Modelado matemático de adquisición de resistencia bacteriana vía plasmídica de una población de *Salmonella entérica* sensible en presencia de *Escherichia coli* resistente

María A. Mármol-Martínez, Deisy L. Guerrero-Ceballos, Edith M. Burbano-Rosero y Eduardo Ibargüen-Mondragón*
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Grupo de Investigación GIBIMMA, Universidad de Nariño, Pasto, Colombia.
(correo-e: mariaalejandramarmolmartinez@gmail.co; daisymartinez-18@hotmail.com; marielaburbano@gmail.com; edbargun@udenar.edu.co)

*Autor a quien debe ser dirigida la correspondencia

Recibido Mar. 9, 2021; Aceptado May. 11, 2021; Versión final Jun. 22, 2021, Publicado Oct. 2021

Resumen

El presente estudio tiene como objetivo modelar el proceso de transformación vía plásmidos de una población de *Salmonella entérica* sensible confrontada con *Escherichia coli* resistente en presencia de antibióticos. Para validar el modelo matemático se utilizaron datos experimentales obtenidos de cultivos realizados *in vitro*. Se formularon dos modelos matemáticos: 1) previo y 2) posterior a la transformación vía plasmídica. Los parámetros se estimaron usando el método de algoritmo genético. Se realizaron simulaciones numéricas ajustadas a los datos para predecir la dinámica poblacional entre las dos cepas bacterianas. Los resultados obtenidos a partir del modelado matemático revelan que la tasa de transformación vía plasmídica juega un papel fundamental en la resistencia antibiótica mediada por plásmidos. Se concluye que el método de estimación de parámetros permitió aproximar las tasas de crecimiento poblacional, las tasas de eliminación por efecto del antibiótico y las tasas de degradación de sustratos, lo cual contribuye en el entendimiento de la resistencia mediada por plásmidos.

Palabras clave: plásmidos; resistencia bacteriana; modelado matemático; estimación; parámetros; *Salmonella entérica*

Mathematical modeling of plasmid bacterial resistance acquisition by sensitive *Salmonella enteric* in the presence of resistant *Escherichia coli*

Abstract

This research study aims to model the transformation process via plasmids of a population of antibiotic sensitive *Salmonella enteric* and antibiotic resistant *Escherichia coli*. The mathematical model is validated with experimental data obtained *in vitro*. Two mathematical models are formulated: 1) before and 2) after transformation via plasmids. The parameters for the model were estimated by using the genetic algorithm method. This allowed performing numerical simulations adjusted to the data to predict population dynamics for the two bacterial strains. The results obtained with the mathematical models revealed that plasmid transformation rate played a fundamental role in plasmid-mediated antibiotic resistance. It is concluded that the method used for parameter estimations allowed to accurately approximate population growth rates, elimination rates caused by antibiotics, and substrate degradation rates, which contributed to improving the understanding of plasmid-mediated antibiotic resistance.

Keywords: plasmids; bacterial resistance; mathematical modeling; parameter estimation; *Salmonella enteric*

INTRODUCCIÓN

El uso excesivo e inadecuado de antibióticos ha propiciado la aparición de resistencia bacteriana en microorganismos tales como: *Klebsiella*, *Escherichia coli*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Staphylococcus aureus*, entre otros. En este sentido, la resistencia antimicrobiana ha sido declarada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como una de las diez principales amenazas a la salud pública mundial. Estos microorganismos han desarrollado eficientes mecanismos de resistencia, generando una disminución de la eficacia de los tratamientos habituales y por lo tanto un aumento en la frecuencia de enfermedades infecciosas de difícil tratamiento. Al respecto, se ha determinado que existen bacterias naturalmente resistentes a determinados antibióticos, mientras que otras adquieren resistencia mediante mutaciones en sus genes tras la exposición a estos; esta resistencia natural o adquirida, puede propagarse a otras especies bacterianas, puesto que las bacterias intercambian fácilmente material genético entre ellas, incluso entre especies diferentes (Lopatkin et al., 2016).

Entre las bases genéticas de adquisición de resistencia se encuentran, la mutación en un gen cromosómico, transposones, integrones y principalmente plásmidos de resistencia, los cuales son capaces de conferir a las bacterias que los adquieren resistencia a múltiples antibióticos simultáneamente, además tienen la capacidad de transferirse epidémicamente de modo horizontal y están constituidos por módulos móviles llamados transposones, de modo que tienen flexibilidad para adquirir nuevos factores asociados a su virulencia a partir de otras especies (Orlek et al., 2017).

Con respecto a lo anterior, se ha reportado que una de las bacterias con mayor impacto epidemiológico es *Escherichia coli* (*E. coli*), ya que presentan diferentes mecanismos de multirresistencia, y es causa frecuente de diferentes infecciones como las del tracto urinario, diarreas, bacteriemias, meningitis neonatal y neumonías. Este tipo de bacterias son difíciles de tratar con los antibióticos existentes, generando complicaciones posteriores, debido a que el paciente infectado posiblemente requiere de cuidados adicionales o antibióticos alternativos más costosos, propiciando un aumento en la tasa de mortalidad y morbilidad, así como un incremento en el coste sanitario (Schuurmans, 2014).

En este sentido, se han desarrollado investigaciones a nivel biológico y matemático enfocadas en determinar la frecuencia de bacterias de alto impacto a nivel epidemiológico, los principales mecanismos de adquisición de resistencia y generación de estrategias que logren incidir en la progresión de estas; la mayoría de estudios matemáticos se enfocan principalmente en evaluar a nivel teórico la dinámica en los procesos de transferencia de genes de resistencia principalmente a nivel plasmídico, ya que ha sido considerado como una de las plataformas importantes para la movilización de estos genes. No obstante, es necesario generar modelos matemáticos que se ajusten a datos experimentales, con el fin de obtener una aproximación más cercana al fenómeno biológico de transferencia genética.

Teniendo en cuenta la importancia de este problema los modelos matemáticos representan una herramienta que permite conocer, entender y predecir aspectos específicos en relación a la adquisición de resistencia bacteriana de manera vertical u horizontal. En cuanto a la transferencia e incorporación de plásmidos los modelos formulados son predominantemente determinísticos, generalmente, aplicando "ley de acción de masas". La formulación de modelos matemáticos que describen la adquisición de resistencia bacteriana vía plasmídica, tanto *in vivo* como *in vitro*; han permitido fijar objetivos en relación a la predicción del número de copias del plásmido replicadas por unidad de tiempo (Ataai y Shulert, 1986), también se han enfocado estudios al control de dicha transmisión reduciendo así la propagación de resistencia bacteriana en poblaciones, específicamente modificando la tasa de transferencias de los mismos (Volkova et al., 2013). Modelos matemáticos apoyados de simulaciones numéricas sirvieron para analizar la respuesta de poblaciones bacterianas con respecto a la transferencia de plásmidos, suministrando antibióticos específicos (cefalosporina) durante un periodo de tiempo (Volkova et al., 2012).

Ante el panorama expuesto, en el presente trabajo se formulan y analizan dos modelos matemáticos que describen el proceso de transformación vía plasmídica de una población de *S. entérica* sensible a antibióticos cuando esta se encuentra en presencia de una población de *E. coli* resistente a múltiples antibióticos (tales como: penicilina, trimetoprim - sulfametoxazol, aztreonam y ciprofloxacina) con el objetivo de validar los mismos con datos obtenidos experimentalmente. Para ello y teniendo en cuenta los perfiles plasmídicos y genes de resistencia, se inocularon de manera conjunta una población bacteriana sensible y una población bacteriana resistente. Posteriormente, se determinó la cantidad de bacterias que adquirieron resistencia vía plasmídica. Finalmente, las simulaciones realizadas predicen escenarios que podrían contribuir en la implementación de estrategias de vigilancia que incidan en la dinámica de crecimiento de bacterias resistentes.

METODOLOGÍA

La formulación del modelo de transformación requirió de etapas separadas en la investigación, las cuales se complementan para validar los resultados obtenidos. La primera etapa se centra en la obtención de datos experimentales del proceso de transformación vía plasmídica. En la etapa posterior se formularon dos modelos matemáticos que describen el proceso de transformación mediada por plásmidos de una población de *Salmonella Entérica* (*S. Entérica*) en presencia de *E. coli* multirresistente y antibiótico.

Transformación vía plasmídica

Para analizar el proceso de transformación vía plasmídica, se trabajó con las poblaciones sensibles y resistentes mencionadas anteriormente. Posteriormente, se realizó la confrontación de la población bacteriana sensible, frente a la resistente portadora del gen de resistencia a trimetopim- sulfametoxazol (SXT); para esto se emplearon inóculos de aproximadamente 10^8 bacterias sobre mililitro respecto al estándar de la escala Mc Farland, las dos poblaciones fueron inoculadas (proporción 1:1, es decir, igual cantidad de ambos microorganismos) en caldo Luria Bertani (L.B.) suplementado con 0.2 mg/mL de SXT, como controles se tuvo en cuenta el recuento de poblaciones bacterianas resistentes y sensibles por separado con la presencia del antibiótico.

Finalmente, para determinar el número de bacterias que adquirieron los mecanismos de resistencia (bacterias transformadas), se empleó la técnica *spread plate*, empleando 10 μ L de dos diluciones seriadas (10^{-3} y 10^{-5}) del inóculo final, los cuales se sembraron en cajas Petri con agar *Chromocult*. Las cajas se incubaron a 37 °C por 12 h; transcurrido este tiempo se realizó el recuento de colonias. Todo el proceso se llevó a cabo durante 40 horas a intervalos de 4 horas (se realizaron 10 recuentos en total), teniendo en cuenta tres replicas biológicas y dos técnicas. Para reportar el valor final de las unidades formadoras de colonias por mL (UFC/mL) y la frecuencia de transformación (FT), se emplearon las ecuaciones 1 y 2 (Bravo, 2009):

$$\text{UFC/mL} = \frac{\text{Colonias en placa} \times \text{factor de dilución}}{10 \mu\text{L (factor de siembra)}} \quad (1)$$

$$\text{FT} = \frac{\text{UFC Transformantes}}{\text{UFC células donadoras al momento de la transformación}} \quad (2)$$

Finalmente, se evaluó la transferencia de plásmidos, mediante extracción de DNA plasmídico, utilizando el kit comercial PureYield™ Plasmid Miniprep System (Promega) de la colonia transformada y de cada uno de los tratamientos al finalizar el experimento. Para verificar la integridad del DNA plasmídico se prepararon geles de agarosa a 1.2%, como marcador de tamaño molecular se utilizó 1 kb (Promega), las condiciones de corrida fueron 80 V por 90 minutos. El gel fue visualizado en un sistema de fotodocumentación Smart Doc Imaging Enclosure Bench Marck Accuris E300 UV a una longitud de onda de 302 nm.

Formulación de un modelo matemático para transformación

A partir de los resultados experimentales y con los fundamentos biológicos referentes a la dinámica de transformación vía plasmídica establecidos en la fase anterior, se determinaron los factores más importantes que intervienen tanto en la cinética de crecimiento como en el proceso de transformación de las poblaciones bacterianas. Lo anterior permitió identificar los parámetros y variables necesarios para realizar el modelamiento matemático. Las principales variables matemáticas para la transformación fueron las poblaciones de bacterias *S. entérica* sensible y *E. coli* resistente, sustrato Luria Bertani (L.B.), antibiótico SXT y número de copias del plásmido de resistencia (Ibargüen-Mondragón, et al., 2014). Los parámetros matemáticos para la transformación son: tasa de crecimiento de las bacterias, parámetros de ajuste, tasas de muerte natural, tasa de eliminación bacteriana por acción del antibiótico, tasa de transformación vía plasmídica, tasa de degradación de antibiótico, tasa de replicación del plásmido, tasa de degradación del plásmido, número de copias promedio del plásmido y tasa de degradación de sustrato. El proceso de adquisición de resistencia se describe mediante la formulación de dos modelos matemáticos definidos por medio de sistemas de ecuaciones diferenciales ordinarias. El primero de ellos (ecuaciones 3-7), representa la dinámica antes del proceso de transformación, y el segundo describe la dinámica posterior al proceso (ecuaciones 8-12).

El primer modelo matemático describe la dinámica de competencia de *S. entérica* sensible y *E. coli* resistente durante las primeras 32 horas de observación, tiempo en el cual no se evidenció adquisición de resistencia. Dado que en las primeras 32 horas no hubo transformación vía plasmídica, las poblaciones bacterianas

consideradas en el primer modelo son *E. Coli* resistente y *S. Entérica* sensible, denotadas por E_r y S_s , respectivamente. La cantidad de plásmidos de resistencia que se reproducen en las bacterias resistentes se denota por P . La concentración de nutrientes del medio Luria Bertani se denota por S , y la concentración del antibiótico trimetopim- sulfametoxazol (SXT) se denota por A .

En general las curvas de crecimiento de las bacterias siguen un crecimiento logístico (Azario et al., 2010). En este caso se asume que las poblaciones de *E. coli* resistente y *S. entérica* sensible presentan un crecimiento logístico con tasas de crecimiento k_E y k_S , y capacidad de carga variable S . Teniendo en cuenta que la capacidad de carga es variable, se hace necesario para calibrar las unidades del cociente entre las bacterias y el medio, para ello se definió el parámetro de ajuste α_1 . *E. coli* y *S. entérica* tienen tasas de muerte natural per cápita dadas por μ_E y μ_S , respectivamente. Debido a la sensibilidad a los antibióticos presentada por *S. entérica* se denotó β como la tasa de muerte por acción del antibiótico, γ_1 corresponde a la tasa de transformación de *S. entérica*, n_1 es la tasa de replicación del plásmido dentro de la bacteria *E. coli, δ , tasa de degradación del plásmido, ϵ_S y ϵ_E son las tasas de consumo de sustrato por *S. entérica* sensible y *E. coli* resistente, de forma correspondiente, y M_1 representa la proporción de nutrientes del sustrato, lo cual implica que $1-M_1$ es la proporción de antibiótico en el sustrato. A partir de lo anterior, el modelo formulado corresponde a las ecuaciones 3-7 las cuales describen la dinámica poblacional antes de la transformación vía plásmidos:*

$$\frac{dE_r}{dt} = k_E E_r \left(1 - \alpha_1 \frac{S_s + E_r}{S} \right) - \mu_E E_r \quad (3)$$

$$\frac{dS_s}{dt} = k_S S_s \left(1 - \alpha_1 \frac{S_s + E_r}{S} \right) - \beta A S_s - \mu_S S_s + \gamma_1 P S_s \quad (4)$$

$$\frac{dP}{dt} = n E_r - \delta P \quad (5)$$

$$\frac{dS}{dt} = -M_1 (\epsilon_S S_s + \epsilon_E E_r) S \quad (6)$$

$$\frac{dA}{dt} = -(1-M_1) (\epsilon_S S_s + \epsilon_E E_r) A. \quad (7)$$

La formulación del segundo modelo corresponde al tiempo de observación posterior a las 32 horas, es decir, una vez se evidenció el proceso de adquisición de resistencia bacteriana, lo cual ocurre una vez la población de *S. entérica* sensible incorporó los plásmidos, emergiendo así una nueva población de *S. entérica* resistente. Por lo mencionado anteriormente se contemplan dos poblaciones *E. coli* resistente, E_r , *S. entérica* resistente, S_r . Los parámetros del segundo modelo son: k_E y k_R , correspondientes a las tasas de crecimiento de *E. coli* resistente y *S. entérica* sensible, respectivamente, α_2 es el parámetro de ajuste, μ_E y μ_S son las tasas de muerte natural de *E. coli* resistente y *S. entérica*, n_2 es la tasa de replicación del plásmido dentro de la bacteria *E. coli*, m es la tasa de replicación del plásmido dentro de la bacteria *S. entérica*, δ , tasa de degradación del plásmido, ϵ_S y ϵ_E son las tasas de consumo de sustrato por *S. entérica* resistente y *E. coli* resistente, de forma correspondiente, y M_2 representa la proporción de nutrientes del sustrato, lo cual implica que $1-M_2$ es la proporción de antibiótico en el sustrato., el modelo formulado corresponde a las ecuaciones 8-12 las cuales describen la dinámica del proceso de transformación desde las 32 hasta las 40 horas:

$$\frac{dE_r}{dt} = k_E E_r \left(1 - \alpha_2 \frac{S_r + E_r}{S} \right) - \mu_E E_r \quad (8)$$

$$\frac{dS_r}{dt} = k_R S_r \left(1 - \alpha_2 \frac{S_r + E_r}{S} \right) + \gamma_2 P S_s - \mu_S S_r \quad (9)$$

$$\frac{dP}{dt} = n_2 E_r + m S_r - \delta P \quad (10)$$

$$\frac{dS}{dt} = -M_2 (\epsilon_S S_r + \epsilon_E E_r) S \quad (11)$$

$$\frac{dA}{dt} = -(1-M_2) (\epsilon_S S_r + \epsilon_E E_r) A. \quad (12)$$

Una vez realizada la formulación del modelo de transformación se procedió a ajustar el mismo a los datos obtenidos a nivel experimental, se ejecutó la simulación numérica con el objetivo de determinar una aproximación de la tasa de transformación vía plásmidos de las condiciones de transferencia establecidas. De los parámetros totales incluidos en el modelo, se fijaron k_S , k_E , μ_S , μ_E , ε_S y ε_E de acuerdo a (Guerrero et al., 2018) quienes obtuvieron los valores correspondientes a dichas tasas (ver tabla 1), mediante la estimación de parámetros de cuatro modelos de crecimiento poblacional de *E. Coli* resistente y *S. entérica* sensible en presencia y ausencia de diferentes antibióticos, esto debido a la similitud de las condiciones de cultivo.

La estimación de parámetros se realizó para los dos modelos por separado, mediante la implementación y programación de un algoritmo genético en el software Matlab versión 2015^a, debido a que trae incorporado diversas opciones de optimización de funciones, la empleada fue gaoptimset dicha opción devuelve una lista de opciones propias del algoritmo, además permite adicionar factores de aleatorios que permiten realizar la búsqueda en un rango amplio de valores. Para la ejecución se estableció la función objetivo, posteriormente se solucionaron cada uno de los sistemas de ecuaciones diferenciales, se acotaron los parámetros a estimar mediante el uso de intervalos programados acorde a la literatura. Se programaron quinientas iteraciones por ejecución y se ajustó técnicamente los intervalos teniendo en cuenta los resultados obtenidos, a fin de minimizar el error (Marmol Martínez et al., 2021). Para correr el algoritmo genético del primer modelo (ecuaciones 3-7) se utilizaron los valores: 10^8 bacterias sobre mililitro, sustrato (100 mg/mL), antibiótico (20 mg/mL) y plásmido (2 copias), como datos de inicio. Los valores iniciales para el modelo posterior a la transformación (ecuaciones 8-12) se obtuvieron de las estimaciones obtenidas en el primer modelo, sustrato (89,45 mg/mL), antibiótico (7,06 mg/mL) y plásmido (17,41 copias).

Tabla 1: Parámetros fijos empleados para la ejecución de las simulaciones numéricas

Parámetro	Nombre	Valor	Unidades
k_E	Tasa de crecimiento de <i>E. coli</i>	0.3500	h^{-1}
k_S	Tasa de crecimiento de <i>S. entérica</i> sensible	0.1100	h^{-1}
μ_E	Tasa de muerte natural de <i>E. coli</i>	0.0140	h^{-1}
μ_S	Tasa de muerte natural de <i>S. entérica</i>	0.0964	h^{-1}
ε_E	Tasa de consumo de medio de población de <i>E. coli</i>	0.0004	UFC h^{-1}
ε_S	Tasa de consumo de medio de población de <i>S. entérica</i>	0.0002	UFC h^{-1}

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Teniendo en cuenta la metodología empleada durante la presente investigación, se presentarán los resultados obtenidos en cada una de las etapas de investigación. La primera de ellas denominada transformación vía plasmídica y la segunda, formulación del modelo de transformación.

Transformación vía plasmídica

Mediante extracción de DNA plasmídico de los tratamientos propuestos se corroboró la transferencia de plásmidos hacia la población de *S. entérica* sensible. La frecuencia de transformación observada en las tres replicas biológicas fue del orden de $7,8 \times 10^{-4}$ (UFC/ml) y $5,2 \times 10^{-3}$ (UFC/ml) a las 32 y 40 h, correspondientemente. Lo anterior permitió validar la formulación de dos modelos (previo y posterior al proceso de transformación vía plasmídica), ya que una vez incorporados los genes de resistencia en la bacteria sensible, la expresión de la resistencia antimicrobiana requiere la verificación en el laboratorio.

Lo mencionado anteriormente puede compararse con el estudio propuesto por (Lyimo et al., 2016) quienes señalaron eficiencias de conjugación para aislados de *E. coli* multirresistente entre 10^{-1} y 10^{-7} ; además establecieron que el plásmido IncA / C era uno de los más frecuentes y generaba resistencia a antibióticos como ampicilina, sulfonamida, tetraciclina y trimetoprim. (Carattoli et al., 2017) realizaron experimentos de transformación entre cepas de *Salmonella* sp. (donadora) y *E. coli* (receptora) empleando un plásmido con resistencia a colistina; en este estudio se determinó que solo algunas cepas eran capaces de transferir el plásmido por conjugación con una frecuencia de 1×10^{-4} .

Sin embargo, en los estudios referenciados el tiempo de transformación fue mucho menor (24 h); esto posiblemente se debe a que existen factores que pueden intervenir en la transferencia de material genético asociado con plásmidos, entre estos se encuentran factores fisiológicos y ambientales que influyen en la expresión de genes de transferencia o mecanismos reguladores que activan o reprimen las vías de transferencia plasmídica, aumentando o disminuyendo la eficiencia de la misma (Frost y Koraimann, 2010).

Simulación numérica: obtención de la tasa de transformación

Por medio de la estimación de parámetros se obtuvo valores aproximados para cada uno de los parámetros establecidos. La tasa de transformación obtenida fue de 0.02, entendida como la población de *S. entérica* sensible que se encuentra en el proceso de adquisición y regulación del plásmido, pero no se expresa la resistencia a nivel fenotípico, una vez alcanzadas las 32 horas se reportó 17.42 copias del plásmido por hora de manera similar en (Ataai y Shulert, 1986) quien encontró una relación lineal en el número de copias de plásmido y al aumento de la población recientemente transformada; la tasa de muerte de *S. entérica* sensible por acción del antibiótico fue de 0.93, lo que indica un alto grado de efectividad del antibiótico respecto a esta población, dicho parámetro concuerda con la proporción del antibiótico en el medio (0.77); También cabe resaltar que la tasa de degradación del plásmido por procesos naturales fue muy pequeña 0.0012, esto se relaciona directamente con la tasa de crecimiento de la población resistente; nombres asignados y unidades se encuentran en la Tabla 2. La estimación de parámetros se realizó con un error relativo de 0.1. (Marmol Martínez et al., 2021; Tomás et al., 2006).

Tabla 2: Estimación de parámetros para ajuste de curvas de transformación hasta las 32 horas

Parámetro	Nombre	Valor	Unidades
α_1	Parámetro de ajuste	13.31	mL/UFC
γ_1	Tasa de transformación	0.0218	1/ (número de copias x hora)
β	Tasa de muerte por acción del antibiótico	0.93	$\text{mg}^{-1} \times \text{h}^{-1}$
n_1	Número de copias del plásmido	17.41	Copias (h x UFC)
δ	Tasa de degradación del plásmido	0.0012	h^{-1}
M_1	Proporción de antibiótico respecto al sustrato	0.77	adimensional
Error estimado: 0.1023			

La primera etapa del proceso de transformación muestra de alguna manera la fase de adaptación de la población sensible (Figura 1), que logra sobreponerse a las condiciones del medio después de un periodo de tiempo de 32 horas; diferentes estudios relacionan que antes de que suceda la transformación bacteriana intervienen diferentes factores como: la comunicación celular, los mecanismos de regulación de transferencia, sistemas que activan o reprimen la formación de pili, condiciones del medio, acoplamiento y regulación del plásmido (Bengtsson Palme et al., 2018; Dimitriu et al., 2015; Frost y Koraimann, 2010).

Fig. 1: Ajuste de curvas mediante el método de algoritmo genético para proceso de transformación hasta las 32 h. Matlab vers. 2015a. Simulación numérica en línea continua azul y datos experimentales en puntos rojos. a) *S. entérica*; b) *E. coli*.

En la segunda etapa del proceso de transformación se evidenció una mayor tasa de crecimiento de *S. entérica* resistente k_R (0.64) respecto a la tasa de crecimiento de *E. coli* resistente (0.35), además se observó una tasa de transformación de 0.86 (Tabla 3) significativamente mayor a la reportada en el primer modelo (0.0218), lo que indica un aumento considerable en la población transformada después de las 32 horas de 4.8 a 5 UFC/ml, (figura 2); por lo tanto, se infiere que a medida que transcurra el tiempo la mayoría de la población de *S. entérica* sensible será transformada en resistente.

Tabla 3: Estimación de parámetros para ajuste de curvas de transformación hasta las 40 horas

Parámetro	Nombre	Valor	Unidades
k_R	Tasa de crecimiento de <i>S. entérica</i> resistente	0.64	h^{-1}
α_2	Parámetro de ajuste	40.14	UFC mL^{-1}
γ_2	Tasa de transformación	0.86	(número de copias x hora) $^{-1}$
μ_R	Tasa de muerte natural de <i>S. entérica</i> resistente	0.00012	h^{-1}
ϵ_R	Tasa de consumo de medio de población de <i>S. entérica</i> resistente	0.77	(UFC h) $^{-1}$
Error estimado: 0.1001

Fig. 2: Ajuste de curvas mediante el método de algoritmo genético para proceso de transformación hasta las 40 h. Matlab vers. 2015a. Simulación numérica en línea continua azul y datos experimentales en puntos rojos. a) *S. entérica*; b) *E. coli*.

Estudios similares fueron propuestos por (Nazarian et al., 2018) quienes evaluaron modelos matemáticos teóricos que describían la dinámica de diferentes mecanismos de transferencia horizontal, entre estos la transformación mediada por plásmidos conjugativos; estos autores concluyeron que la transferencia de un plásmido conjugativo es muy rápida, con una propagación total en menos de 30 días, asumiendo una homogeneidad a nivel espacial, también se determinó que en esta dinámica existen barreras como el mantenimiento y la fijación del gen transferido, sistemas de modificación-restricción e interferencia y presión de selección. De igual manera (Mao y Lu, 2016), desarrollaron un modelo matemático dinámico que describió la transformación natural bacteriana y demostraron que las poblaciones resistentes y sensibles pueden presentar diferentes comportamientos como la extinción, convivencia o bioestabilidad, teniendo en cuenta el coeficiente de selección del medio, ya que según los reportados por (Paterson et al., 2016) en sus modelos matemáticos, un factor importante que ejerce una presión de selección de cepas resistentes e incide en el proceso de transformación, es el uso excesivo de antibióticos.

CONCLUSIONES

En concordancia con las secciones Desarrollo del modelo matemático, Resultados y Discusión, se obtienen las siguientes conclusiones: 1) Las condiciones de cultivo *in vitro* especificadas, generan un ambiente idóneo para el proceso de transformación vía plasmídica de una población de *S. entérica* sensible (receptora) y una de *E. coli* resistente (donadora). 2) La formulación de dos modelos matemáticos que describen el proceso previo y posterior a la transformación plasmídica, permitió evidenciar las dos dinámicas biológicas con mayor eficiencia y de esta manera obtener un mejor análisis de aspectos como crecimiento poblacional, degradación de sustrato, degradación de antibiótico y tasa de transformación entre otros. 3) La incorporación del plásmido en la población de *S. entérica*, cambió de manera radical la dinámica de crecimiento poblacional de la misma, debido a la resistencia bacteriana recientemente adquirida. 4) El realizar y observar el cultivo *in vitro*, para la obtención de datos experimentales, permitió identificar las variables y parámetros más relevantes dentro del fenómeno biológico. 5) La especificidad de condiciones de cultivo y características biológicas de los aislados bacterianos tienen influencia en el periodo que tarda una población bacteriana en adaptarse, transformarse y expresar dicha resistencia adquirida. 6) El método de estimación parámetros permitió aproximar las tasas de crecimiento poblacional, tasa de eliminación por efecto del antibiótico, tasa de degradación de sustratos, entre otras, lo cual contribuye en el entendimiento de algunos aspectos de la resistencia mediada por plásmidos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo del proyecto No 106-25/09/2018 financiado por la Vicerrectoría de Investigaciones e Interacción Social (VIIS) de la Universidad de Nariño

REFERENCIAS

- Ataai, M.M. y Shulert, M.L., A Mathematical Model for Prediction of Plasmid Copy Number and Genetic Stability in *Escherichia coli*, <https://doi.org/10.1002/bit.260300310>, Biotechnol. Bioeng., 30(3), 289-297 (1986)
- Azario, R.R., Salvarezza, S.A., Ibarra, A., y García, M.C., Efecto del Cromo Hexavalente y Trivalente sobre el Crecimiento de *Escherichia coli* ATCC 35218, <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642010000100009>, Información Tecnológica, 21(1), 57-62 (2010)
- Bengtsson Palme, J., Kristiansson, E., y Larsson, D., Environmental factors influencing the development and spread of antibiotic resistance, <https://doi.org/10.1093/femsre/fux053>, FEMS Microbiol. Rev., 42(1), 68-80 (2018)
- Birgy, A., Madhi, F., y otros siete autores, CTX-M-55-, MCR-1-, and FosA-Producing Multidrug-Resistant *Escherichia coli* Infection in a Child in France, <https://doi.org/10.1128/AAC.00127-18>, Antimicrob. Agents Chemother., 62 (4), 1-2 (2018)
- Burden, R.L., y Douglas Faires, J., Numerical Analysis, 3ª ed., 220-230, PWS Publishers Group, Boston, USA (1985)
- Carattoli, A., Villa, L., y otros seis autores, Novel plasmid-mediated colistin resistance mcr-4 gene in *Salmonella* and *Escherichia coli*, Italy 2013, Spain and Belgium, 2015 to 2016, <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2017.22.31.30589>, Euro Surveill, 22(31), 1-5 (2017)
- Dimitriu, T., Misevic, D., Lindner, A.B., y Taddei, F., Mobile genetic elements are involved in bacterial sociality, <https://doi.org/10.1080/2159256X.2015.1006110>, Mob. Genet. Elements, 5(1), 7-11 (2015)
- Frost, L.S., y Koraimann, G., Regulation of bacterial conjugation: balancing opportunity with adversity, *Future Microbiol.*, <https://doi.org/10.2217/fmb.10.70>, 5(7), 1057-1071 (2010)
- Guerrero-Ceballos, D.L., Burbano-Rosero, E.M., y Ibargüen Mondragon, E., Characterization of antibiotic-resistant *Escherichia coli* associated with urinary tract infections in Southern Colombia, doi: 10.11144/Javeriana.SC25-3.coar, Univ. Sci., 25(3), 463-488 (2020)
- Ibargüen-Mondragón, E., Mosquera, S., y otros cinco autores, Mathematical modeling on bacterial resistance to multiple antibiotics caused by spontaneous mutations, <https://doi.org/10.1016/j.biosystems.2014.01.005>, Biosystems, 117, 60-67 (2014)
- Kamel Ali, N.M., Farghaly, E.M., Shawky, H.M., y Samir, A., Molecular characterisation of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Salmonella* isolated from poultry and poultry products in Egypt, DOI: 10.15547/bjvm.2019-0084, Bulg. J. Vet. Med., 24(1), 43-51 (2021)
- Lopatkin, A., Huang, S., y otros cinco autores, Antibiotics as a selective driver for conjugation dynamics, <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2016.44>, Nat Microbiol, 1(6), 1-22 (2016)
- Lyimo, B., Buza, J., y otros cinco autores, IncF Plasmids Are Commonly Carried by Antibiotic Resistant *Escherichia coli* Isolated from Drinking Water Sources in Northern Tanzania, <https://doi.org/10.1155/2016/3103672>, Int. J. Microbiol., 1-7 (2016)
- Mao, J., y Lu, T., Population-Dynamic Modeling of Bacterial Horizontal Gene Transfer by Natural Transformation, <https://doi.org/10.1016/j.bj.2015.11.033>, Biophys. J., 110(1), 258-268 (2016)

- Marmol Martínez, M.A., Ibarguen Mondragon, E., y Vergel Ortega, M., Un enfoque didáctico para el estudio del Algoritmo Genético en la estimación de parámetros de modelos matemáticas, <https://doi.org/10.36260/rbr.v10i3.1236>, Revista Redipe, 10(3), 301-316 (2021)
- Nazarian, P., Tran, F., y Boedicker, J.Q., Modeling Multispecies Gene Flow Dynamics Reveals the Unique Roles of Different Horizontal Gene Transfer Mechanisms, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02978>, Front. Microbiol., 9(2978), 1-11 (2018)
- Nocua-Báez, L.C., Cortés, J.A., y otros cinco autores, Perfil de sensibilidad antimicrobiana de microorganismos causantes de infecciones urinarias adquiridas en la comunidad en pacientes con diabetes mellitus en Colombia, <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3348>, Biomédica, 37(3), 353-360 (2017)
- Orlek, A., Stoesser, N., y otros nueve autores, Plasmid Classification in an Era of Whole-Genome Sequencing: Application in Studies of Antibiotic Resistance Epidemiology, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00182>, Front. Microbiol., 8(182), 1-24 (2017)
- Ortega Ortega, M.S., Determinación de Beta-lactamasas de Espectro Extendido en *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* a través de pruebas moleculares en urocultivos provenientes de pacientes ambulatorios con infecciones de vías urinaria, Universidad San Francisco de Quito, Quito, Ecuador (2017).
- Paterson, I.K., Hoyle, A., y otros tres autores, Optimising Antibiotic Usage to Treat Bacterial Infections, <https://doi.org/10.1038/srep37853>, Sci. Rep., 6(37853), 1-10 (2016)
- Schuurmans, J.M. van Hijum, S.A.F., y otros cinco autores, Effect of growth rate and selection pressure on rates of transfer of an antibiotic resistance plasmid between *E. coli* strains, <http://dx.doi.org/10.1016/j.plasmid.2014.01.002>, Plasmid, 72, 1-8 (2014)
- Vinué, L., Sater, R.A., y otros cuatro autores, Plasmids and genes contributing to high-level quinolone resistance in *Escherichia coli*, <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105987>, Int. J. Antimicrob. Agents, 56(1, 105987), 1-4 (2020)
- Volkova, V.V., Lanzas, C., Lu, Z., y Grohn, G.Y., Mathematical Model of Plasmid-Mediated Resistance to Ceftiofur in Commensal Enteric *Escherichia coli* of Cattle, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036738>, Plos One, 7(5, e36738), 1-15 (2012)
- Volkova, V.V., Lu, Z., Lanzas, C., y Grohn, Y., Evaluating targets for control of plasmid-mediated antimicrobial resistance in enteric commensals of beef cattle: a modelling approach, Epidemiol. Infect., <https://doi.org/10.1017/S0950268812002993>, 141(11), 2294-2312 (2013)
- Zenteno Bravo, G.G., Detección de la mutación T315I de ABL1, asociada a la resistencia a imatinib, dasatinib y nilotinib en la Leucemia Mieloide Crónica, 1ª ed., 48-63, Editorial Académica Española, Madrid, España (2011)

Página en blanco