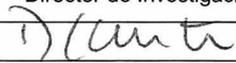
Responsable	No. Act.	Descripción de actividades	Documentos o Anexos
Dirección de Investigación, a través de la Clínica de Cáncer Hereditario (Recepción)	1	Recibe al paciente y verifica en la Libreta de citas, la cita establecida, fecha y hora y confirma fecha en el expediente clínico electrónico.	<ul style="list-style-type: none"> - Libreta de citas - Expediente clínico electrónico
	2	Indica al paciente esperar en sala de espera para ser llamado por el médico.	
Dirección de Investigación, a través de la Clínica de Cáncer Hereditario (Médico Genetista)	3	Recibe al paciente, revisa en la nota del expediente clínico electrónico, la referencia de interconsulta a la Clínica de Cáncer Hereditario.	<ul style="list-style-type: none"> - Nota del expediente clínico electrónico
	4	Verifica si cumple con criterios de Síndrome de Cáncer Hereditario, elaborando historia clínica y árbol genealógico y determina: ¿Cumple con los criterios?	
	5	No: Brinda asesoramiento genético referente al carácter esporádico de su padecimiento, medidas generales de prevención e indica continuar seguimiento por médico de referencia. TERMINA	
	6	Si: Brinda asesoramiento genético informando los riesgos asociados, limitaciones de este y hace estimación individual y familiar del riesgo de cáncer hereditario.	
	7	Invita al paciente a participar en el protocolo de investigación para realizar el estudio molecular.	
Paciente	8	Recibe invitación por parte del médico genetista, para participar en el protocolo de investigación y realización de estudio molecular y emite su decisión al médico.	

CONTROL DE EMISIÓN

	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

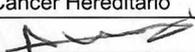
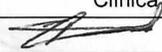
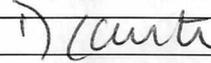
	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 5
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

Responsable	No. Act.	Descripción de actividades	Documentos o Anexos
Dirección de Investigación, a través de la Clínica de Cáncer Hereditario (Médico Genetista)	9	Recibe decisión por parte del paciente y determina: ¿Se realizará el estudio al paciente?	- Consentimiento informado
	10	No: El paciente no desea participar en el proyecto de investigación, se deja consulta abierta. TERMINA	
	11	Si: Solicita al paciente que firme el consentimiento informado del protocolo de investigación bajo el cual se hará el estudio molecular.	
	12	Verifica viabilidad para llevar a cabo el protocolo de investigación, considerando condición médica del paciente y temas administrativos y determina: ¿Existe viabilidad para llevar a cabo el protocolo de investigación?	
	13	No: Realiza vigilancia y seguimiento, en espera de realización estudio molecular. Regresa a la actividad número 12.	
	14	Si: Solicita a la enfermera toma de muestra de sangre del paciente.	
Dirección de Investigación, a través de la Clínica de Cáncer Hereditario (Enfermera)	15	Toma una muestra de sangre al paciente, de acuerdo al procedimiento general de Toma de Muestra de Sangre (Anexo 1).	- Toma de Muestra de Sangre (Anexo 1)
	16	Entrega al médico genetista la muestra del paciente para elaboración del estudio molecular, debidamente identificada. Pasa a la actividad número 19.	
	17	Indica al paciente que deberá solicitar cita subsecuente en la recepción. Pasa a la actividad número 18.	

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

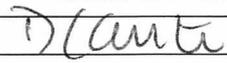
	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 6
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

Responsable	No. Act.	Descripción de actividades	Documentos o Anexos
Dirección de Investigación, a través de la Clínica de Cáncer Hereditario (Recepción)	18	Recibe al paciente, agenda cita subsecuente a través del Sistema INCAN, imprime papeleta de citas y la entrega al paciente.	- Papeleta de citas
Dirección de Investigación, a través de la Clínica de Cáncer Hereditario (Médico Genetista)	19	Recibe de la enfermera la muestra de sangre del paciente para la elaboración del estudio molecular.	- Bitácora de ingreso de muestras de laboratorio
	20	Verifica los datos del paciente para el etiquetado de muestras (nombre completo del paciente, número de expediente, fecha de nacimiento, edad del paciente, fecha de toma de muestra).	
	21	Registra la muestra en la Bitácora de ingreso de muestras de laboratorio, en la cual asigna un número de identificador único consecutivo.	
	22	Coloca en la etiqueta de la muestra el Identificador Único Consecutivo.	
	23	Coloca la muestra en el refrigerador de ingreso de muestras a 4° C.	
Dirección de Investigación, a través de la Clínica de Cáncer Hereditario (Investigador A)	24	Inicia con el estudio de investigación, de conformidad al Anexo 2 Área de Laboratorio de Diagnóstico.	- Anexo 2 Área de Laboratorio de Diagnóstico
Dirección de Investigación, a través de la Clínica de Cáncer Hereditario (Investigador B)	25	Emite un reporte de resultados técnico electrónico de conformidad al Anexo 3 Área de Laboratorio de Investigación.	- Reporte de resultados técnico electrónico
	26	Envía reporte de resultados técnico electrónico al médico genetista.	- Anexo 3 Área de Laboratorio de Investigación

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

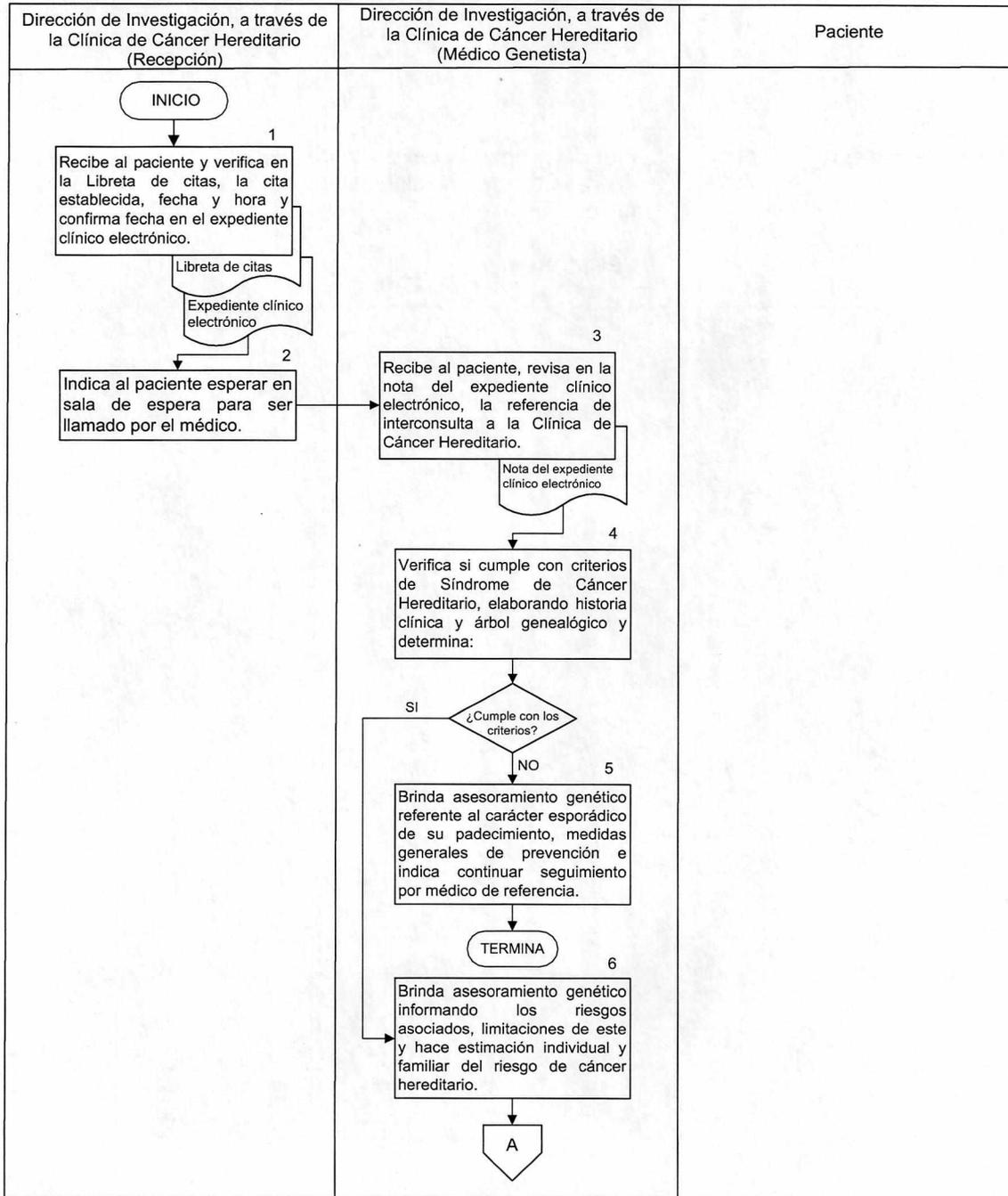
	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 7
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

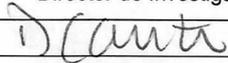
Responsable	No. Act.	Descripción de actividades	Documentos o Anexos
Dirección de Investigación, a través de la Clínica de Cáncer Hereditario (Médico Genetista)	27	Recibe reporte de resultados técnico electrónico.	- Reporte de resultados técnico electrónico
	28	Convoca y coordina sesión multidisciplinaria para discutir y elaborar el reporte de resultados de estudio molecular.	- Reporte de resultados de estudio molecular
		TERMINA	

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 8
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

5. DIAGRAMA DE FLUJO



CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		



MANUAL DE PROCEDIMIENTOS

Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)

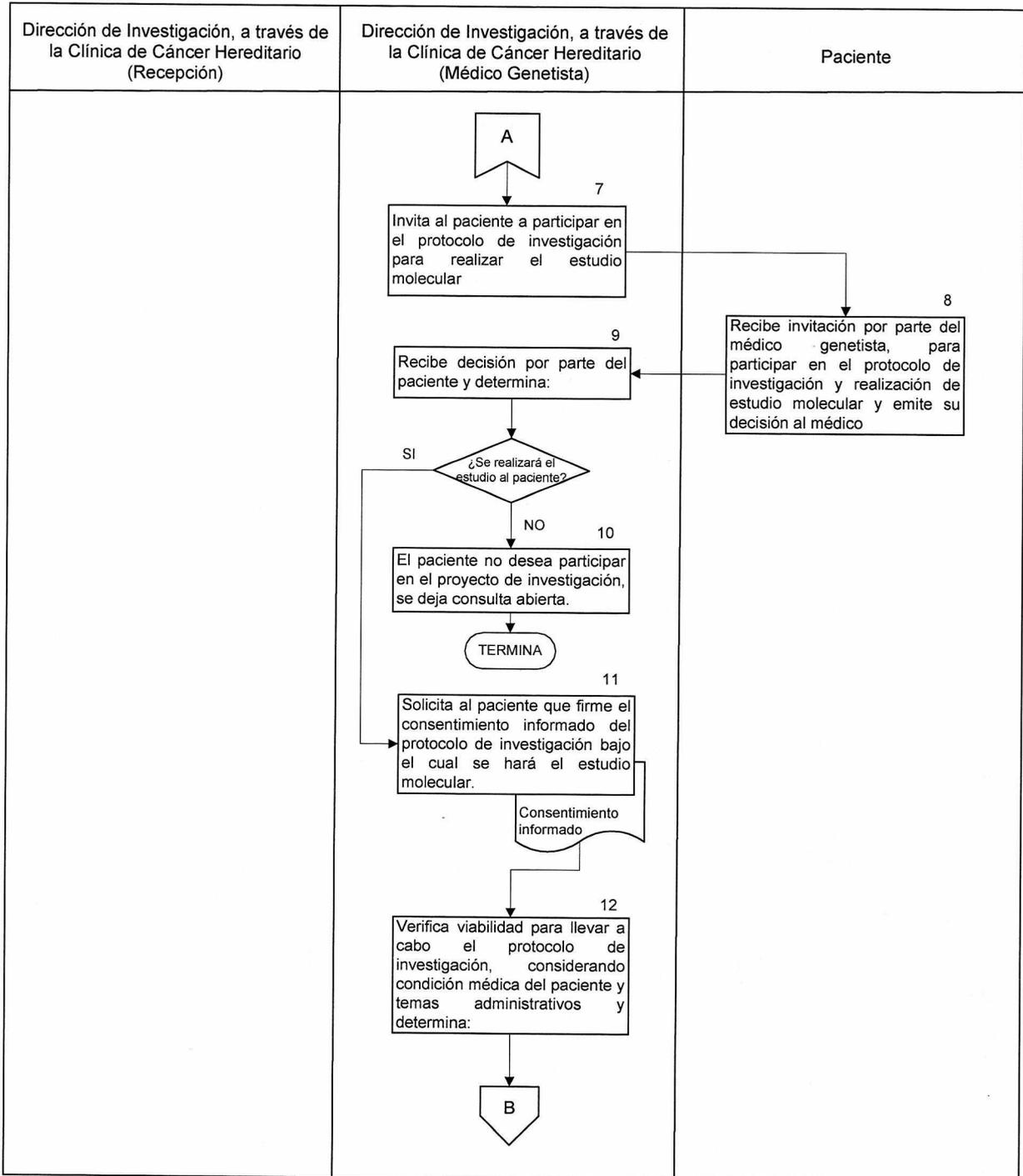
2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario



REV: 00

HOJA: 9

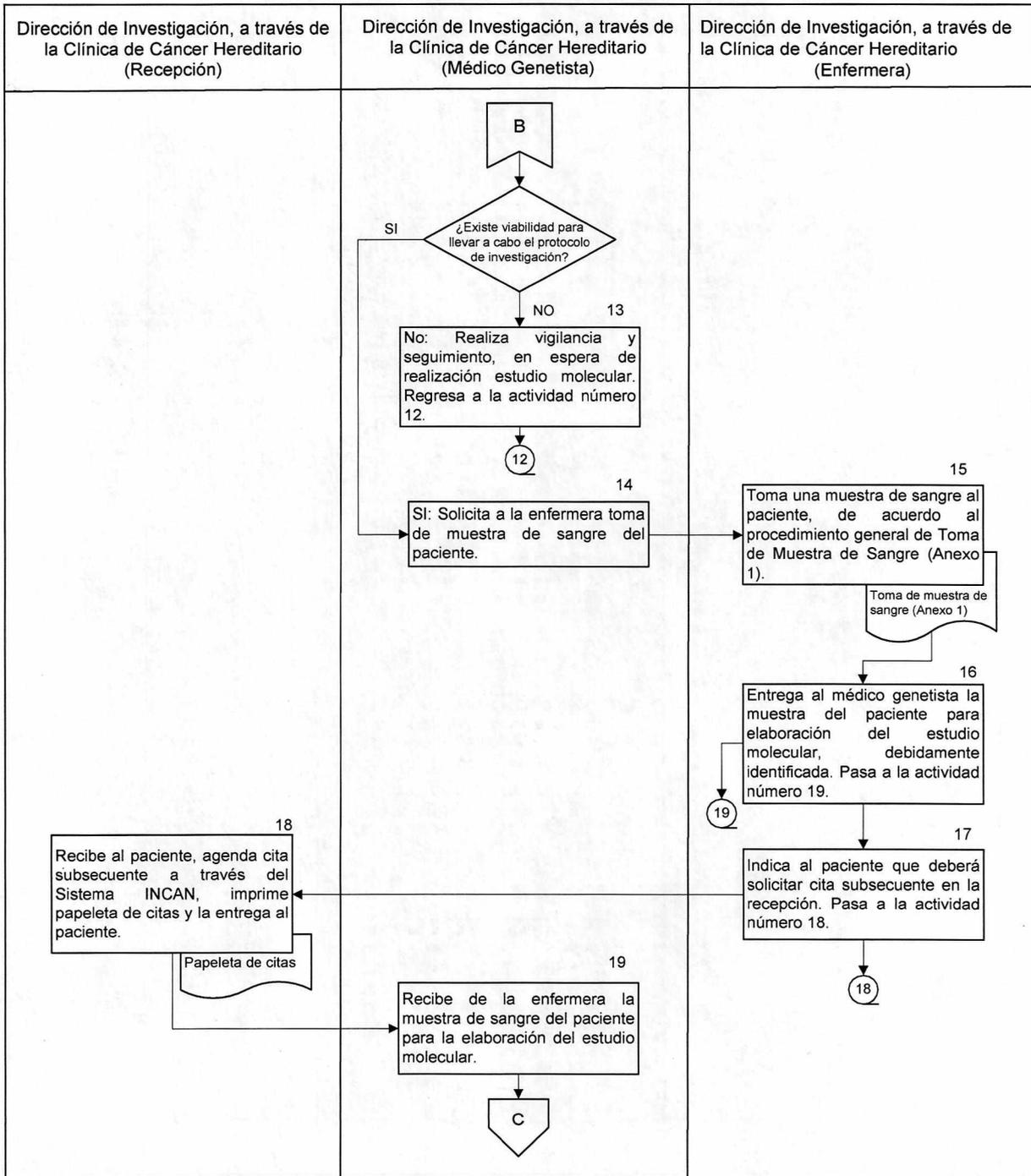
DE: 115

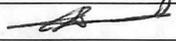
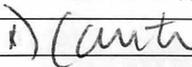


CONTROL DE EMISIÓN

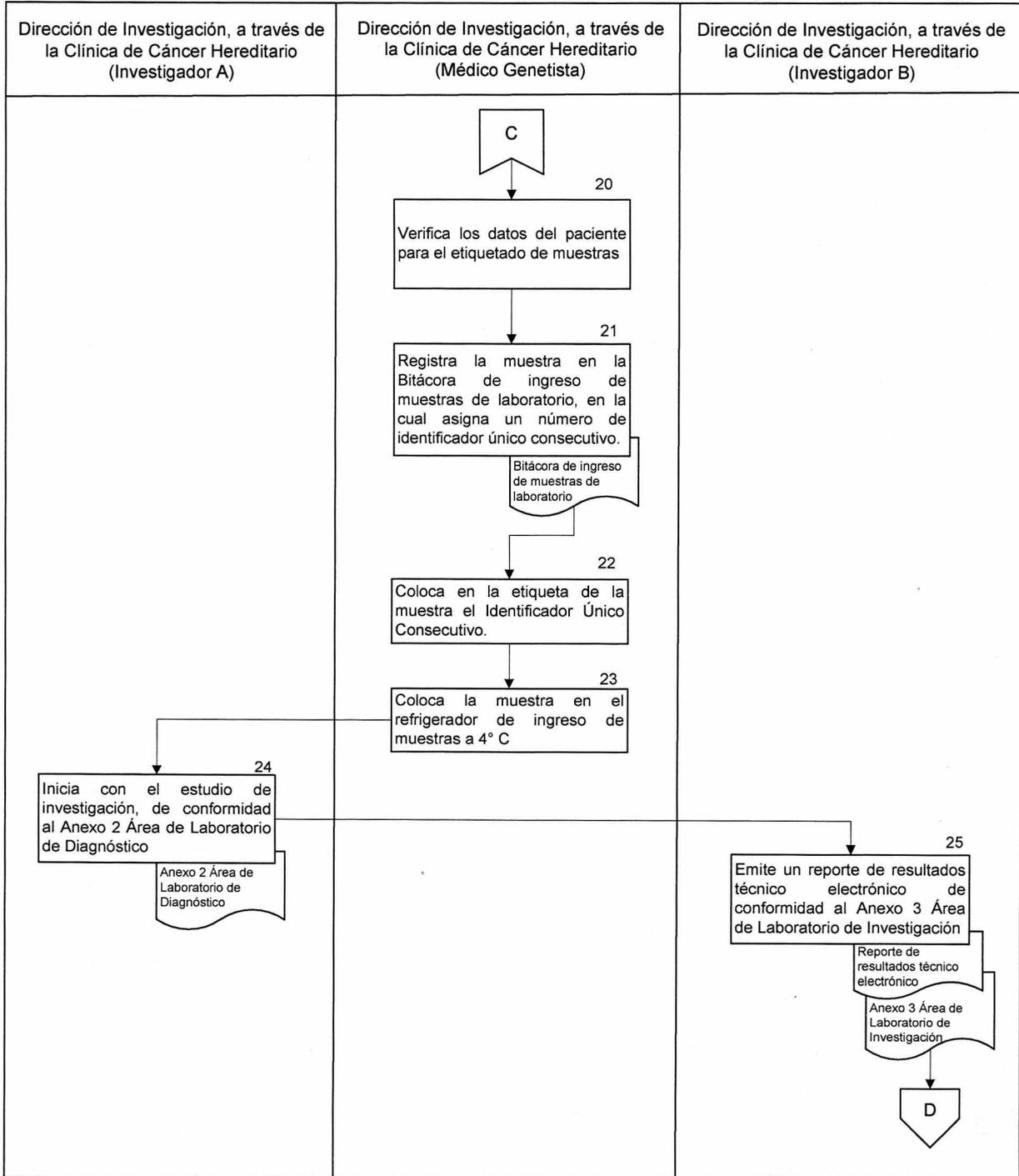
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

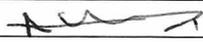
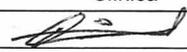
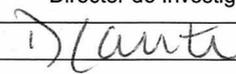
	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 10
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115



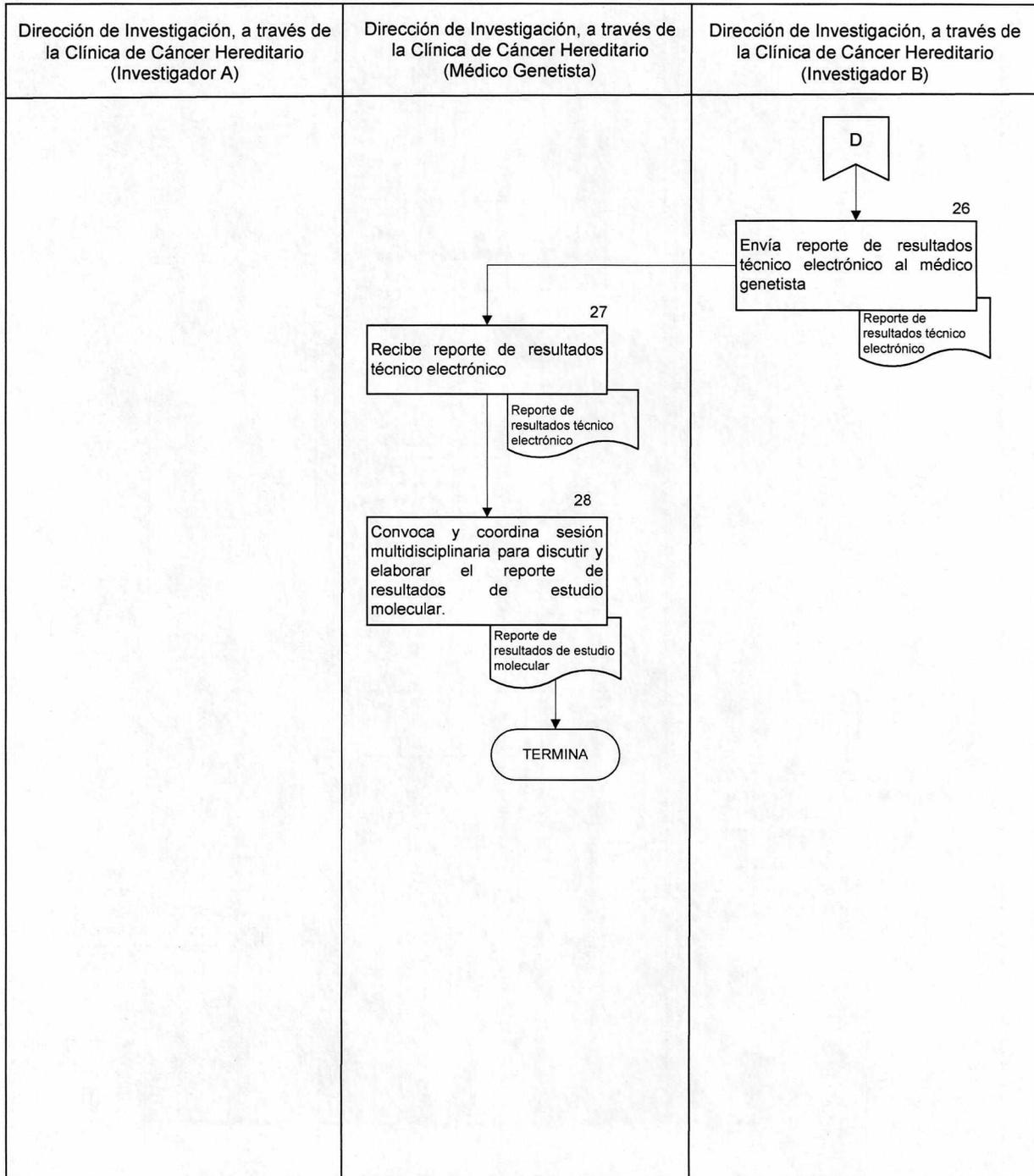
CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

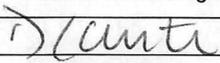
	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 11
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115



CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 12
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115



CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

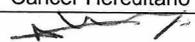
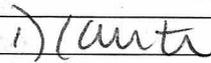
 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 13
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

6. DOCUMENTOS DE REFERENCIA

Documentos	Código (cuando aplique)
6.1 Ley Orgánica de la Administración Pública Federal	N/P
6.2 Ley de los Institutos Nacionales de Salud	N/P
6.3 Reglamento Interior de la Secretaría de Salud	N/P
6.4 Reglamento Interior de la Secretaría de la Función Pública	N/P
6.5 Estructura Orgánica Autorizada, vigente (Estructura, dictamen y oficio de la SFP)	N/P
6.6 Estatuto Orgánico y Decreto de creación del Instituto Nacional de Cancerología	N/P
6.7 Manual de Organización Específico del Instituto Nacional de Cancerología	N/P
6.8 Manual de Organización de la Dirección de Investigación	M.O./1.0.91.0.1
6.9 Guía Técnica para la Elaboración y Actualización de Manuales de Procedimientos de la Secretaría de Salud vigente	N/P
6.10 Lineamientos para la Elaboración, Actualización y Baja de Normas Internas del Instituto Nacional de Cancerología	N/P

7. REGISTROS

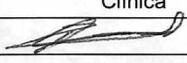
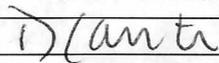
Registros	Tiempo de Conservación	Responsable de Conservarlo	Código de Registro o Identificación Única
Expediente Clínico Electrónico	Indefinido	Sistema INCAN	Número de expediente y nombre del paciente
Bitácora de ingreso de muestras de laboratorio	Acorde al tiempo de conservación aprobado por los Comités locales de Investigación.	Dirección de Investigación, a través de la Clínica de Cáncer Hereditario	Identificador U-, seguido del número consecutivo que corresponda
Reporte de resultados de estudio molecular	Acorde al tiempo de conservación aprobado por los Comités locales de Investigación.	Dirección de Investigación, a través de la Clínica de Cáncer Hereditario	Identificador U-, seguido del número consecutivo que corresponda. Identificador HCC, seguido del número consecutivo que corresponda

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		HOJA: 14 DE: 115

8. GLOSARIO DEL PROCEDIMIENTO

- 8.1 Asesoramiento genético:** Proceso de información y comunicación no directiva a las personas y familias en situación de riesgo de cáncer, en lo que se refiere a la probabilidad de presentar ó transmitir a su descendencia una determinada susceptibilidad genética a desarrollar una neoplasia, sobre sus implicaciones, así como la posibilidad de realizar un diagnóstico molecular, y cuáles son las medidas disponibles para la prevención y el diagnóstico precoz.
- 8.2 Cáncer Hereditario:** Presentación de un padecimiento oncológico en donde es posible identificar a otros individuos en la misma familia con antecedentes contundentes de cáncer, con un patrón determinado de asociación y generalmente a edades tempranas de inicio.
- 8.3 CCH:** Clínica de Cáncer Hereditario.
- 8.4 Expediente clínico:** Al conjunto único de información y datos personales de un paciente, que se integra dentro de todo tipo de establecimiento para la atención médica, ya sea público, social o privado, el cual, consta de documentos escritos, gráficos, imagenológicos, electrónicos, magnéticos, electromagnéticos, ópticos, magneto-ópticos y de cualquier otra índole, en los cuales, el personal de salud deberá hacer los registros, anotaciones, en su caso, constancias y certificaciones correspondientes a su intervención en la atención médica del paciente, con apego a las disposiciones jurídicas aplicables.
- 8.5 Formato:** Instrumento de registro estructurado, en donde se concentra información específica para un fin determinado.
- 8.6 Historia Clínica:** Documentar los antecedentes personales patológicos y no patológicos, resaltando los posibles factores ambientales de riesgo para el padecimiento actual, así como una exploración física.
- 8.7 Penetrancia:** La proporción de individuos que presentan una mutación causante de una patología determinada y muestran síntomas clínicos de esa patología. Una condición (generalmente heredada en forma autosómica dominante) se dice que tiene penetrancia si los síntomas clínicos están presentes en los individuos con la mutación que causa la enfermedad, y se dice que uno tiene penetrancia reducida o penetrancia incompleta si los síntomas completos no están siempre presentes en las enfermedades en los individuos que tienen la mutación causante de la enfermedad.
- 8.8 Relación Genotipo/Fenotipo:** Asociación entre la presencia de una determinada mutación o mutaciones y las pautas resultantes de anomalías.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 15
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

8.9 Sistema INCAN: Sistema informático vigente del Instituto Nacional de Cancerología.

9. CAMBIOS DE VERSIÓN EN EL PROCEDIMIENTO

Número de Revisión	Fecha de la Actualización	Descripción del Cambio
No Aplica	No Aplica	No Aplica

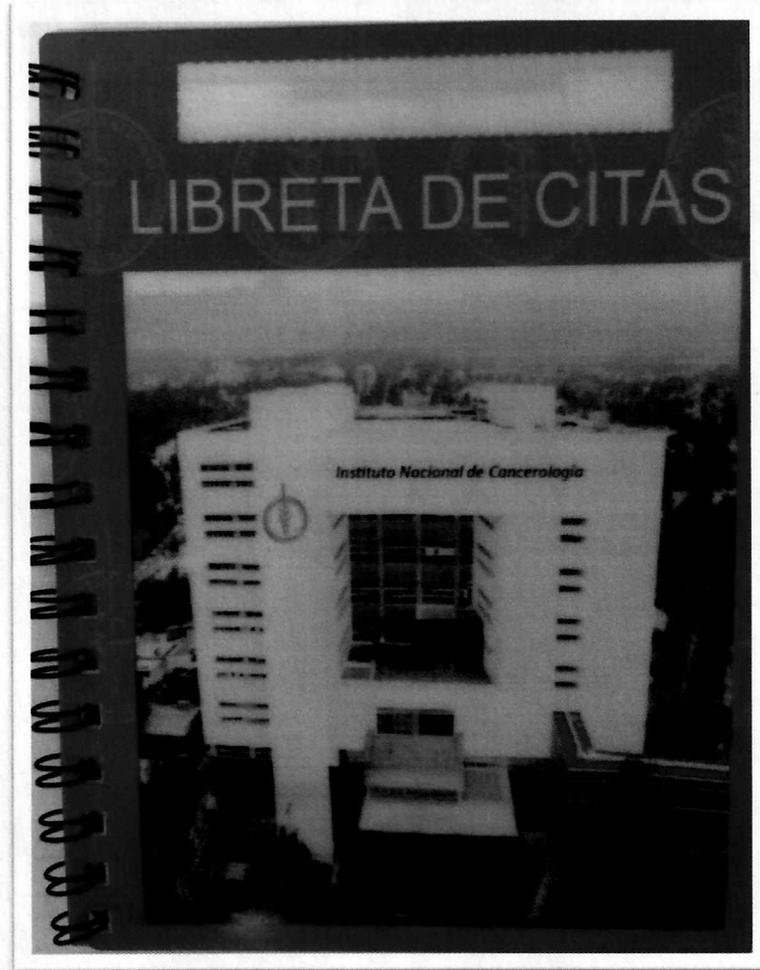
10. ANEXOS

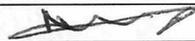
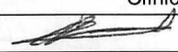
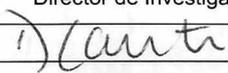
- 10.1 Libreta de citas
- 10.2 Papeleta de cita
- 10.3 ANEXO 1 TOMA DE MUESTRA DE SANGRE
- 10.4 ANEXO 2 ÁREA DE LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO
- 10.5 ANEXO 3 ÁREA DE LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN
- 10.6 ANEXO 4 GLOSARIO GENERAL

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 16
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

10.1 Libreta de citas

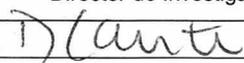


CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 17
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

10.2 Papeleta de Cita

	Instituto Nacional de Cancerología de México		v 3.0.1
NOMBRE DEL PACIENTE (GEN000129)			
Su próxima cita es el día: Jueves 08 de Julio de 2021 a las: 12:00 p.m.			
CCH1 GENÉTICA	CONSULTA PROTOCOLO CCH1 GENÉTICA / Por orden médica	08-07-2021 12:00 p.m.	
FALTA DE PAGO		ID único: 49718237	
Indicaciones:			
Consultorio: CCH1 GENÉTICA			
			
"ANTES DE RETIRARSE, VERIFIQUE QUE LA INFORMACIÓN IMPRESA SEA LA CORRECTA Y COINCIDA CON SUS DATOS"			
Usuario que generó la cita: RENTERIA TREJO NIEVES GUADALUPE		Impreso el día 07/07/2021 a las 11:53 hrs.	Pág. 1 de 1
Usuario que imprime: RENTERIA TREJO NIEVES GUADALUPE		20498	

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 18
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

10.3 ANEXO 1 TOMA DE MUESTRA DE SANGRE

❖ Toma de Muestra de Sangre

Consiste en la punción de una vena para la extracción de una muestra sanguínea, la región más frecuente utilizada es la fosa antero cubital.

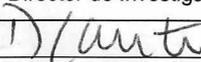
Venopunción: Es la introducción de una aguja o catéter a una vena. Se puede utilizar también un Vacutainer, este es un sistema cerrado al vacío para la recolección de muestras sanguíneas.

Material:

- Guantes (estériles o “NO” estériles)
- Ligadura
- Vacutainer (Aguja)
- Jeringas
- Toallas alcoholadas
- Tubos al vacío
- Parche

Procedimiento:

1. Verificar que se cuente con el material completo
2. Identificar al paciente
3. Explicar al paciente el procedimiento a realizar
4. Lavado de manos
5. Colocar cómodamente al paciente
6. Colocarse guantes
7. Colocar ligadura, mediante el tacto identificar sitio de punción, ya localizado desinfectar área de punción con las toallitas alcoholadas.
8. Colocar el bisel de la aguja o vacutainer hacia arriba con un ángulo de entre 15° y 30° respecto a la piel del paciente.
9. Conectar el vacutainer al tubo y recolectar la sangre deseada.
10. Retirar la ligadura
11. Retirar aguja de sitio de punción, colocar parche o toallita alcoholada.
12. Pedirle al paciente presionar fuertemente por 5 minutos el sitio de punción
13. Verificar estado del paciente.
14. Corroborar los datos del paciente para el etiquetado de la muestra
15. Retirar material utilizado.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 19
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		

10.4 ANEXO 2 ÁREA DE LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO

V. ÁREA DE LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO

5.1 Biología molecular

❖ EXTRACCIÓN DE ACIDO DESOXIRIBONUCLEICO (ADN)

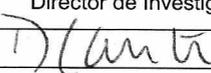
Objetivo: Extracción de ácidos nucleicos a partir de sangre periférica o saliva de un paciente y su almacenamiento para los análisis posteriores.

INTRODUCCIÓN

El ADN, o ácido desoxirribonucleico, es el material genético que se encuentra en las células de todos los organismos¹. La extracción y purificación de este ácido nucleico constituye la primera etapa de la mayoría de los estudios de biología molecular y de todas las técnicas de recombinación de ADN, por lo que es importante realizar correctamente el método de extracción que se elija según el tipo de estudio posterior para obtener un ADN de buena calidad y la pureza elementos más importantes para todo tipo de análisis genómicos

MATERIALES

- Guantes de nitrilo/ latex
- Micropipetas (Eppendorf™) de diferentes graduaciones volumétricas (De 0.5 a 10 µl, 20 a 200 µl, 100 a 1000 µl, 0.5 a 5 ml)
- Puntas de pipeta estándar Eppendorf™ (Esterilizadas)
- Tubos Eppendorf de 15 ml
- Gradillas para tubos eppendorf de 15 ml y 1.5 ml
- Microtubos con tapa a presión de 1.5 ml Axygen™
- Tubos de PCR con tapón plano de 0.2 ml Axygen™
- Criotubos estéril con tapa de rosca de 1.5 ml
- Cajas de almacenamiento para 100 tubos de 1.5 ml y 0.2 ml
- Matraz de 250 mL

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 20
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

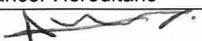
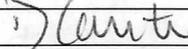
- Probeta 100 mL

REACTIVOS

- Kit de extracción de DNA comercial *Wizard® Genomic DNA Purification*
- RNase A (Thermo Scientific™, DNase and protease-free)
- Etanol (al 70%)
- Ampolleta de agua inyectable de 5ml PISA
- Agarosa
- Bromuro de etidio (EtBr) a una concentración de 0.5 g / ml))
- TAE (Tris, acetato y EDTA)
- Buffer de carga de gel 6X (compuesto de un 0.03% de bromofenol azul, un 0.03% de xileno cianol FF, 60 mM de EDTA, pH 7,6 y un 60% de glicerol)

EQUIPOS

- Centrifuga para tubos de 15 ml
- Microcentrifuga (tubos de 1.5 ml)
- NanoDrop 2000/2000c UV-Vis *Thermo Scientific*
- Balanza analítica
- Camara de Electroforesis
- Mezclador basculante de sangre y orina DIGISYSTEM SM-100
- Mezclador de Vortex, perfil bajo (LP) *Thermo Scientific*
- Microondas
- Refrigerador de conservación a 4°C
- Refrigerador de ultrabaja temperatura: de -70 a -80 °C

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 21
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

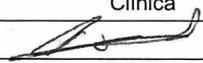
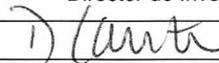
METODOLOGIA

Se planea el día en que se llevara a cabo la extracción del ácido desoxirribonucleico (DNA), por sus siglas en inglés *Deoxyribonucleic Acid*.

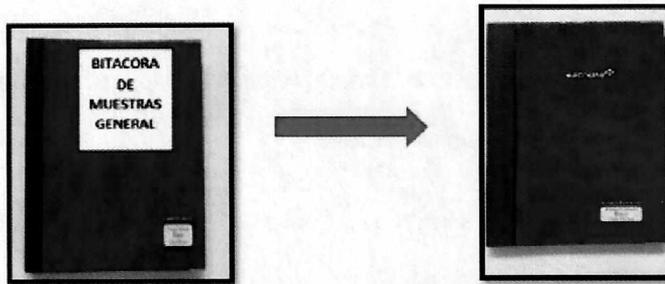
- Tomar la gradilla identificada con la etiqueta de: Muestras CCH (Siglas derivadas del nombre del servicio: Clínica de Cáncer Hereditario) ubicada en un refrigerador a una temperatura de 4°C . donde se encuentran colocadas las muestras de sangre periférica en un tubo Vacutainer (con tapón morado) con anticoagulante EDTA (Ácido etilendiaminotetraacético) en un volumen de 4 ml perfectamente etiquetados con los datos del paciente y con un código de identificación interno (ID) que consiste en la letra U seguida de un número consecutivo, de acuerdo a la bitacora de registro de muestras de los pacientes atendidos en la CCH para realizar estudio molecular.
- Ejemplo U2013*



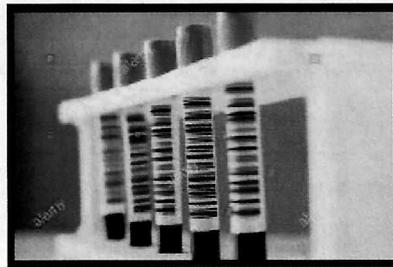
- Se registran las muestras en la bitacora del analista verificando que el nombre del paciente y su código sean correctos comparándolos con la información capturada en la bitacora de registro de muestras llenado por el médico genetista que otorgo el asesoramiento genético y toma la muestra.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

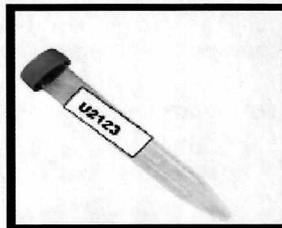
 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 22
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115



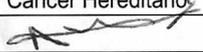
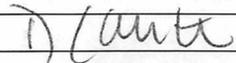
4. Se ordenan las muestras con respecto a su ID (números ascendentes) se dejan 10 minutos aproximadamente a temperatura ambiente.



5. Se colocan las muestras en orden en un rotador por 5 minutos con la finalidad de permitir la mezcla de los componentes sanguíneos.
6. Rotular tubos Eppendorf de 15 ml con el código de cada paciente ordenados en una



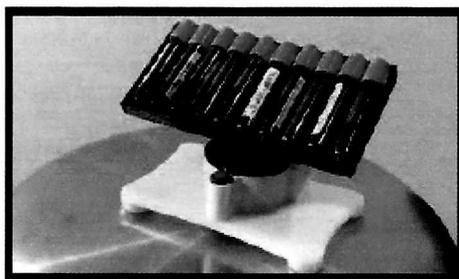
gradilla.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 23
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

7. Adicionar 6 ml de Buffer *Cell Lysis Solution* (todos los buffers que se utilizan en el protocolo para extracción de DNA a partir de células blancas son del Kit de extracción de DNA comercial *Wizard® Genomic DNA Purification Kit* además de *RNase Solution*). Una vez transcurrido el tiempo en el mezclador tomar 2 mililitros de sangre periférica de cada uno de las muestras por procesar.

¡Importante! Usar punta nueva para cada muestra



7.- Transcurrido el tiempo en el rotador centrifugar a $2.000 \times g$ durante 10 minutos a temperatura ambiente

8.- Colocar las muestras en rotador por 60 minutos a temperatura ambiente.

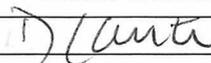
9.- centrifugar a $2.000 \times g$ en la centrifuga — durante 10 minutos a temperatura ambiente

NOTA: Cuidar el número de muestras y la cantidad de liquido en cada una de ellas para evitar el desbalance del equipo o equilibrar el peso con un tubo con agua.

10.- Retirar las muestras de la centrifuga y colocarlas en la gradilla de trabajo.

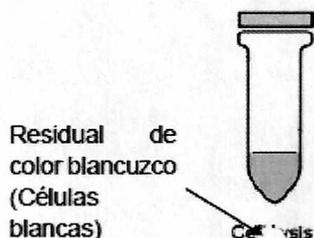
11.- Desechar en el contenedor correspondiente, sde acuerdo a la NOM-087-ECOL

SSA1-2002 sobre el manejo de residuos peligrosos biológico-infecciosos (RPBI), el

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 24
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

sobrenadante por decantación cuidando de preservar el contenido celular depositado en el fondo del tubo. Dejar aproximadamente 50–100 µl de líquido residual.



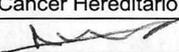
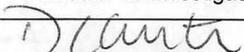
Nota: Si no se observa el residual color blancuzco en el fondo del tubo puede deberse a una baja cantidad de células blancas del paciente o a la pérdida del botón celular en uno de los lavados durante el proceso.

12.- Tapar cada uno de los tubos y agitar vigorosamente en el agitador por contacto Vortex por un minuto o hasta que los glóbulos blancos se resuspendan.

13.-Agregar 3 ml de Buffer *Cell Lysis Solution* y dejar 30 minutos en el rotador a temperatura ambiente , transcurrido el tiempo dar un ciclo de centrifugación a 2.000 × g durante 10 minutos a temperatura ambiente , retirar y desechar el mayor volumen de sobrenadante sin perder de vista el botón de células blancas

14.-Tapar perfectamente cada tubo eppendorf y resuspender el botón de blancos agitando vigorosamente el tubo en un Vortex durante 30 segundos

15 Colocar los tubos en la gradilla en orden y agregarles a cada uno 2 ml del Buffer *Nuclei Lysis Solution* y mezclar con una pipeta (cambiando la punta de la micropipeta en cada muestra) o con el vortex por 5-10 segundos, colocar los tubos perfectamente cerrados en un Termomixer o placa de calor de 30 a 60 minutos a 37°C hasta que ya no se observen aglutinaciones, y la mezcla este homogénea

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 25
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

16. Colocar los tubos en una gradilla ,retirar la tapa y colocarle a cada uno 10 µl de *RNase Solution*

17. Tapar los tubos y homogenizar por inversión manual por 10-15 segundos e incubar la mezcla a 37 ° C durante 15 minutos y luego dejar enfriar a temperatura ambiente.

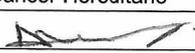
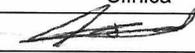
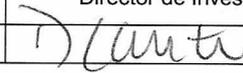
18. Colocar los tubos en una gradilla y agregar 660 µl del Buffer *Protein Precipitation Solution* a cada tubo que contiene el lisado nuclear y agitar vigorosamente durante 20-40 segundos. Pequeños grupos de proteínas pueden ser visibles después del vórtex

19.- Centrifugar a 2.000 × g durante 10 minutos a temperatura ambiente después del ciclo de centrifugación debe verse un gránulo de proteína marrón oscuro y el sobrenadante un liquido transparente

20.-Transfiera el sobrenadante a un tubo nuevo eppendorf de 15 ml perfectamente etiquetado con el código de cada paciente que contenga 2 ml (2000µl) de isopropanol a temperatura ambiente. Tener especial cuidado de que cada tubo corresponda al mismo código al transferir el sobrenadante al tubo nuevo; además dejar un volumen mínimo de sobrenadante en el tubo original que contiene el gránulo de proteína para evitar la posible contaminación de la solución de ADN con la proteína precipitada.

21.-Mezclar suavemente la solución del tubo con isopropanol y el sobrenadante por inversión hasta que las hebras blancas de ADN en forma de hilo comiencen a hacerse visibles y formen una masa concentrada

22. Centrifugar los tubos a 2.000 × g durante 10 minutos a temperatura ambiente. Tras la centrifugación el DNA será visible como un botón blanco al fondo del tubo.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 26
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

23. Decantar el sobrenadante y agregar un volumen de 1000 µl de etanol al 70% a temperatura ambiente al tubo que contiene el DNA, tapando el tubo invierta suavemente varias veces para lavar el sedimento de DNA y los lados del tubo, posteriormente etiquetar tubos nuevos de 1.5 ml de microcentrífuga y con cuidado de no perder el botón de DNA transfiera este y el etanol al tubo de microcentrífuga

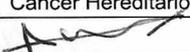
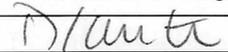
24. Centrifugar a 13,000–16,000 × g* por 2 minutos y decantar el sobrenadante sin perder el botón de DNA, agregar 800 µl de etanol al 70% para un segundo lavado y volver a centrifugar a 13,000–16,000 × g* por 2 min y decantar el sobrenadante o retirar con una pipeta de 200 µl posteriormente invierta el tubo y limpie el residual de etanol con papel absorbente y dejar secar el botón de DNA durante 10-15 minutos.

25.- Cuando el botón de DNA este perfectamente seco (transparente) agregar *DNA Rehydration Solution* para rehidratar el DNA, el volumen puede variar según sea el tamaño del botón (60 µl- 250 µl). Colocar los tubos en el termomixer o placa de calor a 37 °C por dos horas hasta que el botón este perfectamente diluido

CUANTIFICACIÓN DEL ADN MEDIANTE ESPECTROFOTOMETRÍA

INTRODUCCION

Después de realizar un proceso de extracción del ADN, es necesario su cuantificación y el análisis de la calidad de las moléculas obtenidas. Las moléculas de DNA absorben eficientemente luz ultravioleta (UV) debido a la presencia de bases aromáticas nitrogenadas esta característica es usada eficientemente para determinar su concentración en relación a la ley de Beer-Lambert que indica que la concentración de una molécula en solución depende de la cantidad de luz absorbida de las moléculas disueltas. Las moléculas de DNA absorben

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

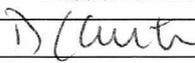
	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 27
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

luz UV a 260 nm , diferente de las proteínas (280 nm) y de los residuos de alcohol /sales (230 nm) estas diferencias permiten estimar su concentración y además determinar su pureza en relación a la proporción de 260/280 y 260/230 mediante espectrofotometría⁶

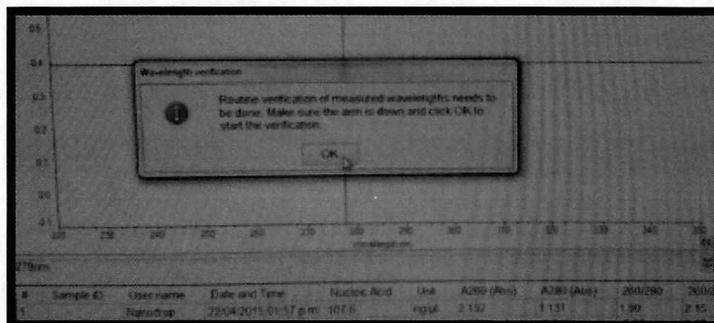
El NanoDrop® es un espectrofotómetro de amplio espectro (220-750nm) que mide concentraciones desde 1.5 µl de muestra, con gran exactitud y reproductibilidad. Utiliza una tecnología de fibra óptica y las propiedades naturales de la tensión superficial para captar y retener pequeñas cantidades de muestra independiente de los aparatos de contención tradicionales, tales como cubetas o capilares además tiene la capacidad de medir muestras muy concentradas, sin necesidad de diluirlas . Esta característica lo hace idóneo para medir la concentración de ácidos nucleicos y para determinar su calidad . El software calcula automáticamente la concentración de los ácidos nucleicos siguiendo la relación: 260/280 y 260/230⁴

METODOLOGIA

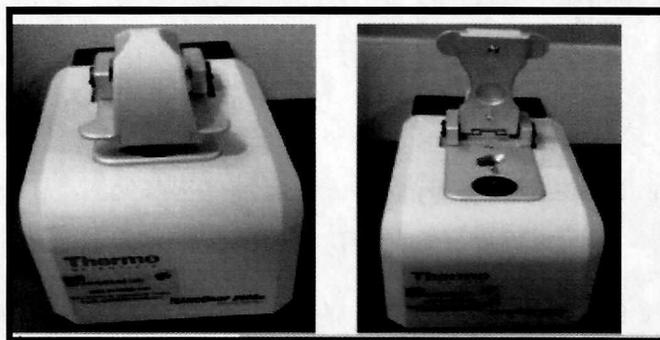
1. El DNA se cuantifica mediante espectrofotometria en el equipo NanoDrop 2000/2000c UV-Vis *Thermo Scientific*, para ello primero se enciende el equipo.
2. Se seleccionada el programa NanoDrop del escritorio; una vez abierto el programa seleccionar el tipo de ensayo del panel que aparece (Ácidos nucleicos, microarreglos, proteína, cultivo celular), seleccionar ACIDOS NUCLEICOS y abrirá una nueva hoja de datos
3. El equipo hace una verificación de las corridas anteriores y realiza un chequeo del sistema de medición de longitudes de onda (dar clic en ok)

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

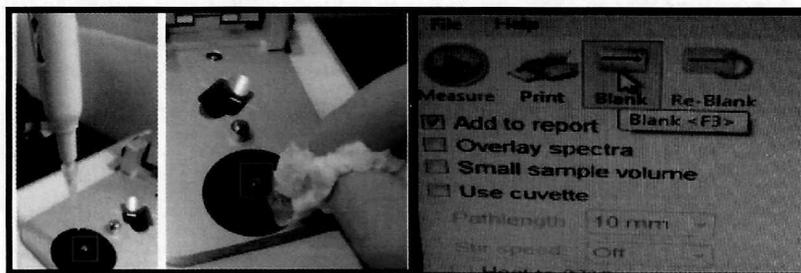
	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 28
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

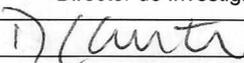


4. Posteriormente levantar la cubierta del equipo donde se observa una plataforma circular ; utilizado una micropipeta colocar un volumen de agua estéril y con la ayuda de un papel limpiar en ambos pedestales



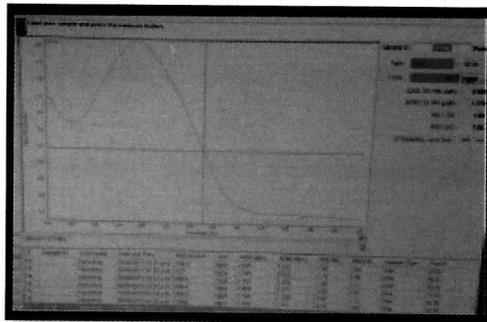
5. Una vez limpio colocar 1.5-2 μ l de la solución de rehidratación en el pedestal con la plataforma circular y bajar el pedestal superior , dar clic en blanco y comenzará la corrida del blanco



CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 29
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

6. Una vez listo limpiar cuidadosamente el pedestal y colocar ahora el mismo volumen de DNA en el pedestal y colocar su ID o identificador de código de la muestra luego dar clic en measure (lectura) el equipo generara la concentración de la muestra en ng/ μ l además del cociente de los valores de las longitudes de onda de 260/280 y 230/260 nm.



7. Limpiar el pedestal entre cada muestra. Los valores que indican una extracción de DNA puro generalmente producen una proporción 260/280 de ~ 1,8 a 2 y una relación de 260/280 de ~ 2,0 para el ADN y ARN y un valor de 2-2.3 en la proporción de 260/230. Los valores de cada muestra son registrados en la bitácora

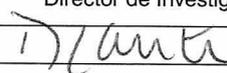
Nota: Si el valor obtenido entre la proporción de 260/280 es menor de 1.8 nos indica que la muestra de DNA está contaminada con proteínas y en el caso de la relación 260/230 de ser mayor de 2-2.3 puede deberse a la presencia de residuos de alcohol y/o sales orgánicas que afecta la pureza del ácido nucleico

(Imágenes obtenidas de Manual de uso del espectrofotómetro NanoDrop 2000c Thermo Scientific. Julio 2015).

PREPARACIÓN DE ALÍCUOTAS DE DNA A UNA CONCENTRACIÓN FINAL DE 50 ng/ μ L

INTRODUCCION

El DNA puede emplearse en metodologías basadas en PCR (por sus siglas en inglés *polymerase chain reaction*), secuenciación, enzimas de restricción, hibridación Southern etc, pero cada procedimiento requiere una cantidad específica de DNA para llevarse a cabo, es

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 30
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

por esto que a partir de un concentrado de DNA obtenido por un proceso de extracción se realizan diluciones o también llamadas alicuotas que debe entenderse como una fracción o porción del total de la muestra en diluido diferentes volúmenes según se adapte o se requiera al tipo de protocolo que se empleara ; se realiza mediante un método químico/matemático (Concentración 1* Volumen 1 = Concentración 2 * Volumen 2)². Este paso facilita el desarrollo de cualquier protocolo además que te permite resguardar el concentrado restante en condiciones adecuadas para mayor tiempo de conservación impidiendo su degradación.

METODOLOGIA

1. Se toma el concentrado de DNA contenida en criotubos etiquetado con su respectivo ID
2. Se rotulan tubos de PCR con tapón plano de 0.2 ml Axygen™ etiquetado por la tapa con su ID correspondiente y se mantiene en una gradilla en orden numerico
3. Se procede a realizar el cálculo para la preparación de alicuotas según la siguiente formula:

$$C1 * V1 = C2 * V2$$

En donde C1 corresponde al valor total de DNA obtenido (concentración final obtenida por espectrofotometría en ng/ µl)

V1 es nuestra incógnita, es decir; la fracción que se debe tomar del total de muestra

C2 representa la concentración a la que se desea la alicuota

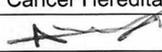
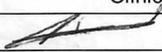
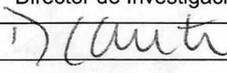
V2 representa el valor del volumen final de la alicuotas

En el caso de la CCH todas las alicuotas se estandarizan a una concentración de 50 ng/ µl en un volumen de 100 µl. Los cálculos realizados se anotan en la bitácora del analista

4. Realizar las diluciones en los tubos de PCR de cada muestra tomando los volúmenes calculados anteriormente del stock / concentrado total de DNA extraído y diluyendo con el mismo buffer de rehidratación o puede usarse agua libre de DNAsa

Ejemplo

La muestra con ID U1234 tiene una concentración de 300 ng/ µL

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 31
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

Para preparar la alicuota a 50 ng/ µL en 100 µL se realizan los cálculos

$$C1 * V1 = C2 * V2$$

Donde V1 se desconoce

C1= Concentración final de nuestra muestra en este caso 300 ng/ µL

C2= La concentración a la que se requiere la alicuota para el ejemplo a 50 ng/ µL

V2= El volumen final de la alicuota en este caso 100 µL

Se despeja a V1 (Volumen 1 muestra incógnita) quedando lo siguiente

$$V1 = C2 * V2 / C1$$

Solo resta sustituir valores que conocemos

$$V1 = (50 \text{ ng/ } \mu\text{L}) * (100 \text{ ml}) / (300 \text{ ng/ } \mu\text{L})$$

Y resolver las cuentas que nos da como resultado que

$$V1 = (5000 \text{ ng/ } \mu\text{L} * \mu\text{L}) / (300 \text{ ng/ } \mu\text{L}) = 16.66 \mu\text{L}$$

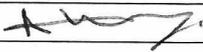
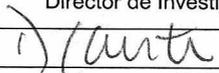
V1= 16.66 es el volumen que debe tomarse del concentrado de DNA ahora para poder tener nuestro volumen final se hace la diferencia y se diluye con 83.33 µL de solución de rehidratación

5. Las alicuotas se ordenan en cajas de almacenamiento para tubos de PCR y se rotulan por series (cada caja es para 100 tubos) y se almacenan en un refrigerador de ultrabaja temperatura: de -20 °C hasta su posterior análisis molecular

6. El concentrado de DNA restante (stock) se conserva en tubos crio protectores un refrigerador ultra -80 °C para una preservación por varios meses perfectamente etiquetados y guardados en cajas rotuladas por series de 100 (cada caja es para 100 tubos).

VERIFICACIÓN DE LA INTEGRIDAD DEL DNA

INTRODUCCION

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

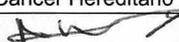
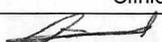
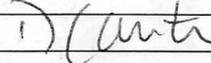
 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 32
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

Uno de los parámetros importantes de la extracción del DNA además de su pureza y concentración es su integridad⁵. La integridad del DNA se puede observar mediante electroforesis en gel de agarosa (polímero lineal de galactosa y 3,6-anhidrogalactosa) o poliacrilamida (mezcla de acrilamida y bisacrilamida). La electroforesis es un proceso que consiste en el movimiento de moléculas que poseen una carga en una solución amortiguadora (buffer) al aplicar un campo eléctrico². Debido a que las moléculas en un campo eléctrico se mueven a una velocidad dependiente de su carga, forma y tamaño, la electroforesis se ha desarrollado ampliamente para la separación de diversas biomoléculas¹.

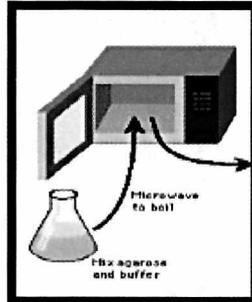
Los geles se comportan como un tamiz molecular que te permite visualizar la integridad de DNA a través de su exposición a una fuente de luz Ultra Violeta tras estar teñido con un agente intercalante del DNA como el Bromuro de etidio. Si el ADN se encuentra íntegro, se observa una sola banda bien definida, mientras si se encuentra en proceso de degradación o degradado se observará un sendero de muchas pequeñas bandas que simula un barrido¹

METODOLOGIA

1. Determinar el número de muestras que se van analizar
2. Preparar el gel de agarosa al 1.5%, para ello se pesa en una balanza analítica 1.5 gr de agarosa y se agrega en un matraz Erlenmeyer con 100 ml de buffer TAE (Tris, acetato y EDTA) previamente preparado al 1X y se calienta en un horno de microondas retirando el matraz por intervalos de 40 segundos y agitando el contenido para mezclar bien. Repetir hasta que la agarosa se haya disuelto completamente y se deja a temperatura ambiente unos minutos (1-2) dentro de una campana de extracción

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

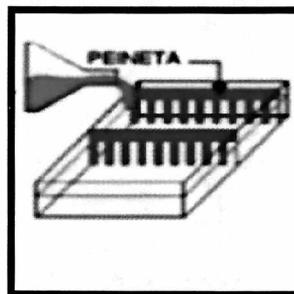
	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 33
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115



3. Verter en un vaso de precipitado tomando solo la cantidad que se utilizara; este volumen depende del tamaño de la cámara de electroforesis que se usara (20mL-25 mL son suficientes para dimensiones de L x A x H del gel: 8 x 6 x 0,5 cm)

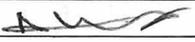
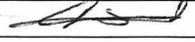
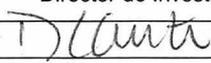
4. Añadir bromuro de etidio (EtBr) a una concentración de 0,5 g / ml y agitar suavemente para disolver entre la agarosa precalentada

5. Verter la agarosa fundida en el molde de la cámara de electroforesis asegurando de tener los peines debidamente insertados para formar los pozos, dejar enfriar por un espacio de 20 minutos.

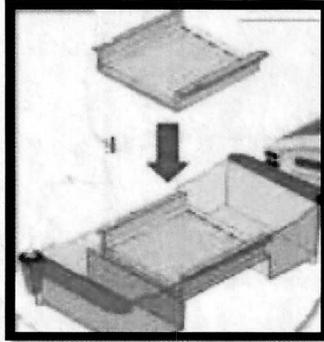


NOTA: El EtBr es mutagénico y por lo tanto se debe manejar con mucho cuidado siempre usando guantes.

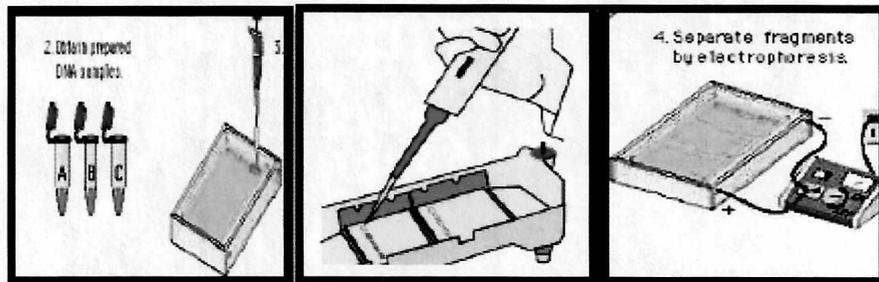
6. Cuando la agarosa este completamente solidificada retirar la base del gel y los peines, colocarlo en la base dentro de la cámara de electroforesis , añadir el buffer de electroforesis TAE 1X entre 0,5 y 1 cm por encima del gel .

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

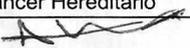
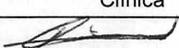
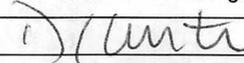
 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 34
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115



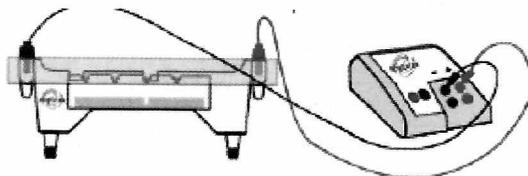
7. Mezclar 2 μ l de las alícuotas de DNA de cada muestra con 2 μ l de buffer de carga de gel \times (compuesto de un 0,03% de bromofenol azul, un 0,03% de xileno cianol FF, 60 mM de EDTA, pH 7,6 y un 60% de glicerol) cargando un volumen total de 4 μ l en cada pozo, se tapa la cámara y aplica una corriente eléctrica de 70-100 voltios durante 50 minutos.



8. Cuando se ha completado la electroforesis, se apaga la fuente de alimentación y retira la tapa de la caja del gel

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 35
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

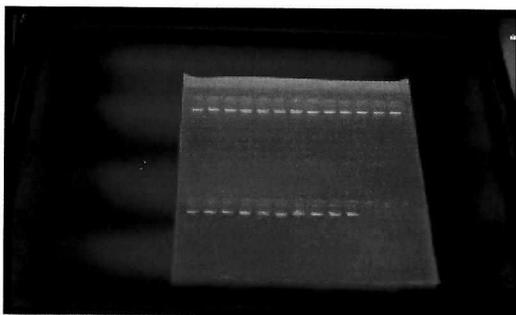


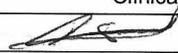
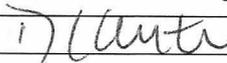
9. Se retira el gel de la bandeja que lo contiene y se coloca en la base de un transiluminador para exponer a la luz UV y se verifica que cada muestra presente una sola banda bien definida



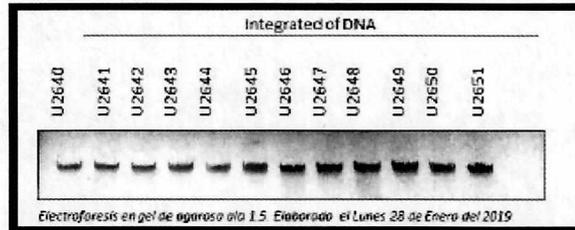
10. Se toma foto del gel y se pega en la bitácora como registro de integridad del DNA extraído colocando la identificación de cada muestra en el orden que se cargó cada pozo.

Ejemplo



CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 36
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

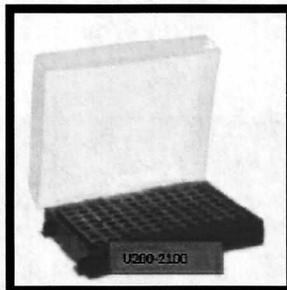


11. Se desecha el gel y el buffer de acuerdo a las normas de manejo de residuos químicos de la institución .

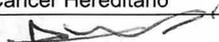
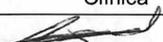
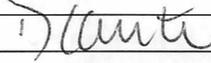
ALMACENAMIENTO DE ALÍCUOTAS DE DNA Y STOCK

INTRODUCCION

1. Las alícuotas de DNA en una concentración de 50 ng/ µl en 100 µl son posteriormente ordenadas en cajas de almacenamiento de tubos de PCR perfectamente rotulado con la serie de muestras que corresponde y almacenadas en un refrigerador a -20 °C para los análisis inmediatos o posteriores que le correspondan según cada muestra



2. El concentrado restante de DNA contenido en criotubos se etiquetan con su ID y su concentración total correspondiente a un costado del tubo

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

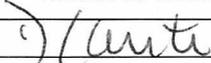
	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 37
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115



Dar un breve spin y almacenarlos en orden en cajas etiquetadas con el número de serie de muestras colocando las cajas en un refrigerador ultra a -80 °C

REFERENCIAS:

1. Alberto Checa Rojas. (2017). Método: Gel de electroforesis Agarosa. 2020, mayo 7, Conogasi.org Sitio web: <http://conogasi.org/articulos/metodo-gel-de-electroforesis-agarosa>
2. Campillo.N(2012). INTRODUCCIÓN AL ANÁLISIS QUÍMICO. Curso de análisis Químico .Universidad de Murcia
3. Checa Rojas A. (2017). ADN: Conceptos básicos y aplicaciones. 2020, Mayo 5, Conogasi.org Sitio web: <http://conogasi.org/articulos/adn-conceptos-basicos-y-aplicaciones/>
4. Desjardins, P., Conklin, D. NanoDrop Microvolume Quantitation of Nucleic Acids. J. Vis. Exp. (45), e2565, doi:10.3791/2565 (2010)
5. Padilla, C., Diez, J., Martínez, E., Bárcena, J., & García, C. (2006). Electroforesis de ácidos nucleicos en geles de agarosa. Aislamiento y caracterización electroforética de DNA plasmídico. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Campus Universitario de Rabanales, Edificio Severo Ochoa
6. Velázquez, L. P. A., Martínez, M. D. C. A., & Romero, A. C. (2014). Extracción y purificación de ADN. Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos, 1.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 38
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

PROCEDIMIENTO

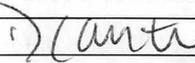
❖ Análisis molecular para la identificación del rearreglo genómico en *BRCA1 E9-12del* por medio de la *PCR* de punto final

Objetivo: Realizar el cribado de la mutación fundadora en población mexicana, *BRCA1 E9-12del* en pacientes con sospecha por diagnóstico clínico de Síndrome de Cáncer de Mama Ovario Hereditario (SMOH).

Alcance: Tener de manera rápida el diagnóstico molecular de aquellos pacientes con sospecha SMOH y de los familiares cuyo caso índice sea portador de este rearreglo genómico.

Descripción del Procedimiento

- 1.- Identificación en la base de datos de aquellos pacientes que tiene sospecha de SMOH.
- 2.- Identificación de extensiones familiares con caso índice positivo para el rearreglo genómico en *BRCA1 E9-12del*.
- 3.- Búsqueda de alicuotas de DNA de cada uno de los pacientes y extensiones familiares con caso índice positivo para el rearreglo genómico en *BRCA1 E9-12del* guardadas a la temperatura de -20 °C.
- 4.- Descogelamiento a temperatura ambiente de cada una de las muestras.
- 5.- Vortex y centrifugación de las muestras a 10,000g por 30 segundos.
- 6.- Ordenamiento de las muestras de ocho en ocho con un máximo 24 muestras por reacción contando el control positivo y negativo de la reacción de PCR.
- 7.- Tomar los reactivos para la reacción de PCR que incluyen:

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 39
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

- g) DreamTaq DNA Polymerase Buffer 10x
- h) dNTPs 10 mM con 7deaza
- i) Oligo Fwd
- j) Oligo Rev Nor
- k) Oligo Rev Mut
- l) Betaina 5M
- m) H₂O

8.- Descongelar los reactivos, dar un pequeño vortex y centrifugar a 10 000g por 30 segundos.

9.- Preparar la reacción que contenga los oligos para el alelo normal y mutante y otra reacción que sólo cuente con los oligos para el alelo mutante.

10.- Reacción de PCR.

11.- Preparación de agarosa al 2 %

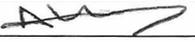
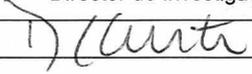
11.1. Pesar 2 gramos de agarosa por cada 100 mL de TAE al 1X, la agarosa y el TAE se deposita en un matraz Erlenmeyer de 250 mL y se calienta en horno de microondas por 30 segundos tantas veces sea necesario para disolver completamente la agarosa.

12.- Pasar la agarosa a otro matraz Erlenmeyer de 250 mL y adicionar 6 uL de bromuro de etidio dentro de campana de extracción de sustancias corrosivas.

13.- Depositar 50 mL de la agarosa preparada sobre charola para preparar geles, usar dos peines de 13 pozos.

14.- Dejar que solidifique el gel de agarosa a temperatura ambiente.

15.- Colocar el gel de agarosa sobre la cámara de electroforesis y adicionar buffer TAE hasta cubrir completamente el gel.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

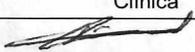
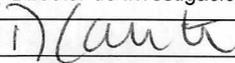
 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 40
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

16.- Cargar en la primera hilera las muestras amplificadas con el alelo normal y mutante y en la segunda hilera las muestras con el alelo mutante siempre cuidando que se haga en el mismo orden; en ambas hileras colocar en el primer pozo el marcador de peso molecular, el control positivo y después el negativo, seguido de las muestras a ser analizadas.

17.- Colocar el gel en el transiluminador UVP, centrar y tapar con el cono del equipo. Prender la luz UV y tomar foto.

18.- Cargar el archivo de la foto en un programa editor de fotos, editar la foto para imprimir en blanco y negro con la identificación de las muestras analizadas.

19.- Imprimir el archivo y pegar en bitácora usada para el cribado del rearrreglo genómico en *BRCA1 E9-12del*.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

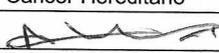
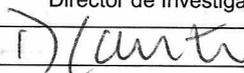
 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 41
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

Análisis molecular para la identificación de variantes patogénicas dirigidas a familiares de pacientes de la Clínica de Cáncer Hereditario

Objetivo.

Identificar variantes patogénicas de forma dirigida a familiares de pacientes atendidos en la Clínica de Cáncer Hereditario con una o más variantes patogénicas identificadas y asociadas a síndromes de cáncer hereditario.

A partir de un archivo electrónico de las muestras, con datos como el código interno del laboratorio y tipo de variante, se establece la posición genómica y la región codificante de cada muestra, utilizando el programa *CLC Sequence Viewer 7*, se establecen los oligonucleótidos y las condiciones de amplificación por PCR. Posteriormente se analizan los productos amplificados mediante electroforesis en agarosa, se purifican las muestras adicionando Exonucleasa y Fosfatasa alcalina (ExoSAP). Realizar el marcaje con *BigDye* y secuenciar con el instrumento capilar *3500 Genetic analyzer*.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

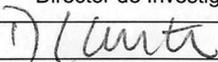
 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 42
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

❖ **BUSQUEDA DE LAS MUTACIONES Y DE SU POSICIÓN GENÓMICA**

1. La bitácora contiene los siguientes campos:
 - a. Número (Código interno del laboratorio para su identificación)
 - b. Nombre del paciente
 - c. Expediente
 - d. Fecha
 - e. Protocolo (nombre del gen a analizar seguido de su posición en la región codificante y el tipo de mutación)

2. Verificar en *ClinVar* la mutación. Por ello, al realizar la búsqueda de la variante patogénica de interés se deberá verificar los detalles de la variante, el ID canónico, el tipo de variante (deleciones, inserciones, cambio de nucleótido, etc), la posición genómica, su estatus patogénico, la evidencia *in silico* o experimental, entre otros datos).

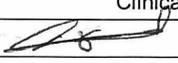
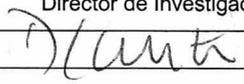
3. Las mutaciones reportadas en la bitácora deberán estar compuestas de los siguientes elementos:
 - a. Nombre del gen (Ejemplo, *BRCA1*)
 - b. Posición en el transcrito que empieza con c. (región codificante). Ejemplo, c.212
 - c. Tipo de mutación, ejemplo, delAATAA (delección), A>T (cambio de nucleótido)

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 43
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

BRCAl c.212A>T

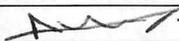
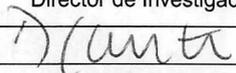
4. Utilizando el programa *CLC sequence Viewer 7*, buscar en la región codificante del gen de interés (Los códigos de las secuencias codificantes deberán comenzar con NM_ que corresponde al código del mRNA o transcrito). Esta secuencia muestra solo el transcrito; no intrones.
5. Establecer como posición número 1, el inicio de la región codificante (CDS).
6. Seleccionar y copiar aproximadamente 20-30 nucleótidos siguientes a la posición de la variante por analizar.
7. Usando nuevamente el programa *CLC sequence Viewer 7*, abrir la secuencia genómica del gen. Es una secuencia de una longitud mayor, considera elementos intrónicos, secuencias regulatorias, entre otras. Los códigos de las secuencias genómicas deberán comenzar con NG_.
8. Establecer como posición número 1, a partir del nucleótido 1 del exón 1.
9. Buscar la secuencia de 20-30 nucleótidos. De esta manera se encuentra la posición genómica de la variante, ubicar el exón en donde se encuentra e identificar los oligonucleótidos que servirán para su amplificación por PCR.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 44
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

BUSQUEDA DE LOS OLIGONUCLEÓTIDOS DE AMPLICACIÓN

1. Una vez establecida la posición genómica de la variante es necesario buscar dentro de la colección de oligonucleótidos del laboratorio, aquellos que sean apropiados para su amplificación.
2. El laboratorio cuenta con una carpeta con la colección de los oligonucleótidos utilizados. Por ello, es importante su consulta para establecer la temperatura de alineamiento (TM), el tamaño del fragmento por amplificar, el uso de betaina o de elementos especiales para su correcta amplificación.
3. En caso de no contar con los oligonucleótidos adecuados para amplificar la región de interés, será necesario diseñarlos.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 45
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

Los elementos necesarios para la amplificación de genes por PCR son los siguientes:
 1)Campana de PCR; 2) Micropipetas de 1000, 200, 20 y 10 uL; 3) Puntas de micropipeta de volumen variable (0.5-1000 uL) estériles y libres de nucleasas; 4)Tubos estériles de centrifuga de 0.6 y 0.2 uL; 5)Agua Mili-Q estéril; 6)Vortex; 7) Microcentrifuga; y 8) Termociclador.

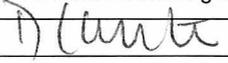
Para la amplificación de las regiones genéticas donde se encuentra la variante, se parte de DNA genómico con una concentración de 50 ng/uL purificado de sangre periférica con el kit *Wizard® Genomic DNA Purification Kit*. La polimerasa utilizada es *DreamTaq DNA polymerase* (ThermoFisher Scientific. N°Cat. EP0701).

1. Limpieza de la campana de PCR (UVP, N°Cat. 12883858) con etanol al 70% v/v en base y partes superficiales. Esta consta de un gabinete con luz ultravioleta que ofrece

un área de trabajo aséptica para la preparación de reacciones que involucren ácidos nucleicos.



Fig. Gabinete o campana de PCR con luz ultravioleta

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 46
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

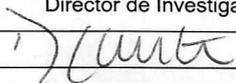
2. Verificar que el material esté completo: puntas de micropipeta (1000, 200 y 10 uL), tubos de 0.6 mL, tubos de 0.2 mL, micropipetas de 1000, 200, 100 y 10 uL, gradilla para placa de PCR de 96 pozos, gradilla para tubos de 1.5 mL, picofuga. Colocar dentro de la campana los guantes que se usarán.
3. Encender la luz UV por 30 minutos y encender el flujo para su estabilización.
4. Localizar las muestras de DNA genómico que se ubican en el congelador a -20°C en cajas rígidas (Cajas con 100 muestras). Estas muestras tienen una concentración de 50 ng/ul. Dejar a temperatura ambiente para descongelar.
5. Tener el buffer *10X Thermo Scientific 10X DreamTaq+20 mM MgCl2*. Dejar a temperatura ambiente para descongelar.
6. Sacar del refrigerador los dNTPs a 2 mM y las alícuotas de agua guardados a 4°C.
7. Tener los oligonucleótidos, estos se encuentran a 4°C. Para mayor comodidad, se cuenta con una carpeta que dispone la organización de los mismos. Se encuentran en alícuotas de 100uM.
8. Realizar los cálculos necesarios de acuerdo al número de muestras. Considerar hacer la reacción y un control negativo para cada muestra. Los cálculos deberán considerar un exceso del 10% de las reacciones para corregir el error de pipeteo.

MIX DE LA REACCIÓN

Componente	1X
Buffer 10X	2.5 uL
2mM dNTPs	2.5 uL
Oligo 1 (Fw)	0.8 uL
Oligo 2 (Rv)	0.8 uL
Taq DNApol	0.1 uL
<u>Agua</u>	<u>15.3 uL</u>

VOLUMEN TOTAL. 22 uL

9. Colocar en la campana los oligonucleótidos, el buffer, las alícuotas de agua, los dNTPs, y las muestras de DNA. La Taq DNApol deberá estar contenida en un *cooler*

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 47
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

(-20°C) o en hielo e inmediatamente después de utilizarla deberá ser guardada nuevamente a -20°C.

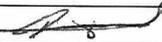
10. Preparar el mix de la reacción en tubos de 0.6 mL, comenzando por el volumen más grande, es decir el agua. Adiciona el Buffer, los dNTPs, los oligonucleótidos y finalmente la TaqDNApol.
11. Mezclar por pipeteo suavemente.
12. Adiciona 22 uL del mix a tubos de PCR (previamente rotulado con el código de las muestras y como control negativo de cada una de ellas).
13. Adicionar 3 uL del DNA genómico a los tubos correspondientes a las muestras. Mezclar por pipeteo.
14. Adicionar 3 uL de agua a los tubos correspondientes a los controles negativos. Mezclar por pipeteo.
15. Dar una breve centrifugación dentro de la campana en la picofuga. No deberán quedar burbujas en el fondo de los tubos.
16. Colocar en el termociclador. La TM o temperatura de alineamiento es específica para cada juego de oligonucleótidos.

PROGRAMA DE PCR

	Temperatura	Tiempo	Paso
35 ciclos	94°C	6 min	Desnaturalización inicial
	94°C	30seg	Desnaturalización
	XX °C	30 seg	Alineamiento
	72°C	35 seg	Extensión
	72°C	7 min	Extensión final
	4°C	Indefinido	Temperatura final

17. Apagar la campana, limpiar con etanol al 70%, y finalmente dejar 30 minutos con luz UV
18. Al finalizar el ciclo de termociclado, apagar el equipo y proceder con la electroforesis.

❖ ELECTROFORESIS EN GEL DE AGAROSA

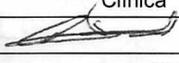
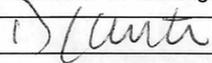
CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 48
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

1. Preparar un gel al 2.0% m/v de agarosa (*UltraPure Agarose, Invitrogen*) usando 1X de Buffer TAE (2g de agarosa en 100mL de 1X TAE).
2. Calentar en microondas por 1 minuto. Homogeneizar y calentar por un minuto más. Limpiar el casete y el peine para los pozos con etanol al 70%.
3. Preparar el gel en campana de extracción, adicionando bromuro de etidio en una concentración final de 5ug/mL. El bromuro de etidio es un intercalante de la doble cadena de DNA, que al ser excitado por luz ultravioleta (300nm) del transiluminador, emite luz fluorescente naranja.
4. Verter el líquido sobre el molde (casete y peine).
5. Dejar solidificar el gel por aproximadamente 10 minutos.
6. Colocar el gel dentro de la cámara de electroforesis y adicionar buffer 1X TAE hasta cubrir el gel completamente.
7. Preparar las muestras adicionando 2uL de 6X Buffer de carga + 4uL de la reacción de PCR. Mezclar y cargar. Colocar en el primer pozo, marcador de peso molecular 2 uL.
8. Dejar correr por 50 min a 70V. El DNA tiene carga parcial negativa debido a los grupos fosfato y migra hacia el polo positivo en el campo eléctrico.
9. Al finalizar, verificar que el tamaño de la banda corresponde al tamaño esperado.

❖ PURIFICACIÓN CON EXONUCLEASA Y FOSFATASA ALCALINA (EXOSAP)

1. La limpieza enzimática de los productos de PCR permite hidrolizar el exceso de oligonucleótidos. La primera incubación elimina los nucleótidos defosforilados. La segunda incubación inactiva las enzimas. Las enzimas corresponden a *ThermoScientific*.
2. Realizar el cálculo de la reacción. Considerar adicionar el 10% de exceso por el error de pipeteo.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 49
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

MIX DE LA REACCIÓN

Componente	IX
ExonucleasaI	0.5uL
Fosfatasa Alcalina	1.0uL
<u>Producto de PCR</u>	<u>5.0uL</u>
VOLUMEN FINAL 6.5uL	

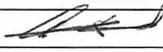
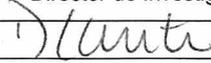
- En la campana de PCR, etiquetar los tubos de PCR con el código correspondiente a las muestras.
- En un tubo de 0.6mL prepara el mix empezando con los componentes de mayor volumen (Fosfatasa alcalina, exonucleasa).
- Mezclar por pipeteo y da una breve centrifugación para bajar el liquido y eliminar burbujas.
- Mezclar la muestra de PCR (5 uL).
- Incubar con las siguientes temperaturas:

Temperatura	Tiempo
37°C	15 minutos
85°C	15 minutos
<u>4°C</u>	<u>indefinido</u>

Tiempo total de la incubación: 30 minutos

❖ CICLO DE INCORPORACIÓN DE DIDESOXINUCLEÓTIDOS POR PCR

- Una vez transcurrido el tiempo de purificación con EXOSAP, se deberá realizar el marcaje con *BigDye Terminator v3.1* para la secuenciación.
- Las muestras que presentan variantes de una sola base solo deberán ser tratadas con un oligonucleótido para su amplificación. Para las muestras que presentan deleciones, inserciones utilizar ambos oligonucleótidos.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 50
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

3. Realizar el cálculo para cada reacción; considerar el 10% adicional en exceso por error de pipeteo.

REACCION DE BIGDYE

Componente	IX
Buffer 5X	2.0uL
BigDye	1.0uL
Oligo1	0.4uL
<u>Agua</u>	<u>5.6uL</u>

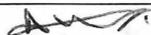
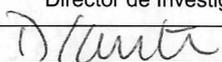
VOLUMEN TOTAL 9 uL

Adiciona 1uL de la muestra (DNA purificado con EXOSAP)

4. Dar una breve centrifugación en picofuga a las muestras purificadas con EXOSAP
5. En campana de PCR preparar el mix anteriormente calculado, adicionando los componentes con mayor volumen: agua, el buffer, muestra.
6. Mezclar perfectamente por pipeteo y dar una breve centrifugación para eliminar burbujas.
7. Utilizando placas de 96 pozos, carga 9uL del mix en pozo dependiendo del número de muestras analizadas.
8. Adicionar 1uL del DNA purificado con EXOSAP. Mezclar por pipeteo suave.
9. Sellar la placa con un film protector. Centrifugar 1 min a 1000Xg a temperatura ambiente en centrifuga de placas e incubar en termociclador.

PROGRAMA DE REACCION

	Temperatura	Tiempo	Paso
25 ciclos	96°C	1 min	Desnaturalización inicial
	96°C	10 seg	Desnaturalización
	50°C	05 seg	Alineamiento
	60°C	4 min	Extensión

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 51
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

4°C

Indefinido

Temperatura final

10. Una vez terminado, proceder a la purificación de la reacción de secuenciación.

❖ PURIFICACIÓN DE LA REACCIÓN DE INCORPORACIÓN

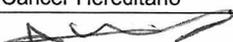
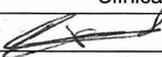
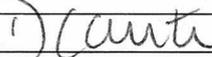
1. En la campana de PCR, preparar el siguiente mix en un tubo de 0.6mL prepara el mix empezando con el componente de mayor volumen (*SAM solution*, perlas):

Componente	IX
SAM solution	45uL
<u>XTerminator beads</u>	<u>10uL</u>
VOLUMEN TOTAL	55 UL

2. Eliminar el film adhesivo y adicionar los 55 uL del mix de perlas a cada muestra. Es importante pipetear suavemente antes de tomar el mix, pues las perlas precipitan al fondo del tubo.
3. Sellar nuevamente con un film.
4. Utilizar un vortex de placa y dejar por 15 min a 2000 rpm a temperatura ambiente.
5. Repetir el paso de vortex por 15 min más.
6. Centrifugar la placa 1000Xg 1 min a temperatura ambiente.
7. Eliminar el film protector y colocar la cubierta de goma de 96 pozos.
8. Colocar la placa dentro del casete especifica del *3500 Genetic Analyzer*
9. Proceder a colocarlo en el equipo de secuenciación.

❖ SECUENCIACIÓN DE LAS MUESTRAS MEDIANTE EL EQUIPO 3500 GENETIC ANALYZER

El equipo es un instrumento de electroforesis capilar que permite secuenciar fragmentos de DNA basado en la técnica de Sanger.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 52
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

La placa a analizar se introduce y mediante el software *Gene Mapper* se genera un electroferograma basado en la migración de los fragmentos de DNA.

El tiempo estimado es de 2 horas por cada 8 muestras. Por ello, es necesario considerar el tiempo que será destinado para la obtención de los resultados del total de las muestras.

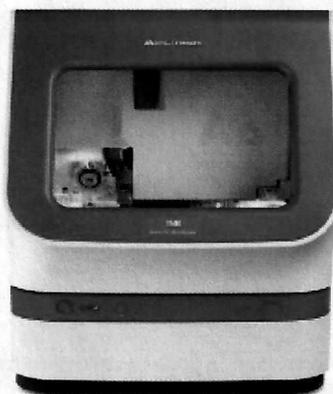
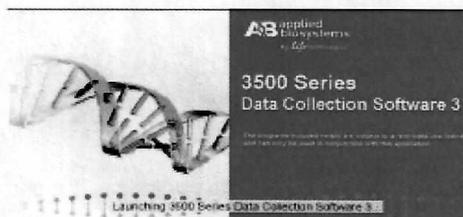
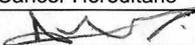
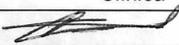
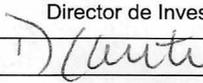


Fig. Equipo Genetic Analyzer 3500 de Applied Biosystems

Por ello, es necesario seguir los siguientes pasos:

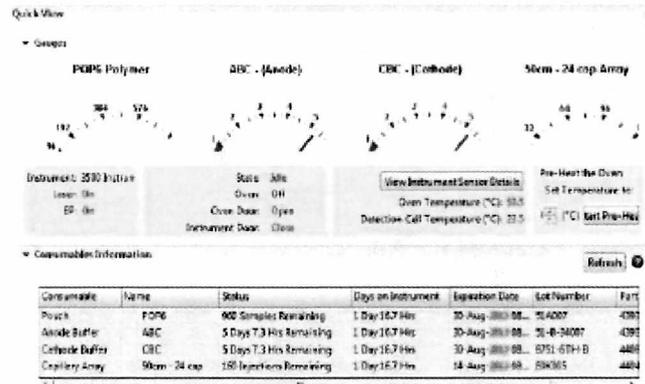
1. Encender el equipo de computo.
2. Encender el Secuenciador desde su botón frontal.
3. La computadora deberá reconocer el secuenciador mandando un mensaje de alerta.
4. Pulsar sobre el icono nombrado como "3500" en el escritorio del sistema operativo.



CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 53
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

5. La pantalla de inicio muestra el estado general del polímero (POP7), el estatus de los buffers de ánodo (ABC) y el cátodo (CBC).



(CBC). Deberán ser válidos y con no más de 20 días de uso.

- Presionar la opción "Start pre-heat" para elevar a 65°C la temperatura del equipo.
- Presionar la pestaña "New plate" para crear una nueva corrida de muestras.
- Verificar que muestre las características de la placa de 96 pozos, asignar un nombre a la corrida, que muestre la opción de secuenciar y el polímero correcto (POP7)



Plate Details

* Name:

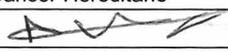
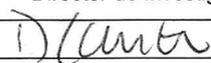
* Number of Wells: 96 96-Post 384

* Plate Type:

* Capillary Length: cm

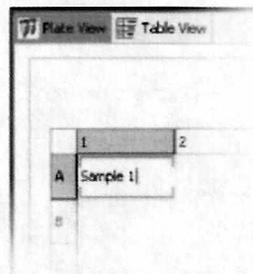
* Polymer:

- Pulsar sobre la opción "Assign plate contents".

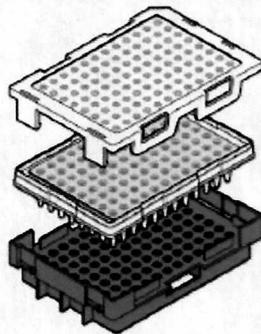
CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

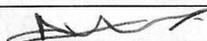
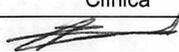
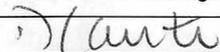
	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 54
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

10. Ahora se mostrará una placa de 96 pozos donde será necesario nombrar cada pozo de acuerdo a las muestras por analizar. Por convención se nombran con el código de la muestra, el gen por analizar y el tipo de oligonucleótido; Ejemplo: *U3000 MSH2 F*



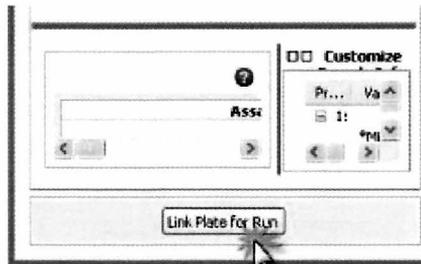
11. Pulsar sobre la opción "Assays" y buscar el programa asignado para secuenciar mediante el marcaje con *BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit*, que corresponde al nombrado como *BDXTDSeq50_POP7*
12. Seleccionar aquellas muestras que serán analizadas por este programa.
13. Presiona el botón frontal de equipo "Tray" para introducir la placa. La placa deberá ser colocada en un *cassete* que consta de una base de placa (mostrada en color azul) y una cubierta (mostrada en blanco)



CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD SECRETARÍA DE SALUD	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 55
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

14. En el equipo presionar la opción "Link plate for run" Para el reconocimiento de la placa.



15. Finalmente presionar "Start run" para comenzar la corrida

Concentrador	NUMER	SEMI	Clayco Instrument	Experiment Data	Lot Number	Plate Number
Asiuk	0225	500 Sample Running	3 Days (1.814)	20-Jun-2022 08:18:00	184007	488176
Asiuk	0226	2 Days 0M Hrs Remaining	3 Days (0.714)	20-Jun-2022 08:18:00	184007	488176
Compu-Buff	026	2 Days 0M Hrs Remaining	3 Days (0.714)	20-Jun-2022 08:18:00	184007	488176
Capillary Array	None	1M Sample Running	3 Days (2.914)	20-Jun-2022 08:18:00	184007	488176

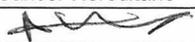
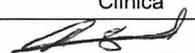
Nota: Nos falta el proceso de envío de resultados y análisis de secuencias

❖ RESULTADOS Y ANALISIS DE SECUENCIAS

El equipo arroja los resultados de cada pozo o muestra analizada en forma de cromatogramas, es decir, gráficos que muestran el orden de las bases a partir de las curvas de fluorescencia de cada base que pueden ser visualizados en diversos programas como *Chromas*, *BioEdit* o *MySequence* de manera gratuita en internet.

Las secuencias de las muestras son comparadas con las secuencias de referencia de cada gen de la siguiente manera:

1. A partir del cromatograma, obtener la secuencia lineal de nucleótidos en formato FASTA.
2. Buscar la secuencia de referencia del gen de interés
3. Utilizando BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) realizar una comparación de la secuencia de cada muestra con la secuencia de referencia del gen.

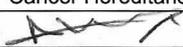
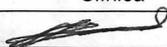
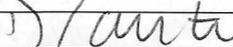
CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 56
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

4. De esta manera, al alinear las dos secuencias es posible determinar si existe algún cambio en la secuencia de muestra en comparación con la referencia.

Anexo I. Kits o reactivos utilizados utilizados

1. Wizard® Genomic DNA Purification Kit. Promega. N°Cat. A1120
2. DreamTaq DNA polymerase. ThermoFisher Scientific. N°Cat. EP0701
3. UltraPure Agarose, Invitrogen. N°Cat 16500500
4. 6X DNA Loading Dye Electrophoresis buffer. ThermoFisher. N°Cat. R0611
5. Invitrogen 100 bp DNA Ladder. N°Cat. 15628019
6. Exonuclease I. ThermoScientific 20U/μL. N°Cat. EN0581
7. ThermoScientific FastAP Thermosensitive Alkaline Phosphatase. N°Car. EF0651
8. BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit. ThermoFisher. N°Cat. 4347457.
9. MicroAmp™ Clear Adhesive Film. ThermoFisher. N°Cat. 4306311

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 57
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

Anexo II. Soluciones

1. Etanol al 70% v/v, 1L

Prepara mezclando 729 mL de etanol absoluto comercial (concentración de 96% v/v) con 271mL de agua bidestilada. Homogenizar. Es estable a temperatura ambiente

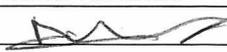
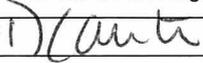
2. Buffer 1x TAE para electroforesis, 1L

Tris base 40mM (4.84 g)

Acido acético 20 mM (1.21 mL)

EDTA 1mM (0.372 g)

Disolver en 800 mL de agua bidestilada. Disolver perfectamente y aforar a 1L. Esterilizar por autoclave y guardar a temperatura ambiente

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 58
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

❖ Análisis de variantes genéticas presentes en pacientes índice de la Clínica de Cáncer Hereditario

Propósito: Planificar las actividades a ejecutar posterior a la entrega de los resultados de secuenciación de muestras de pacientes índice de la Clínica de Cáncer Hereditario para la obtención y actualización del repositorio electrónico "BASE HCC final"

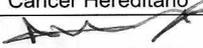
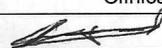
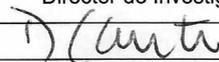
Alcance: La aplicación de este procedimiento permite al médico genetista visualizar de manera ordenada y actualizada la información con respecto a las variantes presentes en los pacientes índice de la Clínica de Cáncer Hereditario.

Definiciones.

Variantes: La comparación de secuencias de DNA entre individuos demuestra que existe 1 cambio de nucleótido cada 1000 en el genoma. Esta alta variabilidad del genoma fue investigada y se determinó que eran cambios comunes en las poblaciones y que estaban presentes en más del 1% de los individuos, llamándolos **polimorfismos**. Hasta ahora no se ha determinado que estos polimorfismos sean no funcionales, ya que es probable que una proporción de ellos constituyan variantes genéticas de baja penetrancia y que entregan susceptibilidad a algunas enfermedades complejas. Estos cambios de nucleótido único han sido llamados **SNP** (de sus siglas en inglés, Single Nucleotide Polymorphism) y se ha demostrado que son **bialélicos**, es decir sólo presentan dos alelos en las poblaciones. Cuando se encuentra un cambio nucleotídico se conoce como variante alélica, siempre que no esté presente en más del 1% de la población.

La *American College of Medical Genetics and Genomics* junto a la *Association of Molecular Pathology* y el *College of American Pathologists* establecen la siguiente terminología en la interpretación de los cambios nucleotídicos que ocurren en genes para diversas patologías:

i) **Variante patogénica:** se nombra a las mutaciones para la cual se ha demostrado que presenta un efecto funcional.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 59
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

- ii) **Variante probablemente patogénica:** cuando el cambio nucleotídico presenta una probabilidad de más del 90% de ser patogénica.
- iii) **Variante de significado incierto (VUS):** a las que aún no se puede definir si es patogénica o no.
- iv) **Variante probablemente no patogénica:** cuando el cambio nucleotídico presenta una probabilidad de más del 90% de no ser patogénica.
- v) **Variante no patogénica:** aquella para la cual se ha demostrado que no tiene un efecto funcional.

- **ClinVar & VarSome:** son base de datos de acceso libre que recopila informes entre las variaciones y fenotipos humanos, reportes patogénicos asociados, mapas de secuencias, evidencias experimentales y análisis computacionales asociados a genes de interés en salud pública.

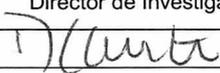
- **Criterios de clasificación de AGCM (American College of Medical Genetics and Genomics).** Es un sistema de terminología de cinco niveles que utiliza los términos: patogénico, probable patogénico, significado incierto, probable benigno y benigno para clasificar las variantes de secuencia, utilizando evidencia disponible ponderada de acuerdo con un sistema desarrollado a través de opinión de expertos, consenso de grupos de trabajo y aportes de la comunidad.

Material y equipo

USB, Equipo de cómputo con acceso internet, Microsoft Excel, Software para lectura de archivos PDF.

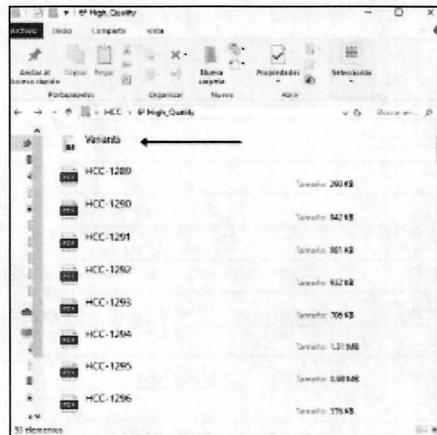
Descripción del Procedimiento

1. Se reciben en una USB, por parte de la Dra. Verónica Fragozo Ontiveros, los “*Variant Reports*” en un formato PDF. Estos reportes contienen los resultados de los análisis bioinformáticos de las variantes determinadas en el DNA de pacientes índice que ingresan a la Clínica de Cáncer Hereditario.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 60
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

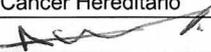
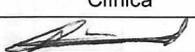
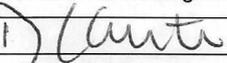
- Cargar los reportes PDF a una computadora para visualizarlos. Estos se encuentran en la carpeta “Variants” y están nombrados con el ID de la muestra comenzando con las letras *HCC*-; los siguientes números corresponden al de la muestra asociada a un paciente índice previamente registrados en la bitácora de recepción de muestras.



- Abrir el archivo de cada reporte y transferir la información al documento Excel nombrado “*BASE HCC final*”. En la hoja uno del documento, transferir la información como se describe a continuación; columna A: INTERNAL ID; B: HCC; C: Type of cancer; D: Histology; E: Diagnóstico Sindromático; F: Gen; G: Cigosidad; H: Anotación Oficial; I: RS. Las filas determinan cada una de las mutaciones correspondientes al “*Variant report*”

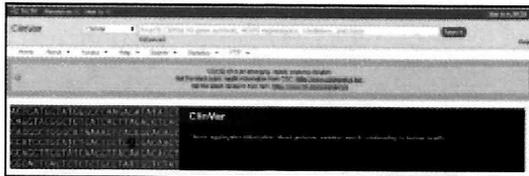
A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
INTERNAL ID	HCC	TYPE OF CANCER	HISTOLOGY	Diagnóstico Sindromático	GEN	CIGOSIDAD	ANOTACION OFICIAL	RS	Clinical significance Interpretation CLINVAR
U023	HCC 1	Ovarian	Papillary serous Carcinoma	Hereditary Breast and Ovarian Cancer	ATM	Heterozygous	NV_001051.3(ATM):c.4298C>T (p.Leu1420Phe), g.71792	rs1900358	Conflicting interpretations of pathogenicity

- Determinar la anotación oficial que contiene el *NM*, seguido, entre paréntesis al (*GEN*): la posición codificante *c. numero de posición*, indicando el tipo de mutación (cambio de bases) entre paréntesis el cambio de aminoácido (*p. tres letras/posición/ tres letras*). Esta notación oficial se determina en la columna H y RS en la columna I del documento “*Base HCC final*” de Excel.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

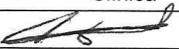
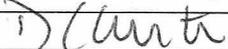
	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 61
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

5. Se realiza una búsqueda en ClinVar (NCBI, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>) y VarSome (The Human Genomics Community, <https://varsome.com/>) para cada variante. En el buscador de estas herramientas se escribe el "RS" o la "Notación oficial" de la variante y según su "veredicto" se clasifica como: variante patogénica, probable patogénica, probable benignas, benigna o de significado incierto. Esta información es recopilada en la "BASE HCC final" en la columna J y K.



6. Las columnas J y K que poseen un veredicto de patogénicas, se colorean de rojo; las de probable patogénicas en rojo claro; las probable benignas en azul claro y las benignas en azul. Este código favorece su rápida identificación.

H	I	J	K
PM_000254743A:cc:348C (p.Lys239A)	113047001	Conflicting interpretations of pathogenicity	Uncertain significance
PM_000054928B:cc:547C-T (p.Arg197I)	113471784	Conflicting interpretations of pathogenicity	Likely pathogenic
PM_000003816C:cc:198C (p.Asp63E)	112451725	Uncertain significance	Uncertain significance
PM_000574814A:cc:117A-T (p.Gly249Val)	112046295	Uncertain significance	Likely benign
PM_000251245H:cc:89C-G (p.Gln217G)	116379021	Uncertain significance	Uncertain significance
PM_000513492C:cc:46A-G (p.Ner197A)	111477748	Conflicting interpretations of pathogenicity	Uncertain significance
PM_000213170E:cc:878C-T (p.Trp278A)	112452627	Uncertain significance	Uncertain significance
PM_000212454H:cc:177C-T (p.Arg63I)	116278096	Pathogenic	
PM_000281459P:cc:522T-C (p.Tyr184A)	111402162	Conflicting interpretations of pathogenicity	Likely benign

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 62
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

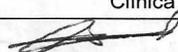
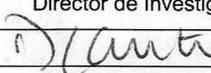
7. Las variantes que hasta ese momento se clasifican como VUS, se copian y pegan en la hoja dos del mismo documento de Excel siguiendo su mismo orden y se determinan los criterios AGCM. Para estas variantes se realiza nuevamente búsquedas en los repositorios públicos antes mencionados, para determinar si su clasificación ha cambiado. Estas nuevas búsquedas se realizan en los últimos 5 días de cada mes.
8. El reporte generado "*BASE HCC final*" se comparte en una USB a la Dra. Verónica Frago Ontiveros el primer día hábil de cada mes y está disponible para su consulta por los médicos genetistas.

Elaboró: Marcela Angélica De la Fuente Hernández

Validación molecular de variantes genéticas encontradas en pacientes índice de la Clínica de Cáncer Hereditario

Propósito: Planificar las actividades a ejecutar posterior a la solicitud del médico genetista sobre el análisis de variantes de muestras de pacientes índice de la Clínica de Cáncer Hereditario.

Alcance: La aplicación de este procedimiento permite al médico genetista tomar decisiones en beneficio de los pacientes índice de la Clínica de Cáncer Hereditario

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 63
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

Definiciones

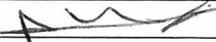
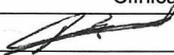
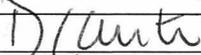
- **Validación de un proceso:** es establecer evidencia documentada que proporciona un alto grado de seguridad de que un proceso específico, consistentemente produce un producto que cumple las especificaciones y características de calidad predeterminados.
- **Secuencia genómica:** se refiere a la secuencia de nucleótidos que comprende regiones génicas e intergénicas de genómica.
- **Secuencia codificante:** corresponde a la secuencia de nucleótidos de regiones genómicas sin considerar al intrónicas.

Material y equipo

Equipo de cómputo con acceso internet, Microsoft Excel, *CLC Sequences Viewer 8.0*

Descripción del Procedimiento

1. Los médicos genetistas solicitan la validación de la secuenciación a través de la Dra. Verónica Frago Ontiveros indicando la clave HCC- de la muestra de interés.
2. Se busca el HCC- de la muestra en la bitácora y se corrobora el nombre del paciente, así como la clave interna.
3. Se realiza la búsqueda de la muestra en el documento de excel "*BASE HCC final*" hoja 1 y se reconoce la Notación Oficial y el RS de la variante de interés.
4. Con la notación Oficial y el RS de la variante, se determina los oligonucleótidos necesarios para su posterior análisis o se decide diseñar para la región genómica / codificante de interés Revisar los procedimientos de "Diseño de oligonucleótidos para la validación de variantes genéticas encontradas en pacientes índice de la Clínica de Cáncer Hereditario" y "Preparación de la solución Stock y la solución de trabajo

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 64
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

de oligonucleótidos para la validación de variantes genéticas encontradas en pacientes índice de la Clínica de Cáncer Hereditario”

5. Ejecutar la amplificación de la región donde se localiza la variante de la muestra. Revisar los procedimientos de “PCR en punto final para la validación de variantes genéticas encontradas en pacientes índice de la Clínica de Cáncer Hereditario”
6. A partir de una electroforesis en gel de agarosa se determina la obtención de un producto de PCR en el tamaño del amplicón esperado. Revisar el procedimiento “Electroforesis en geles de agarosa para la validación de variantes genéticas encontradas en pacientes índice de la Clínica de Cáncer Hereditario”
7. Se realiza la purificación del producto de PCR para su posterior análisis y Se secuencia el fragmento solicitado. Revisar el procedimiento “Purificación de productos de PCR y secuenciación SANGER para la validación de variantes genéticas encontradas en pacientes índice de la Clínica de Cáncer Hereditario”

Diseño de oligonucleótidos para la validación de variantes genéticas encontradas en pacientes índice de la Clínica de Cáncer Hereditario

Propósito: Planificar las actividades a ejecutar para el diseño de oligonucleótidos necesarios en la PCR en punto final

Alcance: La aplicación de este procedimiento permite generar una orden para la síntesis de oligonucleótidos de secuencias específicas.

Definiciones:

- **Secuencia genómica:** se refiere a la secuencia de nucleótidos que comprende regiones génicas e intergénicas de genómica.
- **Secuencia codificante:** corresponde a la secuencia de nucleótidos de regiones genómicas sin considerar al intrónicas.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 65
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

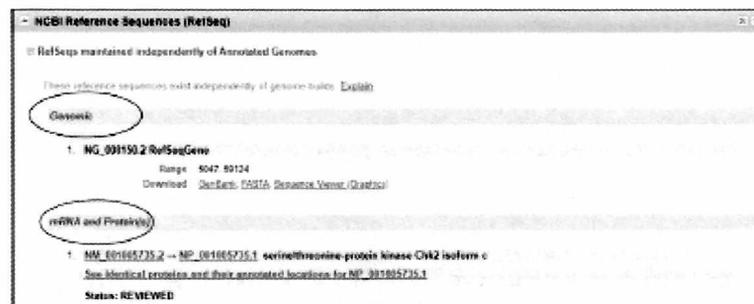
· **Oligonucleótidos.** Secuencias cortas de ácidos nucleicos necesarios para la amplificación de una secuencia genómica específica

Material y equipo

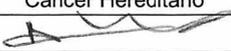
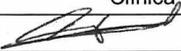
Equipo de cómputo con acceso internet, Microsoft Excel, *CLC Sequences Viewer 8.0*

Descripción del Procedimiento

8. Los médicos genetistas solicitan la validación de la secuenciación a través de la Dra. Verónica Fragozo Ontiveros indicando la clave HCC- de la muestra de interés.
9. Se busca el HCC- de la muestra en la bitácora y se corrobora el nombre del paciente, así como la clave interna.
10. Se realiza la búsqueda de la muestra en el documento de excel "*BASE HCC final*" hoja 1 y se reconoce la Notación Oficial y el RS de la variante de interés.
11. En el buscador de NCBI-gene (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>) se escribe el nombre del gen en el que se encuentra la variante en el ensamble de [*Homo sapiens (human)*] y se obtiene el ID Reference GRCh38.p13 Primary Assembly Genomic y mRNA and Protein(s)

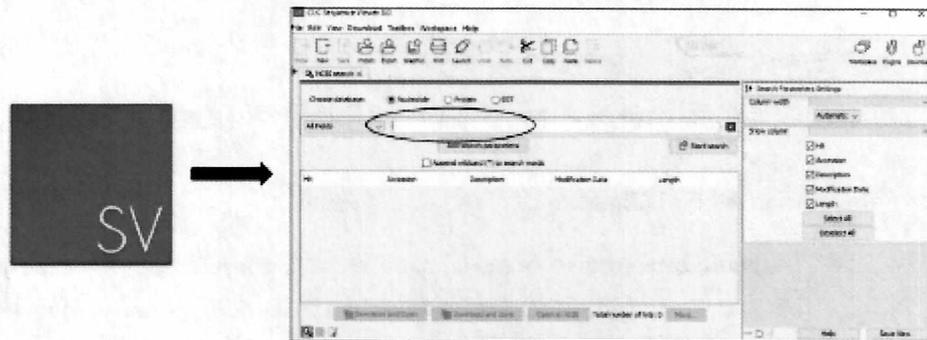


12. Se cargan las anotaciones en el programa *CLC Sequences Viewer*.

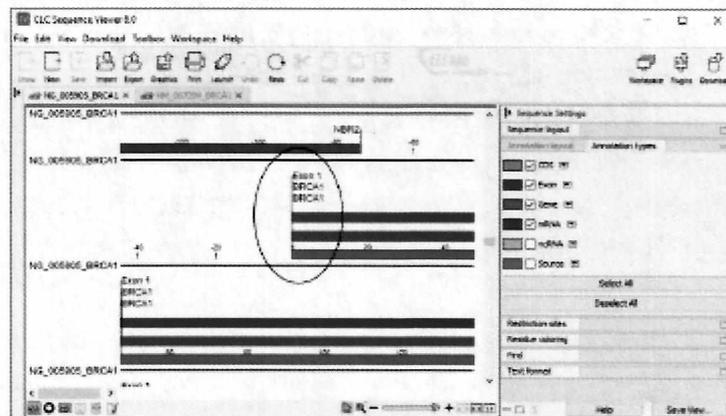
CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 66
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

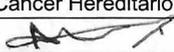
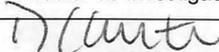
13. El identificador de la secuencia genómica comienza con **NG_** y las secuencias codificantes comienzan con **NM_**



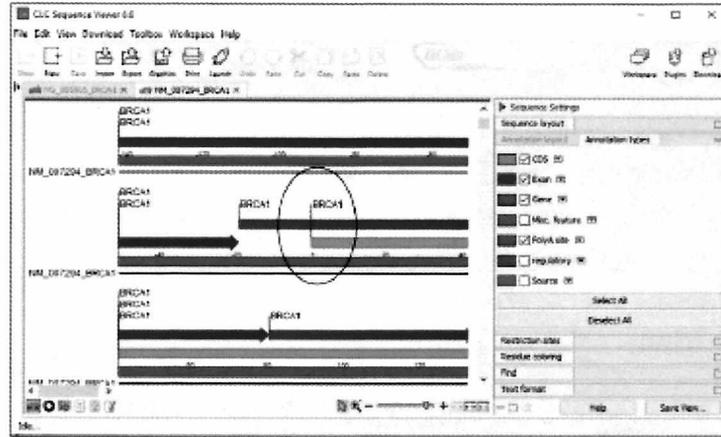
14. Se descarga la secuencia genómica del gen especificado y se establece la posición número 1 en el nucleótido 1 del exón 1.



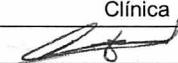
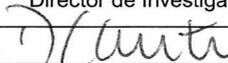
15. Se descarga la secuencia codificante del gen especificado y se establece la posición número 1, el inicio de la región codificante (CDS).

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD SECRETARÍA DE SALUD	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 67
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

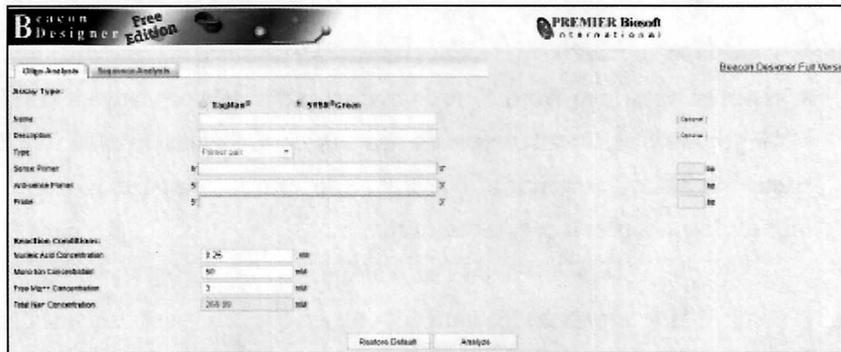
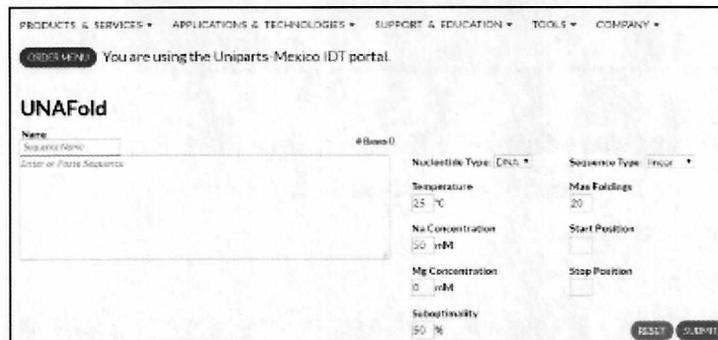


16. Con la anotación oficial (celda H, repositorio de Excel, hoja 1, "BASE HCC final") se conoce la posición y clasificación de la variante por lo que se localiza en la secuencia codificante.
 17. En la secuencia genómica se busca la región donde se ubica la variante.
 18. Se copia la secuencia 200 nucleótidos río arriba y río abajo del sitio de la mutación y se pegan en un archivo Word. Si se desea diseñar oligonucleótidos para el análisis de DNA genómico se copia la secuencia genómica que contiene la mutación. Si es de interés analizar secuencias obtenidas de RNA mensajeros, se diseñan oligonucleótidos para la región codificante.
1. A partir de la secuencia nucleotídica de la región que contiene la variante de interés, se diseñan los oligonucleótidos para PCR punto final con las herramientas de IDT (<https://www.idtdna.com/pages>) estableciendo las condiciones preferenciales de longitud de oligonucleótidos (17-22 nucleótidos), concentración de cationes divalentes [2.5mM], temperatura de hibridación (60°C) y longitud del amplicón (200pb).

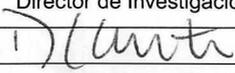
CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

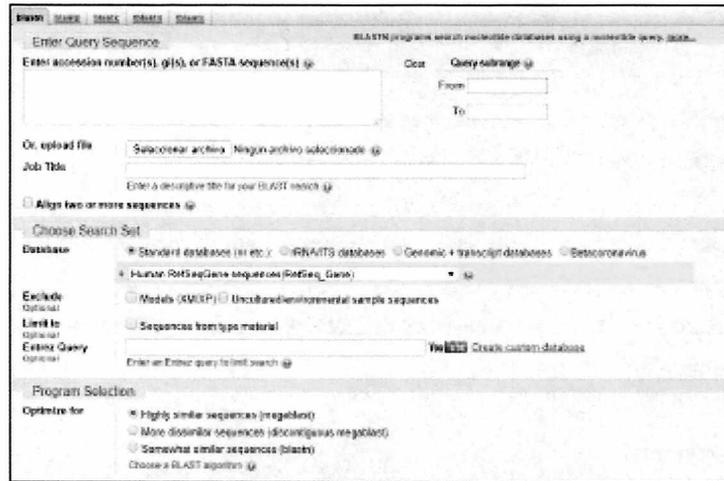
	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 68
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

- Se corrobora que el amplicón esperado contenga la variante en una región central preferencialmente.
- Se evalúa la existencia de estructuras secundarias entre las posibles secuencias de los oligonucleótidos, para lo cual se emplean las herramientas de IDT (<https://www.idtdna.com/pages>) y el programa *Beacon Designer* (<http://www.premierbiosoft.com/qOligo/Oligo.jsp?PID=1>). En caso de existir, se eligen los pares de oligonucleótidos que tengan la menor cantidad de estructuras secundarias, un DG cercano a cero y una menor temperatura de hibridación.



- Verificar que los oligonucleótidos elegidos sea 100% complementarios a la secuencia para la se han diseñado empleando. Para el análisis se emplea *Nucleoblast* de NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE=Nucleotides>).

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

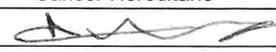
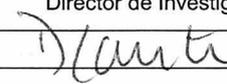


The screenshot shows the BLASTN web interface with the following settings:

- Enter Query Sequence:** Empty text box.
- Enter accession number(s), GI(s), or FASTA sequence(s):** Empty text box.
- Database:** Standard databases (nr, etc.), rRNA/ITS databases, Genomic + translation databases, Bacteriophage.
- Exclude:** Models (KMP), Uncharacterized commercial sample sequences.
- Limit to:** Sequences from type material.
- Program Selection:** Highly similar sequences (megablast), More dissimilar sequences (discontiguous megablast), Somewhat similar sequences (blastn).

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E- value	Pos ident	Accession
Human chromosome 12: 11,200,000-11,200,000	50.1	42.1	100%	1e-04	100.00%	NC_007293.1
Human chromosome 12: 11,200,000-11,200,000	38.2	32.2	76%	1.14	100.00%	NC_007293.1
Human chromosome 12: 11,200,000-11,200,000	38.2	30.2	71%	2.6	100.00%	NC_007293.1
Human chromosome 12: 11,200,000-11,200,000	38.2	52.5	95%	2.5	98.74%	NC_007293.1
Human chromosome 12: 11,200,000-11,200,000	28.2	188	95%	19	94.44%	NC_007293.1
Human chromosome 12: 11,200,000-11,200,000	28.2	171	80%	19	100.00%	NC_007293.1
Human chromosome 12: 11,200,000-11,200,000	28.2	26.2	66%	19	100.00%	NC_007293.1
Human chromosome 12: 11,200,000-11,200,000	28.2	72.8	85%	19	100.00%	NC_007293.1
Human chromosome 12: 11,200,000-11,200,000	28.2	72.3	85%	19	100.00%	NC_007293.1
Human chromosome 12: 11,200,000-11,200,000	28.2	26.2	65%	19	94.44%	NC_007293.1
Human chromosome 12: 11,200,000-11,200,000	28.2	38.2	66%	19	100.00%	NC_007293.1
Human chromosome 12: 11,200,000-11,200,000	28.2	123	100%	19	100.00%	NC_007293.1
Human chromosome 12: 11,200,000-11,200,000	28.2	162	100%	19	94.44%	NC_007293.1
Human chromosome 12: 11,200,000-11,200,000	28.2	59.4	71%	19	100.00%	NC_007293.1
Human chromosome 12: 11,200,000-11,200,000	28.2	26.2	66%	19	100.00%	NC_007293.1
Human chromosome 12: 11,200,000-11,200,000	28.2	29.2	66%	19	100.00%	NC_007293.1
Human chromosome 12: 11,200,000-11,200,000	28.2	39.2	60%	19	100.00%	NC_007293.1

5. Se ordena su síntesis y se solicitan por el método de purificación de desalación estándar.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 70
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

Preparación de la solución Stock y la solución de trabajo de oligonucleótidos para la validación de variantes genéticas encontradas en pacientes índice de la Clínica de Cáncer Hereditario

Propósito: Planificar las actividades a ejecutar para la reconstitución de los oligonucleótidos liofilizados y posteriores soluciones de stock y de trabajo.

Alcance: La aplicación de este procedimiento permite obtener la solución stock de oligonucleótidos [100mM] y la solución de trabajo de oligonucleótidos [10mM] necesarios para realizar la PCRs de las muestras de DNA de pacientes índice de la Clínica de Cáncer Hereditario.

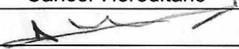
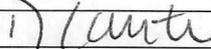
Definiciones:

- **Solución stock de oligonucleótidos:** Se refiere al tubo que contiene las síntesis del oligonucleótido liofilizado y que será reconstituido en TE 1X pH 7 a una concentración 100mM y almacenado a -20°C
- **Solución de trabajo de oligonucleótidos:** Se refiere al tubo de 1.5mL que contiene a los oligonucleótidos en una concentración 10mM en agua estéril. Estos oligonucleótidos se emplean en la realización de la PCR y se almacenan a 4°C.

Material y equipo

Campana para PCR, nanofuga, micropipetas de 1000, 200, 10 y 2 mL, puntas estériles para micropipetas de 1000, 200 y 10 mL, tubos estériles de 1.5 mL, gradilla para tubos de 1.5 mL, hielera con hielo, TE 1X, agua inyectable estéril, solución de etanol al 70% v/v en agua destilada, papel secante, rotulador y guantes de nitrilo.

1. Se colocan los guantes y se rocían con la solución de etano al 70%.
2. La campana para PCR se limpia con agua destilada en las paredes de acrílico y con la solución de etanol en la base metálicas. El exceso se elimina con papel y se deposita en el contenedor de basura municipal.

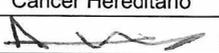
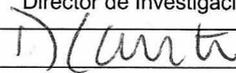
CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 71
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

3. Al interior de la campana se coloca el material de puntas, pipetas, tubos y gradillas a utilizar. Se activa la lámpara de UV durante 30 minutos.
4. Al término de la esterilización por UV, el liofilizado de oligonucleótidos se centrifuga 10 segundos en la nanofuga que se encuentra dentro de la campana de PCR y se resuspende en TE 1X para alcanzar una concentración de 100mM. La cantidad en volumen de TE 1X a agregar se determina según la cantidad de nanomoles presentes en el tubo.
5. Una vez disuelto el liofilizado en su totalidad, se mantiene en hielo y al término de su uso se almacena en el revco a -70°C dentro de la caja plástica identificada como "Stoks de oligonucleótidos"
6. Para realizar la solución de trabajo de oligonucleótido, a un tubo estéril de 1.5 mL se adhiere en las paredes externas la etiqueta identificadora proporcionada por el proveedor IDT y se rotula con su nombre de síntesis en la tapa. Se realiza una dilución en 100mL en agua inyectable estéril para obtener una concentración final de 10mM. Se mantiene en hielo y al término se almacenan a 4°C en cajas plásticas.
7. En la carpeta de *oligos*, colocada en la mesa 1 de trabajo, se especifica el nombre de la caja, localización y posición en el que se almacena.

PCR en punto final para la validación de variantes genéticas encontradas en pacientes índice de la Clínica de Cáncer Hereditario

Propósito: Planificar las actividades a ejecutar para la realización de la PCR en punto final de la para la muestra de DNA.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 72
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

Alcance: La aplicación de este procedimiento permite obtener una amplificación de la secuencia que posee la variante reportada en los pacientes índice de la Clínica de Cáncer Hereditario.

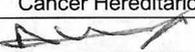
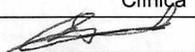
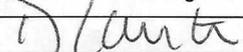
Definiciones.

- **PCR punto final:** La reacción en cadena de la polimerasa o PCR (por sus en inglés Polymerase Chain Reaction), es una técnica permite amplificar pequeñas cantidades de segmento de DNA, que sirve de molde, entre cientos de miles y millones de veces. Fue K. Mullis, quien en 1985, diseñó esta técnica para lograr la multiplicación in vitro a partir de la actividad de la DNA polimerasa.

Material y equipo

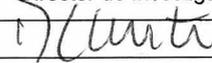
Campana para PCR, termociclador, vortex, nanofuga, micropipetas de 1000, 200, 10 y 2 mL, puntas estériles para micropipetas de 1000, 200 y 10 mL, tubos estériles de 0.6 mL, tubos estériles de 0.2 mL, gradilla para placa de PCR de 96 pozos, hielera con hielo, agua inyectable estéril, *DreamTaq DNA Polymerase* (Cat. EP0702, ThermoScientific), solución de etanol al 70% w/v en agua destilada, papel secante, rotulador y guantes de nitrilo.

1. Se corrobora en la bitácora el identificador de la muestra solicitada para su análisis y se relaciona con su identificador interno U-
2. Se colocan los guantes y se rocían con la solución de etano al 70%.
3. La campana para PCR se limpia con agua destilada en las paredes de acrílico y con la solución de etanol en la base metálicas. El exceso se elimina con papel y se deposita en el contenedor de basura municipal.
4. Al interior de la campana se coloca el material de puntas, pipetas, tubos y gradillas a utilizar. Se activa la lámpara de UV durante 30 minutos.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 73
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

5. A partir del identificado interno U-, se localiza el tubo que contiene el DNA [50nM] la cual esta almacenada en orden creciente en las cajas plásticas destinadas del Revco de -20°C.
6. Se coloca la muestra en la hielera para su descongelación paulatina
7. Del Revco de -20°C se localizan los dNTP's, el Buffer 10X de la polimerasa. La solución de trabajo de los oligonucleótidos necesarios para la amplificación se localiza en la carpeta de "oligos". Todos los componentes se mantienen en hielo para su descongelación.
8. Se realizan los cálculos necesarios para el Mix de reacción, considerando un control negativo y un exceso equivalente al 10% de volumen.
9. En la campana de PCR, previamente esterilizada, se realiza el mix de reacción en tubos estériles de 0.6mL, considerando un negativo.
10. **IMPORTANTE:** La enzima Taq polimerasa se mantiene a -20°C y solo se saca del Revco hasta que se va a pipetear el volumen requerido. Inmediatamente después de ser ocupada se regresa a su lugar en el Revco.
11. Se agrega la enzima Taq polimerasa, observando la incorporación en forma de un hilo oleoso al mix de reacción. Se vortexea por 2 segundos.
12. Se centrifuga brevemente el mix y se mide el volumen necesario para cada reacción.
13. Al final se adiciona 1uL de sol de DNA o el correspondiente volumen de agua estéril según sea el tubo + o - previamente rotulados
14. Se realiza una inspección visual para descartar presencia de burbujas de aire. En caso de presentar, las reacciones son centrifugadas por 2 segundos.

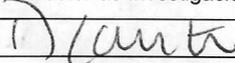
CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 74
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

15. Se coloca las reacciones en el termociclador con el programa de amplificación adecuado para cada par de oligonucleótidos.

16. Los reactivos son regresados a almacenamiento correspondiente.

17. La campana para PCR se limpia con agua destilada en las paredes de acrílico y con la solución de etanol en la base metálicas. El exceso se elimina con papel y se deposita en el contenedor de basura municipal.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 75
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

Electroforesis en geles de agarosa para la validación de variantes genéticas encontradas en pacientes índice de la Clínica de Cáncer Hereditario

Propósito: Planificar las actividades a ejecutar para la realización de la electroforesis en geles de agarosa.

Alcance: La aplicación de este procedimiento determina la existencia de un producto de amplificación en el tamaño de pares de bases esperado.

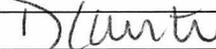
Definiciones.

- **Electroforesis en geles de agarosa.** Es una técnica que empleada para separar ácidos nucleicos con base a su tamaño y carga eléctrica a partir de aplicar una diferencia de potencial. La agarosa fusionada y polimerizada, genera la formación de poros (según la concentración de agarosa) los cuales actúan como una red, permitiendo que las moléculas más pequeñas se muevan más rápido que las grandes.

Material y equipo

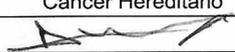
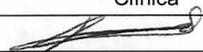
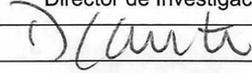
Balanza, regulador de corriente, cámara de electroforesis, microondas, fotodocumentador UVP, matraz Erlenmeyer de 50mL, probeta de 100 mL, nanofuga, micropipetas de 10 y 2 mL, puntas de 10 mL, Parafilm, hielera con hielo, agarosa, TAE 1X, Buffer de carga 6X, marcador de peso molecular 100 bp DNA Ladder (Cat. 15628019, Invitrogen), solución de etanol al 70% v/v en agua destilada, papel secante, rotulador y guantes de nitrilo.

6. Se colocan los guantes y se rocían con la solución de etano al 70%.
7. Se realizan los cálculos para preparar un gel al 1.2% de agarosa p/v en TAE 1X. El volumen para preparar corresponde al tamaño de la cámara a emplear.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 76
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

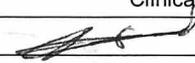
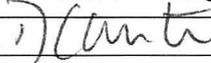
8. La agarosa en polvo se pesa en la balanza, se transfiere al matraz Erlenmeyer con el volumen TAE 1X correspondiente y se funde en el microondas a intervalos de 15 segundos.
9. Una vez fundida y estando a una temperatura media, se agrega 0.5mL de bromuro de etidio. **IMPORTANTE:** el bromuro de etidio es un agente químico teratogénico por lo que cualquier material que tenga contacto directo con él, deberá ser depositado en un recipiente de residuos con bromuro de etidio.
10. La agarosa se vierte en la bandeja de la cámara de electroforesis para polimerizar a temperatura ambiente y cubierto de la luz.
11. Las reacciones de PCR se centrifugan brevemente por 2 segundos y se toma 5mL de reacción para ser mezclados con 1mL de buffer de carga.
12. El volumen de reacción de PCR con el buffer de carga 6X son mezclado por acción mecánica de pipeteo sobre una superficie con Parafilm.
13. La mezcla es transferida a uno de los pozos del gel de agarosa (posición +, -), previamente sumergido en la cámara de electroforesis con TAE 1X.
14. Se cargan 1.5mL de marcador de peso molecular (100pb) en el primer pozo y se corre la electroforesis a 80 mA durante 40 minutos.
15. Se observa el gel en el transiluminador a una frecuencia de 345nm y se toma una fotografía a través de la ventana con el celular personal.
16. Los guantes que se utilizan para este parte del procedimiento son eliminados en el bote de desechos contaminados con bromuro de etidio.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 77
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

17. La imagen digital del gel es cargada a la computadora y mostrada en blanco/negro (negativo) e insertada a un documento PPT donde se especifican la fecha de realización, identificador de la muestra, variante, oligonucleótidos empleados, temperatura de amplificación, número de ciclos y tamaño en pb del amplicón esperado. Este archivo se guarda con el nombre de "resultado de PCR".

18. En caso de ser positiva la amplificación, se procede a la purificación del producto de PCR.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 78
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

Purificación de productos de PCR y secuenciación SANGER para la validación de variantes genéticas encontradas en pacientes índice de la Clínica de Cáncer Hereditario

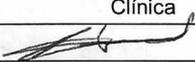
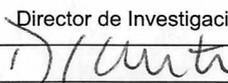
Propósito: Planificar las actividades a ejecutar para la realización de la purificación de los productos de PCR y su posterior secuenciación.

Alcance: La aplicación de este procedimiento permite la obtención la lectura de la secuencia del fragmento de DNA de pacientes índice de la Clínica de Cáncer Hereditario.

Material y equipo

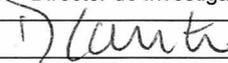
Campana para PCR, termociclador, nanofuga, Exonucleasa I (Exo I, cat. #EN0582, Thermoscientific), BigDye® Direct Cycle Sequencing Kit (Applied BioSystems), micropipetas de 10 y 2 mL, puntas de 10 mL, tubos de 0.2mL, hielera con hielo, solución de etanol al 70% v/v en agua destilada, papel secante, rotulador y guantes de nitrilo.

1. Se colocan los guantes y se rocían con la solución de etano al 70%.
2. La campana para PCR se limpia con agua destilada en las paredes de acrílico y con la solución de etanol en la base metálicas. El exceso se elimina con papel y se deposita en el contenedor de basura municipal.
3. Al interior de la campana se coloca el material de puntas, pipetas, tubos y gradillas a utilizar. Se activa la lampara de UV durante 30 minutos.
4. Los reactivos de la Exonucleasa I se localizan en el Revco de -20°C. Los reactivos se mantienen en hielo para su descongelación. **IMPORTANTE:** La enzima se localiza en el Revco de -20°C y se saca hasta el momento de agregarla en la reacción para inmediatamente después regresarla a esa temperatura.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 79
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

5. Previamente rotulados los tubos, la reacción se prepara en la campana de PCR, siguiendo el protocolo del fabricante.
6. Se centrifugan por 2 segundos para evitar la formación de burbujas de aire y se colocan el termociclador para completar el ciclo de purificación.
7. Los reactivos son regresados a almacenamiento correspondiente.
8. La campana para PCR se limpia con agua destilada en las paredes de acrílico y con la solución de etanol en la base metálicas. El exceso se elimina con papel y se deposita en el contenedor de basura municipal.
9. Al término del ciclo de purificación, el producto debe ser almacenado a -20°C .
10. Se prepara el producto purificado para su secuenciación SANGER, empleando el protocolo modificado del reactivo. **IMPORTANTE:** Mantener en agitación la solución SAM previamente y durante su utilización.
11. Eliminar el film adhesivo y adicionar los 55 mL del mix de perlas a cada muestra. Es importante pipetear suavemente antes de tomar el mix, pues las perlas precipitan al fondo del tubo.
12. Sellar nuevamente con un film y colocar la placa en agitación en un vortex 15 minutos a 2000 rpm a temperatura ambiente. Este paso se realiza en 2 ocasiones consecutivas.
13. Centrifugar la placa 1000Xg 1 minuto a temperatura ambiente.
14. Eliminar el film protector y colocar la cubierta de goma de 96 pozos.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 80
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

15. Colocar la placa dentro del casete específica del 3500 *Genetic Analyzer*

16. Activar el equipo para el inicio de la secuenciación.

**Obtención, análisis de las secuencias y emisión de los resultados de la validación de
variantes genéticas encontradas en pacientes índice de la Clínica de Cáncer
Hereditario**

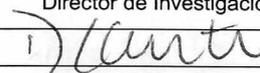
Propósito: Planificar las actividades a ejecutar para la obtención y análisis de las secuencias de las variantes reportadas en los pacientes índice de la Clínica de Cáncer Hereditario.

Alcance: La aplicación de este procedimiento permite emitir un resultado que valida el obtenido por secuenciación masiva facilitando al médico genetista la toma de decisiones en beneficio de los pacientes índice de la Clínica de Cáncer Hereditario.

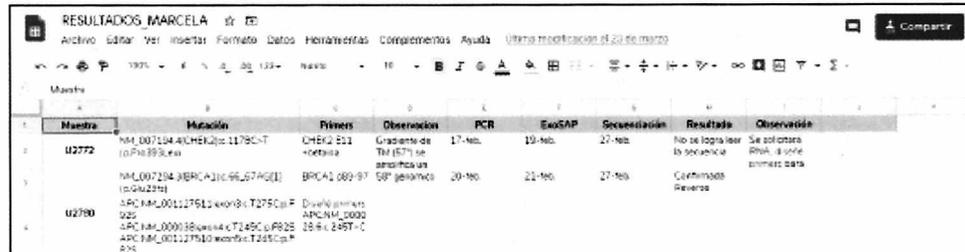
Material y equipo

USB, equipo de cómputo con acceso internet, software Chromast lite

1. En una USB son cargados los archivos transferidos para ser visualizados en el programa de visualización de cromatogramas "Chromast lite".
2. Se analiza la secuencia amplificada localizando la secuencia del nucleótido y siguiendo base por base hasta encontrar la posición de la variante para determinar si se confirma o no su presencia.
3. Para emitir el resultado, se elabora un archivo Excel en la plataforma de Drive de Gmail. Este archivo posee la siguiente información por columna, B: identificador interno de muestra; C: variante; D: Oligonucleótidos empleados; E: Observaciones; F: fecha de PCR, G: Fecha de purificación con ExoSAP; H: Fecha de secuenciación SANGER; I: veredicto de la secuenciación; J: observación adicional.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 81
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115



Muestra	Mutación	Primer	Observación	PCR	ExoSAP	Secuenciación	Resultado	Observación
u2772	MM_007104.4/CHER2(cc:1178C>T (cPh893.aa)	CHER2_212 +cebba	Gradiente de Taj (87) se amplifican	17-180	19-180	27-180	No se logra leer la secuencia	Se colorea blan. a por eliminar data
u2780	MM_007104.4/BRCA1(cc:96,67 AG[G] (cG423t)	BRCA1_089-97	58' genotipo	20-180	21-180	27-180	Confirmado Reverso	

4. El archivo se comparte vía drive a la Dra. Verónica Frago Ontiveros.
5. Todo los pasos, observaciones e imágenes de resultados obtenidos durante el proceso son especifican en la bitácora correspondiente a este procedimiento.

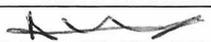
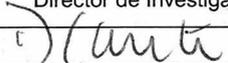
Elaboró: Marcela Angélica De la Fuente Hernández

Análisis de electroferogramas generados a través de secuenciación Sanger pacientes y familiares

Propósito: Identificar a pacientes o portadores sanos con mutaciones asociadas al desarrollo de cáncer de tipo hereditario

Descripción del Procedimiento

- 1.- Generación de archivo en formato con la extensión *abl*, generado por secuenciación Sanger
- 2.- Apertura de cada uno de los archivos perfectamente identificados con el número de muestra cuya información se encuentra en la base general de estadíos moleculares realizados en el laboratorio de la Clínica de Cáncer Hereditario.
3. Identificación de la presencia o ausencia de la mutación buscada por medio del programa MySequence y CLC Sequencer Viewer 8
- 4.- Anotación de cada resultado en bitácora de trabajo
- 5.- Revisión de resultados con un segundo analizador del resultado el cual es otro especialista en biología molecular.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 82
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

6.- Vaciado de resultados en formato hoja de calculo Excel con la información siguiente:

Nombre de paciente

Expediente

Mutación

Fecha de entrega

7.- Envío de resultados por correo electrónico a las doctoras Rosa Ma Alvarez y Yuliana Sánchez, para la emisión del reporte.

Análisis de electroferogramas generados a través de secuenciación Sanger pacientes y familiares

Propósito: Identificar a pacientes o portadores sanos con mutaciones asociadas al desarrollo de cáncer de tipo hereditario

Descripción del Procedimiento

1.- Generación de archivo en formato con la extensión *ab1*, generado por secuenciación Sanger

2.- Apertura de cada uno de los archivos perfectamente identificados con el número de muestra cuya información se encuentra en la base general de estadios moleculares realizados en el laboratorio de la Clínica de Cáncer Hereditario.

3. Identificación de la presencia o ausencia de la mutación buscada por medio del programa MySequence y CLC Sequencer Viewer 8

4.- Anotación de cada resultado en bitácora de trabajo

5.- Revisión de resultados con un segundo analizador del resultado el cual es otro especialista en biología molecular.

6.- Vaciado de resultados en formato hoja de calculo Excel con la información siguiente:

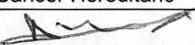
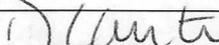
Nombre de paciente

Expediente

Mutación

Fecha de entrega

7.- Envío de resultados por correo electrónico a las doctoras Rosa Ma Alvarez y Yuliana Sánchez, para la emisión del reporte.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 83
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

5.2 CITOGENÉTICA

1. Propósito

Este manual tiene la finalidad de detallar el procedimiento por el cual se obtiene un cariotipo de una muestra obtenida de los pacientes atendidos por la clínica de cáncer hereditario. Estas muestras pueden consistir en sangre periférica, médula o fibroblastos humanos.

2. Alcance

Este manual está dirigido a todo el personal que requiera realizar un cariotipo de una muestra obtenida en la clínica de cáncer hereditario.

3. Definiciones

El cariotipo describe el complemento cromosómico de un organismo, reportándolo de forma ordenada y sistemática. Los cariotipos son preparados a partir de células mitóticas que son arrestadas en metafase o prometafase durante su ciclo celular y en el caso del humano, al tener un complemento diploide se componen de 46 cromosomas, de los cuales 22 son pares de cromosomas autosómicos y un par de cromosomas sexuales.

El análisis de un cariotipo implica el orden de los cromosomas estudiados en una metafase empezando por aquellos de mayor tamaño hasta los de menor tamaño y dejando aquellos que corresponden al complemento de cromosomas sexuales al final. La organización de los cromosomas también considera la posición del centrómero iniciando por aquellos que son a) metacéntricos (el centrómero se encuentra ubicado en la parte media), seguido de los b) submetacéntricos (con el centrómero desplazado hacia alguno de los extremos, de tal manera que se evidencia un brazo corto (p) y uno largo (q)) y acrocéntricos (el centrómero está situado muy próximo a uno de los extremos y se observa un brazo corto muy reducido) (Fig.1).

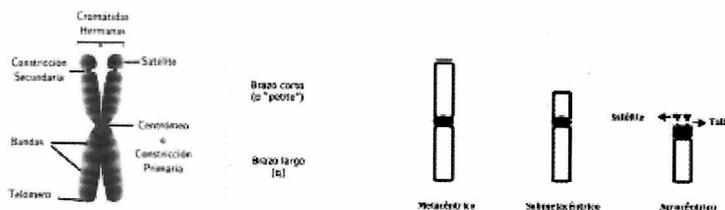
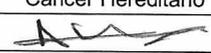
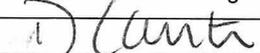


Figura 1. Estructura y clasificación de cromosomas

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 84
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

Los cromosomas acrocéntricos tienen característicamente en los brazos cortos una estructura denominada región organizadora nucleolar (NOR), formada de un tallo y de un satélite; estas regiones son polimórficas por lo que cualquier variación en tamaño o forma no tiene un efecto fenotípico en el individuo. Durante la preparación de los cromosomas metafásicos para su bandeo se cuida que las cromátides hermanas se observen como una estructura lineal única.

Mediante técnicas de bandeo y el análisis por microscopía de sus patrones es posible identificar alteraciones numéricas y estructurales importantes para el diagnóstico de ciertas enfermedades y/o síndromes.

La metodología de bandeo más usada son las Bandas G (GTG). Este tipo de bandeo se obtiene al digerir los cromosomas con la enzima proteolítica tripsina y al teñirlos posteriormente con Giemsa, generando un patrón de bandas oscuras (positivas, ricas en nucleótidos pares AT) y claras (negativas, ricas en nucleótidos pares GC) características de cada cromosoma, permitiendo de esta manera su identificación individual. Las bandas G permiten la identificación precisa de todos los cromosomas del complemento humano y son la primera opción para realizar la búsqueda de alteraciones tanto numéricas como estructurales en resoluciones de 4Mb hasta el cromosoma completo (Fig.2).

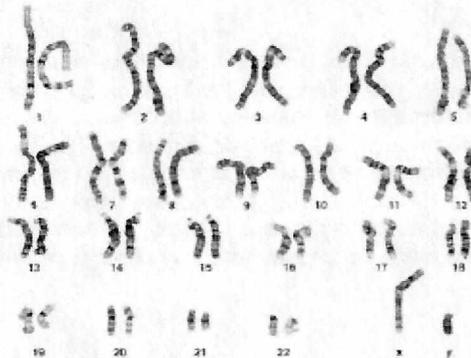
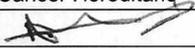
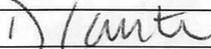


Figura 2. Cariotipo 46,XY normal, con bandas G y resolución de 550 bandas

4. Material y equipo.

Referirse al ANEXO 1 para consultar el material usado en la Clínica de Cáncer hereditario y recomendado por este manual.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 85
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

5. Requerimientos

5.1 Procedimientos de toma de muestra

¡Importante!. Es indispensable que la toma de muestra se lleve con todos los cuidados y consideraciones necesarias para el manejo de muestras biológicas, procurando la seguridad tanto del paciente como del profesional de salud.

Todo el material de la toma de muestra debe ser estéril y nuevo, así como utilizado por personal capacitado.

5.1.1 Sangre Periférica.

Utilizando una jeringa estéril de 5 ml previamente heparinizada con 200 µl tomar por punción venosa 5 ml de sangre periférica o con ayuda de una aguja estéril y su adaptador tomar 5 ml en un vacutainer con heparina sódica (tapa verde).

Se debe tener cuidado de que la muestra no debe estar coagulada, hemolizada ni diluida.

5.1.2 Médula ósea.

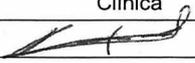
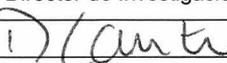
Las muestras de médula ósea deben ser tomadas por un Médico Hematólogo mediante aspirado de médula ósea.

La cantidad de médula ósea requerida para los análisis depende del número de leucocitos presente en la muestra y como este dato es incierto se recomienda tomar como mínimo 2 ml. Esta muestra debe ser tomada bajo condiciones de asepsia en una jeringa previamente heparinizada.

5.1.3 Biopsia de piel/Tumor sólido.

La biopsia de piel debe de ser tomada por una enfermera o médico capacitado, empleando un sedante local y con un bisturi estéril. La muestra debe medir al menos 6mm y se debe colocar en una solución salina (NaCl) isotónica estéril con 1% de antibiótico/antimicótico.

La muestra de tejido provenientes de tumor sólido puede variar de tamaño y debe permanecer inmerso en solución salina isotónica estéril desde su obtención y durante el transporte hasta el laboratorio para su procesamiento.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 86
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

5.2 Siembra y cultivo celular de la muestra.

Los cuidados y recomendaciones para el cultivo celular se deben seguir como está indicado en el manual de procedimientos operativos estandarizados de "Cultivo celular de Líneas de Cáncer y Tejidos Primarios".

5.3 Cosecha de metafases y bandedo.

¡Precaución! La cosecha de metafases implica el uso de solventes tóxicos para el usuario. Es imprescindible el uso de guantes y el manejo de los solventes en una campana de extracción que evite su inhalación por el usuario.

El bandedo de las laminillas donde se encuentra el material a estudiar requiere de colorantes y tripsina en dilución que deben ser manejados con guantes de látex.

6. Procedimiento

6.1 Preparación de células de Sangre Periférica para el análisis cromosómico

6.1.1 Siembra de sangre periférica.

Los linfocitos son células diferenciadas que normalmente no se encuentran en división, de modo que deben ser estimulados para su replicación con un mitógeno, usualmente fitohemaglutinina (PHA). La PHA estimulará específicamente los linfocitos T y se estima que el tiempo óptimo de cultivo es de 48 a 72 hrs.

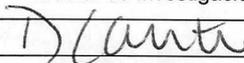
1. Tomar las medidas de asepsia e higiene descritas en el manual de procedimientos operativos estandarizados de "Cultivo celular de Líneas de Cáncer y Tejidos Primarios".

2. En la campana de cultivo encendida, previamente limpiada con Et-OH al 70% y radiada con luz UV por al menos 15 minutos, preparar los tubos estériles de 15 ml que se vayan a emplear con 5 ml de medio RPMI suplementado con L-Glutamina y 2% de PHA.

Nota. El número de tubos recomendados es dos por muestra, ya que se debe considerar una réplica.

3. Limpiar el tubo de la muestra con Et-OH al 70% e invertirlo hasta que la sangre se homogenice completamente.



CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 87
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

4. Retirar la tapa dentro de la campana, tomar 1ml de sangre con una pipeta estéril y colocarlo en el tubo de 15 ml previamente preparado con 5 ml de medio.

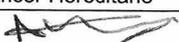
Nota. Se debe sembrar 1ml de sangre por tubo.



5. Colocar los tubos a 5% de CO₂ y 37°C por 48-72h.

¡Importante!. Las tapas deben dejarse ligeramente sueltas para permitir el intercambio de gases.

¡Precaución!. Los tubos deben dejarse en posición parcialmente horizontal procurando que el cultivo adquiera una mayor superficie de intercambio gaseoso, pero cuidando que el medio no llegue a la tapa.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 88
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

6.1.2 Cosecha de metafases de linfocitos T de sangre periférica.

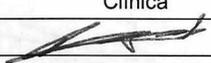
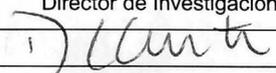
Una vez transcurridas las 48-72h se puede considerar que el cultivo ha cumplido de uno a dos ciclos de división celular y que se tienen suficientes células en mitosis. Para detener la mayor cantidad de células posibles en prometafase/metafase y con ello obtener el material que se desea analizar se adiciona un agente químico que detiene las células en mitosis. En este caso el componente más usado es la colcemida, la cual actúa como desestabilizador de los microtúbulos y consecuentemente detiene la mitosis o división celular.

1. Agregar 70 µl de colcemida al tubo en que se mantiene el cultivo y dejar incubando a 37° por 20-30 minutos para que se arreste la división celular y puedan analizarse el mayor número de metafases posible.
2. Centrifugar el tubo con el cultivo a 1500 rpm/ 10 min y retirar el sobrenadante cuidando de no tocar el botón celular.
3. Agregar 8 ml de solución hipotónica de KCl 0.075 M a 37°C y resuspender el botón celular usando vortex. Incubar el cultivo a 37°C por 25-30 min. En condiciones hipotónicas la célula aumentará su volumen, ya que, en un intento de restablecer el equilibrio osmótico a ambos lados de la membrana celular. Consecuentemente, la membrana celular se vuelve más lábil facilitando su posterior ruptura con el fijador de camoy al momento de gotear las células en la laminilla.
4. Pasado el tiempo, prefijar con 1ml de fijador de camoy (metanol:ácido acético 3:1 respectivamente) frío (4°C) y mezclar por inversión cuidando que no queden residuos en el fondo del tubo.
5. Dejar reposar al menos 10 min el tubo en prefijación.
6. Centrifugar el tubo con el cultivo a 1500 rpm/10 min y retirar el sobrenadante cuidando de no tocar el botón celular.
7. Volver a lavar el botón celular con 10 ml de fijador de camoy asegurando de resuspender completamente el botón celular.
8. Centrifugar nuevamente el tubo con el botón celular resuspendido a 1500 rpm/10 min y retirar el sobrenadante cuidando de no tocar el botón celular.

Nota. Es posible suspender el protocolo en este paso, cuidando de no dejar pasar mas de 48h para realizar los siguientes lavados. Los tubos deben almacenarse a 4°C durante el tiempo de pausa.

9. Repetir los lavados necesarios (aproximadamente 3 más) para obtener un botón celular blanco y limpio de eritrocitos.

¡Importante!. Dejar el botón limpio de eritrocitos es fundamental para un buen material de bandeo, ya que así se evitarán residuos que pudieran cubrir las metafases y obstaculicen el análisis de sus cromosomas.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 89
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

6.2 Preparación de células de médula para el análisis cromosómico

El análisis citogenético de médula ósea es una herramienta útil en diversos desórdenes hematológicos malignos. Mediante el análisis de cariotipo es posible detectar anomalías cromosómicas importantes para el diagnóstico de ciertos tipos de leucemia.

El estudio cromosómico es también utilizado para el monitoreo de la progresión de la enfermedad como la entrada en crisis blástica (en el caso de leucemia Mieloide Crónica), y la respuesta al tratamiento. Dado que las células provenientes de médula ósea están en división continua, no es necesario emplear una estimulación con mitógenos. En general para el estudio de leucemias, los cultivos se establecen entre 24 y 72 h, e incluso se sugiere una cosecha directa, la cual se lleva a cabo el mismo día de colecta de la muestra.

6.2.1 Siembra de médula ósea

¡Importante!. Asegurarse de que la muestra que se recibe después del procedimiento de punción se haya tomado adecuadamente, es decir, en una jeringa heparinizada sin coágulos y transportada a temperatura ambiente. Si la muestra presenta algún coágulo, asegurarse que al menos 1ml de la médula se encuentre en condiciones de ser sembrada. En este caso se debe considerar que la muestra puede no crecer y generar resultados insatisfactorios, por lo que se debe advertir al personal que solicita el cariotipo.

Así mismo, es de suma importancia que la muestra esté acompañada de los datos del paciente, incluyendo nombre, número de expediente, edad y diagnóstico.

1. La muestra debe ser procesada en Campana de Flujo Laminar, la cual ha sido previamente limpiada con Et-OH al 70% y radiada con luz UV por al menos 15 minutos (Para mayores detalles ver manual de procedimientos operativos estandarizados de "Cultivo celular de Líneas de Cáncer y Tejidos Primarios).

2. Preparar tubos falcon de 15ml con 5ml de medio de cultivo con 1% de L-glutamina, 15% de suero fetal bovino, 1% de antibiotico-antimicótico.

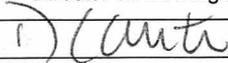
Nota. El medio de cultivo puede ser RPMI o medio MarrowMAX. Así mismo, el número de tubos a sembrar dependerá de la cantidad de muestra que se tenga disponible.

3. Si la cantidad de muestra es suficiente, se sugiere sembrar 4 tubos para someterlos a cosecha a diferentes tiempos: cosecha directa (realizada el mismo día de entrega de muestra), 24, 48 y/o 72 hrs.

4. Utilizando la jeringa que contiene la MO gotear 1 ml de muestra en el tubo de 15 ml previamente preparado con medio.

5. Invertir el tubo hasta que la muestra se homogenice completamente.

6. **Nota.** La jeringa será introducida a la campana de flujo laminar para la siembra de la muestra, por lo que es necesario su previa asepsia con etanol al 70%.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 90
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

7. Incubar los tubos a 37°C con 5% de CO₂ por el tiempo que se haya destinado cada tubo (24, 48 y/o 72hrs), excepto la muestra para cosecha directa, el cual se procesara inmediatamente para el siguiente paso de cosecha de la muestra.

;Importante!. Las tapas deben dejarse ligeramente sueltas para permitir el intercambio de gases.

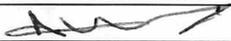
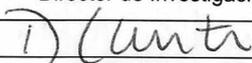
;Precaución!. Los tubos deben de dejarse en posición parcialmente horizontal procurando que el cultivo adquiera una mayor superficie de intercambio gaseoso, pero cuidando que el medio no llegue a la tapa.

6.2.2 Cosecha de células de médula ósea

Una vez transcurrido el tiempo necesario para cada condición de cultivo proceder con protocolo de cosecha que se detalla a continuación:

1. Agregar 70 µl de colcemida al tubo en que se mantiene el cultivo y dejar incubando a 37°C por 20 minutos para que se arreste la división celular y puedan analizarse el mayor número de metafases posible.
2. Centrifugar el tubo con el cultivo a 1200 rpm/ 8 min y retirar el sobrenadante cuidando de no tocar el botón celular.
3. Agregar 10 ml de solución hipotónica de KCl 0.075 M precalentado a 37°C y resuspender gentilmente el botón celular usando vortex o pipeta. Incubar el cultivo a 37°C por 30 min. En condiciones hipotónicas la célula aumentará su volumen, ya que, en un intento de restablecer el equilibrio osmótico a ambos lados de la membrana celular. Consecuentemente, la membrana celular se vuelve más lábil facilitando su ruptura con el fijador de carnoy al momento de gotear las células en la laminilla.
4. Pasado el tiempo, prefijar con 1ml de fijador de carnoy (metanol:ácido acético 3:1 respectivamente) frío (4°C) y mezclar por inversión cuidando que no queden residuos en el fondo del tubo.
5. Dejar reposar al menos 10 min el tubo en prefijación.
6. Centrifugar el tubo con el cultivo a 1200 rpm/8 min y retirar el sobrenadante cuidando de no tocar el botón celular.
7. Volver a lavar el botón celular con 10 ml de fijador de carnoy asegurando de resuspender completamente el botón celular.
8. Centrifugar nuevamente el tubo con el botón celular resuspendido a 1200 rpm/8 min y retirar el sobrenadante cuidando de no tocar el botón celular.

Nota. Es posible suspender el protocolo en este paso, cuidando de no dejar pasar mas de 48h para realizar los siguientes lavados. Los tubos deben almacenarse a 4°C durante el tiempo de pausa.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 91
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

9. Repetir los lavados necesarios (aproximadamente 3 más) para obtener un botón celular blanco y limpio de eritrocitos.

¡Importante!. Dejar el botón limpio de eritrocitos es fundamental para un buen material de bandeó, ya que así se evitarán residuos que pudieran cubrir las metafases y obstaculicen el análisis de sus cromosomas.

6.3 Preparación de células de fibroblasto/biopsia de tumor para análisis cromosómico

6.3.1 Siembra de fibroblastos.

6. Tomar las medidas de asepsia e higiene descritas en el manual de procedimientos operativos estandarizados de "Cultivo celular de Líneas de Cáncer y Tejidos Primarios".

7. En la campana de cultivo encendida, previamente limpiada con Et-OH al 70% y radiada con luz UV por al menos 15 minutos, preparar dos navajas de bisturí estériles y atemperar tripsina (GIBCO).

8. Tomar la muestra de piel o de tejido y colocarla en una caja petri estéril de plástico.

9. Lavar la muestra con 3 ml de PBS estéril (GIBCO), ayudándose de una pipeta estéril.

10. Retirar el PBS y colocar 1 ml de tripsina atemperada.

11. Con ayuda de los bisturís cortar en fragmentos pequeños la muestra y distribuirlos en el plato.

¡Importante!. No se debe de cambiar la caja petri, los fragmentos se deben mantenerse en la misma caja durante todo el cultivo.

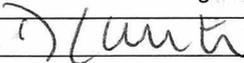
12. Apartar la caja en la campa y dejar secar la muestra con la tripsina.

13. Ya seca la muestra y adherida a la caja adicionar 3 ml de medio AmnioMax y colocarle la tapa.

14. Mantener el cultivo a 37°C con 5% CO².

15. Cuidar los siguientes días que los explantes permanezcan adheridos a la caja y cubiertos por medio.

16. Revisar periódicamente los cultivos durante la semana siguiente con ayuda de un microscopio con contraste de fases para identificar la migración de fibroblastos a la caja.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 92
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

17. Cambiar el medio a partir de que se observen fibroblastos en la caja.

18. Cuidar que la caja se llene al 70% de confluencia y subcultivar a una nueva caja petri.

¡Precaución!. Al subcultivar se puede seguir las indicaciones del manual de procedimientos operativos estandarizados de "Cultivo celular de Líneas de Cáncer y Tejidos Primarios", pero es imprescindible cuidar los tiempos de exposición a la tripsina, ya que sólo se deben recuperar los fibroblastos que migraron e idealmente se deben mantener los explantes adheridos a la caja original.

En caso de que se desprendieran los explantes en el proceso se puede adicionar 2 ml de medio de modo que la superficie se cubra pero no los explantes. Pasadas 2 a 3 h se debe revisar el cultivo para cerciorarse de que los explantes se hayan adherido nuevamente y completar otros 2 ml de medio que los vuelvan a cubrir completamente.

19. La nueva caja debe de ser vigilada hasta una confluencia del 70-80% y se deben identificar el momento en que se observen una mayor cantidad de figuras mitóticas con ayuda de un microscopio de contraste de fases.

6.3.2 Cosecha de metafases de fibroblasto/biopsia de tumor para análisis cromosómico.

1. Cuando se observen las figuras mitóticas se debe adicionar 70 µl de colcemida y dejar el cultivo a 37°C por 15-20 min.

2. Pasado ese tiempo se retira el medio y se obtienen los fibroblastos en mitosis.

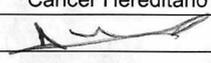
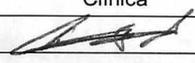
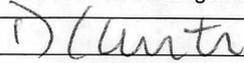
¡Importante!. Al tener menos superficie de adhesión, las células en metafase se desprenderán primero a comparación de aquellas en interfase. Por tanto, el tiempo de exposición a la tripsina debe de ser muy corto y se debe de vigilar con el microscopio para favorecer la obtención de células en metafase.

3. Cuando se observe que la mayoría de las células en metafase se han desprendido se debe adicionar medio para inhibir la acción de la tripsina y se deben de recuperar en un tubo de 15 ml estéril. A la caja se le debe completar nuevamente 4 ml de medio.

4. El tubo debe de centrifugarse a 1200 rpm/ 8 min y retirar el sobrenadante cuidando de no tocar el botón celular.

5. Agregar 10 ml de solución hipotónica de citrato de sodio 0.8% precalentado a 37°C y resuspender gentilmente el botón celular usando vortex o pipeta. Incubar el cultivo a 37°C por 30 min.

¡Precaución!. No se debe de confundir con la hipotónica de los tejidos anteriores.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 93
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

6. Pasado el tiempo, fijar con 1ml de fijador (metanol:ácido acético, 5:2 respectivamente) frío (4°C) y mezclar por inversión cuidando que no queden residuos en el fondo del tubo.

¡Precaución!. No se debe de confundir con el fijador de los tejidos anteriores.

7. Dejar reposar al menos 10 min el tubo en fijación.

8. Centrifugar el tubo con el cultivo a 1200 rpm/8 min y retirar el sobrenadante cuidando de no tocar el botón celular.

9. Volver a lavar el botón celular con 10 ml de fijador de carnoy asegurando de resuspender completamente el botón celular.

10. Centrifugar nuevamente el tubo con el botón celular resuspendido a 1200 rpm/8 min y retirar el sobrenadante cuidando de no tocar el botón celular.

¡Importante!. Para el caso de los fibroblastos no se recomienda suspender el protocolo y se aconseja hacer las laminillas inmediatamente para asegurar que se tiene el material deseado.

El siguiente paso es la preparación de laminillas y bandeo cromosómico. Ambos procedimientos son similares entre las muestras de sangre periférica, médula, y biopsias de tejido, por lo que se debe proceder como se indica en la sección 6.4.

6.4 Bando de metafases.

Ya que se obtiene el botón celular con las metafases fijadas se deben preparar laminillas donde se esparza el material de forma uniforme y posteriormente se madure el material para poder ser bandeado.

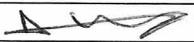
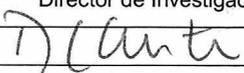
6.4.1 Preparación del material laminillas y maduración.

1. Preparar las laminillas limpiándolas con Extran (MERCK) y enjuagándolas cuidadosamente. Ponerlas en un recipiente donde se les pueda cubrir con agua destilada y metanol al 98%. Mantenerlas a 4°C.

2. Tomar una laminilla y escurrirla ligeramente sin tocar la superficie donde se colocará la muestra.

3. Antes de que se seque su superficie gotear la muestra sobre la laminilla, habiendo resuspendido el botón celular en una cantidad pequeña de fijador de carnoy, metanol:ácido acético 3:1, aproximadamente 500 µl, para concentrar el número de células o metafases.

4. Esperar a que se distribuya uniformemente y terminar de escurrir el exceso.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 94
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

5. Colocar la laminilla con la muestra hacia arriba en una placa caliente (aproximadamente 72°C) y esperar a que se seque por completo a temperatura ambiente.

6. Revisarla al microscopio en contraste de fases o campo oscuro para asegurar que el material no se ve refringente a la luz y conserva un color oscuro intenso y no grisáceo, de lo contrario la muestra se ha quemado y resultaría en un mal bandeado.

7. Terminadas las laminillas en caso de querer bandearlas, se recomienda dejarlas al menos una semana a 37°C o 4 días a 40°C o 2 días a 60°C en un ambiente seco para que el material termine de deshidratarse y se pueda obtener un buen bandeado.

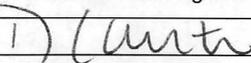
Nota. Si se desea madurar más rápidamente el material se puede aumentar la temperatura del horno hasta 90°C y dejar el material por una hora.

¡Precaución! Este paso es crítico para obtener un material adecuado para el bandeo. Si se descuida el tiempo (dejando menos horas de las señaladas o más de 24 horas a altas temperaturas) o la temperatura (cambios extremos que no permitan una maduración homogénea), el proceso de bandeo se dificultará al punto de incluso no poder llevarse a cabo, obligando al usuario a preparar nuevas laminillas o si se ha terminado el material a repetir incluso el cultivo.

6.4.2 Bando de laminillas.

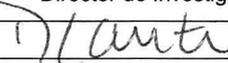
1. Los tiempos que va a pasar cada laminilla dependerán del tiempo que ha pasado desde que se hicieron y del tiempo de maduración.
2. Iniciar pruebas de los tiempos en cada solución del tren de bandeo, considerando como puntos críticos el tiempo de tripsina, el tiempo en que se expone al buffer y el tiempo de giemsa.
3. Estableciendo los tiempos de cada solución, para cada muestra, pasar todas las laminillas por el tren de bandeo. A continuación, se propone iniciar la estandarización con los siguientes tiempos, considerando un periodo de maduración de 2 días a 37°C.

Solución	Tiempo de exposición de las laminillas	Función de las soluciones
Tripsina	20-30 s	Enzima peptidasa que hidroliza proteínas del cromosoma, permitiendo obtener el patrón de bandas GTG en su estructura.
Buffer Gurr	Enjuague	Detener el efecto de la tripsina en la estructura de los cromosomas.
Buffer Gurr	30 s	Aumentar el volumen de las cromátidas hermanas, para unir las y se vea el cromosoma como una unidad.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

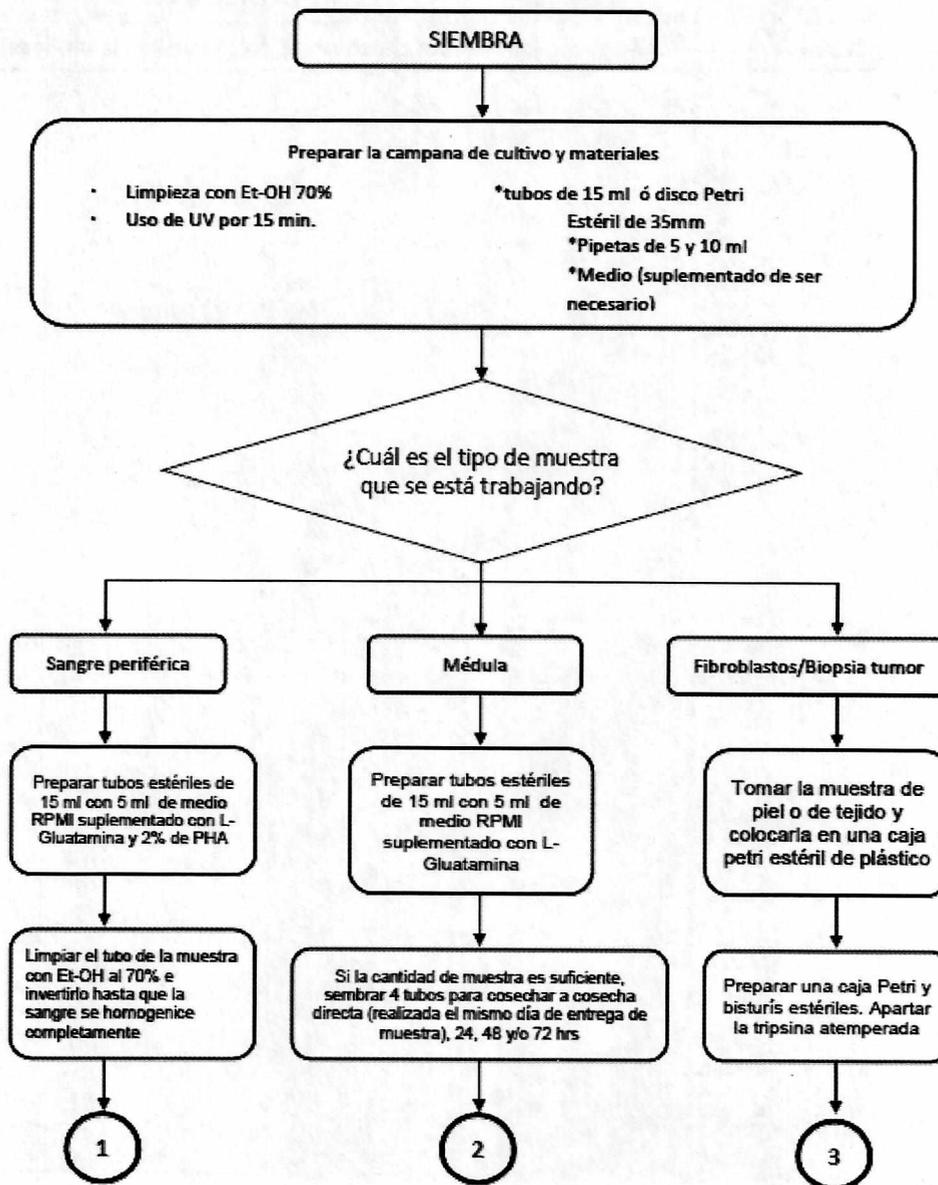
 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 95
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

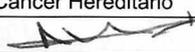
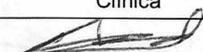
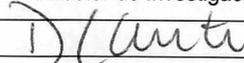
Wright	15 s	Teñir el cromosoma para dar contraste a las bandas.
Giemsa	15-30 s	Colorante con el que se tiñe las regiones ricas en G-C de los cromosomas.
Agua	Enjuague	Retira el exceso de colorantes de la muestra.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

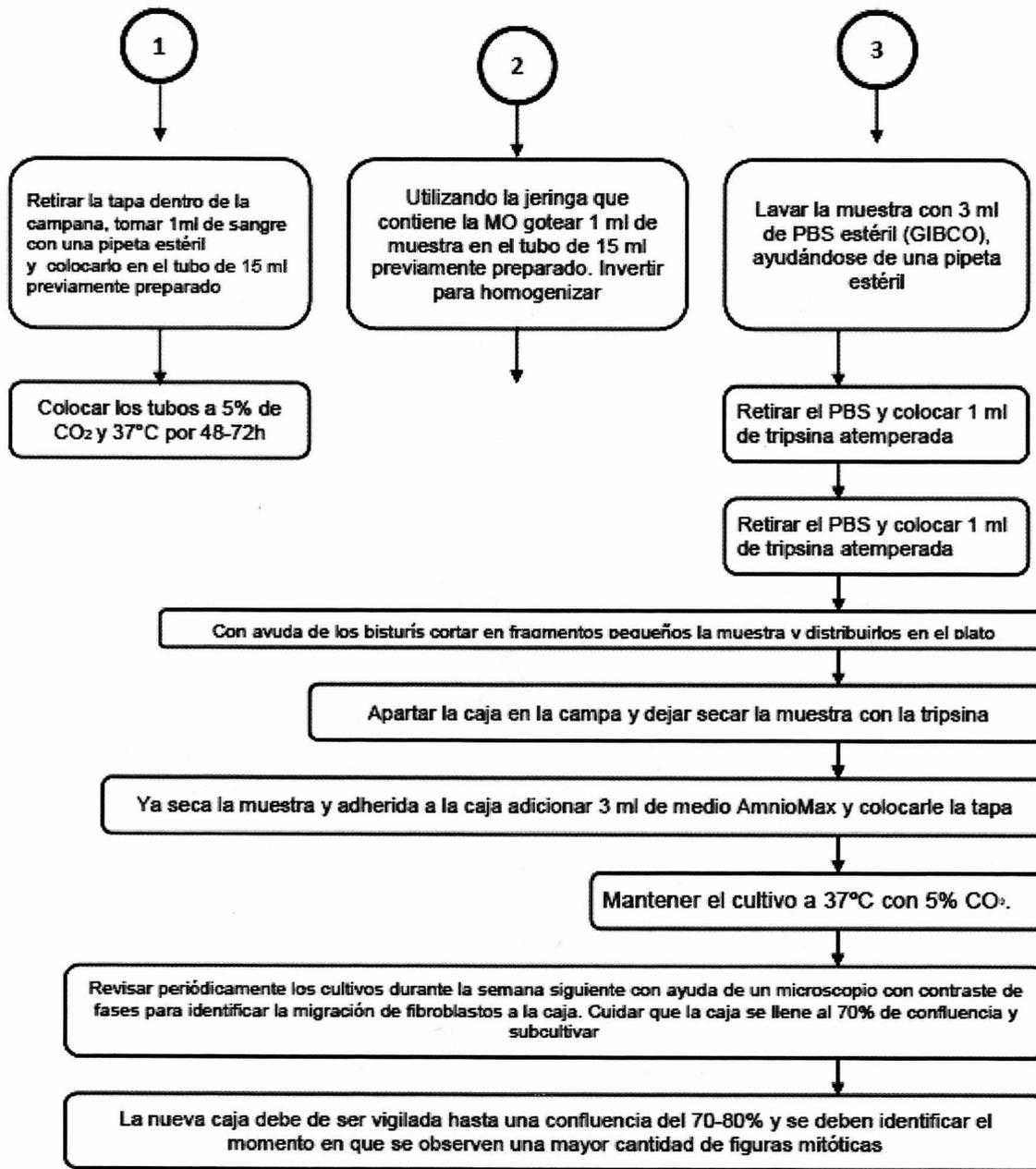
	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 96
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

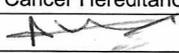
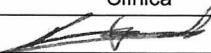
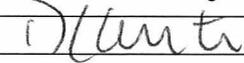
6. Flujo del proceso.



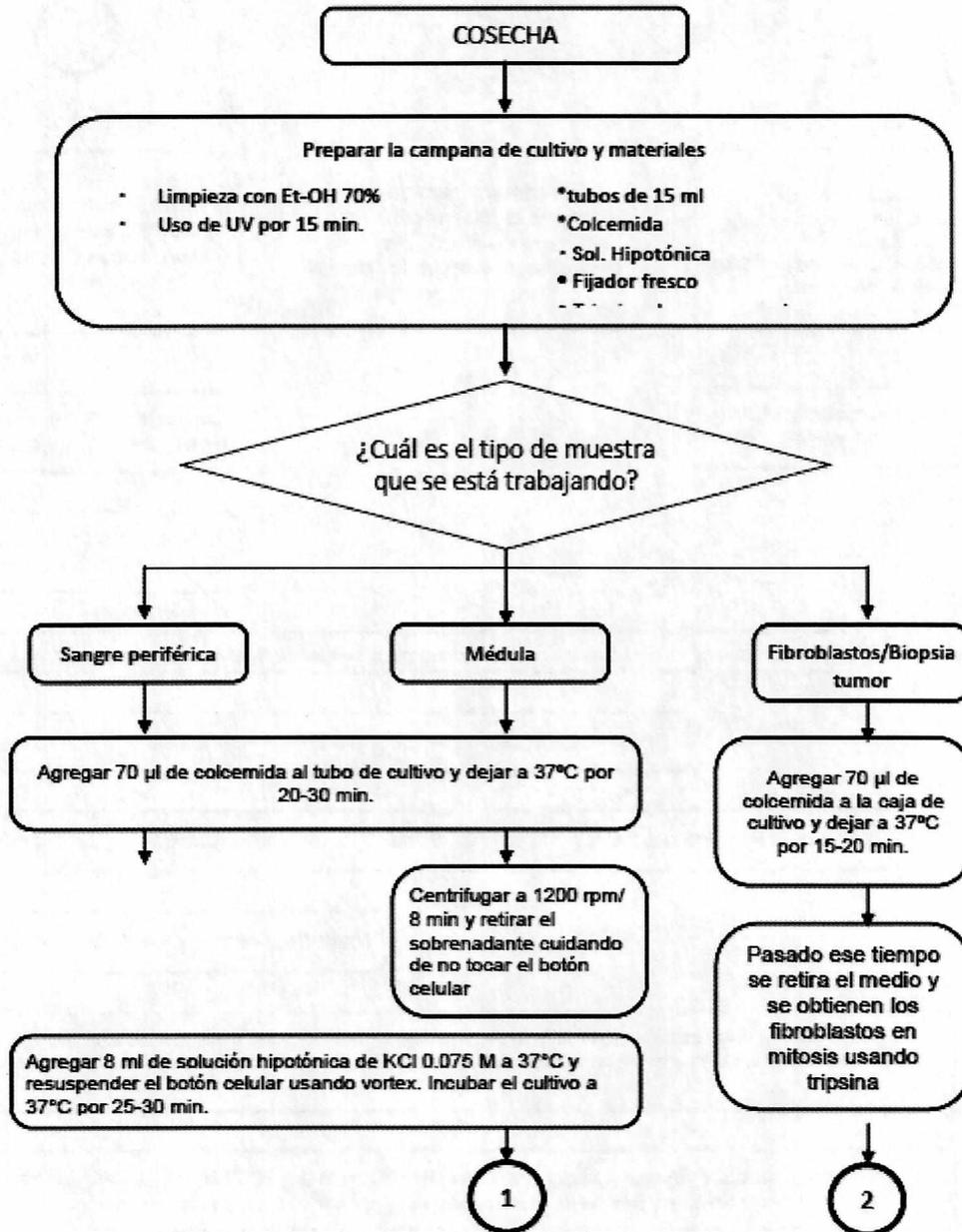
CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

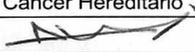
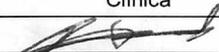
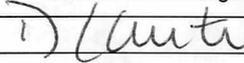
	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 97
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115



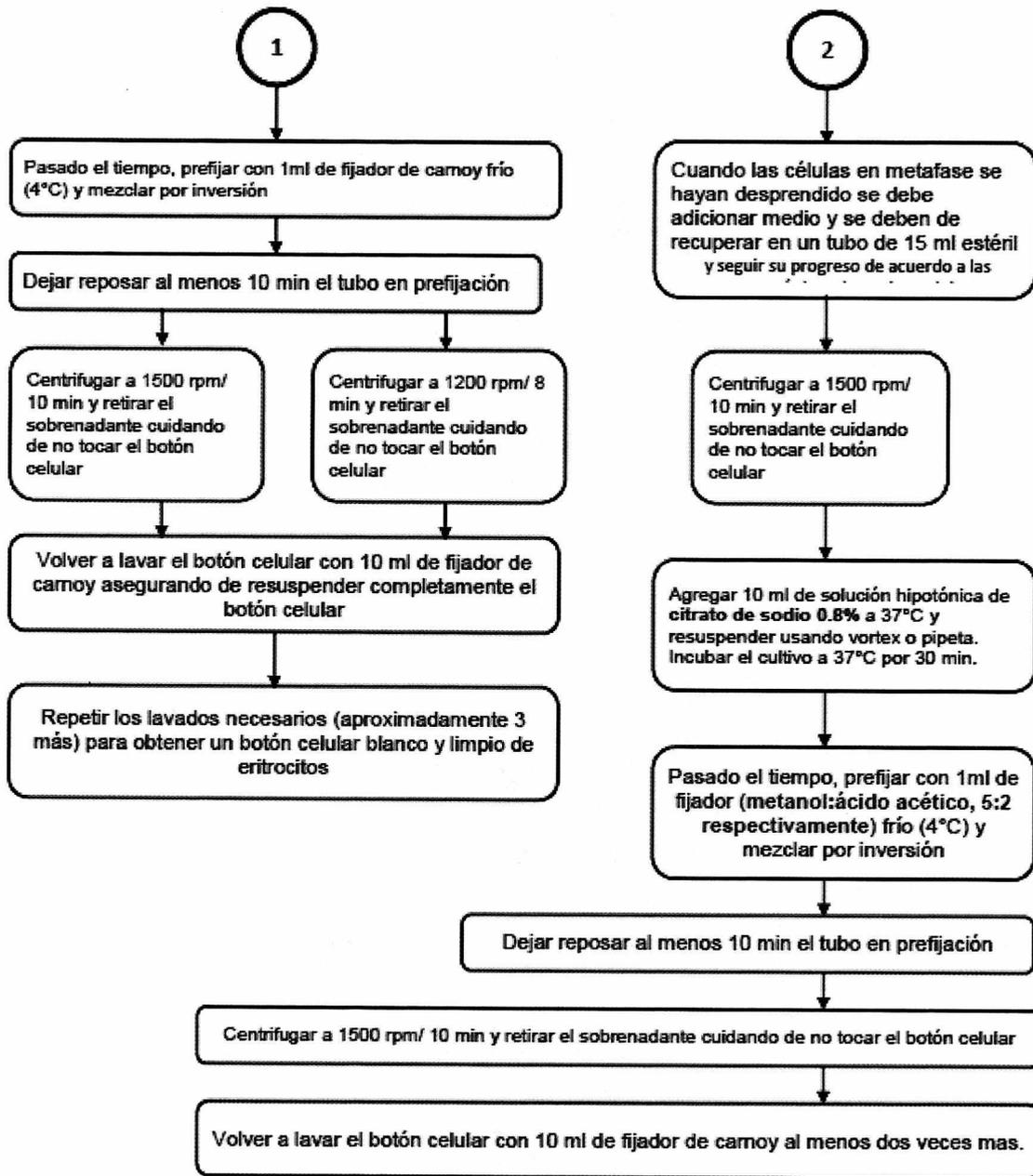
CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

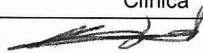
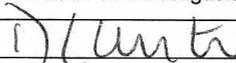
 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 98
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115



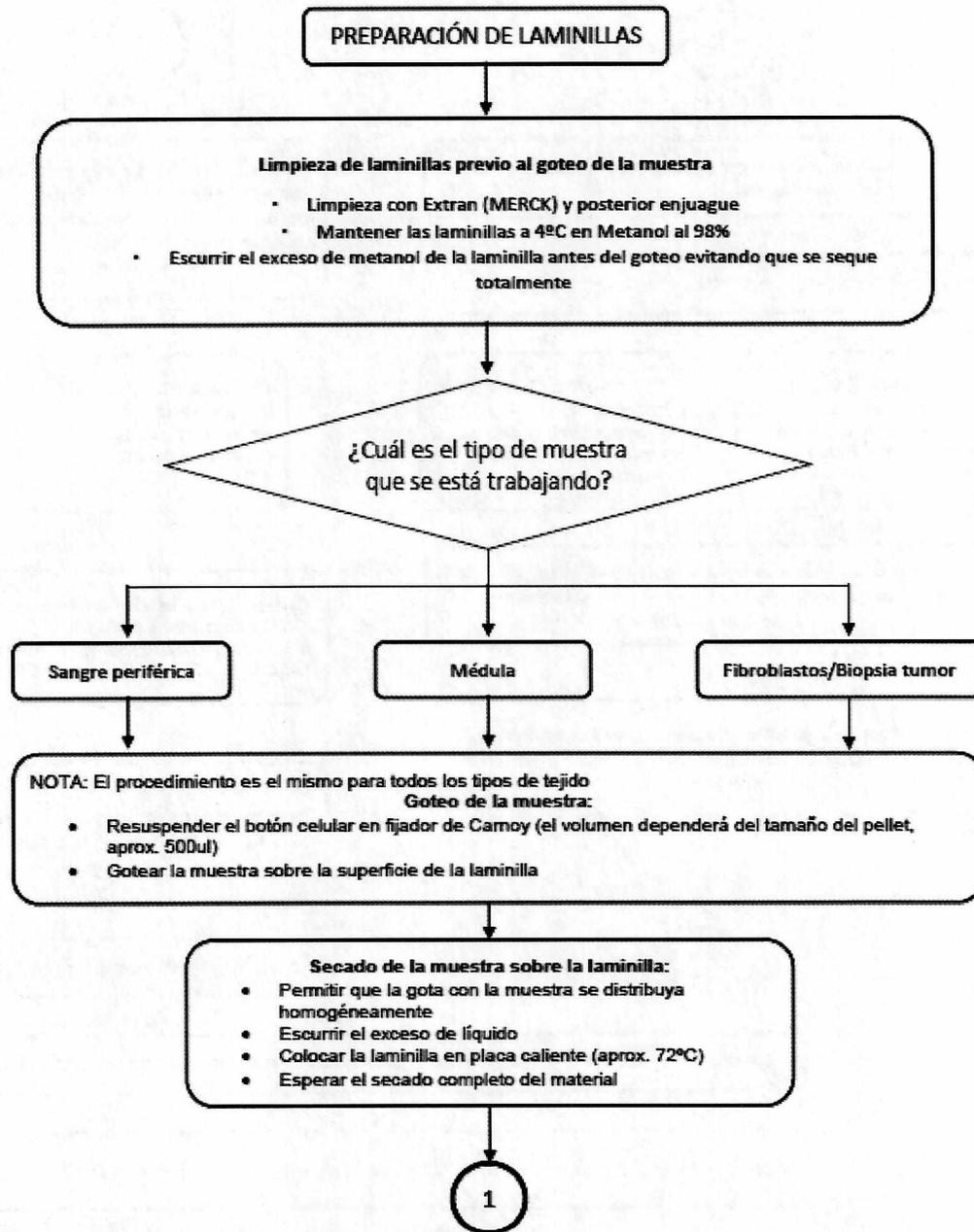
CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

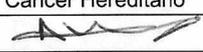
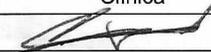
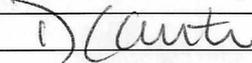
 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 99
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115



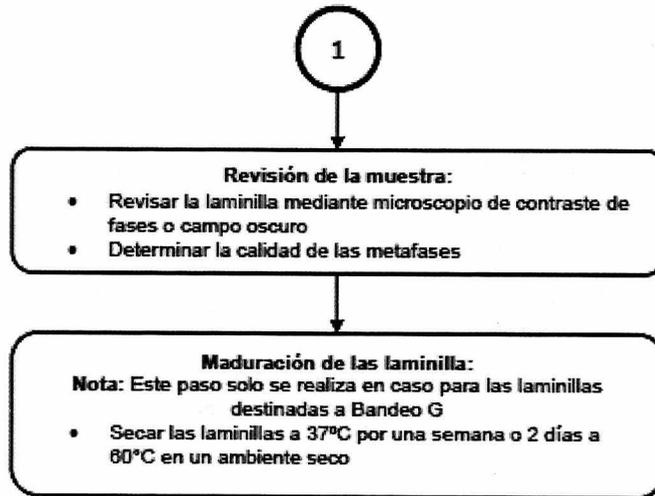
CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

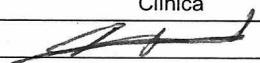
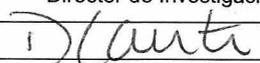
	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 100
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115



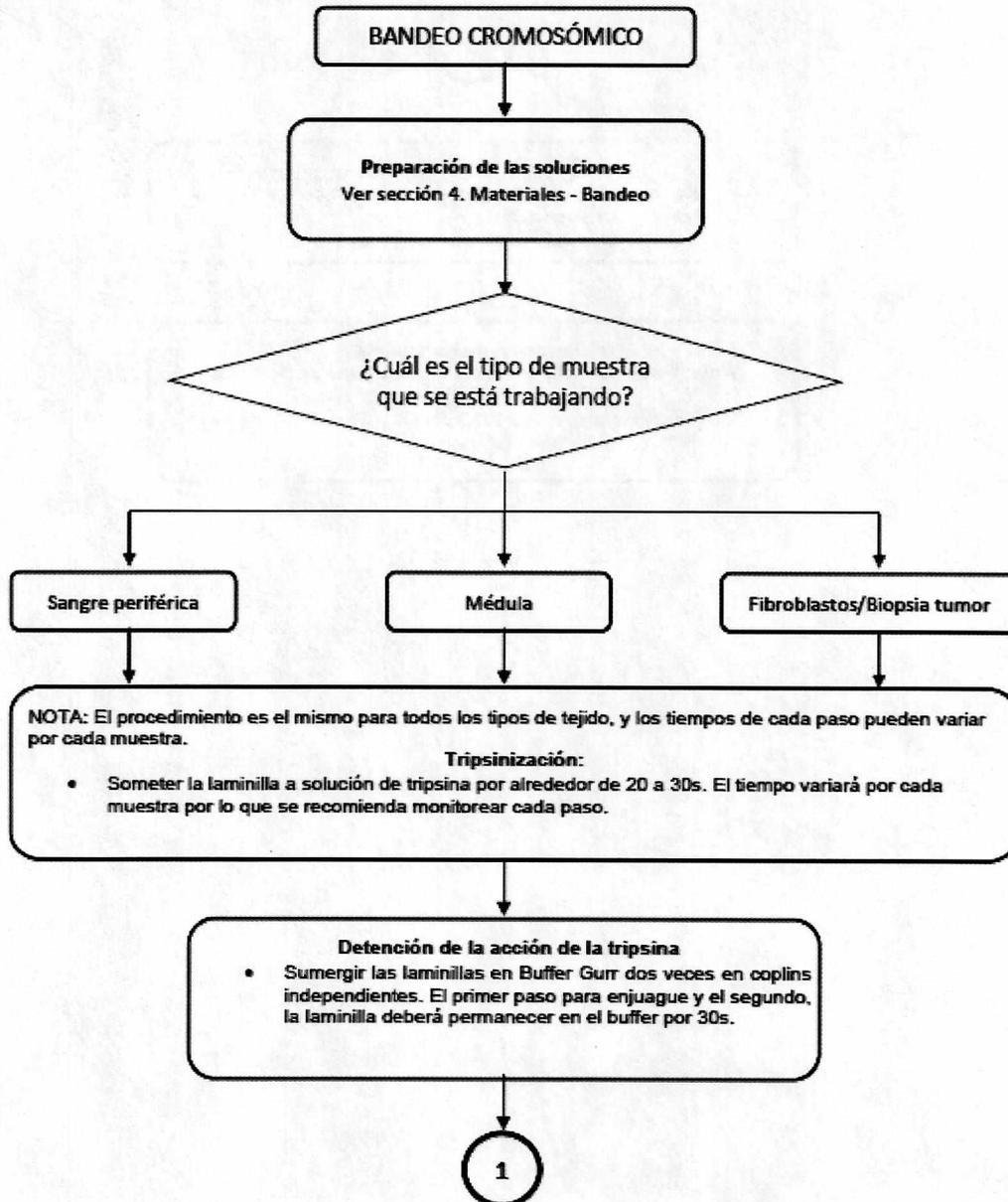
CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

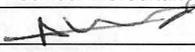
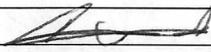
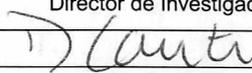
 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 101
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115



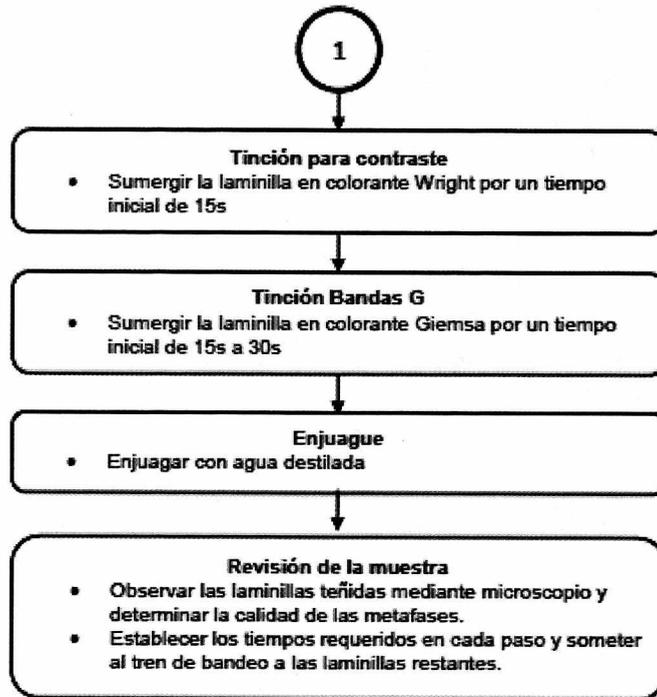
CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

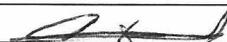
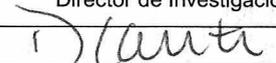
	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 102
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115



CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 103
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

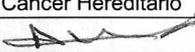
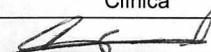
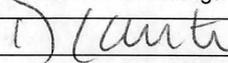


CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		HOJA: 104 DE: 115

7. Referencias

- Nussbaum, R., *et al. Genetics in Medicine: 7th Edition.* Saunders/Elsevier. Philadelphia. 76 (2007).
- Cin, P. D. *Current Protocols in Human Genetics.* (2003).
- Wang, N. Methodologies in cancer cytogenetics and molecular cytogenetics. *Am. J. Med. Genet.* 115, (3), 118-124 (2002).
- Dewald, G. W., Ketterling, R. P., Wyatt, W. A., Stupca, P. J. Cytogenetic studies in neoplastic hematologic disorders. *In Clinical Laboratory Medicine, 2nd edition.* McClatchey, K. D. Williams & Wilkens. Baltimore. 658-685 (2002).
- Muul, L. M., Heine, G., Silvin, C., James, S. P., Candotti, F., Radbruch, A., Worm, M. *Measurement of Proliferative Responses of Cultured Lymphocytes, Curr. Protoc. Immunol.* (2011).
- Freshney, R. Ian. (2011) *Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique and Specialized Applications, Sixth Edition.*
- Writing Effective Standard Operating Procedure (SOPs) and Work Instructions (WIs). Live Webinar by Compliance Trainings. Charles Paul. January, 2016.

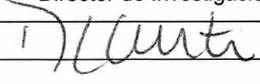
CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 105
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

ANEXOS

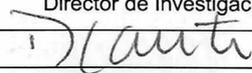
ANEXO. 1

Cultivo			
Tipo celular	Medio	Suero	Suplementos
Sangre periférica	- RPMI (Gibco Num. Cat. 21875-042) - PBmax (si la muestra de sangre es escasa; Gibco Cat. Num. 12557-013)	10% Suero Bovino Fetal en caso de usar medio McCoy	1% Glutamina 2% Fitohemaglutinina
Médula	MarrowMAX (Gibco Num. Cat. 12260-014)	15% Suero Bovino Fetal	NO USAR
Fibroblastos	AmnioMax (Gibco Num. Cat. 11269-016)	NO USAR	NO USAR
Material desechable esteril²			
Descripción	Marca (sugerida)		
Envases de cultivo celular (botellas, discos de cultivo)	CORNING		
Tubos estériles de 15 ml	CORNING		
Pipetas	COSTAR		
Agujas y jeringas	BD		
Contenedores de desecho (líquido y de materiales)	Inespecífico		
Contenedores de desecho (líquido y de materiales)	Inespecífico		
Tripsina	GIBCO		
PBS estéril	GIBCO		

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

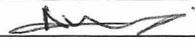
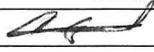
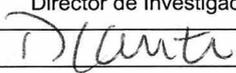
 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 106
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

Cosecha	
Descripción	Marca (sugerida)
Colcemida	GIBCO 10mg (Cat. Num.15210-040)
Potasio Clorídrico (KCl)	MERCK Mallinckrodt
Metanol	MERCK Mallinckrodt
Ácido acético glacial	MERCK Mallinckrodt
Solución Hipotónica	
Componentes	Cantidad
KCl	0.075 M
Agua destilada	1 L
Fijador o Carnoy	
Componentes	Cantidad
Metanol	3 partes
Ac. acético glacial	1 parte

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 107
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

Bandeo	
Descripción	Marca (sugerida)
Tripsina	GIBCO Cat. Num.15090-046
EDTA	Sigma
Tableta Gurr	BDH Laboratory
Solución Fisiológica NaCl	PiSA
KH ₂ PO	Sigma
Na ₂ HPO ₄	Sigma
Wright	MERCK
Giemsa	MERCK
Solución de Tripsina de trabajo 1/250	
Componentes	Cantidad
Tripsina	0.15 g
EDTA	0.01
Buffer Gurr	50 ml
Buffer Gurr pH 6.8	
Componentes	Cantidad
Tableta Gurr	1 pieza
Sol. Fisiológica	1 L

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 108
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

Soluciones del “tren de bandeó”

Tripsina
100ml



- 0.03g tripsina
- 100 ml de buffer Gurr

H₂O
50 ml



Wright
50 ml



- 4 ml Wright filtrado
- 46 ml Buffer Gurr

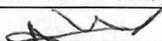
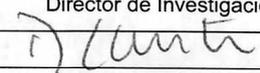
Giemsa
50ml



- 4 ml Giemsa filtrado
- 46 ml Buffer Gurr

H₂O
50ml



CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 109
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

10.5 ANEXO 3 ÁREA DE LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN

VI. ÁREA DE LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN

6.1 Inclusión de muestras de sangre periférica en proyectos de investigación dentro de la Clínica de Cáncer Hereditario

Introducción

La investigación clínica constituye uno de los pilares esenciales en la generación de nuevo conocimiento científico, pues sustenta el desarrollo, mejoramiento y utilización de diversas herramientas asociadas al diagnóstico, pronóstico y tratamiento de los pacientes. En cáncer, la investigación científica ha permitido el descubrimiento de diversas moléculas asociadas al diagnóstico temprano y pronóstico, empleando procedimientos no invasivos, mediante el análisis de pequeñas cantidades de sangre periférica y la utilización de los ácidos nucleicos (ADN y ARN). Estos descubrimientos han sido posibles gracias a la inclusión de grandes cohortes de pacientes en protocolos de investigación. Adicionalmente, la inclusión de pacientes en protocolos de investigación constituye un requisito fundamental a la hora de explorar una enfermedad compleja como el cáncer, en donde, los modelos celulares no pueden ofrecer un contexto global de la enfermedad.

Objetivo: Estandarizar los procedimientos operativos para la solicitud, inclusión y manejo de muestras de sangre periférica de pacientes atendidos en la clínica de cáncer hereditario en proyectos de investigación, para garantizar la calidad en el funcionamiento experimental y administrativo y cumplir con las recomendaciones establecidas por los comités de ética e investigación locales, así como las buenas prácticas clínicas.

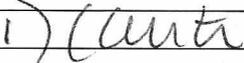
- ❖ Solicitud de muestras de sangre periférica, ácidos nucleicos y/o muestras de plasma sanguíneo.

Objetivo: Facilitar a los interesados la solicitud de muestras de sangre periférica, ácidos nucleicos y/o muestras de plasma sanguíneo para su inclusión en protocolos de investigación dentro y fuera de la Clínica de Cáncer Hereditario del Instituto Nacional de Cancerología.

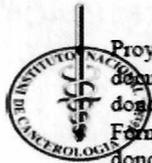
Responsable de la solicitud: Investigador principal/grupo de trabajo.

Material y documentación requerida:

- Formato de solicitud (este formato debe incluir los siguientes datos: nombre del proyecto de investigación en donde se pretende incluir las muestras solicitadas, nombre del investigador principal, nombre de la institución, currículo del investigador principal, tipo de muestra solicitada (sangre periférica, DNA, RNA o alguna combinación de estas), número de muestras solicitadas, entre otros por definir.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 110
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115



Proyecto de investigación por escrito en donde se pretende utilizar las muestras. Este documento debe incluir una sección detallada de los métodos experimentales en donde se utilizarán las muestras solicitadas.

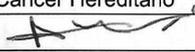
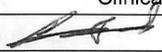
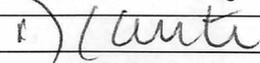
Formato de aceptación de los comités de ética e investigación de la institución en donde se realizará el proyecto de investigación.

- Constancia escrita en donde se especifique la solvencia económica para llevar a cabo el proyecto de investigación en donde se pretende utilizar las muestras solicitadas.
- Carta responsiva en donde se describan las responsabilidades y obligaciones del investigador principal/grupo de trabajo solicitante, en el manejo, cuidado, almacenamiento y utilización de las muestras solicitadas.

DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO

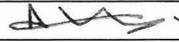
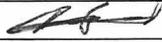
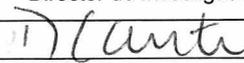
Pasos	Actividades	Persona responsable
1	Manifestar por escrito la intención de incluir muestras de pacientes atendidos en la Clínica de Cáncer Hereditario del Instituto Nacional de Cancerología al investigador responsable.	Grupo de trabajo/investigador principal
2	Requerir el formato de solicitud para la inclusión de muestras en protocolos de investigación.	Grupo de trabajo/investigador principal
3	Llenar el formato de solicitud para la inclusión de muestras en protocolos de investigación.	Grupo de trabajo/investigador principal
4	Presentar al responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario toda la documentación requerida para la solicitud muestras de sangre periférica, ácidos nucleicos y/o muestras de plasma sanguíneo de pacientes atendidos en la clínica.	Grupo de trabajo/investigador principal
5	Una vez recibida toda la información requerida para la solicitud, el responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario entregará un acuse de recibido de toda la documentación entregada.	Responsable de la clínica de cáncer hereditario
6	Determinación de la viabilidad de la solicitud presentada.	Responsable de la clínica de cáncer hereditario
7	En un lapso no mayor a 40 días, el responsable de la clínica de cáncer hereditario informará por escrito al grupo de trabajo/investigador principal la respuesta a la solicitud presentada.	Responsable de la clínica de cáncer hereditario

Formato de solicitud de muestras

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 111
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

Fecha de la solicitud:	
Nombre del investigador solicitante:	
El solicitante es un grupo de trabajo:	Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>
Nombre del proyecto:	
El proyecto de investigación es un proyecto interno o externo:	Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>
Institución donde se desarrollará el proyecto de investigación:	
El proyecto por desarrollar cuenta con financiamiento:	Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>
Tipo de financiamiento:	CONACYT <input type="checkbox"/> INSTITUCIONAL <input type="checkbox"/> OTRO <input type="checkbox"/>
El proyecto cuenta con aprobación de los comités de ética e investigación de la institución donde se desarrollará el proyecto:	Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>
Tipo de muestras solicitadas:	Sangre periférica <input type="checkbox"/> DNA <input type="checkbox"/> RNA <input type="checkbox"/> Otro <input type="checkbox"/>
Número de muestras solicitadas:	
<hr/> Nombre y firma Investigador solicitante	<hr/> Nombre y firma Personal de la clínica de cáncer hereditario

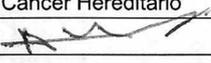
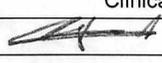
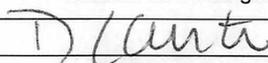
CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 112
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

10.6 ANEXO 4 GLOSARIO GENERAL

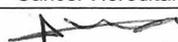
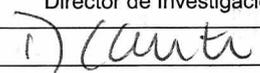
❖ GLOSARIO GENERAL

- ❖ **ADN ó DNA:** (Sigla de Acido DesoxirriboNucleico) Molécula que codifica los genes responsables de la estructura y la función de un organismo y posibilita la transmisión genética de una generación a la siguiente. Formado por bases nitrogenadas, fosfatos y una azúcar desoxiribosa.
- ❖ **Alelo:** Cada uno de los genes del par que ocupa el mismo lugar en cromosomas homólogos. Por lo que cada individuo tiene un par de alelos para cada gen, uno de origen paterno y el otro de origen materno.
- ❖ **ARN:** (Sigla de Ácido RiboNucleico). Molécula sintetizada a partir del ADN; contiene el azúcar ribosa. Hay tres tipos de ARN: ARN mensajero (ARNm), ARN de transferencia (ARNt) y ARN ribosomal (ARNr).
- ❖ **Asesoramiento genético:** Proceso dinámico respecto a un individuo o familia, que incluye la evaluación para confirmar, diagnosticar, o excluir una condición genética, un síndrome de malformación, o de un defecto aislado de nacimiento; la discusión del historial familiar de la herencia, la identificación de los asuntos que pueden manejar, el cálculo y la comunicación de los riesgos genéticos; y proveer o hacer referencia al apoyo psicológico.
- ❖ **Autosómico Dominante:** Es un patrón de herencia en que la presencia de una copia mutada, es decir de un heterocigoto, hace que surja una enfermedad. Los familiares de primer grado de un individuo afectado tendrán 50% de posibilidades de presentar la enfermedad. La mayor parte de síndromes de cáncer hereditario tienen este tipo de patrón. La enfermedad no salta generaciones, aunque por el fenómeno de penetrancia incompleta, anticipación, o expresividad variable se puede dar el caso en que una persona con mutación no desarrolla cáncer, pero si hereda la mutación.
- ❖ **Autosómico Recesivo:** Es un patrón de herencia que requiere la presencia de dos copias de una mutación de un gen en un locus determinado para que se exprese el fenotipo observable.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

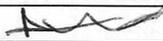
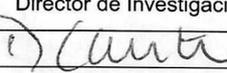
	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 113
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

- ❖ **Autosómico:** Se refiere a los cromosomas de 1 al 22, es decir cualquier cromosoma que no sean los cromosomas sexuales X o Y.
- ❖ **Congénito/ta:** Presente desde, o cerca del nacimiento
- ❖ **Cromosoma:** Estructura física, que consiste en una molécula de ADN condensada y mantenida por proteínas llamadas cromatina
- ❖ **Deleción:** Ausencia de un segmento de ADN; puede ser tan pequeño como una base o tan grande como un segmento completo de un cromosoma.
- ❖ **Diploide:** El número normal de los cromosomas de una célula somática: En los seres humanos, son 46 cromosomas (22 pares de autosomas y dos cromosomas sexuales.)
- ❖ **Fenotipo:** Características físicas o bioquímicas observables de la expresión de un gen. Conjunto de rasgos clínicos de un individuo con un genotipo determinado.
- ❖ **Gen:** Unidad básica de la herencia. Consiste en una secuencia de nucleótidos de ADN ordenada y ubicada en una posición lineal de un cromosoma. Un gen codifica una proteína específica o segmento de una proteína y que constituye la unidad funcional para la transmisión de los caracteres hereditarios.
- ❖ **Genoma:** Secuencia completa de ADN que contiene, en soportes, el código de toda la información genética y proteínas, en los cromosomas de un individuo o una especie.
- ❖ **Genotipo:** Conjunto de los genes de un individuo u organismo. También se refiere a la composición específica de alelos heredada en un locus.
- ❖ **Haploide:** Juego completo de cromosomas presente en las células germinales. En humanos es 23 cromosomas.
- ❖ **Heterocigoto:** Individuo que tiene dos alelos diferentes en un locus determinado, uno en cada cromosoma de un par, un alelo es generalmente normal y el otro anormal.
- ❖ **Homocigoto:** Individuo que tiene dos alelos idénticos en un locus determinado, uno en cada cromosoma del par.
- ❖ **Inestabilidad de microsatélites:** Cambio en el número de repeticiones de los microsatélites en base el número que se heredo. La causa de la inestabilidad microsatélite puede ser un defecto en los mecanismos de reparación, en especial la vía de bases mal apareadas.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 114
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

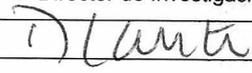
- ❖ **Inserción:** Anomalia cromosómica en la que el material de un cromosoma se inserta en otro cromosoma no homólogo. Una mutación en la que se inserta un segmento de ADN en un gen en otro segmento de ADN, alterando potencialmente la secuencia codificadora.
- ❖ **Marco de lectura:** Secuencia de ARN mensajero que es traducido a una cadena de aminoácidos, tres bases al mismo tiempo, cada triplete codifica un solo aminoácido.
- ❖ **Microsatélites:** Son secuencias de DNA, conformadas por repetidos entre 2-4 pares de bases. Generalmente se encuentran en regiones no codificantes. Son altamente polimórficas.
- ❖ **Mutación de novo:** Alteración en un gen que se presenta por primera vez en un miembro de una familia, sin que existan antecedentes familiares ni portadores de la enfermedad.
- ❖ **Mutación de sentido erróneo (missense) :** Una mutación de sentido erróneo es un cambio de un par de bases de ADN que cambia en un codón correspondiente a un aminoácido distinto.
- ❖ **Mutación puntual:** sustituciones de nucleótidos que resultan en mutaciones de sentido erróneo, mutaciones sin sentido, deleciones, e inserciones.
- ❖ **Mutación sin sentido (non-sence) :** Es un cambio en un par de bases de ADN. En vez de sustituir un aminoácido por otro, la secuencia de ADN señala prematuramente que la célula pare de construir proteínas. (i.e. un codón de terminación). Este tipo de mutación es una proteína truncada que puede no funcionar correctamente o que no funciona en absoluto.
- ❖ **Nucleótido:** Molécula compuesta por una base nitrogenada (adenina, guanina, timina, o citosina en el ADN; y adenina, guanina, uracil, o citosina en el ARN) un grupo fosfato, un azúcar (que son la desoxirribosa en el ADN y la ribosa en ARN). El ADN y el ARN son polímeros de muchos nucleótidos.
- ❖ **Par de bases (PB):** Dos bases nitrogenadas (adenina y timina, o guanina y citosina) unidas mediante enlaces débiles. Dos cadenas de ADN unidas entre sí en forma de una doble hélice por las cadenas entre pares de bases.
- ❖ **Penetrancia:** La proporción de individuos que presentan una mutación causante de una patología determinada y muestran síntomas clínicos de esa patología. Una

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 115
	2. Procedimiento para la atención de pacientes de primera vez en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 115

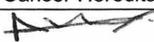
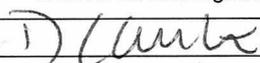
condición (generalmente heredada en forma autosómica dominante) se dice que tiene penetrancia si los síntomas clínicos están presentes en los individuos con la mutación que causa la enfermedad, y se dice que uno tiene penetrancia reducida o penetrancia incompleta si los síntomas completos no están siempre presentes en las enfermedades en los individuos que tienen la mutación causante de la enfermedad.

- ❖ **Relación Genotipo/Fenotipo:** Asociación entre la presencia de una determinada mutación o mutaciones y las pautas resultantes de anomalías.
- ❖ **Variantes de significado clínico incierto-VUS** (por las siglas en inglés: Variants of Unknown Significance), son aquellas variables en que no existe evidencia de estudios básicos ni clínicos acerca de su consecuencia en la proteína y las herramientas bio-informáticas no pueden determinar el efecto de estas variables sobre la proteína. Estas son un reto para el clínico, especialmente si no tiene experiencia. Las variantes génicas a su vez se clasifican en 5 categorías basados en el efecto sobre la proteína:
 - a. Afecta la función
 - b. Probablemente afecta la función
 - c. No se sabe si afecta la función: estas variables también son conocidas como VUS (por las siglas en inglés: Variants of Unknown Significance), son aquellas variables en que no existe evidencia de estudios básicos ni clínicos acerca de su consecuencia en la proteína y las herramientas bio-informáticas no pueden determinar el efecto de estas variables sobre la proteína. Estas son un reto para el clínico, especialmente si no tiene experiencia.
 - d. Probablemente no afecta la función
 - e. No afecta la función

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 1
	3. Procedimiento para la atención de pacientes subsecuentes en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 20

3. PROCEDIMIENTO PARA LA ATENCIÓN DE PACIENTES SUBSECUENTES EN LA CLÍNICA DE CÁNCER HEREDITARIO

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 2
	3. Procedimiento para la atención de pacientes subsecuentes en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 20

1. PROPÓSITO

Brindar atención de calidad y calidez a los pacientes subsecuentes que acuden a la Clínica de Cáncer Hereditario, con la finalidad de proveer de información oportuna y precisa para su atención, a fin de conformar un documento que sirva de instrumento para poder continuar con los procesos de atención clínica, de diagnóstico molecular/citogenético, e investigación, que se realizan en la Clínica de Cáncer Hereditario (CCH), en seguimiento de los pacientes subsecuentes.

2. ALCANCE

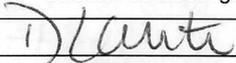
- 2.1 A Nivel Interno: el procedimiento es aplicable a la Dirección de investigación, a través de la Clínica de Cáncer Hereditario, que brinda asesoramiento genético a los pacientes, referente a los resultados obtenidos del estudio genético/molecular que les fue realizado.

3. POLÍTICAS DE OPERACIÓN, NORMAS Y LINEAMIENTOS

- 3.1 La Clínica de Cáncer Hereditario brindará atención a pacientes del Instituto Nacional de Cancerología en un horario de 8:00 a 16:00 horas, de lunes a viernes. Los días asignados para los pacientes subsecuentes son lunes, miércoles y viernes con un límite de 12 pacientes por día, la duración de la consulta es de 40 minutos por paciente. Citas para familiares se programan los días martes y jueves.

Segunda Fase: 2ª Consulta

- 3.3 A los pacientes que se le haya realizado el diagnóstico molecular disponible a la sospecha clínica determinada, se les dará un asesoramiento genético para informar los resultados obtenidos el estudio genético/molecular.
- 3.4 Para dicho informe, han de contemplarse dos escenarios. En el primero, cuando se identifica una variante patogénica que permite estimar un riesgo específico (de acuerdo a lo reportado en la literatura mundial) así como medidas de tratamiento, seguimiento, pronósticas y de prevención específicas. Al conocer la variante patogénica, es posible ofrecer el diagnóstico molecular predictivo a los familiares de riesgo mayores de edad que desean conocer su estado mutacional, lo cual permitiría extender el seguimiento y prevención, con certeza de atender a las personas con un riesgo tangible.
- 3.5 El segundo escenario lo conforman los pacientes con resultados en donde no se logra evidenciar una variante patogénica o el cambio en la secuencia no ha sido reportado o es una variante de significado clínico incierto. En este caso, se informa al paciente la situación (adecuando la explicación a su entendimiento) y se ofrecen medidas de vigilancia, seguimiento y prevención, que incluyen la consulta periódica del paciente para contemplar de ofrecerle nuevas metodologías diagnósticas ó ampliar el conocimiento que existe respecto al tema.

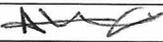
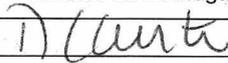
CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 3
	3. Procedimiento para la atención de pacientes subsecuentes en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 20

4. DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO

4.1 PROCEDIMIENTO PARA CONSULTA SUBSECUENTE DE ASESORAMIENTO GENÉTICO EN ONCOLOGÍA POST PRUEBA

Responsable	No. Act.	Descripción de actividades	Documentos o Anexos
Dirección de Investigación, a través de la Clínica de Cáncer Hereditario (Recepción)	1	Recibe al paciente, le solicita Libreta de citas y verifica cita establecida, verifica en papeleta de cita la fecha y hora de la cita.	<ul style="list-style-type: none"> - Libreta de citas - Papeleta de cita
	2	Indica al paciente esperar en sala de espera para ser llamado por el médico.	
Dirección de Investigación, a través de la Clínica de Cáncer Hereditario (Enfermera)	3	Verifica los datos de la papeleta, nombre y expediente del paciente, fecha, hora y consultorio de atención médica.	<ul style="list-style-type: none"> - Papeleta de cita
	4	Registra y pasa la papeleta del paciente al consultorio correspondiente para ser atendido.	
Dirección de Investigación, a través de la Clínica de Cáncer Hereditario (Médico Genetista)	5	Recibe al paciente, revisa reporte de resultados de biología molecular.	<ul style="list-style-type: none"> - Reporte de resultados de biología molecular
	6	Informa detalladamente el reporte de resultados del estudio molecular.	
	7	De acuerdo al resultado del estudio molecular determina: ¿El paciente continúa en seguimiento?	
	8	No: Resultado negativo. Si el resultado del estudio es negativo, no es hereditario y se da de alta al paciente. TERMINA	
	9	Si: Resultado positivo o incierto. El paciente continúa en vigilancia y con citas médicas subsecuentes.	
	10	Establece los intervalos de seguimiento del paciente, de acuerdo al tipo de riesgo, síndrome y gen afectado.	

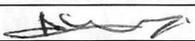
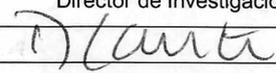
CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 4
	3. Procedimiento para la atención de pacientes subsecuentes en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 20

Responsable	No. Act.	Descripción de actividades	Documentos o Anexos
	11	Entrega al paciente copia del reporte de resultados de estudio molecular firmado por el Médico Especialista en Genética y del responsable de la realización y análisis del estudio.	- Reporte de resultados de biología molecular
Paciente	12	Recibe copia del reporte de resultados de estudio molecular y solicita cita subsecuente en la recepción.	- Reporte de resultados de biología molecular
Dirección de Investigación, a través de la Clínica de Cáncer Hereditario (Recepción)	13	Agenda cita subsecuente a través de la agenda de citas del Sistema INCAN, de acuerdo a los intervalos determinados por el médico genetista para seguimiento.	- Papeleta de cita
	14	Imprime papeleta de citas y la entrega al paciente TERMINA	

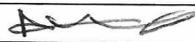
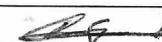
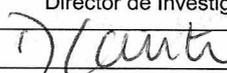
4.2 PROCEDIMIENTO PARA CONSULTA SUBSECUENTE DE VIGILANCIA MÉDICA

Responsable	No. Act.	Descripción de actividades	Documentos o Anexos
Dirección de Investigación, a través de la Clínica de Cáncer Hereditario (Recepción)	1	Recibe al paciente, le solicita Libreta de citas y verifica cita establecida, verifica en papeleta de cita la fecha y hora de la cita.	- Libreta de citas
	2	Indica al paciente esperar en sala de espera para ser llamado por el médico.	- Papeleta de cita
Dirección de Investigación, a través de la Clínica de Cáncer Hereditario (Enfermera)	3	Llama al paciente y verifica los datos de la papeleta, nombre y expediente del paciente, fecha, hora y consultorio de atención médica.	- Papeleta de cita
	4	Toma signos vitales y somatometría al paciente (presión arterial, frecuencia respiratoria, frecuencia cardíaca, temperatura axilar, peso y talla).	

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 5
	3. Procedimiento para la atención de pacientes subsecuentes en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 20

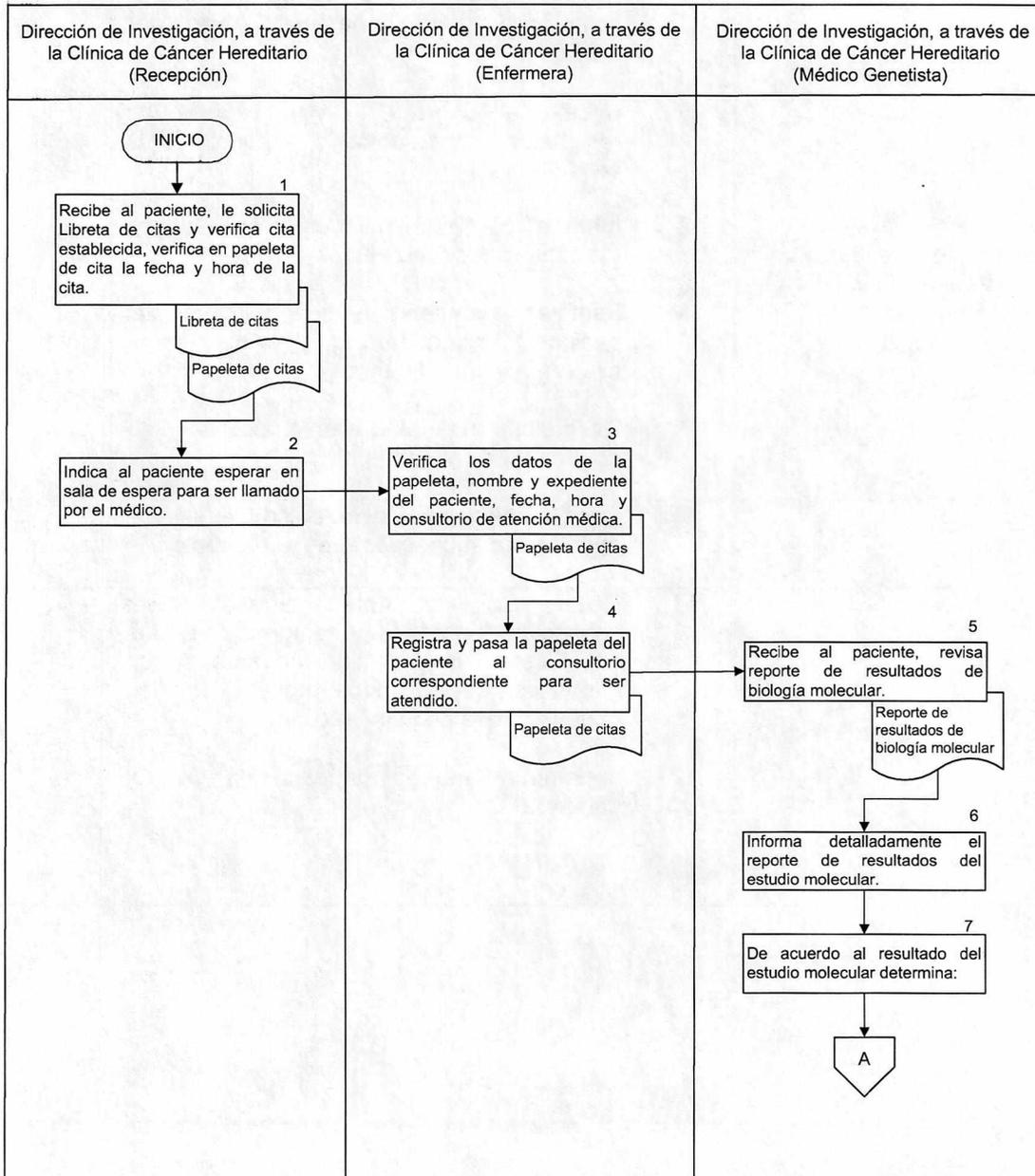
Responsable	No. Act.	Descripción de actividades	Documentos o Anexos
	5	Registra y pasa la papeleta del paciente al consultorio correspondiente para ser atendido.	- Papeleta de cita
Dirección de Investigación, a través de la Clínica de Cáncer Hereditario (Médico Genetista)	6	Recibe al paciente, revisa reporte de resultados y/o estudios de acuerdo a la consulta.	
	7	Informa sobre los resultados de los estudios y/o citas subsecuentes.	
	8	Establece los intervalos de seguimiento del paciente, de acuerdo al tipo de riesgo, síndrome y gen afectado.	
	9	Da indicaciones al paciente, solicitándole agendar cita subsecuente.	
Paciente	10	Recibe indicaciones del Médico Genetista y agenda cita subsecuente en la recepción.	
Dirección de Investigación, a través de la Clínica de Cáncer Hereditario (Recepción)	11	Recibe al paciente, agenda cita subsecuente a través de la agenda de citas del Sistema INCAN, de acuerdo a los intervalos determinados por el médico genetista para seguimiento.	- Papeleta de cita
	12	Imprime y entrega papeleta de cita al paciente. TERMINA	

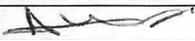
CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 6
	3. Procedimiento para la atención de pacientes subsecuentes en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 20

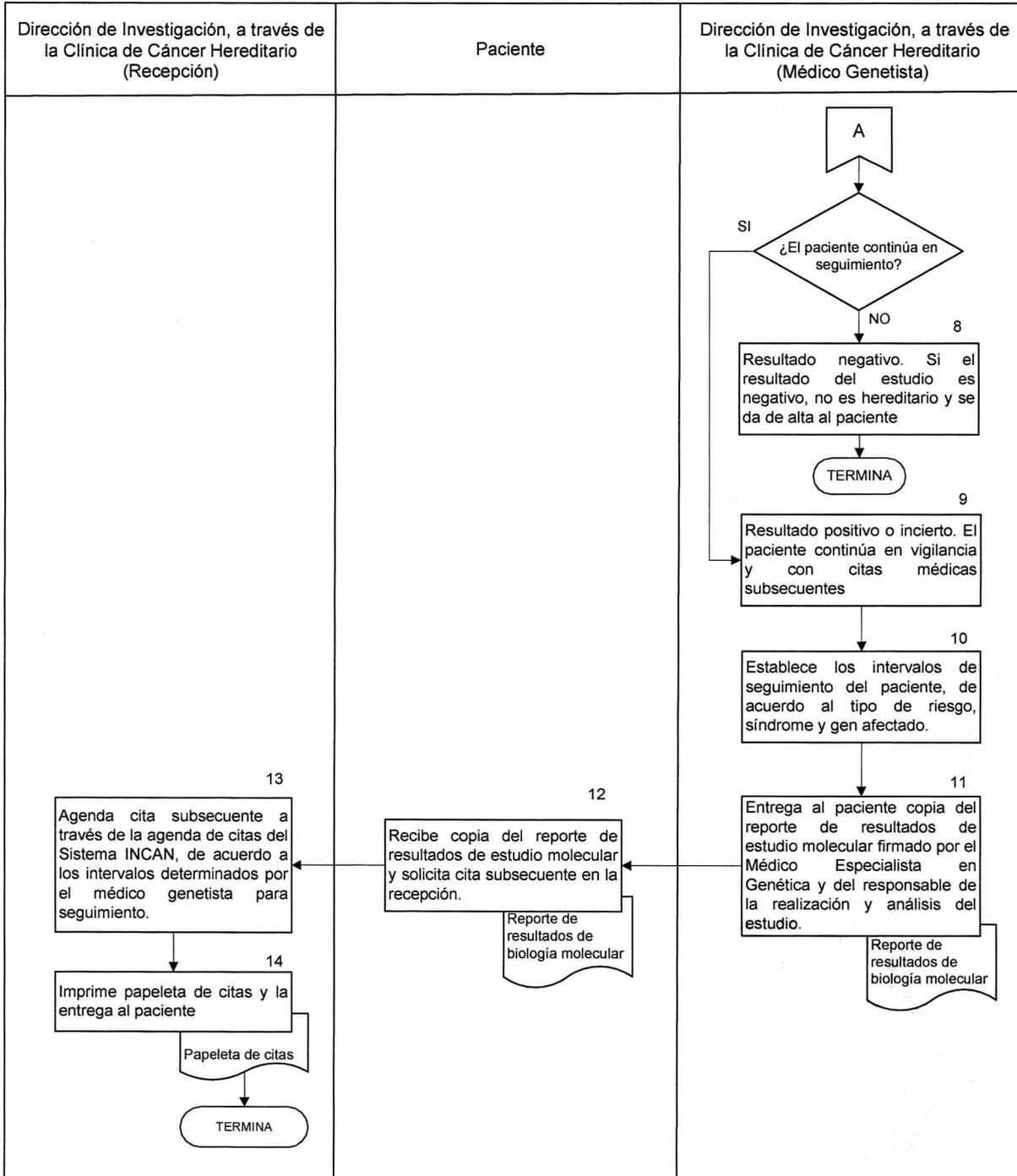
5. DIAGRAMA DE FLUJO

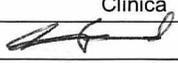
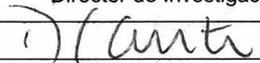
5.1 PROCEDIMIENTO PARA CONSULTA SUBSECUENTE DE ASESORAMIENTO GENÉTICO EN ONCOLOGÍA POST PRUEBA



CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

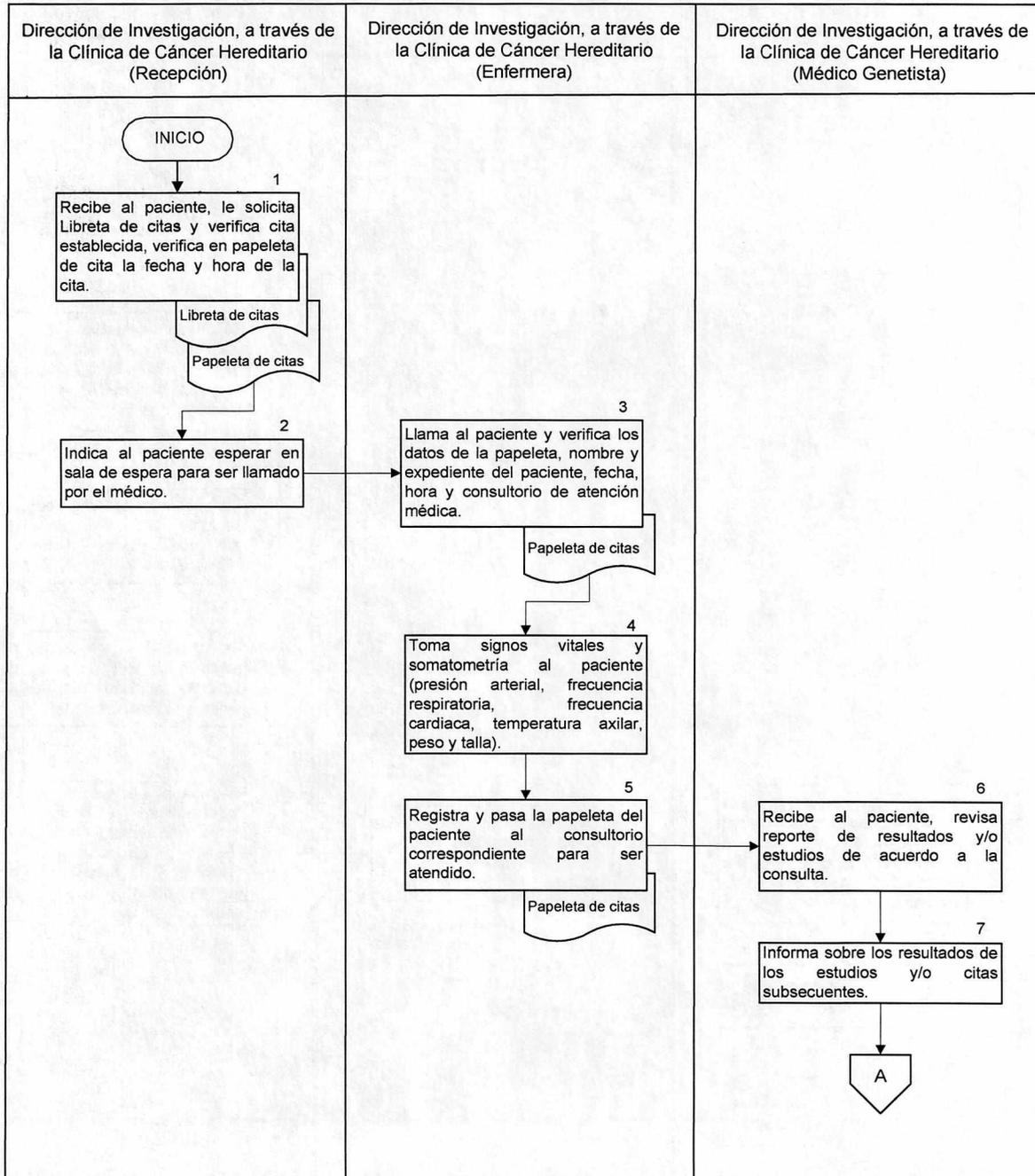
	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 7
	3. Procedimiento para la atención de pacientes subsecuentes en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 20

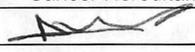
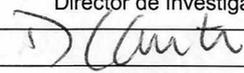


CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

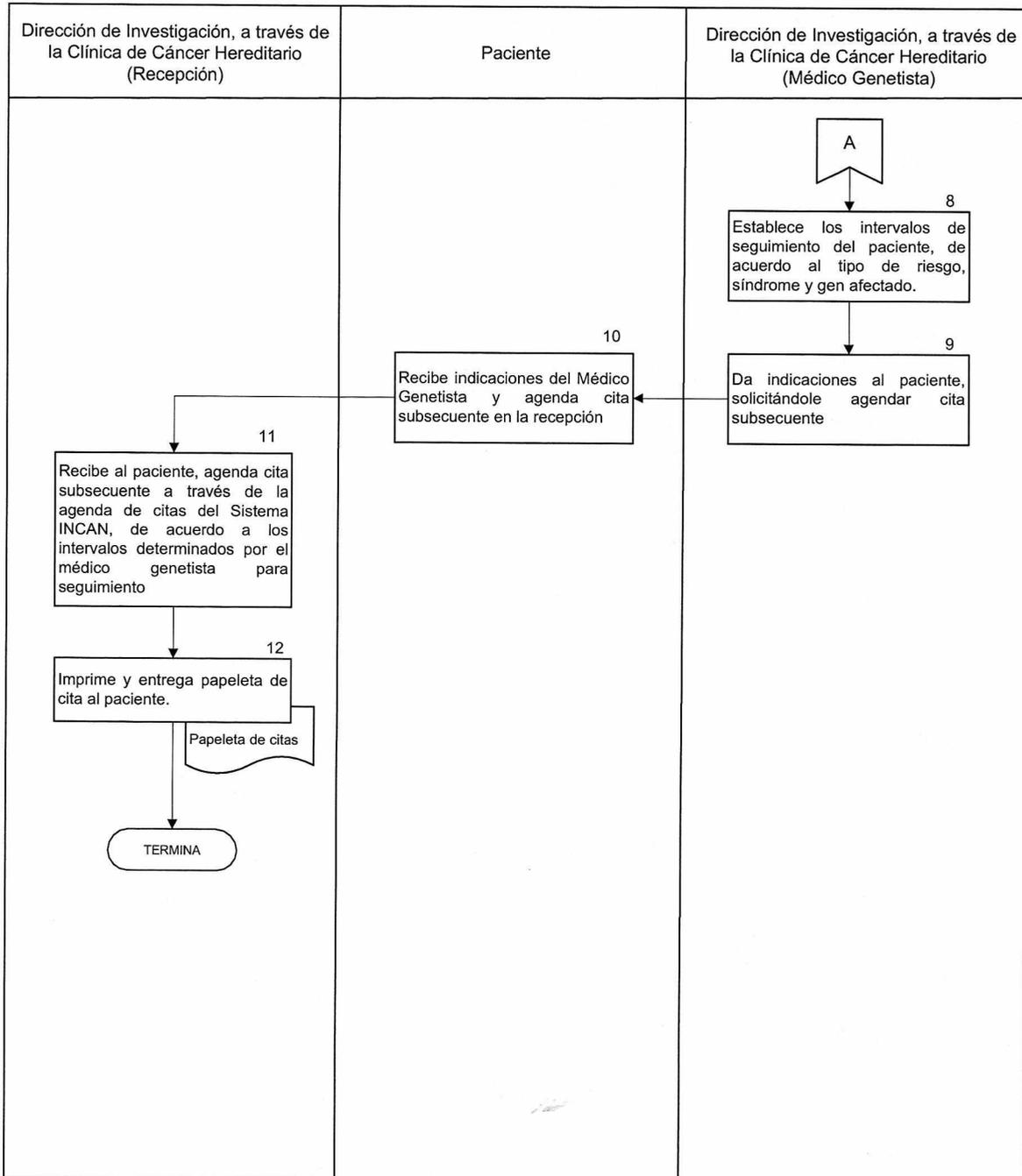
	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 8
	3. Procedimiento para la atención de pacientes subsecuentes en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 20

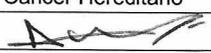
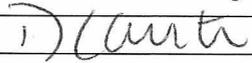
5.2 PROCEDIMIENTO PARA CONSULTA SUBSECUENTE DE VIGILANCIA MÉDICA



CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 9
	3. Procedimiento para la atención de pacientes subsecuentes en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 20



CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		
	3. Procedimiento para la atención de pacientes subsecuentes en la Clínica de Cáncer Hereditario		HOJA: 10 DE: 20

6. DOCUMENTOS DE REFERENCIA

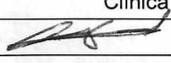
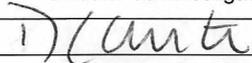
Documentos	Código (cuando aplique)
6.1 Ley Orgánica de la Administración Pública Federal	N/P
6.2 Ley de los Institutos Nacionales de Salud	N/P
6.3 Reglamento Interior de la Secretaría de Salud	N/P
6.4 Reglamento Interior de la Secretaría de la Función Pública.	N/P
6.5 Estructura Orgánica Autorizada, vigente (Estructura, dictamen y oficio de la SFP).	N/P
6.6 Estatuto Orgánico y Decreto de creación del Instituto Nacional de Cancerología.	N/P
6.7 Manual de Organización Específico del Instituto Nacional de Cancerología	N/P
6.8 Manual de Organización de la Dirección de Investigación	M.O./1.0.91.0.1
6.9 Guía Técnica para la Elaboración y Actualización de Manuales de Procedimientos de la Secretaría de Salud vigente.	N/P
6.10 Lineamientos para la Elaboración, Actualización y Baja de Normas Internas del Instituto Nacional de Cancerología	N/P

7. REGISTROS

Registros	Tiempo de Conservación	Responsable de Conservarlo	Código de Registro o Identificación Única
Expediente Clínico Electrónico	Indefinido	Sistema INCAN	Número de expediente y nombre del paciente
Reporte de resultados de estudio molecular	Acorde al tiempo de conservación aprobado por los Comités locales de Investigación.	Dirección de Investigación, a través de la Clínica de Cáncer Hereditario	Identificador U-, seguido del número consecutivo que corresponda. Identificador HCC, seguido del número consecutivo que corresponda

8. GLOSARIO DEL PROCEDIMIENTO

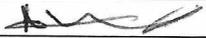
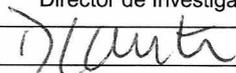
- 8.1 Asesoramiento genético:** Proceso de información y comunicación no directiva a las personas y familias en situación de riesgo de cáncer, en lo que se refiere a la probabilidad de presentar ó transmitir a su descendencia una determinada susceptibilidad genética a desarrollar una neoplasia, sobre sus implicaciones, así como la posibilidad de realizar un diagnóstico

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		
	3. Procedimiento para la atención de pacientes subsecuentes en la Clínica de Cáncer Hereditario		HOJA: 11 DE: 20

molecular, y cuáles son las medidas disponibles para la prevención y el diagnóstico precoz.

- 8.2 Cáncer Hereditario:** Presentación de un padecimiento oncológico en donde es posible identificar a otros individuos en la misma familia con antecedentes contundentes de cáncer, con un patrón determinado de asociación y generalmente a edades tempranas de inicio.
- 8.3 CCH:** Clínica de Cáncer Hereditario.
- 8.4 Expediente clínico:** Al conjunto único de información y datos personales de un paciente, que se integra dentro de todo tipo de establecimiento para la atención médica, ya sea público, social o privado, el cual, consta de documentos escritos, gráficos, imagenológicos, electrónicos, magnéticos, electromagnéticos, ópticos, magneto-ópticos y de cualquier otra índole, en los cuales, el personal de salud deberá hacer los registros, anotaciones, en su caso, constancias y certificaciones correspondientes a su intervención en la atención médica del paciente, con apego a las disposiciones jurídicas aplicables.
- 8.5 Formato:** Instrumento de registro estructurado, en donde se concentra información específica para un fin determinado.
- 8.6 Historia Clínica:** Documentar los antecedentes personales patológicos y no patológicos, resaltando los posibles factores ambientales de riesgo para el padecimiento actual, así como una exploración física.
- 8.7 Penetrancia:** La proporción de individuos que presentan una mutación causante de una patología determinada y muestran síntomas clínicos de esa patología. Una condición (generalmente heredada en forma autosómica dominante) se dice que tiene penetrancia si los síntomas clínicos están presentes en los individuos con la mutación que causa la enfermedad, y se dice que uno tiene penetrancia reducida o penetrancia incompleta si los síntomas completos no están siempre presentes en las enfermedades en los individuos que tienen la mutación causante de la enfermedad.
- 8.8 Relación Genotipo/Fenotipo:** Asociación entre la presencia de una determinada mutación o mutaciones y las pautas resultantes de anomalías.
- 8.9 Sistema INCAN:** Sistema informático vigente del Instituto Nacional de Cancerología.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

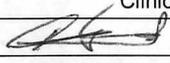
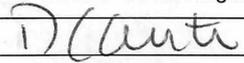
 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		
	3. Procedimiento para la atención de pacientes subsecuentes en la Clínica de Cáncer Hereditario		HOJA: 12 DE: 20

9. CAMBIOS DE VERSIÓN EN EL PROCEDIMIENTO

Número de Revisión	Fecha de la Actualización	Descripción del Cambio
No Aplica	No Aplica	No Aplica

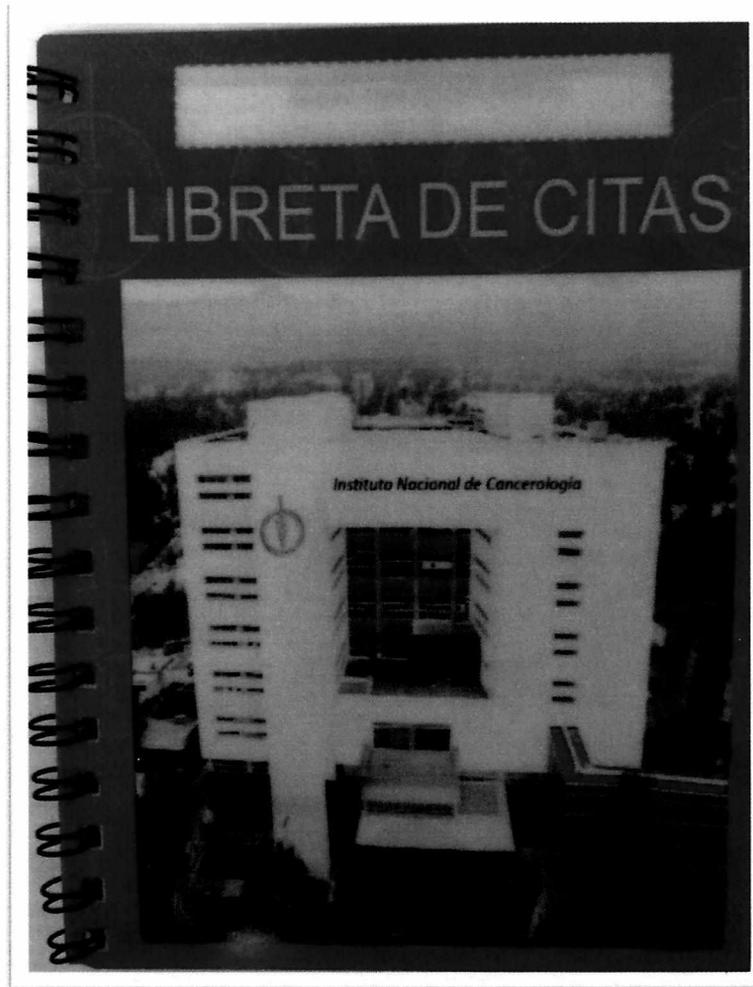
10. ANEXOS

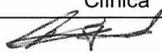
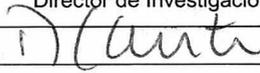
- 10.1 Libreta de citas
- 10.2 Papeleta de cita
- 10.3 Resultado del Estudio Molecular (Negativo)
- 10.4 Resultado del Estudio Molecular (Incierto)
- 10.5 Resultado del Estudio Molecular (Positivo)

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 13
	3. Procedimiento para la atención de pacientes subsecuentes en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 20

10.1 Libreta de citas

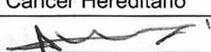
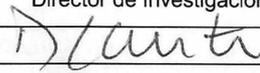


CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD SECRETARÍA DE SALUD	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 14
	3. Procedimiento para la atención de pacientes subsecuentes en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 20

10.2 Papeleta de Cita

	Instituto Nacional de Cancerología de México		v 3.0.1
NOMBRE DEL PACIENTE (GEN000129)			
Su próxima cita es el día:		<input style="width: 100%;" type="text" value="Jueves 08 de Julio de 2021 a las: 12:00 p.m."/>	
CCH1 GENÉTICA	CONSULTA PROTOCOLO CCH1 GENÉTICA / Por orden médica	08-07-2021 12:00 p.m.	
FALTA DE PAGO		ID único: 49718237	
Indicaciones:			
Consultorio: CCH1 GENÉTICA			
"ANTES DE RETIRARSE, VERIFIQUE QUE LA INFORMACIÓN IMPRESA SEA LA CORRECTA Y COINCIDA CON SUS DATOS"			
Usuario que generó la cita: RENTERIA TREJO NIEVES GUADALUPE		Impreso el día 07/07/2021 a las 11:53 hrs.	
Usuario que imprime: RENTERIA TREJO NIEVES GUADALUPE		Pág. 1 de 1	
20498			

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 16
	3. Procedimiento para la atención de pacientes subsecuentes en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 20



Instituto Nacional de Cancerología
Dirección de Investigación
Clínica de Cáncer Hereditario
Resultado de Estudio Molecular



Metodología: 1.
Limitaciones: -
Información adicional:
Notas
Nota final:

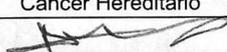
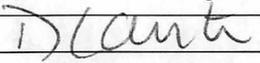
Recibí resultado y asesoramiento genético:	Huella
<hr style="width: 60%; margin: 0 auto;"/> <p>Nombre, firma Fecha</p>	

Médico Especialista en Genética
 Clínica de Cáncer Hereditario
 Instituto Nacional de Cancerología

Realización y análisis del estudio
 Clínica de Cáncer Hereditario
 Instituto Nacional de Cancerología

Instituto Nacional de Cancerología Av. San Fernando No. 22, Col. Sección XVI, Delegación Tlalpan, C.P. 14080
 Ciudad de México, México. Clínica de Cáncer Hereditario Tel.: 5628-0400 ext 10013

Página 2 de 2

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 17
	3. Procedimiento para la atención de pacientes subsecuentes en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 20

10.4 Resultado del Estudio Molecular (Incierto)

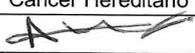
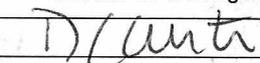
		Instituto Nacional de Cancerología Dirección de Investigación Clínica de Cáncer Hereditario Resultado de Estudio Molecular	
Información del paciente Nombre: Expediente: Fecha de nacimiento: Sexo: Edad: Referencia interna: Referencia Externa: Médico tratante:	Información de la muestra Tipo de muestra: Fecha de toma de muestra: Fecha de recepción de muestra: Fecha de reporte:	Indicación clínica/diagnóstico:	

RESULTADO DE ESTUDIO MOLECULAR

VARIANTE DE SIGNIFICADO CLÍNICO INCIERTO (VUS)
 TRAS EL ANÁLISIS, SE IDENTIFICARON LA(S) SIGUIENTE(S) VARIANTE(S), CUYA REPERCUSIÓN CLÍNICA SE DESCONOCE

Interpretación:
Comentarios del resultado:

Instituto Nacional de Cancerología Av. San Fernando No. 22, Col. Sección XVI, Delegación Tlalpan, C.P. 14080
 Ciudad de México, México. Clínica de Cáncer Hereditario Tel.: 5628-0400 ext 10013

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 18
	3. Procedimiento para la atención de pacientes subsecuentes en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 20


Instituto Nacional de Cancerología
Dirección de Investigación
Clínica de Cáncer Hereditario
Resultado de Estudio Molecular

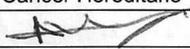
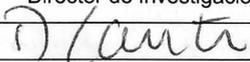

Metodología:
1.
Limitaciones:
Información adicional:
Notas
Nota final:

Recibí resultado y asesoramiento genético:	Huella
<hr style="width: 50%; margin: 0 auto;"/> Nombre, firma Fecha	

Médico Especialista en Genética
Clínica de Cáncer Hereditario
Instituto Nacional de Cancerología

Realización y análisis del estudio
Clínica de Cáncer Hereditario
Instituto Nacional de Cancerología

Instituto Nacional de Cancerología Av. San Fernando No. 22, Col. Sección XVI, Delegación Tlalpan, C.P. 14080
Ciudad de México, México. Clínica de Cáncer Hereditario Tel.: 5628-0400 ext 10013

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 19
	3. Procedimiento para la atención de pacientes subsecuentes en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 20

10.5 Resultado del Estudio Molecular (Positivo)

		Instituto Nacional de Cancerología Dirección de Investigación Clínica de Cáncer Hereditario Resultado de Estudio Molecular	
Información del paciente Nombre: Expediente: Fecha de nacimiento: Sexo: Edad: Referencia interna: Referencia Externa: Médico tratante:	Información de la muestra Tipo de muestra: Fecha de toma de muestra: Fecha de recepción de muestra: Fecha de reporte:	Indicación clínica/diagnostico:	

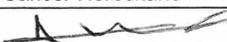
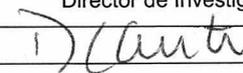
RESULTADO DE ESTUDIO MOLECULAR

POSITIVO

TRAS EL ANÁLISIS, SE IDENTIFICARON LA(S) SIGUIENTE(S) VARIANTE(S) PATOGENICA(S)

Interpretación:
Comentarios del resultado:

Instituto Nacional de Cancerología Av. San Fernando No. 22, Col. Sección XVI, Delegación Tlalpan, C.P. 14080
 Ciudad de México, México. Clínica de Cáncer Hereditario Tel.: 5628-0400 ext 10013

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 20
	3. Procedimiento para la atención de pacientes subsecuentes en la Clínica de Cáncer Hereditario		DE: 20


Instituto Nacional de Cancerología
 Dirección de Investigación
 Clínica de Cáncer Hereditario
Resultado de Estudio Molecular

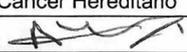
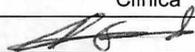
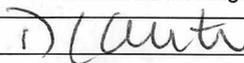

Metodología: 1.
Limitaciones: -
Información adicional:
Notas
Nota final:

Recibi resultado y asesoramiento genético:	Huella
_____ Nombre, firma Fecha	

 Médico Especialista en Genética
 Clínica de Cáncer Hereditario
 Instituto Nacional de Cancerología

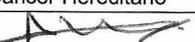
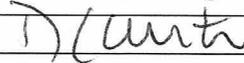
 Realización y análisis del estudio
 Clínica de Cáncer Hereditario
 Instituto Nacional de Cancerología

Instituto Nacional de Cancerología Av. San Fernando No. 22, Col. Sección XVI, Delegación Tlalpan, C.P. 14080
 Ciudad de México, México. Clínica de Cáncer Hereditario Tel.: 5628-0400 ext 10013

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 1
	4. Procedimiento para la administración de base de datos asociados a la investigación		DE: 9

4. PROCEDIMIENTO PARA LA ADMINISTRACIÓN DE BASES DE DATOS ASOCIADOS A LA INVESTIGACIÓN

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 2
	4. Procedimiento para la administración de base de datos asociados a la investigación		DE: 9

1. PROPÓSITO

Recolectar y almacenar información que emana de la historia clínica realizada en la consulta de primera vez y del laboratorio de diagnóstico molecular de la CCH, asociado a las actividades de investigación de la CCH, a fin de realizar el llenado de las bases de datos electrónicas para su concentrado y análisis.

2. ALCANCE

- 2.1 A nivel Interno el procedimiento es aplicable a la Dirección de Investigación de la Clínica de Cáncer Hereditario, que realiza el llenado de las bases de datos electrónicas para su concentrado y análisis.

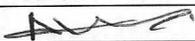
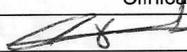
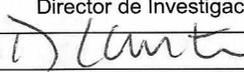
3. POLÍTICAS DE OPERACIÓN, NORMAS Y LINEAMIENTOS

- 3.1 Con la información obtenida de la historia clínica de primera vez de la CCF, se realiza el llenado de la base de datos, a través del programa estadístico (SPSS), la cual se compone de 1086 variables y se clasifican en:

- De identificación de protocolo (1 a 4)
- Historia familiar de cáncer (5 a 758)
- Identificación de paciente (759 a 761)
- Sociodemográficas (762 a 770)
- Antecedentes personales (771 a 831)
- Somatometría (832 a 834)
- Diagnóstico y tratamiento oncológico (835 a 1056)
- Estatus de enfermedad (1057 a 1058)
- Resultado de estudio molecular y descripción (1059 a 1064)
- Síndrome Hereditario y actualización (1065 a 1086)

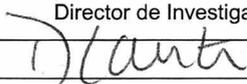
- 3.3 La estructura de las variables que conforman la base es:

- 13 de tipo Cadena (o abiertas): el llenado se hace por medio de descripción completa de información requerida, con límite de 200 caracteres.
- 5 de tipo Fecha: en formato dd/mm/aaaa.
- 1068 tipo Numéricas (o cerradas): todas con categorías acordes para cada característica de la variable en cuestión, las cuales consisten en un código de cifrado (valor numérico).

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 3
	4. Procedimiento para la administración de base de datos asociados a la investigación		DE: 9

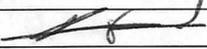
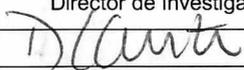
- 3.4 Cada paciente se registrará con un código de identificación interno (ID); etiquetado como "HCC-seguido de un número consecutivo independiente, aunado al número de etiquetado de la muestra asignado en el laboratorio de diagnóstico molecular de la CCH, el cual es diferente e independiente, así como el número del expediente clínico, edad, sexo y fecha de inclusión.
- 3.5 Las variables que contemplan la "historia familiar" del paciente se obtienen de la genealogía o árbol genealógico, incluyendo solo miembros que cuenten con diagnóstico oncológico y respetando orden por parentesco; familiares de primer grado (hijos, padres, hermanos), segundo grado (tíos, primos, abuelos) y otros (medios hermanos y otras generaciones), destacando diagnóstico oncológico, edad de diagnóstico y fallecimiento.
- 3.6 Las variables sociodemográficas; lugar de nacimiento, lugar de origen de padres, nivel máximo de estudios, religión que practican, actividad que desempeñan en la actualidad, todas ellas son variables cerradas que cuentan con categorías ya preestablecidas.
- 3.7 La sección de antecedentes personales no patológicos y patológicos, contemplan también el tipo de tratamiento y estatus en que se encuentra actualmente cada paciente, todos estos datos se obtienen de la historia clínica y son complementados con el expediente clínico electrónico del INCan.
- 3.8 El resultado de estudio molecular, es llenada con la información (base de datos) recibida por el laboratorio de diagnóstico molecular, la primera es el resultado con sus respectivas categorías posibles: Positivo, Negativo o Variable de significado clínico incierto (VUS). Al ser un resultado Positivo o VUS, se describe en la siguiente variable el síndrome clínico que se integra acorde con el gen identificado, se identifica el gen en la variable identificada como tal y en la consiguiente variable abierta se describe el nombre completo de la variante patogénica o variante de significado clínico incierto.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 4
	4. Procedimiento para la administración de base de datos asociados a la investigación		DE: 9

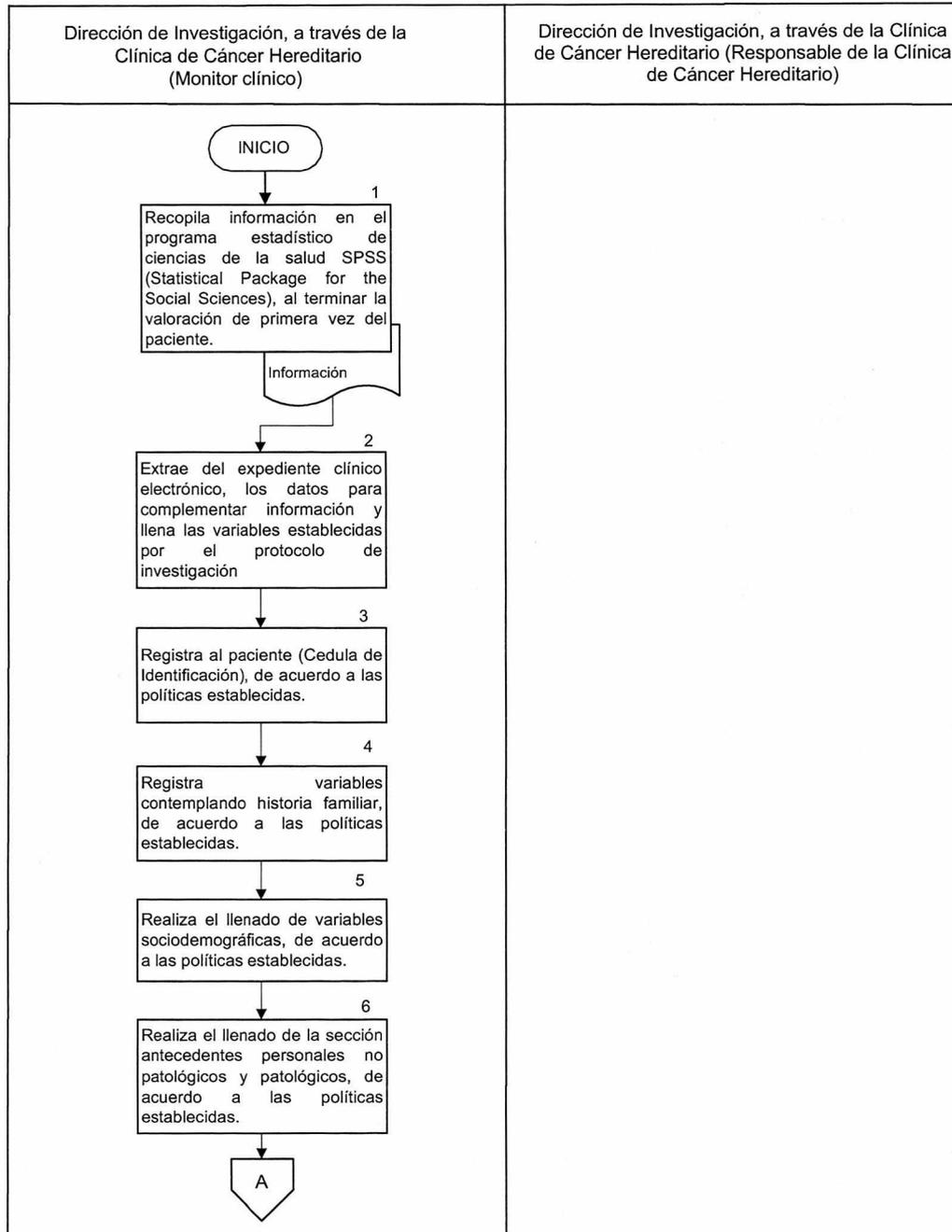
4. DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO

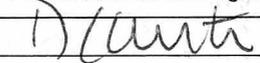
Responsable	No. Act.	Descripción de actividades	Documentos o Anexos
Dirección de Investigación, a través de la Clínica de Cáncer Hereditario (Monitor clínico)	1	Recopila información en el programa estadístico de ciencias de la salud SPSS (Statistical Package for the Social Sciences), al terminar la valoración de primera vez del paciente.	- Información
	2	Extrae del expediente clínico electrónico, los datos para complementar información y llena las variables establecidas por el protocolo de investigación.	
	3	Registra al paciente (Cedula de Identificación), de acuerdo a las políticas establecidas.	
	4	Registra variables contemplando historia familiar, de acuerdo a las políticas establecidas.	
	5	Realiza el llenado de variables sociodemográficas, de acuerdo a las políticas establecidas.	
	6	Realiza el llenado de la sección antecedentes personales no patológicos y patológicos, de acuerdo a las políticas establecidas.	
	7	Elabora resultado de estudio molecular, de acuerdo a las políticas establecidas.	
	8	Realiza la actualización de la información en citas subsecuentes, tanto de la paciente índice, como de familiares (nuevos diagnósticos, fallecimientos, etc.).	
	9	Realiza el resguardo de la información, de acuerdo a los parámetros de confidencialidad y manejo por el protocolo de investigación correspondiente.	
Dirección de Investigación, a través de la Clínica de Cáncer Hereditario (Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario)	10	Elabora análisis estadísticos para diversas publicaciones científicas, informes y reportes institucionales, en base a la información generada durante el procedimiento. TERMINA	- Análisis estadísticos, informes y reportes institucionales

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

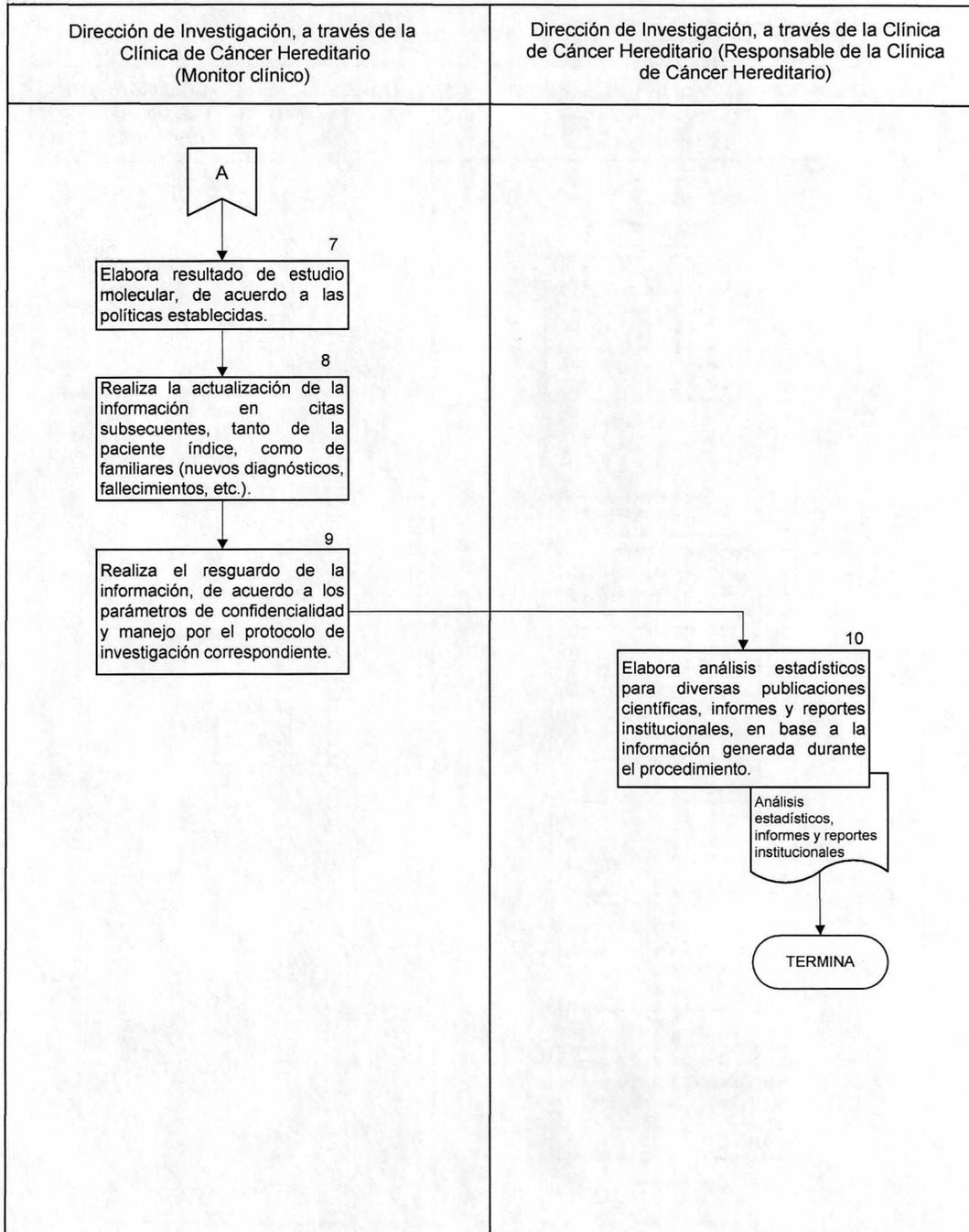
 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 5
	4. Procedimiento para la administración de base de datos asociados a la investigación		DE: 9

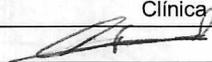
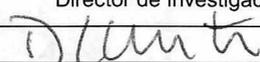
5. DIAGRAMA DE FLUJO



CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 6
	4. Procedimiento para la administración de base de datos asociados a la investigación		DE: 9



CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		
	4. Procedimiento para la administración de base de datos asociados a la investigación		HOJA: 7 DE: 9

6. DOCUMENTOS DE REFERENCIA

Documentos	Código (cuando aplique)
6.1 Ley Orgánica de la Administración Pública Federal	N/P
6.2 Ley de los Institutos Nacionales de Salud	N/P
6.3 Reglamento Interior de la Secretaría de Salud	N/P
6.4 Reglamento Interior de la Secretaría de la Función Pública.	N/P
6.5 Estructura Orgánica Autorizada, vigente (Estructura, dictamen y oficio de la SFP).	N/P
6.6 Estatuto Orgánico y Decreto de creación del Instituto Nacional de Cancerología.	N/P
6.7 Manual de Organización Específico del Instituto Nacional de Cancerología	N/P
6.8 Manual de Organización de la Dirección de Investigación	M.O./1.0.91.0.1
6.9 Guía Técnica para la Elaboración y Actualización de Manuales de Procedimientos de la Secretaría de Salud vigente.	N/P

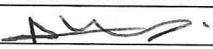
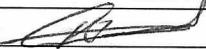
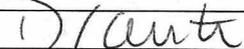
7. REGISTROS

Registros	Tiempo de Conservación	Responsable de Conservarlo	Código de Registro o Identificación Única
Expediente Clínico Electrónico	Indefinido	Sistema INCAN	Número de expediente y nombre del paciente
Bases de datos de la clínica de cáncer hereditario	De acuerdo a lo aprobado por los Comités locales de Investigación	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)	Identificador U-, seguido del número consecutivo que corresponda. Identificador HCC, seguido del número consecutivo que corresponda

8. GLOSARIO DEL PROCEDIMIENTO

8.1 Asesoramiento genético:

Proceso de información y comunicación no directiva a las personas y familias en situación de riesgo de cáncer, en lo que se refiere a la probabilidad de presentar o transmitir a su descendencia una determinada susceptibilidad genética a desarrollar una neoplasia, sobre sus implicaciones, así como la posibilidad de realizar un diagnóstico molecular, y cuáles son las medidas disponibles para la prevención y el diagnóstico precoz.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

 SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS		REV: 00
	Dirección de Investigación (Clínica de Cáncer Hereditario)		HOJA: 8
	4. Procedimiento para la administración de base de datos asociados a la investigación		DE: 9

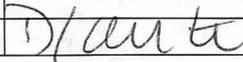
- 8.2 Base de Datos:** Una base de datos es un conjunto de datos pertenecientes a un mismo contexto y almacenados sistemáticamente para su posterior uso.
- 8.3 Cáncer Hereditario:** Presentación de un padecimiento oncológico en donde es posible identificar a otros individuos en la misma familia con antecedentes contundentes de cáncer, con un patrón determinado de asociación y generalmente a edades tempranas de inicio.
- 8.4 CCH:** Clínica de Cáncer Hereditario.
- 8.5 Expediente clínico:** Al conjunto único de información y datos personales de un paciente, que se integra dentro de todo tipo de establecimiento para la atención médica, ya sea público, social o privado, el cual, consta de documentos escritos, gráficos, imagenológicos, electrónicos, magnéticos, electromagnéticos, ópticos, magneto-ópticos y de cualquier otra índole, en los cuales, el personal de salud deberá hacer los registros, anotaciones, en su caso, constancias y certificaciones correspondientes a su intervención en la atención médica del paciente, con apego a las disposiciones jurídicas aplicables.
- 8.6 Formato:** Instrumento de registro estructurado, en donde se concentra información específica para un fin determinado.
- 8.7 Historia Clínica:** Documentar los antecedentes personales patológicos y no patológicos, resaltando los posibles factores ambientales de riesgo para el padecimiento actual, así como una exploración física.
- 8.8 Sistema INCAN:** Sistema informático vigente del Instituto Nacional de Cancerología.
- 8.9 SPSS:** Statistical Package for the Social Sciences. Es un programa estadístico informático muy usado en las ciencias sociales y aplicadas, además de las empresas de investigación de mercado.

9. CAMBIOS DE VERSIÓN EN EL PROCEDIMIENTO

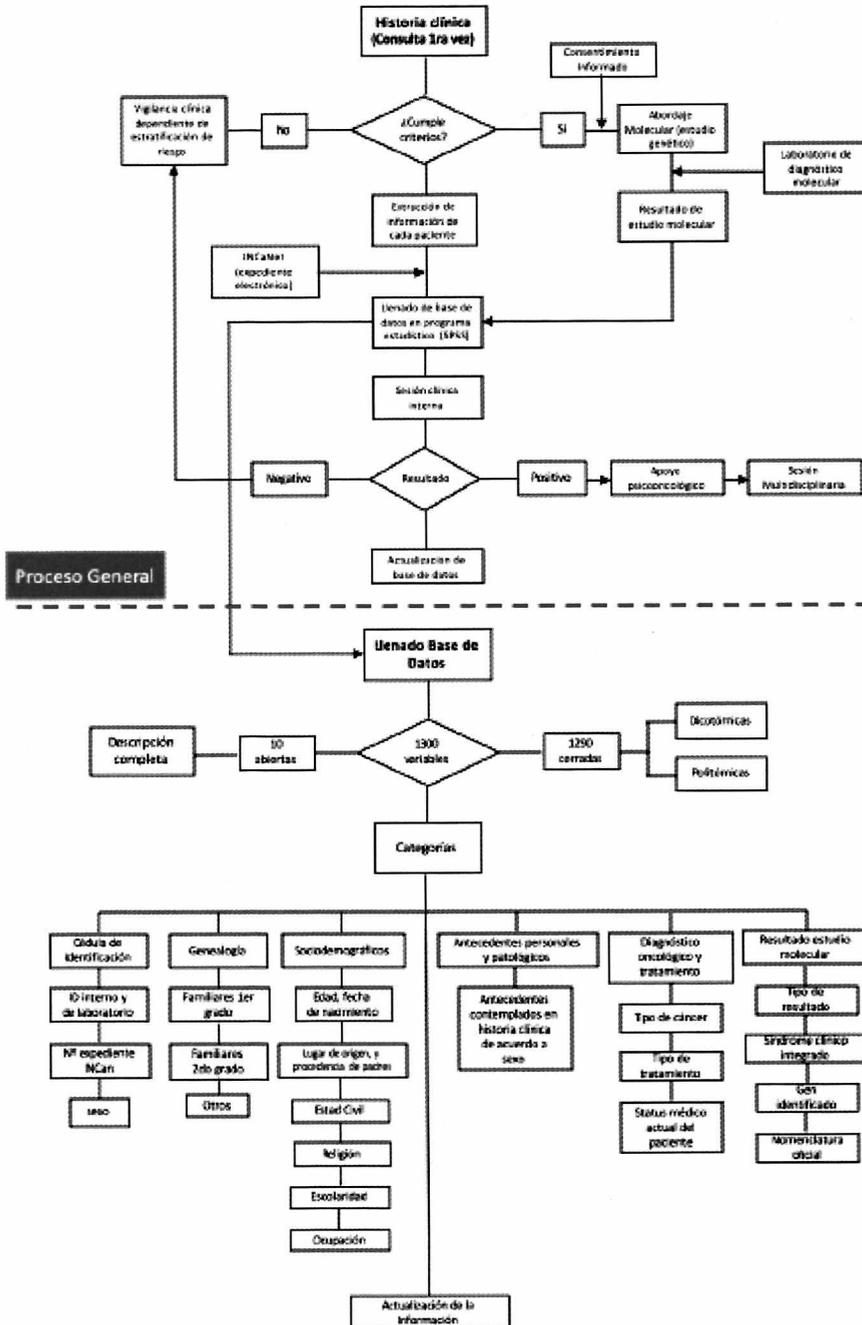
Número de Revisión	Fecha de la Actualización	Descripción del Cambio
No Aplica	No Aplica	No Aplica

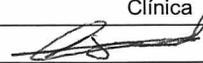
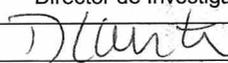
10. ANEXOS

10.1 Flujo de trabajo

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		

Flujo de trabajo:



CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dra. Rosa María Álvarez Gómez	Dra. Myrna Gloria Candelaria Hernández	Dr. David Francisco Cantú de León
Cargo-puesto:	Responsable de la Clínica de Cáncer Hereditario	Subdirectora de Investigación Clínica	Director de Investigación
Firma:			
Fecha:	Junio 2022		