



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Crecimiento y competencia de bacterias usando MBA

Proyecto I

Frida Michelle Vargas Bautista



1. Introducción

En el cuerpo humano existen microorganismos con diferentes acciones e interacciones. En este trabajo nos vamos a enfocar en interacciones entre dos poblaciones de bacterias que usualmente se encuentran en el cuerpo humano: *Escherichia coli* y *Lactobacillus Acidophilus*.

1.1. *Escherichia coli*

La bacteria *E. coli* generalmente se encuentra en el tracto digestivo del cuerpo humano y de otros animales. La mayoría de las cepas de *E. coli* son inofensivas, sin embargo, existen algunas variedades patógenicas que causan vómitos, enfermedades gastrointestinales e incluso pueden propagarse a la uretra y causar infecciones urinarias, (Better Health Channel, 2024). Una de las variedades patógenicas más conocidas es O157:H7, que puede causar cólicos abdominales intensos, diarrea con sangre y vómitos, (Organización Mundial de la Salud, 2018).

Esta bacteria puede consumir glucosa o lactosa, teniendo mayor afinidad a la glucosa. Al consumir lactosa, la fermenta y produce gas (dióxido de carbono) y ácido lo que acidifica su medio y crea condiciones subóptimas para su supervivencia, (Yust y Smyth, 2020). Las cepas patógenicas de *E. coli* O157:H7 son capaces de sobrevivir en ambientes moderadamente ácidos, (con pH entre 3 - 4.5), (Marques, Worcman-Barninka, Lannes, y Landgraf, 2001). Otros estudios han mostrado la habilidad de *E. coli* O157:H7 de sobrevivir de 2 a 5 horas en un pH de 3.0, (Arnold y Kaspar, 1995), (Benjamin y Datta, 1985), citado por (Marques y cols., 2001).

Cabe mencionar que estudios más recientes han mostrado que *E. coli* O157:H7 puede sobrevivir y reproducirse a pH mucho más bajos, (Xu, Tong, y cols, 2020), (Marques y cols., 2001).

1.2. *Lactobacillus Acidophilus*

La bacteria *L. Acidophilus* se puede encontrar en el tracto digestivo de adultos e incluso de bebés alimentados con leche en fórmula, (MedlinePlus, 2024).

Esta bacteria crea ácido láctico al descomponer carbohidratos; generalmente lo hace al descomponer el azúcar presente en la leche (*lactosa*). De hecho son responsables, junto con otros lactobacilos, de hacer agria la leche, (Quispe, 2023).

Se usa esta bacteria como medicamento para tratar la diarrea causada por antibióticos, (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, 2010). Se usa comunmente para el síndrome del intestino irritable, el crecimiento excesivo de bacterias en la vagina y una infección causada por la bacteria *Helicobacter pylori*, (MedlinePlus, 2024).

Además en el trabajo de (Halder, Mandal, Chatterjee, Pal, y Mandal, 2017) se exploró su actividad antibacterial contra bacterias patógenicas, incluyendo una cepa de *E. coli*.

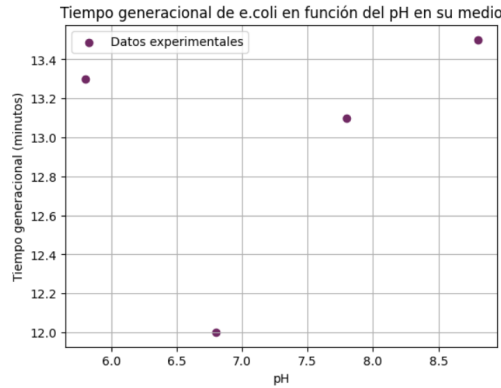
1.3. Tiempo generacional

Las bacterias se reproducen de manera asexual por un proceso llamado *fisión binaria*. Usualmente al reproducirse, la bacteria se divide en dos células hijas idénticas que contienen el mismo material genético que la original, (Yust y Smyth, 2020).

El tiempo en que las bacterias tardan en reproducirse, llamado *tiempo generacional*, varía en torno a la cepa de la bacteria y a las condiciones ambientales, (temperatura, pH del medio y de la disponibilidad de nutrientes). Por ejemplo, en un laboratorio, el *E. coli* al ser cultivado en un ambiente rico de nutrientes puede llegar a dividirse cada 15 minutos, mientras que en el intestino humano se reproduce cada 12 a 24 horas, (Yust y Smyth, 2020).

Presentamos los resultados de (Lestari, Prasetyowati,

y Mirawati, 2023) donde se obtuvo de manera experimental, el tiempo generacional promedio del *E. coli* como función del pH del medio cerrado.



Por otra parte, en el trabajo de (Barnes-Svarney y Svarney, 2014) dice que la bacteria *L. acidophilus* puede reproducirse en rangos de pH de 4 - 6.8 y su óptimo tiempo generacional es en el rango de 5.8 a 6.6 de pH a una temperatura de 37° C, alcanzando 66 minutos.

2. Pregunta de investigación

Habiendo explorado los atributos de ambas bacterias de interés, y mostrando que ambas pueden interactuar en el tubo digestivo de manera natural, la pregunta que motiva este trabajo es:

Competencia entre dos cepas de bacterias

¿Cómo se comportan las poblaciones de *E. coli* y *L. acidophilus* en un medio cerrado con recursos limitados (lactosa inicial) ?

3. Objetivos

Los objetivos de este trabajo son los siguientes:

- Crear funciones continuas de tiempo generacional variando el pH, para ambas bacterias.
- Simular muerte por acidificación de *E. coli*
- Explorar diferentes curvas de crecimiento de las poblaciones dadas diferentes condiciones iniciales.

4. Descripción del modelo

4.1. Agentes y sus atributos

Vamos a distinguir dos tipos de agentes: las bacterias de *E. coli* y las de *L. acidophilus*. Ambas tendrán los atributos: **Tiempo generacional**, **Contador de tiempo interno**, **Energía disponible**. Sus funciones son las siguientes:

1. **Tiempo generacional:** El tiempo en minutos que tarda una bacteria en dividirse (tiempo generacional) como función del pH del *patch* en el que se encuentra el agente.
2. **Contador de tiempo interno:** Cuántos minutos (representado por *ticks*) lleva la bacteria sin reproducirse.
3. **Energía disponible**
4. Con cuánta energía cuenta la bacteria en el momento actual; de ser la adecuada podrá hacer su fisión binaria cuando el tiempo generacional lo indique.

Además de esto, después de consumir lactosa, las bacterias acidifican el *patch* en el que se encuentran a diferentes tasas, dependiendo de la especie de agente que sea. Haciendo una conversión de los datos presentados por (Yust y Smyth, 2020) se tiene que los lactobacilos disminuyen 0.0025 pH de su *patch* por minuto. Mientras que el *e. coli* disminuye el 0.00017 del pH de su *patch* por minuto.

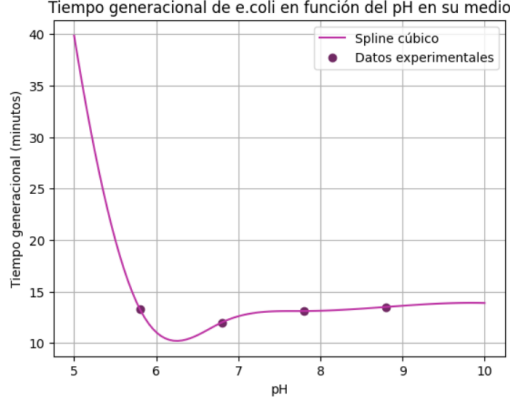
4.2. Tiempo generacional estimado en función del pH

4.2.1. Spline para tiempo generacional de *e. coli*

Usamos los datos de (Lestari y cols., 2023) y creamos un spline cúbico con *scipy.interpolate* de *python* para encontrar los coeficientes de los polinomios de tercer grado que constituyen al spline. Esto con el fin de representar el tiempo generacional como una función continua del pH. Sin embargo, encontramos que en este spline creado los tiempos disminuían hasta cero cuando el pH era cercano a dos, lo cual no representa la realidad de esta bacteria. Por lo que agregamos el punto (2, 300) para representar el aumento de tiempo generacional en ambientes más ácidos, reportado en la literatura. A partir de los arreglos obtenidos en *python* para estos datos se obtuvo que las ecuaciones del spline son las siguientes:

$$f(x) \begin{cases} 2.07 \cdot (x - 2)^3 - 105.35 \cdot (x - 2) + 300 & \text{si } 2.0 < x \leq 5.8 \\ -9.283 \cdot (x - 5.8)^3 + 23.612 \cdot (x - 5.8)^2 - 15.62 \cdot (x - 5.8) + 13.3 & \text{si } 5.8 < x \leq 6.8 \\ 1.59 \cdot (x - 6.8)^3 - 4.236 \cdot (x - 6.8)^2 + 3.74 \cdot (x - 6.8) + 12 & \text{si } 6.8 < x \leq 7.8 \\ -0.178 \cdot (x - 7.8)^3 + 0.53 \cdot (x - 7.8)^2 + 0.04 \cdot (x - 7.8) + 13.1 & \text{si } 7.8 < x \end{cases}$$

Resultando en la siguiente gráfica:



4.2.2. Función para tiempo generacional de *L. acidophilus*

Al no encontrarse información experimental del tiempo generacional de *L. acidophilus* variando su pH, pero teniendo que su mejor tiempo es 66 minutos en el intervalo de pH 5.8 - 6.6 podemos pensar en modelarlo como una parábola con vértice en (6.2,66) y que pase por los puntos (5.8, 67) y (6.6,67). La ecuación de esta curva es:

$$y = 6.25(x - 6.2)^2 + 66$$

Por supuesto esta aproximación no reemplaza datos experimentales pero nos puede ayudar a reflejar el comportamiento de esta bacteria acidoláctica variando el pH.

4.3. Diseño del modelo

En este modelo nos interesa solamente la interacción entre estas dos bacterias, sin ningún tipo de influencia externa, por lo que vamos a considerar al mundo un co-cultivo cerrado con leche como fuente de recurso. La leche tiene un pH de 6.5 y en cada patch existe una cantidad finita de lactosa establecida de inicio por el usuario. Observemos que bajo este pH es mucho menor el tiempo generacional de las bacterias de *E. coli* que de los lactobacilos, sin embargo, siempre vamos a considerar que al menos existe una bacteria lactoácida en el ambiente; capaz de fermentar lactosa, desechar ácido láctico a su medio y que este ácido láctico pueda

intoxicar a las bacterias de *E. coli* después de cierta concentración.

En el modelo vamos a representar a las bacterias de *E. coli* como cruces rojas y a los lactobacilos como círculos verdes, haciendo alusión a sus propiedades probióticas.

4.3.1. Procedimiento GO para bacterias de *L. acidophilus*

En este mundo considerado, las bacterias de *L. acidophilus* en cada tick actualizan su valor de tiempo generacional dependiendo del pH de su patch, luego aumentan su contador de tiempo interno, después consumen lactosa, aumentando su energía y acidificando el patch en el que se encuentra. Finalmente consulta su tiempo generacional, si el tiempo en su contador es mayor o igual al del tiempo generacional y si tiene la suficiente energía se reproduce en un patch vecino vacío (cada célula hija hereda la mitad de la energía de la original y se reinicia su contador a cero); si no hay un patch vecino vacío no se reproduce.

4.3.2. Procedimiento GO para bacterias de *E. coli*

todos los pasos que el procedimiento para *L. acidophilus* y tiene uno adicional: muerte por acidificación, donde cada bacteria checa la acidez del patch en el que está. Si el patch tiene pH mayor o igual a 4.5 la célula sobrevive sin problemas para la siguiente generación; si el patch tiene acidez de entre 3-4.5 su supervivencia se calcula con cierta probabilidad, donde mientras el pH sea más cercano a 3 menores son sus probabilidades de sobrevivir. Ya con valores de pH por debajo de 3 la célula muere.

La probabilidad de supervivencia en el intervalo de 3 - 4.5 pH lo modelamos con una recta que pasa por los puntos (3,0) y (4.5,1), por lo que decrece linealmente; si el pH es menor a 3 esta probabilidad es cero y pH mayor a 4.5 su proba de supervivencia es 1. Este comportamiento se condensa en la siguiente ecuación:

$$p = \begin{cases} 0 & \text{si } pH \leq 3 \\ \frac{2}{3} pH - 2 & \text{si } 3 \leq pH \leq 4.5 \\ 1 & \text{si } 4.5 \leq pH \end{cases}$$

4.3.3. Distribución de acidez en patches

Para hacer el modelo más realista, los patches que tienen mucha acidez (tienen un pH de a lo más 4.5) disminuyen el pH de sus patches vecinos (le restan 0.001 del suyo a cada uno de ellos), haciendo que sus vecinos se acidifiquen y su pH aumente, pues se hizo menos ácido al compartirle a sus vecinos.

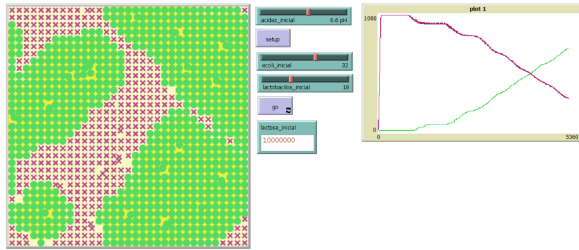
Así cubrimos toda la sección referente a la construcción del modelo y procedemos a explorarlo.

5. Exploración y análisis

5.1. Lactosa como recurso limitante

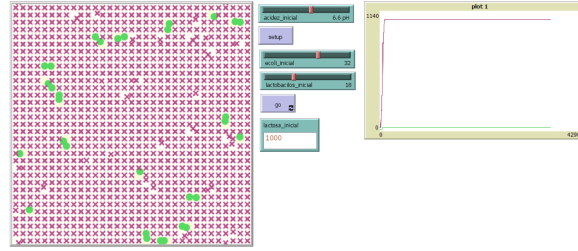
Realizamos muchas pruebas variando la cantidad de lactosa inicial, dando como resultado diferentes curvas poblacionales para ambas bacterias. En todas las simulaciones, al inicio, las bacterias de *E. coli* poblaron casi todo el mundo pues su tiempo generacional es mucho menor que el de los lactobacilos en este ambiente. Por lo que su curva de crecimiento es muy elevada en los primeros instantes; sin embargo, las cosas cambian después de algunos ticks cuando se establecen diferentes cantidades de lactosa inicial.

Cuando en cada patch hay 1,000,000 de unidades de lactosa, después de un tiempo se empieza a ver cómo la población de *E. coli* va decreciendo pues algunas se intoxican por el ácido producido por los lactobacilos aledaños, y a la larga estos lactobacilos empiezan a ocupar el lugar de las de *E. coli*. Por lo que la curva poblacional de *L. acidophilus* va en aumento mientras que la de *E. coli* decrece hasta cero, 5.1.



Curva poblacional de *L. acidophilus* va en aumento mientras que la de *E. coli* decrece hasta cero cuando la lactosa inicial es 1,000,000.

Otro panorama que se exploró fue cuando por patch había 1,000 unidades de lactosa, y aquí se observó que primero se acabó la lactosa antes de que *L. acidophilus* pudiera generar el ácido suficiente para intoxicar a las células de *E. coli* vecinas. Por ende la población de *E. coli* permaneció dominante, 5.1.

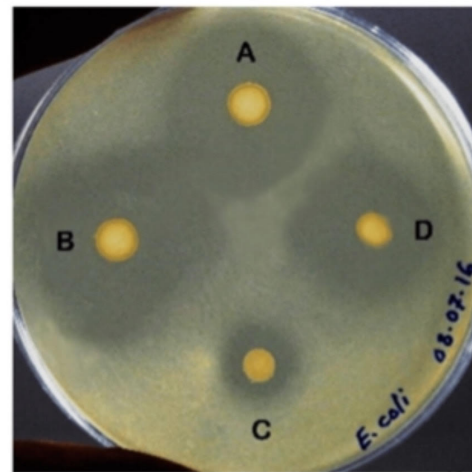


Coexistencia de ambas poblaciones cuando la lactosa inicial es de 1,000 unidades.

Las cantidades de lactosa que se investigaron difieren mucho entre sí, y sólo vimos dos escenarios: donde una se extingue y el otro donde conviven de manera estable. Sin embargo, se puede usar *behavioral.space* de *Netlogo* para explorar diferentes desenlaces al variar la cantidad de lactosa inicial, e incluso, ver en qué momento pasa de un desenlace a otro.

5.2. Validación del modelo

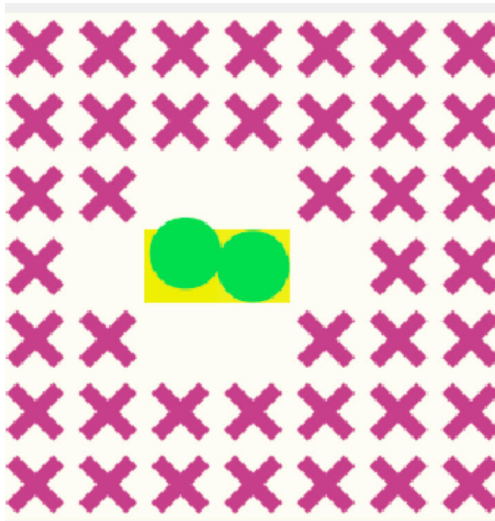
Presentamos un resultado obtenido por (Halder y cols., 2017) donde se hizo un co-cultivo en agar de diferentes bacterias patógenas junto con algunas cepas de lactobacilos. Mostrando una zona de inhibición de crecimiento de las bacterias patógenas alrededor de las cepas de lactobacilos, (imagen 5.2). Esta es la imagen obtenida con la bacteria de *E. coli* y en el lugar de la letra *C* se cultivó *L. acidophilus*.



E. coli

Imagen recuperada de (Halder y cols., 2017) mostrando zona de inhibición de *E. coli* generada frente diferentes lactobacilos; **c** corresponde a *L. acidophilus*.

Y esta es una imagen obtenida del modelo:



Muerte de *E. coli* por acidificación, recreada por el modelo.

Este otro estudio de (Ifeoma y Jennifer, 2016) se hizo un co-cultivo de *E. coli* y *L. acidophilus* y se analizaron el tamaño de las poblaciones durante 6 días (a: primer día, a: tercer día, c: sexto día), (imagen 5.2). Observaron la presencia numerosa de círculos pequeños (las bacterias de *E. coli*) en los primeros días, pero en el último día (c) en su mayoría sólo se observaron células más alargadas, los lactobacilos.

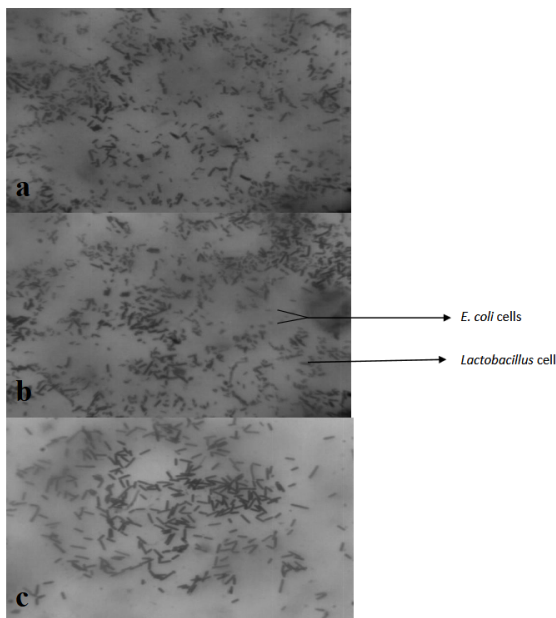
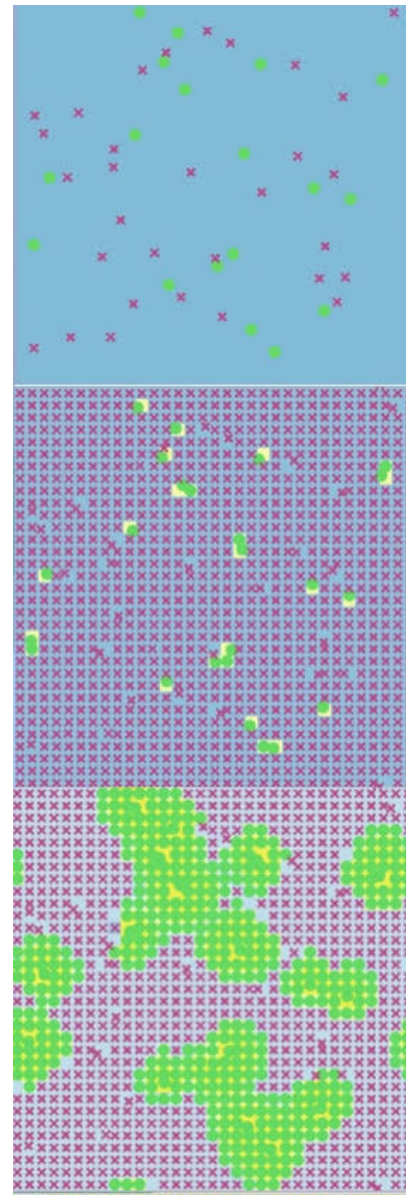


Figure 2. Microscopic images of co-culture of *L. acidophilus* and *E. coli* on coverslip; a, Day 1; b, Day 3; c, Day 6. Note the presence of a mixture of short rods of *E. coli* and large rods of *Lactobacillus* in panels a and b, and the presence of predominantly large rods of *Lactobacillus* in panel c.

Resultados de (Ifeoma y Jennifer, 2016) presentando co-cultivo de *E. coli* y *L. acidophilus*

Que son resultados similares obtenidos a los del modelo

creado, 5.2:



Resultados de simulación de co-cultivo de *E. coli* y *L. acidophilus*

6. Conclusiones y perspectivas

El modelo pudo producir imágenes similares a aquellas encontradas de manera experimental aún cuando muchos funciones usadas fueran aproximaciones a hallazgos de laboratorio. Esto podría ayudar a solidificar la evidencia de cómo algunos probióticos pueden ayudar a tratar enfermedades gastrointestinales.

Posibles trabajos futuros podrían ser encontrar más valores y más precisos de estas dos bacterias respecto

a su tiempo generacional variando el pH, a una temperatura constante de 37° C y nutrientes suficientes; usando cepas más nuevas de estas bacterias. También encontrar de manera experimental con que probabilidad mueren las bacterias de *e. Coli* en pH muy bajos y así determinar que curva o distribución de probabili-

dad puede ajustarlos mejor. Aquí tampoco se consideró muerte natural de ninguna de las dos bacterias pues la simulación representa un minuto cada tick, no obstante, de querer ver tiempos mayores se podría considerar este parámetro.

Referencias

- Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. (2010, noviembre). *Ficha técnica de lacteol*. Descargado de https://cima.aemps.es/cima/pdfs/ft/65791/FT_65791.pdf
- Arnold, K., y Kaspar, C. (1995). Starvation- and stationary-phase-induced acid tolerance in *Escherichia coli* O157:H7. *Applied and Environmental Microbiology*. Descargado de <https://doi.org/10.1128/aem.61.5.2037-2039.1995>
- Barnes-Svarney, P., y Svarney, T. E. (2014). *The handy biology answer book* (2.^a ed.). Ann Arbor, Michigan: Visible Ink Press.
- Benjamin, M., y Datta, R. (1985). Acid tolerance of enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*. Descargado de <https://doi.org/10.1128/aem.61.4.1669-1672.1995>
- Better Health Channel. (2024, diciembre). *Infecciones del tracto urinario (ITU)*. Descargado de <https://www.betterhealth.vic.gov.au/health/conditionsandtreatments/urinary-tract-infections-uti>
- Halder, D., Mandal, M., Chatterjee, S., Pal, N., y Mandal, S. (2017). Indigenous probiotic *Lactobacillus* isolates presenting antibiotic like activity against human pathogenic bacteria. *Biomedicines*. Descargado de <https://doi.org/10.3390/biomedicines5020031>
- Ifeoma, M. E., y Jennifer, U. K. (2016). Inhibition of biofilms on urinary catheters using immobilized *Lactobacillus* cells. *African Journal of Microbiology Research*, 10(25), 920–929.
- Lestari, D., Prasetyowati, I., y Mirawati, M. (2023). The generation time of *Escherichia coli* bacteria based on variation in eosin methylene blue agar media pH. *Jurnal Profesi Medika : Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan*, 17(2), 167–173. doi: 10.33533/jpm.v17i2.6405
- Marques, P., Worcman-Barninka, D., Lannes, S., y Landgraf, M. (2001). Acid tolerance and survival of *Escherichia coli* O157:H7 inoculated in fruit pulps stored under refrigeration. *Journal of Food Protection*, 64(11), 1674–1678. doi: <https://doi.org/10.4315/0362-028X-64.11.1674>
- MedlinePlus. (2024, diciembre). *Lactobacillus acidophilus*. Descargado de <https://medlineplus.gov/spanish/druginfo/natural/790.html>
- Organización Mundial de la Salud. (2018, febrero). *E. coli*. Descargado de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>
- Quispe, L. P. (2023). *Implicancias de las habilidades sociales en la convivencia escolar de los estudiantes de 4to grado de educación secundaria de la I.E.P. "Francisco Bolognesi, Ayacucho - 2022* (Tesis de Master, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga). Descargado de <https://repositorio.unsch.edu.pe/server/api/core/bitstreams/2d99a2b2-57a6-4f9c-826d-659eae3fb08/content> (Consultado el 6 de diciembre de 2024)
- Xu, Y., Tong, Z., y cols. (2020). An acid-tolerance response system protecting exponentially growing *Escherichia coli*. *Nat Commun*. Descargado de <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15350-5>
- Yust, A. E., y Smyth, D. S. (2020). Simulating bacterial growth, competition, and resistance with agent-based models and laboratory experiments. En H. Callender Highlander, A. Capaldi, y C. Diaz Eaton (Eds.), *An introduction to undergraduate research in computational and mathematical biology: From birdsongs to viscosities* (pp. 217–271). Cham: Springer International Publishing. doi: 10.1007/978-3-030-33645-5_5