

Oficio  
donde Autorize  
la liquidación

Solicitado en  
#Trámite 15777  
de Dic/2016



Registro Oficial N°. 11 del 10 de junio del 2013

**INFORME DE VIÁTICOS, MOVILIZACIONES, SUBSISTENCIAS Y ALIMENTACIÓN AL EXTERIOR**

FECHA DE INFORME (dd-mmm-aaaa)  
07/01/2017

**DATOS GENERALES**

APELLIDOS-NOMBRES DE LA O EL SERVIDOR: Restrepo Cardona Leda Carolina	PUESTO: Investigador
CIUDAD - PROVINCIA DE LA COMISION San Pedro-Santa Elena	NOMBRE DE LA UNIDAD DE LA O EL SERVIDOR CENAIM

**INFORME DE ACTIVIDADES Y PRODUCTOS ALCANZADOS (Enumerar, según Art. 23)**

La participación en el entrenamiento fue exitoso, permitió que la suscrita realizará análisis requeridos para comprender una parte importante en lo que ocurre en la interacción patógeno-hospedero, orientándome en investigar los mecanismos moleculares de virulencia presentes en las bacterias causantes en enfermedades emergentes en camarón, esto con el fin de conducir al desarrollo de estrategias para combatir éste agente infeccioso de alta prevalencia en Ecuador. Para obtener estos resultados, nos apoyamos en análisis cuantitativos de niveles de expresión génica y en herramientas avanzadas de bioinformática y biología de sistemas para el desarrollo de la investigación. Además, está pasantía permitió que la suscrita se instruyera en el análisis de datos obtenidos con tecnologías de secuenciación de nueva generación (NGS), en el área de metagenómica, los cuales van a ser de gran utilidad para los estudios posteriores que se desarrollaran a lo largo del proyecto del SENESCYT mencionado previamente.

ITINERARIO	SALIDA / CASA O TRABAJO	LLEGADA / CASA O TRABAJO	NOTA			
FECHA dd-mmm-aaaa	04/12/2016	08/01/2017	Estos datos se refieren al tiempo efectivamente utilizado en el comisión, desde la salida del lugar de residencia o trabajo habituales o del cumplimiento de la licencia según sea el caso, hasta su llegada de estos sitios.			
HORA hh:mm	10:15	7:10				
HORA Inicio de Labores el día de retorno						
TRANSPORTE UTILIZADO			SALIDA		LLEGADA	
TIPO DE TRANSPORTE (Aéreo, terrestre, otros)	NOMBRE DEL TRANSPORTE	RUTA	FECHA dd-mmm-aaaa	HORA hh:mm	FECHA dd-mmm-aaaa	HORA hh:mm
Aéreo	Avianca	Guayaquil-Bogota	04/12/2016	10:15	04/12/2016	12:15
Aéreo	Avianca	Bogota-Guayaquil	08/01/2017	7:10	08/01/2017	9:10

NOTA: En caso de haber utilizado: 1) transporte público, aéreo, fluvial o terrestre, se deberá adjuntar obligatoriamente los pases a bordo o boletos, de acuerdo a lo que establece en artículo N°. 23 y 2) vehículos institucionales, se adjuntará la hoja de ruta con tipo de vehículo, número de placa, kilometraje recorrido y los nombres apellidos del conductor.

**OBSERVACIONES**

FIRMA SERVIDOR/A COMISIONADO  	NOTA  El presente informe deberá presentarse dentro del término máximo de 4 días de cumplida la licencia, caso contrario la liquidación se demorará e incluso de no presentarlo tendría que restituir los valores pagados. Cuando la licencia sea superior al número de horas o días autorizados, se deberá adjuntar la autorización por escrito de la Máxima Autoridad o su Delegado/a.
--------------------------------------	--

**FIRMAS DE APROBACIÓN**

JEFA/E INMEDIATO DE LA O EL RESPONSIBLE DE LA UNIDAD  	MÁXIMA AUTORIDAD O SU DELEGADO/A
NOMBRE BONNY BAYOT	NOMBRE

## **Informe de viaje**

**Asistencia al entrenamiento: "Bioinformática avanzada aplicada al análisis de datos de PCR en tiempo real (qPCR) y metagenomas".  
Bogotá, Colombia, 05 – 28 de diciembre de 2016**

**Realizado por Leda Carolina Restrepo Cardona, MSc.  
Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas (CENAIM)**

### **1. Antecedentes**

Desde el 04 de diciembre del 2016 al 08 de enero de 2017, la suscrita realizó una estancia en la ciudad de Bogotá (Colombia) cuyo objetivo fue asistir al entrenamiento: "Bioinformática avanzada aplicada al análisis de datos de PCR en tiempo real (qPCR) y metagenomas", impartido por el Dr. Alejandro Reyes en la Universidad de los Andes. El curso tuvo lugar entre el 05 y el 28 de diciembre del 2016. El viaje de ida a Colombia y regreso a Ecuador se realizó los días 04 de diciembre de 2016 y 08 de enero de 2017, respectivamente. El entrenamiento fue dictado por el Dr. Alejandro Reyes-Muñoz, y abarcó el análisis bioinformático avanzado más usado para problemas biológicos de genómica bacteriana. El Dr. Alejandro Reyes-Muñoz, es microbiólogo de la Universidad de los Andes con Maestría en Ciencias Biológicas de la misma Universidad y obtuvo su doctorado en Biología Computacional y de Sistemas de Washington University in Saint Louis. Tiene más de 10 años de experiencia en investigación en Biología Molecular y microbiología participando en proyectos de desarrollo de tecnologías y métodos computacionales para la identificación y caracterización de microorganismos usando tecnología de última generación. Es profesor asistente del Departamento de Ciencias Biológicas de la Universidad de los Andes desde 2013, profesor asistente adjunto del departamento de Patología e Inmunología de Washington University in Saint Louis y co-coordinador de la maestría en Biología Computacional. Los tópicos abordados en el entrenamiento sobre ciencias ómicas son en los que el CENAIM está incursionando en el marco de 2 de los 3 proyectos de investigación de CENAIM financiados por SENESCYT: PIC-14-CENAIM-001 - "Caracterización de la biodiversidad de invertebrados de la reserva marina el pelado a escalas taxonómicas, metabolómicas y metagenómicas para uso en salud humana y animal" y PIC-14-CENAIM003 - "Desarrollo e implementación de métodos de control y prevención de enfermedades en especies acuáticas de uso comercial y uso potencial en maricultura o repoblación".

A continuación, se resume brevemente las principales actividades realizadas tanto en el entrenamiento avanzado y el trabajo investigativo que se realizó con el Dr. Reyes. Cabe destacar que los gastos de pasaje, hospedaje y alimentación fueron cubiertos por el Proyecto SENESCYT PIC-14-CENAIM-003.

### **2. Entrenamiento: "Bioinformática avanzada aplicada al análisis de datos de PCR en tiempo real (qPCR) y metagenomas".**

El entrenamiento tuvo una duración de 24 días (entre el 17 y 25 de noviembre) para un total de 192 horas. Fue impartido por el Dr. Alejandro Reyes-Muñoz, quien es profesor asistente

del Departamento de Ciencias Biológicas de la Universidad de los Andes, profesor asistente adjunto del departamento de Patología e Inmunología de Washington University in Saint Louis y co-coordinador de la maestría en Biología Computacional.

El entrenamiento fue impartido casi completamente de forma práctica, aunque hubo sesiones teóricas que impartía el Dr. Reyes.

Un resumen de las actividades es mostrado a continuación:

### **Semana 1 – Lunes 05-Domingo 11 de diciembre del 2016 –Introducción al diseño, desarrollo e implementación de PCR en tiempo real o PCR cuantitativa (qPCR)**

En esta semana el entrenamiento tuvo un enfoque teórico-práctico de siete días. Se abordaron los fundamentos de la PCR Tiempo Real, se describieron e implementaron las aplicaciones cuantitativas y cualitativas que se manejan en PCR Tiempo Real, se realizaron varios ensayos de PCR en tiempo real, manejo del software de la plataforma de PCR tiempo real que teníamos disponible. Durante este curso se realizaron prácticas de presencia/ausencia de genes de patogenicidad, discriminación de controles, curva estándar y expresión génica por delta Ct.

Se registraron fotografías de la parte práctica de este módulo (ANEXO 1).

### **Semana 2 – Lunes 12- Domingo 18 de diciembre del 2016 – Introducción al análisis de datos de PCR en tiempo real (qPCR)**

Esta semana el entrenamiento se enfocó en el análisis de datos que se habían obtenido de las aplicaciones cuantitativas que se realizaron con los ensayos por bacterias patógenas que obtuvimos con la PCR Tiempo Real. Estandarizamos los métodos para el análisis de nuestros datos, las cuantificaciones realizadas se llevaron a cabo en base al valor del ciclo umbral (Ct) registrado en el software implementado en base a dos modelos distintos: - Cuantificación relativa normalizada: Este método se basa en el modelo DeltaDelta Ct desarrollado por PE Applied Biosystems. Los valores obtenidos para cada muestra fueron normalizados con los niveles de Ct obtenidos para nuestro gen calibrador en las condiciones de tratamiento control.

### **Semana 3– Lunes 19-Domingo 25 de diciembre del 2016 – “Bioinformática avanzada aplicada al análisis de datos de metagenomas**

En esta semana el entrenamiento tuvo un enfoque teórico-práctico de siete días, en donde estudiamos conceptos básicos de metagenómica, ya que esta rama de la ciencia genómica es uno de los campos de más rápido avance en las ciencias actuales. Debido a que permite el acceso a los genomas de comunidades enteras de microorganismos, de otra manera inaccesibles. Nos enfocamos en comprender la diversidad, ecología, y funcionamiento de los microorganismos, para el análisis bioinformático de genomas de bacterias asociadas con problemas de mortalidad en camarón, contribuyendo a la aparición y desarrollo de nuevas aplicaciones en las ciencias acuícolas.

Práctica Ensamble de metagenomas

Práctica Alineamiento y mapeo de lecturas  
Práctica Detección de OTUs  
Práctica Predicción de diferencias experimentales  
Práctica Anotación funcional/comparación de metagenomas

### **Semana 4– Lunes 26-Miercoles 28 de diciembre del 2016 – “Análisis de datos obtenidos por medio de análisis metagenómicos y de PCR en Tiempo Real**

Introducción a la biología de sistemas  
Análisis de co-expresión de genes  
Redes de co-expresión y redes de interacción de patógenos

Al finalizar el entrenamiento se expidió el certificado de asistencia, el mismo que está anexado al presente informe (ANEXO 2).

### **3. Herramientas bioinformáticas y softwares de análisis utilizados a lo largo del Entrenamiento “Bioinformática avanzada aplicada al análisis de datos de PCR en tiempo real (qPCR) y metagenomas”**

- **Programas con interfaz gráfica**

R: <http://www.r-project.org/>) + R packages

Paquetes y librerías de R:

BSgenome

(<http://www.bioconductor.org/packages/release/bioc/html/BSgenome.html>)

BSgenome.Mmusculus

(<http://www.bioconductor.org/packages/release/data/annotation/html/BSgenome.Mmusculus.UCSC.mm9.html>)

GenomicRanges

(<http://www.bioconductor.org/packages/release/bioc/html/GenomicRanges.html>)

Repitools (<http://www.bioconductor.org/packages/release/bioc/html/Repitools.html>)

rtracklayer

(<http://www.bioconductor.org/packages/release/bioc/html/rtracklayer.html>)

GenomicFeatures

(<http://www.bioconductor.org/packages/release/bioc/html/GenomicFeatures.html>)

RStudio: [www.rstudio.com](http://www.rstudio.com)

Geneious: [www.geneious.com/](http://www.geneious.com/)

- **Control calidad y limpieza**

FastQC (<http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>)

FASTX-Toolkit ([http://hannonlab.cshl.edu/fastx\\_toolkit/](http://hannonlab.cshl.edu/fastx_toolkit/))

Prinseq: <http://prinseq.sourceforge.net/faq.html>

Trimmomatic: <http://www.usadellab.org/cms/?page=trimmomatic>

- **Ensamblaje de novo**

Velvet: <https://www.ebi.ac.uk/~zerbino/velvet/>

Newbler: <http://454.com/contact-us/software-request.asp>  
SPAdes Genome Assembler | Algorithmic Biology Lab:  
[bioinf.spbau.ru/spades](http://bioinf.spbau.ru/spades)

- **Ensamblaje por referencia**

Samtools (<http://samtools.sourceforge.net/>)  
BEDTools (<https://github.com/arq5x/bedtools2>) Version: 2.20.1  
Bowtie (<http://bowtie-bio.sourceforge.net/index.shtml>) Version: Bowtie 1.1.0  
UCSC tools (<http://hgdownload.cse.ucsc.edu/admin/exe/>)  
IGV genome browser (<http://www.broadinstitute.org/igv/>)

- **Cierre del genoma**

Tophat (<http://ccb.jhu.edu/software/tophat/index.shtml>)  
Cufflinks (<http://cufflinks.cbc.umd.edu/>)  
bedGraphToBigWig command from the UCSC tools:  
<http://hgdownload.cse.ucsc.edu/admin/exe/>  
htseq-count: <http://www-huber.embl.de/users/anders/HTSeq/doc/count.html>

- **Anotación Funcional y Estructural**

PFAM: desde el link <ftp://ftp.ebi.ac.uk/pub/databases/Pfam/releases/Pfam28.0/>  
MACS (<http://liulab.dfci.harvard.edu/MACS/index.html>) Version: Macs 1.4.2  
PeakAnalyzer (<http://www.ebi.ac.uk/bertone/software>)  
MEME suite (<http://ebi.edu.au/ftp/software/MEME/index.html>) Version: 4.9.1  
SICER (<http://home.gwu.edu/~wpeng/Software.htm>)  
ngsplot (<http://code.google.com/p/ngsplot>) Version: 2.41.2  
RAST: <http://rast.nmpdr.org/>

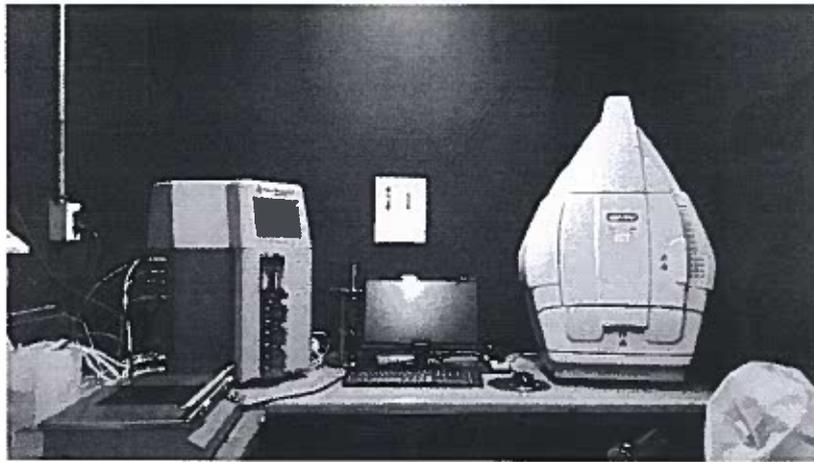
#### **4. Conclusiones y Proyecciones de aplicación en ESPOL**

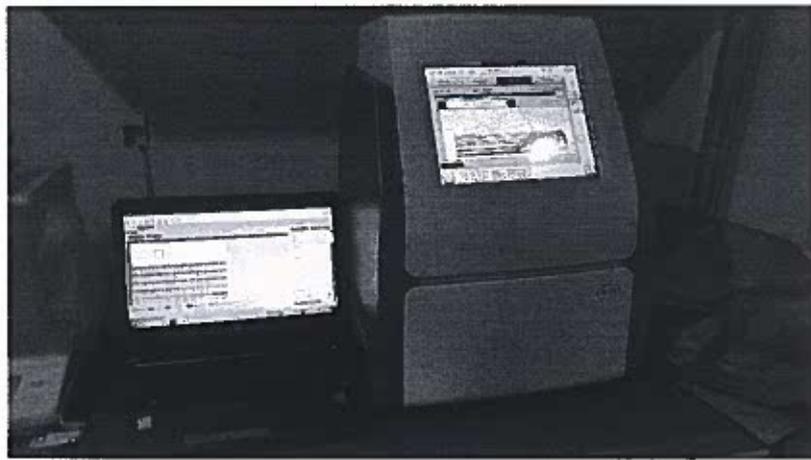
El entrenamiento permitió que la suscrita realizará análisis requeridos para comprender una parte importante en lo que ocurre en la interacción patógeno-hospedero, orientándome en investigar los mecanismos moleculares de virulencia presentes en las bacterias causantes en enfermedades emergentes en camarón, esto con el fin de conducir al desarrollo de estrategias para combatir éste agente infeccioso de alta prevalencia en Ecuador. Para obtener estos resultados, nos apoyamos en análisis cuantitativos de niveles de expresión génica y en herramientas avanzadas de bioinformática y biología de sistemas para el desarrollo de la investigación. Además, esta pasantía permitió que la suscrita se instruyera en el análisis de datos obtenidos con tecnologías de secuenciación de nueva generación (NGS), en el área de metagenómica, los cuales van a ser de gran utilidad para los estudios posteriores que se desarrollaran a lo largo del proyecto del SENESCYT mencionado previamente. Como resultado de las actividades que se lograrán desarrollar en esta estancia se elaborarán dos artículos de peer review: (a) anuncio de los metagenomas obtenidos y b) evaluación de factores de virulencia y patogenicidad en Vibrios que presentan plásmido patogénico y cómo se desarrolla la enfermedad por la interacción de las comunidades bacterianas. Las publicaciones se realizarán en forma conjunta entre CENAIM y el Laboratorio de Biología Computacional de la Universidad de los Andes. La experticia que se adquirió en el uso de herramientas bioinformáticas permitirá instaurar e

implementar el uso de todos los softwares necesarios para los análisis de datos ómicos en el servidor de alto rendimiento que se adquirió en el marco del proyecto SENESCYT para el desarrollo de los mismos.

**ANEXO 1. Registro parte práctica de módulo:  
“Introducción al diseño, desarrollo e  
implementación de PCR en tiempo real o PCR  
cuantitativa (qPCR)”**







**ANEXO 2. Certificado entrenamiento:  
“Bioinformática avanzada aplicada al análisis  
de datos de PCR en tiempo real (qPCR) y  
metagenomas”.**

Bogotá, Diciembre 28 de 2016

**A QUIEN PUEDA INTERESAR**

Por medio de la presente me permito certificar que la investigadora Leda Carolina Restrepo Cardona, identificada con número de pasaporte AP911141 emitido en la ciudad de Bogotá, cumplió a cabalidad el programa de entrenamiento avanzado en bioinformática, aplicado a análisis de datos de PCR en tiempo real y metagenomas, llevado a cabo del 05 de Diciembre al 28 de Diciembre de 2016 en las instalaciones de la Universidad de los Andes, en Bogotá-Colombia.

Atentamente,



**Alejandro Reyes Muñoz, PhD**  
Profesor Asistente  
Director BCEM ([bcm.uniandes.edu.co](http://bcm.uniandes.edu.co))  
Departamento de Ciencias Biológicas  
Universidad de los Andes  
Bogotá, Colombia  
Carrera 1 #18A-12, Of. A307  
Tel: +57 1 3394949 Ext. 2763

Departamento de Ciencias Biológicas - Cra. 1 N° 18A-10, Bloque A, Bogotá - Colombia  
Tel: +(57.1)3394949/99 Ext: 2761

## Aprobación del informe

*Bonny Bayot*

---

Bonny Bayot A. PhD.  
Directora del Proyecto