

Modelando a Curva de Crescimento do *Mycobacterium tuberculosis* com a utilização de simulação multiagente: um estudo de caso para a variável *Quorum sensing*

Marcilene Fonseca de Moraes¹, Diana F. Adamatti¹, Albano Oliveira de Borba², Adriano Velasque Werhli²

¹Programa de Pós-Graduação em Modelagem Computacional – Universidade Federal do Rio Grande (FURG)
Caixa Postal 474 – 96.203-900 – Rio Grande – RS – Brazil

²Centro de Ciências Computacionais – Universidade Federal do Rio Grande (FURG)
Caixa Postal 474 – 96.201-900 – Rio Grande – RS – Brazil

{marcilenemoraes, dianaadamatti}@furg.br, {albano.b06, werhli}@gmail.com
@gmail.com

Abstract. *This paper describes a proposal for a study of the growth curve of the tuberculosis and aims to simulate the curve with minimum error possible comparing to experimental (real data) and still show that the use of the concept of Quorum sensing is essential in this process. To develop the model, were created an environment based on agents, where the variables of them use probability distributions.*

Resumo. *Este trabalho descreve uma proposta de estudo da curva de crescimento do *Mycobacterium tuberculosis* e tem como objetivo simular a curva com um padrão de crescimento semelhante em relação a experimental (dados reais) e ainda mostrar que o uso do conceito de Quorum sensing é essencial para que isso aconteça. Para implementar o modelo foi criado um ambiente baseado em agentes, onde as variáveis desses agentes utilizam distribuições de probabilidades.*

1. Introdução

A tuberculose (TB) é um grande problema de saúde pública, que afeta predominantemente países de baixa e média renda, se desenvolvendo também entre imigrantes, partes mais pobres e vulneráveis de países ricos (Lönnroth et al., 2015). Segundo Burgos e Pym (2002), o *Mycobacterium tuberculosis*, causador da tuberculose, é um dos patógenos bacterianos mais bem sucedidos na história da humanidade.

Diante destas circunstâncias, o estudo da curva de crescimento do *Mycobacterium tuberculosis* torna-se extremamente importante, já que através deste estudo podem-se testar hipóteses, verificar reações do bacilo a fármacos e ainda pode ajudar no desenvolvimento de novos (Von Groll, 2010).

No entanto, o bacilo da tuberculose possui uma taxa de crescimento populacional muito lenta, esse comportamento faz com que experimentos *in vitro* sejam algo demorado e de alto custo.

Neste contexto, surgem os sistemas multiagentes, área da inteligência artificial que permite, por meios de suas ferramentas, simular regras de comportamento de determinado sistema computacionalmente.

De acordo com Wooldridge (2009), os sistemas multiagentes são uma poderosa e flexível ferramenta para modelagem deste tipo de sistema, pois desta maneira pode-se analisar o comportamento de cada indivíduo, ao invés de uma média dos comportamentos do mesmo.

Por muitos anos, pesquisadores acreditavam que as bactérias existiam como células individuais, agiam como populações de células independentes e se reproduziam quando em condições favoráveis. No entanto, nas últimas décadas diversos estudos mostraram que esses microrganismos podem se comunicar através do *Quorum sensing*.

O mecanismo *Quorum sensing* baseia-se na produção e difusão de pequenas moléculas sinalizadoras que podem ser detectadas pelas bactérias. Esse processo acontece quando há percepção de alta densidade celular, possibilitando a toda população iniciar uma ação, uma vez que concentração crítica tem sido alcançada (Whitehead et al., 2001).

Este trabalho modela a curva de crescimento do bacilo da tuberculose, utilizando sistemas multiagentes, onde as variáveis da simulação utilizam distribuições de probabilidades, tornando assim, o modelo desenvolvido mais similar ao modelo de crescimento real. E tem como objetivo, elucidar que a utilização do conceito de *Quorum sensing* na modelagem da curva do *Mycobacterium tuberculosis* possibilita a obtenção de um comportamento mais próximo, quando comparado à curva real.

2. Curva de Crescimento do *Mycobacterium tuberculosis*

Quando o *Mycobacterium tuberculosis* é inoculado em um meio que contenha todos os nutrientes necessários para sua duplicação, ele tende a multiplicar-se.

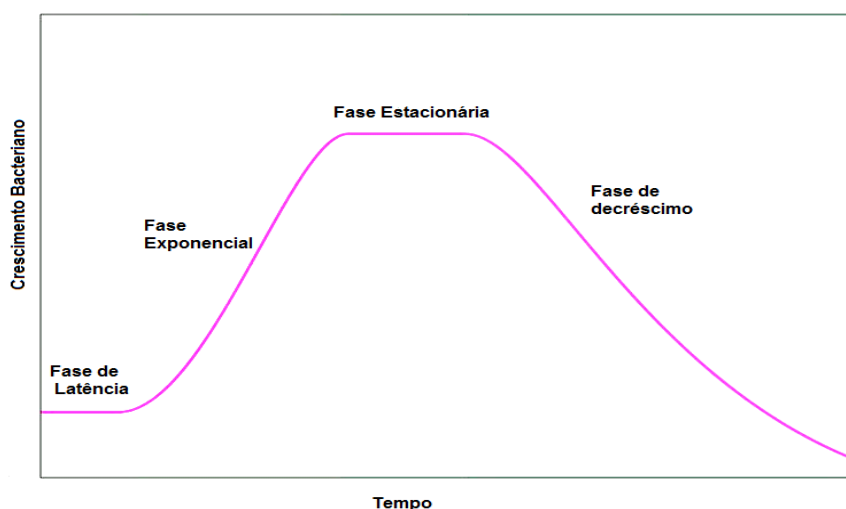


Figura 1. Curva de crescimento e suas fases (Todar, 2013).

As bactérias inicialmente se ajustam ao novo meio (fase de latência) até que elas possam começar o processo de divisão regularmente (fase exponencial). Quando seu crescimento tornasse limitado, as células param de se dividir (fase estacionária), até que finalmente eles morrem pela inviabilidade do ambiente (Todar, 2013).

3. Modelo de Crescimento Proposto

Quando as curvas de crescimento são obtidas através de experimentos *in vitro*, as informações que essas curvas apresentam são o produto de diversos fatores da dinâmica populacional. Logo, não é possível extrair informações isoladas, como quanto as bactérias consomem, ou quanto deixam de consumir depois de atingida a saturação do ambiente, ou ainda qual a proporção de moléculas sinalizadoras (*Quorum sensing*) são necessárias para decretarem a saturação.

Diante dessas circunstâncias, foi necessário inferir quanto as variáveis que interferem no crescimento populacional, tendo como única referência à observação dos resultados obtidos.

Para simular a dinâmica populacional foi utilizado o ambiente de programação NetLog. O modelo baseado em agentes implementado simula um ambiente onde os agentes representam *Mycobacterium tuberculosis*.

Os agentes do modelo possuem regras específicas de comportamento, que são modeladas como variáveis dos agentes. Essas regras são essenciais para que eles representem seu papel no ambiente e interaja como ele.

A simulação tem como divisão temporal o *tick*. A cada *tick*, os agentes realizam uma ou mais ações, estas ações são modeladas por funções estabelecidas no modelo, sendo elas: *alimenta*, *prosegue*, *sinaliza* e *reproduz*.

Assim como muitos fenômenos mensuráveis presentes em nosso dia a dia tendem a se distribuir conforme alguns modelos probabilísticos teóricos, tem-se por hipótese que as principais variáveis que modelam a curva de crescimento do bacilo *Mycobacterium tuberculosis* também podem se distribuir conforme algumas delas.

Como muitas variáveis aleatórias biológicas se ajustam a distribuição normal (Callegari-jacques, 2003), ou seja, os valores centrais são mais frequentes e os extremos, mais raros, sendo os valores muito baixos tão pouco frequentes quanto os muito altos. Assumiu-se que as variáveis do modelo também se distribuem normalmente.

A Figura 2 demonstra o ciclo de vida do agente, esclarecendo as ações e decisões que eles devem tomar a cada *tick*.

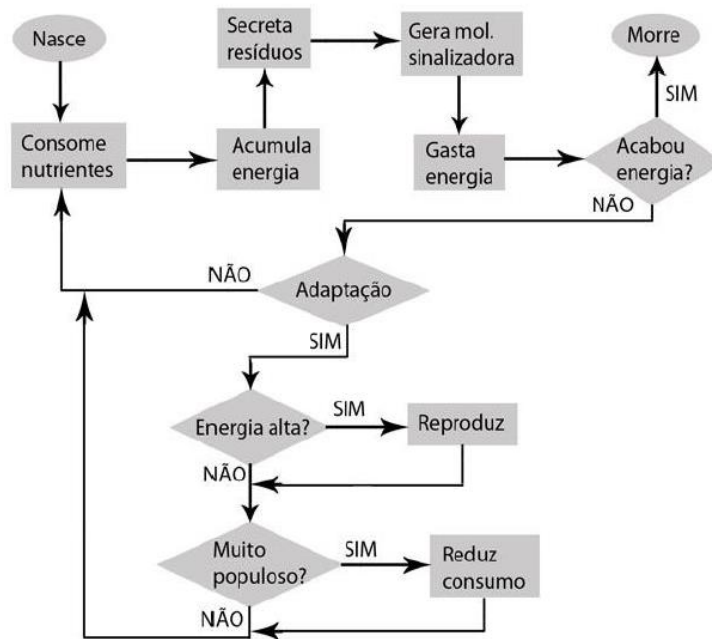


Figura 2. Fluxograma do Ciclo de vida dos agentes (Werlang, 2013).

O agente inicia o ciclo consumindo nutrientes do *patch* onde se encontra, a taxa de consumo é dada pela variável *consumo*. Os nutrientes absorvidos são transformados em energia que será depositada na reserva do agente. E após a metabolização dos nutrientes, ele secreta os resíduos provenientes no ambiente.

Depois de desempenhadas essas tarefas, uma quantidade de energia é subtraída da reserva do agente. Essa quantidade é dada pela variável *func_vitais*. Se a energia do agente, quantificada pela variável *energia*, for menor que 1, o agente morre; caso contrário, ele prossegue para as outras etapas da modelagem.

Passado o período de adaptação, estipulado pela variável *tick_reprodução*, o agente finalmente está apto a se reproduzir. No entanto, um fator limitante para a reprodução é a energia disponível na sua reserva, se a energia for maior ou igual a estabelecida pela variável *energia_reproduz*, o agente reproduz; se não, ele continua suas funções sem reproduzir-se, até obter a energia necessária.

A última etapa do ciclo consiste na verificação da densidade populacional do ambiente. Caso o agente decrete situação de saturação, dada pela variável *sensor_bacteria*, ele libera um molécula sinalizadora (*Quorum sensing*) indicando aos outros que o ambiente está cheio e logo reduz seu consumo.

4. Resultados

Os resultados obtidos através das simulações foram comparados com os resultados observados em experimento *in vitro*. Na Figura 3 tem-se o resultado da simulação usando a modelagem baseada em agentes, utilizando o conceito de *Quorum sensing* na modelagem.

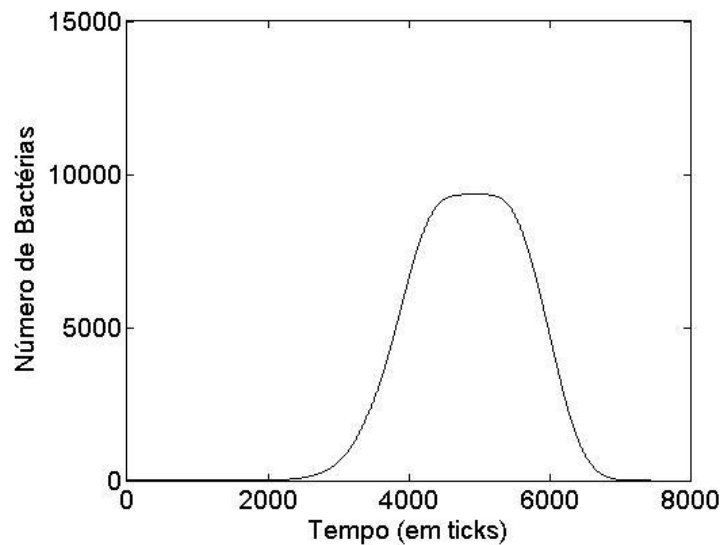


Figura 3. Curva de crescimento simulada

Na Figura 1 tem-se o resultado do crescimento bacteriano obtido por experimentos laboratoriais. O comportamento do bacilo da TB em ambos casos, Figuras 1 e 3, seguiu um padrão com relação ao número de bactérias em função do tempo.

Na simulação realizada com um ambiente diferenciado, Figura 4, sem a presença de moléculas sinalizadoras, onde o agente não entra em estado de consumo reduzido, pode-se ver também certa similaridade com curva de crescimento, no entanto a fase estacionária, visível nas Figuras 1 e 3, é praticamente despercebível na Figura 4.

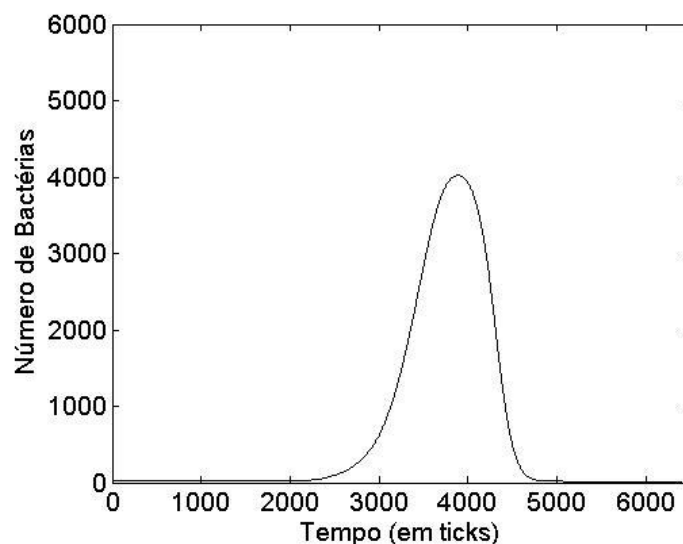


Figura 4. Curva de crescimento simulada sem a utilização do conceito de *Quorum sensing*.

E quanto comparada com a curva de crescimento da Figura 3, em número de bactérias e tempo de simulação, a mesma apresenta uma população máxima menor e o tempo de sobrevivência inferior.

Este comportamento se justifica pelo fato de que a detecção do ambiente estar superpopuloso, não ocorreu, as bactérias consumiram os nutrientes do ambiente desenfreadamente, acumulando muita energia em sua reserva, e por isso se duplicando ligeiramente. Isso fez com que os nutrientes acabassem rapidamente, resultando em uma morte prematura de todos os agentes do ambiente.

5. Conclusões

Este trabalho modelou a curva de crescimento do *Mycobacterium tuberculosis* utilizando sistemas multiagentes. Os agentes representavam a bactérias em seu meio, a forma como interagiam umas com as outras e com o ambiente.

Na modelagem da curva foi utilizado o conceito de *Quorum sensing*, onde os agentes mudavam seu comportamento quando atingido a saturação para obter um melhor aproveitamento do ambiente. E para tornar o modelo mais similar a um modelo de crescimento real, os valores das variáveis dos agentes eram gerados utilizando a distribuição de probabilidade normal.

O modelo baseado em agentes desenvolvido apresentou resultados satisfatórios, uma vez que a curva de crescimento modelada revelou-se similar a curva real. Essa similaridade torna o modelo bastante útil para verificação de hipóteses, já que as simulações levam minutos, em oposição aos experimentos *in vitro* que levariam dias. E ainda ressalta-se a importância da continuidade dos estudos sobre o *Quorum sensing*, uma vez que a inserção da variável no modelo foi imprescindível para a obtenção da similaridade.

Como trabalho futuro tem-se a intenção de promover uma ação conjunta com um especialista em crescimento bacteriano com a finalidade de poder comparar numericamente as saídas obtidas do modelo desenvolvido com as de um experimento *in vitro* obtidas em laboratório.

Referências

- Burgos, M. e Pym, A. (2002), Molecular epidemiology of tuberculosis, *European Respiratory Journal*, v.20, n.36, p.54–65.
- Callegari-jacques, S.M. (2003), *Bioestatística: princípios e aplicações*, Porto Alegre: Artmed.
- Lönnroth, K and Migliori, G. B. and Abubakar. I. et al. (2015), Towards tuberculosis elimination: an action framework for low-incidence countries, *European Respiratory Journal*, v.45, n.4, p.928–952.
- Todar, k. (2013), The growth of bacterial populations, *Todar's Online Textbook of Bacteriology*.
- Von groll, A. (2010), Fitness of *Mycobacterium tuberculosis* associated to genotypes and drug resistance: new approaches for understanding the transmission dynamics of tuberculosis. Ghent University. Ghent, p. 137.
- Whitehead, N. A., Barnard, A. M. L., Slater, H., Simpson, N. J. L. e Salmond, G. P. C. (2001), Quorum-sensing in Gram-negative bacteria, *FEMS Microbiology Reviews*, Amsterdam, v. 25, n. 4, p.365-404.
- Wooldridge, M. (2002), *An Introduction to Multiagent Systems*, England: John Wiley & Sons.