

COMPARACIÓN DE CURVAS DE CRECIMIENTO BACTERIANO OBTENIDAS MEDIANTE AUTÓMATAS CELULARES BI Y TRIDIMENSIONALES

Ledda I. Larcher, Carlos A. Cattaneo, Sebastián Togo

*Facultad de Agronomía y Agroindustrias, Universidad Nacional de Santiago del Estero,
Av. Belgrano Sur 1912; G4200ABT Santiago del Estero, <http://faa.unse.edu.ar>*

Palabras clave: Autómata celular, crecimiento bacteriano, modelo tridimensional, simulación

Resumen. Este trabajo presenta una aproximación a la modelación ecológica inspirada en ecosistemas bacterianos y su evolución en el tiempo. Se propone un modelo, diseñado para explorar la evolución de bacterias artificiales representada mediante un autómata celular - sistema basado en reglas de transición- y usando el método de Monte Carlo.

El modelo propuesto consiste en grillas tridimensionales que representan el medio de cultivo, y que contienen recursos artificiales. Tales recursos proporcionan la energía necesaria para la vida de los microorganismos e influyen en comportamientos de las células tales como crecimiento y duplicación. Los organismos capaces de aprovechar efectivamente los recursos pueden reproducirse por fisión binaria y generar copias de sí mismos en el entorno.

El ecosistema propuesto se define formalmente y se discute en detalle su estructura. Esto es seguido de los resultados que demuestran su operación y la manera en que puede ser usado en escenarios de modelado computacional. Se estudiaron microorganismos del tipo bacteria como *Escherichia coli*, *Bacteria lactica*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum (prot.)*, *Enterobacteriaceae*, *Salmonella spp.*, etc. Se comparan los resultados obtenidos del modelo tridimensional con datos experimentales y con resultados de corridas de simulación usando un modelo bi dimensional bajo idénticas condiciones de crecimiento.

Además se propone un método con el objeto de reproducir en la curva de crecimiento la continuidad entre las fases de adaptación y de crecimiento exponencial

1 INTRODUCCIÓN

En el presente trabajo se describe el crecimiento de bacterias mediante una simulación del proceso con un autómata celular.

Las bacterias son organismos aparentemente sencillos en su morfología y fisiología, sin embargo muestran un alto grado de complejidad cuando se observan a un nivel global. Las colonias de bacterias son una fuerza importante en el planeta, siendo capaces de transformar significativamente su entorno.

Las bacterias son como pequeñas “máquinas” altamente adaptadas, capaces de formar redes descentralizadas de proceso en paralelo (Guu, 2003). Las colonias presentan ciertas características particulares de redes móviles, de código genético reducido, especializadas pero al mismo tiempo, adaptables a cambios imprevistos, autorreproducibles a una velocidad muy alta y tolerantes a fallos ya que trabajan con un mando descentralizado.

La característica más importante de las colonias de bacterias (y en general de la materia viva) es la propiedad de crecer (transformar energía, desarrollarse y reproducirse). Las bacterias crecen partiendo de compuestos químicos simples tomados del medio donde habitan, y con ellos, modificarlos apropiadamente de acuerdo a su genética, construyendo sus macro-moléculas características. Las bacterias se dividen y la división significa la duplicación ordenada de todos sus elementos celulares. Esta capacidad para organizar moléculas y reacciones en secuencias sistemáticas cuidadosamente controladas, resulta finalmente en la facultad del organismo de replicarse a sí mismo, prolongando su existencia.

Aún se está lejos de poder simular las colonias bacterianas en toda su complejidad, sin embargo los autómatas celulares permiten crear modelos computacionales que posibilitan realizar ciertas abstracciones y obtener resultados satisfactorios empleando reglas simples y pocos recursos computacionales. Los autómatas celulares (AC), presentan ciertas características de similitud con las colonias de bacterias ya que son máquinas de proceso paralelo, descentralizado y discreto, representando una vía interesante de comprensión del mundo bacteriano.

Un AC puede construirse a partir de muchos componentes idénticos, cada uno de los cuales es simple, aunque en conjunto son capaces de exhibir un comportamiento complejo (Wolfram, 1984).

Los AC son una herramienta de la inteligencia artificial, utilizada para la representación discreta de comportamientos complejos en algunos sistemas físicos, mecánicos, biológicos y químicos. Estas herramientas computacionales con inspiración biológica, están básicamente compuestas por estructuras de datos y un conjunto finito de reglas que son aplicadas a cada nodo o elemento de la estructura al mismo tiempo.

Actualmente los modelos matemáticos de sistemas naturales generalmente están basados en ecuaciones diferenciales. Los AC proporcionan un nuevo método. Pueden actuar como un modelo adecuado para fenómenos físicos, biológicos y sociológicos. Duching *et al.* (1985) aplicaron AC por primera vez al crecimiento de tumores. Qi *et al.* (1993) desarrollaron el crecimiento ideal de tumores usando un AC bidimensional; Kansal *et al.* (2000) ofrecieron un nuevo y versátil modelo de crecimiento de tumores cerebrales basado en AC.

Un AC debe poseer las siguientes características:

- Cada celda debe poseer el mismo conjunto finito de estados posibles.
- Cada celda debe tener la misma forma de vecindad.
- Cada celda debe poseer el mismo conjunto finito de reglas de evolución.
- Todas las celdas deben evolucionar y actualizarse al mismo tiempo.

Este trabajo muestra el diseño de un AC tridimensional, nuevo avance sobre modelos de simulación aplicados a la microbiología (Larcher y Cattaneo, 2006; Cattaneo *et al.*, 2007; Cattaneo *et al.*, 2008; Larcher *et al.*, 2008). Los resultados obtenidos de simular crecimiento de bacterias en un entorno tridimensional se comparan con datos experimentales y con los logrados mediante un AC bidimensional (Cattaneo *et al.*, 2008).

2 DESCRIPCIÓN DEL MODELO

2.1 Modelo bidimensional

Una descripción de este sistema puede ser encontrada en Cattaneo *et al.*, 2008

2.2 Modelo tridimensional

Entre los años 1987 a 1994, Bays ha realizado numerosas investigaciones referentes a AC tridimensionales (Bays, 1987; 1988a; 1988b; 1990; 1991; 1992; 1994) aunque su estudio se enfoca principalmente en encontrar una regla de evolución en tres dimensiones que fuera la sucesora de *Life* en el espacio tridimensional. Otros antecedentes fueron los trabajos de Gerling (1990) y Hemmingsson (1985).

El sistema que se plantea consiste en un conjunto de elementos que interactúan entre sí a efectos de modelar un ecosistema artificial consistente en:

- Un entorno artificial de desarrollo
- Microorganismos artificiales
- Recursos artificiales que permiten la subsistencia de los microorganismos
- Reglas de evolución

Para poder simular las transiciones de estado de la población entre los tiempos t y $t+1$ se utiliza una matriz adicional de iguales dimensiones, con la única finalidad de contener datos auxiliares.

2.2.1 Entorno artificial

El crecimiento de microorganismos se estudia en un plano, un sistema tridimensional, representado por la matriz CEL de dimensiones $M \times M \times M$, que representa el entorno artificial. La unidad fundamental de vida microbiana es un microorganismo y se representa en una posición de la matriz. El entorno planteado permite simular así, el crecimiento de microorganismos en un cultivo realizado en un volumen finito (cultivo *batch*).

2.2.2 Recursos artificiales

Los recursos disponibles para los microorganismos son importantes en el sistema pues permiten simular su supervivencia o inactivación.

Se representan mediante la matriz AL de dimensiones $M \times M \times M$, y se encuentra directamente relacionada con la matriz CEL. El valor contenido en cada $AL(x,y,z)$ indica la cantidad de sustrato disponible para la bacteria ubicada en CEL (x,y,z) .

2.2.3 Microorganismos artificiales

Cada bacteria tiene tamaño fijo y se desarrolla en una posición x,y,z a partir del inóculo inicialmente distribuido sobre la matriz CEL.

Una bacteria sobrevive y se reproduce mientras existe sustrato disponible.

La población de microorganismos tiene asociado un tiempo de adaptación al medio o tiempo de lag, que es el período durante el cual el metabolismo se adapta a las condiciones ambientales, antes de iniciar la fase de crecimiento exponencial (T_a). El efecto global sobre la población de este tiempo de adaptación puede observarse en los valores mínimos al inicio de las curvas de crecimiento.

Existe por otra parte un tiempo asociado al ciclo celular, necesario para la replicación del material de la bacteria, la síntesis de sus componentes celulares, el crecimiento para alcanzar un tamaño doble del inicial y su división por fisión binaria para dar lugar a dos células hijas (tiempo de duplicación = T_d).

Los tiempos de adaptación y duplicación se establecen realizando distintas corridas de simulación hasta encontrar un valor que se aproxime a las curvas experimentales. Los valores utilizados en este trabajo fueron determinados en trabajos presentados anteriormente (Cattaneo *et al.*, 2008).

Para reproducir, en la curva de crecimiento, la transición entre la fase de adaptación y la de crecimiento exponencial se implementa un método diferente al utilizado en trabajos anteriores (Larcher y Cattaneo, 2006; Cattaneo *et al.*, 2007; Cattaneo *et al.*, 2008; Larcher *et al.*, 2008), donde se daba a cada elemento del inóculo el mismo tiempo de adaptación, mientras que en el actual consiste en colocar a cada microorganismo del inóculo un tiempo de adaptación distinto, de manera que el valor medio de los tiempos de adaptación coincida con el tiempo de adaptación utilizado en los trabajos anteriores.

2.2.4 Interacción entorno/microorganismo

Los microorganismos interactúan con el entorno y estas interacciones les permiten sobrevivir, realizar determinadas acciones y asegurar la reproducción.

Cada microorganismo ocupa un único lugar en el entorno, denotado mediante $CEL(x,y,z)$. El número total de microorganismos en CEL se entiende como tamaño de la población.

Cada microorganismo puede efectuar un número limitado de acciones: alimentación, reproducción y movimiento.

- Para poder alimentarse necesita información acerca del sustrato disponible, en $AL(x,y,z)$
- Para su replicación necesita información referente al sustrato disponible así como a las posiciones vecinas. La reproducción se realiza por fisión binaria.
- Para poder cambiar de lugar, según el tipo de movimiento a realizar, necesita información (a) en caso de tratarse de movimiento browniano, sobre las posiciones vecinas o (b) en caso de tratarse por movimiento provocado por el agitado del medio, necesita información sobre las restantes posiciones del entorno.

La Figura 1 muestra un inóculo de un solo microorganismo en una matriz de desarrollo de tamaño $3 \times 3 \times 3$

3 FUNCIONAMIENTO

Al inicio de cada corrida se establecen parámetros de funcionamiento que permiten, al variar, el ajuste de las condiciones para simular un microorganismo biológico cualquiera. Estos son:

- Tamaño de las matrices (M)
- Inóculo
- Posición inicial del inóculo
- Sustrato para cada posición de la matriz

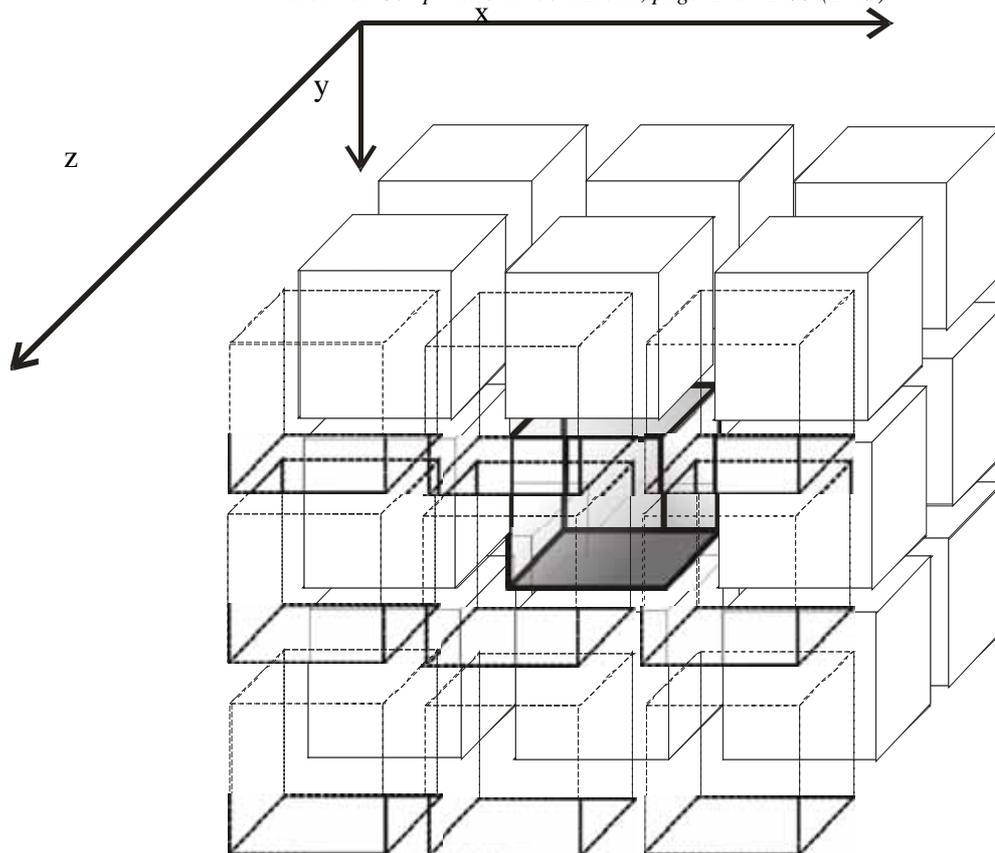


Figura 1. La posición sombreada representa el inóculo. Puede observarse la comunidad de vecinos en los planos $x-1$, x , $x+1$, $y-1$, y , $y+1$, $z-1$, z , $z+1$.

Se distribuye el inóculo en la matriz de desarrollo, y el sustrato en la matriz correspondiente.

Mientras no se cumplan las condiciones de finalización, se recorre la matriz de desarrollo disparando, para cada posición ocupada, las reglas de evolución (ver apartado 3.1)

Se tomaron en consideración diferentes tipos de crecimiento:

- Estático, puesto que existen bacterias que no presentan movilidad. En este caso el crecimiento provoca la formación de colonias.
- Con movimiento browniano, en el que la bacteria puede moverse de manera aleatoria a cualquier posición vecina vacía, como sería el caso de un medio de cultivo líquido, de manera que las células que se producen en cada división continúan su vida independientemente, formando una suspensión de células libres.
- Con agitado del medio, como se realiza al utilizar reactores, donde la bacteria puede moverse aleatoriamente a cualquier lugar del entorno, siempre que éste no se encuentre ocupado. El agitado implica también la homogeneización del sustrato disponible.

3.1 Reglas de evolución

3.1.1 Crecimiento estático

Mientras deba continuar actualizando

Para $x=1:M$, $y=1:M$, $z=1:M$

Si en la Celda existe una bacteria **Entonces**

Si sustrato disponible > 0 **Entonces**
 Bacteria sobrevive y disminuye sustrato y disminuye tiempo de duplicación
 Genera posición para duplicación
Si vecino = 0 y tiempo de adaptación = 0 **entonces**
 bacteria muere y
 nace hija1 y
 nace hija2 y
 reinicia tiempo de duplicación para cada hija
fin si
Caso contrario bacteria muere
Fin si
Caso contrario continuar recorrido
Fin si
Fin para
Fin mientras

3.1.2 Crecimiento con movimiento browniano

Mientras deba continuar actualizando
Para $x=1:M, y=1:M, z=1:M$
Si en la Celda existe una bacteria **Entonces**
Si sustrato disponible > 0 **Entonces**
 Bacteria sobrevive y disminuye sustrato y disminuye tiempo de duplicación
 Genera posición para duplicación
Si vecino = 0 y tiempo de adaptación = 0 **entonces**
 bacteria muere y
 nace hija1 y
 nace hija2 y
 reinicia tiempo de duplicación para cada hija
fin si
 Genera posición nueva, entre los vecinos, para efectuar movimiento
Si vecino = 0 **entonces**
 bacteria cambia de posición
fin si
Caso contrario bacteria muere
Fin si
Caso contrario continuar recorrido
Fin si
Fin para
Fin mientras

3.1.3 Crecimiento con agitado turbulento

Mientras deba continuar actualizando
Para $x=1:M, y=1:M, z=1:M$
Si en la Celda existe una bacteria **Entonces**
Si sustrato disponible > 0 **Entonces**
 Bacteria sobrevive y disminuye sustrato y disminuye tiempo de duplicación
 Genera posición para duplicación
Si vecino = 0 y tiempo de adaptación = 0 **entonces**
 bacteria muere y

nace hija1 y
 nace hija2 y
 reinicia tiempo de duplicación para cada hija

fin si

Caso contrario bacteria muere

Fin si

Caso contrario

continuar recorrido

fin si

Fin para

Si momento de agitado **entonces**

Generar posición nueva en el entorno completo, para realizar movimiento

Si nueva posición vacía **entonces**

Bacteria cambia posición

Fin si

Homogenización de alimento

Fin si

Fin mientras

4 RESULTADOS

Se han realizado simulaciones para las bacterias *Escherichia coli*, Bacteria lactica, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum* (prot.), *Enterobacteriaceae*, *Salmonella* spp. tomando datos experimentales de la base de datos ComBase construida entre la Food Standards Agency y el Institute of Food Research de Reino Unido; el USDA Agricultural Research Service y su Eastern Regional Research Center de EE.UU.; y el Australian Food Safety Centre of Excellence. Esta base de datos se encuentra disponible en <http://www.combase.cc/>.

A continuación se muestran los resultados obtenidos para simulaciones bajo diferentes condiciones de movimiento según los parámetros que se mencionan, para cada tipo de bacteria comparándolos con las curvas obtenidas usando AC bidimensional.

4.1 *Escherichia coli*

Organismo: *Escherichia coli*
 Sustrato: Verdura o fruta y sus productos (En tempeh¹)
 Temperatura: 30°C
 pH: 4,9
 NaCl: No indicado
 Record Data (V294_Ec)

Parámetros de simulación:

$T_a = 0$, $T_d = 2$

¹ Alimento que resulta de la fermentación controlada cocinando porotos de soja con el hongo *Rhizopus oligosporus*

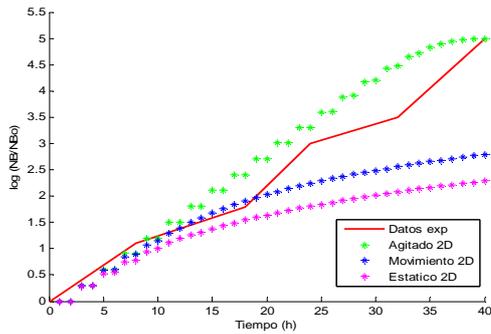


Figura 2a. Resultados de simulación de crecimiento de *E. coli* en AC bidimensional.

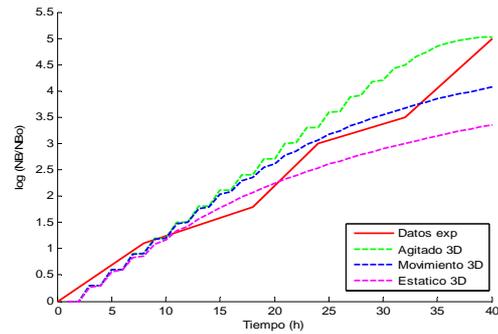


Figura 2b. Resultados de simulación de crecimiento de *E. coli* en AC tridimensional.

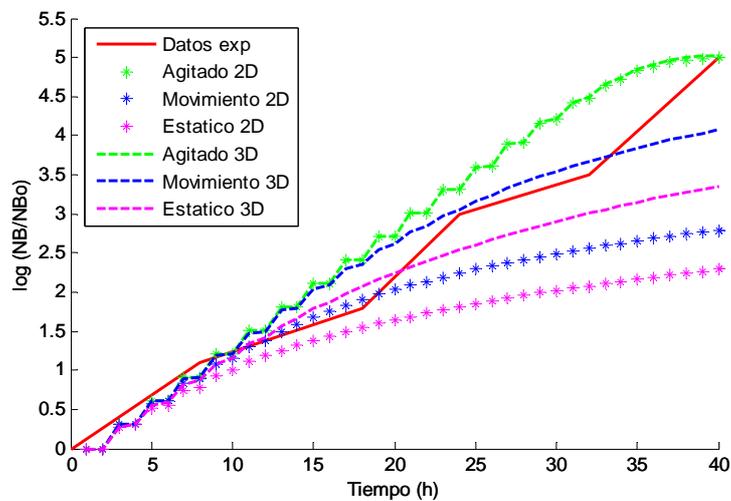


Figura 3. Resultados de simulación de crecimiento de *E. coli* en AC bidimensional y tridimensional bajo distintas condiciones de movimiento.

En la [Figura 2](#) y [Figura 3](#) se observa que los resultados de simulación con agitado no varían si se realizan en un sistema bi o tridimensional, mientras que para los movimientos de tipo browniano y estático las curvas de crecimiento obtenidas mediante el sistema tridimensional van por encima de las curvas de crecimiento del sistema bidimensional. También puede verse que el movimiento de tipo browniano para el sistema tridimensional realiza una buena aproximación a los datos experimentales.

4.2 *Escherichia coli*

Organismo:	<i>Escherichia coli</i>
Sustrato:	Medio de cultivo ² (En BHIB)
Temperatura:	6°C
pH:	5,5
NaCl:	0,5 %
Record Data:	EcBook16_11_10a

² Sustancia líquida o gelatinosa que contiene nutrientes en los que se cultivan microorganismos o tejidos con fines científicos.

Parámetros de simulación:

$$T_a = 24, T_d = 7$$

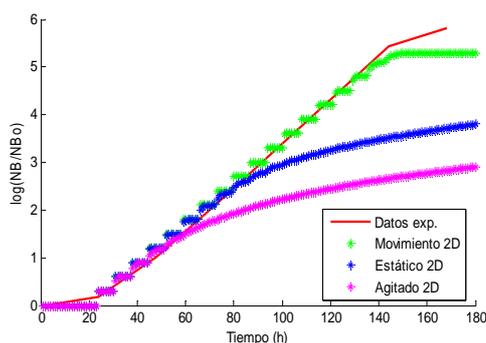


Figura 4a. Resultados de simulación de crecimiento de *E. coli* en AC bidimensional

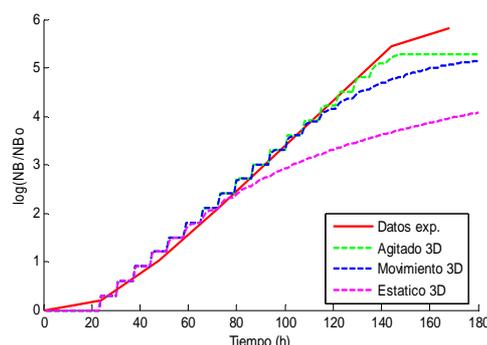


Figura 4b. Resultados de simulación de crecimiento de *E. coli* en AC tridimensional

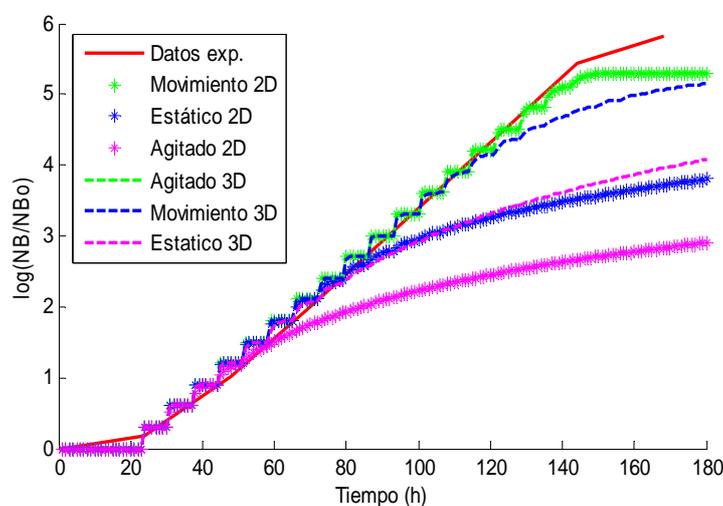


Figura 5. Resultados de simulación de crecimiento de *E. coli* en AC bidimensional y tridimensional bajo distintas condiciones de movimiento

En la Figura 5 puede verse que las curvas de crecimiento para estas condiciones de simulación presentan iguales consideraciones a las realizadas para el mismo organismo en medio diferente.

4.3 *Escherichia coli*

Organismo: *Escherichia coli*
 Sustrato: Medio de cultivo (En BHIB)
 Temperatura: 19°C
 pH: 7,2
 NaCl: 0,5 %
 Record Data EcBook16_43_1a
 Parámetros de simulación:
 $T_a = 2, T_d = 2$

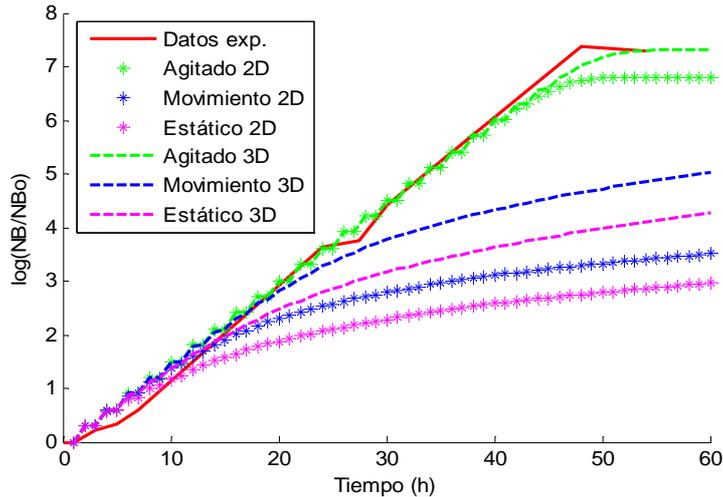


Figura 6. Resultados de simulación de crecimiento de *E. coli* en AC bidimensional y tridimensional bajo distintas condiciones de movimiento

En la Figura 6 se observa que para las condiciones de simulación con agitado las curvas para el crecimiento en sistemas bi y tridimensionales son iguales, mientras que en el caso de movimiento browniano y estático, las curvas de crecimiento en sistemas tridimensionales superan al sistema bidimensional. Sin embargo, la mejor aproximación a los datos experimentales se presenta en la curva para movimiento tipo agitado.

4.4 Bacteria ácido lácticas

Organismo: bacteria ácido láctica
 Sustrato: Medio de cultivo (en TSB +0.6 % Extracto de levadura)
 Temperatura: 25°C
 pH: 7,2
 NaCl: No indicado
 Record Data: Tas1285

Parámetros de simulación:

$T_a = 0$, $T_d = 1$

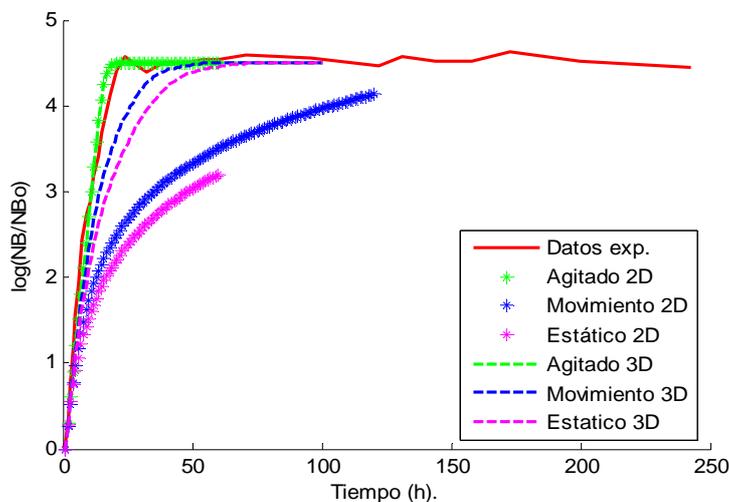


Figura 7. Resultados de simulación de crecimiento de bacteria ácido láctica en AC bidimensional y tridimensional bajo distintas condiciones de movimiento

La **Figura 7** muestra que en ambos sistemas las simulaciones con movimiento de tipo agitado realizan la mejor aproximación a los datos experimentales aunque la aproximación de las simulaciones tridimensionales con movimiento tipo browniano y estático no es mala.

4.5 *Clostridium botulinum* (prot.)

Organismo: *Clostridium botulinum* (prot.)
 Sustrato: Medio de cultivo (En caldo)
 Temperatura: 25°C
 pH: 4,7
 NaCl: 0,5 %
 Record Data: B330_1

Parámetros de simulación:

$T_a = 95$, $T_d = 7$

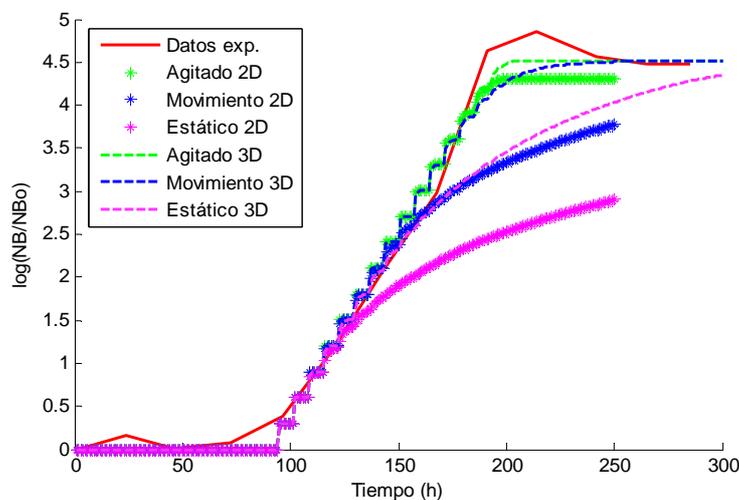


Figura 8. Resultados de simulación de crecimiento de *Clostridium botulinum* (prot.) en AC bidimensional y tridimensional bajo distintas condiciones de movimiento

Para *C. botulinum* se presenta una buena aproximación a los datos experimentales en un sistema tridimensional bajo movimiento browniano (**Figura 8**).

4.6 *Salmonella* Spp.

Organismo: *Salmonella* spp
 Sustrato: Medio de cultivo (En caldo)
 Temperatura: 7°C
 pH: 7
 NaCl: No indicado
 Record Data: B107

Parámetros de simulación:

$T_a = 22$, $T_d = 14$

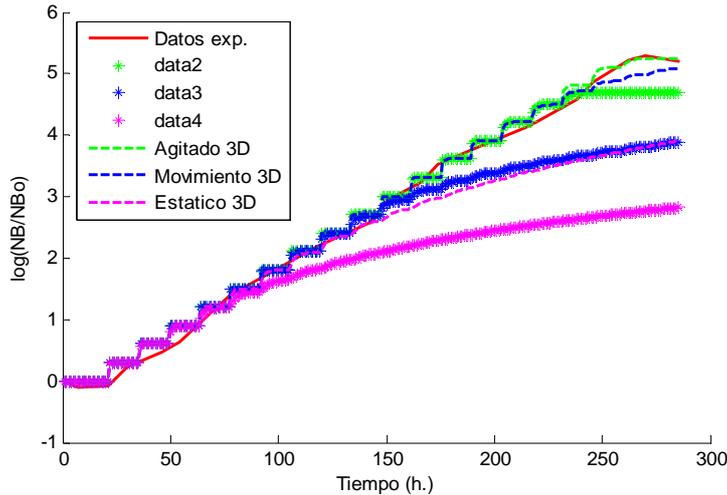


Figura 9. Resultados de simulación de crecimiento de *Salmonella spp.* en AC bidimensional y tridimensional bajo diferentes condiciones de movimiento

Para el caso de *Salmonella spp.*, nuevamente las simulaciones en sistemas tridimensionales con movimiento browniano dan como resultado una buena aproximación a los datos experimentales (Figura 9).

4.7 *Staphylococcus aureus*

Organismo: *Staphylococcus aureus*
 Sustrato: Medio de cultivo (En BHIB)
 Temperatura: 19°C
 pH: 6
 NaCl: 12,5 %
 Record Data: SaBook48_103_3

Parámetros de simulación:

$T_a = 24$, $T_d = 12$

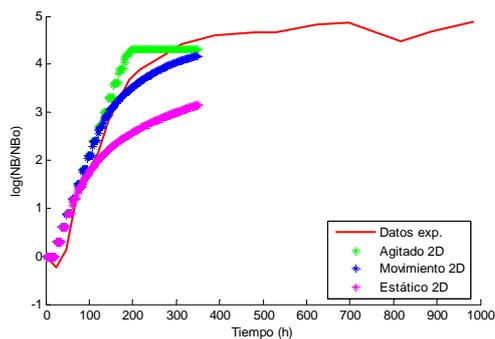


Figura 10a. Resultados de simulación de crecimiento de *S. aureus* en AC bidimensional

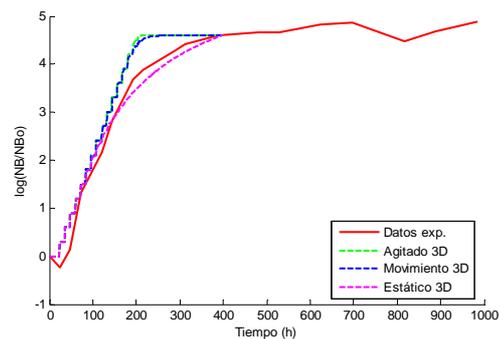


Figura 10b. Resultados de simulación de crecimiento de *S. aureus* en AC tridimensional

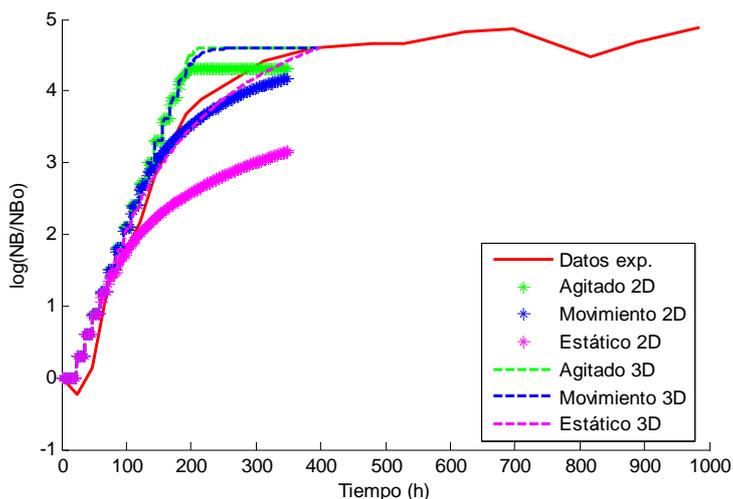


Figura 11. Resultados de simulación de crecimiento de *S. aureus* en AC bidimensional y tridimensional bajo diferentes condiciones de movimiento

En las figuras 10 y 11 se puede observar que las simulaciones en un sistema tridimensional estático producen la mejor aproximación para *S. aureus* en las condiciones de simulación planteadas.

4.8 Enterobacteriaceae

Organismo: *enterobacteriaceae*
 Sustrato: Aves (En pavo)
 Temperatura: 7°C
 pH: 6
 NaCl: No indicado
 Record Data: SY100

Parámetros de simulación:

$T_a = 60$, $T_d = 10$

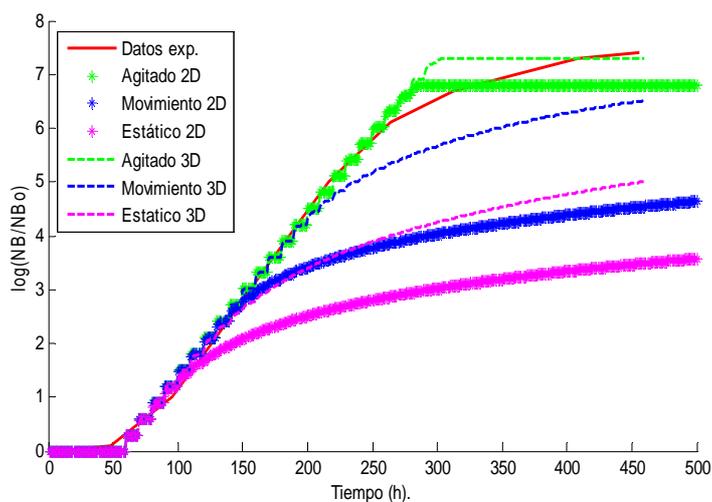


Figura 12. Resultados de simulación de crecimiento de *Enterobacteriaceae* en AC bidimensional y tridimensional bajo diferentes condiciones de movimiento

En la [Figura 12](#) se observa que el caso de movimiento de tipo browniano en un sistema tridimensional es la que produce una mejor aproximación a la curva experimental.

5 CONCLUSIONES

Se observa que las simulaciones con movimiento de tipo agitado para sistemas bi y tridimensionales dan como resultado la misma curva de crecimiento, mientras que para movimiento browniano y estático las curvas de crecimiento tridimensional van por encima a las curvas obtenidas en sistemas bidimensionales.

En el caso de *S. aureus*, bacteria que carece de movilidad ([Cucarella et al., 2001](#)), puede observarse que el mejor ajuste corresponde a las simulaciones tridimensionales estáticas.

Para las bacterias *E. coli* (en tempeh con 30°C, pH: 4,9 y NaCl No indicado), *C. botulinum*, *Salmonella* spp., y *Enterobacteriaceae* se obtienen mejores resultados cuando el movimiento es de tipo browniano, ya que los medios de cultivo utilizados para los datos experimentales son medios húmedos de tipo gelatinoso o líquido.

En el caso de bacteria ácido láctica y *E. coli* (en BHIB, 19°, ph 7,2 y NaCl 0,5%) la mejor aproximación a los datos experimentales se observa en las simulaciones con sistemas tridimensionales bajo condiciones de movimiento de tipo agitado.

En cuanto al método de distribución utilizado al reproducir la transición entre la fase de adaptación y la de crecimiento exponencial en la curva de crecimiento puede decirse que esta distribución en los tiempos de adaptación es la que produce que la curva de crecimiento tenga una transición suave entre las fases de adaptación y la de crecimiento exponencial, como puede apreciarse en las Figuras [2b](#), [4b](#), [10b](#).

REFERENCIAS

- C. Bays, Candidates for the Game of Life in Three Dimensions, *Complex Systems* 1: 373-400, 1987.
- C. Bays, Classification of Semitotalistic Cellular Automata in Three Dimension. *Complex Systems* 2: 235-254, 1988.
- C. Bays, A Note on the Discovery of a New Game of Three-dimensional Life. *Complex Systems* 2: 255-258, 1988.
- C. Bays, The Discovery of a New Glider for the Game of Three-Dimensional Life. *Complex Systems* 4: 599-602, 1990.
- C. Bays, New Game of Three-Dimensional Life. *Complex Systems* 5: 15-18, 1991.
- C. Bays, A New Candidate Rule for the Game of Three-Dimensional Life. *Complex Systems* 6: 433-441, 1992.
- C. Bays, Further Notes on the Game of Three-Dimensional Life. *Complex Systems* 8: 67-73, 1994.
- C. A. Cattaneo; L. Larcher; S. Togo y L. Chaillou. Aplicación de método de Monte Carlo para el estudio de crecimiento de bacterias y levaduras. *Mecánica Computacional* XXVI: 3380-3393, 2007.
- C. A. Cattaneo, L. Larcher y C. A. Acosta. Determinación de parámetros de crecimiento de microorganismos usando autómatas celulares. *Mecánica Computacional* XXVII: 3283-3298, 2008.
- C. Cucarella, C. Solano, J. Valle, B. Amorena, I. Lasa, and J. R. Penadés. Bap, a Staphylococcus aureus Surface Protein Involved in Biofilm Formation. *Journal of Bacteriology*, 183(9): 2888-2896, 2001.
- W. Dutching and T. Vogelsaenger, Recent progress in modeling and simulation of three-dimensional tumor growth and treatment. *Biosystems*, 18(1):79-91, 1985.
- R. W. Gerling, Classification of three-dimensional cellular automata, *Physica A* 162: 187-195, 1990.

- L. Guiu. Código Abierto y bacterias, <http://astramat.com/alife/bacterias.rtf>, 2003.
- J. Hemmingsson, A totalistic three-dimensional cellular automaton with quasiperiodic behavior. *Physica A* 183: 255-261, 1985.
- A. R. Kansal; S. Torquato; G. R. Harsh; E. A. Chiocca and T. S. Deisboeck. Simulated brain tumor growth dynamics using a three-dimensional cellular automaton. *Journal of theoretical Biology*, 203(4):367-382, 2000.
- L. Larcher y C. A. Cattaneo. Simulación de crecimiento de microorganismos utilizando el método de Monte Carlo. *Mecánica Computacional*, XXV: 2505-2518, 2006.
- L. Larcher; S. Togo y C. A. Cattaneo. Simulación de crecimiento de microorganismos bajo distintas condiciones de movilidad. *Mecánica Computacional*, XXVII: 3381-3395, 2008.
- A. S. Qi, X. Zheng, C.Y. Du and B. An. A cellular automaton model of cancerous growth. *Journal of theoretical Biology*, 161: 1-12, 1993.
- S. Wolfram. Cellular automata as models of complexity, *Nature* 311(4): 419-424. 1984.