

## ***Un método híbrido interfaz inmersa-conjunto de nivel para la simulación de la evolución de una biopelícula***

PATRICIO CUMSILLE\*  
CARLOS CONCA\*\*

**Resumen.** En esta comunicación se propone un nuevo modelo para la *formación de una biopelícula* y se estudian los aspectos numéricos de su simulación computacional. Nuestro modelo está basado en tres aspectos fundamentales: primero, se incorpora un mecanismo de transporte de nutrientes hacia la biopelícula; segundo, se incorpora un mecanismo de consumo y de crecimiento de la biopelícula; y tercero, se incorpora un mecanismo de necrosis y de decaimiento de la biopelícula. Para el modelamiento del transporte de nutrientes, hemos usado una ecuación de difusión estacionaria. Para el modelamiento del mecanismo de consumo y crecimiento, así como también del de necrosis y decaimiento, hemos modelado la biopelícula como un fluido viscoso escurriendo en un medio poroso. El aspecto clave de este modelo es que el frente de la biopelícula es una incógnita del problema, la cual depende de la solución del mismo. Así, con el fin de reconstruir el movimiento del frente, hemos usado el *método del conjunto de nivel*. Además, para resolver la ecuación de la presión hemos usado el así llamado *método de la interfaz inmersa*, el cual fue especialmente desarrollado para problemas con discontinuidades a través de una interfaz dentro de un dominio.

### **1. Introducción**

Los procesos de formación de una biopelícula son de interés para los investigadores en una amplia variedad de campos, incluyendo la biorremediación, recuperación de petróleo, tratamiento de aguas servidas, medicina, y odontología.

---

**Palabras y frases claves:** Biopelícula, interfaz inmersa, conjunto de nivel.

**MSC2000:** 92B05, 76Z99.

\* Departamento de Ciencias Básicas, Universidad del Bío-Bío, Campus Fernando May, Av. Andrés Bello s/n, Casilla 447 Chillán, Chile. En colaboración con el Instituto Milenio de Dinámica Celular y Biotecnología, Universidad de Chile. *e-mail:* pcumsille@ubiobio.cl

\*\* Departamento de Ingeniería Matemática - Centro de Modelamiento Matemático (UMI CNRS 2807), Av. Blanco Encalada 2120, Casilla 170-3, Correo 3, Santiago, Chile e Instituto Milenio de Dinámica Celular y Biotecnología, Universidad de Chile. *e-mail:* cconca@dim.uchile.cl

Un aspecto importante de los procesos microbianos es la propensión de las células a agregarse y adherirse unas a otras y enlazarse a una superficie. Las células absorbidas pueden producir una matriz de sustancia polimérica extracelular (SPE) que enlaza las células en conjunto. Una biopelícula consiste de las células absorbidas en asociación con SPE. La acumulación de biopelículas depende de los procesos hidrodinámicos que llevan a las células a la superficie de la biopelícula, propiedades fisicoquímicas que determinan la propensión de los microbios a adherirse a la biopelícula, y características ambientales tales como la concentración de sustrato que determinan el crecimiento de la biopelícula. Las células pueden además ser removidas de la biopelícula por procesos biológicos o propiedades del flujo que llevan a la desadhesión. El crecimiento de la biopelícula cambia la geometría y altera el flujo del fluido. Al mismo tiempo, los sustratos son transportados desde el fluido a la biopelícula por procesos de difusión y advección y son consumidos por las células.

En esta comunicación, estudiamos un modelo que no considera la adhesión ni desadhesión de las células de la biopelícula, así como tampoco el efecto hidrodinámico del líquido que lo rodea. En vez de esto, nosotros consideramos una biopelícula ya adherida a una superficie y estudiamos el efecto de los sustratos y de la presión de la biopelícula en el crecimiento del mismo. Modelos más complejos, que tomen en cuenta la adhesión y desadhesión celular, así como también el efecto hidrodinámico del líquido que rodea a la biopelícula, serán considerados en un estudio posterior.

El propósito de esta comunicación es mostrar que este complejo sistema dinámico puede ser modelado exitosamente utilizando el *método de la interfaz inmersa*, acoplado con el *método del conjunto de nivel*. El método de la interfaz inmersa, introducido por R. LeVeque y Z. Li [5], para modelar problemas elípticos con coeficientes discontinuos y con fuentes singulares, ha evolucionado, en acoplamiento con otros métodos, tales como el método del conjunto de nivel (ver [8]), en un método general que puede ser utilizado para el estudio de flujos bifásicos cuya interfaz puede tener una estructura compleja, entre otras aplicaciones. El nombre del método deriva del hecho que tales estructuras son modeladas como una interfaz inmersa en el fluido, la cual define y acota diferentes regiones del mismo.

Mientras hay una cantidad considerable de estudios cuantitativos concernientes a cultivos de células suspendidas y a patrones de formación en varios tipos de tejidos, relativamente poca atención matemática ha sido dedicada a las biopelículas. A pesar de ello,

en la comunidad de microbiología la investigación de las biopelículas está deviniendo un área crecientemente activa, dado que los investigadores reconocen la amplia variedad de aplicaciones de los mismos. De este modo, los modelos efectivos de biopelículas serían una rápida y económica herramienta para los biólogos.

Entre la literatura de las biopelículas, podemos mencionar los siguientes artículos, que han tratado el tema mediante modelos con ecuaciones diferenciales parciales:

- El artículo de J. Dockery e I. Klapper [3], donde se estudia un modelo de biopelículas análogo a un modelo de flujo en medios porosos, en el cual se calcula la velocidad y presión de una biopelícula, modelando a esta como un fluido viscoso incompresible.
- El artículo de H.J. Eberl y L. Demaret [4], donde se estudia un modelo de biopelículas basado en una ecuación de difusión *degenerada*, cuya incógnita es la densidad de biomasa de la biopelícula, y suponiendo que el coeficiente de difusión depende de dicha densidad en forma no lineal.
- El artículo de R. Dillon, L. Fauci, A. Fogelson y D. Gaver [2], donde se estudia un modelo de biopelícula usando el método de la frontera inmersa, introducido por C. S. Peskin [9] para modelar el flujo sanguíneo en el corazón. Este modelo incorpora el acoplamiento hidrodinámico, la reacción, difusión y convección del substrato, así como también la respuesta quimiotáctica de los microbios para adherirse/desadherirse (tanto entre células, como entre células y la superficie de adhesión).

Nuestro modelo de biopelículas está basado en tres principios fundamentales:

1. Se debe incorporar algún tipo de *mecanismo de transporte* (difusión, advección) para brindar nutrientes al material activo en la biopelícula.
2. Se requiere por lo general de algún *mecanismo de consumo y de crecimiento* de la biopelícula.
3. Se debe incorporar algún tipo de *mecanismo de necrosis y decaimiento* de la biopelícula.

Por último, nuestro modelo debe capturar características reales de una biopelícula, especialmente la presencia de un frente definido de biomasa en la transición biopelícula/fluido externo. En particular, se ha observado empíricamente que muchas biopelículas se desarrollan formando estructuras tipo champiñón. Para capturar este tipo de fenómeno se ha considerado un modelo análogo al *flujo de Hele-Shaw* para la biopelícula, debido a que este modelo reproduce este tipo de crecimiento en el caso de la interfaz entre dos fluidos de diferentes viscosidades.

## 2. El modelo 2-D

La idea principal del modelo que presentaremos a continuación, fue adaptada del modelo presentado por J. Dockery e I. Klapper [3].

Sea  $\Omega := (0, B) \times (0, H) \subset \mathbb{R}^2$  una región del plano, que la supondremos dividida en dos subregiones: la región ocupada por la biopelícula  $\Omega_2(t) := \{(x, z) : z < h(x, t)\}$  y una región acuosa  $\Omega_1(t) := \{(x, z) : z > h(x, t)\}$ , con curva interfacial  $z = h(x, t)$ . En general, cabe notar que la interfaz no es necesariamente expresable como una función de  $(x, t)$ . La biopelícula es modelada como un fluido viscoso, homogéneo, satisfaciendo la Ley de Darcy:

$$\mathbf{u} = -\lambda \nabla p,$$

para alguna constante  $\lambda > 0$ .

Suponemos, por simplicidad, que la región acuosa está en reposo relativo a la biopelícula y así resulta natural suponer que la presión es constante, por ejemplo,

$$p = 0 \quad \text{sobre} \quad z = H.$$

Junto a esta condición de borde, suponemos que la presión es armónica en la región líquida, con lo cual obtenemos que la presión debe ser cero en dicha región, y así la velocidad es nula allí. Por otro lado, como la biopelícula puede crecer (o decaer), entonces la divergencia de  $\mathbf{u}$  no es cero:

$$\nabla \cdot \mathbf{u} = g,$$

donde  $g$  es un término fuente (o sumidero), prescrito. Así:

$$-\lambda \nabla^2 p = g,$$

en la región de la biopelícula. En el modelo de flujo de Hele-Shaw, este término representa la inyección de un fluido de baja viscosidad en uno de alta viscosidad. La evolución del

sistema constituido por estos dos fluidos presenta el desarrollo de patrones de formación de tipo champiñón, como se mencionó antes. En el caso de la biopelícula,  $g$  representa una función de crecimiento o decaimiento de ellas, y depende de la absorción de substrato por parte de la biopelícula.

Debido a la presencia de la interfaz, es necesario imponer condiciones de transmisión para la presión en dicha interfaz. Estas condiciones deben ser capaces de representar el avance del frente de la biopelícula, en la forma especificada antes, además de ser físicamente razonables. Estas condiciones son las que están dadas por el modelo para un flujo de Hele-Shaw. Si denotamos por  $\Gamma$  la interfaz biopelícula/líquido, estas condiciones son:

$$\begin{aligned} [p] &= \gamma\kappa \text{ sobre } \Gamma && \text{(condición de Laplace-Young),} \\ \left[ \lambda \frac{\partial p}{\partial n} \right] &= 0 \text{ sobre } \Gamma && \text{(condición cinemática).} \end{aligned}$$

La segunda condición es bastante natural (de ahí su nombre): sólo nos dice que la biopelícula y el líquido se mueven a la misma velocidad en la dirección normal, o de otro modo dicho, que la biopelícula simplemente empuja al líquido en su avance en la dirección normal. La primera condición parece menos natural, pero significa que existe una diferencia de presiones proporcional a la *curvatura media*  $\kappa$  en cada punto de la interfaz, y donde la constante de proporcionalidad  $\gamma$  se denomina *coeficiente de tensión superficial*. Más precisamente, en zonas convexas, la diferencia de presiones será positiva, y por lo tanto la velocidad negativa (apuntando en sentido contrario a la expansión de la biopelícula); por el contrario, en zonas cóncavas la diferencia de presiones será negativa, y por lo tanto la velocidad positiva (apuntando en el sentido del crecimiento de la biopelícula).

A estas condiciones de borde internas debemos agregarles condiciones sobre el borde externo del dominio (además de  $p = 0$  sobre  $z = H$ ), por ejemplo:

$$\begin{aligned} \left. \frac{\partial p}{\partial z} \right|_{z=0} &= 0, \\ p &\text{ periódica en la dirección } x. \end{aligned}$$

La función de crecimiento  $g$  depende de la concentración de substrato  $S(x, z, t)$  (por ejemplo: oxígeno, glucosa, etc.) a través de la *función de uso* o *tasa de absorción de substrato*  $U$ , es decir,  $g = g(U(S))$ . Una elección típica para  $U$  es la así llamada función *Monod*, definida como sigue:

$$U(S) = U_{max} \frac{S}{S + K_S}, \quad (1)$$

donde  $U_{max}$  y  $K_S$  son el *máximo uso* y la  *saturación media*, respectivamente. Esta función significa, por un lado, que si la concentración de substrato es cero ( $S = 0$ ), entonces no hay absorción del mismo ( $U = 0$ ), por otro lado, que si el substrato está en saturación media ( $S = K_S$ ), entonces la absorción está también en su nivel medio ( $U = \frac{1}{2}U_{max}$ ). Por último, para niveles muy grandes de concentración de substrato ( $S \rightarrow \infty$ ), la absorción está en su nivel máximo (llega un cierto límite en el cual la biopelícula ya no seguirá absorbiendo más substrato).

Generalmente, la función de crecimiento  $g$  tiene la misma forma que  $U$ . En particular,  $g(S) = U(S) - \mu$ , donde  $\mu \geq 0$  es un *parámetro de corte*, introducido para modelar el desarrollo de la biopelícula: en las regiones donde  $U(S) > \mu$ , la biopelícula crecerá, y en las regiones donde  $U(S) < \mu$  la biopelícula decaerá.

El substrato se difunde a zonas adyacentes, al interior de la región acuosa. Este alcanza la región de la biopelícula, donde sigue difundiéndose y donde es consumido. Así obtenemos las siguientes ecuaciones para el substrato:

$$\begin{aligned} S_t - D_1 \nabla^2 S &= 0, & h < z < H, \\ S_t - D_2 \nabla^2 S &= -U(S), & z < h, \end{aligned}$$

con las siguientes condiciones de borde y de transmisión, respectivamente:

$$\begin{aligned} S|_{z=H} &= S_{max}, & \frac{\partial S}{\partial z} \Big|_{z=0} &= 0, & S &\text{ periódica en la dirección } x, \\ S|_{z=h^+} &= S|_{z=h^-}, & D_1 \frac{\partial S}{\partial n} \Big|_{z=h^+} &= D_2 \frac{\partial S}{\partial n} \Big|_{z=h^-} & & \text{(condiciones de transmisión naturales),} \end{aligned}$$

donde  $S_{max}$  denota la concentración máxima de substrato. Las condiciones de transmisión naturales significan que sobre la interfaz el substrato es continuo, así como también su flujo.

### 3. Resumen del modelo

Juntando las ecuaciones del modelo anterior, y adimensionalizando adecuadamente se obtiene el siguiente sistema:

$$\begin{aligned} \nabla^2 p &= -g(U(SS_{max})), & z < h, \\ \nabla^2 p &= 0, & h < z < H, \\ \varepsilon_1 S_t - \nabla^2 S &= 0, & h < z < H, \\ \varepsilon_2 S_t - \nabla^2 S &= -GU(SS_{max}), & z < h, \end{aligned}$$

donde  $\varepsilon_i$ ,  $i = 1, 2$  son parámetros adimensionales que representan el tiempo de evolución de la difusión del substrato relativo al tiempo de evolución de la biopelícula, y  $G$  representa el crecimiento de la biopelícula. Como el tiempo de evolución de la biopelícula es mucho mayor que el tiempo de difusión del substrato, se puede suponer que  $\varepsilon_i = 0$ . Así, luego de algunas manipulaciones algebraicas elementales, obtenemos el siguiente sistema:

$$\nabla^2 p = -g(U(S)), \quad z < h, \quad (2)$$

$$\nabla^2 p = 0, \quad h < z < H, \quad (3)$$

$$D_1 \nabla^2 S = 0, \quad h < z < H, \quad (4)$$

$$D_2 \nabla^2 S = U(S), \quad z < h, \quad (5)$$

con las condiciones de transmisión (o condiciones de borde interno) siguientes:

$$[p] = \gamma\kappa \text{ sobre } \Gamma \quad (\text{condición de Laplace-Young}), \quad (6)$$

$$\left[ \frac{\partial p}{\partial n} \right] = 0 \text{ sobre } \Gamma \quad (\text{condición cinemática}), \quad (7)$$

$$\left\{ \begin{array}{l} S|_{z=h^+} = S|_{z=h^-}, \\ D_1 \frac{\partial S}{\partial n} \Big|_{z=h^+} = D_2 \frac{\partial S}{\partial n} \Big|_{z=h^-} \end{array} \right. \quad (\text{condiciones de transmisión naturales}), \quad (8)$$

y con las condiciones de borde externo siguientes:

$$p|_{z=H} = 0, \quad p_z|_{z=0} = 0, \quad p \text{ periódica en la dirección } x, \quad (9)$$

$$S|_{z=H} = 1, \quad S_z|_{z=0} = 0, \quad S \text{ periódica en la dirección } x. \quad (10)$$

Cabe destacar que la posición de la interfaz biopelícula/líquido es una incógnita más de este modelo, razón por la cual el problema es altamente no lineal (se trata de un problema de frontera libre). De hecho, la resolución numérica del problema es compleja, debido a que el problema físico (así como también su representación matemática) comprende una frontera o frente de avance que delimita la biopelícula (interfaz biopelícula/líquido). Dicha frontera comprende una discontinuidad de las variables del problema y sus derivadas espaciales, especialmente patente en el caso de la presión. La presencia de esta discontinuidad hace que el sistema continuo sea muy difícil de resolver. Es por ello que se hace necesario el uso de técnicas numéricas sofisticadas para la resolución del problema, pues se debe tener mucha precisión al reconstruir la velocidad (y en consecuencia la presión) del frente cerca de la interfaz. La ecuación para la presión es entonces resuelta por medio del *método de la interfaz inmersa*. Para una completa revisión de este método, véanse

las referencias [5, 6]. Por otro lado, para reconstruir la posición de la interfaz, hemos utilizado el *método del conjunto de nivel*. Para una completa revisión de este método, véanse las referencias [1, 7, 10, 11, 12].

#### 4. Resultados numéricos

En esta sección describimos brevemente las simulaciones numéricas realizadas para nuestro modelo. Hemos resuelto el problema (2)-(10) presentado en la sección anterior, con  $U(S) = S$  (i.e., suponemos que la concentración de substrato es lo suficientemente pequeña) y  $g(U(S)) = S - \mu$ .

Nombre del parámetro	Símbolo	Valor
Ancho del dominio	$B$	1
Largo del dominio	$H$	1,5
Coefficiente de tensión superficial	$\gamma$	$1e - 3$
Difusividad en el medio líquido	$D_1$	$1e - 2$
Difusividad en la biopelícula	$D_2$	$1e - 3$
Parámetro de corte	$\mu$	$1e - 2$

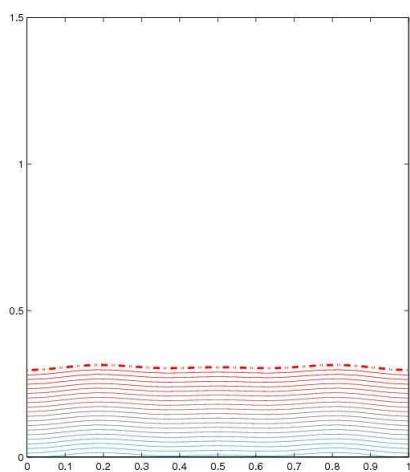


Figura 1. Biopelícula en el instante inicial.

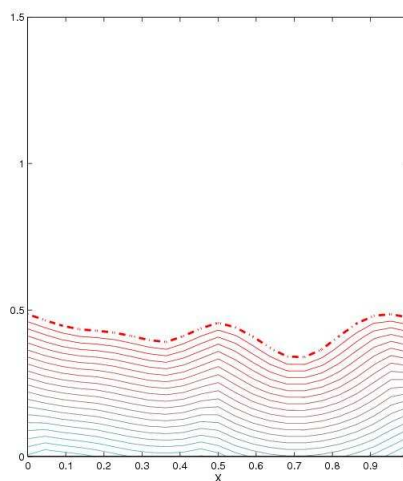


Figura 2. Biopelícula en el instante  $t = 9,3$  s.



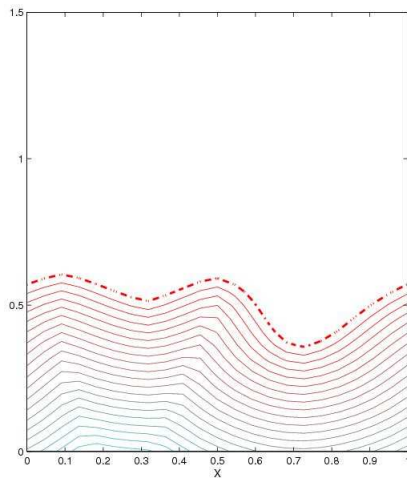


Figura 3. Biopelícula en el instante  $t = 16,7$  s.

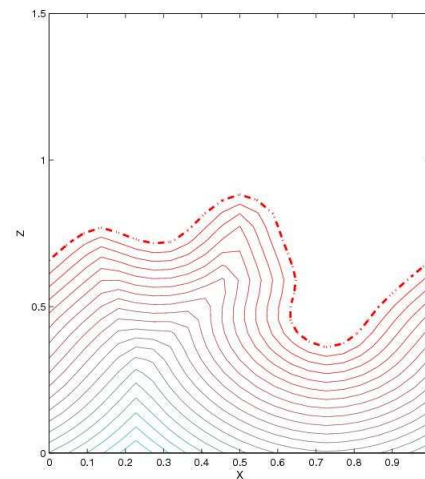


Figura 4. Biopelícula en el instante  $t = 23,5$  s.

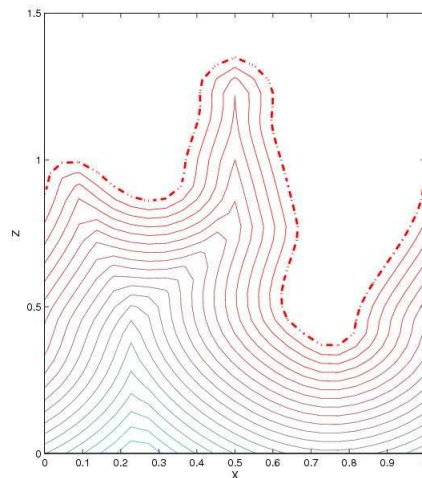


Figura 5. Biopelícula en el instante  $t = 28,7$  s.

La simulación numérica mostrada fue realizada con los valores de los parámetros presentados en la tabla ubicada en la página anterior, y representa un ejemplo típico de evolución inestable. Las figuras anteriores muestran la simulación de nuestro modelo para diferentes instantes de tiempo. En dichas figuras hemos graficado los conjuntos de nivel *negativos* de la función conjunto de nivel, i.e., corresponden a la región que ocupa la biopelícula. La línea discontinua (segmentada y punteada) representa al conjunto de nivel cero de la función conjunto de nivel, i.e., corresponde a la interfaz entre la biopelícula y el medio líquido. Aparte de la interfaz bien definida que presenta la simulación de nuestro modelo, podemos observar la formación de una estructura tipo champiñón, el

cual es un patrón de formación común en muchos tipos de biopelículas (ver [3]).

## 5. Conclusiones y perspectivas

Hemos desarrollado un modelo matemático y hemos realizado simulaciones numéricas que predicen la formación de "champiñones" observados en muchos tipos de biopelículas.

Por otra parte, existen varias posibles extensiones para nuestro modelo:

1. Tomar en cuenta condiciones ambientales de sustrato ilimitado. Esto equivale a suponer que la función tasa de absorción de sustrato  $U(S)$  sea efectivamente no lineal, y dada, por ejemplo, por una relación de tipo Monod (ver (1)). Esto introduciría además nuevos parámetros al modelo (el máximo uso o absorción de sustrato,  $U_{max}$ , y la saturación media  $K_S$ ).
2. Podríamos considerar dos o más sustratos en competencia. Esto equivale a introducir nuevas ecuaciones al modelo, para así dar cuenta del transporte y competencia de las especies de sustratos en juego.
3. Podríamos considerar otras formas de la interfaz inicial. Esto supone otras condiciones de borde externo (no necesariamente periódicas) que modificarían la discretización del método numérico utilizado en los nodos del borde externo.
4. Quizás el aspecto más importante, desde el punto de vista de las aplicaciones, sería validar el modelo mediante las pruebas experimentales existentes, o si no las hay, habría que confeccionar un modelo experimental para obtener datos empíricos.

## Agradecimientos

El primer autor agradece el cofinanciamiento del proyecto FONDECYT-CONICYT N°11080222, del gobierno de Chile, y del Instituto Milenio de Dinámica Celular y Biotecnología de la Universidad de Chile a través del proyecto ICM P05-001-F. El segundo autor agradece el cofinanciamiento del Instituto de Dinámica Celular y Biotecnología de la Universidad de Chile a través del proyecto ICM P05-001-F y del proyecto ECOS-CONICYT N°C07E05.

## Referencias

- [1] Y. C. Chang, T. Y. Hou, B. Merriman, and S. Osher. “A level set formulation of Eulerian interface capturing methods for incompressible fluid flows”, *J. Comput. Phys.*, **124** (1996), pp. 449-464.
- [2] R. Dillon, L. Fauci, A. Fogelson, and D. Gaver. “Modeling biofilm processes using the immersed boundary method”, *J. Computational Phys.*, **129** (1996), pp. 57-73.
- [3] J. Dockery and I. Klapper. “Finger formation in biofilm layers”, *SIAM J. Appl. Math.*, **62** (2001/02), pp. 853-869 (electronic).
- [4] H. J. Eberl and L. Demaret. “A finite difference scheme for a degenerated diffusion equation arising in microbial ecology”, in Proceedings of the Sixth Mississippi State-UBA Conference on Differential Equations and Computational Simulations, vol. 15 of *Electron. J. Differ. Equ. Conf.*, San Marcos, TX, 2007, Southwest Texas State Univ., pp. 77-96.
- [5] R. J. LeVeque and Z. L. Li. “The immersed interface method for elliptic equations with discontinuous coefficients and singular sources”, *SIAM J. Numer. Anal.*, **31** (1994), pp. 1019-1044.
- [6] Z. Li and K. Ito. *The immersed interface method*, vol. 33 of Frontiers in Applied Mathematics, Society for Industrial and Applied Mathematics (SIAM), Philadelphia, PA, 2006. Numerical solutions of PDEs involving interfaces and irregular domains.
- [7] S. Osher and R. Fedkiw. *Level set methods and dynamic implicit surfaces*, vol. 153 of Applied Mathematical Sciences, Springer-Verlag, New York, 2003.
- [8] S. Osher and J. A. Sethian. “Fronts propagating with curvature-dependent speed: algorithms based on Hamilton-Jacobi formulations”, *J. Comput. Phys.*, **79** (1988), pp. 12-49.
- [9] C. S. Peskin. “Numerical analysis of blood flow in the heart”, *J. Computational Phys.*, **25** (1977), pp. 220-252.
- [10] J. A. Sethian. *Level set methods*, vol. 3 of Cambridge Monographs on Applied and Computational Mathematics, Cambridge University Press, Cambridge, 1996. Evolving interfaces in geometry, fluid mechanics, computer vision, and materials science.
- [11] J. A. Sethian. *Level set methods and fast marching methods*, vol. 3 of Cambridge Monographs on Applied and Computational Mathematics, Cambridge University Press, Cambridge, second ed., 1999. Evolving interfaces in computational geometry, fluid mechanics, computer vision, and materials science.
- [12] M. Sussman, P. Smereka, and S. Osher. “A level set approach for computing solutions to incompressible two-phase flow”, *J. Comput. Phys.*, **114** (1994), pp. 146-159.

(Recibido el 10 de octubre de 2009; aceptado el 15 de noviembre de 2009)

PATRICIO CUMSILLE  
Departamento de Ciencias Básicas  
Universidad del Bío-Bío  
Campus Fernando May  
Av. Andrés Bello s/n  
Chillán, Chile<sup>1</sup>  
Casilla 447  
*e-mail*: pcumsille@ubiobio.cl

CARLOS CONCA  
Departamento de Ingeniería Matemática  
Centro de Modelamiento Matemático (UMI CNRS 2807)  
Av. Blanco Encalada 2120  
Casilla 170-3, Correo 3  
Santiago, Chile  
Instituto Milenio de Dinámica Celular y Biotecnología  
Universidad de Chile  
Chile  
*e-mail*: cconca@dim.uchile.cl

---

<sup>1</sup>En colaboración con el Instituto Milenio de Dinámica Celular y Biotecnología, Universidad de Chile.