

## Modelado basado en agentes para el análisis de la evolución de poblaciones bacterianas y su resistencia a antibióticos

C. Castro<sup>1</sup>, D.-L. Flores<sup>1</sup>, R. A. Castañeda-Martínez<sup>2</sup>, B. Benítez<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ingeniería, Arquitectura y Diseño, Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada, B. C., México

<sup>2</sup>Investigador independiente, Ensenada, B.C., México

\* angel.benitez@uabc.edu.mx

*Resumen*— La aparición de cepas bacterianas resistentes a antibióticos representa un problema serio de salud a nivel mundial. Es necesario entender cómo evolucionan estas cepas ya que representan una amenaza mortal para los humanos. La combinación del medio en que las bacterias se desarrollan, malas prácticas en el tratamiento con antibióticos a pacientes y los mecanismos genéticos bacterianos han propiciado la evolución de dicha resistencia. En este trabajo se presenta un modelo basado en agentes para estudiar la dinámica y evolución de poblaciones bacterianas y su resistencia a antibióticos en un medio heterogéneo, siendo éste un medio que contiene áreas con distintas propiedades. Se obtuvieron resultados representativos del fenómeno biológico, de esta forma se obtuvo un modelo que sirve de base para estudiar sistemas más específicos, considerando propiedades inherentes de una bacteria específica y su comportamiento como población en un medio con antibiótico.

*Palabras clave*— **Antibióticos, Bacterias, Modelado basado en agentes, Resistencia a antibióticos.**

### I. INTRODUCCIÓN

Desde que se descubrieron los antibióticos hace alrededor de 70 años, estos han jugado un papel crucial en la salud de los humanos, como método de tratamiento y prevención de una gran variedad de infecciones, incluyendo aquellas que suponen una amenaza mortal. De esta manera, los antibióticos han contribuido positivamente en la esperanza de vida de la población [1]. Sin embargo, en los últimos años ha crecido la preocupación por la aparición de cepas bacterianas con resistencia a antibióticos (RA), convirtiéndose en un problema de salud pública [2, 3].

Es necesario entender cómo y dónde se originan y transmiten cepas bacterianas con RA para poder desarrollar medidas de control contra ellas. Factores como la transmisión horizontal de genes y la falta de sanidad e higiene en hospitales y comunidades contribuyen a la propagación de estas cepas [4, 5]. Otras causas que contribuyen son la automedicación y el mal uso clínico de antibióticos, además de los altos costos en salud pública y privada. Por otra parte, no se conoce a profundidad cómo es que las bacterias evolucionan tan velozmente [2]. Conocer los aspectos mencionados anteriormente permitirán crear nuevas generaciones de antibióticos que sean seguros y efectivos,

teniendo de forma paralela longevidad en su uso clínico, evitando que las bacterias puedan adquirir o desarrollar resistencia a estos medicamentos [4].

Uno de los ambientes característicos que permiten la evolución y desarrollo de las bacterias con RA son los ambientes heterogéneos, en donde las condiciones y concentraciones no son espacialmente iguales [6]. Estos ambientes se pueden encontrar en los órganos y tejidos debido a que tienen diferentes propiedades farmacocinéticas, al igual que en pacientes, ya que cada uno tiene una respuesta distinta en su sistema inmune [2]. Por esta razón, en el ámbito hospitalario se puede llevar a cabo una rápida propagación de bacterias entre pacientes [5].

En la referencia [7] los autores presentan una placa novedosa para estudiar la migración y evolución de cepas bacterianas en un ambiente heterogéneo y espacialmente estructurado. Esta placa, llamada arena de evolución y crecimiento bacteriano (MEGA, por sus siglas en inglés), consiste en un gradiente creciente de concentraciones de antibiótico desde ambas orillas hacia al centro de la placa. Como resultado la placa MEGA permite estudiar la evolución espaciotemporal y la forma en la que las bacterias adquieren resistencia a antibióticos en medios heterogéneos.

Por otra parte, las simulaciones en computadora son una alternativa para estudiar sistemas biológicos apoyando a la experimentación *in vivo* e *in vitro*, y sustituyendo modelos matemáticos de ecuaciones diferenciales ordinarias (EDO) [8]. Una de esas alternativas es el modelado basado en agentes (MBA), método conformado por agentes capaces de tomar decisiones autónomas, basándose en reglas preestablecidas para cada grupo de agentes. El MBA permite realizar un análisis de sistemas integrando información cualitativa (reglas de comportamiento) y cuantitativa (datos o cálculos matemáticos) [9]. El MBA ha sido utilizado anteriormente para modelar sistemas biológicos, por ejemplo, el ciclo celular [9], contracción muscular [10], y evolución de epidemias [11]. En este trabajo de investigación se creó un modelo computacional utilizando MBA en el software NetLogo, con el fin de complementar el estudio de la

adaptación bacteriana y el análisis de sus dinámicas poblacionales evolutivas.

## II. METODOLOGÍA

Se siguió la metodología del uso de la simulación como método de investigación, representada en la Fig. 1, la cual muestra el proceso en el que un fenómeno es modelado y los resultados obtenidos en su simulación deben compararse al fenómeno real. Si el nivel de similitud es alto, se dice que el modelo está validado [12]. El proceso de creación del MBA de la placa MEGA se hizo siguiendo la metodología del libro de Wilensky y Rand, 2015 [13].

El ambiente del modelo consiste en la placa de agar segmentada en nueve partes: los segmentos inicial y final carecen de antibiótico, el siguiente segmento posee la cantidad mínima de antibiótico necesaria para inhibir el crecimiento bacteriano, y a partir de ahí cada segmento tiene una concentración diez veces mayor que el anterior, la concentración mínima aumenta desde el lado derecho e izquierdo hasta llegar a la parte central, la cual tiene la mayor concentración de antibiótico (1000 veces la cantidad que puede soportar una cepa silvestre). En NetLogo, el espacio se encuentra dividido en parcelas del mismo tamaño, y el tiempo se mide en ticks, que representa la ejecución de un ciclo del código. En este modelo cada parcela cuenta con la misma cantidad de nutrientes.

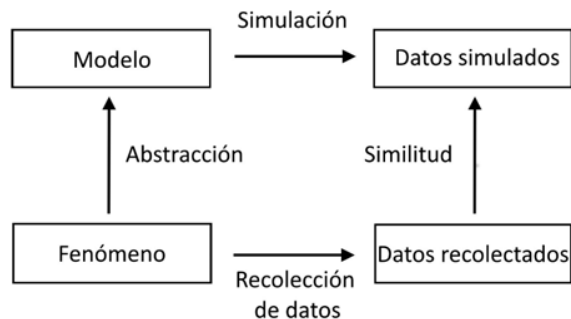


Fig. 1: Uso de la simulación como método de investigación.

Los agentes representan a las bacterias en el modelo, cada una cuenta con las siguientes propiedades:

1. Energía: La energía necesaria para que una bacteria se mueva y se reproduzca.
2. Resistencia a antibiótico: Nivel de antibiótico en el que la bacteria puede sobrevivir.
3. Estado: Si la bacteria está viva o muerta.
4. Edad: Edad que tiene la bacteria.

El movimiento de las bacterias está regido por la quimiotaxis [7, 19], siguiendo la mayor concentración de nutrientes en las parcelas a su alrededor, y por medio de un movimiento browniano [15] cuando las concentraciones de nutrientes a su alrededor son iguales. Moverse consume energía.

Las bacterias llevan a cabo un proceso de reproducción cuando tienen la energía necesaria para hacerlo, evento condicionado a una probabilidad llamada tasa de reproducción. Se crea una conexión gráfica entre la célula madre y la hija para identificar el camino que siguen las cepas resistentes. Las bacterias también llevan a cabo un proceso de alimentación en el cual buscan la parcela próxima con la mayor cantidad de nutrientes; cuando las bacterias llegan a esa parcela toman una cantidad del nutriente y lo transforman en energía. Por otra parte, la mutación es un aspecto importante de este modelo, y se lleva a cabo mediante una tasa de mutación que permite que las bacterias adquieran una mayor resistencia al antibiótico del medio logrando sobrevivir en él. Sin embargo, también pueden suceder mutaciones negativas que causan la muerte de la bacteria. Esto genera una presión selectiva sobre las cepas resistentes, en las cuales se van fijando las mutaciones que les permiten sobrevivir a concentraciones altas de antibiótico.

Además de la muerte causada por el antibiótico, las bacterias pueden morir cuando su energía llega a cero, o cuando alcanzan su edad máxima.

Una vez definidas todas las partes del modelo conceptual, éste se llevó al entorno de programación haciendo uso de los comandos y funciones adecuados que permitan capturar la esencia del fenómeno real, para obtener un modelo verificado. La construcción del modelo se llevó a cabo en NetLogo versión 6.0.4 [16].

El modelo cuenta con once entradas mostradas a continuación junto con el valor que se utilizó en la simulación para cada una de ellas:

- Cantidad de inóculo inicial: 10
- Nutrientes iniciales en el medio: 90
- Energía inicial de las bacterias del inóculo: 40
- Concentración base del antibiótico: 1
- Distancia de desplazamiento de las bacterias: 0.1 parcelas
- Tasa de mutación: 3%
- Tasa de reproducción: 5%
- Vida máxima que puede tener una bacteria: 240 ticks
- Energía que se toma al alimentarse: 10
- Energía necesaria para moverse: 1
- Energía necesaria para reproducirse: 30

Las propiedades que no tienen unidades solo representan un valor dentro del modelo y necesitan ser calibradas para que representen una bacteria y medio específicos.

Por otra parte, las salidas del modelo consisten en la imagen del mundo para ver la distribución bacteriana en el medio, así como la forma de reproducción. Además de dos gráficas, una para la resistencia media poblacional al antibiótico y la otra para conocer el nivel de la población.

El MBA de la placa MEGA presentado en este trabajo no corresponde a un sistema biológico específico, es por esto que las entradas se encuentran como parámetros libres, para poder elegir los valores iniciales que mejor correspondan a la bacteria y medio que se desee estudiar.

### III. RESULTADOS

Al correr el modelo se obtuvo una población bacteriana que fue capaz de adquirir una resistencia al antibiótico, sobreviviendo en la parte central del modelo con 1000 veces la concentración inicial de antibiótico, como se aprecia en la Figura 2, resultados similares a los obtenidos en la referencia [7].

En la Figura 3 se muestra la resistencia media poblacional al antibiótico del medio. Se puede observar que la resistencia al antibiótico aumenta con el tiempo, esto se debe a que las bacterias van adquiriendo esta resistencia conforme van evolucionando al migrar hacia áreas donde se necesita mayor resistencia para sobrevivir a las concentraciones presentes del antibiótico.

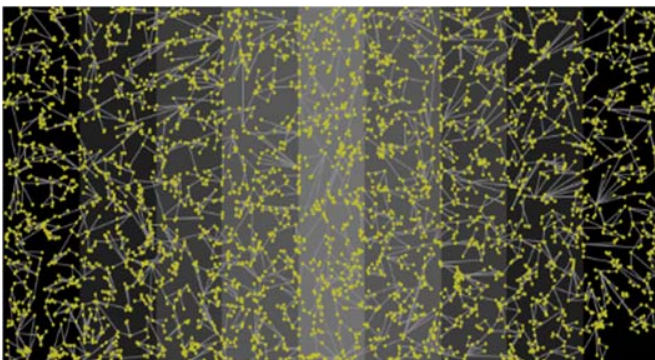


Fig. 2: Dinámica de la población bacteriana en el medio.

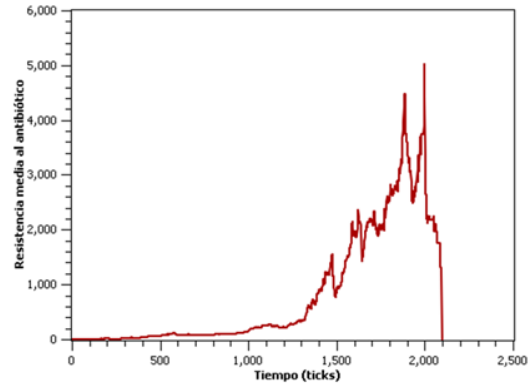


Fig. 3: Resistencia media al antibiótico respecto al tiempo de la simulación.

Por último, en la Figura 4 se muestra el comportamiento del modelo en cuanto al tamaño de la población durante la simulación, en este caso se presenta el logaritmo de la población total de bacterias en el tiempo. Se puede apreciar de manera clara las tres fases típicas del crecimiento bacteriano: una fase de crecimiento, una fase estacionaria y otra de muerte.

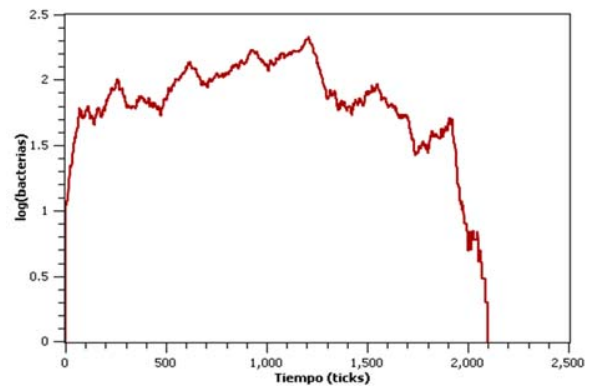


Fig. 4: Logaritmo de la población total de bacterias.

### IV. DISCUSIÓN

Una de las ventajas de utilizar MBA es la posibilidad de tener un entorno gráfico que permita visualizar los componentes del modelo, a diferencia de otros tipos de modelado convencionales como aquellos que utilizan EDO. Esta característica permite reforzar una de las cualidades de la placa MEGA, que es la sencilla demostración visual de la evolución de las bacterias que se encuentran en el medio

antibiótico. De esta forma, el modelo planteado en esta investigación puede ser un complemento a estudios relacionados a la dinámica y evolución de diferentes tipos de bacterias en un medio antibiótico. Una abstracción perfecta de un fenómeno real es generalmente imposible de lograr, y frecuentemente los procesos más complejos deben ser simplificados en el modelo. Sin embargo, conforme se estudia el proceso biológico real, es posible agregar o remover características que permitan que el modelo sea más representativo, siendo esto otra ventaja del uso del MBA.

Como trabajo a futuro se pueden explorar los efectos de parámetros, como la densidad poblacional, tasa de mutación, la velocidad de expansión y las dimensiones espaciales, en la manera en que las bacterias mutan y forman una diversidad de mutantes con diferentes capacidades, de forma que el modelo permita estudiar otros comportamientos de interés en el ámbito científico. De igual forma se pueden ajustar las variables para distintas poblaciones de bacterias, de esta manera se obtiene un modelo de competencia microbiana, donde se pueda observar el proceso de colonización en un microambiente [20, 21], además se puede lograr la simulación de los procesos físicos, químicos y biológicos que prevalecen en una comunidad bacteriana con el fin de conocer la cepa más apta para el propósito deseado [19], lo anterior con oportunidad de aplicarse en la descontaminación y control de áreas contaminadas por microorganismos patógenos en espacios hospitalarios e industriales del sector médico mediante el uso de nuevas generaciones de antibióticos y microorganismos no patógenos para el ser humano.

## V. CONCLUSIÓN

Se realizó el MBA de la placa MEGA para simular la dinámica y evolución de una población de bacterias en un medio con antibiótico, y se observa la adquisición de resistencia a antibióticos en un medio heterogéneo, similar a la forma en la que las bacterias mutan en el cuerpo humano o en ambientes hospitalarios e industriales del sector médico. De esta manera, se obtuvo un modelo que permite estudiar de manera más rápida la forma en que las bacterias obtienen nuevas características y cualidades mediante mutaciones, logrando así, sobrevivir a medios antibióticos con cada vez mayor concentración. Entender este proceso permite crear nuevas estrategias para combatir el crecimiento no deseado de poblaciones bacterianas patógenas y evitar en la medida de lo posible su evolución a bacterias resistentes. Es importante seguir haciendo uso de simulaciones *in silico* que permitan entender, así como estudiar el comportamiento y

características de estos sistemas microbianos que, debido a su complejidad, los experimentos *in vitro* son insuficientes para generar nuevas soluciones, sin embargo, en conjunto son una poderosa herramienta para lograr el objetivo deseado.

## BIBLIOGRAFÍA

- [1] E. Banin, D. Hughes, and O. P. Kuipers, "Editorial : Bacterial pathogen , antibiotics and antibiotic resistance," *FEMS Microbiol. Rev.*, vol. 41, no. 3, pp. 450–452, 2017.
- [2] R. Hermesen, J. B. Deris, and T. Hwa, "On the rapidity of antibiotic resistance evolution facilitated by a concentration gradient," *PNAS*, vol. 109, no. 27, pp. 10775–10780, 2012.
- [3] M. Hegreness, N. Shores, D. Damian, D. Hartl, and R. Kishony, "Accelerated evolution of resistance in multidrug environments," *PNAS*, vol. 105, no. 37, pp. 13977–13981, 2008.
- [4] L. J. V. Piddock, "Understanding drug resistance will improve the treatment of bacterial infections," *Antimicrob. Resist.*, vol. 15, pp. 639–640, 2017.
- [5] R. Laxminarayan *et al.*, "Antibiotic resistance-the need for global solutions," *Lancet Infect. Dis.*, vol. 13, pp. 1057–1098, 2013.
- [6] Q. Zhang *et al.*, "Acceleration of Emergence of Bacterial Antibiotic Resistance in Connected Microenvironments," *Science (80- )*, vol. 333, no. September, pp. 1764–1768, 2011.
- [7] M. Baym *et al.*, "Spatiotemporal microbial evolution on antibiotic landscapes," *Antibiot. Resist.*, vol. 353, no. 6304, pp. 1147–1152, 2016.
- [8] F. Amigoni and V. Schiaffonati, "Multiagent-Based Simulation in Biology : A Critical Analysis," in *Model-Based Reasoning in Science, Technology, and Medicine*, 2007, pp. 179–191.
- [9] C. Castro *et al.*, "An agent-based model of the fission yeast cell cycle," *Curr. Genet.*, vol. 0, no. 0, p. 0, 2018.
- [10] H. R. Khataee, T. N. M. Aris, and M. N. Sulaiman, "An agent-based model of muscle contraction process as a bio-robotic process," *2011 5th Malaysian Conf. Softw. Eng. MySEC 2011*, pp. 55–60, 2011.
- [11] K. M. Carley *et al.*, "Bio War: Scalable Agent-Based Model of Bioattacks," *Syst. Humans*, vol. 36, no. 2, p. pp 252-264, 2006.
- [12] N. Gilbert and K. G. Troitzsch, *Simulation for the Social Scientist*. 1999.
- [13] U. Wilensky and W. Rand, *An Introduction to Agent-Based Modeling*. MIT Press, 2015.
- [14] R. Lux and W. Shi, "Chemotaxis - Guided Movements in Bacteria," *Crit. Rev. Oral Biol. Med.*, no. 3, pp. 207–220, 2001.
- [15] S. H. Northrup and H. P. Erickson, "Kinetics of protein-protein association explained by Brownian dynamics computer simulation.," *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 89, no. 8, pp. 3338–3342, 1992.
- [16] U. Wilensky, "NetLogo," *Cent. Connect. Learn. Comput. Model. Northwest. Univ. Evanston*, 1999.
- [17] B. D'Acunto, L. Frunzo, I. Klapper, and M. R. Mattei, "Modeling multispecies biofilms including new bacterial species invasion," *Math. Biosci.*, vol. 259, pp. 20–26, 2015.
- [18] B. D'Acunto and L. Frunzo, "Qualitative analysis and simulations of a free boundary problem for multispecies biofilm models," *Math. Comput. Model.*, vol. 53, no. 9–10, pp. 1596–1606, 2011.
- [19] M. R. Mattei, L. Frunzo, B. D'Acunto, G. Esposito, and F. Pirozzi, "Modelling microbial population dynamics in multispecies biofilms including Anammox bacteria," *Ecol. Modell.*, vol. 304, pp. 44–58, 2015.