

Genómica de patógenos, filogenia y evolución molecular

Ph.D. Diana López-Alvarez
Profesora Asociada - UNAL Palmira
Investigadora - Universidad del Valle

Webinar Introducción a la Bioinformática y Salud Global



Contenido de la charla

1

Patógenos emergentes y salud global

Contexto One Health

2

Genómica y vigilancia epidemiológica

Herramientas bioinformáticas

3

Filogenia y evolución molecular

Métodos y software clave

4

Casos de estudio propios

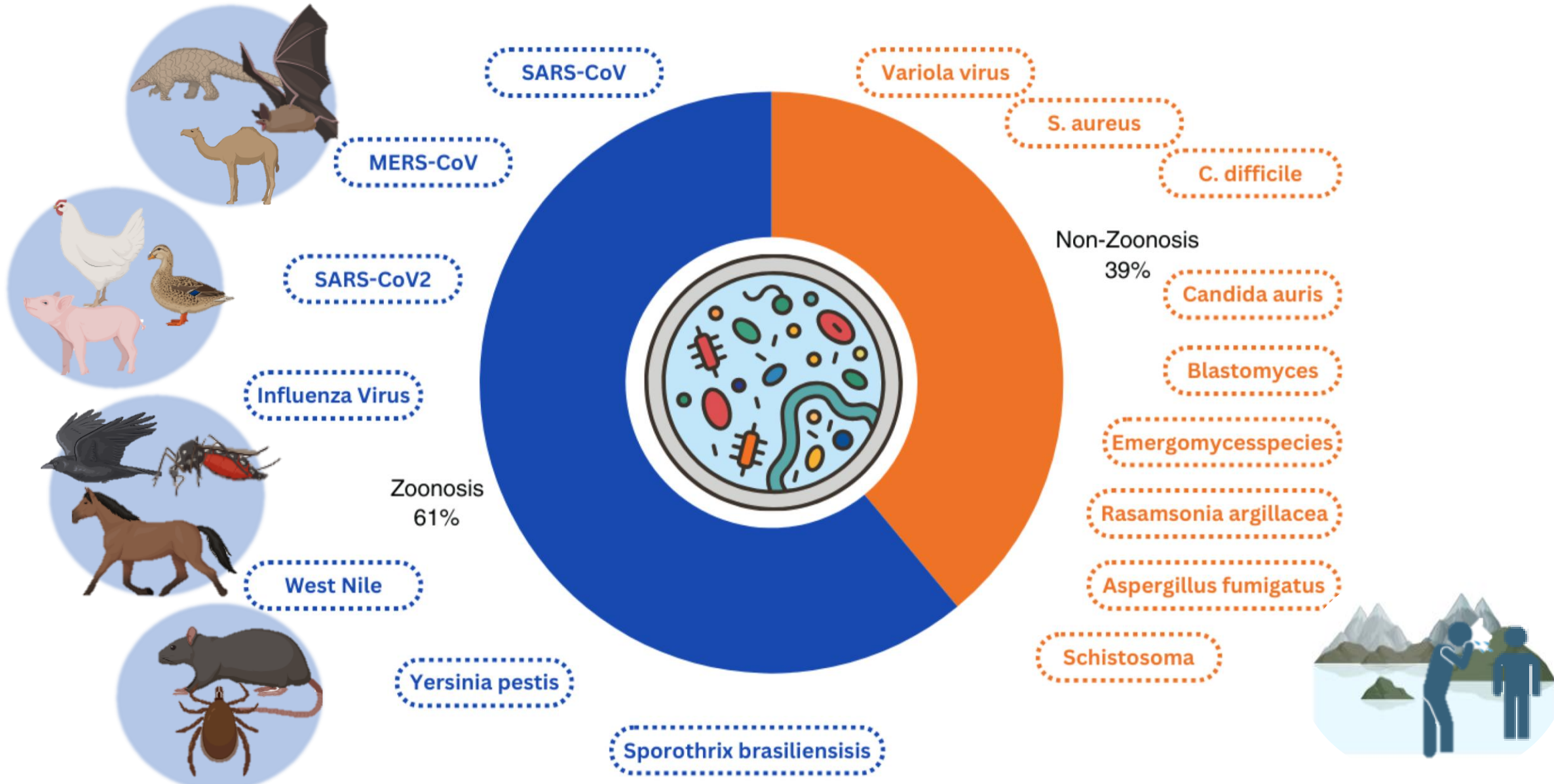
SARS-CoV-2 · Zika · H. pylori · Microbioma

5

Conclusiones

Perspectivas y mensajes clave

La mayoría de las enfermedades infecciosas emergentes en humanos son de origen animal (zoonosis)





E. faecium



S. aureus



K. pneumoniae



A. baumannii



P. aeruginosa



E. aerogenes

GRAM +VE

GRAM -VE

ESKAPE & CONTROL MEASURES

Patient &
staff
education

Screening &
surveillance

Collaboration &
communication

Infection
prevention &
control practices

Agricultural
antimicrobial
stewardship

Research &
surveillance

Environmental
disinfection

Antimicrobial
stewardship

Salud Humana

Zoonosis, patógenos emergentes y resistencia antimicrobiana.

Salud Animal

Fauna doméstica y silvestre, parásitos gastrointestinales.

Salud Ambiental

Microbioma del suelo, ecosistemas forestales y páramos.

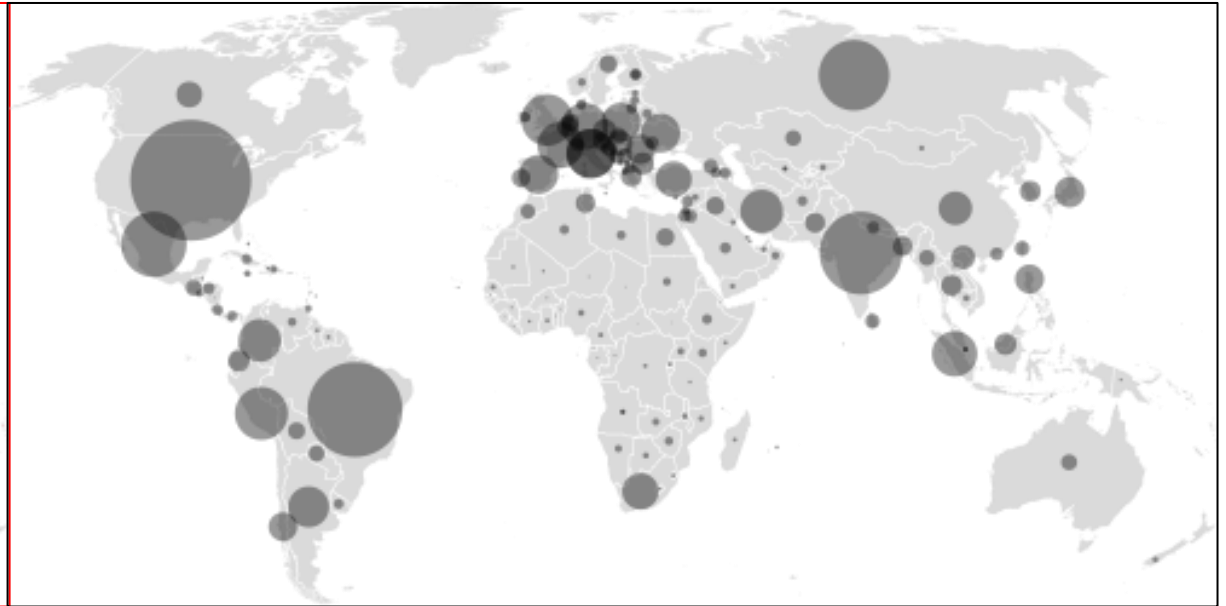
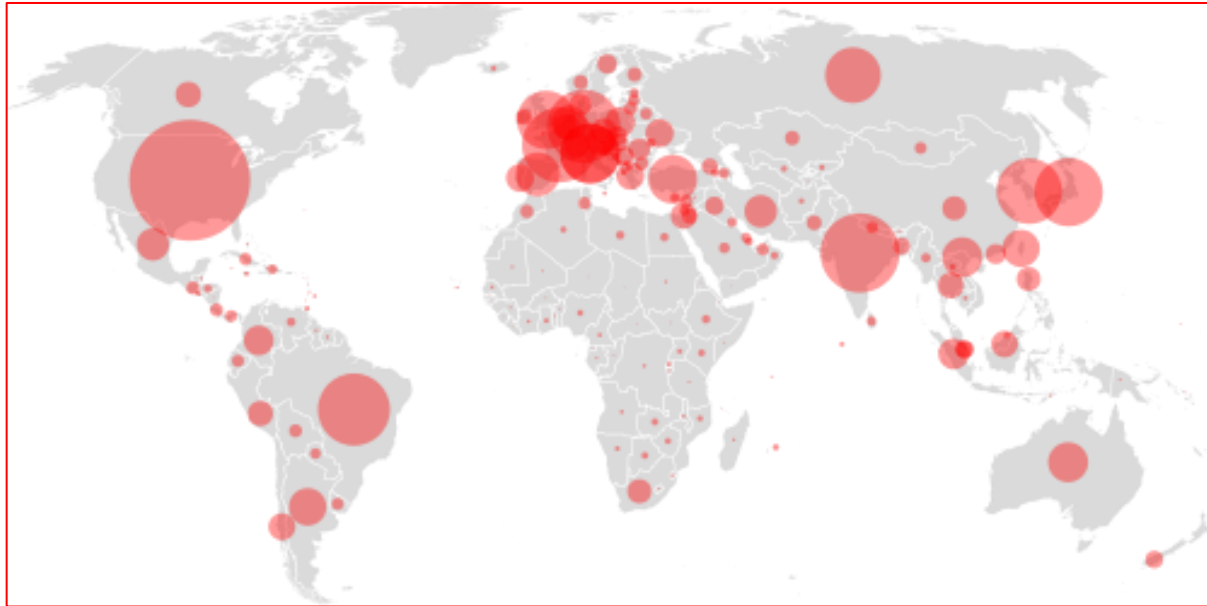
La Intersección Central

La vigilancia genómica transversal (Metabarcoding) permite monitorear las tres esferas simultáneamente con una sola plataforma tecnológica.

Pandemia de COVID-19: SARS-CoV-2 un virus emergente en la humanidad (Febrero 2020- Enero 2023)

Total de casos: 752,503,599

Total de muertes 7,010,681



Resurgencia Global de Epidemias de Enfermedad por los Arbovirus

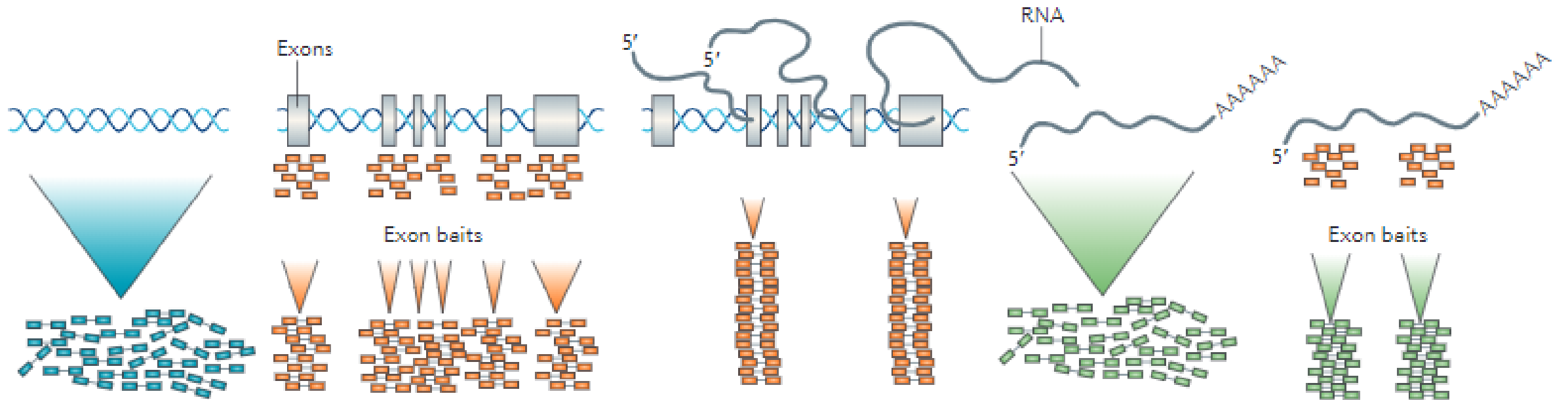


BF - Barmah Forest
CE - California Encephalitis
Chik - Chikungunya
CCHF - Congo-Crimean Hemorrhagic Fever
DEN - Dengue
EEE - Eastern Equine Encephalitis
JE - Japanese Encephalitis
KFD - Kyasanur Forest Disease
LAC - LaCrosse Encephalitis

MAY - Mayaro
MVE - Murray Valley Encephalitis
ONN - O'nyong-nyong
ORO - Oropouche
RVF - Rift Valley Fever
RR - Ross River
SLE - St. Louis Encephalitis
SIN - Sinbis
TBE - Tick-Borne Encephalitis

VEE - Venezuelan Equine Encephalitis
WEE - Western Equine Encephalitis
WN - West Nile
WSL - Wesselsbron
YF - Yellow Fever
ZIK - Zika
Severe Febrile Thrombocytopenia Syndrome
Bourbon

Desarrollo de Diagnósticos y Biomarcadores



Whole genome

- Predominant applications:
- Structural variants
 - Point mutations
 - Copy number variation

Whole-exome (1%)

- Predominant applications:
- Point mutations
 - Copy number variation

PCR amplicon

- Predominant applications:
- Point mutations
 - Deletions

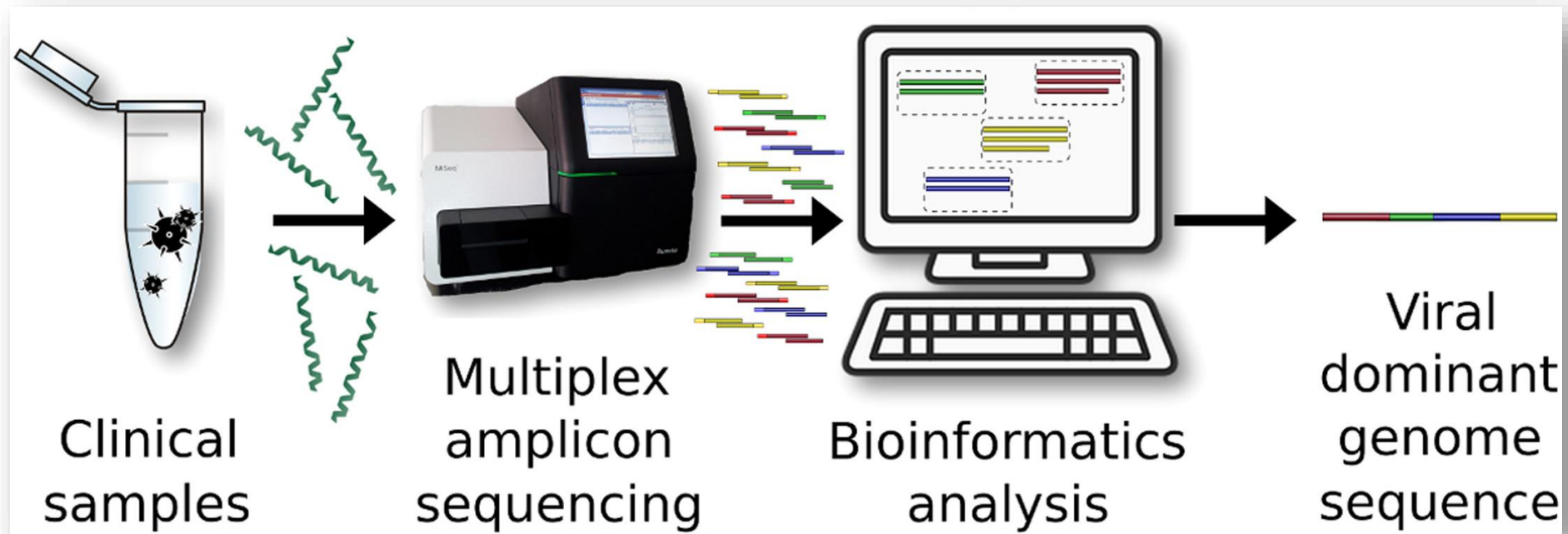
Transcriptome RNA

- Predominant applications:
- Gene expression
 - Gene fusions
 - Splice variants

Exon capture transcriptome

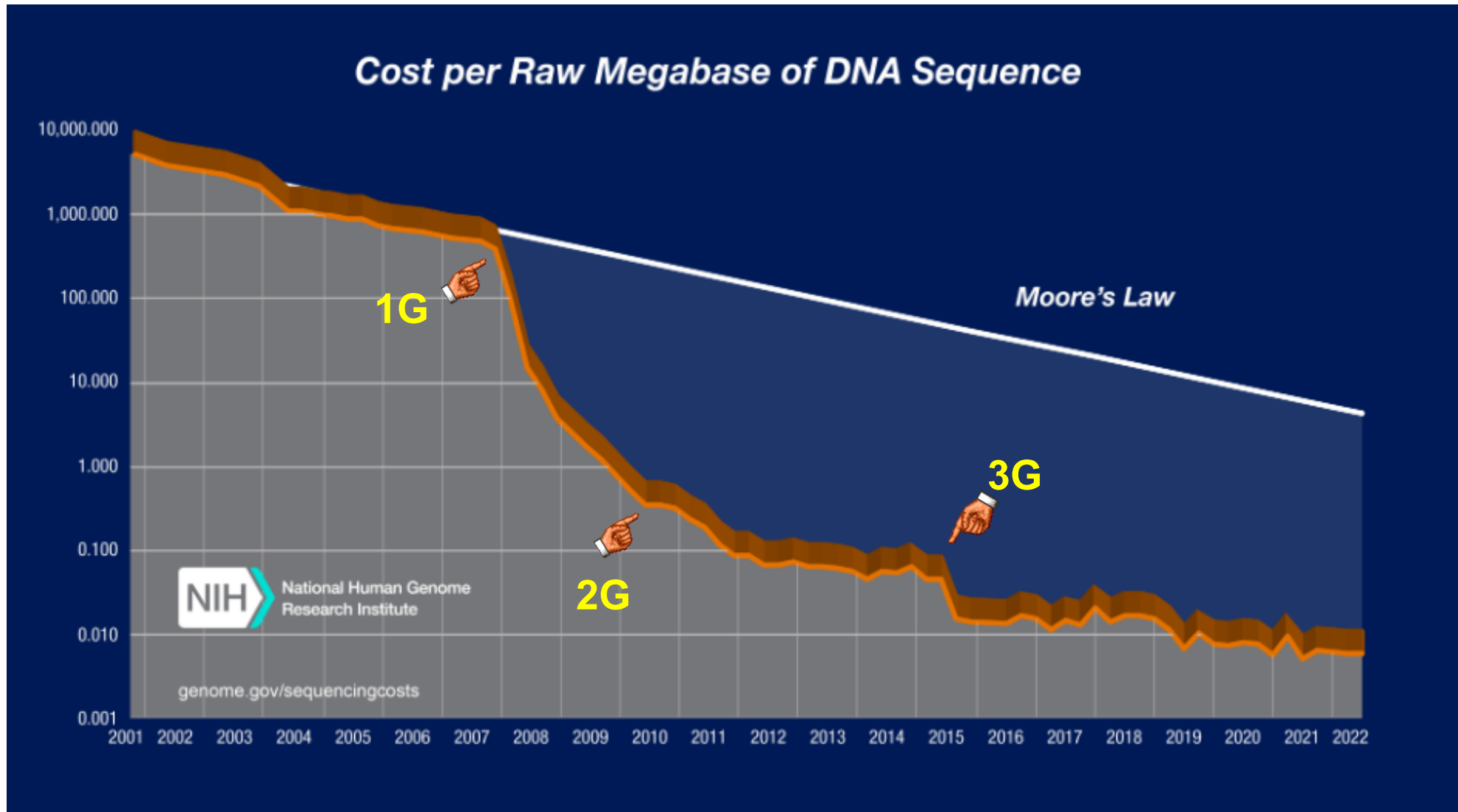
- Predominant applications:
- Gene expression
 - Gene fusions
 - Splice variants

Secuenciación genómica se ha convertido en una herramienta útil para comprender mejor la patogenicidad/virulencia y la **vigilancia**



Los patógenos surgen constantemente y se propagan a nuevas áreas y, a menudo, las opciones de diagnóstico para la infección son limitadas, lo que hace que la vigilancia sea clave para su control.

Costos de Secuenciación



El Paradigma de Vigilancia: El Punto Ciego vs. **El Radar Local**

EL PUNTO CIEGO CLÁSICO



Mecanismo:	Envío físico de muestras a laboratorios extranjeros.
Tiempo:	Semanas de retraso (Alerta > Semana 4).
Consecuencia:	Respuestas tardías, pérdida del contexto epidemiológico local y vulnerabilidad sistémica.

LA SOLUCIÓN **GENÓMICA LOCAL**

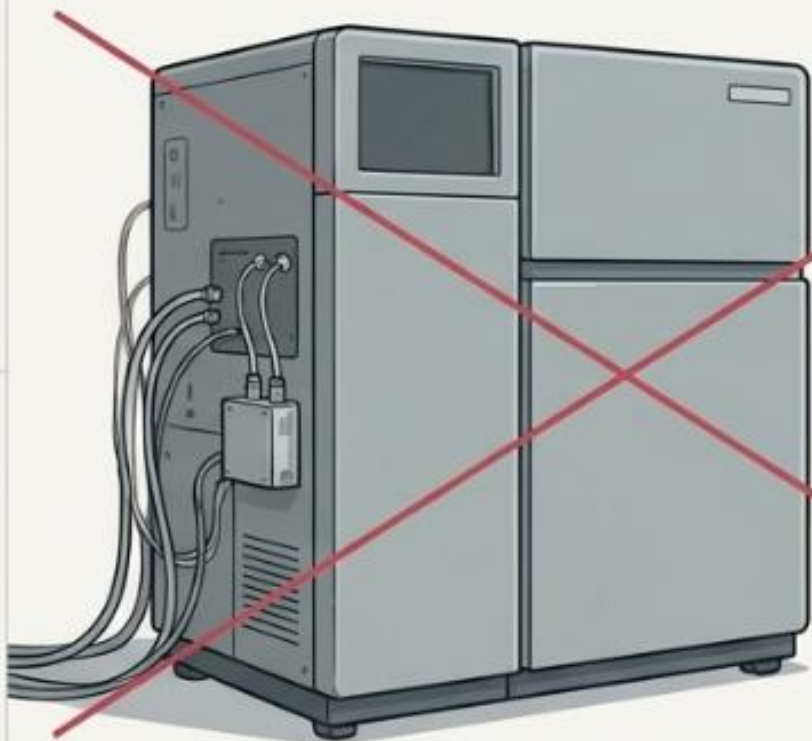


Mecanismo:	Secuenciación genómica <i>in situ</i> y análisis computacional.
Tiempo:	Alerta local en tiempo real.
Consecuencia:	Detección inmediata, rastreo de mutaciones locales y contención geográfica precisa.

LA CAPACIDAD LOCAL NO ES SOLO UNA VENTAJA CIENTÍFICA; ES SEGURIDAD NACIONAL.

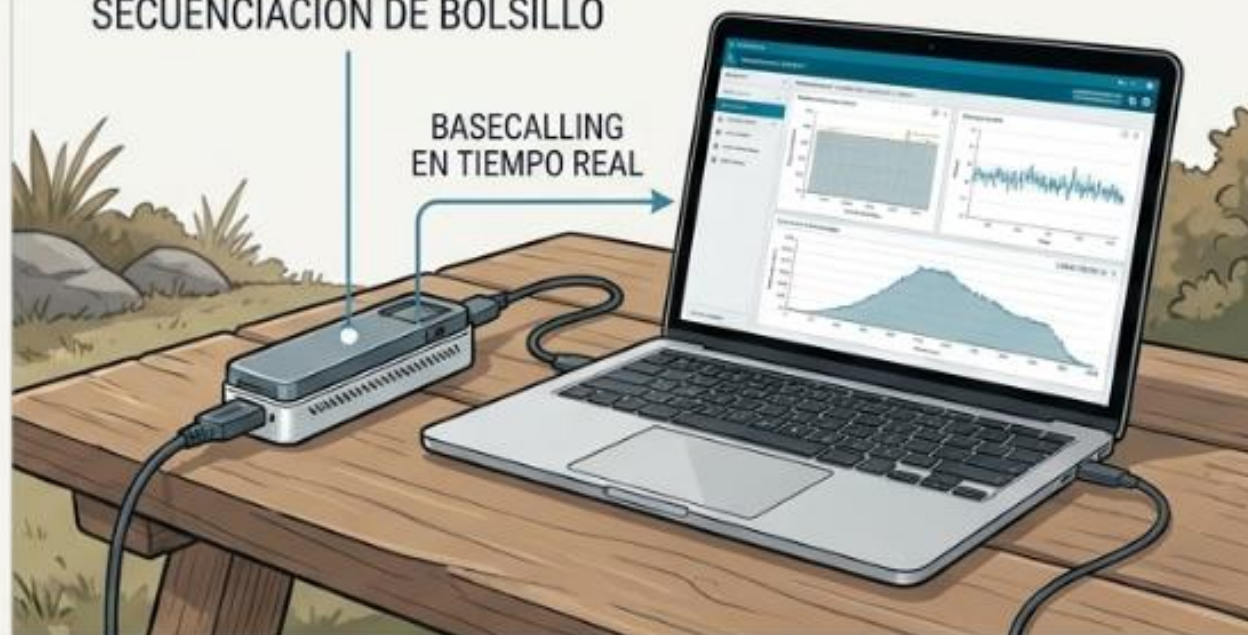
[TECNOLOGÍA: OXFORD NANOPORE MinION]
[TIEMPO DE LECTURA: TIEMPO REAL]

EL CATALIZADOR: UN LABORATORIO EN EL BOLSILLO



**MÁQUINA
TRADICIONAL DE
SECUENCIACIÓN**
INFRAESTRUCTURA
PESADA

OXFORD NANOPORE MinION
SECUENCIACIÓN DE BOLSILLO



PORTABILIDAD

1

Del hospital o la selva, directo a la computadora. Sin necesidad de infraestructura masiva.

VELOCIDAD

2

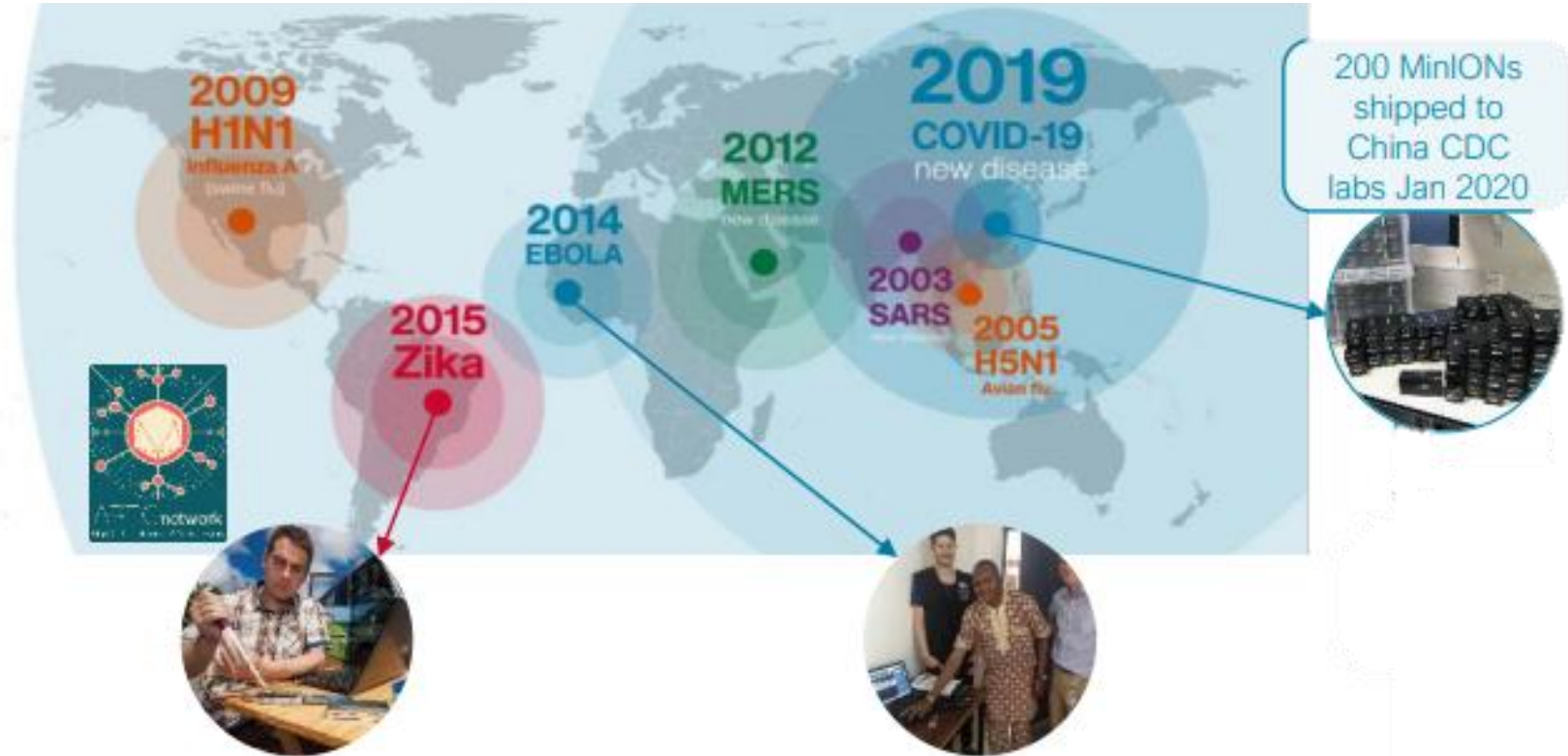
Basecalling en tiempo real impulsado por el software MinKNOW.

IMPACTO LOCAL

3

Permite a laboratorios regionales secuenciar genomas completos (29,903 nucleótidos del SARS-CoV-2) en horas.

Epidemiología genómica: la secuenciación puede informar las decisiones de salud pública



"Despite there being probably millions of cases of the Zika virus in Brazil, there was only a handful of known virus genomes prior to our work."

Nuno Faria et. al. 2017

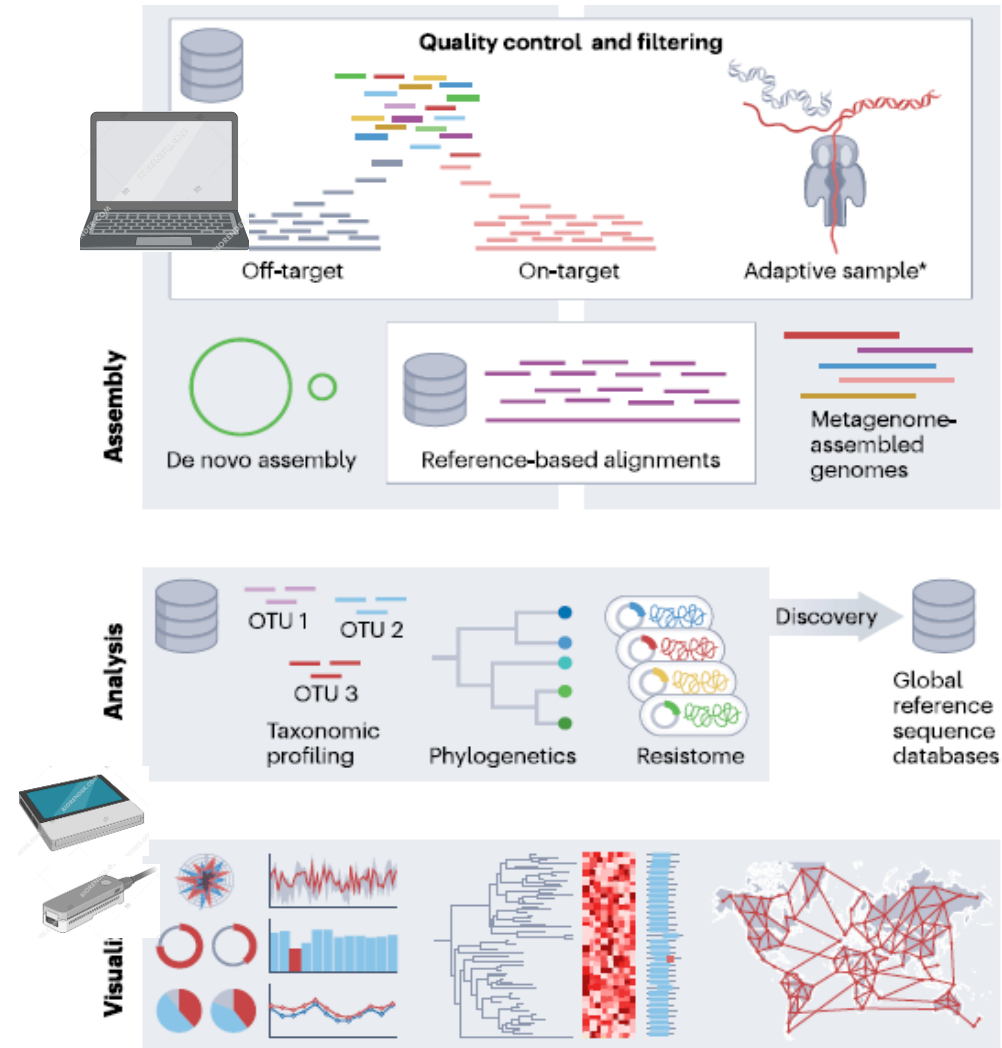
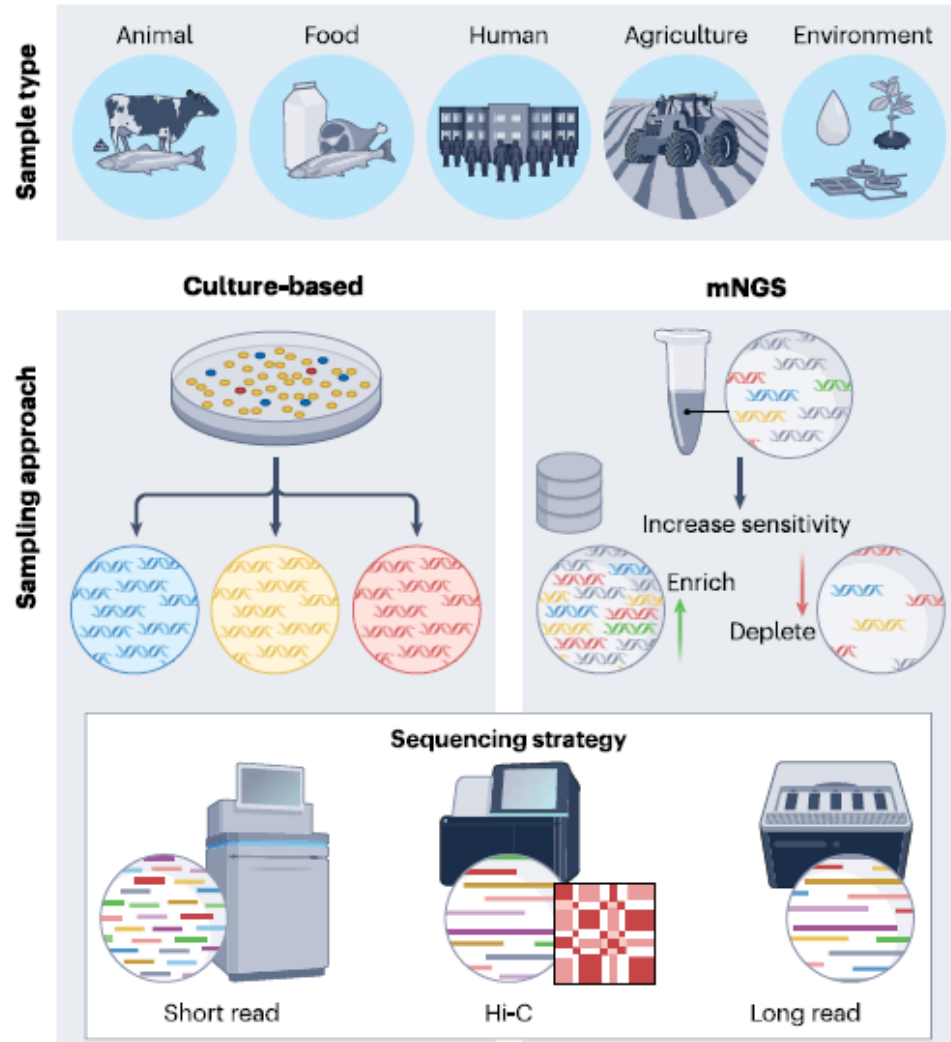
"I saw, first-hand, epidemiologists being able to accurately track transmission routes in real time and then intercept the chain to prevent further transmission of the virus."

Lauren Cowley et. al. 2015

Etapas en el análisis genómico de los microorganismos

Laboratorio (horas)

Bioinformática (horas)

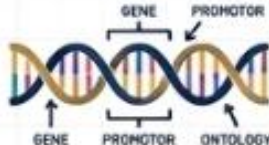


La Línea de Ensamblaje Bioinformática



Paso 1: Ensamblaje
Reconstrucción del genoma (De novo o por referencia).

SPAdes Velvet



Paso 2: Anotación
Predicción funcional e identificación de genes y ontologías.

Prokka RAST



Paso 3: Comparación
Alineamiento para identificar regiones conservadas y variables.

BLAST Mauve



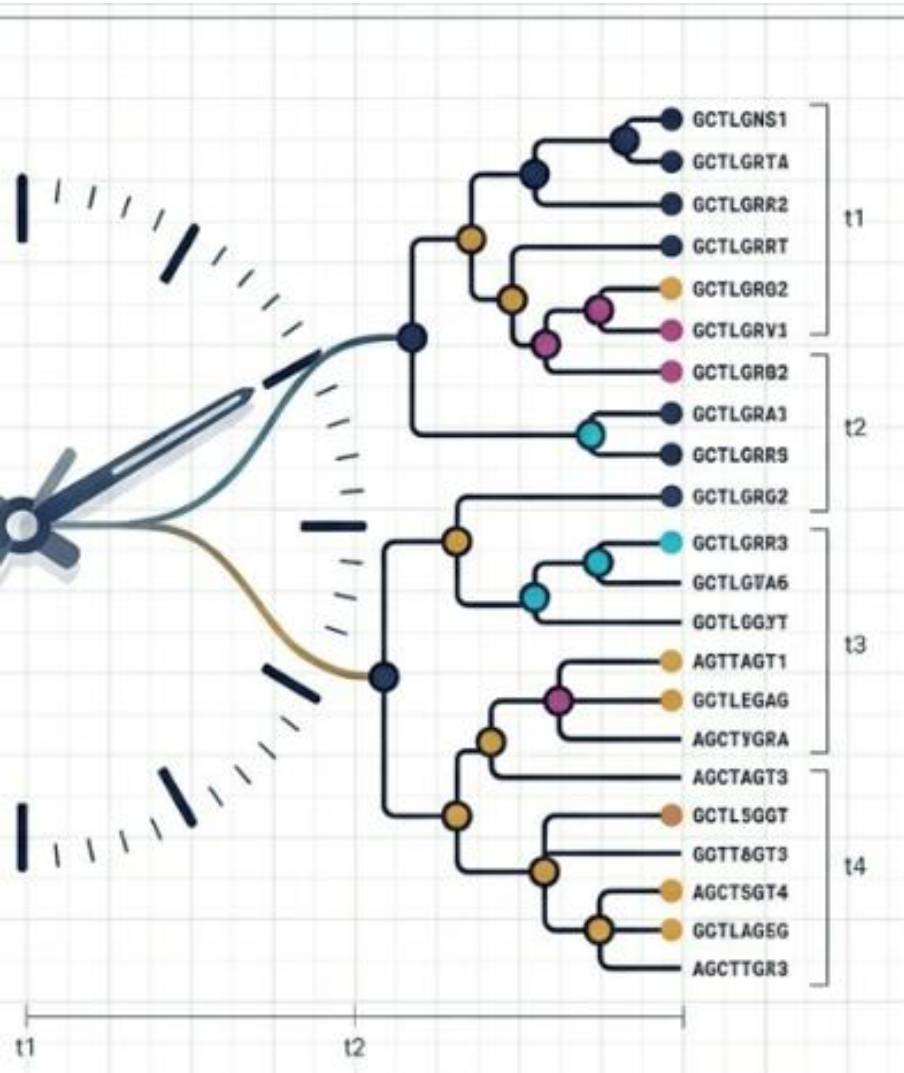
Paso 4: Filogenia
Inferencia de árboles evolutivos e historia del patógeno.

IQ-TREE BEAST

¿Qué herramientas bioinformáticas son cruciales en este proceso?

- **Ensambladores de *novo* y basados en referencia: SPAdes, Velvet o Bowtie2/BWA;** reconstruir el genoma del organismo de interés, ya sea desde cero o utilizando un genoma de referencia como guía.
- **Herramientas de anotación genómica:** Una vez que tenemos el genoma ensamblado, necesitamos identificar los genes y otras características genómicas. **Prokka o RAST** realizan la predicción de genes, la anotación funcional y la asignación de ontologías de genes.
- **Plataformas de comparación genómica:** Para entender las relaciones evolutivas y las diferencias entre cepas, utilizamos herramientas como **BLAST, Mauve o Roary**. Estas nos permiten alinear genomas, identificar regiones conservadas o variables, y construir árboles filogenéticos.

Si Filogenia: reconstruyendo la historia evolutiva de los patógenos



- **¿Qué es un árbol filogenético?** Diagrama que representa las relaciones evolutivas entre organismos o secuencias. Nodos internos = ancestros comunes; ramas = divergencia; longitud = distancia evolutiva.
- **Métodos de reconstrucción filogenética:** Máxima verosimilitud (ML), Inferencia Bayesiana, Neighbor-Joining (NJ). Cada uno balancea precisión y costo computacional.
- **Herramientas clave:** IQ-TREE (ML rápido), BEAST (reloj molecular bayesiano), MrBayes (inferencia bayesiana), MAFFT/MUSCLE (alineamiento de secuencias).
- **¿Para qué sirve en salud pública?** Rastrear el origen de brotes, identificar rutas de transmisión, detectar la emergencia de variantes y vigilar la diseminación global de patógenos.
- **Repositorios globales:** NCBI GenBank, GISAID (influenza, SARS-CoV-2), Nextstrain (visualización en tiempo real de evolución viral).

[PATÓGENO: SARS-CoV-2] [MUESTRA: HISOPADO NASOFARÍNGEO] [ESCALA: PANDÉMICA]

Caso 1: El Radar Pandémico y el Aislamiento Cali-01

El Paciente

Hombre de 45 años, síntomas leves, sin historial de viajes recientes.

El Hito

Secuenciación rápida local del genoma completo (29,903 nucleótidos, profundidad 1,111x).

El Descubrimiento

Identificación de la mutación D614G, clasificando el aislamiento Cali-01 en el clado G.



ALERTA DEL SISTEMA: La falta de viajes internacionales comprobó la transmisión comunitaria temprana, activando la respuesta local inmediata.



GENOME SEQUENCES



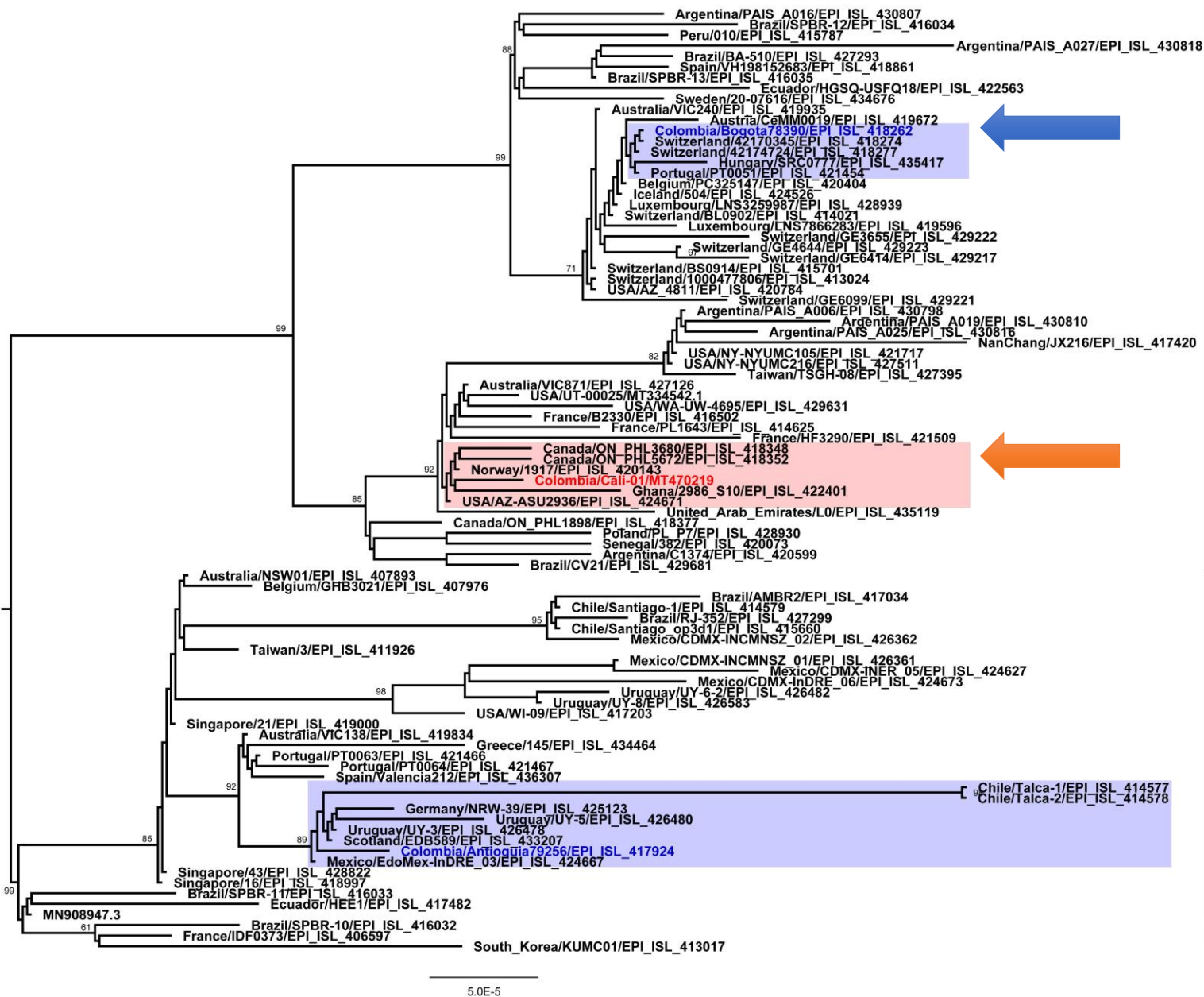
Genome Sequence of SARS-CoV-2 Isolate Cali-01, from Colombia, Obtained Using Oxford Nanopore MinION Sequencing

© Diana Lopez-Alvarez,^{a,b} Beatriz Parra,^c © Wilmer J. Cuellar^a

2019-Dec-03 2020-Jan-01 2020-Jan-29 2020-Feb-26 2020-Mar-25 2020-Apr-22
Date

Lopez-Alvarez D, Parra B, Cuellar WJ. 2020. Genome sequence of SARS-CoV-2 isolate Cali-01, from Colombia, obtained using Oxford Nanopore MinION sequencing. Microbiol Resour Announc 9:e00573-20.
<https://doi.org/10.1128/MRA.00573-20>





G Clade

Clado G

Identificado en **Cali-01** y **Bogotá**.
Presencia de la mutación **S: D614G**.

Clado S

Identificado en **Antioquia**.
Presencia de la mutación **orf8: L84S**.

S Clade

Síntesis

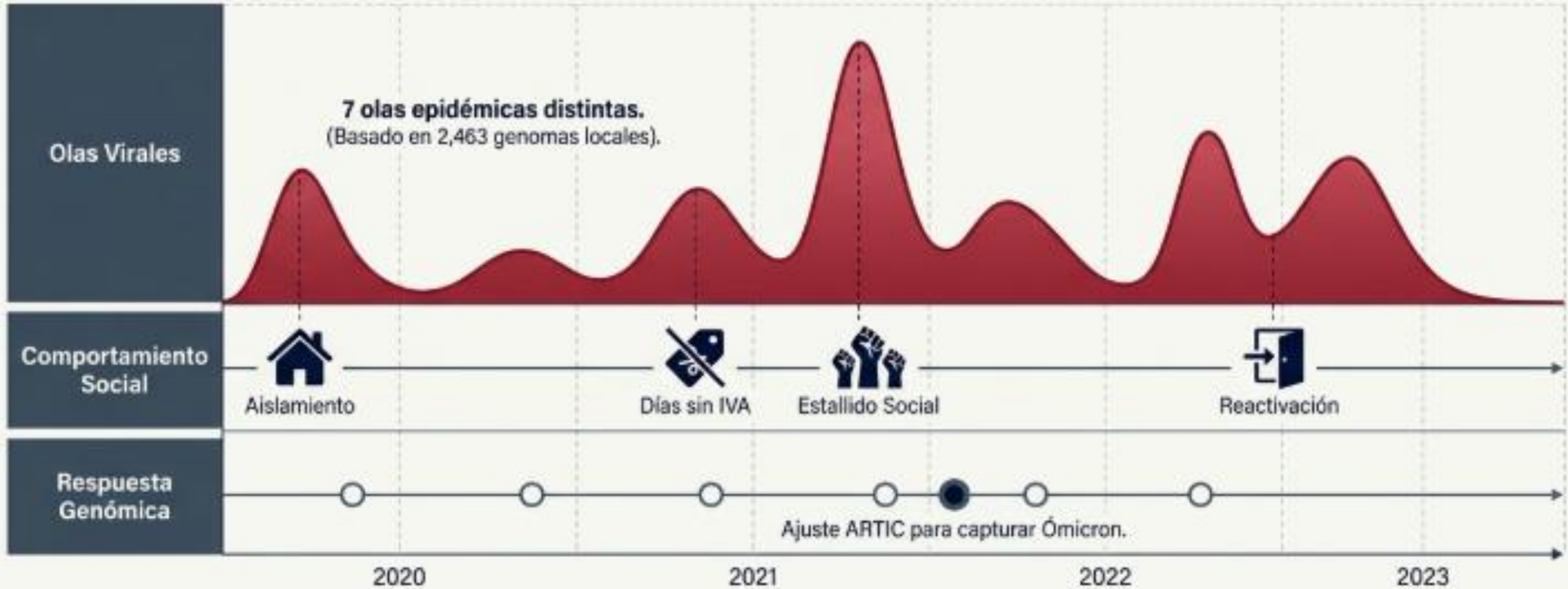
Las secuencias locales se integraron inmediatamente a la plataforma GISAID, demostrando que Colombia no era un pasajero pasivo en la pandemia, sino un nodo activo en el esfuerzo global de alerta temprana.

V Clade

Lopez-Alvarez D, Parra B, Cuellar WJ. 2020. Genome sequence of SARS-CoV-2 isolate Cali-01, from Colombia, obtained using Oxford Nanopore MinION sequencing. Microbiol Resour Anounc 9:e00573-20. <https://doi.org/10.1128/MRA.00573-20>.

[ANÁLISIS: DINÁMICA TEMPORAL]
[PERIODO: 2020-2023]
[ENFOQUE: INTERACCIÓN BIO-SOCIAL]

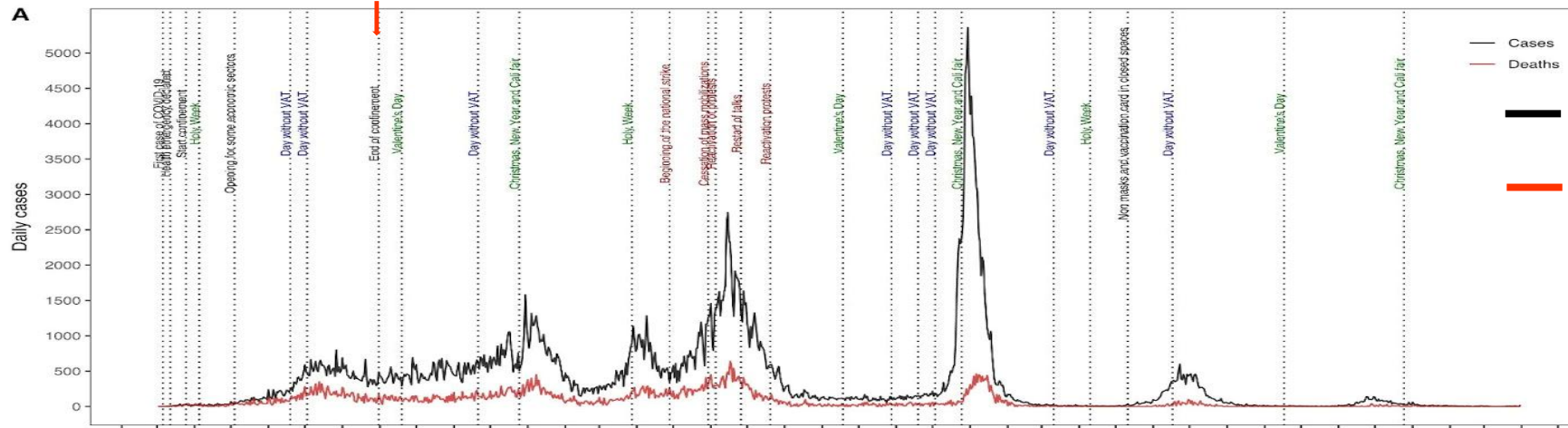
Dinámica de la Pandemia: Virus, Sociedad y Secuenciación



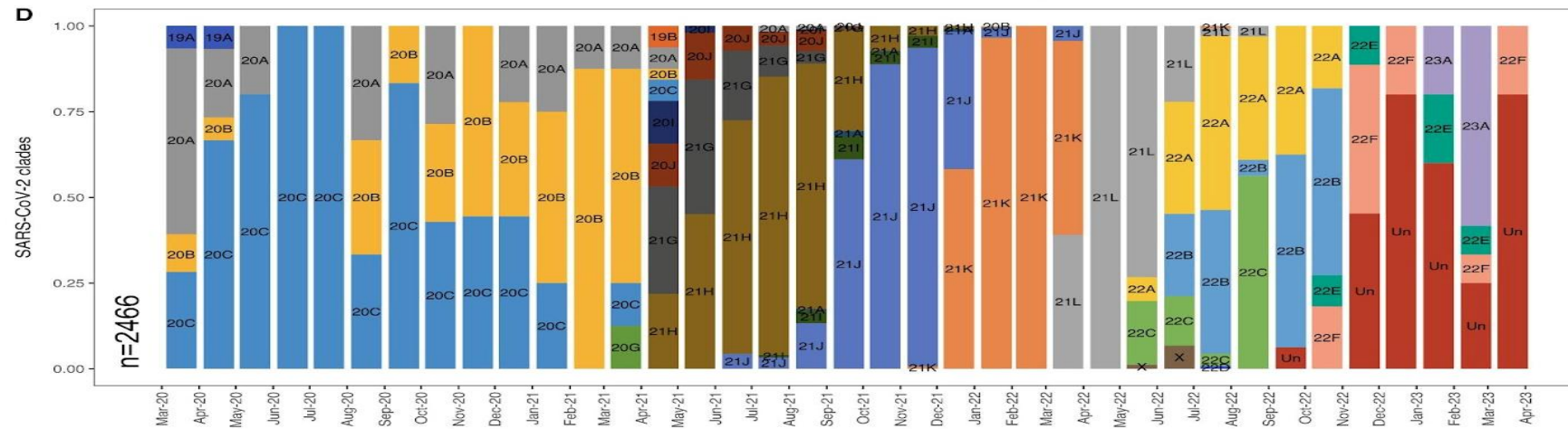
La evolución viral en Cali no solo fue biológica, fue moldeada por las **dinámicas de comportamiento humano y eventos sociales.**

Los picos de Covid-19 en Cali estuvieron más asociados con eventos de tipo social que con una variante en particular del SARS-CoV2

- ⋯ Dia sin IVA
- ⋯ Festivos
- ⋯ Estallido social



— Casos
— Muertes



2466 Genomas

Variantes del SARS-CoV2

Marzo 2020

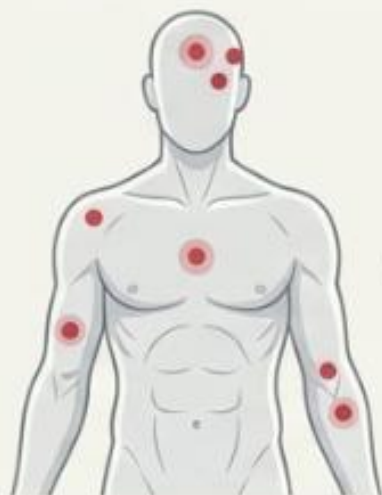


Abril 2023

[PATÓGENO: VIRUS ZIKA]
[MUESTRA: ORINA Y SANGRE]
[ESCALA: NEUROLÓGICA/AGUDA]

Caso 2: El Enigma Clínico de Zika y el Síndrome de Guillain-Barré (SGB)

El Misterio: Durante la epidemia de 2016 en Colombia, una fracción de pacientes infectados con Zika desarrolló SGB (una parálisis autoinmune severa).



Síntomas Comunes de Zika
(Fiebre, Sarpullido)



Complicaciones Neurológicas
(SGB)

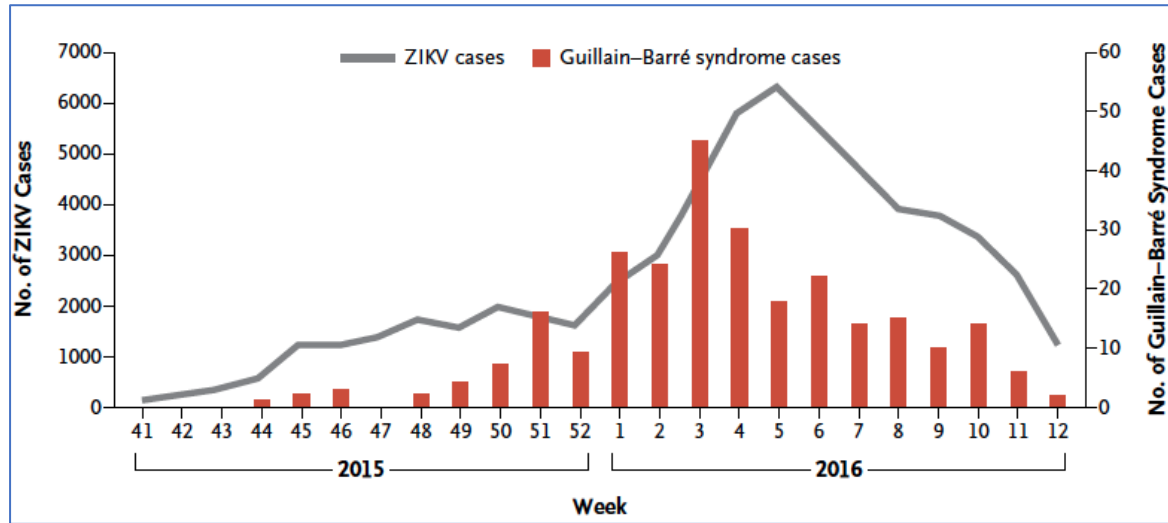
Hypothesis Card

¿Era una cepa mutante y “neurovirulenta” del virus la responsable de desencadenar la parálisis?

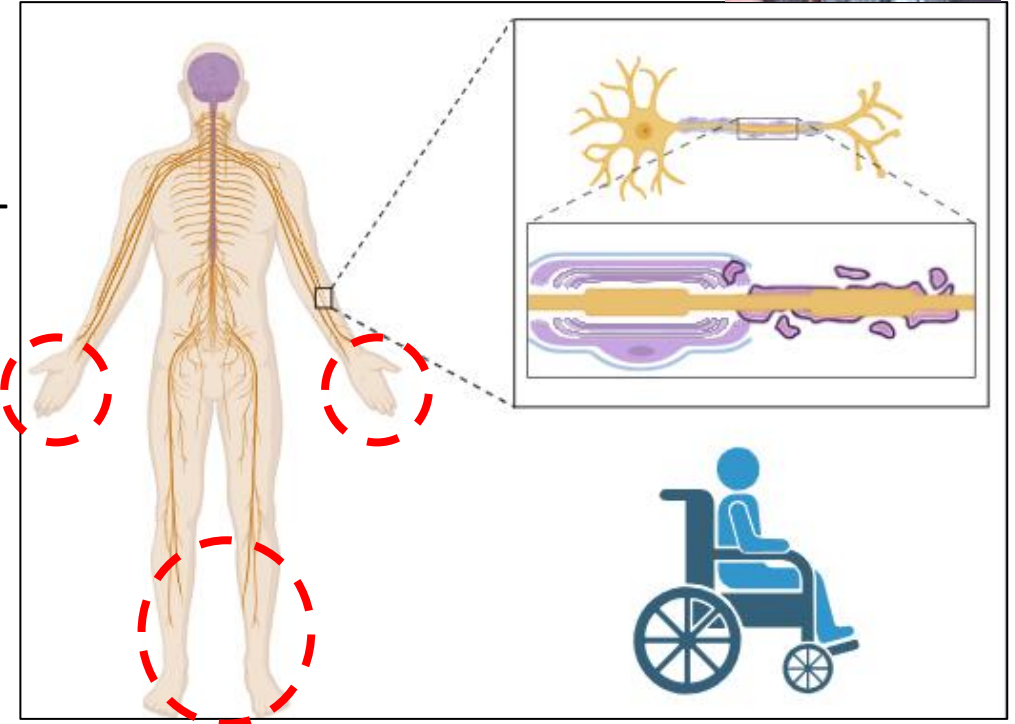
Hay variantes del virus Zika (ZIKV) que causan el Síndrome de Guillain-Barré (GBS) ?



La epidemia del Zika aumentó en 211% los casos de GBS en Colombia y LATAM



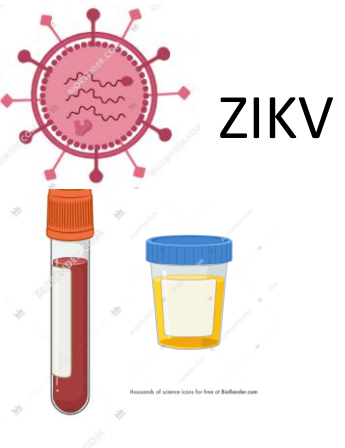
Elaborado con BioRender por Laura Q



Mortalidad del 3-10%

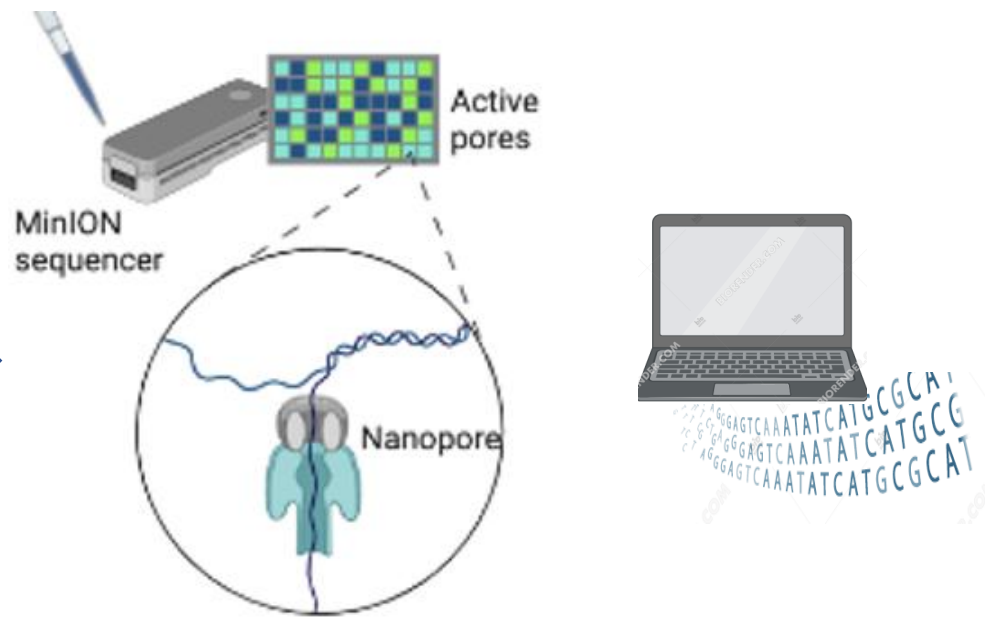
Es incierto si variantes mas virulentas de ZIKV contribuyen al desarrollo del Síndrome de Guillain-Barré

Objetivo : Evaluar si existen mutaciones en los genomas de ZIKV en personas que desarrollaron GBS en comparación con los virus en quienes no lo desarrollaron



15 Zika + Guillain-Barré (casos)

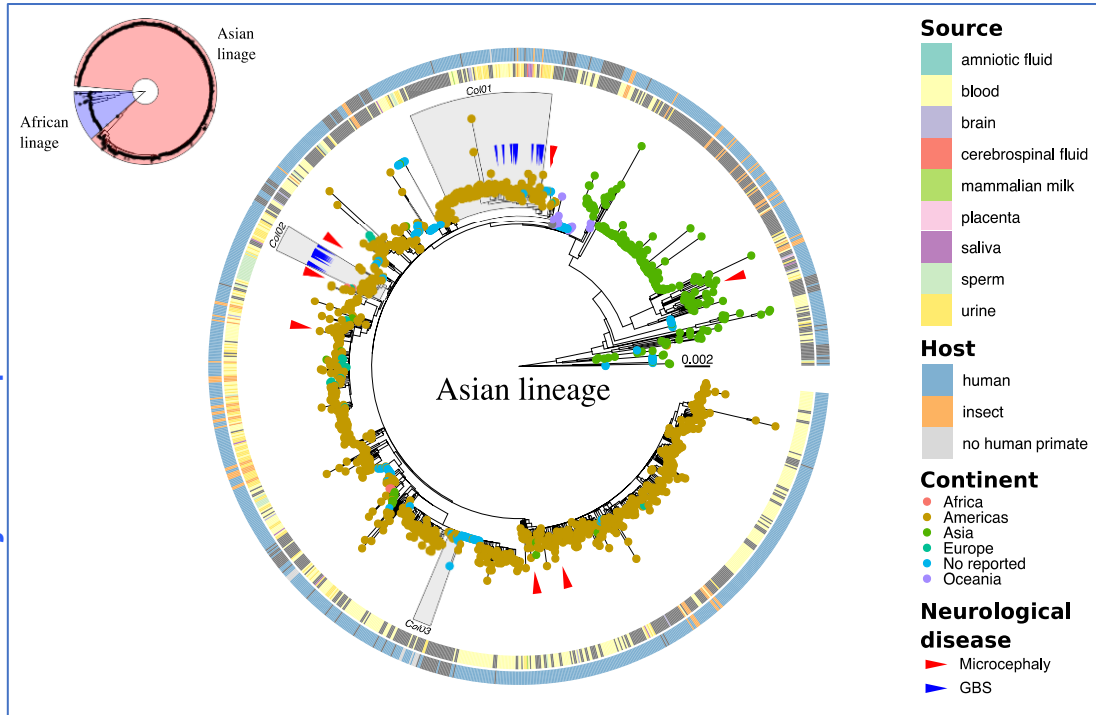
17 Zika (controles)



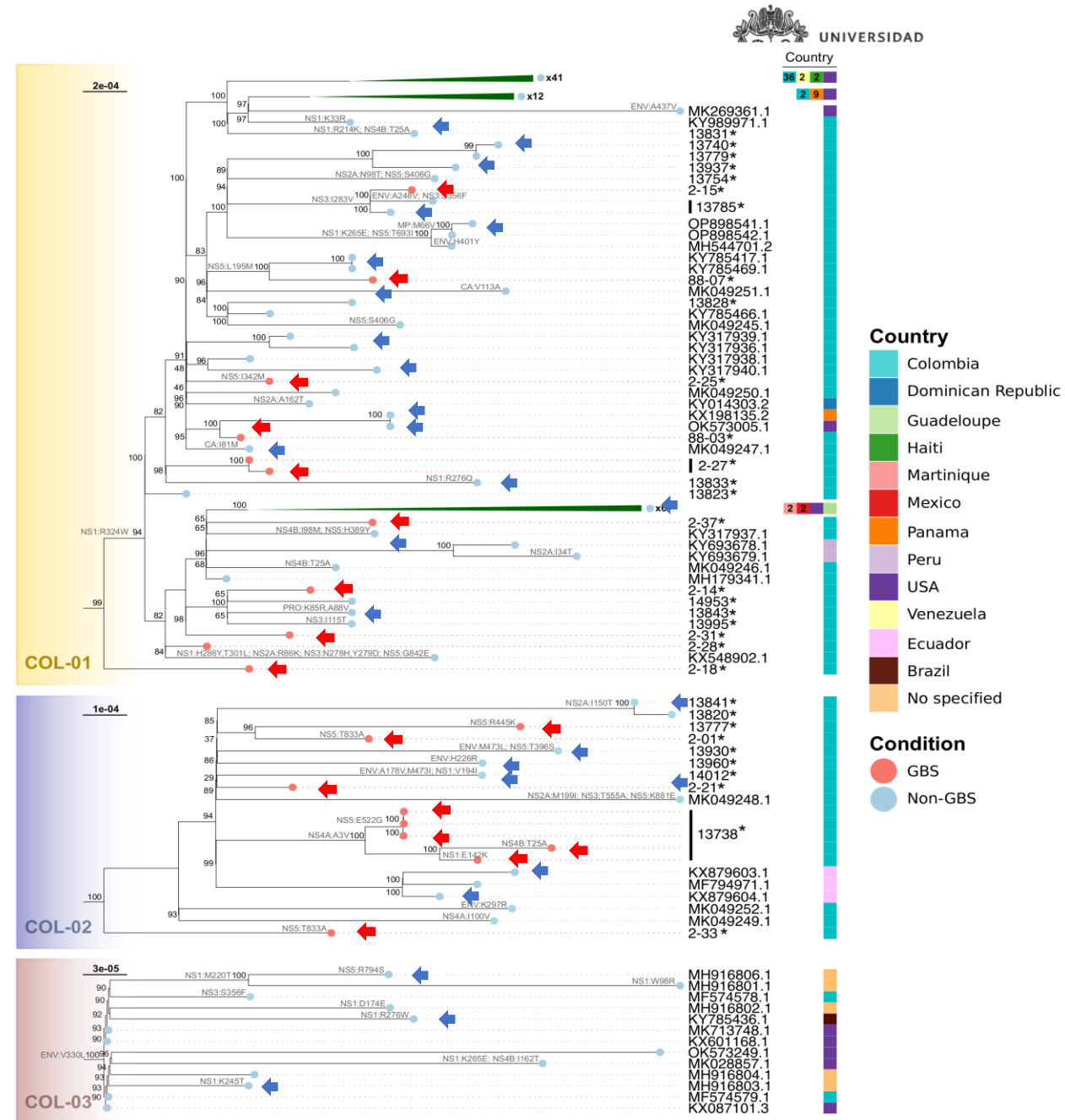
Quick, J. et al. *Nat Protoc* **12**, 1261–1276 (2017)

PLoS ONE 19(11): e0313545. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0313545>

No hay mutaciones ni cambios en el genoma del ZIKV que expliquen el desarrollo del Síndrome de Guillain- Barré



1406 Genomas del ZIKV Abril 1947-Septiembre 2021



[MECANISMO: RESPUESTA INMUNE]

[TIPO: PARA-INFECCIOSA]

El Verdadero Culpable: El Mimetismo Molecular

Si el genoma viral no cambia, la susceptibilidad reside en el huésped. El SGB no es causado por una cepa neurovirulenta.



Takeaway Box

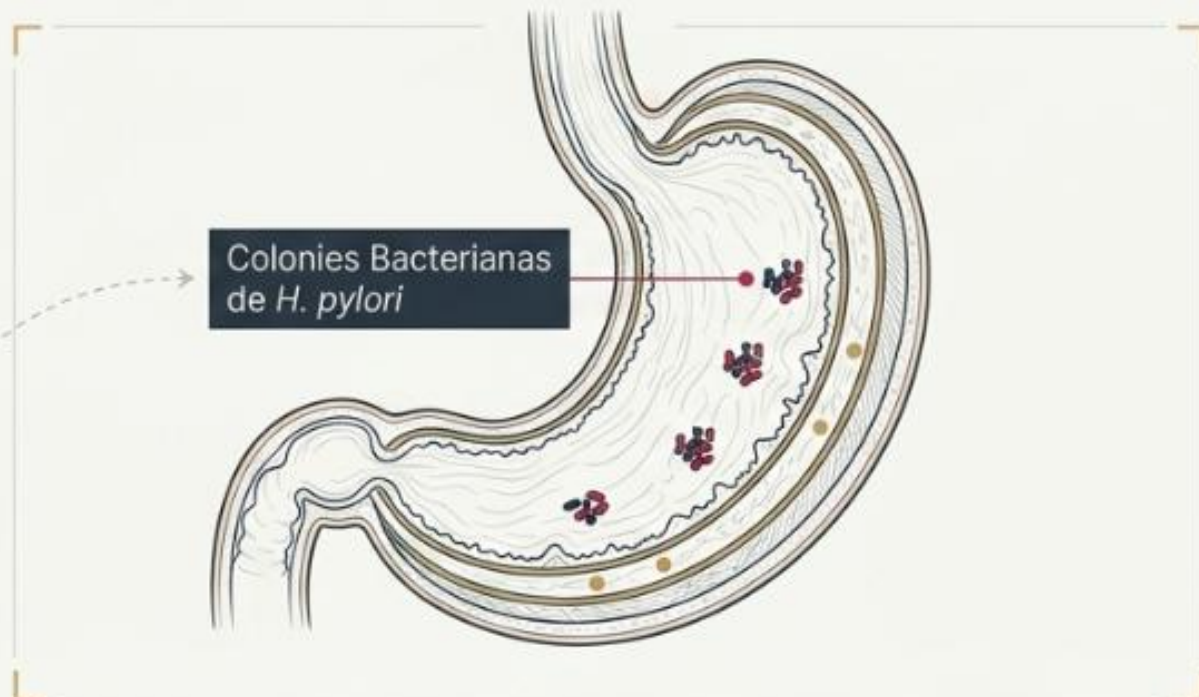
Es un mecanismo inmunomediado post-infeccioso. Los anticuerpos creados para combatir el virus atacan accidentalmente los propios nervios periféricos del paciente debido a la similitud estructural. El radar genómico absolvió al virus de una mutación directa.

Caso 3: La Amenaza Endémica y el Cáncer Gástrico



El Contexto

H. pylori coevoluciona con su huésped humano. En las poblaciones de los **Andes de Nariño**, existe un riesgo excepcionalmente alto de desarrollar **cáncer gástrico**.

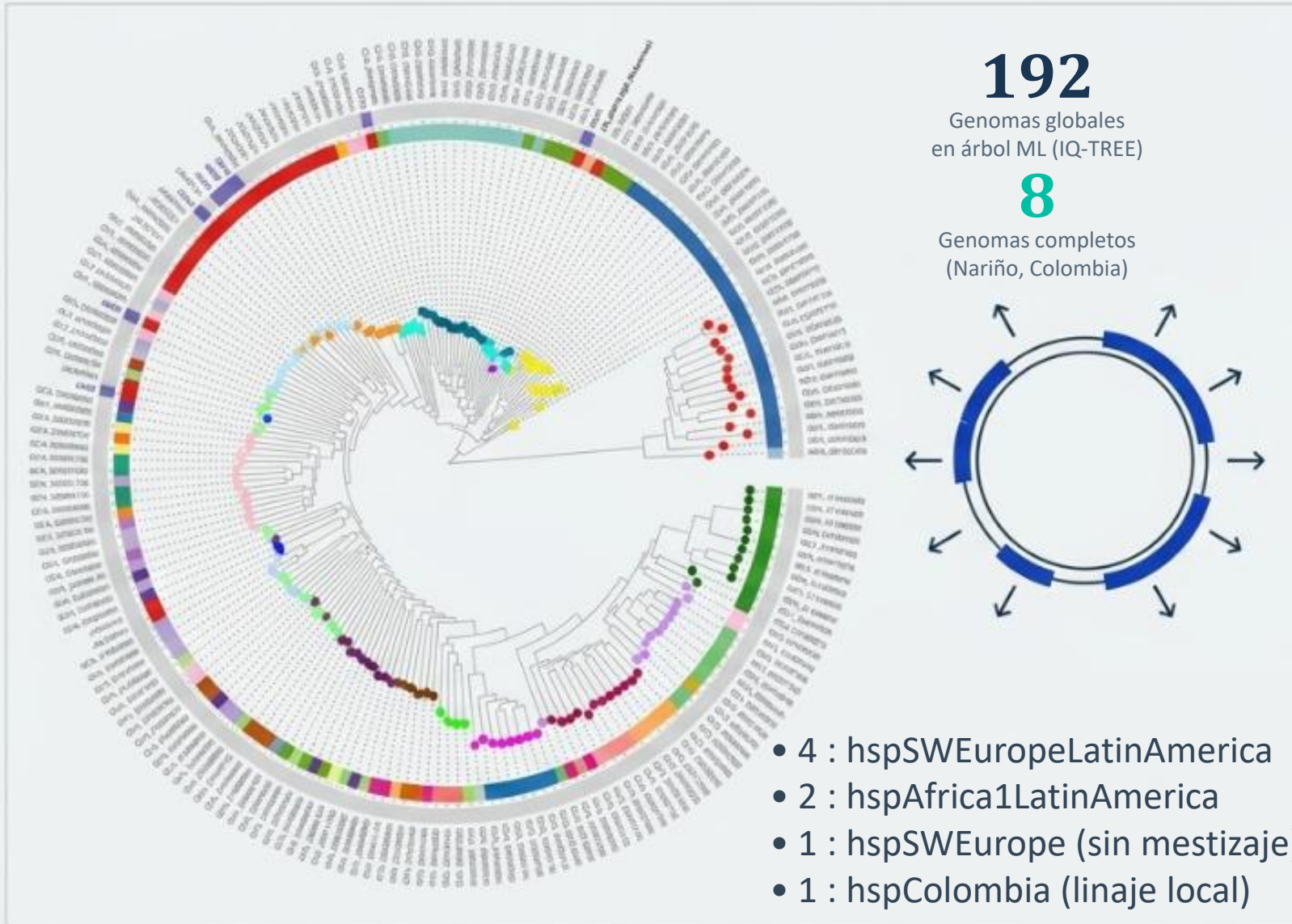


La Acción Genómica

Secuenciación profunda de aislados gástricos locales (cepas CR12, CR41, CR71) para identificar **factores de virulencia** y evolución bacteriana a nivel regional.

[AGENTE: HELICOBACTER PYLORI]
[FOCO: EVOLUCIÓN BACTERIANA]
[TIPO: PLÁSMIDOS DE ALTO RIESGO]

Evolución Bacteriana y Plásmidos de Alto Riesgo



Data Readout

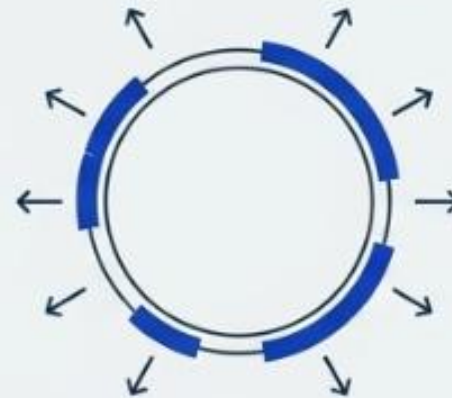
Genoma: ~1.7 Mbp, contenido GC del **38%**.

Hallazgo Crítico: Detección de **4** plásmidos (tamaños entre **4,260 y 9,178 bp**).

Movilidad: Tres de estos plásmidos son movilizables (relaxasas tipo MOB_P), indicando una alta capacidad de transferencia horizontal de genes en cepas de los Andes.

Insight

El radar genómico revela cómo la bacteria se arma genéticamente a nivel local, adaptándose para persistir en la mucosa y aumentar el riesgo oncológico.



[HOSPEDERO: ALOUATTA SENICULUS]

[MUESTRA: METAGENÓMICA DE HECES]

[ESCALA: ECOLÓGICA/AMBIENTAL]

Caso 4: El Centinela Ambiental (El Mono Aullador)

El Concepto

Los primates silvestres en bosques fragmentados de los Andes colombianos actúan como **espejos** de la contaminación humana y **centinelas ecológicas**.

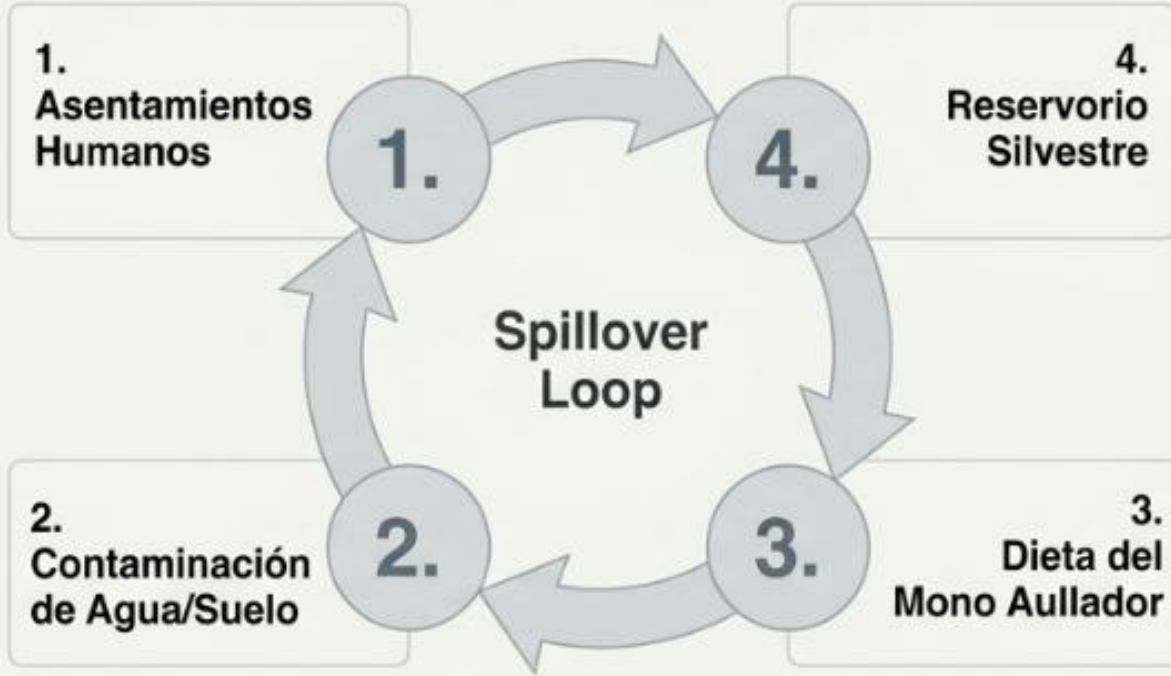


La Misión

Explorar el microbioma intestinal del mono aullador rojo mediante **metagenómica** para **detectar factores de virulencia** y **genes de resistencia a los antibióticos (AMR)** filtrados desde asentamientos humanos.

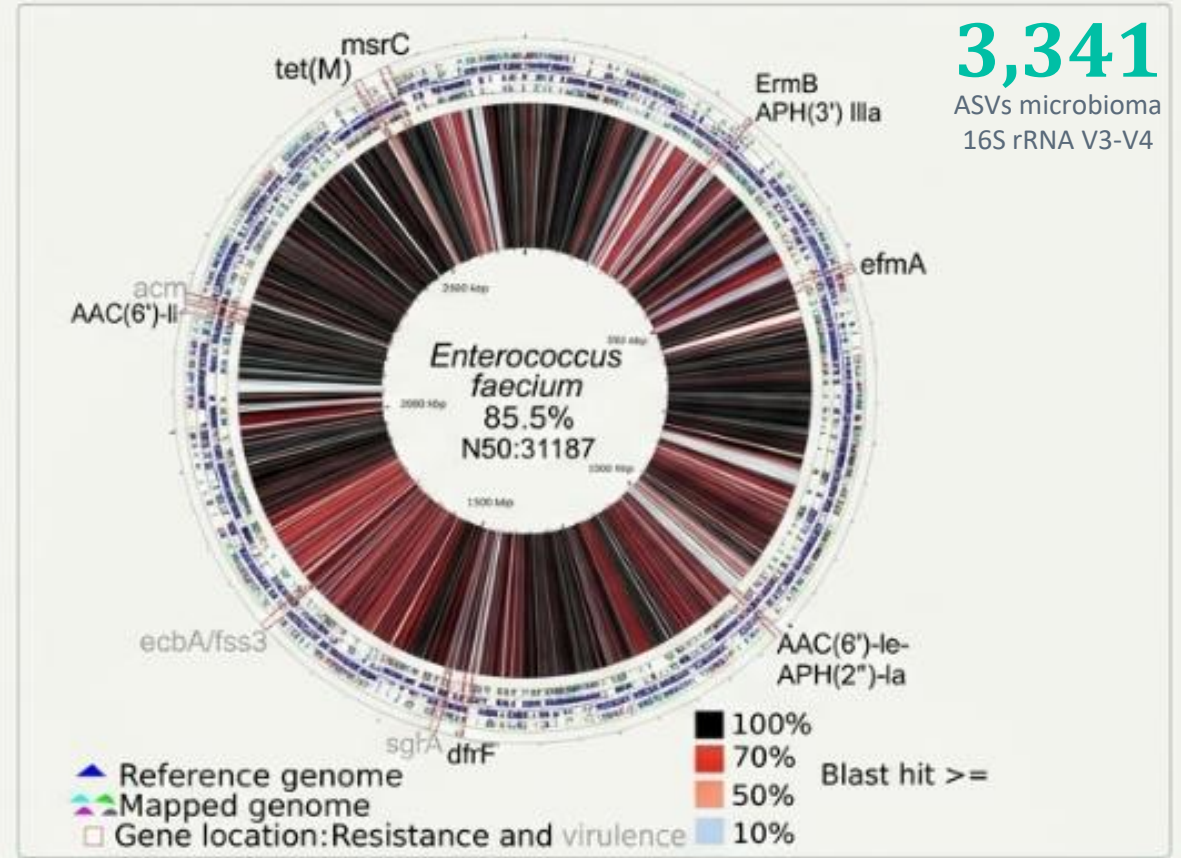
Resistencia Antimicrobiana (AMR) en la Selva

[UBICACIÓN: SELVA AMAZÓNICA]
[ENFOQUE: RESISTENCIA ANTIMICROBIANA (AMR)]
[TIPO: ECOLOGÍA PROFUNDA]



Data Readout:

- **Descubrimiento:** Se identificaron 11 genes de resistencia a antibióticos en plásmidos.
- **Bacterias Implicadas:** *Enterococcus faecium*, *Proteus mirabilis*, entre otras.

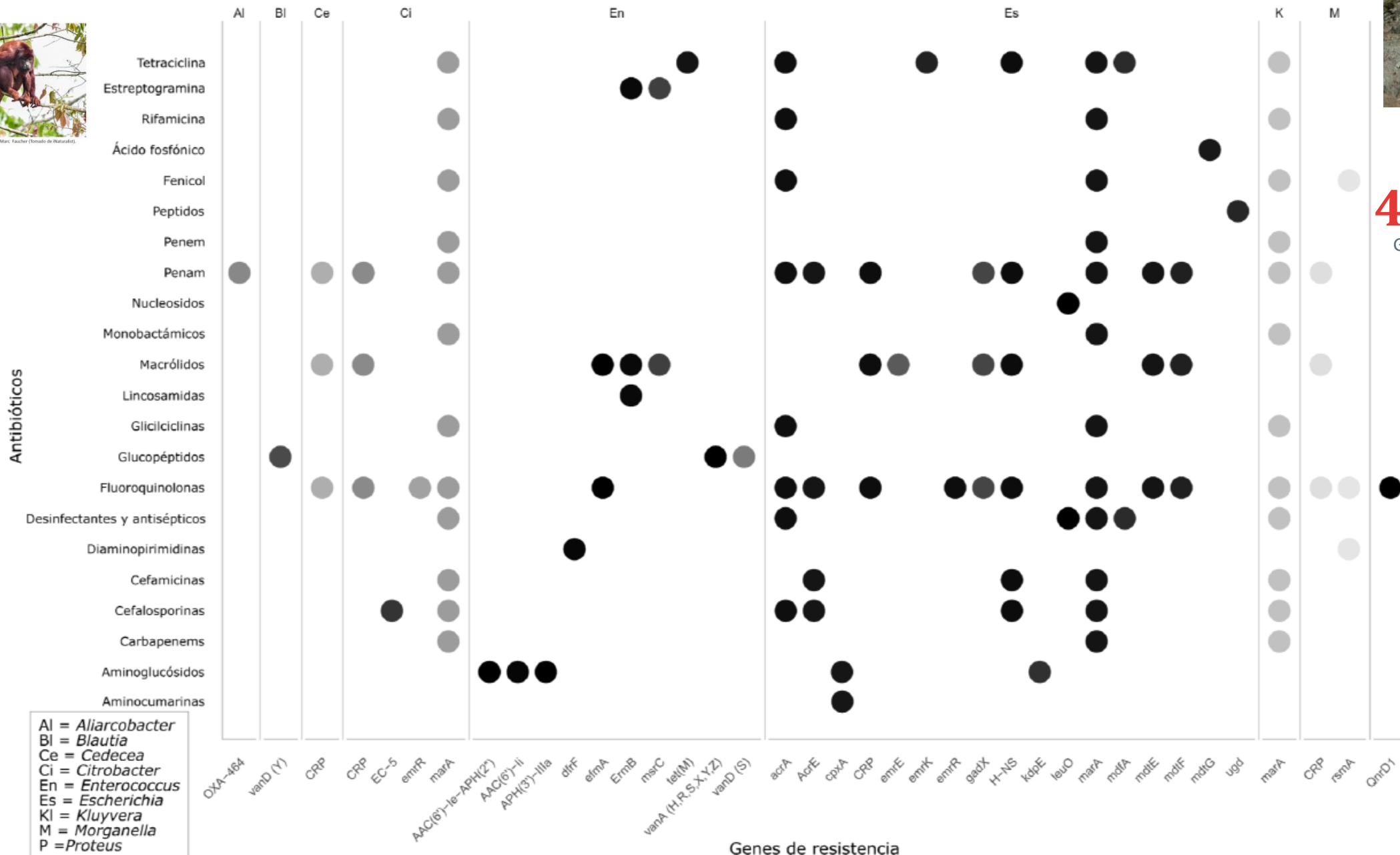


Impact Alert: La presencia de genes como *qnrD1* y el clúster *vanA* en fauna silvestre demuestra que la resistencia a los antibióticos ya no es un problema exclusivo de los hospitales; ha penetrado el tejido ecológico profundo.

Resultados: ARG asociados al microbioma de *A. seniculus* en bosques andinos de Colombia



Mono Aullador Rojo (*Alouatta seniculus*) por Marc Faucher (tomado de iNaturalist).



	SARS-CoV-2	Virus Zika	<i>H. pylori</i>	Mono Aullador
Objetivo	Rastreo Pandémico	Resolución Neurológica	Riesgo Oncológico Endémico	Bio-monitoreo Ambiental
Muestra	Hisopado Nasofaríngeo	Orina y Sangre	Biopsia Gástrica	Heces (Metagenómica)
Tecnología Clave	Nanopore MinION	Nanopore	Nanopore + Illumina	Metagenómica Asamblada
Hallazgo Clave	Detección inmediata local (Cali-01)	El SGB depende del huésped, no del virus	Plásmidos movilizables en zonas de cáncer	Genes AMR humanos en fauna silvestre

Conclusiones

- La **secuenciación genómica**, se ha convertido en un pilar fundamental para la comprensión y el manejo de las enfermedades infecciosas; ya que se necesitan metodologías innovadoras fáciles de usar y capaces de identificar simultáneamente diversos microorganismos (virales, bacterianos o fúngicos) con mucha precisión para tomar decisiones oportunas.
- Los métodos de vigilancia basados en la genómica y metagenómica ofrecen la oportunidad de mejorar la detección de patógenos conocidos y los nuevos aún por llegar.
- La bioinformática nos proporciona las herramientas necesarias para desentrañar la complejidad de la resistencia a los antimicrobianos a nivel genómico y molecular, allanando el camino hacia estrategias de tratamiento más efectivas.

Conclusiones

- **Aceleración del descubrimiento:** Permite identificar blancos terapéuticos y posibles fármacos de manera más rápida y eficiente.
- **Comprensión profunda:** Facilita la elucidación de los mecanismos moleculares de la patogénesis y la resistencia.
- **Vigilancia y control:** Mejora nuestra capacidad para rastrear brotes y monitorear la evolución de los patógenos.
- **Diagnóstico avanzado:** Contribuye al desarrollo de herramientas diagnósticas más sensibles y específicas
- **Filogenia y evolución molecular:** Permiten reconstruir el origen y la dispersión de los patógenos, detectar variantes bajo selección positiva y anticipar la emergencia de nuevas amenazas.

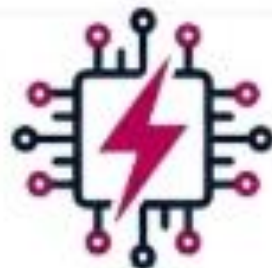
La interdisciplinariedad y el uso ético y responsable de las herramientas disponibles son fundamentales para enfrentar los desafíos actuales en salud global.

LA CAPACIDAD LOCAL NO ES SOLO UNA VENTAJA CIENTÍFICA; ES SEGURIDAD NACIONAL.



Independencia Diagnóstica

La secuenciación genómica y metagenómica in situ elimina la ceguera epidemiológica.



Agilidad Bioinformática

Transformar muestras biológicas en datos rastreables permite interceptar cadenas de transmisión tempranas.



Preparación Activa

Solo el radar genómico local puede detectar los patógenos conocidos y mapear las amenazas emergentes aún por llegar.



Universidad Nacional de Colombia -
Sede Palmira
Grupo de Diversidad Biológica
dilopezal@unal.edu.co



Universidad del Valle
Grupo Virus emergentes y enfermedad -
VIREM
diana.lopez.alvarez@correounivalle.edu.co



Publicaciones referenciadas en esta charla:

1. López-Alvarez, D.; Rivera-Franco, N.; Aristizabal, E.; Solarte, M.; Castillo, A.; Pardo, C.A.; Parra, B. Behavioral Dynamics, Genomic Insights, and Social Drivers of SARS-CoV-2 Waves and Variants in Cali, Colombia (2020–2023). *Viruses* 2025, 17, 800. <https://doi.org/10.3390/v17060800>
2. Lopez-Alvarez, D.; Parra, B.; Cuellar, W.J. Genome Sequence of SARS-CoV-2 Isolate Cali-01, from Colombia, Obtained Using Oxford Nanopore MinION Sequencing. *Microbiol Resour Announc* 2020, 9, e00573-20. <https://doi.org/10.1128/MRA.00573-20>
3. Rivera-Franco, N.; López-Alvarez, D.; Castillo, A.; Aristizabal, E.; Puiu, D.; Salzberg, S.L.; Pardo, C.A.; Parra, B. Genomic variability in Zika virus in GBS cases in Colombia. *PLoS ONE* 2024, 19(11), e0313545. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0313545>
4. Mejia, L.; Benavides-Melo, J.; Argoty, E.; Montenegro, L.; Rivera-Franco, N.; López-Alvarez, D.; Pazos, Á. Complete genome sequence of *Helicobacter pylori* isolated from residents in southwestern Colombia using Oxford Nanopore sequencing technology. *Microbiol Resour Announc* 2025. <https://doi.org/10.1128/mra.00082-25>
5. Florez, A.; Patiño-Montoya, A.; Florez-Ríos, H.; Piedrahita, M.; Arias Marmolejo, J.P.; Roncancio-Duque, N.; López-Alvarez, D.; Castillo, A. Characterization of the Microbiome and Virulence and Resistance Genes in the Howler Monkey (*Alouatta seniculus*) in Colombian Andean Forests. *Appl. Microbiol.* 2025, 5, 129. <https://doi.org/10.3390/applmicrobiol5040129>