



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

MARIA GRAZIELA DA SILVA FERNANDES

**AVALIAÇÃO DO MODELO MATEMÁTICO DE  
DINÂMICA VIRAL APLICADO À INFECÇÃO POR hRSV  
EM CULTURAS DE CÉLULAS A549**

---

Londrina

2026

MARIA GRAZIELA DA SILVA FERNANDES

**AVALIAÇÃO DO MODELO MATEMÁTICO DE  
DINÂMICA VIRAL APLICADO À INFECÇÃO POR hRSV  
EM CULTURAS DE CÉLULAS A549**

Dissertação de mestrado apresentada ao Departamento de Matemática da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para a obtenção do Título de MESTRE em Matemática Aplicada e Computacional.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Juliana de Oliveira

Londrina

2026

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

M332a Fernandes, Maria Graziela da Silva.  
Avaliação do Modelo Matemático de Dinâmica Viral aplicado à infecção por hRSV em cultura de células A549 / Maria Graziela da Silva Fernandes. - Londrina, 2026.  
95 f. : il.

Orientador: Juliana de Oliveira.  
Dissertação (Mestrado em Matemática Aplicada e Computacional) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Matemática Aplicada e Computacional, 2026.  
Inclui bibliografia.

1. Modelagem Matemática - Tese. 2. Dinâmica Viral - Tese. 3. Otimização de Parâmetros - Tese. 4. Vírus Sincicial Respiratório humano(hRSV) - Tese. I. Oliveira, Juliana de . II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Matemática Aplicada e Computacional. III. Título.

CDU 51

MARIA GRAZIELA DA SILVA FERNANDES

**AVALIAÇÃO DO MODELO MATEMÁTICO DE  
DINÂMICA VIRAL APLICADO À INFECÇÃO POR hRSV  
EM CULTURAS DE CÉLULAS A549**

Dissertação de mestrado apresentada ao Departamento de Matemática da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para a obtenção do Título de MESTRE em Matemática Aplicada e Computacional.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Juliana de Oliveira  
(Orientadora)  
Universidade Estadual Paulista

---

Prof. Dr. Gylles Ricardo Ströher  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

---

Prof. Dr. Alexandre Mendes de Almeida Junior  
Universidade Estadual Paulista

Londrina, 24 de Fevereiro de 2026.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela minha vida e por todas as bênçãos concedidas ao longo da minha vida.

À minha mãe, Lúcia de Fátima da Silva Fernandes, agradeço toda dedicação e esforço, por me ensinar sobre força e perseverança. Em memória do meu pai, Wanderley Lemes Fernandes, meu agradecimento por todos os ensinamentos e com carinho e saudade escrevo na esperança de que ele estaria orgulhoso por mais esta conquista.

Ao meu noivo, João Debastiani Neto, agradeço de forma especial por acreditar em mim nos momentos em que eu mesma duvidei e por todo apoio e companheirismo ao longo de todo esse processo.

À minha família, agradeço por sempre me lembrar que tenho um lugar para onde voltar, por todo incentivo e por estarem presentes nos momentos importantes.

Às minhas amigas Larissa Passos e Nathália Alvarez, agradeço por tornarem essa jornada mais leve, por compartilharem desafios e conquistas.

À minha orientadora, Juliana de Oliveira, agradeço pela orientação, paciência, disponibilidade e contribuições fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho. Estendo meu agradecimento a todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Matemática Aplicada e Computacional (PGMAC), que contribuíram de maneira significativa para minha formação acadêmica.

Agradeço aos membros da banca examinadora, Gylles e Alexandre, pela disponibilidade, pelas contribuições e pelas sugestões apresentadas.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), agradeço pelo apoio financeiro, fundamental para a viabilização desta pesquisa.

*“O coração do homem planeja o seu caminho, mas o Senhor lhe dirige os passos.” (Provérbios 16:9)*

FERNANDES, Maria Graziela da Silva. **Avaliação do Modelo Matemático de Dinâmica Viral aplicado à infecção por hRSV em culturas de células A549**. 2026. 95 f. Dissertação (Mestrado em Matemática Aplicada e Computacional) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2026.

## RESUMO

As infecções virais representam um desafio significativo para a saúde global, com o vírus sincicial respiratório humano (hRSV) destacando-se como um dos principais agentes causadores de infecções respiratórias graves em crianças menores de 5 anos. Apesar dos avanços relativos a tratamentos e contramedidas eficientes contra o hRSV, a dinâmica intra-hospedeira do hRSV ainda é pouco explorada por modelos matemáticos, especialmente em culturas celulares *in vitro*. O presente trabalho propõe avaliar o modelo matemático da dinâmica viral baseado em Equações Diferenciais Ordinárias para descrever a infecção do hRSV em culturas de células A549, considerando três compartimentos principais: células não infectadas, células infectadas e partículas virais livres. O modelo foi ajustado utilizando dados experimentais obtidos em laboratório. Visando minimizar o erro entre os dados observados e as simulações do modelo, os parâmetros das equações foram estimados empregando-se uma abordagem híbrida, combinando o Algoritmo Genético (GA) para uma otimização global e o método de Programação Quadrática Sequencial (SQP) para uma otimização local. Os resultados demonstraram que o modelo básico da dinâmica viral foi capaz de capturar a dinâmica geral da infecção, com ajustes satisfatórios para os perfis de crescimento e declínio das populações celulares e virais.

**Palavras-chave:** Algoritmo Genético (GA), Dinâmica Viral, Modelagem Matemática, Programação Quadrática Sequencial (SQP), Vírus Sincicial Respiratório Humano (hRSV), Otimização de Parâmetros.

FERNANDES, Maria Graziela da Silva. **Evaluation of a Mathematical Model of Viral Dynamics Applied to hRSV Infection in A549 Cell Cultures.** 2026. 95 p. Master's Thesis (Master's Degree in Applied and Computational Mathematics) – State University of Londrina, Londrina, 2026.

## ABSTRACT

Viral infections represent a significant challenge to global health, with the human respiratory syncytial virus (hRSV) standing out as one of the main agents responsible for severe respiratory infections in children under five years of age. Despite advances in treatments and effective countermeasures against hRSV, its within-host dynamics remain insufficiently explored through mathematical modeling, particularly in *in vitro* cell culture systems. This work proposes to evaluate a mathematical model of viral dynamics based on Ordinary Differential Equations to describe hRSV infection in A549 cell cultures, considering three main compartments: uninfected cells, infected cells, and free viral particles. The model was fitted using experimental data obtained in laboratory assays. In order to minimize the discrepancy between observed data and model simulations, the parameters of the system were estimated using a hybrid approach, combining a Genetic Algorithm (GA) for global optimization and Sequential Quadratic Programming (SQP) for local refinement. The results demonstrated that the basic viral dynamics model was able to capture the overall behavior of the infection, providing satisfactory fits for the growth and decline profiles of both cellular and viral populations.

**Keywords:** Genetic Algorithm (GA), Viral Dynamics, Mathematical Modeling, Sequential Quadratic Programming (SQP), Human Respiratory Syncytial Virus (hRSV), Parameter Optimization.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>15</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>19</b>
2.1	O vírus hRSV . . . . .	19
2.2	Modelos Matemáticos e Virologia . . . . .	21
2.2.1	Modelos Matemáticos . . . . .	21
2.2.2	Modelos de Lotka-Volterra adaptados a Dinâmica Viral . . . . .	21
2.2.3	Modelos SIR . . . . .	23
2.2.4	Modelo da Dinâmica Viral . . . . .	26
2.3	Estimação de Parâmetros em Modelagem de Vírus . . . . .	28
2.3.1	Algoritmo Genético (GA) . . . . .	30
2.3.2	Programação Quadrática Sequencial (SQP) . . . . .	33
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>36</b>
3.1	Coleta de dados . . . . .	36
3.2	Modelo Matemático . . . . .	38
3.3	Ajuste dos Parâmetros . . . . .	39
3.3.1	Otimização Global dos Parâmetros . . . . .	40
3.3.2	Otimização Local dos Parâmetros . . . . .	43
3.4	Resolução Numérica do Sistema de Equações Diferenciais . . . . .	45
3.5	CrITÉRIOS de Avaliação de Ajuste e Métricas de Erro . . . . .	45
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>49</b>
4.1	Resultados do Laboratório . . . . .	49
4.1.1	Concentração de 10 mil células . . . . .	49
4.1.2	Concentração de 25 mil células . . . . .	52
4.1.3	Concentração de 50 mil células . . . . .	54
4.2	Resultados dos Parâmetros Ajustados . . . . .	57
4.2.1	Ajuste para concentração inicial de 10 mil células . . . . .	58
4.2.2	Ajuste para concentração inicial de 25 mil células . . . . .	60
4.2.3	Ajuste para concentração inicial de 50 mil células . . . . .	63
4.3	Simulação Numérica . . . . .	67
4.3.1	Simulação para concentração de 10 mil células . . . . .	67
4.3.2	Simulação para concentração de 25 mil células . . . . .	68
4.3.3	Simulação para concentração de 50 mil células . . . . .	72

4.4	Análise Estatística . . . . .	77
4.4.1	Métricas para concentração de 10 mil células . . . . .	77
4.4.2	Métricas para concentração de 25 mil células . . . . .	77
4.4.3	Métricas para concentração de 50 mil células . . . . .	78
4.4.4	Intervalo de Confiança . . . . .	79
<b>5</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>84</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>86</b>
<b>A</b>	<b>APÊNDICE A: TESTE DE CONSISTÊNCIA DA IMPLEMENTAÇÃO COMPUTACIONAL, APLICADOS A DADOS DE HIV, COM CONDIÇÕES SEMELHANTES AO PROPOSTO NO TRABALHO DE IWAMI E COLABORADORES.</b>	<b>94</b>

## LISTA DE FIGURAS

2.1	Ciclo evolutivo do Algoritmo Genético. . . . .	32
2.2	Fluxograma reduzido do Método SQP. . . . .	34
3.1	Dinâmica do Modelo. . . . .	39
3.2	Etapas do Algoritmo Genético no modelo. . . . .	42
3.3	Fluxograma iterativo da estimação de parâmetros: o ciclo destaca a realimentação contínua do otimizador. . . . .	44
4.1	Células em 10 dias, concentração inicial de $1.0 \times 10^4$ . . . . .	50
4.2	Vírus em 10 dias, concentração inicial de $1.0 \times 10^4$ . . . . .	51
4.3	Células em 10 dias, concentração inicial de $2.5 \times 10^4$ . . . . .	53
4.4	Vírus em 10 dias, concentração inicial $2.5 \times 10^4$ . . . . .	54
4.5	Células em 10 dias, concentração inicial de $5.0 \times 10^4$ . . . . .	55
4.6	Vírus em 10 dias, concentração inicial de $5.0 \times 10^4$ . . . . .	57
4.7	Convergência para MOI 0.1 CC $1.0 \times 10^4$ . . . . .	58
4.8	Convergência para MOI 0.1 CC $2.5 \times 10^4$ . . . . .	60
4.9	Convergência para MOI 0.5 CC $2.5 \times 10^4$ . . . . .	61
4.10	Convergência para MOI 1.0 CC $2.5 \times 10^4$ . . . . .	62
4.11	Convergência para MOI 0.1 CC $5.0 \times 10^4$ . . . . .	64
4.12	Convergência para MOI 0.5 CC $5.0 \times 10^4$ . . . . .	64
4.13	Convergência para MOI 1.0 CC $5.0 \times 10^4$ . . . . .	65
4.14	Simulação com 10 mil células e MOI 0.1. . . . .	67
4.15	Simulação com 25 mil células e MOI 0.1. . . . .	69
4.16	Simulação com 25 mil células e MOI 0.5. . . . .	70
4.17	Simulação com 25 mil células e MOI 1.0. . . . .	72
4.18	Simulação com 50 mil células e MOI 0.1. . . . .	73
4.19	Simulação com 50 mil células e MOI 0.5. . . . .	74
4.20	Simulação com 50 mil células e MOI 1.0. . . . .	76
A.1	Simulação com dados de HIV. . . . .	94

## LISTA DE TABELAS E QUADROS

4.1	Estimativa da média da população de células viáveis (unidades relativas) ao longo de 10 dias sob diferentes condições de infecção por hRSV com quantidade inicial de $1.0 \times 10^4$ células. . . . .	49
4.2	Carga viral (PFU) ao longo de 10 dias sob diferentes condições de infecção por hRSV. Quantidade inicial: $1.0 \times 10^4$ células. . . . .	51
4.3	Estimativa da média da população de células viáveis (unidades relativas) ao longo de 10 dias sob diferentes condições de infecção por hRSV com quantidade inicial de $2.5 \times 10^4$ células. . . . .	52
4.4	Carga viral (PFU) ao longo de 10 dias sob diferentes condições de infecção por hRSV. Quantidade inicial: $2.5 \times 10^4$ células. . . . .	53
4.5	Estimativa da média da população de células viáveis (unidades relativas) ao longo de 10 dias sob diferentes condições de infecção por hRSV com quantidade inicial de $5.0 \times 10^4$ células. . . . .	55
4.6	Carga viral (PFU) ao longo de 10 dias sob diferentes condições de infecção por hRSV. Quantidade inicial: $5.0 \times 10^4$ células. . . . .	56
4.7	Parâmetros estimados pelo modelo CC $1.0 \times 10^4$ MOI 0.1. . . . .	59
4.8	Parâmetros estimados pelo modelo com CC $2.5 \times 10^4$ . . . . .	62
4.9	Parâmetros estimados pelo modelo com CC $5.0 \times 10^4$ . . . . .	65
4.10	Valores simulados das variáveis do modelo para o experimento com $1.0 \times 10^4$ células. . . . .	68
4.11	Valores simulados das variáveis do modelo para o experimento com $2.5 \times 10^4$ células. . . . .	69
4.12	Valores simulados das variáveis do modelo para o experimento com $2.5 \times 10^4$ células e MOI 0.5. . . . .	71
4.13	Valores simulados das variáveis do modelo para o experimento com $2.5 \times 10^4$ células e MOI 1.0. . . . .	71
4.14	Valores simulados das variáveis do modelo para o experimento com $5.0 \times 10^4$ células e MOI 0.1. . . . .	73
4.15	Resultados simulados do modelo para $5.0 \times 10^4$ células e MOI 0.5. . . . .	75
4.16	Valores simulados das variáveis do modelo para o experimento com $5.0 \times 10^4$ células e MOI 1.0. . . . .	75
4.17	Métricas de erro do ajuste do modelo às variáveis observadas com 10 mil células e MOI 0.1. . . . .	77
4.18	Métricas de erro do ajuste do modelo às variáveis observadas para 25 mil células, considerando diferentes valores de MOI. . . . .	78

4.19	Métricas de erro do ajuste do modelo às variáveis observadas para 50 mil células, considerando diferentes valores de MOI. . . . .	78
4.20	Parâmetros estimados e intervalos de confiança (95%) para $CC\ 1.0 \times 10^4$ . . . . .	80
4.21	Intervalos de confiança (95%) para $CC\ 2.5 \times 10^4$ . . . . .	81
4.22	Intervalos de confiança (95%) para $CC\ 5.0 \times 10^4$ . . . . .	82
A.1	Comparação entre os parâmetros estimados neste trabalho e os valores reportados no artigo. . . . .	94
A.2	Métricas de erro do ajuste do modelo para cada variável observada. . . . .	95

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

<b>BFGS</b>	Broyden–Fletcher–Goldfarb–Shanno - Algoritmo de otimização usado no método SQP
<b>CC</b>	Concentração Inicial, Grupo Controle
<b>CDC</b>	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
<b>DMEM /F-12</b>	Dulbecco's Modified Eagle Medium/F-12
<b>EDO</b>	Equação Diferencial Ordinária
<b>FIOCRUZ</b>	Fundação Oswaldo Cruz
<b>GA</b>	Algoritmo Genético
<i>ga</i>	Função que implanta Algoritmo Genético no <i>MATLAB</i>
<b>HIV</b>	Vírus da Imunodeficiência Humana
<b>hRSV</b>	Vírus Sincicial Respiratório Humano
<b>IC</b>	Intervalo de Confiança
<b>KKT</b>	Karush-Kuhn-Tucker - Condições de otimização com restrições
<b>MAE</b>	Erro Absoluto Médio
<b>MOI</b>	Multiplicidade de Infecção
<b>MSE</b>	Erro Quadrático Médio
<b>OMS</b>	Organização Mundial da Saúde
<b>PCR</b>	Reação em Cadeia de Polimerase
<b>PFU</b>	Unidades Formadoras de Placa
<b>QP</b>	<i>Quadratic Programming</i>
$R_0$	Número Básico de Reprodução
$R^2$	Coefficiente de Determinação
<b>RMSE</b>	Raiz do Erro Quadrático Médio
<b>(TCID<sub>50</sub>)</b>	Dose Infecciosa de Cultura de Tecidos
<b>SARS-CoV-2</b>	Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave 2
<b>SEIR</b>	Suscetíveis, Expostos, Infectados, Removidos
<b>SIS</b>	Suscetíveis, Infectados, Suscetíveis
<b>SIR</b>	Suscetíveis, Infectados, Recuperados
<b>SIRS</b>	Suscetíveis, Infectados, Recuperados, Suscetíveis
<b>SQP</b>	Programação Quadrática Sequencial
<b>SRAG</b>	Síndrome Respiratória Aguda Grave
<b>SSR</b>	Soma dos Quadrados dos Resíduos

## 1 INTRODUÇÃO

As infecções virais representam uma das maiores ameaças à saúde global ao longo da história da humanidade, afetando milhões de pessoas com doenças e levando muitas a óbitos [1].

No estudo de Von e colaboradores [2], foi estimado que as infecções virais são responsáveis por milhões de mortes anualmente, causando grande impacto econômico e social. O maior obstáculo em combater os agentes virais, encontra-se na grande capacidade adaptativa e diversidade dos vírus, o que dificulta as pesquisas que buscam compreender como os vírus se espalham e interagem com o organismo, o que poderia levar a soluções mais definitivas contra esses organismos [3].

Os vírus, entidade acelulares que dependem do metabolismo de uma célula hospedeira, possuem uma estrutura aparentemente simples, compostas por um genoma de DNA ou RNA e invólucro proteico, podendo apresentar envelope lipídico, mas que são capazes de desencadear respostas imunológicas variadas no organismo humano, sendo responsáveis por diversas doenças como infecções respiratórias, hepáticas, neurológicas, imunossupressoras, entre outras [4].

Entre os diversos agentes virais que afetam a saúde humana, o Vírus Sincicial Respiratório Humano (hRSV) destaca-se como o principal causador de infecções respiratórias graves em crianças com menos de dois anos de idade. Estima-se que até essa idade, praticamente todas as crianças serão infectadas pelo hRSV pelo menos uma vez, podendo ter reinfeções frequentes ao longo da vida [5].

A incidência global do hRSV é alarmante, segundo informações da Organização Mundial da Saúde (OMS) [6] anualmente o hRSV causa cerca de 33 milhões de infecções respiratórias associada ao vírus em crianças menores de cinco anos. No Brasil, segundo informações divulgadas pela Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) em dezembro de 2025, o vírus hRSV permaneceu como um dos principais agentes causadores de Síndrome Respiratória Aguda Graves (SRAG), especialmente entre crianças menores de cinco anos [7]. Neste ano epidemiológico, o hRSV foi responsável por 37.4% dos casos positivos de SRAG, sendo superado apenas pelo Rinovírus, em que observou-se uma incidência de 42.4% [8].

As manifestações clínicas mais graves, que são apresentadas principalmente por bronquiolite e pneumonia viral, reforçam a importância de estratégias de prevenção e tratamento para o hRSV, principalmente em populações vulneráveis, onde segundo a OMS, estão mais de 90% das mortes causadas por esse vírus [6].

Embora avanços recentes tenham ampliado as estratégias de prevenção contra o hRSV, incluindo a aprovação de vacinas para imunização materna durante a gestação e o desenvolvimento de anticorpos monoclonais de longa duração, como o *nirsevimab*, esses recursos permanecem inacessíveis para grande parte da população global, especialmente em países de

baixa e média renda como evidenciado por Griffiths e colaboradores [9]. Conforme discutido por Kelleher e colaboradores [10], o custo elevado e os desafios logísticos associados à implementação em larga escala ainda dificultam a proteção efetiva das populações mais vulneráveis.

Diante disso, a modelagem matemática é uma maneira de compreender a dinâmica do vírus com relação ao hospedeiro, e assim prosseguir nas pesquisas sobre o agente patológico, permitindo descrever fenômenos biológicos por meio de representações formais, capturando a dinâmica temporal e quantitativa dos processos em estudos. Além disso, seu potencial de reunir dados experimentais diversos em uma estrutura teórica consistente, torna a modelagem matemática uma ferramenta substancial para o estudo de infecções virais e outros sistemas biológicos igualmente complexos.

A Modelagem Matemática aplicada a virologia vem sendo utilizada a muito tempo nessa linha de pesquisa, contribuindo na investigação de vírus como HIV, influenza, SARS-CoV-2, entre outros, permitindo estimar parâmetros biológicos, simular intervenções terapêuticas e compreender a evolução de infecções em diferentes níveis [11].

Apesar do uso recorrente da modelagem matemática no estudo de infecções virais, ainda existem campos que poderiam ser mais explorados. Em vírus como o HIV e a influenza, por exemplo, além dos modelos epidemiológicos que analisam como a infecção se espalha na população, estudos mais detalhados sobre a dinâmica do vírus dentro do organismo, especialmente em suas células-alvo são bastante explorados [12, 13].

Os modelos denominados intra-hospedeiro tentam representar a dinâmica viral considerando variáveis como a taxa de infecção de células saudáveis, a produção de novas partículas virais, a destruição de células infectadas e a remoção do vírus pelo sistema imune ou por degradação natural, permitindo compreender o ciclo viral e até a avaliação de eficácia de tratamentos e vacinas [14].

No entanto, quando se trata do hRSV, esse tipo de modelagem ainda é pouco explorado na literatura científica. São poucos os trabalhos que propõem modelos matemáticos focados na interação entre o hRSV e as células em ambientes controlados, como culturas celulares *in vitro*.

Considerando que o hRSV é um dos principais responsáveis por infecções respiratórias em crianças menores de dois anos, modelos que ajudem a entender melhor sua dinâmica viral em dados experimentais, podem oferecer um caminho mais preciso para interpretar os mecanismos da infecção e avançar no enfrentamento clínico e científico do vírus.

Outra questão que deve ser abordada a respeito de modelos matemáticos de dinâmicas virais, é a falta de detalhamento metodológico nos processos de estimação de parâmetros, etapa que interfere diretamente na validação e aplicação real dos modelos. A literatura disponível geralmente menciona o uso de ferramentas computacionais para a determinação desses parâmetros, como método de mínimos quadrados, algoritmos genéticos ou abordagens bayesianas, porém como é discutido no trabalho de Miao e colaboradores [15], não fornece descrições detalhadas dos processos envolvidos, nem avaliações rigorosas sobre a identificabi-

lidade dos parâmetros, critérios de ajuste ou análises de sensibilidade, o que pode comprometer a interpretação dos resultados.

Essa ausência de padronização e de maior detalhamento metodológico pode impactar a reprodutibilidade dos estudos, dificultando comparações entre diferentes modelos e, em certa medida, limitando sua aplicação em novos contextos experimentais. Consequentemente, isso pode reduzir o potencial de avanço cumulativo no campo, uma vez que muitos estudos acabam partindo de premissas distintas e adotando critérios de validação variados.

No caso específico do hRSV, esses problemas podem ser maior, dada a escassez de estudos que relatam sobre a modelagem da dinâmica vírus-células em dados experimentais *in vitro*. Por mais que existam diversos modelos matemáticos voltados para a dinâmica do hRSV, a maior parte se concentra na resposta imunológica ou no impacto de terapias antivirais [16, 17], já alguns outros estudos abordam a comparação entre a dinâmica do hRSV com outro vírus respiratório, sendo a influenza o mais frequente [18].

Assim, dificuldades ainda se encontram, principalmente no uso de culturas celulares permissivas ao hRSV que se aproximem do modelo humano, nas diferenças entre as cepas do vírus, na falta de dados experimentais para calibrar os modelos matemáticos e na complexidade de tais modelos, um obstáculo na determinação do excesso de parâmetros.

Diante deste panorama, o presente trabalho tem como objetivo principal avaliar se o Modelo da Dinâmica Viral desenvolvido por Nowak e May [19] e Perelson e colaboradores [20] pode representar de forma adequada a dinâmica da infecção por hRSV em culturas celulares.

O modelo básico da dinâmica viral, aplicado neste trabalho, considera três populações dinâmicas principais: células suscetíveis (não infectadas), células infectadas e partículas virais livres, incorporando as interações fundamentais entre essas populações. A partir de dados experimentais obtidos em ensaios *in vitro*, pretende-se ajustar os parâmetros do modelo utilizando técnicas de otimização numérica, com avaliação da qualidade do ajuste e da capacidade do modelo em reproduzir a dinâmica observada, utilizando técnicas numéricas para resolver o modelo.

Para uma descrição minuciosa desta pesquisa, além do primeiro capítulo referente à introdução, tem-se mais quatro capítulos. No capítulo dois será descrito uma revisão de literatura sobre modelos aplicados a virologia, fazendo uma imersão aos modelos mais utilizados, mas focando em modelos com sistema de equações diferenciais e métodos de estimação de parâmetros por otimização.

O terceiro capítulo apresenta informações sobre as metodologias utilizadas na pesquisa, desde a coleta de dados, o modelo matemático adotado, os métodos de ajustes de parâmetros, além da resolução numérica da Equação Diferencial Ordinária (EDO) e as métricas de avaliação para o ajuste do modelo.

No quarto capítulo, são expostos os resultados obtidos, desde os resultados de laboratórios, até os resultados com o modelo aplicado aos dados, comparando com trabalhos

consolidados e discutindo os pontos fortes e as limitações que a presente pesquisa obteve. Por fim apresenta-se as considerações e perspectivas futuras para a continuidade desta pesquisa.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

Neste capítulo são descritos a conceitualização do vírus hRSV, bem como suas consequências a saúde da população. Além disso, buscando realizar uma contextualização a partir dos conceitos e das estruturas dos modelos virais, são apresentadas as principais abordagens e utilização de modelos matemáticos aplicados a virologia. Esta seção constitui-se como fundamento para a discussão do modelo adotado, que é realizada no capítulo de materiais e métodos.

### 2.1 O VÍRUS hRSV

O hRSV é um agente viral, que pode causar prejuízos a saúde da população, especialmente por causa de casos graves de infecções respiratórias. Atingindo principalmente crianças pequenas, idosos e indivíduos com comorbidades, é uma das causas mais comuns de hospitalização devido a infecções respiratórias em crianças menores de dois anos [21].

No Brasil, de acordo com o Boletim InfoGripe [8], divulgado pela fundação Oswaldo Cruz em dezembro de 2025, o hRSV foi responsável por 37.4% da Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG), em relação a outros vírus, durante o ano de 2025, sendo uma das principais causas de morte em crianças pequenas por SRAG.

O ciclo de vida do hRSV inicia-se com sua transmissão, que ocorre pelo contato direto com secreções respiratórias contaminadas ou por gotículas dispersas no ar. Após alcançar o trato respiratório, o genoma do vírus, composto por RNA, é então transcrito e replicado no citoplasma da célula infectada, onde também ocorre a tradução das proteínas virais necessárias para a formação de novos vírus. Esses novos vírus são liberados, resultando na morte da célula hospedeira [22].

A patogênese do hRSV é associada à resposta inflamatória do hospedeiro, particularmente nas vias respiratórias inferiores. A formação de sincícios, vem da fusão de células infectadas, contribuindo para a obstrução dos bronquíolos e dificultando a respiração. Além disso, a infecção pelo hRSV leva à produção excessiva de muco, a descamação do epitélio e a infiltração de células imunes, o que leva ao acúmulo de detritos celulares e secreções que agravam o bloqueio das vias aéreas, causando sintomas como tosse, chiado e dificuldade respiratória [23].

Em crianças, os sintomas costumam ser mais graves, podendo ser a causa de SRAG, que podem se manifestar como bronquiolite, pneumonia e bronquite. Após a infecção o sistema fica imune ao vírus por um período, mas segundo Domachowske e colaboradores [24] devido a variação genética do vírus e a curta imunidade que é produzida após a infecção, a maioria dos indivíduos acabam sendo infectados por hRSV mais de uma vez ao longo da vida.

A potência global de infecção por hRSV é elevada, com estimativas sugerindo

que, até o segundo ano de vida, quase todas as crianças serão infectadas pelo vírus, e muitas delas com infecções recorrentes ao longo da vida [6]. As taxas de infecção, hospitalização ou mortalidade, mostram como o hRSV é um vírus resistente ao longo do tempo, que causa em média anualmente a morte de 100 mil crianças menores que 5 anos [25].

O diagnóstico do hRSV, pode ser feito por diferentes métodos. Segundo *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) [26], a Reação em Cadeia de Polimerase (PCR), é considerada a mais sensível e específica para detectar o RNA viral, porém quando o tempo de resposta pode ser crítico, os métodos mais utilizados são os testes rápidos de antígenos, que apresentam menor sensibilidade principalmente em adultos. Assim o método para o diagnóstico deve ser escolhido, dependendo da disponibilidade técnica, idade do paciente e tempo de evolução dos sintomas.

Para o tratamento, não há antivirais específicos amplamente disponíveis para o hRSV, e em casos não graves os cuidados são: manter a hidratação, controlar a febre e garantir a limpeza das vias aéreas. Em casos graves, como na bronquiolite, onde há insuficiência respiratória aguda, pode ser necessário o uso de ventilação mecânica [27].

A prevenção com *Palivizumabe*, um anticorpo monoclonal humanizado, tem mostrado eficácia na prevenção de infecções graves em lactentes de alto risco, reduzindo em cerca de 56% hospitalizações [28]. O *Nirsevimabe* outro anticorpo monoclonal, também é indicado como prevenção a infecções graves causadas pelo hRSV, no mesmo público alvo. Diferente do *Palivizumabe*, o *Nirsevimabe* é aplicado em dose única e tem longa duração, sendo administrado uma vez durante a temporada do vírus [29]. No entanto essas drogas possuem custos elevados, principalmente o *Palivizumabe*, além de apresentarem efeitos adversos como reações no local da aplicação, febre e erupções cutâneas, e em casos raros anafilaxia [30]. Sendo assim, a administração dessas drogas é feita em casos específicos, levando em consideração os riscos ao paciente.

Recentemente vacinas foram desenvolvidas para idosos com mais de 60 anos, contra o hRSV, o *Arexvy* e *Abrysvo*. A segunda também é indicada para gestantes entre a 32ª e 36ª semanas, com o intuito de transferir anticorpos ao feto, proporcionando proteção aos recém-nascidos contra infecções graves pelo hRSV nos primeiros meses de vida [30]. Ressalta-se ainda que, no Brasil, o *Palivizumabe*, o *Nirsevimabe* e o *Abrysvo* são oferecidos pelo SUS, enquanto que o *Arexvy* somente pela rede privada.

Diante do exposto, uma melhor compreensão do ciclo e patogênese do hRSV é de grande importância para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas e para isso a modelagem matemática da interação entre o vírus e as células infectadas podem ser muito útil. Uma compreensão mais detalhada sobre a dinâmica das células com o vírus pode ajudar no caminho para o desenvolvimento de tratamentos eficazes e vacinas que protejam a população em geral.

Assim, a próxima seção discorre sobre o uso de modelos matemáticos na virologia, suas diferentes aplicações e objetivos, a fim contextualizar o modelo adotado na pesquisa

e mostrar diferentes utilização da modelagem.

## 2.2 MODELOS MATEMÁTICOS E VIROLOGIA

A Modelagem Matemática aplicada a virologia, desde sua origem está em constante evolução, sendo uma ferramenta importante para compreender dinâmicas de infecções virais em populações humanas e animais. Inicialmente desenvolvido para a previsão de curvas epidêmicas, esse campo de estudo se expandiu e, atualmente, incorpora diferentes abordagens, com objetivos distintos, podendo oferecer ferramentas para avaliar intervenções, planejar respostas sanitárias e, até mesmo, fundamentar políticas de saúde pública [31].

Nesta seção, é apresentada uma revisão dos principais paradigmas de modelagem na virologia, mostrando sua aplicabilidade em diferentes contextos virais, destacando as características, vantagens e limitações de cada teoria, além de demonstrar a relevância de tais modelos para validar o presente trabalho.

### 2.2.1 Modelos Matemáticos

A Modelagem Matemática, em sua definição mais ampla, constitui uma metodologia que busca, representar e analisar diferentes tipos de sistemas e fenômenos, por meio de ferramentas quantitativas. Ao formalizar relações de causa e efeito em equações ou algoritmos, os modelos fornecem uma linguagem comum para a interpretação de dados e princípios teóricos, facilitando o entendimento de cenários alternativos sem a necessidade de experimentação direta [32].

Ao traduzir fenômenos em modelos matemáticos, é possível compreender suas dinâmicas, prever seus comportamentos futuros e tomar decisões com base nas informações apresentadas por simulações e análises quantitativas. A modelagem pode ser aplicada em diferentes áreas, como física, economia, biologia, engenharia e ciências sociais, fornecendo uma ferramenta para a resolução de problemas complexos [32].

No âmbito da virologia, a modelagem matemática desempenha papel estratégico na compreensão da transmissão de patógenos, da dinâmica de infecção e da resposta imunológica [33].

### 2.2.2 Modelos de Lotka-Volterra adaptados a Dinâmica Viral

Os modelos de Lotka-Volterra são do tipo presa-predador, ou seja, descrevem a interação entre duas espécies. Foi desenvolvido independentemente por Alfred J. Lotka (1880-1949) e Vito Volterra (1860-1940). Em 1926 Vito Volterra deduziu um modelo simples que descrevia a interação entre alguns peixes do Mar Adriático e seus predadores descrevendo os níveis oscilatórios que esses peixes apresentavam, porém em 1925 Alfred Lotka já havia deduzido as mesmas equações para descrever o comportamento oscilatório de algumas reações químicas, desde modo o modelo recebeu o nome dos seus dois criadores [34].

Esses tipos de modelos foram desenvolvidos para descrever relações ecológicas de predação e competição, mas podem ser adaptados para uma variedade de contextos na biologia, incluindo a dinâmica de infecções virais. Esses modelos são compostos por sistemas de equações diferenciais que descrevem a interação entre duas populações ao longo do tempo.

A formulação matemática do modelo clássico é dado pelo sistema de equações 2.1:

$$\begin{cases} \frac{dx}{dt} = \alpha x - \beta xy \\ \frac{dy}{dt} = \delta xy - \gamma y \end{cases}, \quad (2.1)$$

onde  $\alpha$  é a taxa de crescimento da população de presas na ausência de predadores,  $\gamma$  é a taxa de declínio da população de predadores na ausência de presas,  $\beta$  é a medida do efeito da interação das espécies no crescimento da presa e  $\delta$  é a medida do efeito da interação das espécies no crescimento do predador [34].

No contexto da virologia, essas populações geralmente correspondem ao vírus e às células hospedeiras suscetíveis, ou ainda, a diferentes variantes virais competindo por recursos dentro do mesmo ambiente intracelular [19, 35].

Da forma similar ao sistema original, o vírus depende diretamente da presença das células hospedeiras para se replicar, enquanto a infecção promove a redução da população de células não infectadas. Essa dinâmica gera ciclos de crescimento e declínio populacional, caracterizando uma interdependência que sempre é encontrada em sistemas ecológicos.

A primeira equação do sistema 2.1 descreve o crescimento das células suscetíveis, considerando um crescimento exponencial na ausência do vírus, que torna-se limitado pela infecção a partir da interação com as partículas virais. A segunda equação representa a dinâmica do vírus, cujo crescimento depende da interação com células suscetíveis, levando à produção de novas partículas virais, e cuja redução ocorre devido ao decaimento natural ou remoção do sistema.

Além das interações entre vírus e células, a formulação Lotka-Volterra tem sido empregada para estudar a competição entre diferentes variantes virais. Essa abordagem permite modelar cenários nos quais duas ou mais cepas competem pelos mesmos recursos celulares, analisando características como taxas de replicação e competitividade, que determinam se uma variante dominará, se ambas coexistirão ou se haverá alternância na predominância ao longo do tempo [35]. A equação geral para a competição entre  $n$  variantes virais é expressa em (2.2) (adaptado de [34]).

$$\frac{dN_i}{dt} = r_i N_i \left( 1 - \sum_{j=1}^n \alpha_{ij} \frac{N_j}{K} \right), \quad (2.2)$$

em que  $N_i$  representa a população da variante viral  $i$ ,  $r_i$  é a taxa de crescimento intrínseca dessa variante,  $K$  é a capacidade de suporte do sistema, limitada pela disponibilidade de células

alvo ou recursos intracelulares, e  $\alpha_{ij}$  é o coeficiente de competição que quantifica o efeito da variante  $j$  sobre o crescimento da variante  $i$ . Quando  $\alpha_{ij} = 1$ , a competição é direta e simétrica; valores diferentes de 1 indicam competição assimétrica, podendo representar vantagens ou desvantagens competitivas de determinadas variantes.

Trabalhos como o de Gjini e Martins [35] ilustra claramente essa aplicação, utilizando o formalismo de Lotka-Volterra para avaliar a competição entre cepas virais e compreender, quantitativamente, a aptidão relativa de cada uma delas em diferentes condições ambientais ou sob distintas pressões seletivas. Aplicado a virologia, essas formulações permitem entender tanto a dinâmica da infecção quanto os mecanismos de competição entre linhagens virais.

De acordo com Nowak e May [19], que apresentam modelos baseados na estrutura de Lotka-Volterra, para descrever a dinâmica entre vírus e células, assim como a interação entre o vírus e a resposta imune, o modelo assume que, enquanto houver células suscetíveis disponíveis, a carga viral tende a crescer. No entanto, com a progressiva infecção e destruição dessas células, o próprio vírus enfrenta uma limitação em sua replicação, o que leva, eventualmente, a um declínio na população viral. Ainda no trabalho de Nowak e May [19], foi proposto um modelo onde a resposta imune é tratada como predador, que está atrás da presa, no caso o vírus.

De forma geral, a transposição do modelo Lotka-Volterra do domínio ecológico para a virologia pode ajudar a descrever tanto a interação fundamental entre vírus e células quanto a dinâmica competitiva entre diferentes variantes virais. Apesar de simples, o modelo proporciona uma compreensão dos processos a infecção viral. Além disso, oferece uma base conceitual para o desenvolvimento de modelos mais complexos que incorporem mais elementos da dinâmica viral.

### 2.2.3 Modelos SIR

O uso de modelos matemáticos para descrever infecções virais teve início no século *XX*, com os primeiros modelos epidemiológicos baseados em equações diferenciais e desde então vem sendo impulsionado por grandes surtos virais, como a gripe espanhola (1918) e, mais recentemente, a pandemia de COVID-19, em que modelos matemáticos desempenharam um papel fundamental na previsão e disseminação do vírus, na avaliação da eficácia das intervenções e no planejamento de políticas de saúde pública [36].

O trabalho de Kermack e Mckendrick [37] introduziu os modelos denominados SIR (Suscetíveis, Infectados, Recuperados), os primeiros modelos que ajudavam a descrever a propagação de doenças infecciosas em uma população. Surgindo inicialmente para modelar a epidemiologia de doenças bacterianas, o modelo em pouco tempo foi adaptado também para infecções virais. Esse trabalho representou um marco na epidemiologia matemática, uma vez que ajudou a explicar por que algumas epidemias cessam espontaneamente, mesmo sem intervenção externa, o que só foi possível compreender ao interpretar o modelo criado.

A estrutura do modelo é baseada na divisão da população em três compartimentos principais: indivíduos suscetíveis ( $S$ ), indivíduos infectados ( $I$ ) e indivíduos removidos ( $R$ ) — que são aqueles que se recuperaram, adquirindo imunidade, ou que faleceram devido à infecção. A dinâmica das transições entre esses compartimentos é descrita por um sistema de equações diferenciais ordinárias que captura como os indivíduos passam de suscetíveis para infectados e, posteriormente, para removidos. No trabalho de Kermack e Mckendrick [37], o modelo é representado matematicamente pelo sistema de equações (2.3):

$$\begin{cases} \frac{dS(t)}{dt} = -\beta S(t)I(t) \\ \frac{dI(t)}{dt} = \beta S(t)I(t) - \gamma I(t) \\ \frac{dR(t)}{dt} = \gamma I(t) \end{cases}, \quad (2.3)$$

onde  $S(t)$  é o número de indivíduos suscetíveis no tempo  $t$ ;  $I(t)$  o número de indivíduos infectados (capazes de transmitir a doença) no tempo  $t$  e  $R(t)$  o número de indivíduos removidos (recuperados ou mortos) no tempo  $t$ ,  $\beta$  representa taxa de transmissão da doença, isto é, a taxa de contato entre suscetíveis e infectados capaz de gerar novas infecções e  $\gamma$  a taxa de recuperação ou remoção, representando o inverso do tempo médio de infecção.

Modelos de dinâmica intra-hospedeiro, como o utilizado nesta pesquisa, compartilham estrutura compartimental básica análoga dos modelos epidemiológicos clássicos do tipo SIR, diferindo principalmente pela explicitação do patógeno como variável dinâmica. Trabalhos de modelagem multiescala, como o discutido por Steinmeyer e colaboradores [38], discutem como modelos intra-hospedeiro podem fornecer uma base para a formulação e parametrização de modelos epidemiológicos, estabelecendo uma conexão formal entre as duas abordagens.

Desde sua criação o modelo SIR tem sido expandido de acordo com informações adicionais ou novos termos que se deseja estudar, fazendo surgir assim inúmeros modelos derivados, como os SEIR, SIRS, SIS, entre outros, que incorporam diferentes características, como períodos de incubação, perda de imunidade, vacinação e heterogeneidade populacional [39]. Essa facilidade em se adicionar novos termos ao modelo possibilitou sua aplicabilidade em diferentes contextos epidemiológicos.

O trabalho de Grenfell e colaboradores [40] mostra o modelo aplicado a sarampo, já Chowell e colaboradores [41] estudou o modelo SIR com sazonalidade para analisar os surtos de influenza A (H3N2) nos Estados Unidos, avaliando o impacto da vacinação e da imunidade natural. Hethcote [42] modelou surtos sazonais e avaliou campanhas de vacinação. Durante a pandemia de COVID-19, o modelo SIR e suas variantes foram utilizados para prever picos de infecção, avaliar impactos de medidas de distanciamento social e orientar políticas públicas de contenção [43], principalmente no início, que se buscava respostas rápidas. A literatura científica apresenta a versatilidade do SIR, em diferentes infecções virais.

Uma das vantagens do modelo SIR é sua capacidade de capturar, de maneira

simples e analítica, os mecanismos fundamentais de propagação de uma doença infecciosa. A partir do modelo, deriva-se o conceito central de Número Básico de Reprodução  $\left(R_0 = \frac{\beta}{\gamma}\right)$ , que quantifica a capacidade de disseminação da doença. Este parâmetro tornou-se um dos indicadores epidemiológicos mais relevantes tanto na pesquisa científica quanto na formulação de políticas públicas [44].

Já analisando matematicamente o modelo permite encontrar pontos de equilíbrio, análise de estabilidade e limites assintóticos, além de um baixo custo computacional, podendo ser analisado com métodos numéricos e analíticos simples. Todos esses pontos, que unem fácil interpretação biológica, facilidade de extensão e estabilidade matemática, garantiu grande reconhecimento ao modelo SIR.

O modelo tem uma estrutura epidemiológica focada em como os vírus se disseminam, mas a partir do mesmo conceito, com equações diferenciais e separações por populações também é possível analisar a dinâmica da infecção dentro do hospedeiro, como nos modelos focados em células-vírus, que é o proposto nessa pesquisa. Assim o modelo SIR é um dos modelos formados por equações diferenciais mais usados, com várias adaptações em toda área da virologia.

Representando um marco, não somente na história da epidemiologia matemática, mas também na modelagem de processos dinâmicos em sistemas biológicos usando equações diferenciais, o modelo SIR, continua sendo uma ferramenta didática e com base conceitual para a formulação de modelos matemáticos mais sofisticados. É importante destacar que, embora o modelo SIR desempenhe um papel fundamental na história da epidemiologia matemática e forneça uma base conceitual importante para a modelagem de processos infecciosos, ele não é o modelo adotado neste trabalho. O modelo SIR é essencialmente um modelo epidemiológico populacional, voltado para a descrição da disseminação de doenças infecciosas entre indivíduos em uma população.

No presente estudo, o foco está na dinâmica intra-hospedeiro da infecção viral, especificamente na interação entre células suscetíveis, células infectadas e partículas virais livres em culturas celulares *in vitro*. Para esse tipo de abordagem, modelos epidemiológicos clássicos como o SIR não são adequados para descrever os mecanismos biológicos envolvidos no ciclo de infecção viral em nível celular.

Assim, o modelo SIR é apresentado nesta seção apenas como referência histórica e conceitual, servindo de base para a compreensão da evolução da modelagem matemática em virologia. O modelo efetivamente utilizado neste trabalho é o modelo de dinâmica viral proposto por Nowak e May [19] e Perelson e colaboradores [20], apresentado na Seção 2.2.4, o qual é especificamente formulado para descrever interações célula-vírus em nível intra-hospedeiro.

### 2.2.4 Modelo da Dinâmica Viral

Similar ao modelo SIR que usa um sistema de equações diferenciais para descrever a epidemiologia de infecções virais, o modelo formalizado por Nowak e May [19], utiliza uma estrutura parecida para modelar a dinâmica do vírus com as células-alvos. O foco da modelagem passa a incluir a compreensão da dinâmica do vírus no interior do hospedeiro, em particular de sua interação com as células suscetíveis ao longo do processo de infecção.

O modelo é definido pelo sistema de equações 2.4, adaptado de [19]:

$$\begin{cases} \frac{dT(t)}{dt} = a - bT(t) - \beta T(t)V(t) \\ \frac{dI(t)}{dt} = \beta T(t)V(t) - \delta I(t) \\ \frac{dV(t)}{dt} = pI(t) - cV(t) \end{cases} . \quad (2.4)$$

O modelo básico da dinâmica viral tem como variáveis as células não infectadas ( $T$ ), células infectadas ( $I$ ) e vírus ( $V$ ). Além disso inclui a taxa de produção ( $a$ ) e mortalidade ( $b$ ) das células não infectadas, taxa de infecção ( $\beta$ ) e mortalidade das células infectadas ( $\delta$ ), taxa de produção ( $p$ ) e remoção ( $c$ ) das partículas virais, abrangendo assim as principais interações das células com os vírus.

Foi proposto inicialmente por Perelson e colaboradores [14] aplicado ao vírus do HIV, mas acabou sendo adaptado a diversos outros tipos de vírus, incluindo os vírus respiratórios. Atualmente, existem diversas versões do modelo que inclui resposta imune, ou alguma terapia viral.

Devido a sua simples adaptação para diferentes cenários e para diferentes tipos de vírus, o modelo é descrito em diversas pesquisas. Dentre as aplicações mais relevantes está o trabalho pioneiro sobre influenza desenvolvido por Baccam e colaboradores [45], que utilizou dados *in vivo* para modelar a dinâmica do vírus influenza nas células do trato respiratório. A principal adaptação realizada foi a eliminação da taxa de produção das células, visto que a influenza causa uma infecção de curta duração, o que elimina a necessidade do parâmetro ( $a$ ). Além disso ele adicionou novas equações que incluíam a interação do sistema imunológico na infecção viral. No estudo realizado por Neumann e colaboradores [46], o modelo é aplicado ao vírus da hepatite C, que nesse caso necessitou de todos os elementos para descrever adequadamente a dinâmica prolongada do vírus. Essa pesquisa permitiu observar a eficácia de terapias como o *interferon* (proteína que inibe a replicação viral) e entender os mecanismos de supressão viral.

A capacidade do modelo de integrar dados experimentais diversos, foi discutida por Ciupe e Heffernan [47]. Nesse trabalho os autores destacaram como modelos intrahospedeiro podem ser aplicados em diferentes contextos virais, mesmo quando os dados disponíveis são limitados. Destacando também o uso em análises comparativas entre cepas e estratégias de tratamento, o que pode ajudar a reduzir o tempo de pesquisa e escolha para as melhores formas de tratamento.

Mesmo após avanços conceituais/metodológicos e adaptações feitas a partir do modelo clássico, no trabalho de Ciupe e colaboradores [48], é discutido que mesmo existindo versões mais completas do modelo, que captura detalhes adicionais, a formulação clássica ainda é de grande valor, principalmente quando deseja entender o comportamento básico da interação célula-vírus, por fornecer parâmetros biologicamente interpretáveis com certa simplicidade.

Apesar de ter sido utilizado inicialmente em dados *in vivo*, sua aplicação em dados *in vitro* pode apresentar vantagens metodológicas, já que a estrutura do modelo é capaz de captar processos biológicos essenciais - infecção, replicação viral e morte celular - exigindo apenas dados básicos de cinética viral e viabilidade celular, sem necessidade de informações adicionais sobre resposta imune (o que em culturas primárias ou linhagens específicas poderia ser de difícil obtenção).

A análise matemática apresentada por Perelson [20] revelou como o sistema pode reproduzir fenômenos como estabilização viral, padrões oscilatórios e transições bifásicas, tornando-se uma ferramenta para a interpretação e previsão de resultados experimentais. A natureza do modelo ainda permite expansões controladas quando necessário, como a inclusão de termos não lineares específicos ou a consideração de subpopulações celulares, sem perder as vantagens conceituais da formulação original.

Desta maneira, o modelo é capaz de equilibrar aspectos biológicos importantes e praticidade matemática. Cada parâmetro tem relação biológica, facilitando a interpretação fisiológica da infecção e o desenho de experimentos voltados para estimação de coeficientes. Como discutido por Beauchemin e Handel [49], a simplicidade do modelo, pelo pequeno número de parâmetros representa uma vantagem, que permite análises qualitativas (como determinação de pontos de equilíbrio e análise de estabilidade) e para estimação de parâmetros, que pode ocorrer em cenários com dados limitados ou ruidosos.

A recorrente utilização do modelo na literatura virológica, desde estudos clássicos até pesquisas recentes, possibilita comparações diretas entre estudos e validação cruzada de resultados. Do ponto de vista computacional, a eficiência numérica do modelo possibilita análises de sensibilidade e exploração sistemática do espaços de parâmetros, aspectos que ajudam pesquisas com dados limitados ou grande variação experimental.

Diante do apresentado, nessa pesquisa optou-se por trabalhar com modelos determinísticos de dinâmica viral baseados em equações diferenciais ordinárias, em particular o modelo de interação célula-vírus proposto por Nowak e May [19] e Perelson e colaboradores [20], que será descrito matematicamente na seção de materiais e métodos. Ao utilizar o modelo apresentado, não só segue uma tradição consolidada na literatura, mas também possibilita que os resultados possam ser comparados com estudos anteriores e validados de forma consistente.

Embora a literatura científica ainda apresente poucos trabalhos que apliquem explicitamente esse tipo de modelo à dinâmica do hRSV em culturas celulares *in vitro*, estudos desenvolvidos para outros vírus respiratórios podem servir como base para a validação metodológica desta pesquisa. E assim ser um passo inicial para uma pesquisa detalhada de como o

hRSV se comporta dentro das células infectadas.

### 2.3 ESTIMAÇÃO DE PARÂMETROS EM MODELAGEM DE VÍRUS

A eficiência dos modelos matemáticos de vírus depende fundamentalmente da precisão da estimação dos parâmetros que descrevem os processos biológicos, como a taxa de infecção, produção viral e remoção de vírus. Os parâmetros são fundamentais para que o modelo reproduza os dados experimentais de maneira fiel e permita avaliar mudanças sobre o comportamento da infecção [14]. Para estimar esses parâmetros são necessários a integração entre dados experimentais, tanto de ensaios *in vitro*, *in vivo* ou clínicos e métodos matemáticos e/ou computacionais capazes de ajustar o modelo aos dados observados [15].

A integração adequada entre dados experimentais e modelos matemáticos não apenas permite descrever a dinâmica observada, mas também realizar previsões, avaliar estratégias terapêuticas e compreender os mecanismos biológicos que regem a infecção.

Mas as dificuldades na estimação de parâmetros não estão relacionadas somente à aplicação do melhor método matemático; entre os principais obstáculos estão a qualidade (ruído, limites de detecção), quantidade (pontos temporais insuficientes) e natureza (viés para fase pós-pico) dos dados disponíveis [50]. Embora os modelos sejam ferramentas poderosas para descrever e prever a dinâmica de infecções virais, sua capacidade de gerar resultados confiáveis depende diretamente dos dados que alimentam esses modelos.

A utilização de dados escassos, de baixa qualidade, com ruídos ou incompletos podem acabar comprometendo a eficiência das estimativas dos parâmetros, o que pode levar a interpretações equivocadas da dinâmica do sistema biológico [51]. Especialmente em pesquisas com dados obtidos de estudos *in vitro*, onde muitas vezes as coletas são realizadas em intervalos largos de tempo, o que pode resultar na perda de informações importantes sobre os eventos rápidos que ocorrem durante o ciclo de replicação viral.

Mesma com toda atenção necessária na extração de dados experimentais, não é incomum apresentarem ruídos provenientes de limitações técnicas. Um exemplo disso está nas técnicas de quantificação viral, sendo as mais utilizadas Dose Infecciosa de Cultura de Tecidos 50% (TCID<sub>50</sub>) e Unidades Formadoras de Placas (PFU). Ainda com toda a técnica avançada não é possível determinar com 100% de eficácia a maioria dos casos onde necessita quantificar vírus [52].

Além disso as variações nas culturas celulares e nas condições que podem ocorrer de um experimento para outro, podem refletir na incerteza dos dados e, se não forem devidamente consideradas durante a estimação dos parâmetros, podem comprometer a confiabilidade dos resultados [53].

Outro problema comum é a presença de dados censurados, especialmente quando as cargas virais caem abaixo do limite de detecção das técnicas laboratoriais. Quando não tratados de maneira adequada, esses dados podem introduzir viés nas estimativas, substi-

mando, por exemplo, taxas de remoção viral ou de morte celular [54].

Também é importante reconhecer que a variabilidade biológica presente em todos os sistemas biológicos reais constitui uma fonte adicional de dificuldade na modelagem matemática. Mesmo em experimentos *in vitro*, as diferenças entre linhagens celulares, variantes virais e condições experimentais podem contribuir para gerar dados únicos que podem não ser diretamente comparáveis [53]. Todas essas variações devem ser consideradas no momento de avaliação do modelo, que pode falhar em capturar comportamentos relevantes do sistema.

Pesquisas realizadas como de Raue e colaboradores [51] e Tuncer e Le [55], discutiram como a combinação de dados limitados, com ruídos e mal distribuídos no tempo podem dificultar ou até mesmo impedir a obtenção de parâmetros confiáveis e na interpretação biológica dos mesmos. Assim mais do que as técnicas matemáticas, a qualidade dos dados irão interferir na qualidade do modelo.

Outra questão que deve ser levantada é a complexidade que certos modelos podem ter. Modelos matemáticos mais realistas, que incluem múltiplas populações celulares, compartimentos teciduais ou resposta imune, tendem a ser altamente não lineares [47], dificultando o ajuste dos parâmetros e aumentando o risco de mínimos locais.

No que diz respeito aos métodos matemáticos para a obtenção dos parâmetros, atualmente existem diversos, que deve ser escolhido com base no objetivo, modelo e nos tipos de dados. A maioria consistem na minimização da diferença entre os dados experimentais e os simulados pelo modelo. Para isso, define-se uma função objetivo, geralmente baseada no Erro Quadrático Médio (MSE) ou na Soma dos Quadrados dos Resíduos (SSR), que é então minimizada por meio de algoritmos de otimização não linear, como Levenberg-Marquardt, Nelder-Mead ou métodos baseados em gradiente [20, 45].

Diversos trabalhos importantes seguiram essa linha para a obtenção de parâmetros. Em Perelson e colaboradores [14], o processo de estimação de parâmetros foi realizado a partir de dados longitudinais de carga viral de pacientes em tratamento, utilizando métodos de ajuste baseados na minimização da soma dos quadrados dos resíduos entre as previsões do modelo e os dados observados. O procedimento envolveu a utilização de algoritmos de otimização não linear, que buscaram encontrar o conjunto de parâmetros que melhor reproduzia as curvas de decaimento viral observadas após o início da terapia antirretroviral.

De maneira similar, Baccam e colaboradores [45] conduziram a estimação dos parâmetros por meio de um ajuste determinístico, aplicando técnicas de otimização baseadas em mínimos quadrados, onde as curvas simuladas foram ajustadas aos dados experimentais de carga viral coletados diariamente em indivíduos infectados com influenza. Ambos os estudos dependeram da definição de uma função objetivo que mede a discrepância entre os dados e as simulações do modelo, além de escolhas cuidadosas sobre os valores iniciais dos parâmetros e as condições de contorno, aspectos que impactam diretamente a qualidade do ajuste e a confiança nas estimativas obtidas.

Diante das dificuldades que aparecem quando se têm funções objetivos alta-

mente não lineares, o que pode conduzir a presença de múltiplos mínimos locais [51], muitos estudos passam a utilizar métodos de otimização global, para aumentar a chance de encontrar o melhor conjunto de parâmetros sem ficar preso em soluções locais. O que pode ser muito útil em modelos aplicados a virologia, principalmente a vírus com grande variação, como é o caso de vírus respiratórios.

Alguns estudos demonstram a eficácia de métodos de otimização global, como algoritmos genéticos (GA), na estimação de parâmetros em modelos epidemiológicos e de dinâmica viral. Por exemplo, Spataru [56] utilizou algoritmos genéticos para estimar parâmetros de um modelo SEIR modificado aplicado à pandemia de COVID-19 na região de Ontário, demonstrando sua eficiência em lidar com espaços paramétricos amplos e não lineares, frequentemente encontrados em modelagens virais.

Assim nota-se que embora os métodos baseados na minimização dos resíduos ainda sejam muitos utilizados, sua eficácia depende diretamente da qualidade dos dados experimentais e da própria estrutura matemática do modelo. E em certos casos, será necessário o uso de métodos de otimização, tanto local quanto global, a fim de melhorar o resultado encontrado.

Diante do exposto, o processo de estimação de parâmetros não deve ser concebido como uma etapa meramente técnica, mas como uma parte importante do desenvolvimento e validação dos modelos. A adoção de práticas que garantam a transparência metodológica, a replicabilidade dos processos de ajuste e a consideração explícita das incertezas nos dados e nos parâmetros é indispensável para a construção de modelos confiáveis e biologicamente consistentes.

Com base nas características do problema de estimação de parâmetros abordado neste trabalho, optou-se pela utilização de uma estratégia de otimização híbrida, combinando um método global e um método local, semelhante a descrita no trabalho de González-Parra [18].

### **2.3.1 Algoritmo Genético (GA)**

Os Algoritmos Genéticos constituem uma classe de métodos estocásticos de otimização baseados nos princípios da seleção natural e da evolução biológica. Foram propostos inicialmente por Holland e colaboradores [57], e desenvolvidos como modelos computacionais capazes de simular o processo adaptativo dos sistemas naturais. Desde sua criação a principal aplicação vêm sendo na resolução de problemas complexos, principalmente aqueles em que a abordagem por métodos determinísticos tradicionais é limitada ou não apresenta bons resultados. Dentre as aplicações, está a estimativa de parâmetros em modelos matemáticos não lineares, que podem se tornar um desafio para a modelagem em algumas situações [58, 59].

A metodologia dos GA foi baseada em analogia com os mecanismos de evolução que estão presentes na natureza. O processo inicia-se com a geração de uma população inicial composta por um conjunto de indivíduos, cada um representando uma solução candidata para o problema de interesse. Em contextos de minimização de funções, como no presente es-

tudo, cada indivíduo corresponde a um vetor de parâmetros a ser ajustado. A qualidade de cada indivíduo é avaliada por meio de uma função de aptidão (ou função objetivo), que quantifica o quão bem aquela solução resolve o problema proposto [59].

Após a avaliação da aptidão de todos os indivíduos da população, realiza-se um processo de seleção voltado à escolha dos indivíduos mais aptos para compor a geração seguinte. Essa seleção busca promover a próxima geração as características mais vantajosas, segundo os princípios da evolução natural. Diversas estratégias podem ser empregadas nesse processo, como a roleta viciada, o torneio e o ranqueamento. Segundo Mitchell [59] todas essas abordagens têm como objetivo favorecer os indivíduos com melhor desempenho, ao mesmo tempo em que mantêm certa diversidade genética na população, de modo que evite a convergência prematura para soluções subótimas.

Uma vez selecionados os indivíduos que atuarão como “indivíduos parentais”, aplica-se o operador de cruzamento (ou recombinação, *crossover*), que combina partes das informações genéticas de dois indivíduos para gerar novos candidatos à solução (ou “soluções candidatas”). Este processo promove a exploração de novas regiões do espaço de busca, uma vez que os filhos podem apresentar características distintas dos pais [57].

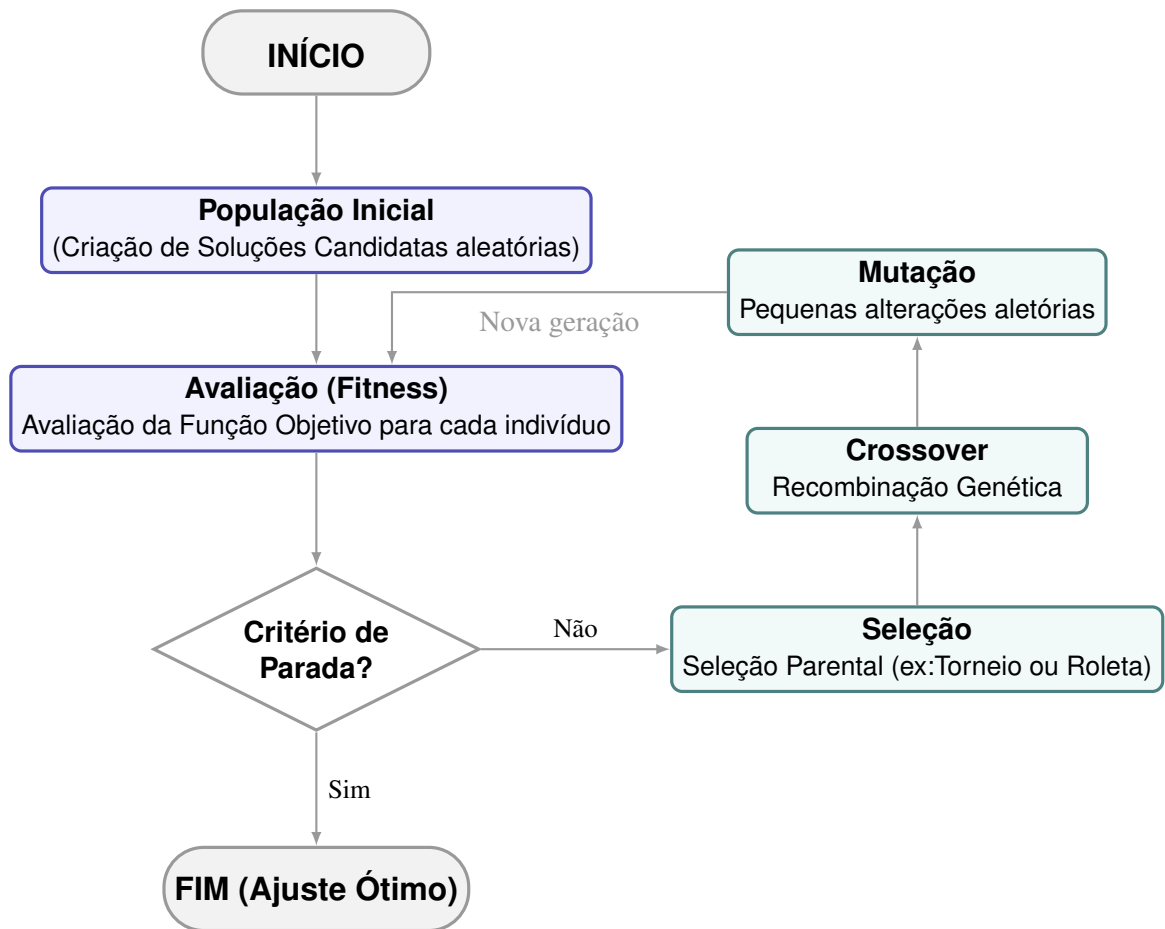
Além do cruzamento, o algoritmo também incorpora o operador de mutação, responsável por introduzir pequenas alterações aleatórias nos indivíduos. A mutação tem como principal objetivo preservar a variação genética da população e evitar a convergência prematura para ótimos locais [58]. Em termos computacionais, a mutação pode consistir na alteração de um ou mais valores do vetor de parâmetros que define um indivíduo. A taxa de mutação é, usualmente, um parâmetro ajustável do algoritmo, devendo ser escolhida de forma a equilibrar a diversidade e a estabilidade populacional.

Além dos operadores citados acima, pode-se usar o elitismo, que consiste em preservar os melhores indivíduos de cada geração. Nesse processo, uma pequena parcela das soluções com melhor desempenho é mantida para a população seguinte sem sofrer alterações, garantindo que bons resultados não sejam perdidos ao longo das iterações [60]. Desta maneira, o uso do elitismo contribui para a estabilidade do algoritmo, favorecendo a convergência, porém deve ser utilizado de forma moderada para não comprometer a diversidade da população.

A nova geração, composta pelos indivíduos resultantes da seleção, cruzamento, mutação e elitismo, substitui total ou parcialmente a geração anterior. O processo é repetido iterativamente por um número pré-estabelecido de gerações ou até que um critério de parada seja atingido. Tal critério pode ser, por exemplo, a convergência dos valores da função objetivo ou a ausência de melhoria significativa ao longo de várias iterações. A Figura 2.1 mostra o algoritmo percorrido pelo GA.

Durante o processo evolutivo, o Algoritmo Genético busca de forma indireta a solução ótima do problema de otimização, ou seja, o conjunto de parâmetros que minimiza a função de erro. Sua principal característica é a capacidade de explorar espaços de busca não lineares e multivariados, frequentemente encontrados em problemas complexos, como o

Figura 2.1: Ciclo evolutivo do Algoritmo Genético.



Fonte: A autora.

ajuste de modelos matemáticos descritos por sistemas de equações diferenciais não lineares [59]. Além disso, por não depender de derivadas ou informações explícitas sobre a função objetivo, o Algoritmo Genético se destaca na resolução de problemas que envolvem múltiplos mínimos locais e não possuem soluções fechadas ou exatas [60, 61].

A aplicação de algoritmos genéticos na estimação de parâmetros tem se mostrado eficaz em diferentes áreas do conhecimento, especialmente na modelagem de processos biológicos [62], como na calibração de modelos SEIR aprimorados com dados de COVID-19, utilizando um GA adaptativo, que permitiu obter melhores ajustes e previsões [63], e na reconstrução de sistemas dinâmicos complexos a partir de séries temporais [64]. Esses estudos demonstram que, mesmo diante de modelos altamente não lineares e multivariados, os algoritmos genéticos são capazes de identificar, com precisão, os parâmetros que melhor descrevem o comportamento observado, superando limitações comuns a métodos determinísticos tradicionais.

### 2.3.2 Programação Quadrática Sequencial (SQP)

O método de Programação Quadrática Sequencial (*Sequential Quadratic Programming* - SQP) é uma das abordagens mais eficazes e utilizadas para resolver problemas de otimização não linear com restrições [65]. Surgiu na década de 1980 desenvolvido por Han (1977) e Powell (1978) e foi baseado nos princípios da otimização restrita e da aproximação sucessiva, apresentado também, como uma evolução dos métodos de otimização baseados nas condições de Karush-Kuhn-Tucker (KKT), sendo descrito por Boggs e Tolle [66] e, posteriormente, refinado em diversos pacotes computacionais, incluindo a função *fmincon* do *MATLAB* [67].

O método é especialmente eficaz na resolução de problemas suaves (isto é, com funções objetivo e restrições continuamente diferenciáveis), o que se encaixa com modelos de EDOs. A ideia principal do método é baseada na formulação e resolução iterativa de subproblemas de programação quadrática, que servem como aproximações locais do problema original.

Essas aproximações são obtidas por meio de expansões de Taylor da função objetivo e das funções que definem as restrições, mais precisamente, a cada iteração do método, constrói-se um subproblema baseado em uma expansão de segunda ordem da função Lagrangiana, que unifica a função objetivo e as restrições por meio de multiplicadores de Lagrange. A solução deste subproblema fornece uma direção de busca que é utilizada para atualizar os parâmetros de decisão na iteração seguinte [68].

A função Lagrangiana associada ao problema de otimização com restrições é expressa como 2.5, adaptado de [65]:

$$\mathcal{L}(x, \lambda, \nu) = f(x) + \sum_{i=1}^m \lambda_i c_i(x) + \sum_{j=1}^p \nu_j h_j(x), \quad (2.5)$$

em que:

- $f(x)$  é a **função objetivo** a ser minimizada;
- $c_i(x) \leq 0$  representa as **restrições de desigualdade** ( $i = 1, \dots, m$ );
- $h_j(x) = 0$  representa as **restrições de igualdade** ( $j = 1, \dots, p$ );
- $\lambda_i$  e  $\nu_j$  são os **multiplicadores de Lagrange**.

A cada passo do algoritmo SQP, resolve-se o seguinte subproblema de programação quadrática (QP):

$$\begin{aligned} \min_d \quad & \nabla f(x)^T d + \frac{1}{2} d^T H d \\ \text{sujeito a} \quad & \nabla c_i(x)^T d + c_i(x) \leq 0, \\ & \nabla h_j(x)^T d + h_j(x) = 0, \end{aligned} \quad (2.6)$$

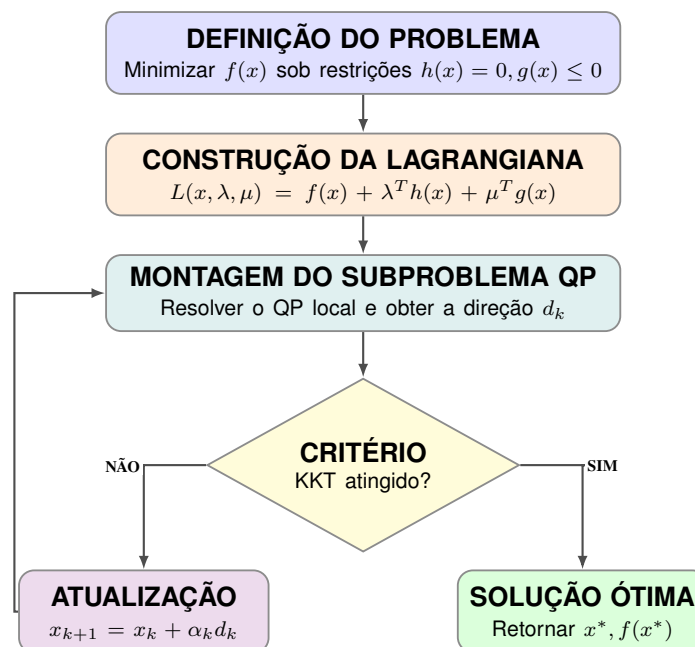
onde:

- $d \in \mathbb{R}^n$  é o **vetor direção de busca**;
- $\nabla f(x)$  é o **gradiente da função objetivo**;
- $H$  é uma **aproximação da Hessiana** da Lagrangiana  $\mathcal{L}(x, \lambda, \nu)$ ;
- $\nabla c_i(x)$  e  $\nabla h_j(x)$  são os **gradientes das funções de restrição**.

O subproblema é resolvido a cada iteração, e o vetor  $d$  encontrado é utilizado em um procedimento de busca linear para atualizar a solução  $x$ . O processo é repetido até que critérios de convergência sejam satisfeitos.

Uma vez resolvido esta questão, a nova iteração é calculada usando uma estratégia de busca linear ou de região de confiança, de modo a garantir a diminuição do valor da função objetivo e a viabilidade das restrições. A atualização da matriz Hessiana é frequentemente realizada por meio de métodos quase-Newton, como BFGS (Broyden–Fletcher–Goldfarb–Shanno), que garantem uma boa aproximação da curvatura com menor custo computacional [66]. A Figura 2.2 mostra o algoritmo percorrido pelo SQP.

Figura 2.2: Fluxograma reduzido do Método SQP.



Fonte: A autora.

Uma das principais vantagens do método SQP é sua elevada taxa de convergência quando se encontra próximo da solução ótima, sobretudo em problemas com estruturas suaves e bem condicionadas [65]. De acordo com Boggs e Tolle [66] a convergência do método SQP para uma solução ótima local depende de condições de regularidade, como a qualificação de restrições de Mangasarian-Fromovitz e a positividade definida da matriz Hessiana da

Lagrangiana. Quando essas condições são satisfeitas, o método apresenta superlinearidade na convergência, o que o torna altamente eficiente em problemas suaves [66]. Além disso, o uso da matriz hessiana da Lagrangiana confere ao algoritmo uma sensibilidade à curvatura do problema, favorecendo a convergência para ótimos locais com boa precisão.

Na prática, o algoritmo SQP é especialmente eficaz em problemas com número moderado de variáveis e restrições, apresentando desempenho superior quando boas estimativas iniciais estão disponíveis. Por essa razão, em muitas aplicações, ele é utilizado em conjunto com métodos globais, como algoritmos genéticos, como etapa de refino local da solução [69].

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

Nessa seção serão apresentados os aspectos metodológicos adotados na pesquisa, bem como os procedimentos para coleta de dados, o modelo matemático definido, e os métodos de obtenção de parâmetros, descrevendo os processos que levaram aos resultados obtidos.

#### 3.1 COLETA DE DADOS

Os dados experimentais utilizados nesta pesquisa foram obtidos no Laboratório de Imunologia Celular e Molecular da Faculdade de Ciências e Letras de Assis (FCLA), da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"(UNESP), coordenado pela Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Karina Alvez de Toledo. Os experimentos laboratoriais foram realizados pela aluna de iniciação científica Gabriela Kimi Okamoto Ohashi, do curso de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, sob a orientação da Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Karina Alves de Toledo.

A linhagem de células A549 utilizadas, tem origem do epitélio pulmonar humano derivadas de adenocarcinoma, e foram obtidas no Banco de Dados de Células do Rio de Janeiro (BCRJ ref. 0101), sua escolha foi baseada na literatura por serem células oriundas do trato respiratório humano e permissivas à infecção pelo vírus hRSV [70]. As células foram cultivadas em frascos de cultura de 25cm<sup>2</sup>, em estufa umedecida a 37°C e 5% de CO<sup>2</sup> e meio de cultura DMEM F12 (Sigma ref. D8900-10X1L), suplementado com 10% de soro fetal bovino (Cultilab ref. 0521-500) e acrescido de antibióticos e antimicóticos (Life ref. 15240-062).

Para o vírus foi utilizada a cepa Long do vírus hRSV, cedido pelo Prof. Dr. Eurico de Arruda Neto (Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP).

As células A549 foram cultivadas em placas de 96 poços, o delineamento experimental foi estruturado a partir da combinação de dois fatores principais: a concentração inicial de células e a multiplicidade de infecção (MOI). Três concentrações celulares foram utilizadas como ponto de partida:  $1.0 \times 10^4$ ,  $2.5 \times 10^4$  e  $5 \times 10^4$  células por poço. Cada uma dessas foram infectadas com hRSV em três níveis distintos de Multiplicidade de Infecção (MOI): 0.1, 0.5 e 1.0.

A viabilidade celular foi avaliada diariamente, ao longo de dez dias, por meio de ensaio colorimétrico com sal de MTT (1-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-3,5-Diphenylformazan Thiazolyl blue formazan, Sigma, ref. M2003). A absorbância da solução foi mensurada utilizando equipamento de espectrofotometria (Multiskan<sup>TM</sup> FC Microplate Photometer, ref. 51119000) a 560 nm (referente a coloração azulada resultante da metabolização do sal).

Para a estimação da viabilidade celular, foi realizado a leitura de absorbância, fundamentando-se na capacidade das mitocôndrias de células vivas em metabolizar o sal de MTT. O resultado desse processo bioquímico é a formação de cristais de formazana, que

conferem a solução uma tonalidade arroxeada característica. Desse modo, a intensidade dessa coloração é um indicador direto da atividade metabólica, ou seja, quanto maior a metabolização, mais destaque tem o tom observado.

Como controle experimental, foram utilizadas culturas de células não infectadas, cuja viabilidade celular foi considerada como 100%. Para o processamento dos dados, a absorvância média de um poço contendo apenas DMSO (dimetilsulfóxido puro, usado para a solubilização dos cristais de formazana), correspondente ao valor de 0.049, foi subtraída das leituras obtidas nos poços com células. A porcentagem de viabilidade celular foi então calculada de acordo com a Equação (3.1):

$$\text{Viabilidade} = \frac{\text{Absorvância} - 0.049}{\text{Média do controle} - 0.049} \times 100. \quad (3.1)$$

A partir da porcentagem de viabilidade celular e da concentração inicial de células para cada uma das condições experimentais, foi determinado a população de células viáveis por dia, durante os 10 dias. Para os cinco primeiros dias de infecção, foram realizados quatro experimentos em duplicata, já para os cinco dias finais foram realizados dois experimentos em duplicata, devido a limitações experimentais associados à manutenção estendida das culturas celulares. Para os valores finais utilizados na modelagem, foi utilizado a média das repetições realizadas para cada dia e condição experimental.

Para a obtenção dos dados relacionados aos vírus, foi realizado um protocolo de congelamento dos sobrenadantes, pois a quantificação viral foi realizada de forma indireta através da viabilidade celular, sendo assim, a avaliação do título viral ocorreu em um momento posterior a avaliação da viabilidade celular via MTT. Analogamente ao tratamento dos dados celulares, também foi necessário converter as absorvâncias obtidas nos ensaios de titulação em porcentagem de viabilidade celular através da Equação 3.1.

Após a realização dessa etapa, a viabilidade celular foi convertida em mortalidade celular, subtraindo-se a porcentagem de viabilidade celular de 100%, com isso a mortalidade inicial é de 0%, no primeiro dia do experimento. Eventuais valores negativos de mortalidade, que indicam crescimento celular, foram substituídos por zero, respeitando a restrição física da variável. A partir dos dados de mortalidade, calculou-se a  $TCID_{50}$  (Dose Infectante em Cultura de Tecido 50%) utilizando o Método Melhorado de Kärber [71].

Para a conversão final em unidades de infectividade padrão, a quantificação da carga viral foi realizada utilizando o método de Unidades Formadoras de Placa (PFU), o valor de  $PFU/ml$  foi obtido multiplicando-se a  $TCID_{50}$  pela constante 0.69:

$$PFU/ml = TCID_{50} \times 0.69 \quad (3.2)$$

Os dados relativos às células não infectadas, no experimento denominadas como grupo controle, foram obtidos a partir de experimentos conduzidos de forma indepen-

dente, nos quais as culturas foram mantidas sob as mesmas condições experimentais, mas sem exposição ao vírus. Já os dados das células infectadas e do título viral foram extraídos do experimentos com presença do patógeno.

Esse conjunto de dados oferece condições para a formulação e avaliação de um modelo matemático. A variação controlada na concentração celular inicial e na carga viral permite observar como diferentes regimes de infecção afetam o sistema. Além disso, a repetição das culturas traz a possibilidade de explorar a consistência das respostas experimentais, o que pode contribuir para a análise da variabilidade e para o ajuste confiável dos parâmetros do modelo. Esses registros servem como ponto de partida para o desenvolvimento e a avaliação do modelo proposto, conforme discutido na próxima seção.

### 3.2 MODELO MATEMÁTICO

Na modelagem matemática de sistemas biológicos é comum o uso de equações diferenciais para representar a dinâmica temporal de interações entre populações celulares e agentes patogênicos. Dentre eles, tem-se o modelo que descreve a interação entre células suscetíveis, células infectadas e partículas virais, que surgiu inicialmente na pesquisa sobre HIV desenvolvida por Perelson e colaboradores [14], porém com a fundamentação matemática, proposta por Nowak e May [19] logo foi possível uma generalização para outras populações de vírus.

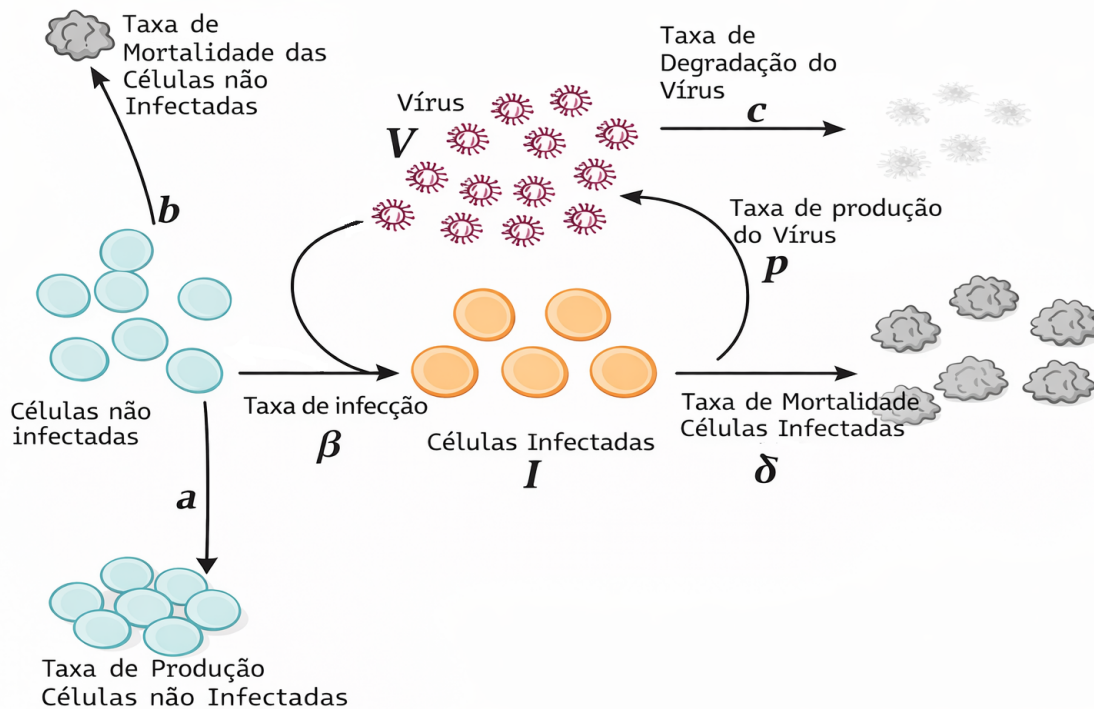
Desde então, essa abordagem tem demonstrado resultados na investigação de mecanismos fundamentais da infecção viral, sendo um possível método de ligação entre observações experimentais e teoria biológica. Isso posto, neste trabalho adota-se o sistema clássico da dinâmica viral, com equações que descrevem a evolução de três variáveis principais: células não infectadas  $T(t)$ , células infectadas  $I(t)$  e partículas virais  $V(t)$ . O modelo é definido pelo seguinte sistema de equações 3.3, adaptado de [19]:

$$\begin{cases} \frac{dT(t)}{dt} = a - bT(t) - \beta T(t)V(t) \\ \frac{dI(t)}{dt} = \beta T(t)V(t) - \delta I(t) \\ \frac{dV(t)}{dt} = pI(t) - cV(t) \end{cases}, \quad (3.3)$$

as células não infectadas  $T$  são produzidas a uma taxa constante  $a$  com uma taxa de mortalidade  $b$  e podem ser infectadas por partículas de vírus  $V$  a uma taxa  $\beta$ , produzindo células infectadas  $I$ . As células infectadas  $I$  têm uma taxa de mortalidade  $\delta$  e produzem partículas virais  $V$  na taxa  $p$ , com uma taxa de degradação  $c$ . A Figura 3.1 exibe a dinâmica do modelo supracitado.

A partir dos dados coletados em laboratório, foi realizado o ajuste dos parâmetros do modelo anterior, com o objetivo de representar a dinâmica do vírus hRSV em células do trato respiratório, aqui representadas por células A549. Cabe destacar que, em função do

Figura 3.1: Dinâmica do Modelo.



Fonte: Adaptado de Iwani e colaboradores [72].

delineamento experimental adotado, não foi possível identificar individualmente quais células encontraram-se infectadas e quais permaneceram não infectadas ao longo do experimento. Dessa forma, no grupo teste, composto por células expostas ao vírus, todas as células foram consideradas como pertencentes à população de células infectadas no contexto da modelagem. Por sua vez, o grupo controle, composto apenas por células, foi utilizado como referência para a dinâmica das células não infectadas. Os métodos utilizados para a determinação dos parâmetros estão descritos a seguir.

### 3.3 AJUSTE DOS PARÂMETROS

Uma importante etapa da modelagem é a determinação dos parâmetros que irão compor o sistema de equações. Esse passo pode ser decisivo para a qualidade final do modelo, onde parâmetros mal ajustados não conseguirão descrever o comportamento dos dados, e nem serem interpretados corretamente. Esta seção descreve quais foram os métodos de obtenção de parâmetros utilizados na presente pesquisa.

Nessa pesquisa optou-se por uma combinação de dois métodos de otimização implementados por funções no *software MATLAB* [67], semelhante a combinação de métodos utilizada por Gonzalez-Parra e Dobrovlny [73], que inicialmente utilizou a função *ga* [74], para uma busca global e, a partir dos valores encontrados por essa função, utilizou a *fmincon* [75] para uma otimização local na função dos parâmetros. A junção dessas duas funções resultou

em parâmetros que colaboraram de forma fundamental para o ajuste de parâmetros.

### 3.3.1 Otimização Global dos Parâmetros

A fim de obter bom ajustes dos parâmetros, definiu-se duas etapas para a estimação dos mesmos. Primeiramente utilizou-se um algoritmo de otimização global, que busca o mínimo na função dos parâmetros, evitando cair em mínimos locais.

Com isso, o primeiro ajuste foi realizado por meio da função *ga* [74] do *MATLAB*, que está disponível no pacote *Global Optimization Toolbox* de otimização. Para a utilização da função, inicialmente foi descrito os dados do problema, sendo as observações das variáveis: células não infectadas, células infectadas e vírus livre. Além disso, foi definido o tempo de observação, que são 10 dias, e o sistema de equações diferenciais que compõem o modelo matemático.

Entre os outros argumentos necessários, estão o estado inicial das três variáveis (células infectadas, células não infectadas e vírus) no primeiro dia, e os limites inferiores e superiores dos parâmetros. Para a configuração correta do *ga* é necessário uma função objetivo, definida a partir do problema a ser resolvido. No caso deste trabalho, a função objetivo minimizava o erro entre a simulação e os dados reais, ou seja minimizava os resíduos através da Soma dos Resíduos ao Quadrado (SSR).

As magnitudes distintas entre os dados experimentais utilizados, e as variações temporais específicas de cada variável do modelo, podem introduzir dificuldades numéricas no processo de estimação de parâmetros, especialmente quando são utilizados métodos estocásticos, como o GA.

Com isso, para reduzir problemas de condicionamento numérico e evitar que variáveis de maior magnitude dominem a função objetivo, foi adotado um procedimento de normalização dos dados baseado na transformação mínimo-máximo. Essa etapa é denominada de pré-processamento, e pode ser empregada em problemas de estimação de parâmetros, uma vez que diferenças de escala entre as variáveis observadas podem afetar a estabilidade numérica do ajuste, como discutido por Mião e colaboradores [15]. Assim, para cada variável observada  $z(t)$ , a normalização foi realizada segundo a expressão

$$z_{\text{norm}}(t) = \frac{z(t) - \min(z)}{\max(z) - \min(z)}, \quad (3.4)$$

onde  $\min(z)$  e  $\max(z)$  representam, respectivamente, os valores mínimo e máximo observados nos dados experimentais e para a variável considerada ao longo do intervalo temporal analisado. Essa transformação mapeia os dados para o intervalo  $[0, 1]$ , preservando a forma relativa da série temporal e as proporções entre os pontos experimentais.

Como a *ga* aceita apenas um número escalar para o erro e não um vetor, ao final do ciclo calcula-se a soma dos resíduos das três variáveis supracitadas, retornando somente um escalar para a avaliação do erro. A função de aptidão (objetivo) foi definida como a SSR

entre as curvas simuladas pelas equações diferenciais e os dados experimentais observados, de modo que menores valores de erro indicam melhores soluções.

Para controlar o número de iterações, que é dada como população e geração, utilizou-se a função *optimoptions* [76] do *MATLAB*, definindo uma população de 300 indivíduos, com 200 gerações. Além disso foi definido o critério de parada ao atingir o número máximo de iterações ou um erro na casa de  $10^2$ . Como não foram especificadas opções adicionais, o solver *ga* operou com as escolhas padrão do *MATLAB*. A população é do tipo Real, uma vez que os parâmetros estimados  $(a, b, \beta, \delta, p, q)$  são variáveis contínuas dentro de intervalos reais definidos pelos limites inferior e superior.

Na etapa de seleção parental foi empregada a Seleção Estocástica Uniforme, adotada para equilibrar pressão seletiva e diversidade populacional durante o ajuste dos parâmetros. Considerando que a função objetivo envolve a resolução numérica de um sistema de equações diferenciais e pode apresentar sensibilidade a pequenas variações, a utilização de múltiplos pontos de amostragem igualmente espaçados na distribuição acumulada de aptidão reduz flutuações aleatórias excessivas no processo seletivo. Essa estratégia evita que poucos indivíduos com desempenho momentaneamente superior dominem prematuramente a população, permitindo que diferentes combinações de parâmetros, também compatíveis com os dados experimentais, sejam preservadas ao longo das gerações.

Para o *crossover*, foi utilizado o tipo disperso, que é adequado para problemas de otimização com parâmetros contínuos e sem dependência estrutural entre genes, pois ele cria um vetor binário aleatório e seleciona os genes do primeiro ou segundo indivíduo com base nesse vetor. A fração de *crossover*, que indica qual parte da nova população será gerada por cruzamento, foi definida em 0.8 (80%), considerada uma boa taxa de recombinação. Utilizou-se a Mutação Gaussiana, no qual cada gene do indivíduo sofre uma perturbação aditiva obtida a partir de uma distribuição normal de média zero. A variância dessa distribuição controla a amplitude das perturbações e foi definida de modo a decrescer ao longo das gerações, permitindo maior exploração do espaço de busca nas fases iniciais da otimização e um refinamento progressivo das soluções nas etapas finais.

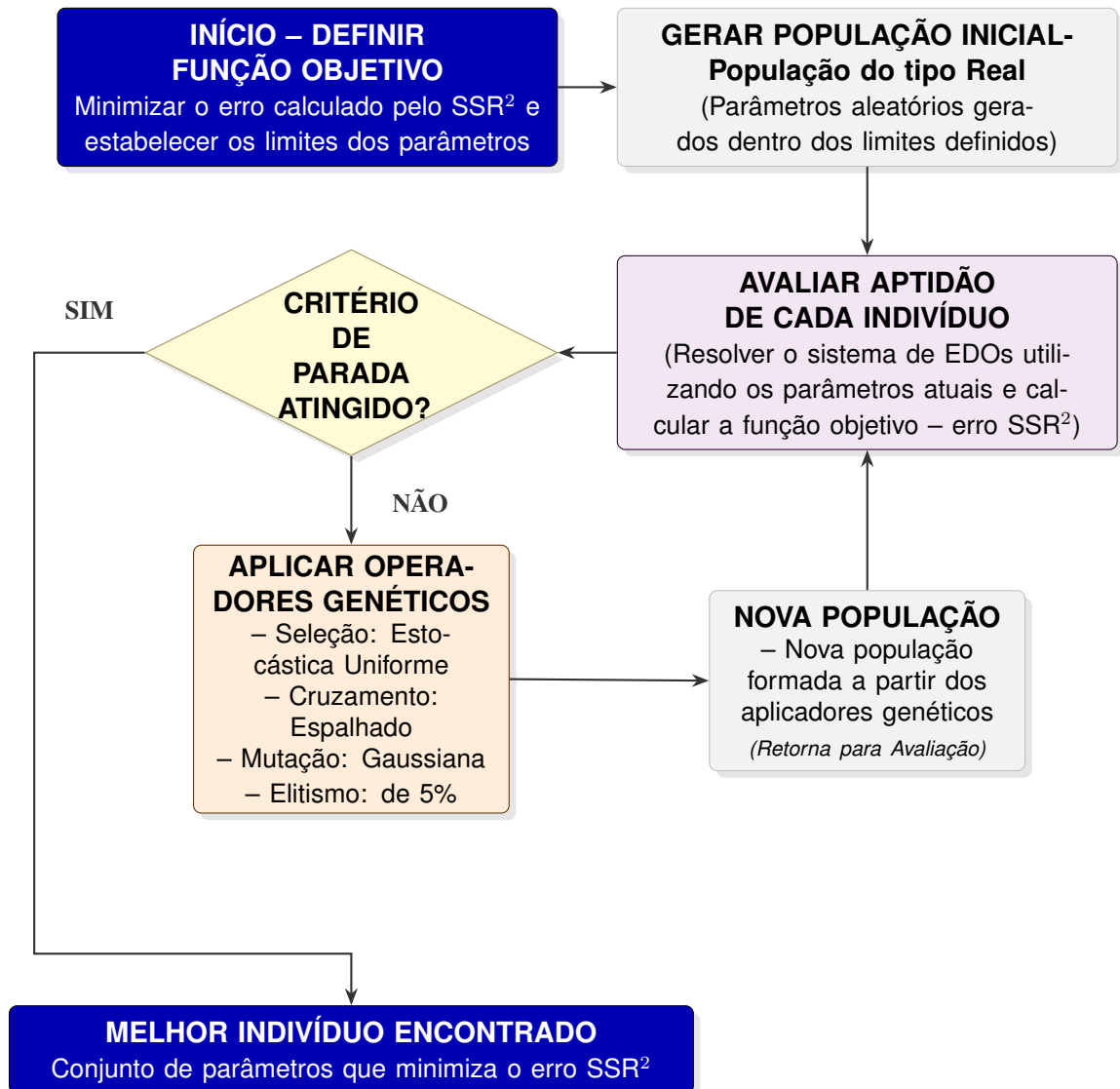
Por fim, foi aplicado o elitismo de 5%, o que garante que os 12 melhores indivíduos (aproximadamente 5% da população) sobrevivam automaticamente para a próxima geração, evitando a perda da melhor solução encontrada até o momento. A diversidade populacional foi controlada exclusivamente pelos operadores de mutação, *crossover* e pelo tamanho da população. O algoritmo retornará um vetor de parâmetros que será encerrado quando o número de iterações for atingido, ou o erro chegar na ordem de tolerância funcional.

A cada iteração, os parâmetros candidatos foram avaliados por meio da integração numérica do sistema de equações diferenciais pelo método de Runge-Kutta, função *ode23* [77] do *MATLAB*, e a aptidão de cada indivíduo foi medida pela soma dos erros quadráticos entre os dados experimentais e dados simulados. Assim, quanto menor o valor retornado por essa função, mais adequada é a solução proposta. A figura 3.2 apresenta o fluxograma, com

as etapas do GA realizado na implementação.

Após o retorno dos melhores parâmetros encontrados pela *ga*, empregou-se a *fmincon*, que faz uma busca local com o objetivo de melhorar o resultado final do modelo, o método de otimização utilizado pela função é apresentado na subseção 3.3.2.

Figura 3.2: Etapas do Algoritmo Genético no modelo.



Fonte: A autora.

### 3.3.2 Otimização Local dos Parâmetros

Após o uso da função *ga*, para a convergência de um ótimo local mais preciso, utilizou-se um método de otimização não linear, que é configurado na função *fmincon* [75] do *MATLAB*. Enquanto o *ga* é eficaz na exploração global do espaço de parâmetros evitando mínimos locais, a *fmincon* atua como uma etapa subsequente de busca local, ajustando os parâmetros identificados pela *ga*.

A função *fmincon*, disponível no pacote *Optimization Toolbox*, foi configurada com o algoritmo *Sequential Quadratic Programming (SQP)*, que minimiza a mesma função objetivo, que é dada pela Soma dos Resíduos ao Quadrado (SSR) utilizada na *ga*, mas com base em derivadas numéricas e restrições definidas pelos limites inferiores e superiores dos parâmetros. Essa abordagem híbrida buscou incorporar as vantagens de ambos os métodos, a exploração geral do *ga* no início, com a precisão da *fmincon* no refinamento final da solução.

A configuração da *fmincon* ocorre após a utilização da *ga*, deste modo, as variáveis, modelo e tempo já haviam sido definidas anteriormente no código. Além desses, é necessário para a configuração da função de otimização, os limites, e a função objetivo que foram utilizadas as mesmas que haviam sido implementadas inicialmente para a *ga*.

A função objetivo foi definida como a Soma dos Resíduos ao Quadrado entre os dados experimentais e as simulações do modelo, resolvidas numericamente por meio da função *ode23*. Essa função foi então minimizada dentro do intervalo permitido pelos limites definidos para cada parâmetro. Como ponto de partida da otimização local, utilizou-se a melhor solução encontrada anteriormente pelo GA, garantindo que o método local fosse iniciado em uma região promissora do espaço de busca.

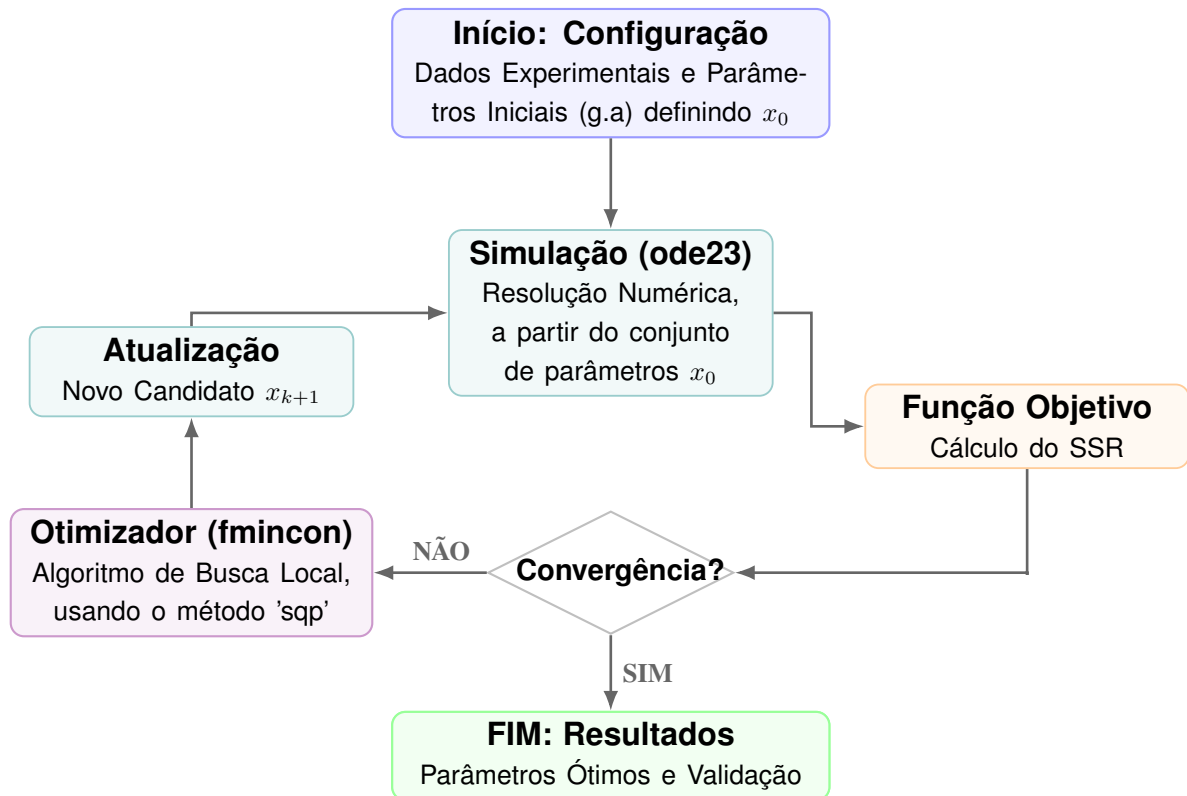
As opções de configuração do *fmincon* incluíram a definição explícita do algoritmo *SQP*. Os demais parâmetros foram mantidos em seus valores padrão, uma vez que o problema apresenta função objetivo continuamente diferenciável, número moderado de parâmetros e restrições simples, não tendo sido observados indícios de instabilidade numérica ou dificuldades de convergência. As tolerâncias de otimalidade e de restrição foram fixadas em  $10^{-6}$ , garantindo convergência numérica rigorosa sem comprometer excessivamente o custo computacional.

Os gradientes da função objetivo e das restrições são estimados numericamente por diferenças finitas progressivas, com passo automático definido pelo *MATLAB*. A matriz Hessiana da função objetivo não é fornecida explicitamente, sendo aproximada pelo método quase-Newton BFGS, que atualiza iterativamente uma aproximação da Hessiana a partir das avaliações do gradiente. Por fim a definição de limites para iterações foram definidas em 1000 e o número máximo de avaliações na função objetivo definido para 3000, a fim de garantir a melhor implementação para todos os conjuntos de dados.

Ao final do processo, a função retornou o conjunto de parâmetros que melhor ajustava os dados ao modelo, juntamente com informações adicionais como o valor final da

função objetivo, o número de iterações realizadas e o código de parada que indica a razão para o término da otimização. O passo-a-passo desta etapa para a determinação dos parâmetros estão ilustradas na Figura 3.3.

Figura 3.3: Fluxograma iterativo da estimação de parâmetros: o ciclo destaca a realimentação contínua do otimizador.



Fonte: A autora.

O algoritmo SQP é eficaz em problemas com número moderado de variáveis e restrições, apresentando um melhor desempenho quando se tem boas estimativas iniciais. Por essa razão, em muitas aplicações, ele é utilizado em conjunto com métodos globais, como algoritmos genéticos, em uma etapa para refino local da solução [69].

A aplicação do método SQP, na pesquisa, permitiu o refinamento das soluções encontradas previamente, proporcionando melhor aderência entre o modelo e os dados experimentais. O que vem de acordo com o estabelecido em estudos como o de Boggs e Tolle [66], que aponta o SQP, como um dos métodos mais eficazes para problemas de calibração de modelos matemáticos não lineares com múltiplos parâmetros.

Para utilizar os dois métodos combinados, foi necessário um método numérico para calcular o sistema de equações, com os parâmetro simulados, pois é a partir dessa simulação numérica, que o erro era calculado. O método numérico empregado, foi o Runge-Kutta, através da função do *MATLAB ode23*, que é o assunto abordado na seção 3.4.

### 3.4 RESOLUÇÃO NUMÉRICA DO SISTEMA DE EQUAÇÕES DIFERENCIAIS

No presente trabalho, a resolução do sistema de equações diferenciais foi realizada por meio do *solver ode23*, disponível no *MATLAB*. Este *solver* é baseado no método de Runge-Kutta de segunda e terceira ordem, sendo particularmente usados para problemas que exigem uma tolerância moderada ou quando o custo computacional de múltiplas avaliações da função objetivo é um fator crítico [78].

Diferente do clássico Runge-Kutta de quarta ordem fixo, o *ode23* utiliza o par de fórmulas proposto por Bogacki e Shampine [79], sendo um método pertence à classe dos métodos explícitos de passo adaptativo, onde a estimativa da solução no instante  $t + h$  é calculada a partir de uma combinação ponderada de avaliações da derivada em diferentes estágios.

Assim o algoritmo utiliza duas fórmulas simultâneas (de ordens 2 e 3) para estimar o erro de truncamento local. Com essa estimativa de erro, o algoritmo ajusta dinamicamente o tamanho do passo  $h$ : o passo é reduzido em regiões de transição rápida (como, por exemplo, o início de uma infecção viral) e expandido em regiões onde o comportamento do sistema é mais suave. Essa propriedade de passo adaptativo garante que o erro de integração permaneça dentro de limites predefinidos pelo usuário, otimizando o tempo de processamento [80].

Em comparação ao *ode45*, que utiliza um método de ordem mais elevada e tende a ser mais vantajoso em problemas que exigem alta precisão local, o *ode23* apresentou menor custo computacional por passo e bom desempenho em situações nas quais não são necessárias tolerâncias extremamente restritivas. Além disso, seu uso permitiu uma integração eficiente quando o sistema é resolvido repetidamente durante procedimentos de otimização e reamostras, reduzindo o tempo computacional total sem comprometer a fidelidade da solução numérica.

Após a solução do modelo matemático, verificou-se sua qualidade, com relação aos dados simulados e experimentais. Para isso utiliza-se técnicas que serão apresentadas a seguir.

### 3.5 CRITÉRIOS DE AVALIAÇÃO DE AJUSTE E MÉTRICAS DE ERRO

A validação de modelos matemáticos que descrevem a dinâmica de infecções virais depende da capacidade de quantificar o desvio entre as predições do modelo e os dados experimentais. Essa quantificação é fundamental não apenas para avaliar a qualidade do ajuste, mas também para orientar o refinamento dos parâmetros. Dentre os diversos critérios disponíveis, destacam-se aqueles baseados nos resíduos entre valores observados e simulados [81], sendo os principais a Soma dos Quadrados dos Resíduos (SSR), o Erro Quadrático Médio (MSE) e a sua raiz (RMSE), que são muitas vezes utilizados em estudos de cinética viral intra-hospedeiro. Além disso métricas que ajudam a medir a qualidade de ajuste como o  $R^2$

são frequentemente encontrados em trabalhos de modelagem. Além disso, foi implementado o Intervalo de Confiança (IC), para medir as incertezas dos parâmetros estimados.

A fim de buscar métodos que possibilitem analisar a qualidade do modelo ajustado na pesquisa, optou-se por trabalhar com as métricas supracitadas, de maneira que cada uma será discutida e ajudará a comparar o modelo e sua eficiência.

A SSR [82] um dos indicadores mais diretos da discrepância entre modelo e dados, sendo definida em (3.5):

$$SSR = \sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2, \quad (3.5)$$

onde  $y_i$  representa os valores observados e  $\hat{y}_i$  as simulações do modelo.

A partir da SSR, deriva-se o MSE, que corresponde à média aritmética dos quadrados dos resíduos [81], definido pela equação (3.6):

$$MSE = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2. \quad (3.6)$$

Oferecendo uma medida normalizada do erro médio, o MSE apresenta importantes propriedades matemáticas: é contínuo, diferenciável e convexo, o que o torna adequado para algoritmos de otimização determinística, como os métodos baseados em gradientes e os algoritmos sequenciais de programação quadrática (SQP), conforme discutido por Nocedal e colaboradores [65]. No entanto, por estar na unidade quadrática dos dados, sua interpretação direta pode ser limitada em contextos biológicos.

Para contornar essa limitação, utiliza-se a Raiz do Erro Quadrático Médio (RMSE), definida pela equação (3.7) [81]:

$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}. \quad (3.7)$$

O RMSE traz a vantagem de expressar o desvio médio entre modelo e dados na mesma unidade dos dados originais [81], permitindo melhores interpretações. Em estudos clássicos de cinética viral, como os de Baccam, Beauchemin e Pawelek [12, 45, 53], utiliza-se o MSE/RMSE para comparar cenários de replicação, identificar fases de crescimento exponencial e decaimento viral e avaliar hipóteses de mecanismos de ação antiviral.

Embora esteja na mesma escala dos dados, o RMSE é sensível a grande variação dos dados. Por penalizar de forma acentuada grandes discrepâncias, a métrica pode superestimar falhas pontuais do modelo causadas por *outliers* ou flutuações experimentais [81]. Isso é relevante em estudos de infecções respiratórias, onde a variabilidade intraindividual e os limites de detecção dos ensaios podem introduzir ruído significativo. Nesse sentido, tem-se recomendado complementar a RMSE com métricas mais robustas, como o Erro Absoluto Médio (MAE), que reduz influência de valores extremos, sendo definida pela equação (3.8) [81]:

$$MAE = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n |y_i - \hat{y}_i|. \quad (3.8)$$

Outro indicador utilizado na análise da qualidade do ajuste de modelos é o coeficiente de determinação, denotado por  $R^2$ . Essa métrica busca quantificar a proporção da variância dos dados observados que é explicada pelas simulações do modelo, sendo interpretada como uma medida da qualidade global do ajuste.

No entanto, o uso do  $R^2$  em modelos não lineares baseados em equações diferenciais requer cuidado, uma vez que pode assumir valores elevados mesmo quando o modelo falha em capturar aspectos fundamentais da dinâmica biológica, especialmente em séries temporais com baixa variabilidade. Além disso, o  $R^2$  não penaliza a complexidade do modelo, podendo superestimar a qualidade do ajuste em modelos com muitos parâmetros. Por isso, seu uso deve ser sempre contextualizado e preferencialmente complementado por métricas como RMSE, MAE ou critérios informacionais, conforme recomendado por Spiess e colaboradores [83].

A equação do coeficiente de determinação é dada por (3.9), [82]:

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}, \quad (3.9)$$

onde  $y_i$  representa os valores observados,  $\hat{y}_i$  os valores preditos pelo modelo e  $\bar{y}$  a média dos valores observados.

Mesmo com a aplicação de diferentes métricas, decidiu-se adotar o RMSE como métrica principal, visto que sua compatibilidade com a função objetivo adotada na estimação dos parâmetros, característica de interpretação direta, e sua ampla adoção em estudos intra-hospedeiros, o que garante comparação com a literatura.

Além disso, trabalhos recentes têm reforçado o papel da Raiz do Erro Quadrático Médio (RMSE) como ferramenta analítica na avaliação de modelos aplicados a infecções respiratórias e virais. Estudos como o de Akin e colaboradores [84], que avaliou a dinâmica de RNA viral em pacientes com HIV em terapia, evidenciam a eficácia desta métrica na captura de erros de previsão e na análise comparativa entre diferentes modelos virais.

Para medir as incertezas quanto aos parâmetros estimados, decidiu-se implementar o intervalo de confiança, que é uma medida estatística utilizada para quantificar a incerteza associada à estimativa dos parâmetros de um modelo, a ideia é representar cada parâmetro por um intervalo que defina uma faixa de valores compatível com a variabilidade dos dados experimentais e com o processo de estimação, com isso ele fornece uma indicação da qualidade do ajuste e da sensibilidade dos parâmetros às flutuações presentes nas observações.

O método adotado para calcular o IC foi o *bootstrap*, que usa uma técnica de reamostragem, que gera novas amostras a partir dos próprios dados observados, que pode ser utilizada quando a distribuição teórica dos parâmetros é desconhecida, nesse procedimento,

múltiplos conjuntos de dados são gerados a partir dos dados originais por reamostragem com reposição, e o modelo é ajustado a cada uma dessas amostras [85]. A distribuição empírica dos parâmetros estimados é então utilizada para construir os intervalos de confiança de 95% pelo método percentil, adotando os quantis 2.5% e 97.5%, permitindo uma avaliação da incerteza associada às estimativas.

Com isso, foi possível incorporar aos gráficos de simulação do modelo intervalos de confiança que se estendem ao longo de todo o período observado, bem como estimar intervalos de confiança individuais para cada parâmetro, que serão apresentados na seção de Resultados e Discussões.

Por fim, é importante destacar que a escolha de métricas não deve ser isolada da finalidade do modelo. Em abordagens preditivas, a capacidade de generalização torna-se tão relevante quanto o ajuste em si. Assim, ao integrar RMSE com outros métodos de validação, é possível construir modelos mais equilibrados, capazes de representar adequadamente a dinâmica viral.

Toda a metodologia apresentada até o momento foi utilizada, na implementação em *MATLAB* de um algoritmo que estima os parâmetros, resolve o sistema de equações e calcula as métricas de erro, os resultados obtidos na implementação estão descritos na seção a seguir.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para uma compreensão pormenorizada dos resultados desta pesquisa, inicialmente são apresentadas informações referentes ao conjunto de dados experimentais. Em seguida, os melhores parâmetros encontrados com os métodos adotados e a simulação numérica realizada para exibir a dinâmica dos vírus nas células. Para validar o modelo utilizado serão demonstradas as métricas para compreender a qualidade do ajuste aos dados.

### 4.1 RESULTADOS DO LABORATÓRIO

O conjunto de dados experimentais é apresentado para cada concentração de células, com os 3 diferentes tipos de MOIs (MOI 0.1, MOI 0.5 e MOI 1.0) estudados na pesquisa. Ressalta-se que, o termo MOI 0.1 indica que, em média, foi inoculado um vírus para cada dez células, o MOI 0.5 foram cinco vírus para cada dez células e o MOI 1.0 indica um vírus para cada célula. O primeiro resultado corresponde ao estudo realizado com 10 mil células, o segundo com 25 mil células e por fim, o experimento com 50 mil células.

#### 4.1.1 Concentração de 10 mil células

Os resultados apresentados nessa subseção foram obtidos com a concentração inicial de 10 mil células, mostrando como foi o comportamento das células não infectadas, células infectadas e o vírus com diferentes MOIs.

A concentração de  $1.0 \times 10^4$  células é a menor entre as três realizadas nos experimentos e os resultados são apresentadas na Tabela 4.1. No grupo controle (CC) observa-se o crescimento esperado das células, já que neste grupo não há a presença de vírus. Nos demais grupos, com a presença cada vez maior de vírus, observa-se que a viabilidade celular decai cada vez mais rápido, a ponto de não se replicarem.

Tabela 4.1: Estimativa da média da população de células viáveis (unidades relativas) ao longo de 10 dias sob diferentes condições de infecção por hRSV com quantidade inicial de  $1.0 \times 10^4$  células.

<b>Grupo</b>	<b>Dia 1</b>	<b>Dia 2</b>	<b>Dia 3</b>	<b>Dia 4</b>	<b>Dia 5</b>
CC	10 000.00	18 406.51	36 819.30	42 259.16	43 738.85
MOI 0.1	9 169.89	14 083.84	20 383.89	12 848.95	7 889.12
MOI 0.5	8 589.07	12 855.29	10 847.80	10 590.98	8 126.12
MOI 1.0	9 064.71	9 654.53	4 518.59	4 957.34	4 181.35

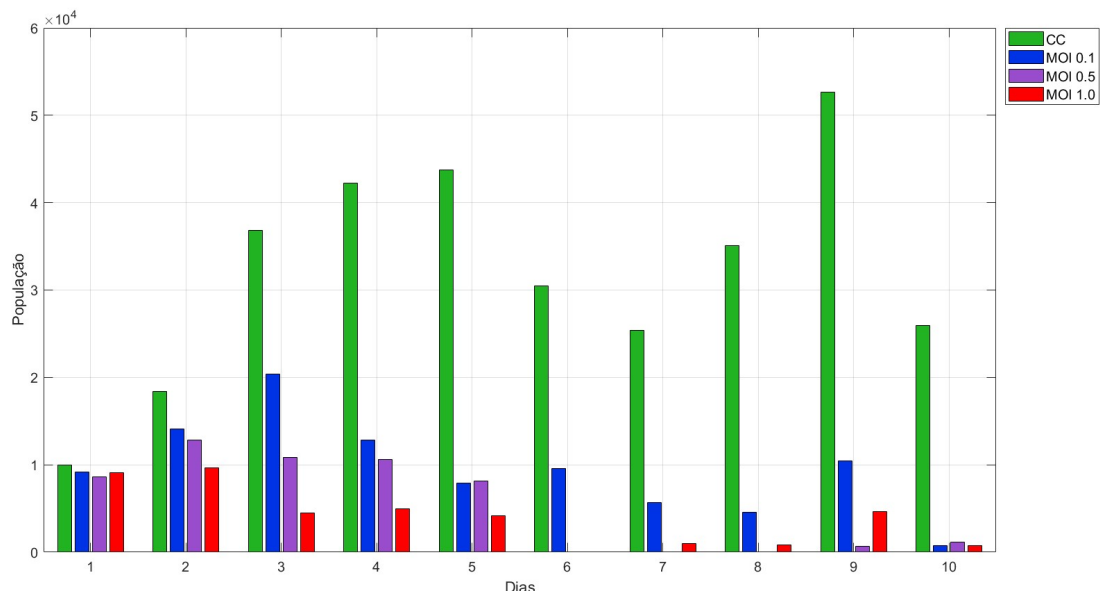
Grupo	Dia 6	Dia 7	Dia 8	Dia 9	Dia 10
CC	30 462.16	25 426.25	35 107.76	52 619.73	25 909.96
MOI 0.1	9 592.91	5 651.34	4 607.28	10 416.67	725.57
MOI 0.5	0	0	0	708.81	1 137.45
MOI 1.0	0	1 003.35	862.07	4 664.75	773.47

Fonte: A autora.

De maneira similar a Tabela 4.1, a Figura 4.1 apresenta os mesmos valores representados por gráficos. Com isso pode-se observar que o grupo controle (CC), apresentou uma tendência de crescimento no decorrer dos dias, até o dia 5 as células cresceram, no sexto e sétimo dia houve um decaimento, porém voltando a crescer no dia 8 e atingindo seu maior pico no dia 9, com aproximadamente 52 619.73 células, antes de entrar em declínio (25 909) no dia 10, indicando equilíbrio entre a replicação e mortalidade natural, dado as condições do experimento.

Os grupos infectados (MOI 0.1, 0.5 e 1.0) apresentaram crescimento em média até o terceiro dia, e queda após esses picos iniciais, que ocorreu no terceiro dia para MOI 0.1 e no segundo dia para MOI 0.5 e 1.0, resultando em valores iguais a zero para alguns dias, pois não foi possível detectar viabilidade celular, o que pode ter ocorrido devido a baixa concentração de células iniciais e a grande quantidade de vírus, desta maneira as células não tinham tempo suficiente de se multiplicarem antes de serem contaminadas.

Figura 4.1: Células em 10 dias, concentração inicial de  $1.0 \times 10^4$ .



Fonte: A autora.

A Tabela 4.2 e a Figura 4.2 apresentam os valores dos dados que representam a quantidade de partículas vírias com o inóculo inicial de  $1.0 \times 10^4$ , em relação aos dias e aos diferentes MOIs.

A quantificação viral é calculada indiretamente com base na viabilidade celular, neste caso com quantidades muito baixas de células não é possível detectar partículas de vírus, pelo mesmo motivo que o citado anteriormente, devido a medição indireta dos vírus, os valores negativo de mortalidade, ou seja, crescimento celular, são substituídos por zero. O cálculo do TCID<sub>50</sub> pelo Método Melhorado de Kärber e a conversão para PFU/ml levam os resultados para aproximadamente 48.9, que foi considerado equivalente a uma taxa de 0% de infecção no caso controle, nos restantes dos grupos do experimentos esse valor indica que não foi possível detectar partículas virais.

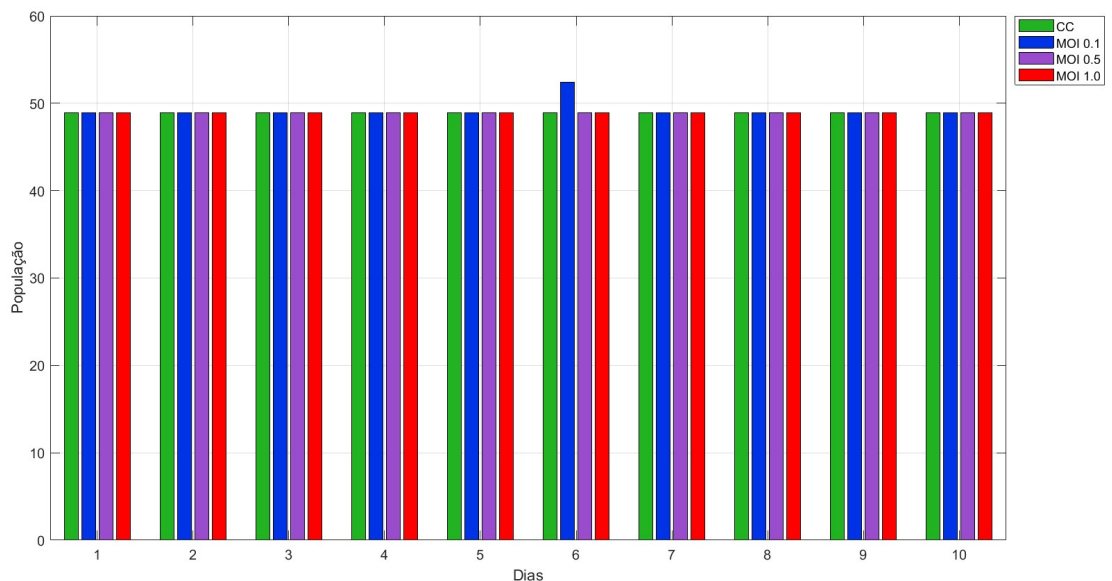
Tabela 4.2: Carga viral (PFU) ao longo de 10 dias sob diferentes condições de infecção por hRSV. Quantidade inicial:  $1.0 \times 10^4$  células.

<b>Grupo</b>	<b>Dia 1</b>	<b>Dia 2</b>	<b>Dia 3</b>	<b>Dia 4</b>	<b>Dia 5</b>
CC	48.92	48.92	48.92	48.92	48.92
MOI 0.1	48.92	48.92	48.92	48.92	48.92
MOI 0.5	48.92	48.92	48.92	48.92	48.92
MOI 1.0	48.92	48.92	48.92	48.92	48.92

<b>Grupo</b>	<b>Dia 6</b>	<b>Dia 7</b>	<b>Dia 8</b>	<b>Dia 9</b>	<b>Dia 10</b>
CC	48.92	48.92	48.92	48.92	48.92
MOI 0.1	52.44	48.92	48.92	48.92	48.92
MOI 0.5	48.92	48.92	48.92	48.92	48.92
MOI 1.0	48.92	48.92	48.92	48.92	48.92

Fonte: A autora.

Figura 4.2: Vírus em 10 dias, concentração inicial de  $1.0 \times 10^4$



Fonte: A autora.

Pode-se notar que no dia 6 houve um leve pico, em MOI 0.1, pois foi exatamente nesse dia que houve um decaimento celular, que possibilitou a detecção do vírus.

#### 4.1.2 Concentração de 25 mil células

Os resultados apresentados nesta subseção foram obtidos com a concentração inicial de 25 mil células, mostrando como se caracterizou as células não infectadas, células infectadas e o vírus com diferentes MOIs.

A Tabela 4.3 e a Figura 4.3 revelam o comportamento das células durante os 10 dias de experimento. Os resultados obtidos indicam que o crescimento de células infectadas, é diretamente relacionado a condições de infecção pelo vírus hRSV, bem como sua respectiva carga viral ao longo dos 10 dias. Nas células controle (sem infecção viral), as células apresentam tendência principal de crescimento, atingindo o pico superior a 140 mil unidades no nono dia, o que é compatível com o comportamento de culturas celulares em ambiente controlado, sem interferência de vírus.

Tabela 4.3: Estimativa da média da população de células viáveis (unidades relativas) ao longo de 10 dias sob diferentes condições de infecção por hRSV com quantidade inicial de  $2.5 \times 10^4$  células.

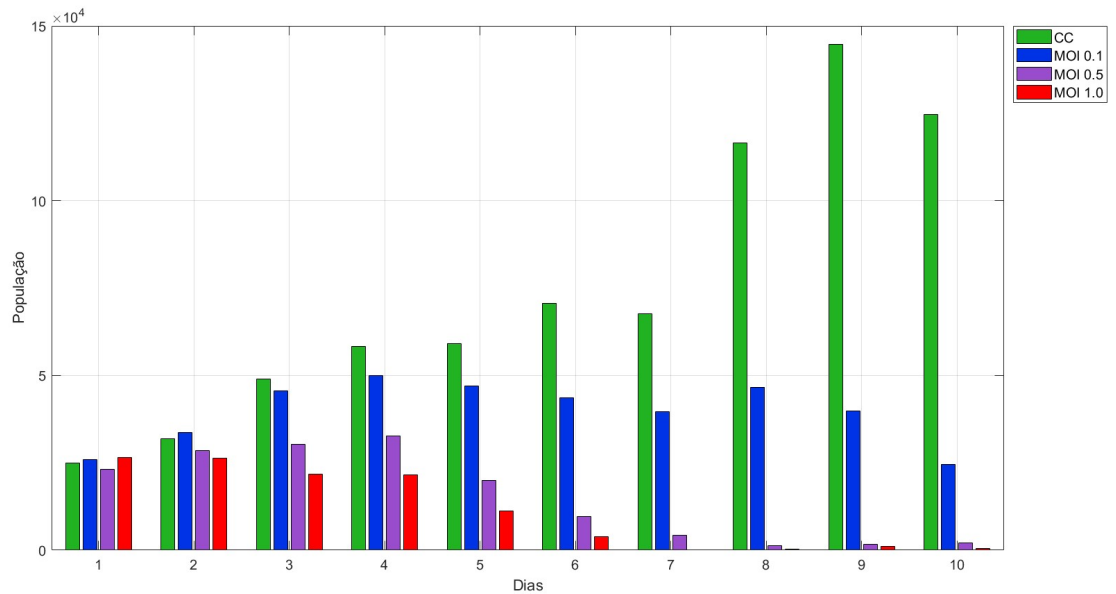
<b>Grupo</b>	<b>Dia 1</b>	<b>Dia 2</b>	<b>Dia 3</b>	<b>Dia 4</b>	<b>Dia 5</b>
CC	25 000.00	31 907.02	48 952.66	58 252.43	59 011,52
MOI 0.1	25 871.38	33 578.06	45 602.08	49 910.39	47 007.09
MOI 0.5	23 108.49	28 473.06	30 308.02	32 733.66	20 016.93
MOI 1.0	26 454.98	26 370.71	21 812.87	21 599.38	11 181.14

<b>Grupo</b>	<b>Dia 6</b>	<b>Dia 7</b>	<b>Dia 8</b>	<b>Dia 9</b>	<b>Dia 10</b>
CC	70 698.50	67 666.77	116 542.58	144 727.35	124 612.04
MOI 0.1	43 537.82	39 580.44	46 683.71	39 819.92	24 607.90
MOI 0.5	9 720.15	4 268.41	1 388.89	1 670.97	1 998.13
MOI 1.0	3 905.27	0	251.47	1 152.72	468.62

Fonte: A autora.

Na células infectadas, o número de crescimento celular variaram de acordo com o MOI. Com MOI 0.1, observou que as células cresceram até o quarto dia, atingindo cerca de 49 mil células, após esse valor, apesar de algumas picos de crescimento, houve uma tendência de queda gradual, com as células tingindo aproximadamente 24 mil no décimo dia. Isso pode indicar que a infecção viral se propagou de forma mais gradual, onde as células ainda tiveram uma fase de crescimento antes da infecção se tornar forte e começar a eliminar as células infectadas, o que condiz com o estudo de Rajan e colaboradores [86], que descobriram que com MOIs menores a propagação da infecção pode ser mais lenta.

Já para MOIs mais elevados, a dinâmica celular sofreu diversas alterações. Com MOI 0.5, houve um pico de aproximadamente 32 mil células no quarto dia, e a partir do

Figura 4.3: Células em 10 dias, concentração inicial de  $2.5 \times 10^4$ .

Fonte: A autora.

quinto dia, iniciou uma redução drástica com menos de 2 mil no décimo dia. Para o MOI 1.0, houve um impacto ainda maior, em que no sétimo dia a contagem de células já estava abaixo de mil e chegou ao valor zero e manteve uma margem baixa até o fim do experimento. Esses resultados mostram que a multiplicidade de infecção impacta na agressividade do vírus nas células infectadas, causando mais danos celulares em MOIs elevados.

Os resultados apresentados na Tabela 4.4 e na Figura 4.4 acompanham a carga viral ao longo dos dias e corroboram com os dados observados na dinâmica celular. Os grupos infectados apresentaram picos virais, em momentos distintos. Com multiplicidade de infecção de 0.1 a carga viral cresceu gradualmente, até atingir seu pico no quinto dia, em seguida observou um decaimento da carga viral. Quando a infecção tinha MOI 0.5 e 1.0, os picos aconteceram mais cedo, entre os dias 3 e 5, em seguida iniciou um declínio progressivo, o que condiz com a destruição das células hospedeiras.

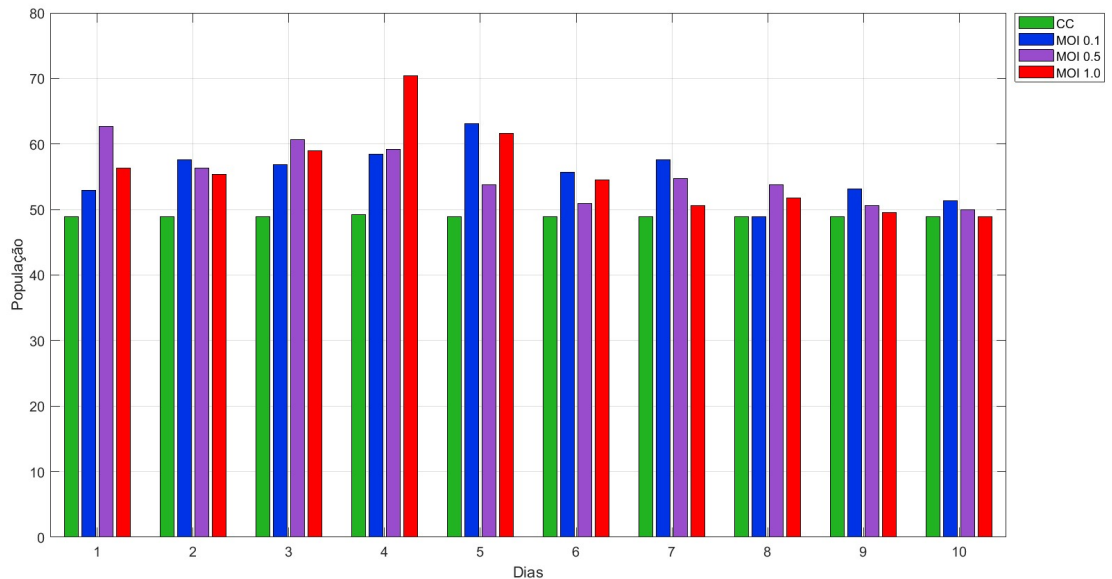
Tabela 4.4: Carga viral (PFU) ao longo de 10 dias sob diferentes condições de infecção por hRSV. Quantidade inicial:  $2.5 \times 10^4$  células.

Grupo	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	Dia 5
CC	48.92	48.92	48.92	49.21	48.92
MOI 0.1	52.97	57.59	56.89	58.39	63.10
MOI 0.5	62.71	56.37	60.65	59.17	53.82
MOI 1.0	56.33	55.35	58.98	70.38	61.65

Grupo	Dia 6	Dia 7	Dia 8	Dia 9	Dia 10
CC	48.92	48.92	48.92	48.92	48.92
MOI 0.1	55.73	57.62	48.92	53.15	51.35
MOI 0.5	50.87	54.78	53.77	50.60	50.00
MOI 1.0	54.48	50.57	51.77	49.54	48.92

Fonte: A autora.

Figura 4.4: Vírus em 10 dias, concentração inicial  $2.5 \times 10^4$ .



Fonte: A autora.

Além disso, esses dados refletem padrões já previstos por modelos matemáticos clássicos de infecção viral aguda, como os propostos por Nowak e May [19], nos quais a replicação viral atinge um pico após o período de eclipse, fase em que o vírus penetra na célula para usar sua maquinaria e se multiplicar. Nesta fase os vírus se tornam indetectáveis pelos métodos adotados, somente quando o vírus está no meio que é possível sua detecção. Por esta razão há um aumento na população de células e uma diminuição de vírus, quando acaba o período de eclipse, tem a diminuição das células e o aumento de vírus.

#### 4.1.3 Concentração de 50 mil células

Finalizando a análise dos dados obtidos em laboratório, a seguir apresenta-se o experimento com a maior concentração inicial. As Figuras 4.5 e 4.6 e Tabelas 4.5 e 4.6 apresentadas nessa subseção correspondem ao experimento realizado com 50 mil células, testado com diferentes multiplicidades de infecção.

Os resultados experimentais obtidos a partir da concentração inicial de  $5.0 \times 10^4$  células, observados pela Tabela 4.5 e pela Figura 4.5, reforçam o comportamento com o inóculo de  $2.5 \times 10^4$ , a dinâmica dependente da multiplicidade da infecção por hRSV. No grupo

controle, as células apresentaram tendência principal de crescimento.

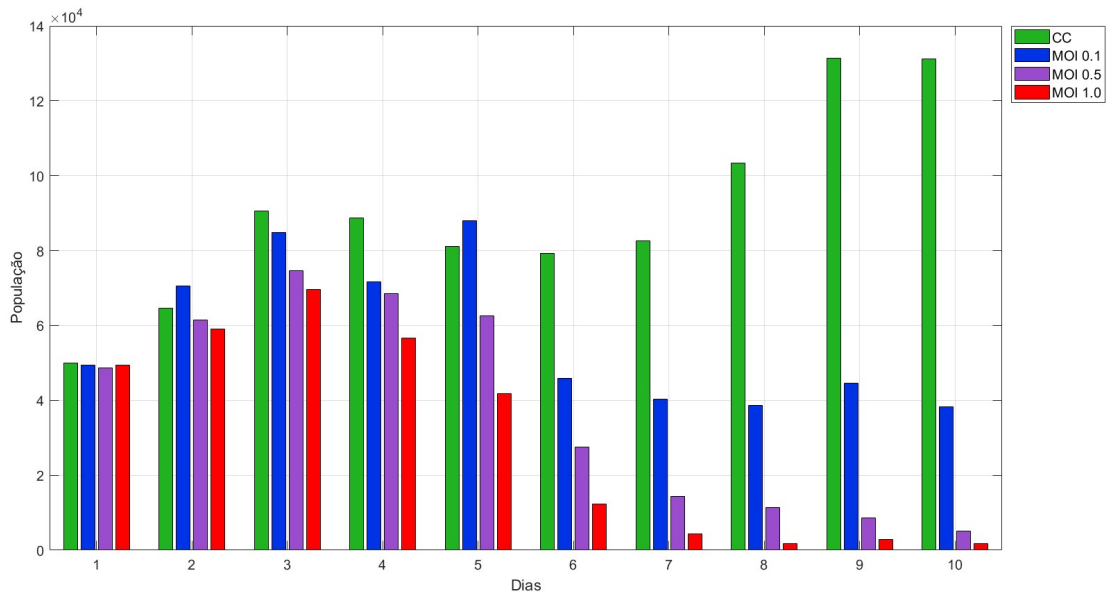
Tabela 4.5: Estimativa da média da população de células viáveis (unidades relativas) ao longo de 10 dias sob diferentes condições de infecção por hRSV com quantidade inicial de  $5.0 \times 10^4$  células.

Grupo	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	Dia 5
CC	50 000.00	64 704.02	90 593.92	88 748.48	81 217.91
MOI 0.1	49 499.79	70 563.89	84 895.59	71 591.00	87 946.73
MOI 0.5	48 728.06	61 409.36	74 674.60	68 511.07	62 619.62
MOI 1.0	49 507.69	59 091.06	69 578.11	56 570.51	41 857.59

Grupo	Dia 6	Dia 7	Dia 8	Dia 9	Dia 10
CC	79 267.50	82 526.70	103 417.06	131 431.49	131 125.53
MOI 0.1	45 845.85	40 362.84	38 730.81	44 554.54	38 293.42
MOI 0.5	27 551.32	14 291.28	11 413.13	8 592.01	5 032.40
MOI 1.0	12 399.17	4 440.64	1 801.01	2 921.95	1 785.71

Fonte: A autora.

Figura 4.5: Células em 10 dias, concentração inicial de  $5.0 \times 10^4$ .



Fonte: A autora.

Para as amostras infectadas com hRSV, a influência do MOI na proliferação celular torna-se evidente ao longo do período de 10 dias. Com MOI 0.1, observa-se um crescimento que supera a população inicial, atingindo valores próximos de 85 mil células no terceiro dia, com pico maior no quinto dia, porém seguido por uma redução gradual para cerca de 38 mil células no décimo dia. Tal padrão sugere que, apesar da presença viral, o efeito citopático é relativamente lento, permitindo uma fase inicial de replicação celular.

Quando o MOI é aumentado para 0.5, o crescimento celular é mais restrito, e a quantidade de células aumenta até o terceiro dia, e após isso tem um decréscimo gradual que se intensifica a partir do sexto dia, e que reduz a população para aproximadamente 5 mil células no último dia avaliado. Esse declínio significativo indica uma rápida destruição das células pelo vírus, refletindo a infecção crescente com o aumento da carga viral inicial. Para o MOI 1.0, o efeito é ainda maior, onde a viabilidade celular diminui constantemente após o segundo dia, chegando a pouco menos de 2 mil células no décimo dia.

Similarmente, a análise da carga viral está de acordo com o apresentado até o momento, na Tabela 4.6 e na Figura 4.6, onde pode-se observar a correlação entre MOI e dinâmica viral. Nas amostras infectadas, a carga viral apresenta picos entre o terceiro e o sexto dia, com valores máximos próximos a 65 unidades no MOI 0.1, 63 unidades para MOI 0.5 e 62 unidades para MOI 1.0, seguidos por um declínio gradual. Este padrão sugere que, mesmo com a rápida redução da população celular em MOIs elevados, a replicação viral alcança níveis elevados rapidamente antes da depleção das células suscetíveis.

Tabela 4.6: Carga viral (PFU) ao longo de 10 dias sob diferentes condições de infecção por hRSV. Quantidade inicial:  $5.0 \times 10^4$  células.

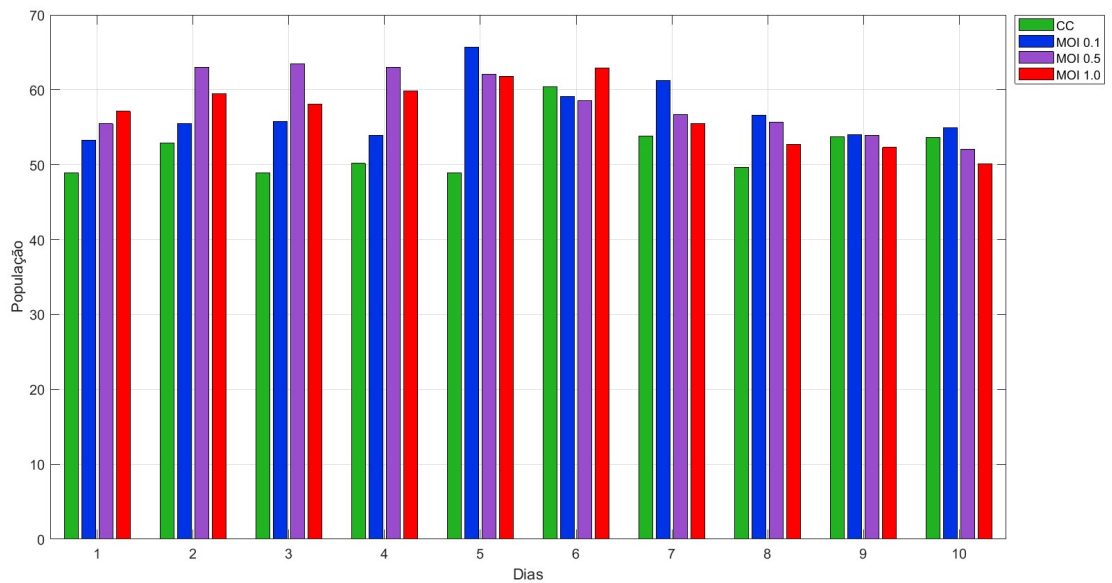
<b>Grupo</b>	<b>Dia 1</b>	<b>Dia 2</b>	<b>Dia 3</b>	<b>Dia 4</b>	<b>Dia 5</b>
CC	48.92	52.94	48.92	50.17	48.92
MOI 0.1	53.25	55.49	55.79	53.89	65.72
MOI 0.5	55.45	63.00	63.50	63.04	62.04
MOI 1.0	57.11	59.48	58.05	59.88	61.78

<b>Grupo</b>	<b>Dia 6</b>	<b>Dia 7</b>	<b>Dia 8</b>	<b>Dia 9</b>	<b>Dia 10</b>
CC	60.37	53.78	49.65	53.74	53.60
MOI 0.1	59.07	61.21	56.63	54.03	54.94
MOI 0.5	58.59	56.67	55.65	53.92	52.10
MOI 1.0	62.91	55.50	52.68	52.30	50.10

Fonte: A autora.

Esses dados experimentais evidenciam que a multiplicidade de infecção impacta diretamente tanto na viabilidade celular quanto na carga viral, com implicações relevantes para o delineamento experimental e desenvolvimento de modelos matemáticos que descrevem a dinâmica da infecção por hRSV em culturas celulares.

Figura 4.6: Vírus em 10 dias, concentração inicial de  $5.0 \times 10^4$ .



Fonte: A autora.

## 4.2 RESULTADOS DOS PARÂMETROS AJUSTADOS

Nessa seção serão apresentados os resultados provenientes do modelo matemático implementado, e suas possíveis interpretações e limitações que surgiram durante o processo.

Os parâmetros aqui apresentados, foram resultados da implementação no *MATLAB* do modelo proposto no capítulo materiais e métodos, equação 3.3. O modelo retorna 6 parâmetros, todos estimados diretamente pelos algoritmos de otimização implementados, o que já é um diferencial em relação a outros trabalhos, que em muitos casos parâmetros como  $a$ ,  $b$ , e  $c$  são fixados a partir de valores encontrados na literatura.

Para facilitar a interpretação e visualização dos resultados, para cada conjunto de dados, foram calculados parâmetros próprios, usando o mesmo código do *MATLAB* a fim de representar a dinâmica de acordo com a quantidade de células e MOIs. Deste modo dos 9 conjunto de dados apresentados, 7 deles estavam aptos para a simulação, com isso, têm-se 7 conjuntos de parâmetros diferentes, cada um correspondendo ao seu respectivo MOI e CC inicial.

A normalização min-max foi aplicada separadamente às três variáveis do modelo: células não infectadas, células infectadas e vírus livre. O sistema de equações diferenciais ordinárias foi então ajustado diretamente aos dados normalizados, e a função objetivo foi definida em termos do erro quadrático entre as trajetórias simuladas e os dados experimentais na escala normalizada. Esse procedimento garante que todas as variáveis contribuam de maneira equilibrada para o processo de estimação dos parâmetros, evitando vieses associados às

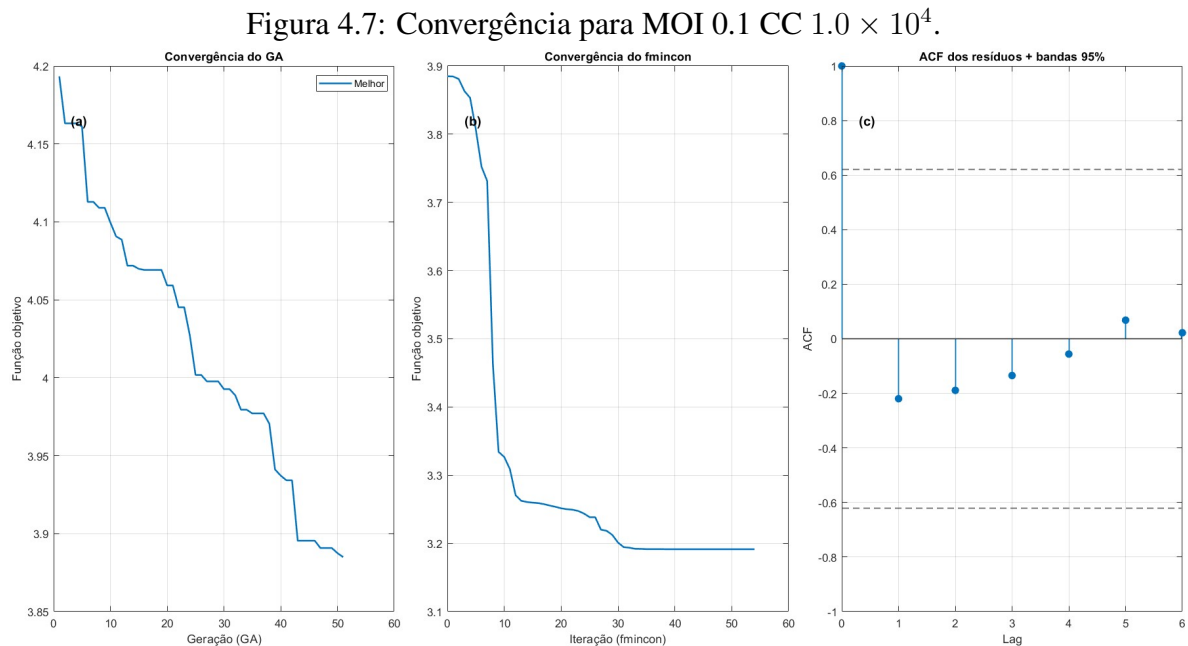
diferenças de escala.

Após a obtenção dos parâmetros estimados, as soluções do modelo foram reconvertidas para a escala original.

Nas subseções apresentadas a seguir, serão inicialmente analisados os aspectos numéricos do processo de otimização, como o comportamento de convergência, o número de iterações e de avaliações da função objetivo associados às etapas global (*ga*) e local (*fmincon*). Além disso, serão discutidos os parâmetros estimados do modelo matemático para as diferentes condições experimentais.

#### 4.2.1 Ajuste para concentração inicial de 10 mil células

Para a condição com  $1.0 \times 10^4$  células e MOI 0.1, a otimização dos parâmetros por meio da abordagem híbrida GA + *fmincon* apresentou convergência numérica. O *ga* convergiu em 51 gerações, realizando 14 850 avaliações da função objetivo o suficiente para estabilização, como observado no gráfico de convergência do GA (Figura 4.7). A partir dessa solução, o refinamento local com *fmincon* atingiu convergência porque a variação da função objetivo entre iterações sucessivas tornou-se menor do que a tolerância, após 58 iterações e 848 avaliações adicionais. A função de autocorrelação dos resíduos Figura 4.7 indica que os valores permanecem dentro das bandas de confiança de 95%, indicando ausência de autocorrelação entre os parâmetros estimados. O tempo computacional total do procedimento foi de aproximadamente 3.87 s.



Fonte: A autora.

A Tabela 4.7, apresenta os parâmetros finais da estimação. Nessa condições, observa-se um valor positivo para o parâmetro  $a = 0.7691$  e  $b = 1.6398$ , que indicam cres-

cimento celular compatível com o comportamento esperado de culturas celulares *in vitro* em condições experimentais padrão, conforme assumido em modelos clássicos de dinâmica viral em sistemas epiteliais [45, 87].

Tabela 4.7: Parâmetros estimados pelo modelo CC  $1.0 \times 10^4$  MOI 0.1.

$a$	$b$	$\beta$	$\delta$	$p$	$c$
0.7691	1.6398	-2.6060	-0.3735	0.2325	0.7334

Fonte: A autora.

Os parâmetros  $\beta$  e  $\delta$ , apresentam valores negativos, o que pode ser explicado como uma compensação do modelo, para o crescimento elevado das células infectadas, garantindo um melhor ajuste do modelo aos dados experimentais. Já os parâmetros relacionados à produção viral ( $p$ ) e ao decaimento viral ( $c$ ) indicam uma capacidade do modelo em capturar o aumento e declínio da carga viral, observados experimentalmente, que apresentaram magnitudes compatíveis com estudos experimentais e teóricos prévios envolvendo vírus respiratórios [45, 87].

Para interpretar a existência de valores negativos nos parâmetros do modelo matemático, é necessário destacar que os mesmos não refletem apenas a dinâmica biológica da infecção, mas principalmente as particularidades do delineamento experimental e dos dados utilizados. Como no presente estudo, os dados referentes às células não infectadas foram obtidos em experimentos independentes (com as mesmas condições porém sem a presença do patógeno), daqueles utilizados para a quantificação das células infectadas e da carga viral, a população de células não infectadas apresenta crescimento ao longo do tempo, uma vez que, nos dados experimentais, não estavam sujeitas a degradação causada pela infecção viral.

Em modelos clássicos de dinâmica vírus-células [19, 20, 45], assume-se implicitamente que as populações de células não infectadas, células infectadas e vírus são medidas dentro de um mesmo experimento, o que garante um acoplamento direto entre os termos do modelo. Como não ocorre esse acoplamento entre os dados desta pesquisa, o procedimento de estimação dos parâmetros tende a compensar essa ausência por meio de taxas negativas, para matematicamente garantir que o modelo reproduza a dinâmica observada nos dados infectados, com isso, pode haver algumas implicações no resultados dos parâmetros, principalmente no termo de infecção  $\beta$ .

Alguns autores, como Zitzmann *et al.* [50], demonstram que a presença de correlações negativas entre parâmetros de infecção viral ( $\beta$ ) e produção viral ( $p$ ) podem ocorrer quando os dados não capturam adequadamente a fase inicial pré-pico da infecção, ou quando múltiplos processos biológicos intracelulares são agregados em taxas efetivas no modelo de dinâmica viral com discutido por Ciupe e Conway [48], como fases de eclipse, replicação e liberação viral. Ainda assim, esses ajustes podem indicar bom desempenho descritivo do modelo [50].

Conforme discutido por Perelson e Ribeiro [13], tais parâmetros devem ser

compreendidos dentro do contexto do ajuste e da finalidade descritiva do modelo, e não como medições fisiológicas isoladas.

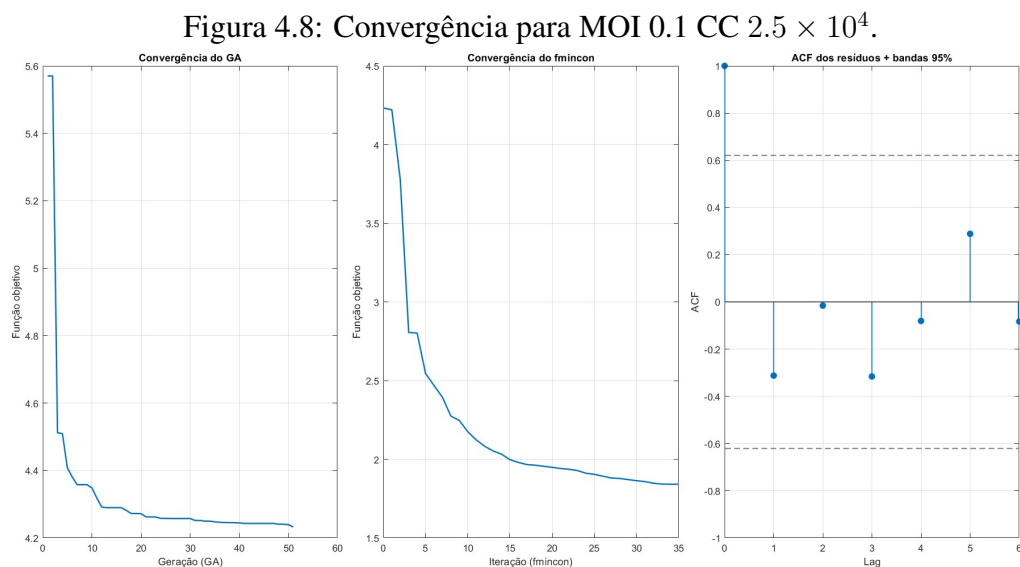
Parâmetros não físicos devem ser interpretados como taxas efetivas, uma vez que agregam, em um único termo, múltiplos processos biológicos que não são explicitamente resolvidos pelo modelo, como eventos intracelulares, heterogeneidades populacionais e efeitos médios de escala experimental. Essa interpretação é discutida por Ciupe e Conway [48] e por Zitzmann *et al.* [50], que destacam que tais parâmetros podem apresentar correlações estruturais sem comprometer a capacidade descritiva do modelo, refletindo limitações de identificabilidade associadas ao delineamento experimental e à estrutura matemática adotada.

Portanto, os valores negativos observados neste estudo não devem ser interpretados como taxas biológicas literais, mas sim como parâmetros efetivos resultantes da interação entre a estrutura do modelo e as limitações do delineamento experimental.

#### 4.2.2 Ajuste para concentração inicial de 25 mil células

Para a condição inicial de  $2.5 \times 10^4$  células e MOI 0.1, o *ga* apresentou convergência em 59 gerações, ao custo de 17130 avaliações da função objetivo. A partir dessa solução, o refinamento local com *fmincon* convergiu formalmente, ou seja, a variação da função objetivo entre iterações foi menor do que a tolerância exigida, após 75 iterações e 1140 avaliações adicionais.

O gráfico de convergência do *fmincon* Figura 4.8 mostra um decaimento suave e monotônico do erro, indicando estabilidade numérica do processo. Adicionalmente, como demonstrado na Figura 4.8 a função de autocorrelação dos resíduos permanece inteiramente dentro das bandas de confiança de 95%, indicando que o modelo ajustado captura adequadamente a dinâmica observada. O tempo computacional total foi de 3.66 s.

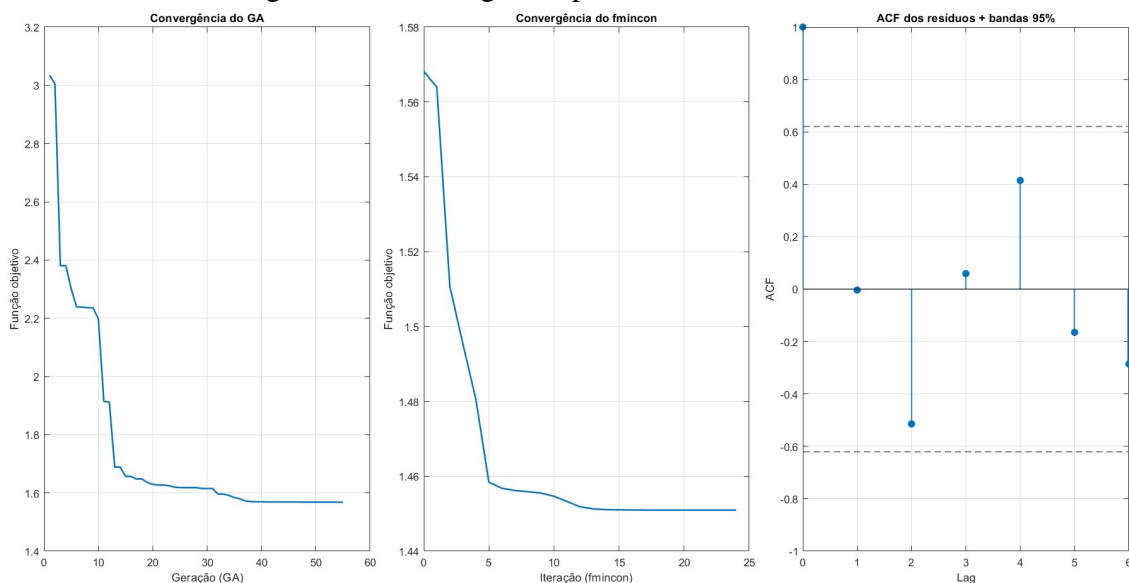


Fonte: A autora.

Já para MOI 0.5, o *ga* convergiu em 56 gerações, com 16275 avaliações da função objetivo, atingindo um valor mínimo de 1.45711, conforme indicado pela rápida redução inicial e posterior estabilização das curvas de melhor e média da população Figura 4.9.

O refinamento local com *fmincon* convergiu pela tolerância entre as iterações, após 53 iterações e 989 avaliações adicionais. O tempo computacional total foi de aproximadamente 18.87 s, sendo majoritariamente associado à etapa global do GA. Além disso, a análise da função de autocorrelação dos resíduos na Figura 4.9 indica que estes permanecem, em sua maioria, dentro das bandas de confiança.

Figura 4.9: Convergência para MOI 0.5 CC  $2.5 \times 10^4$ .



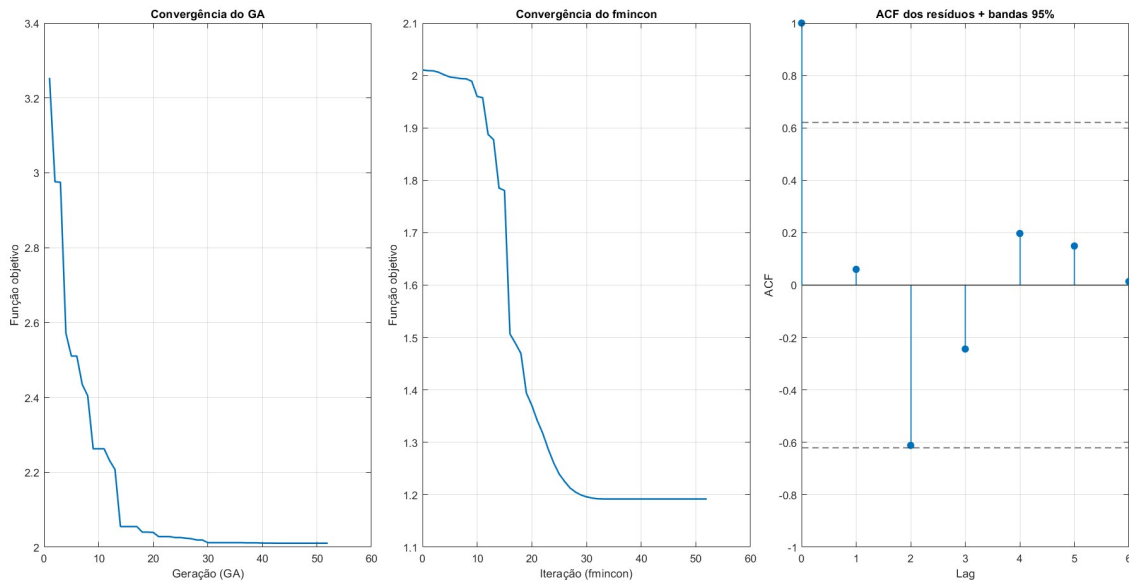
Fonte: A autora.

Com MOI 1.0 o *ga* necessitou de 52 gerações para convergir, realizando 15135 avaliações da função objetivo, conforme evidenciado pela rápida redução inicial e posterior estabilização das curvas de melhor e média da população no gráfico de convergência Figura 4.10. A partir dessa solução, a *fmincon* atingiu convergência formal, reduzindo a função objetivo para 1.19163 após 48 iterações e 702 avaliações adicionais.

Mais uma vez, a função de autocorrelação dos resíduos indica ausência de autocorrelação significativa dentro das bandas de confiança de 95%, reforçando que o modelo ajustado descreve a dinâmica observada e que as estimativas dos parâmetros obtidas para essa condição experimental são estáveis e confiáveis, o tempo computacional gasto para tais procedimentos foi de aproximadamente 2.68 s.

Os parâmetros estimados para concentração de 25 mil células estão na Tabela 4.8, disposto a partir de cada Multiplicidade de Infecção.

Com MOI 0.1, os parâmetros  $a = 2.1291$  e  $b = 2.5509$  indicam uma dinâmica celular dominada pela renovação da população de células não infectadas, sugerindo que, sob baixa pressão infecciosa, a cultura celular mantém um comportamento próximo ao regime

Figura 4.10: Convergência para MOI 1.0 CC  $2.5 \times 10^4$ .

Fonte: A autora.

Tabela 4.8: Parâmetros estimados pelo modelo com CC  $2.5 \times 10^4$ .

MOI	$a$	$b$	$\beta$	$\delta$	$p$	$c$
0.1	2.1291	2.5509	4.2432	1.2552	-0.7326	-0.9650
0.5	3.2953	3.8594	14.8861	3.1026	-0.2795	-0.0714
1	0.0202	0.0223	-0.9912	0.1008	0.6090	0.7700

Fonte: A autora.

esperado na ausência de forte perturbação infecciosa, compatível com os pressupostos adotados em estudos experimentais e de modelagem em culturas epiteliais pouco infectadas como em trabalhos de Baccam e Beauchemin [45, 53].

O parâmetro de infecção  $\beta = 4.2432$  assume valor positivo elevado, refletindo a necessidade do modelo em reproduzir o crescimento inicial das células infectadas. Já a taxa de morte celular  $\delta = 1.2552$  indica uma remoção relativamente rápida das células infectadas, compatível com o efeito citopático observado em condições *in vitro*, conforme discutido por Pawelek *et al.* [12].

Os parâmetros virais  $p = -0.7326$  e  $c = -0.9650$  assumem valores negativos, o que pode ser consequência de um desacoplamento entre as informações experimentais das populações celulares e da carga viral. Nessas condições, o algoritmo de ajuste tende a introduzir compensações paramétricas para reproduzir adequadamente a dinâmica observada. Assim, esses parâmetros devem ser interpretados como quantidades efetivas que preservam a forma global da curva viral, e não como taxas biológicas literais.

Para MOI 0.5, os parâmetros de crescimento celular aumentam para  $a = 3.2953$  e  $b = 3.8594$ , indicando que o modelo compensa o impacto mais intenso da infecção com uma dinâmica de reposição celular mais rápida. Esse padrão é comum em ajustes onde

a população de células-alvo é parcialmente desacoplada da infecção real, levando o modelo a reforçar os termos de crescimento para manter consistência com os dados observados conforme citada por Kaveh [88].

O valor elevado de  $\beta = 14.8861$  reflete uma taxa efetiva de infecção, consistente com maior probabilidade de contatos vírus-célula, assumindo valores compensatórios [50].

A taxa de morte celular  $\delta = 3.1026$  eleva-se substancialmente, indicando que o modelo compensa com maior remoção celular para reproduzir o declínio observado sob alta carga viral inicial (MOI 0.5).

Os parâmetros  $p$  e  $c$  permanecem negativos, porém com magnitudes menores que no caso MOI 0.1. Essa redução sugere maior estabilidade do ajuste viral à medida que a infecção se torna mais forte, diminuindo a necessidade de compensações extremas.

Sob MOI 1.0, observa-se mudança qualitativa no ajuste. Os parâmetros celulares tornam-se muito pequenos com  $a = 0.0202$  e  $b = 0.0223$ , onde a dinâmica do sistema passa a ser dominada pela infecção, e não pelo crescimento das células infectadas.

O parâmetro  $\beta = -0.9912$  assume valor negativo, mostrando que o modelo entrou em regime de compensação paramétrica. Contudo, diferentemente dos casos anteriores, os parâmetros virais tornam-se positivos ( $p = 0.6090$ ,  $c = 0.7700$ ), neste caso indica que o ajuste priorizou a dinâmica viral, que domina o comportamento do sistema em MOI elevado.

A taxa de morte  $\delta = 0.1008$  é relativamente baixa, sugerindo que a remoção das células infectadas ocorre mais lentamente do que a taxa de produção viral.

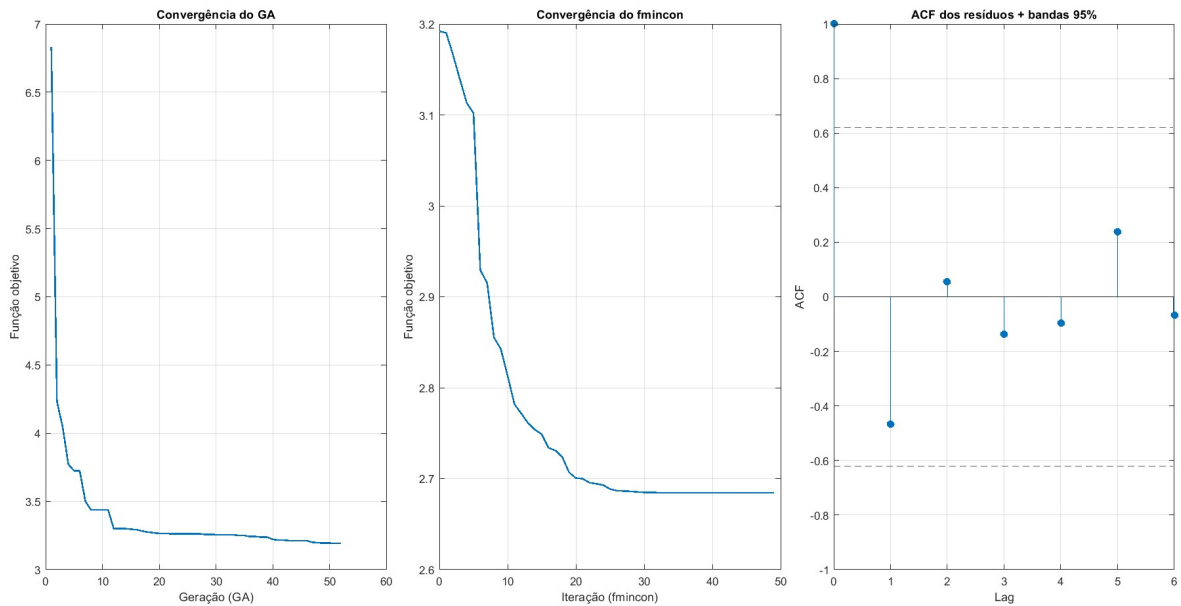
### 4.2.3 Ajuste para concentração inicial de 50 mil células

Para a condição com  $5.0 \times 10^4$  células e MOI 0.1, O *ga* convergiu com 52 gerações, com um total de 15135 avaliações na função objetivo, que levou a *fmincon*, a convergência pois as condições de otimalidade foram satisfeitas dentro dos limites numéricos, após 49 iterações e 720 avaliações da função objetivo.

O gráfico de convergência da *fmincon* 4.11 evidencia um decaimento progressivo e monotônico do erro, seguido de estabilização nas iterações finais, o que indica que o algoritmo atingiu um mínimo local consistente. Adicionalmente, a análise da função de autocorrelação dos resíduos Figura 4.11 mostra que os valores permanecem dentro das bandas de confiança de 95%, sugerindo ausência de autocorrelação significativa e reforçando a adequação do ajuste obtido. O tempo computacional total do processo foi de aproximadamente 3.80 s.

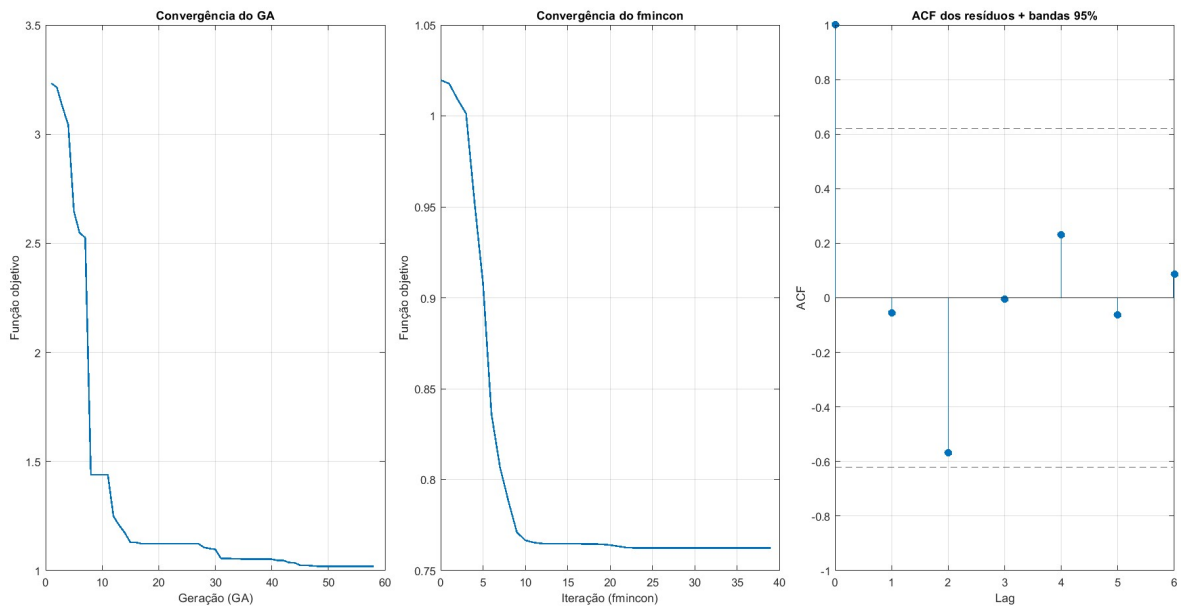
Para MOI 0.5, a estimação dos parâmetros apresentou convergência pelo *ga* com 59 gerações, realizando 17130 avaliações da função objetivo, e com *fmincon* atingiu convergência pela tolerância entre as iterações, com 29 iterações e 423 avaliações adicionais, exibindo um comportamento claro de estabilização nas iterações finais (Figura 4.12), por fim a função de autocorrelação dos resíduos indica ausência de autocorrelação significativa dentro das bandas de confiança de 95% (Figura 4.12).

Figura 4.11: Convergência para MOI 0.1 CC  $5.0 \times 10^4$ .



Fonte: A autora.

Figura 4.12: Convergência para MOI 0.5 CC  $5.0 \times 10^4$ .

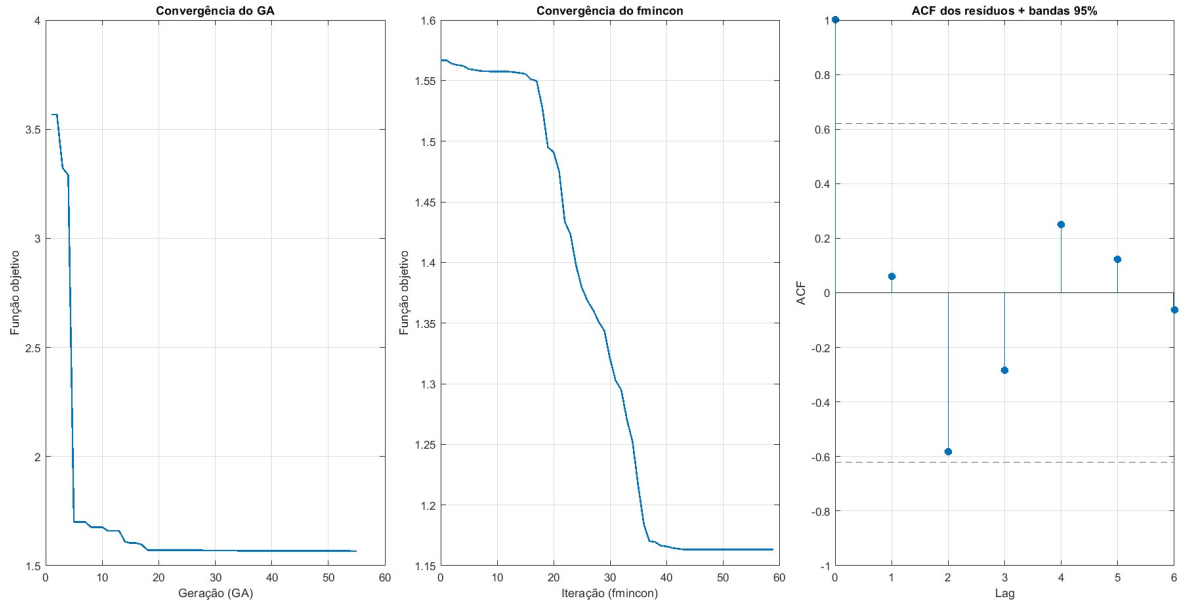


Fonte: A autora.

Os resultados com MOI 1.0, necessitou de 54 gerações, realizando 15705 avaliações da função objetivo para a convergência do *ga*, o que resultou rápida redução inicial e posterior estabilização da função objetivo no gráfico de convergência do GA (Figura 4.13). A partir dessa solução, o *fmincon* atingiu convergência, reduzindo a função objetivo para 1.16235 após 69 iterações e 988 avaliações adicionais, com decaimento progressivo e estabilização nas iterações finais. A análise da função de autocorrelação dos resíduos continuou dentro das bandas de confiança de 95%, indicando ausência de autocorrelação e sugerindo que o modelo ajustado

captura adequadamente a dinâmica observada. O tempo computacional total foi de aproximadamente 19.01s.

Figura 4.13: Convergência para MOI 1.0 CC  $5.0 \times 10^4$ .



Fonte: A autora.

A Tabela 4.9 apresenta os valores estimados dos parâmetros do modelo ajustado para diferentes multiplicidades de infecção (MOI 0.1, 0.5 e 1.0), mantendo constante a concentração inicial de  $5.0 \times 10^4$  células. Os resultados evidenciam alterações sistemáticas nos parâmetros conforme a carga viral inicial.

Tabela 4.9: Parâmetros estimados pelo modelo com CC  $5.0 \times 10^4$ .

MOI	$a$	$b$	$\beta$	$\delta$	$p$	$c$
0.1	0.1239	0.3907	-0.8167	-0.3588	1.0187	0.9161
0.5	1.3749	3.0000	-0.8744	-0.5396	0.13560	1.0272
1	0.0502	1.1512	-0.5442	-0.0482	0.8227	0.6628

Fonte: A autora.

Essa condição experimental impõe ao modelo um regime de alta densidade celular, no qual a competição entre crescimento populacional e infecção viral se torna mais pronunciada. Como consequência, observa-se uma reorganização estrutural dos parâmetros com o aumento do MOI, revelando diferentes regimes dinâmicos.

Na condição de baixa infecção inicial (MOI 0.1), os parâmetros de crescimento celular assumem valores modestos ( $a = 0.1239$ ,  $b = 0.3907$ ), sugerindo que o sistema opera próximo de um regime quase estacionário, no qual a população de células não infectadas é numericamente grande e a infecção afeta apenas uma fração reduzida do total. Esse comportamento é compatível com o cenário assumido em estudos experimentais e de modelagem em culturas densas sob baixa pressão infecciosa citado por Baccam e Beauchemin [45, 53].

O parâmetro de infecção  $\beta = -0.8167$  assume valor negativo, caracterizando um regime de compensação paramétrica onde, pequenas discrepâncias entre os dados experimentais e a dinâmica simulada podem ser amplificadas durante o processo de ajuste, levando o algoritmo a explorar regiões a fim de preservar a forma global das trajetórias do modelo como discutido por Zitzmann [50].

Apesar disso, os parâmetros virais  $p = 1.0187$  e  $c = 0.9161$  são positivos e nas faixas observadas em estudo de dinâmicas virais. Isso indica que, mesmo sob compensação na taxa de infecção, o modelo preserva uma descrição da dinâmica viral, reproduzindo a produção e o decaimento do vírus livre.

Em MOI 0.5, observa-se um aumento de  $a = 1.3749$  e  $b = 3.0000$ , refletindo a necessidade do modelo intensificar a dinâmica de reposição celular para contrabalançar a maior carga infecciosa, ou o número elevado de células não infectadas iniciais.

O parâmetro  $\beta = -0.8744$  permanece negativo, enquanto a taxa de morte celular  $\delta = -0.5396$  também assume sinal negativo, podendo indicar forte correlação estrutural entre os parâmetros associados à infecção e à remoção celular.

O parâmetro de produção viral  $p = 0.13560$  é positivo, porém reduzido, enquanto  $c = 1.0272$  indica remoção rápida do vírus, nesse caso o modelo privilegia o ajuste do decaimento viral observado experimentalmente, ainda que à custa de compensações na parte celular.

Na maior carga infecciosa inicial, MOI 1.0 o sistema apresenta reorganização parcial dos sinais paramétricos. O crescimento celular torna-se novamente não significativo ( $a = 0.0502$ ), indicando que a infecção domina a dinâmica populacional. O parâmetro  $b = 1.1512$  sugere remoção moderada de células-alvo Baccam [45].

O parâmetro  $\beta = -0.5442$  mantém sinal negativo, porém com magnitude menor que nas condições anteriores. A taxa de morte celular  $\delta = -0.0482$  aproxima-se de zero, sugerindo que a dinâmica de remoção celular é capturada principalmente por outros termos do sistema.

Os parâmetros virais  $p = 0.8227$  e  $c = 0.6628$  permanecem positivos e em faixa consistente com modelos clássicos de dinâmica viral aguda como na pesquisa de Baccam e Pawelek [45, 12], mais uma vez reforçando que sob infecção intensa, o modelo prioriza a fidelidade da cinética viral, que passa a governar o comportamento global do sistema.

Com base nos parâmetros expostos, observa-se que determinadas condições experimentais e de modelagem podem intensificar correlações entre parâmetros associados à dinâmica de infecção e à dinâmica celular. Em cenários nos quais pequenas discrepâncias entre dados e simulação são amplificadas durante o ajuste, o problema de estimação pode tornar-se mal condicionado, aumentando a dependência de compensações paramétricas.

Contudo, um ponto central é que, apesar dessas compensações paramétricas, o modelo mantém elevada qualidade de ajuste nas trajetórias simuladas, como será mostrado na seção 4.3. A preservação da forma das curvas, dos tempos de pico e das fases de declínio indica

que o sistema captura corretamente os mecanismos dominantes da dinâmica viral.

Essa distinção entre interpretação biológica literal e representação dinâmica efetiva é aceita na literatura de modelagem viral, especialmente em contextos *in vitro* nos quais as séries temporais são parciais ou desacopladas citado por Kaveh e Zitzmann [50, 88]. Nessa perspectiva, os resultados obtidos não invalidam o modelo, mas evidenciam sua capacidade de reproduzir regimes dinâmicos complexos mesmo sob restrições experimentais realistas.

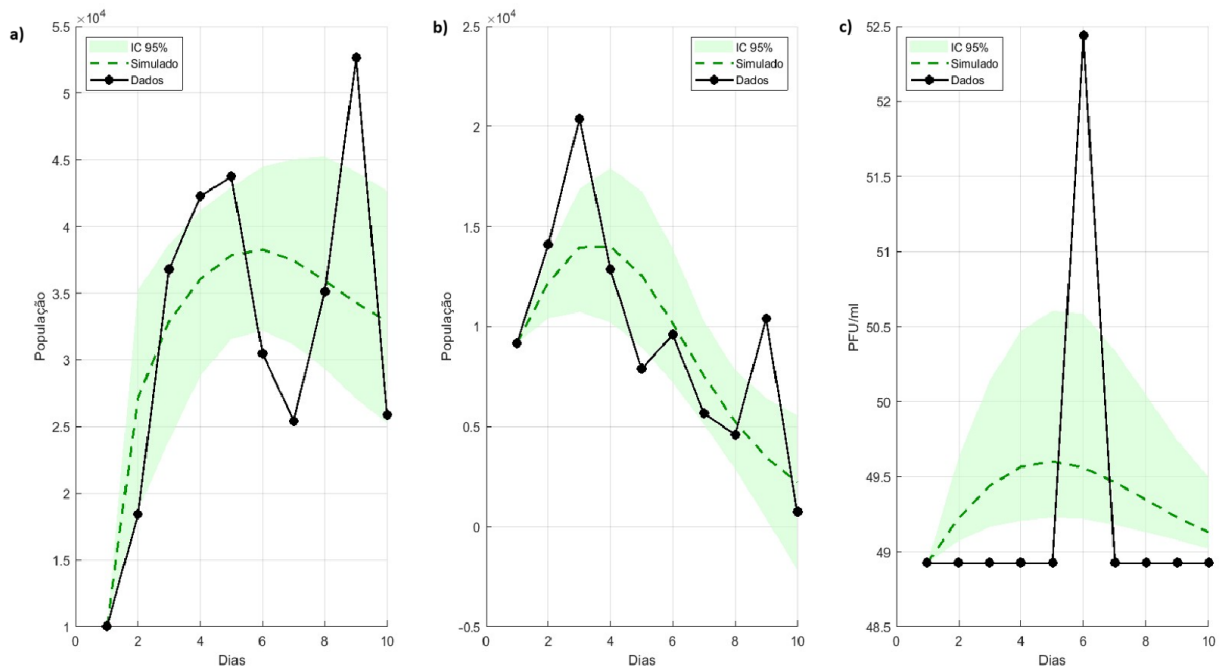
### 4.3 SIMULAÇÃO NUMÉRICA

#### 4.3.1 Simulação para concentração de 10 mil células

##### MOI 0.1

A Figura 4.14 e a Tabela 4.10, mostram a comparação entre os dados observados e a simulação realizada com o modelo matemático para uma concentração inicial de 10 mil células e multiplicidade de infecção 0.1. Pode-se observar na Figura 4.14 (a) que no início a simulação acompanhou o crescimento das células não infectadas, mas não encontrou o pico do nono dia, porém nota-se que tentou acompanhar o primeiro decaimento apresentado nos dados nos dias 6 e 7, a curva crescente das células infectadas, apresenta motivo para o modelo tentar compensar esse comportamento com parâmetros de infecção negativos (Tabela 4.7).

Figura 4.14: Simulação com 10 mil células e MOI 0.1.



Fonte: A autora.

Na representação gráfica das células infectadas Figura 4.14 (b) o comportamento apresentou picos de crescimento e decaimento, porém com uma tendência principal de

Tabela 4.10: Valores simulados das variáveis do modelo para o experimento com  $1.0 \times 10^4$  células.

<b>Dia</b>	<b>Células não infectadas</b>	<b>Células infectadas</b>	<b>Vírus (PFU/ml)</b>
1	10000.0000	9169.8850	48.9246
2	27141.8407	12205.3986	49.2252
3	32882.5086	13943.5958	49.4396
4	36052.9295	14001.5276	49.5659
5	37836.5283	12545.2809	49.6022
6	38256.8934	10150.3305	49.5597
7	37454.7817	7535.5422	49.4636
8	35938.4396	5239.8311	49.3450
9	34288.2410	3471.5764	49.2291
10	32871.7345	2203.9576	49.1297

Fonte: A autora.

decaimento ao longo do tempo. Mesmo que a simulação não tenha alcançado os picos ela mantém o comportamento principal dos dados, se ajustando melhor a essa curva.

No gráfico da Figura 4.14 (c), tem-se as quantidades de vírus ao longo do tempo, com o MOI inicial baixo, em que valores das partículas virais se mantiveram constante apenas com um pico no 6 dia. Observe que nesse caso a simulação tenta alcançar esse pico, mas o tempo pode ter sido insuficiente para alcançar o valor desejado, se a observação durasse mais tempo, a tendência seria um melhor resultado simulado.

A faixa verde em todos os gráficos, indica o Intervalo de Confiança em que a simulação se encontra.

### 4.3.2 Simulação para concentração de 25 mil células

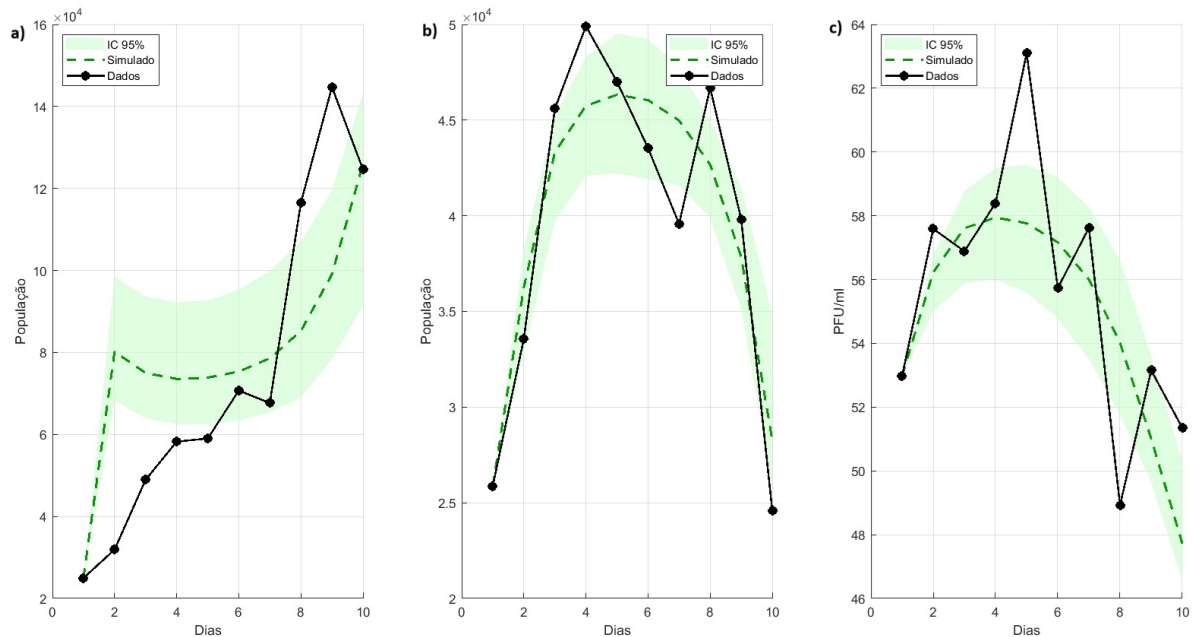
#### MOI 0.1

Os resultados apresentados correspondem a simulação realizada com o modelo matemático implementado, e os parâmetros correspondente a cada multiplicidade de infecção, a simulação corresponde a resolução do sistema de equações, para cada ponto observado, no caso aos valores de cada dia da infecção.

A Figura 4.15 e a Tabela 4.11, mostram que o modelo permitiu simular o comportamento dos dados de maneira que as células não infectadas (Figura 4.15 (a)) tiveram um comportamento crescente, o que corresponde aos dados simulados, e justifica a compensação que o sistema realiza com os valores negativos dos parâmetros, porém a simulação não foi capaz de capturar pontos de decaimento pequenos que ocorreram nos dados reais.

Já para as células infectadas, Figura 4.15 (b) o comportamento real dos dados mostra um crescimento até o dia 8 e em seguida um decaimento, porém durante esse percurso houveram picos de crescimento ocorrido até o dia 4, seguido de um decaimento até o dia 6, e um novo pico de crescimento no dia 8 decaindo até o dia 10. A simulação se manteve próxima dos

Figura 4.15: Simulação com 25 mil células e MOI 0.1.



Fonte: A autora.

Tabela 4.11: Valores simulados das variáveis do modelo para o experimento com  $2.5 \times 10^4$  células.

<b>Dia</b>	<b>Células não infectadas</b>	<b>Células infectadas</b>	<b>Vírus (PFU/ml)</b>
1	25000.0000	25871.3798	52.9733
2	79907.5837	36112.3756	56.1967
3	74602.3466	43244.1238	57.5712
4	73120.1575	45685.4151	57.9026
5	73410.3005	46276.9107	57.7270
6	74925.5235	46012.7408	57.1392
7	78178.4967	45008.2143	55.9999
8	84938.8451	42798.3085	54.0360
9	99259.6834	38099.5899	51.0550
10	128092.2771	28539.8101	47.7537

Fonte: A autora.

dados experimentais, principalmente no início e no fim do experimento, apesar de não seguir os picos que ocorreram no meio da infecção.

Com o vírus (Figura 4.15 (c)), os dados apresentaram ponto de crescimento e decaimento, ressaltando um crescimento maior até o dia 5, e um grande decaimento até o dia 8, para um novo crescimento a partir desse momento. Nesse caso, por mais que a simulação não tenha evidenciado esses picos, a curva simulada manteve o comportamento de crescimento e decaimento dos dados, mantendo-se próxima a curva.

A simulação não foi capaz de acompanhar os picos de crescimento e decaimento dos dados, mas de uma maneira mais abrangente acompanhou a tendência que eles de-

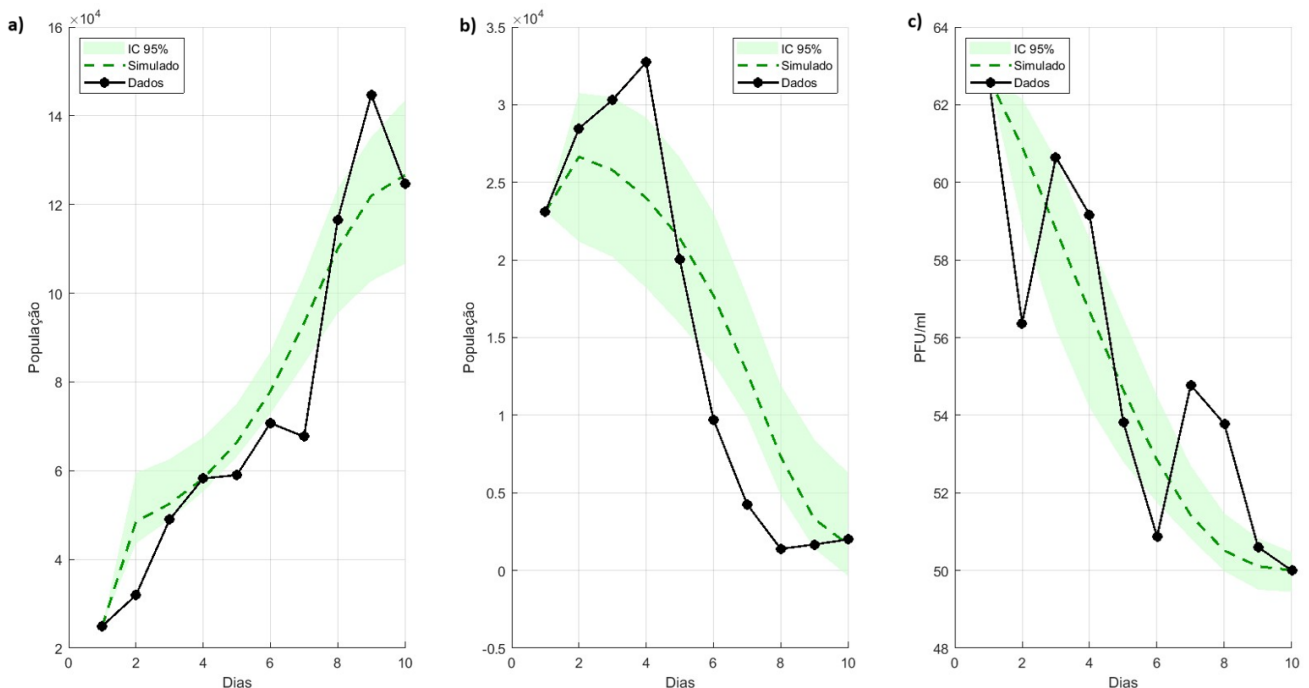
mostraram.

### MOI 0.5

A Tabela 4.12 e a Figura 4.16 representam a simulação do modelo para 25 mil células e MOI 0.5. Como os dados das células não infectadas (Figura 4.16 (a)) são iguais para os três MOIs, dado que o experimento para obter tais valores foram realizado separadamente, sem presença de vírus, o comportamento dessas células foi o mesmo apresentado no MOI 0.1.

No entanto, como já observado, os parâmetros se alteram de acordo com cada MOI, nesse caso com MOI 0.5, a simulação representou melhor o comportamento dos dados, onde mesmo a curva não encontrando o valor exato, se aproximou do comportamento, com crescimento mais acelerado nos primeiros dias. Além disso, analisando os valores observados e simulados, é possível notar que os parâmetros que representam a infecção com MOI 0.5, ajustaram melhor a curva das células não infectadas, em relação ao MOI 0.1.

Figura 4.16: Simulação com 25 mil células e MOI 0.5.



Fonte: A autora.

Já para o comportamento das células infectadas (Figura 4.16 (b)), observou-se um melhor ajuste mesmo apresentando tempo de crescimento inferior aos dados reais. Além disso, o comportamento das curvas foram semelhantes e o erro entre elas diminuiu com relação aos casos anteriores.

O vírus (Figura 4.16 (c)) por sua vez, manteve o comportamento com picos de crescimento e decaimento, porém, nesse caso, a tendência principal observada se manteve

Tabela 4.12: Valores simulados das variáveis do modelo para o experimento com  $2.5 \times 10^4$  células e MOI 0.5.

<b>Dia</b>	<b>Células não infectadas</b>	<b>Células infectadas</b>	<b>Vírus (PFU/ml)</b>
1	25000.0000	23108.4920	62.7089
2	48497.8133	26643.7284	60.9117
3	52533.0937	25782.5758	58.7876
4	58198.5757	23991.2298	56.6705
5	66323.5067	21400.3233	54.6512
6	77883.6196	17708.2409	52.8481
7	93285.6787	12765.3606	51.4202
8	109991.6662	7332.9759	50.5102
9	121958.0674	3320.8935	50.1065
10	126585.0120	1672.7933	50.0034

Fonte: A autora.

no decaimento, que foi o que se ressaltou na simulação, de maneira que a curva simulada teve um decaimento mais acentuado até o dia 8, quando apresentou uma estabilidade até o dia 10.

### MOI 1.0

Para MOI 1.0, a Figura 4.17 e a Tabela 4.13, mostram que a curva das células não infectadas simuladas (Figura 4.17 (a)), apresentou de crescimento, que tentou acompanhar a curva dos dados experimentais, porém com relação ao MOI 0.5, a simulação ficou mais distante dos dados.

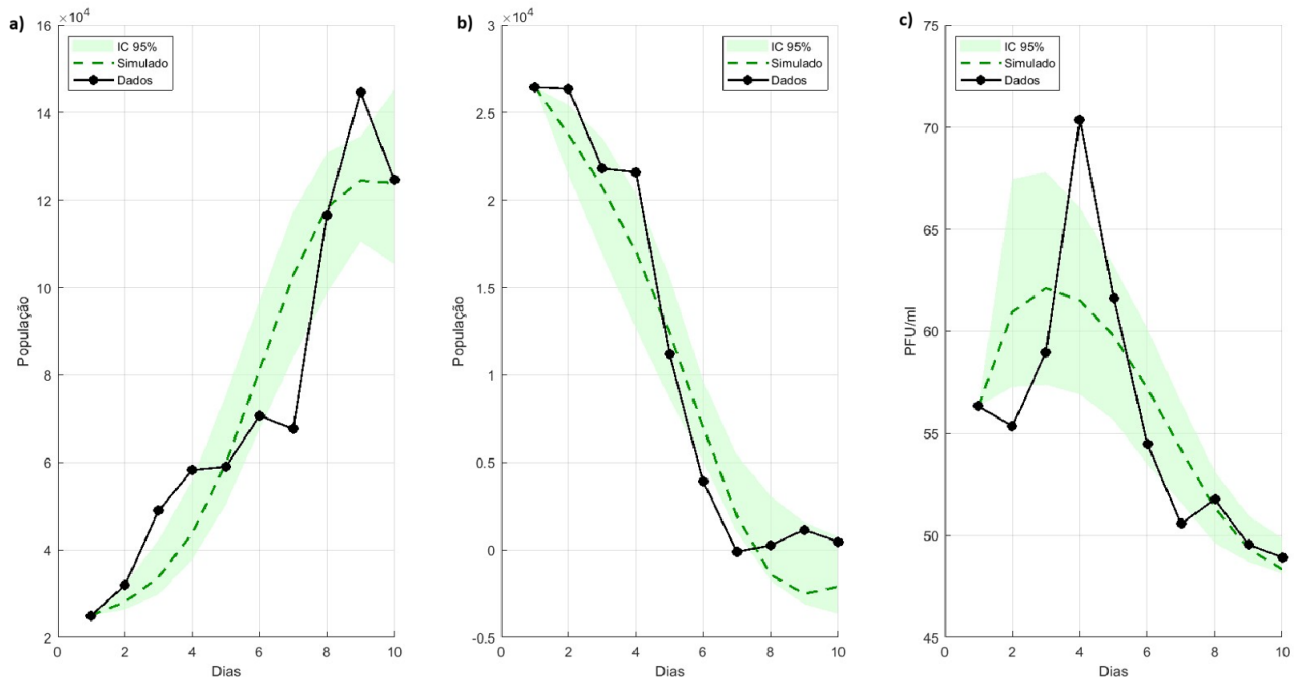
Tabela 4.13: Valores simulados das variáveis do modelo para o experimento com  $2.5 \times 10^4$  células e MOI 1.0.

<b>Dia</b>	<b>Células não infectadas</b>	<b>Células infectadas</b>	<b>Vírus (PFU/ml)</b>
1	25000.0000	26454.9775	56.3256
2	28092.9158	23754.5029	60.9472
3	33726.2085	20753.9385	62.1141
4	43804.0570	17063.6229	61.5023
5	59828.9655	12409.7196	59.7711
6	81088.8408	7013.8223	57.2081
7	102819.5214	1944.4163	54.1916
8	118297.3344	-1398.6554	51.3565
9	124486.7880	-2512.1958	49.3340
10	123905.7591	-2109.1411	48.3380

Fonte: A autora.

Já as células infectadas (Figura 4.17 (b)), nesse caso, apresentaram majoritariamente um comportamento de decaimento, indicando que o MOI 1.0 foi mais nocivo e destruiu as células infectadas em pouco tempo. Com a simulação, podemos notar que a principal diferença entre os dados observados e simulados está entre os dias 8 e 10, quando a simulação apresentou um decaimento mais acentuado. Pode-se notar que nesse caso a simulação das cé-

Figura 4.17: Simulação com 25 mil células e MOI 1.0.



Fonte: A autora.

lulas infectadas ficou muito próxima dos dados experimentais, essa melhora pode ter relação com o comportamento das células infectadas, que não apresentaram grande picos, o que pode ter facilitado o ajuste no modelo.

No gráfico que representa os vírus (Figura 4.17 (c)) podemos notar que atingiu um pico muito alto no quarto dia, mas logo em seguida observou-se um decaimento muito grande, justamente pela morte da maioria das células, o vírus não conseguia se reproduzir e decaiu até o último dia. A simulação representou exatamente esse comportamento, tentou acompanhar o pico, mas não chegou ao valor exato, e aumentou o taxa de decaimento até o final da observação.

### 4.3.3 Simulação para concentração de 50 mil células

#### MOI 0.1

Para uma concentração inicial de 50 mil células a Figura 4.18 e a Tabela 4.14 demonstram que o comportamento das células não infectadas ( Figura 4.18 (a)), foi um pouco menos linear se comparado a quantidade de células menores dos outros dois experimentos. Apresentando um crescimento como principal característica, porém com um leve decaimento entre o dia 3 e 6, voltando a crescer até o dia 8, quando estabilizou até o fim da observação. A curva simulada pelo modelo com MOI 0.1, tentou acompanhar o crescimento das células, não chegando ao pico final e nem representando o decaimento observado nos dados, visto que

a estrutura do modelo dificulta acompanhar o crescimento acentuado dessas células.

Figura 4.18: Simulação com 50 mil células e MOI 0.1.



Fonte: A autora.

Tabela 4.14: Valores simulados das variáveis do modelo para o experimento com  $5.0 \times 10^4$  células e MOI 0.1.

<b>Dia</b>	<b>Células não infectadas</b>	<b>Células infectadas</b>	<b>Vírus (PFU/ml)</b>
1	50000.0000	49499.7922	53.2519
2	58784.2738	54016.9253	55.5551
3	66637.6955	58868.3906	57.2790
4	75175.1762	63032.6728	58.7317
5	85536.3064	65009.1327	59.8235
6	98077.0686	62954.7819	60.2255
7	110909.6400	55988.8317	59.5615
8	118945.7072	46231.0233	57.8084
9	117603.8366	38009.1037	55.5648
10	108429.1905	33649.2985	53.6584

Fonte: A autora.

As células infectadas ( Figura 4.18 (b)), tiveram um crescimento acentuado, que mesmo com picos de decaimento se manteve até o dia 5, quando inicio-se um decaimento até o dia 8, seguido de uma estabilização. A simulação feita pelo modelo apresentou um crescimento bem menor que o real, até o dia 6 e decaiu quase que linearmente até o restante dos dias observados.

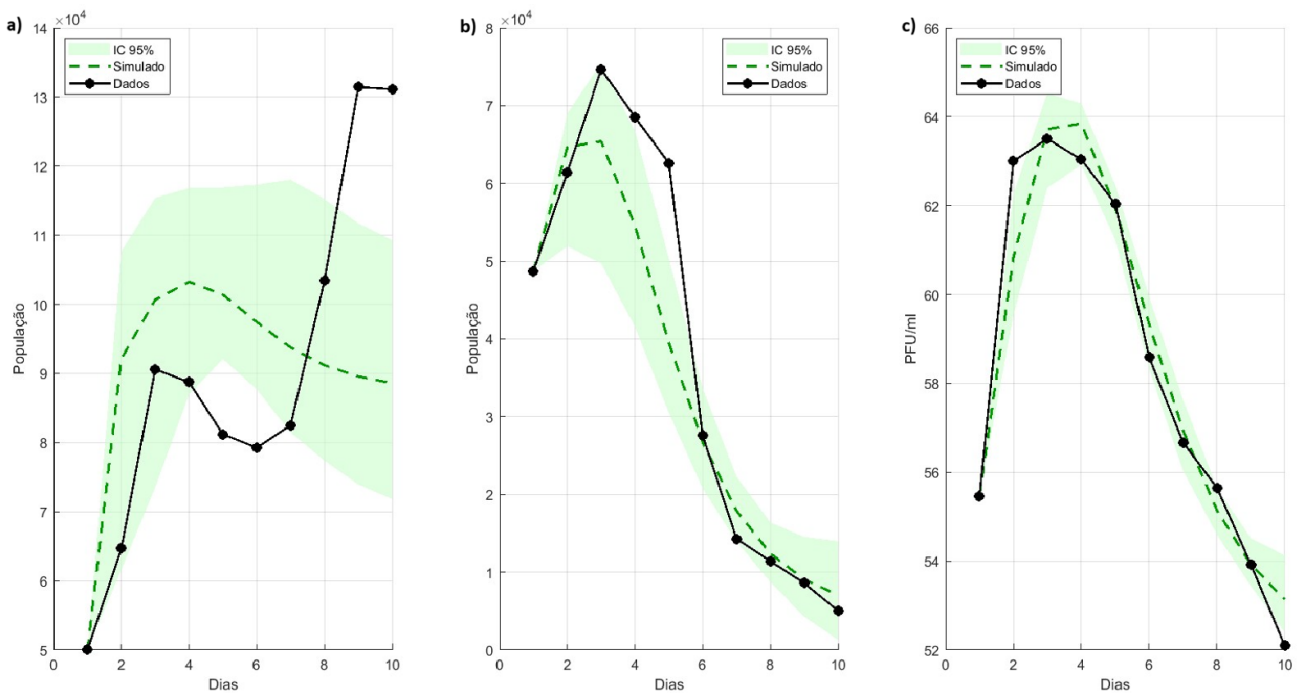
Os dados que representam o vírus ( Figura 4.18 (c)) tiveram como maior destaque um grande crescimento entre os dias 4 e 5, com decaimento no dia 6, um sutil crescimento do dia 7 e um novo decaimento até o fim do experimento. O resultado com a simulação foi um crescimento até o dia 6, seguido por decaimento até o dia 10.

Nesse caso a curva das células infectadas ficou um pouco mais distante dos dados observados, o vírus ficou próximo dos valores observados, porém também não capturou os pico da infecção, em todos os casos a simulação acompanhou a principal tendência dos dados reais.

### MOI 0.5

Quando o MOI é 0.5, como pode-se observar na Figura 4.19 e Tabela 4.15 a simulação segue o comportamento dos dados até o dia 6, quando deveria ter uma novo crescimento, porém não acontece. Esse fato reforça os ajustes nos parâmetros que o modelo faz para tentar acompanhar a dinâmica.

Figura 4.19: Simulação com 50 mil células e MOI 0.5.



Fonte: A autora.

O comportamento da células não infectadas (Figura 4.19 (a)) para esse MOI teve um crescimento mais linear até o dia 3, um leve decaimento até o dia 5 e em seguida um grande decaimento até o dia 7, quando se torna mais sutil. Em contra partida a simulação das células infectadas (Figura 4.19 (b)), neste caso se aproximou com relevância dos dados experimentais, mostrando que o modelo conseguiu capturar melhor a dinâmica das células infectadas

e dos dados que estavam aclopados no mesmo experimento.

A curva real dos dados mostrou que os vírus (Figura 4.19 (c)) tiveram um crescimento até o dia 3, um leve decaimento até o dia 4, seguido por um decaimento mais drástico até o dia 10. A simulação acompanhou com grande proximidade essa estrutura.

Tabela 4.15: Resultados simulados do modelo para  $5.0 \times 10^4$  células e MOI 0.5.

<b>Dia</b>	<b>Não infectadas (sim.)</b>	<b>Infectadas (sim.)</b>	<b>Vírus (sim.) [PFU/mL]</b>
1	50000.0000	48728.0635	55.4534568
2	92124.5886	64683.2943	60.8364728
3	100668.6816	65419.4949	63.7214716
4	103257.3192	54552.7517	63.8473182
5	101406.2699	39528.5180	61.9586185
6	97440.7542	26698.7507	59.3333257
7	93761.5606	17904.0401	56.9410387
8	91191.9525	12404.0335	55.1429345
9	89577.2775	9070.7205	53.9214355
10	88593.4328	7069.7641	53.1367969

Fonte: A autora.

## MOI 1.0

A última simulação foi realizada com 50 mil células e MOI 1.0, como pode-se observar na Figura 4.20 e Tabela 4.16, não há alteração dos dados das células não infectadas (Figura 4.20 (a)), elas seguem em crescimento até o dia 3, quando começa um decaimento até o dia 8, voltando a crescer. A simulação nesse caso, foi próxima da observada com MOI 0.1, a curva simulada cresceu até o dia 8, quando teve um leve decaimento..

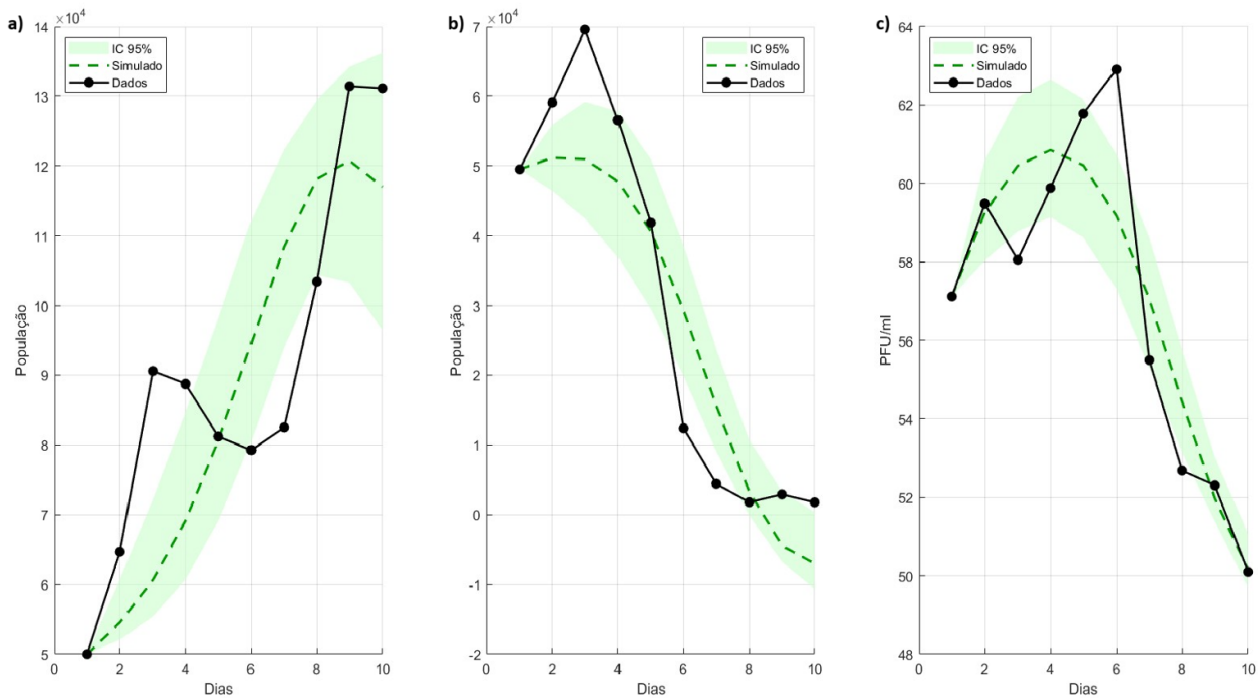
Tabela 4.16: Valores simulados das variáveis do modelo para o experimento com  $5.0 \times 10^4$  células e MOI 1.0.

<b>Dia</b>	<b>Células não infectadas</b>	<b>Células infectadas</b>	<b>Vírus (PFU/ml)</b>
1	50000.0000	49507.6878	57.1132
2	54553.0173	51194.9507	59.2591
3	60644.5535	50980.9292	60.4473
4	69140.5795	47778.5850	60.8577
5	80614.4968	40595.0791	60.4603
6	94557.7484	29291.3200	59.1719
7	108439.5062	15633.9444	57.0466
8	118133.1463	3294.1316	54.4444
9	120744.6336	-4427.4996	51.9727
10	117020.2814	-7021.8264	50.1546

Fonte: A autora.

A curva que demonstra o comportamento das células infectadas (Figura 4.20

Figura 4.20: Simulação com 50 mil células e MOI 1.0.



Fonte: A autora.

(b)), segue um padrão já observado anteriormente em outros casos, ocorre um crescimento até o dia 3, e em seguida a quantidade de células cai significadamente até o dia 7, quando o decaimento de torna mais lento. Nessa condição a simulação das células infectadas buscou representar a dinâmica principal dos dados, se mantendo mais estável até o dia 4, quando a partir daí decresce até o fim da simulação.

Para o caso dos vírus (Figura 4.20 (c)), os dados observados mostram uma tendência crescente até o dia 6, com pico de decaimento no dia 3, porém com uma curva sutil, a partir do dia 6 a quantidade de vírus cai até o dia 10. O mesmo acontece com a curva simulada, por mais que não capture com exatidão os picos, ela acompanha o crescimento até o dia 5 e segue o decaimento até o dia 10, ficando próxima dos dados observados.

Para essa quantidade inicial de células, pode-se notar que o modelo se adequou melhor as células infectadas e vírus, o que reforça a capacidade de simular a infecção, já que as células infectadas apresentam um comportamento diferente do esperado pelo modelo.

A partir das simulações feitas foi possível notar a diferença do comportamento de acordo com as diferentes quantidades iniciais de células em cada experimento, com menos células o modelo tenta modificar e se adequar as células não infectadas, com uma quantidade maior de células ele se encaixa melhor a infecção, sendo células infectadas e vírus.

Vale ressaltar que a fim de garantir que os métodos de estimação e resolução numérica implementados nessa pesquisa, são confiáveis, a partir do trabalho de Iwani e colaboradores [72] que utilizam a mesma escala de dados para trabalhar com HIV, os dados da

citada pesquisa foram utilizados com a mesma metodologia para os dados experimentais usados neste trabalho. Os resultados encontrados foram parâmetros muito próximos aos do publicado, mostrando que os passos adotados nesta pesquisa são capazes de entregar os resultados, como apresentado no Anexo 1, desta pesquisa, o que contribui com a hipótese dos dados utilizados do hRSV terem limitados a parte numérica.

Por exemplo em todos os casos as células não infectadas apresentam um crescimento, pois estavam livre da presença de vírus, porém se essas células estivesse no mesmo experimento, muitas se tornariam células infectadas, o que causaria um decaimento nessa população. Devido a esse mesmo motivo a simulação de células infectadas não acontece tão fielmente aos dados, pois fica difícil encontrar parâmetros que atenda perfeitamente aos três casos e com isso as células não infectadas se torna a variável mais impactada.

#### 4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Nesta seção serão apresentados as métricas de erro que foram utilizadas na pesquisa, sendo elas o SSR, MSE, RMSE, MAE,  $R^2$  e IC, a fim de avaliar a qualidade do ajuste do modelo aos dados experimentais.

##### 4.4.1 Métricas para concentração de 10 mil células

A Tabela 4.17 apresenta as métricas para MOI 0.1, descritas na sessão 3.6. Os valores dos erros em relação aos dados observados é relativamente maior para as células não infectadas e infectadas. Isso se dá devido a ordem da unidade dos dados, em que os vírus são medidos em PFU, com número máximo de 50 unidades, e a população de células atingem valores próximos a 37 mil. Em virtude disso, mesmo que as células apresentem um melhor ajuste gráfico em relação ao vírus, os valores obtidos para seus erros são de ordem significativamente mais elevado.

Tabela 4.17: Métricas de erro do ajuste do modelo às variáveis observadas com 10 mil células e MOI 0.1.

Variável	SSR	MSE	RMSE	MAE	$R^2$
Células Não infectadas	$7.558 \times 10^8$	$7.558 \times 10^7$	8693.7	7072.8	0.4797
Células Infectadas	$1.227 \times 10^8$	$1.227 \times 10^7$	3502.8	2562.5	0.5455
Vírus	10.113	1.113	1.0056	0.6482	0.0897

Fonte: A autora.

##### 4.4.2 Métricas para concentração de 25 mil células

As métricas de erro calculadas para os ajustes do modelo, conforme apresentados nas Tabelas 4.18, revelam variações significativas de desempenho conforme o valor do MOI.

Tabela 4.18: Métricas de erro do ajuste do modelo às variáveis observadas para 25 mil células, considerando diferentes valores de MOI.

MOI	Variável	SSR	MSE	RMSE	MAE	$R^2$
0.1	Células Não Infectadas	$6.56 \times 10^9$	$6.56 \times 10^8$	25603.82	19855.06	0.5538
	Células Infectadas	$9.87 \times 10^7$	$9.87 \times 10^6$	3141.23	2715.39	0.8615
	Vírus	79.87	7.99	2.83	2.18	0.4650
0.5	Células não infectadas	$1.615 \times 10^9$	$1.615 \times 10^8$	12707	9163.4	0.8901
	Células infectadas	$2.763 \times 10^8$	$2.763 \times 10^7$	5256.8	4088.5	0.8152
	Vírus	57.107	5.7101	2.3897	1.8831	0.6722
1.0	Células não infectadas	$2.2127 \times 10^9$	$2.2127 \times 10^8$	14875	10255	0.8494
	Células infectadas	$6.6694 \times 10^7$	$6.6694 \times 10^6$	2582.5	2248.6	0.9444
	Vírus	144.67	14.467	3.8036	2.7042	0.6284

Fonte: A autora.

Com o MOI 0.1, os erros para células não infectadas foram maiores do que os apresentados para CC inicial de 10 mil células, o que pode ser justificado devido a quantidade maior de células nessa concentração.

Para o MOI 0.5, a maior diferença com relação ao MOI 0.1 foi o valor do RMSE das células não infectadas, que teve um redução significativa, já as células infectadas tiveram um leve aumento nos valores dos erros. Além disso as métricas indicam que para esse conjunto de dados houve o melhor ajuste para as partículas virais e células não infectadas, considerando a concentração inicial de 25 mil células.

Com MOI 1.0 as métricas indicam que de forma geral a simulação ficou próxima do MOI 0.5, exibindo o melhor ajuste para células infectadas. Em síntese, nestas condições o modelo manteve um bom ajuste, sem ganho significativo de desempenho.

#### 4.4.3 Métricas para concentração de 50 mil células

A Tabela 4.19, apresenta as métricas de desempenho do modelo ajustado para a concentração inicial de 50 mil células, sob três condições distintas de MOI.

Tabela 4.19: Métricas de erro do ajuste do modelo às variáveis observadas para 50 mil células, considerando diferentes valores de MOI.

MOI	Variável	SSR	MSE	RMSE	MAE	$R^2$
0.1	Células não infectadas	$2.9187 \times 10^9$	$2.9187 \times 10^8$	17084	14701	0.5197
	Células infectadas	$2.2081 \times 10^9$	$2.2081 \times 10^8$	14860	12549	0.3559
	Vírus	69.957	69.957	2.6449	1.9120	0.4959
0.5	Células não infectadas	$5.6382 \times 10^9$	$5.6382 \times 10^8$	23745	19821	0.0722
	Células infectadas	$8.4355 \times 10^8$	$8.4355 \times 10^7$	9184.5	5755.1	0.8773
	Vírus	7.3526	0.73526	0.85747	0.58355	0.9543
1.0	Células não infectadas	$2.8198 \times 10^9$	$2.8198 \times 10^8$	16792	14102	0.5360
	Células infectadas	$1.0315 \times 10^9$	$1.0315 \times 10^8$	10157	82283	0.8511
	Vírus	28.0497	2.8050	1.67458	1.2342	0.8289

Fonte: A autora.

Com MOI 0.1, as métricas mostram que houve um aumento dos erros em relação as concentrações iniciais anteriores de 10 e 25 mil, o que se reflete no valor de  $R^2$ , que também teve uma diminuição.

Já com MOI 0.5, essas métricas apresentam melhores resultados, indicando que o modelo capturou de forma mais eficiente a dinâmica dos dados das células infectadas e partículas virais, porém os valores dos erros para as células não infectadas aumentaram, indicando que o modelo não capturou bem essa dinâmica nas condições apresentadas.

Para MOI 1.0, houve uma melhora no ajuste global, as métricas para células infectadas e vírus se mantiveram boas e as relacionadas a células não infectadas apresentaram melhor desempenho se comparado ao MOI 0.5.

Os resultados apresentados não são comparáveis ao da literatura, uma vez que foi exibido dados brutos e a literatura apresenta os dados linearizados por  $\log_{10}$ , além disso a maioria dos trabalhos utiliza o SSR e RSME apenas nos ajustes dos dados, não trazendo os valores finais como método para interpretação da qualidade dos modelos.

Os valores relevantes das métricas, confirmam o que foi discutido nas subseções 4.2 e 4.3, que devido a natureza dos dados o modelo deve ser interpretado matematicamente como adequado pra descrever os resultados obtidos em dados experimentais, mesmo que em alguns casos, os parâmetros não possam ter unicamente interpretação biológica, o que não invalida totalmente os resultados apresentados.

#### 4.4.4 Intervalo de Confiança

Neste trabalho, os intervalos de confiança foram obtidos por meio de um procedimento de reamostragem *bootstrap*, com 5000 amostras independentes. Para isso, o modelo ajustado aos dados experimentais foi utilizado para calcular os resíduos do ajuste. A partir desses resíduos, foram gerados conjuntos de dados sintéticos em cada iteração *bootstrap*, preservando a estrutura do ajuste original e a variabilidade observada nos dados. A condição inicial de cada amostra foi definida a partir do primeiro ponto reamostrado.

Para cada uma das 5000 amostras *bootstrap*, os parâmetros do modelo foram reestimados resolvendo novamente o problema de otimização numérica com a função *fmincon*, mantendo as mesmas restrições, limites inferiores e superiores utilizados no ajuste principal.

Além da incerteza paramétrica, o procedimento também incluiu a propagação da variabilidade para as trajetórias do modelo. Em cada réplica convergida, o sistema de equações diferenciais foi resolvido com os parâmetros estimados. Esse conjunto de trajetórias possibilitou a construção de envelopes de confiança ponto a ponto no tempo, refletindo a incerteza induzida pelo processo de estimação. Os resultados apresentados a seguir, mostram o intervalo de confiança para cada parâmetro ajustado, e podem ser observados pela faixa indicada nas figuras que representam a simulação numérica do modelo.

A Tabela 4.20 apresenta o resumo do procedimento de *bootstrap* e os intervalos de confiança percentis de 95% para os parâmetros estimados do modelo.

Tabela 4.20: Parâmetros estimados e intervalos de confiança (95%) para  $CC\ 1.0 \times 10^4$ .

Condição	Parâmetro	Estimativa	IC 95%
10 mil	$a$	0.76913	[0.26059 , 2.64950]
10 mil	$b$	1.63980	[0.58244 , 5.00000]
10 mil	$\beta$	-2.6060	[-3.00000 , -0.84974]
10 mil	$\delta$	-0.37349	[-0.55292 , -0.16211]
10 mil	$p$	0.23249	[0.11631 , 0.55356]
10 mil	$c$	0.73336	[0.37313 , 1.00000]

Fonte: A autora.

Como observado na Tabela 4.20, o parâmetro  $a$  apresenta um intervalo relativamente amplo, sugerindo que sua estimativa é sensível à variabilidade dos dados experimentais, o que pode ser justificado pela natureza do parâmetro, que diz respeito a proliferação celular. Deste modo, pequenas variações na dinâmica inicial do sistema podem refletir em diferentes valores para esse parâmetro.

O parâmetro  $b$ , apresenta um intervalo que atinge o limite superior imposto no processo de otimização. Já que a otimização feita dentro do processo de *bootstrap*, foi a mesma para a estimativa dos parâmetros com os dados experimentais, os intervalos deveriam ser limitados por valores que melhorasse a estimativa original dos parâmetros, o que acabou interferindo no intervalo superior do IC. Apesar disso, o intervalo se mantém amplo, mostrando que o parâmetro é sensível as variações dos dados.

Para os parâmetros relacionados a infecção  $\beta$  e  $\delta$  os intervalos mantêm-se negativos. Matematicamente, esse resultado reforça a interpretação de que, no delineamento experimental considerado, a proliferação celular domina a cinética de infecção. A consistência do sinal negativo ao longo de todas as amostras *bootstrap* indica que esse comportamento não é um artefato pontual do ajuste, mas uma característica estrutural do conjunto de dados analisado.

O parâmetro  $p$ , apresenta um intervalo moderado, indicando que a taxa de produção de vírus é identificável, mas ainda sensível à variabilidade experimental. Já o parâmetro  $c$ , também atinge o limite superior imposto na otimização, devido ao limite determinado inicialmente para a estimação dos parâmetros.

A Tabela 4.21 apresenta os intervalos de confiança obtidos para o experimento com  $2.5 \times 10^4$  células, considerando diferentes valores de MOI.

Para MOI 0.1, os intervalos de confiança indicam que o modelo apresenta boa estabilidade para os parâmetros associados à dinâmica celular e ao processo de infecção. Os parâmetros  $a$  e  $b$  exibem intervalos moderadamente amplos, refletindo a variabilidade associada ao crescimento contínuo das células não infectadas, que não foram observadas no mesmo experimento das células infectadas e do vírus.

O parâmetro  $\beta$  apresenta um intervalo de confiança inteiramente positivo e com baixa variação, sugerindo que a taxa de infecção foi melhor identificada nessa condição de MOI baixo. De forma semelhante, o parâmetro  $\delta$  também possui intervalo positivo e estável,

Tabela 4.21: Intervalos de confiança (95%) para  $CC\ 2.5 \times 10^4$ .

MOI	Parâmetro	Estimativa	IC 95%
0.1	$a$	2.1291	[1.1571 , 3.4254]
0.1	$b$	2.5509	[0.53628 , 5]
0.1	$\beta$	4.2432	[2.429 , 5]
0.1	$\delta$	1.2552	[0.79573 , 1.7143]
0.1	$p$	-0.7326	[-0.99842 , -0.35888]
0.1	$c$	-0.9650	[-1 , -0.58446]
0.5	$a$	3.2953	[1.3251 , 4.4239]
0.5	$b$	3.8594	[1.4435 , 5.0000]
0.5	$\beta$	14.8861	[3.1778 , 15.0000]
0.5	$\delta$	3.1026	[0.8602 , 4.0000]
0.5	$p$	-0.2795	[-0.5060 , -0.0407]
0.5	$c$	-0.0714	[-0.3451 , 0.3037]
1.0	$a$	0.0202	[0.00694 , 0.05425]
1.0	$b$	0.0223	[-0.13482 , 0.15455]
1.0	$\beta$	-0.9912	[-1.4849 , -0.5047]
1.0	$\delta$	0.1008	[0.02877 , 0.20442]
1.0	$p$	0.6090	[0.25931 , 1.8719]
1.0	$c$	0.7700	[0.4772 , 2.0000]

Fonte: A autora.

indicando que o modelo foi capaz de capturar a escala temporal da perda de células infectadas.

Em contraste, os parâmetros associados à dinâmica viral,  $p$  e  $c$ , apresentam intervalos de confiança totalmente negativos. Esse comportamento reflete limitações experimentais e compensações matemáticas do processo de ajuste.

Para MOI 0.5 observa-se um aumento geral na magnitude dos parâmetros, acompanhado por intervalos de confiança ainda amplos. O parâmetro  $\beta$  apresenta intervalo que alcança o limite superior permitido, indicando alta sensibilidade do termo de infecção aos dados experimentais nessa condição. O parâmetro  $p$  assume valores negativos em todo o intervalo de confiança, sugerindo que, no ajuste do modelo, a produção viral é compensada por outros termos dinâmicos. Já o intervalo de  $c$  atravessa o zero, evidenciando incerteza estrutural na identificação do decaimento viral nesse regime experimental.

Com MOI 1.0, os intervalos de confiança tornam-se mais estreitos para alguns parâmetros, particularmente  $a$  e  $\delta$ , indicando maior estabilidade do ajuste em condições de alta carga viral inicial. O parâmetro  $\beta$  permanece negativo em todo o intervalo, mantendo a interpretação de dominância da dinâmica celular sobre a cinética de infecção. Em contraste, os parâmetros  $p$  e  $c$  assumem intervalos positivos e de maior magnitude, sugerindo que a produção e o decaimento viral tornam-se mais identificáveis à medida que a participação da dinâmica viral aumenta.

A Tabela 4.22 apresenta os intervalos de confiança para concentração inicial de 50 mil células e diferentes MOIs.

Tabela 4.22: Intervalos de confiança (95%) para  $CC\ 5.0 \times 10^4$ .

MOI	Parâmetro	Estimativa	IC 95%
0.1	$a$	0.1239	[0.05432 , 0.50636]
0.1	$b$	0.3907	[0.00696 , 1.48270]
0.1	$\beta$	-0.8167	[-1.55520 , -0.24314]
0.1	$\delta$	-0.3588	[-0.62964 , -0.04682]
0.1	$p$	1.0187	[0.35395 , 1.99640]
0.1	$c$	0.9161	[0.28244 , 1.00000]
0.5	$a$	1.3749	[0.16003 , 2.05840]
0.5	$b$	3	[0.49975 , 3.00000]
0.5	$\beta$	-0.8744	[-1.30990 , -0.28813]
0.5	$\delta$	-0.5396	[-0.60626 , -0.11521]
0.5	$p$	0.13560	[1.04220 , 2.61840]
0.5	$c$	1.0272	[0.81725 , 1.91110]
1.0	$a$	0.0502	[0.02138 , 0.13360]
1.0	$b$	1.1512	[-0.03019 , 0.41997]
1.0	$\beta$	-0.5442	[-0.68286 , -0.39535]
1.0	$\delta$	-0.0482	[-0.15807 , 0.06039]
1.0	$p$	0.8227	[0.61007 , 1.00000]
1.0	$c$	0.6628	[0.53308 , 0.98627]

Fonte: A autora.

No intervalo determinado para MOI 0.1, os parâmetros associados à infecção ( $\beta$ ) e à dinâmica das células infectadas ( $\delta$ ) permanecem negativos em todo o intervalo de confiança. Esse resultado é consistente com a interpretação de que, nessa condição, a proliferação celular domina a cinética de infecção, fazendo com que o termo infeccioso atue matematicamente como um mecanismo efetivo de criação de células alvo no ajuste do modelo. Os parâmetros virais  $p$  e  $c$  apresentam intervalos positivos, sugerindo que a produção e o decaimento viral são identificáveis, porém ainda sensíveis à variação experimental.

Já para MOI 0.5 observa-se aumento na magnitude dos parâmetros virais e celulares, acompanhado por intervalos que permanecem amplos, indicando sensibilidade do ajuste as variações dos dados. A persistência de  $\beta$  e  $\delta$  negativos ao longo de todo o intervalo reforça a dominância estrutural da dinâmica celular sobre a infecção nesse regime. O parâmetro  $c$  apresenta valores elevados e totalmente positivos, sugerindo maior participação do decaimento viral na dinâmica do sistema à medida que a carga viral inicial aumenta.

Para MOI 1.0, alguns intervalos tornam-se mais estreitos, particularmente para o parâmetro  $a$ , indicando maior estabilidade do ajuste em condições de alta inoculação viral. O parâmetro  $\beta$  permanece negativo em todo o intervalo, mantendo a interpretação de dominância da proliferação celular. Já o parâmetro  $\delta$  atravessa o zero, sugerindo incerteza na identificação da taxa de remoção das células infectadas nesse regime. Os parâmetros virais  $p$  e  $c$  permanecem positivos e bem delimitados, indicando que a dinâmica viral se torna mais informativa para o ajuste em altas MOIs.

De forma geral, a comparação entre os diferentes valores de concentração inicial e MOI indica que a identificabilidade dos parâmetros depende da condição experimental. A estabilização do sinal de  $\beta$  ao longo de todas as réplicas *bootstrap* reforça a qualitatativa do comportamento observado, enquanto a amplitude dos intervalos revela correlações limitações informacionais dos dados.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente pesquisa permitiu por meio do modelo matemático implementado, simular a dinâmica do vírus hRSV em células do tipo A549, com foco na interação entre células infectadas, células não infectadas e partículas virais. Os resultados mostram que a abordagem adotada, apesar de suas limitações, foi capaz de capturar matematicamente aspectos fundamentais da interação entre o vírus e suas células hospedeiras. A principal característica a ser observada na pesquisa diz respeito a influência da multiplicidade de infecção no comportamento do sistema, revelando que em MOIs mais baixos a infecção se prolonga e tem um pico mais tardio e em MOIs mais altos o efeito destruidor do vírus é percebido em menos tempo, o que pode ser confirmado com a pesquisa de Rajan e colaboradores [86].

Devido a escassez de estudos específicos sobre modelagem do hRSV em culturas celulares, que quantifique o efeito do mesmo nas células, foi necessário adaptar processo originalmente desenvolvidos para outros vírus, como os trabalhos de Nowak , Perelson e Baccam [19, 20, 45], mas com trabalhos que fazem uma comparação entre diferentes vírus respiratórios, incluindo o hRSV como nos trabalhos de Gonzalez [18, 73], foi possível identificar as principais diferenças entre esses organismo nas células hospedeiras. Essa comparação, mostrou-se bem sucedida, visto que o modelo reproduziu padrões essenciais dos dados observados.

Outro aspectos metodológico relevante e desafiador estava nas escalas dos dados observados. A maioria dos estudos da área, que envolve a quantificação viral, acaba expressando os dados em escala logarítmica ( $\log_{10}$ ), neste trabalho optou-se por utilizar os dados na escala original de populações celulares e quantificação viral, a fim de permitir um modelo mais realista, porém devido as limitações computacionais para otimizar o tempo de resolução, os dados foram normalizados, porém na exibição dos resultados voltaram a escala dos dados experimentais.

Na grande maioria dos trabalhos que utilizam o modelo adotado na pesquisa, alguns dos parâmetros são oriundos de resultados obtidos na literatura, ou seja, o número de parâmetros estimados é menor, geralmente são 3 estimativas, sendo elas os parâmetros  $\beta$ ,  $\delta$  e  $p$ , os mais comuns a serem estimados. Como neste trabalho os 6 parâmetros do modelo, foram estimados, este pode ser um dos motivos para as dificuldades encontradas com as dimensões dos parâmetros.

As limitações nos dados experimentais acabaram dificultando, e impossibilitando um melhor aperfeiçoamento do modelo. Analisando biologicamente, as células não infectadas espera-se, que diminuíam em determinadas situações visto que, com o aumento da infecção viral mais células são infectadas e sem recurso suficiente para se reproduzir a população de células saudáveis diminuiria, não é o que acontece no experimento dado que as células não infectadas, não tem contato com o vírus, por isso a população tende a aumentar. Esse importante detalhe na realização dos experimentos podem ter afetado a qualidade final do modelo,

visto que a estrutura do modelo, foi criada para descrever os dados acoplados e retirados todos do mesmo experimento, podendo identificar quais são as células infectadas e quais são as não infectadas.

É revelante ressaltar que a ocorrência de parâmetros com valores negativos em alguns ajustes não invalida os resultados matemáticos apresentados neste trabalho. Do ponto de vista da modelagem, tais valores surgem como consequência direta do processo de estimação aplicado a um conjunto específico de dados experimentais e refletem a forma como o modelo equilibra os diferentes termos dinâmicos para reproduzir as trajetórias observadas. A exploração desses parâmetros permitiu obter os menores valores de erro residual, indicando melhor concordância entre o modelo e os dados. Desta maneira, os resultados devem ser interpretados no contexto do delineamento experimental e da estrutura do modelo adotado, não como uma descrição literal de processos biológicos isolados, mas como uma representação matemática que tenta reproduzir a dinâmica observada.

Diante do exposto, algumas melhorias podem ser consideradas em trabalhos futuros, entre elas, destaca-se a obtenção de dados experimentais mais informativos, onde as populações de células não infectadas, células infectadas e vírus sejam observadas simultaneamente em um único experimento, preferencialmente por meio de metodologias que permitam a distinção direta entre células infectadas e não infectadas.

Do ponto de vista da modelagem, outra possibilidade consiste em fixar alguns parâmetros com base em justificativas metodológicas ou informações independentes, o que pode reduzir o grau de indeterminação do problema. Alternativamente, podem ser exploradas extensões do modelo capazes de desacoplar processos atualmente representados de forma agregada, como a proliferação celular e a dinâmica de infecção. O uso de abordagens complementares de estimação, bem como análises de sensibilidade mais aprofundadas, também pode fornecer informações adicionais sobre o papel relativo de cada parâmetro na dinâmica do sistema.

Em suma, este trabalho representa um avanço inicial na construção de modelos matemáticos aplicados à dinâmica do hRSV em cultura celular. A partir de um modelo propositalmente simples, foi possível ajustar parâmetros e reproduzir adequadamente as trajetórias observadas nos dados experimentais. Embora limitações inerentes ao delineamento experimental e à estrutura do modelo permaneçam, os resultados obtidos demonstram que abordagens matemáticas parsimoniosas podem fornecer descrições coerentes da dinâmica vírus-célula, estabelecendo uma base sólida para investigações futuras mais detalhadas.

## REFERÊNCIAS

- [1] Patrick L Iversen. The threat from viruses. In *Molecular Basis of Resilience: Adapting to a Changing Environment*, pages 45–76. Springer, 2018.
- [2] Theo et al Vos. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the global burden of disease study 2019. *The Lancet*, 396(10258):1204–1222, 2020. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30925-9.
- [3] Rafael Sanjuán, Christopher JR Illingworth, Jemma L Geoghegan, Jaime Iranzo, Mark P Zwart, Alexander T Ciota, Gonzalo Moratorio, Selma Gago-Zachert, Siobain Duffy, and Dhanasekaran Vijaykrishna. Five challenges in the field of viral diversity and evolution, 2021. DOI: 10.3389/fviro.2021.684949.
- [4] David M. Knipe and Peter M. Howley. *Fields Virology*. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA, 6 edition, 2013.
- [5] C. B. Hall, E. E. Walsh, C. E. Long, and K. C. Schnabel. Immunity to and frequency of reinfection with respiratory syncytial virus. *Journal of Infectious Diseases*, 163(4):693–698, 1991. DOI: 10.1093/infdis/163.4.693.
- [6] World Health Organization. Respiratory syncytial virus (rsv), 2023. Disponível em :[https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/respiratory-syncytial-virus-\(rsv\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/respiratory-syncytial-virus-(rsv)). Acesso em: 15 jul. 2025.
- [7] Regina Castro. Infogripe: influenza a se torna a principal causa de mortalidade por srag em idosos, 2025.
- [8] Agência Fiocruz de Notícias. Resumo do boletim infogripe – semana epidemiológica (se) 50, 2025. [https://agencia.fiocruz.br/sites/agencia.fiocruz.br/files/Resumo\\_InfoGripe\\_2025\\_50.pdf](https://agencia.fiocruz.br/sites/agencia.fiocruz.br/files/Resumo_InfoGripe_2025_50.pdf), 2025. Acesso em: 16 de janeiro de 2026.
- [9] C. Griffiths, S. J. Drews, and D. J. Marchant. Respiratory syncytial virus: Infection, detection, and new options for prevention and treatment. *Clinical Microbiology Reviews*, 30:277–319, 2017.
- [10] Karen Kelleher, Nadisha Subramaniam, and Simon B. Drysdale. The recent landscape of rsv vaccine research. *Therapeutic Advances in Vaccines and Immunotherapy*, 13:1–11, 2025. DOI: 10.1177/25151355241310601.

- [11] Carolin Zitzmann and Lars Kaderali. Mathematical analysis of viral replication dynamics and antiviral treatment strategies: from basic models to age-based multi-scale modeling. *Frontiers in microbiology*, 9:1546, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01546>.
- [12] Kasia A. Pawelek, Daniel Dor, Cristina Salmeron, Andreas Handel, and Alan S. Perelson. Modeling within-host dynamics of influenza virus infection including immune responses. *PLoS Computational Biology*, 8(6):e1002588, 2012. DOI: [10.1371/journal.pcbi.1002588](https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1002588).
- [13] Alan S Perelson and Ruy M Ribeiro. Modeling the within-host dynamics of hiv infection. *BMC biology*, 11(1):96, 2013. DOI:<https://doi.org/10.1186/1741-7007-11-96>.
- [14] A. S. PERELSON, A. U. NEUMANN, M. MARKOWITZ, J. M. LEONARD, and D. D. HO. Hiv-1 dynamics in vivo: virion clearance rate, infected cell life-span, and viral generation time. *Science*, 271(5255):1582–1586, 1996. DOI: [10.1126/science.271.5255.1582](https://doi.org/10.1126/science.271.5255.1582).
- [15] Xia; PERELSON Alan S.; WU Hulin MIAO, Hongyu; XIA. On identifiability of nonlinear ode models and applications in viral dynamics. *SIAM Review*, 53(1):3–39, 2011. DOI: [10.1137/090757009](https://doi.org/10.1137/090757009).
- [16] David Wethington, Lillian Shapiro, Paul Miles, and Stanca M. Ciupe. Mathematical modelling identifies the role of adaptive immunity as a key controller of respiratory syncytial virus in cotton rats. *Journal of the Royal Society Interface*, 16(156):20190389, 2019. DOI: [10.1098/rsif.2019.0389](https://doi.org/10.1098/rsif.2019.0389).
- [17] Gilberto González-Parra and Hana M. Dobrovoly. Modeling of fusion inhibitor treatment of respiratory syncytial virus (rsv) in african green monkeys. *Journal of Theoretical Biology*, 456:62–73, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2018.07.029>.
- [18] Gilberto González-Parra, Fien De Ridder, Dirk Huntjens, Dirk Roymans, Gheorghe Ispas, and Hana M. Dobrovoly. A comparison of rsv and influenza in vitro kinetic parameters reveals differences in infecting time. *PLOS ONE*, 13(2):e0192645, 2018. DOI: [10.1371/journal.pone.0192645](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192645).
- [19] M. A. NOWAK and R. M. MAY. *Virus Dynamics: Mathematical Principles of Immunology and Virology*. Oxford University Press, Oxford, 2004.
- [20] A. S. PERELSON. Modelling viral and immune system dynamics. *Nature Reviews Immunology*, 2(1):28–36, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1038/nri700>.
- [21] Lorenzo Lodi, Francesco Catamerò, Marta Voarino, Federica Barbati, Maria Moriondo, Francesco Nieddu, Walter Maria Sarli, Francesco Citera, Valeria Astorino, Caterina Pelosi, et al. Epidemiology of respiratory syncytial virus in hospitalized children over a 9-year period and preventive strategy impact. *Frontiers in Pharmacology*, 15:1381107, 2024. DOI:[10.3389/fphar.2024.1381107](https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1381107).

- [22] Peter L. Collins and Barney S. Graham. Viral and host factors in human respiratory syncytial virus pathogenesis. *Journal of Virology*, 82(5):2040–2055, 2008. DOI: 10.1128/JVI.01625-07.
- [23] Raymond J. Pickles and John P. DeVincenzo. Respiratory syncytial virus (rsv) and its propensity for causing bronchiolitis. *The Journal of Pathology*, 235(2):266–276, 2015. Doi: 10.1002/path.4462.
- [24] John B. Domachowske and Helene F. Rosenberg. Respiratory syncytial virus infection: immune response, immunopathogenesis, and treatment. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(2):298–309, 1999. DOI: 10.1128/CMR.12.2.298.
- [25] Y. Li, X. Wang, D. M. Blau, M. T. Caballero, D. R. Feikin, C. J. Gill, S. A. Madhi, H. Nair, M. Kobayashi, W. A. Brooks, et al. Global, regional, and national disease burden estimates of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in young children in 2019: a systematic analysis. *The Lancet*, 399:2047–2064, 2022. DOI: 10.1016/S0140-6736(22)00478-0.
- [26] Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Rsv (respiratory syncytial virus) – for healthcare providers. <https://www.cdc.gov/rsv/clinicians/index.html>, 2023. Acesso em: 13 maio 2025.
- [27] Harsh Jain, Jeff W. Schweitzer, and Nicole A. Justice. *Respiratory Syncytial Virus Infection in Children*. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL), 2023.
- [28] Mark Greener. Respiratory syncytial virus: desperately seeking solutions. *Prescriber*, pages 23–26, April 2023.
- [29] Sociedade Brasileira de Imunizações and Sociedade Brasileira de Pediatria. Nota técnica: Imunização passiva com nirsevimabe para prevenção da doença pelo vírus sincicial respiratório (vsr) em crianças, janeiro 2024. Acesso em: 28 maio 2025.
- [30] Noah Christian and Joseph M. Collaco. Profilaxia do vsr: Palivizumabe, nirsevimabe e mais, 5 2025. Disponível em: <https://www.contagionlive.com/view/rsv-prophylaxis-palivizumab-nirsevimab-and-more> Acesso em 15 de julho de 2025.
- [31] Nick C. Grassly and Christophe Fraser. Mathematical models of infectious disease transmission. *Nature Reviews Microbiology*, 6(6):477–487, 2008. DOI: 10.1038/nrmicro1845.
- [32] Serovajsky S. *Mathematical Modelling*. Chapman & Hall/CRC, New York, 2021.
- [33] Shingo Iwami, Yoshiki Koizumi, Hiroki Ikeda, and Yusuke Kakizoe. Quantification of viral infection dynamics in animal experiments. *Frontiers in Microbiology*, 4, 2013. DOI: 10.3389/fmicb.2013.00264.

- [34] J. D. MURRAY. *Mathematical Biology: I. An Introduction*. Springer, New York, 3 edition, 2002.
- [35] Erida Gjini and Natália Martins. Modeling competitive mixtures with the lotka–volterra framework for more complex fitness assessment between strains. *Frontiers in Microbiology*, 11:582, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.572487>.
- [36] Abhijin Adiga, Devavrat Dubhashi, Bryan Lewis, Madhav V. Marathe, and Srinivasan Venkatramanan. Mathematical models for covid-19 pandemic: A comparative analysis. *Journal of the Indian Institute of Science*, 100(4):793–807, 2020. DOI: 10.1007/s41745-020-00200-6.
- [37] William Ogilvy Kermack and Anderson G. McKendrick. A contribution to the mathematical theory of epidemics. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A, Containing Papers of a Mathematical and Physical Character*, 115(772):700–721, 1927. DOI: 10.1098/rspa.1927.0118.
- [38] Sebastian H. Steinmeyer, Claus O. Wilke, D. Travis, and S. Davis. Methods of modelling viral disease dynamics across the within- and between-host scales. *Infectious Disease Modelling*, 10(2):1–14, 2010.
- [39] Pushpendra Singh and Anubha Gupta. Generalized sir (gsir) epidemic model: An improved framework for the predictive monitoring of covid-19 pandemic. *ISA Transactions*, 124:31–40, 2022. DOI: 10.1016/j.isatra.2021.02.016.
- [40] B. T. Grenfell, O. N. Bjørnstad, and B. F. Finkenstädt. Dynamics of measles epidemics: scaling noise, determinism, and predictability with the tsir model. *Ecological Monographs*, 72(2):185–202, 2002. DOI: [https://doi.org/10.1890/0012-9615\(2002\)072\[0185:DOMESN\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9615(2002)072[0185:DOMESN]2.0.CO;2).
- [41] Gerardo Chowell, Mark A. Miller, and Cecile Viboud. Seasonal influenza in the united states, france, and australia: transmission and prospects for control. *Epidemiology & Infection*, 136(4):482–491, 2008. DOI: 10.1017/S0950268807009144.
- [42] Herbert W. Hethcote. The mathematics of infectious diseases. *SIAM Review*, 42(4):599–653, 2000. DOI: 10.1137/S0036144500371907.
- [43] Yi-Cheng Chen, Po-Liang Lu, Cheng-Shang Chang, and Tzu-Hsuan Liu. A time-dependent sir model for covid-19 with undetectable infected persons. *IEEE Transactions on Network Science and Engineering*, 7(4):3279–3294, 2020. DOI: 10.1109/TNSE.2020.3024723.

- [44] Fred Brauer, Carlos Castillo-Chavez, and Zhilan Feng. Modelos compartimentais simples para transmissão de doenças. In *Modelos Matemáticos em Epidemiologia*, volume 69 of *Textos em Matemática Aplicada*, pages 21–65. Springer, Nova York, NY, 2019.
- [45] P. BACCAM, C. BEAUCHEMIN, C. A. MACKEN, F. G. HAYDEN, and A. S. PERELSON. Kinetics of influenza a virus infection in humans. *Journal of Virology*, 80(15):7590–7599, aug. 2006. DOI: 10.1128/JVI.01623-05.
- [46] Audrey U Neumann, Norbert P Lam, Harel Dahari, David R Gretch, Thomas E Wiley, Thomas J Layden, and Alan S Perelson. Hepatitis c viral dynamics in vivo and the antiviral efficacy of interferon-alpha therapy. *Science*, 282(5386):103–107, 1998. DOI: 10.1126/science.282.5386.103.
- [47] Stanca M. Ciupe and Jane M. Heffernan. In-host modeling. *Infectious Disease Modelling*, 2(2):188–202, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.idm.2017.04.002>.
- [48] Stanca M. Ciupe and Jessica M. Conway. Incorporating intracellular processes in virus dynamics models. *Microorganisms*, 12(5):900, 2024. DOI: 10.3390/microorganisms12050900.
- [49] C. A. A. BEAUCHEMIN and A. HANDEL. A review of mathematical models of influenza a infections within a host or cell culture. *BMC Public Health*, 11(Suppl 1):S7, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2458-11-S1-S7>.
- [50] Christian Zitzmann et al. How robust are estimates of key parameters in standard viral dynamic models? *PLoS Computational Biology*, 20(4):e1011437, 2024.
- [51] Andreas Raue, Clemens Kreutz, T Maiwald, U Klingmuller, and Jens Timmer. Addressing parameter identifiability by model-based experimentation. *IET Systems Biology*, 5(2):120–130, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1049/iet-syb.2010.0061>.
- [52] Daniel Cresta, Donald C Warren, Christian Quirouette, Amanda P Smith, Lindey C Lane, Amber M Smith, and Catherine AA Beauchemin. Time to revisit the end-point dilution assay and to replace the tcid50 as a measure of a virus sample’s infection concentration. *PLoS computational biology*, 17(10):e1009480, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1009480>.
- [53] Catherine AA Beauchemin, John J McSharry, George L Drusano, John T Nguyen, George T Went, Ruy M Ribeiro, and Alan S Perelson. Modeling amantadine treatment of influenza a virus in vitro. *Journal of Theoretical Biology*, 254(2):439–451, 2008. DOI: 10.1016/j.jtbi.2008.05.031.

- [54] Tao Lu and Min Wang. Nonlinear mixed-effects hiv dynamic models with considering left-censored measurements. *Journal of Statistical Distributions and Applications*, 1(1):13, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1186/2195-5832-1-13>.
- [55] Neslihan Tuncer and Tien T. Le. Structural and practical identifiability analysis of outbreak models. *Mathematical Biosciences*, 299:1–18, 2018. DOI: 10.1016/j.mbs.2018.02.004.
- [56] Daiana Spataru. Using a genetic algorithm for parameter estimation in a modified seir model of covid-19 spread in ontario. Master’s thesis, University of Guelph, Guelph, Ontario, Canada, 2021. <https://atrium.lib.uoguelph.ca/items/04b452ac-e447-41e1-b705-b53f91c063c5>.
- [57] John H Holland. *Adaptation in natural and artificial systems*. University of Michigan Press.
- [58] Darrell Whitley. A genetic algorithm tutorial. *Statistics and Computing*, 4(2):65–85, 1994. DOI: 10.1007/BF00175354.
- [59] Melanie Mitchell. *An Introduction to Genetic Algorithms*. MIT Press, Cambridge, MA, 1996.
- [60] David E. Goldberg. *Genetic Algorithms in Search, Optimization, and Machine Learning*. Addison-Wesley, Reading, MA, 1989.
- [61] S. N. Sivanandam and S. N. Deepa. *Introduction to Genetic Algorithms*. Springer, Berlin, 2008.
- [62] LJ Park, CH Park, C Park, and T Lee. Application of genetic algorithms to parameter estimation of bioprocesses. *Medical & Biological Engineering & Computing*, 35(1):47–49, 1997. DOI: 10.1007/BF02510391.
- [63] Zhenzhen Qiu, Youyi Sun, Xuan He, Jing Wei, Rui Zhou, Jie Bai, and Shouying Du. Application of genetic algorithm combined with improved seir model in predicting the epidemic trend of covid-19, china. *Scientific Reports*, 12:8910, 2022. DOI: 10.1038/s41598-022-12958-z.
- [64] A.F. Sheta and K. De Jong. Parameter estimation of nonlinear systems in noisy environments using genetic algorithms. pages 360–365, 1996. DOI: 10.1109/ISIC.1996.556228.
- [65] Jorge Nocedal and Stephen J. Wright. *Numerical Optimization*. Springer Science & Business Media, New York, 2006.
- [66] Paul T. Boggs and Jon W. Tolle. Sequential quadratic programming. *Acta Numerica*, 4:1–51, 1995. DOI: 10.1017/S0962492900002518.

- [67] The MathWorks, Inc. *MATLAB: R2024a*. The MathWorks, Inc., Natick, MA, 2024. Disponível em: <https://www.mathworks.com/products/matlab.html>. Acesso em: 16 jul. 2025.
- [68] P. E. Gill, W. Murray, and M. H. Wright. *Practical Optimization*. Academic Press, New York, 1981.
- [69] Firas Yengui, Lioua Labrak, Felipe Frantz, Renaud Daviot, Nacer Abouchi, and Ian O'Connor. A hybrid ga-sqp algorithm for analog circuits sizing. *Circuits and Systems*, 3(2):146–152, 2012. DOI: 10.4236/cs.2012.32019.
- [70] M. Saffarzadeh, C. J"unemann, and et al. Neutrophil extracellular traps directly induce epithelial and endothelial cell death: A predominant role of histones. *PLoS ONE*, 7(2):e32366, 2012. DOI: 10.1371/journal.pone.0032366.
- [71] C. Lei et al. On the calculation of tcid<sub>50</sub> for quantitation of virus infectivity. *Virologica Sinica*, 36:141–144, May 2020.
- [72] Shingo Iwami, Kei Sato, Rob J. De Boer, Kazuyuki Aihara, Tomoyuki Miura, and Yoshio Koyanagi. Identifying viral parameters from in vitro cell cultures. *Frontiers in Microbiology*, 3:319, 2012.
- [73] G. González-Parra and H. M. Dobrovoly. A quantitative assessment of dynamical differences of RSV infections in vitro and in vivo. *Virology*, 523:129–139, 2018. DOI: 10.1016/j.virol.2018.07.027.
- [74] The MathWorks, Inc. *ga: Genetic Algorithm Solver*. The MathWorks, Inc., Natick, MA, 2024. Disponível em: <https://www.mathworks.com/help/gads/ga.html>. Acesso em: 6 jun. 2025.
- [75] The MathWorks, Inc. *fmincon: Solve constrained nonlinear optimization problems*. The MathWorks, Inc., Natick, MA, 2024. Disponível em: <https://www.mathworks.com/help/optim/ug/fmincon.html>. Acesso em: 6 jun. 2025.
- [76] The MathWorks, Inc. *optimoptions: Create optimization options*. The MathWorks, Inc., Natick, MA, 2024. Disponível em: <https://www.mathworks.com/help/optim/ug/optimoptions.html>. Acesso em: 16 jul. 2025.
- [77] The MathWorks, Inc. *ode23 — Solver for nonstiff ODEs, low order method*. The MathWorks, Inc., 2025. MATLAB R2025a Documentation.
- [78] Lawrence F. Shampine and Mark W. Reichelt. The matlab ode suite. *SIAM Journal on Scientific Computing*, 18(1):1–22, 1997. DOI: 10.1137/S1064827594276424.

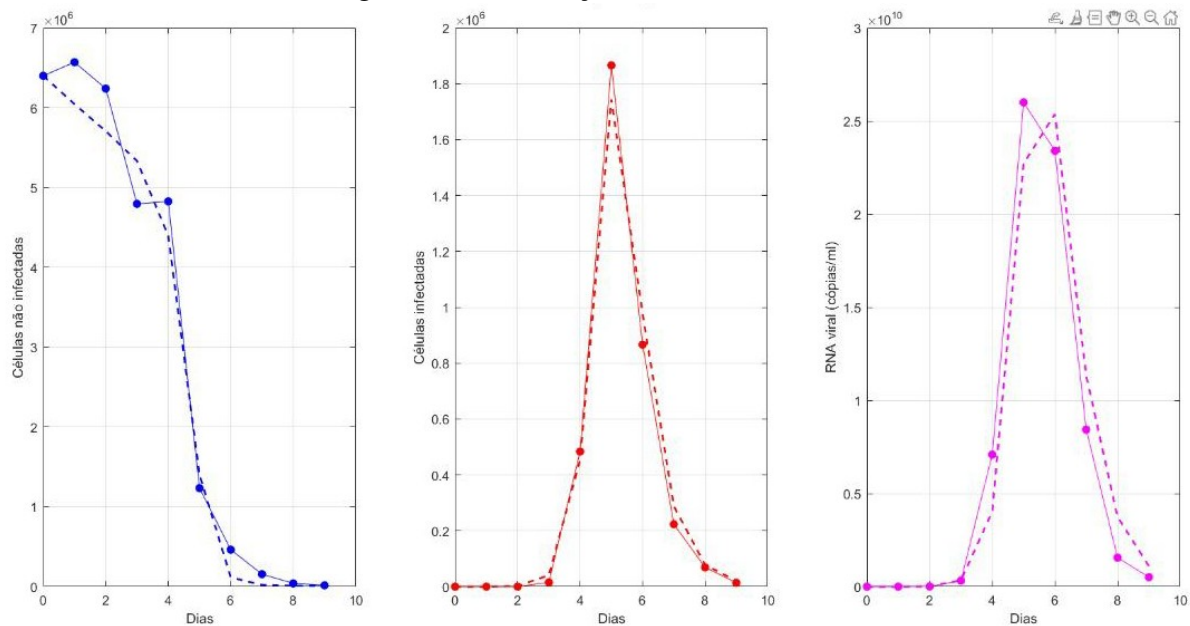
- [79] P. Bogacki and L.F. Shampine. A 3(2) pair of runge - kutta formulas. *Applied Mathematics Letters*, 2(4):321–325, 1989.
- [80] Arieh Iserles. *A First Course in the Numerical Analysis of Differential Equations*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- [81] Rob J. Hyndman and Anne B. Koehler. Another look at measures of forecast accuracy. *International Journal of Forecasting*, 22(4):679–688, 2006. DOI: 10.1016/j.ijforecast.2006.03.001.
- [82] D. L. J. Alexander, A. Tropsha, and D. A. Winkler. Beware of  $r^2$ : Simple, unambiguous assessment of the prediction accuracy of qsar and qspr models. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 55(7):1316–1322, 2015. DOI: 10.1021/acs.jcim.5b00206.
- [83] Andre-Nicolas Spiess and Nikolaus Neumeyer. An evaluation of  $r^2$  as an inadequate measure for nonlinear models in pharmacological and biochemical research: a monte carlo approach. *BMC Pharmacology*, 10(1):6, 2010. DOI: 10.1186/1471-2210-10-6.
- [84] Elvan Akin, Gülşah Yeni, and Alan S Perelson. Continuous and discrete modeling of hiv-1 decline on therapy. *Journal of mathematical biology*, 81(1):1–24, 2020. DOI:10.1007/s00285-020-01492-z.
- [85] Bradley Efron and Robert J. Tibshirani. *An Introduction to the Bootstrap*. Chapman & Hall/CRC, 1993.
- [86] Anubama Rajan, Felipe-Andrés Piedra, Letisha Aideyan, Trevor McBride, Matthew Robertson, Hannah L Johnson, Gina Marie Aloisio, David Henke, Cristian Coarfa, Fabio Stossi, et al. Multiple respiratory syncytial virus (rsv) strains infecting HEp-2 and A549 cells reveal cell line–dependent differences in resistance to rsv infection. *Journal of Virology*, 96(7):e0190421, 2022. DOI: 10.1128/jvi.01904-21.
- [87] Catherine A A Beauchemin, Amanda Whitbeck, Sergey Kalachikov, Gregory Gagne, Guoli Sun, Joanne Brown, Jessica LaMarre, T Kevin Murray, Jonathan A McCullers, Ke Chen, et al. Uncovering critical properties of the human respiratory syncytial virus by combining in vitro assays and in silico analyses. *PLOS ONE*, 14(3):e0214708, 2019. DOI: 10.1371/journal.pone.0214708.
- [88] A. F. Kaveh. The tiv model: robustness with respect to parameter variation and structural assumptions. *Summer Research Studentship Report*, 2019. Technical report analyzing Target-Infected-Virus model robustness under parameter perturbations.

## A APÊNDICE A: TESTE DE CONSISTÊNCIA DA IMPLEMENTAÇÃO COMPUTACIONAL, APLICADOS A DADOS DE HIV, COM CONDIÇÕES SEMELHANTES AO PROPOSTO NO TRABALHO DE IWAMI E COLABORADORES.

Para a obtenção destes resultados foram utilizados os dados descritos por [72] sobre o HIV, a implementação do modelo teve as mesmas condições do artigo original, já os métodos para obtenção dos parâmetros foram os empregados nesta pesquisa, a combinação do *ga* com *fmincon*.

A Figura A.1, representa a comparação entre a curva dos dados experimentais (indicada pelos pontos) e a curva dos dados simulados (indicada pela linha tracejada), mostrando que a simulação se aproximou com boa qualidade dos dados experimentais.

Figura A.1: Simulação com dados de HIV.



Fonte: A autora.

A Tabela A.1, compara os valores dos parâmetros estimados, e os reportados no artigo, indicando uma proximidade entre eles, o que mostra a eficiência para os métodos de estimação de parâmetros empregados na presente pesquisa.

Tabela A.1: Comparação entre os parâmetros estimados neste trabalho e os valores reportados no artigo.

Parâmetro	Valor estimado neste trabalho	Valor reportado no artigo
$\beta$	$8.98 \times 10^{-11}$	$8.61 \times 10^{-11}$
$\delta$	1.3052	1.75
$p$	$3.7791 \times 10^4$	$3.26 \times 10^4$

Por fim a verificação das métricas na Tabela A.2, corroborando com a afirmação de que houve uma boa estimativa com a utilização do *ga* em conjunto com a *fmincon*.

Tabela A.2: Métricas de erro do ajuste do modelo para cada variável observada.

<b>Variável</b>	<b>SSR</b>	<b>MSE</b>	<b>RMSE</b>	<b>MAE</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
Células não infectadas	$1.2035 \times 10^{12}$	$1.2035 \times 10^{11}$	$3.4692 \times 10^5$	$2.7154 \times 10^5$	0.98429
Células infectadas	$3.2838 \times 10^{10}$	$3.2838 \times 10^9$	$5.7304 \times 10^4$	$3.7063 \times 10^4$	0.98996
Vírus	$3.7521 \times 10^{19}$	$3.7521 \times 10^{18}$	$1.9370 \times 10^9$	$1.4004 \times 10^9$	0.95805