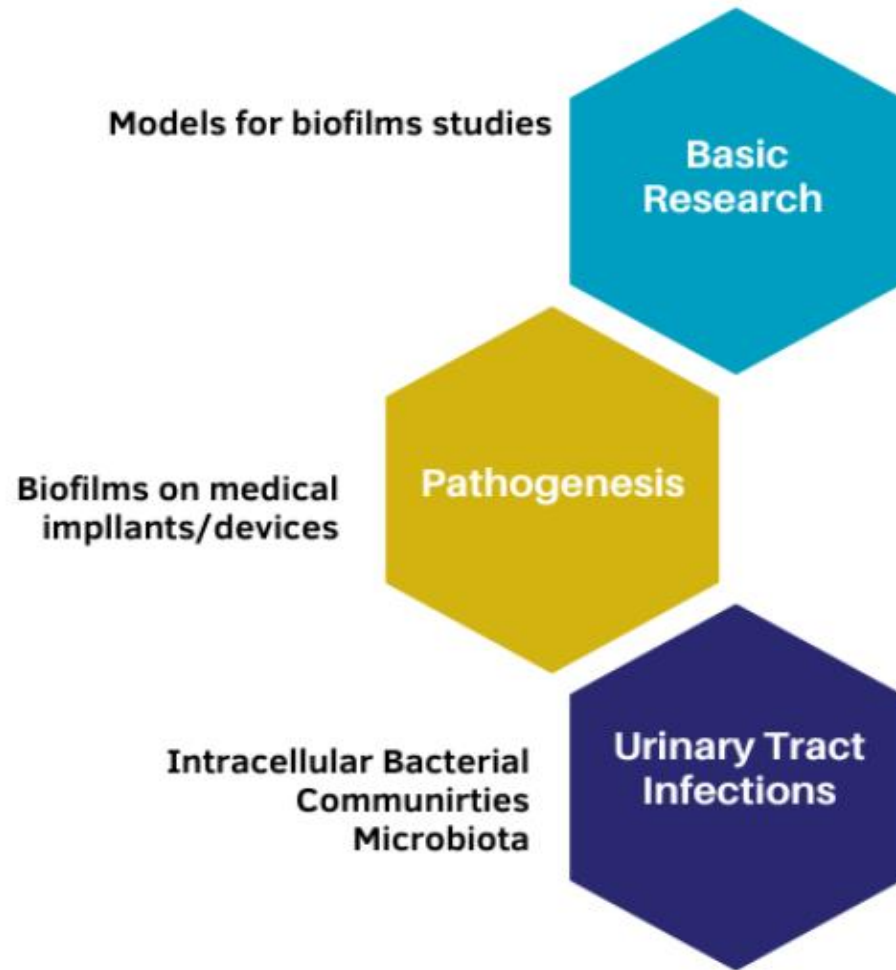


2025
October, 13-24

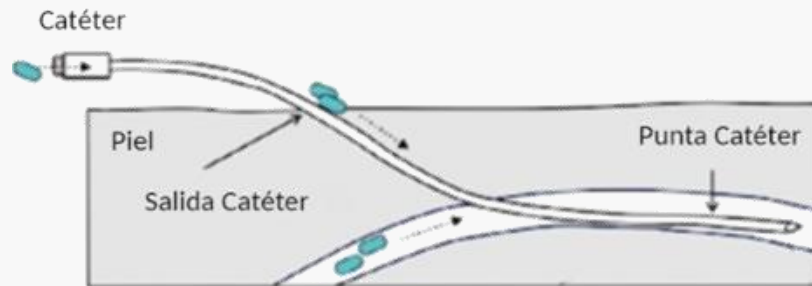
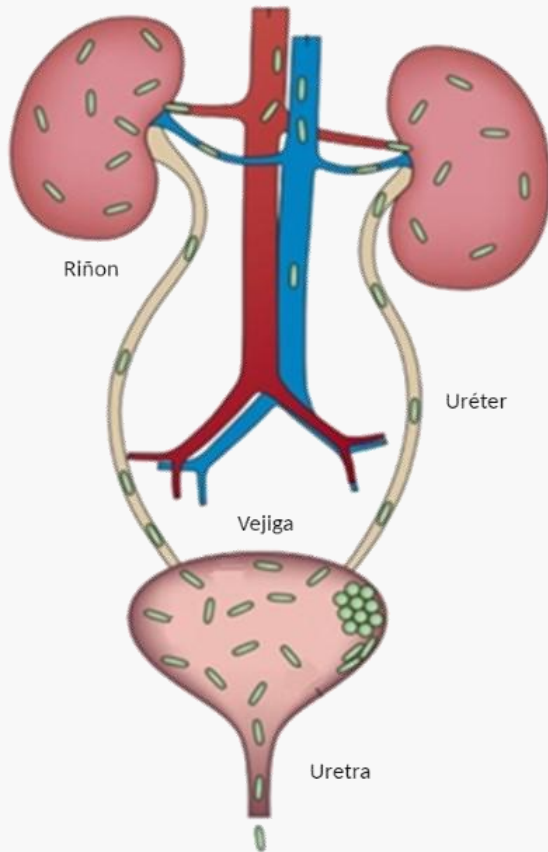
Innovative Biotechnological Approaches for Biofilm
Control and Characterization

Microscopía Light Sheet Aplicada a Microbiología

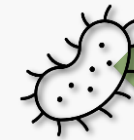
TM. M.Sc. Nicole Canales-Huerta
Laboratorio de Biofilms Microbianos, IIBCE, Departamento de Microbiología
15 de octubre 2025



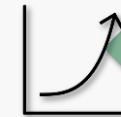
Biofilms bacterianos en entornos médicos: Infección del tracto urinario



Vías de infección urinaria asociadas a CUP



Invasión patógena del urotelio



ITU no complicadas: mayor frecuencia en mujeres



ITU complicadas: instalación catéter urinario permanente (CUP)

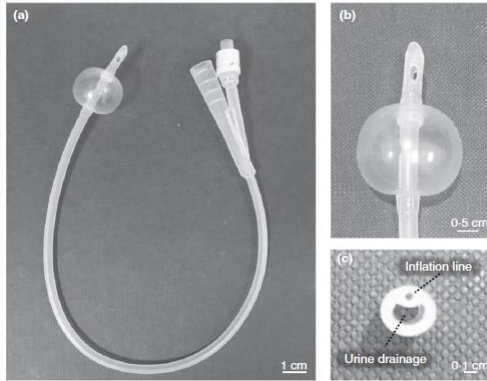


Aumento de la resistencia a los antibióticos

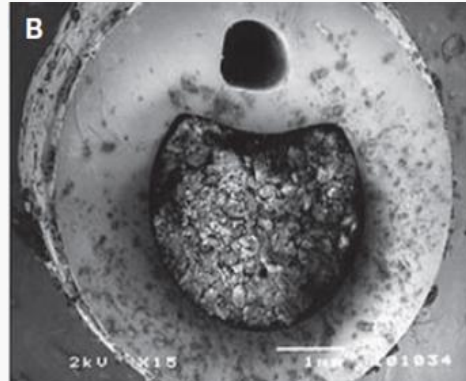
ITU asociada a catéteres



Formación de biofilms en CAUTI.
Azevedo (2017)



Sonda Foley. (a) Catéter estándar de silicona con globo de retención inflado. (b) Punta de la sonda y región del globo. (c) Sección transversal del catéter. Pelling (2019)

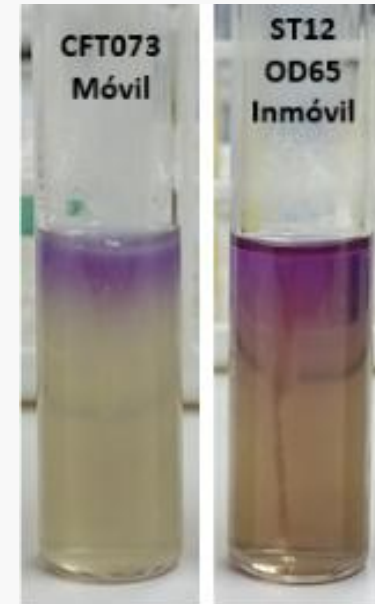


Corte transversal de catéter de silicona. 8 semanas post implantación. Stickler (2008)



Escherichia coli uropatógena (UPEC)

- Bacilo Gram negativo móvil
- Factores de virulencia favorecen la infección, flagelo importante para la formación de biofilms

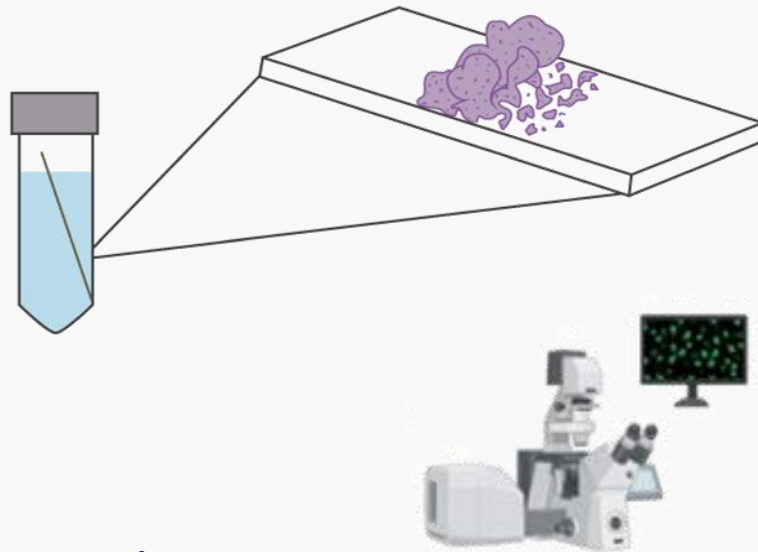


¿Podrá formar biofilms a pesar de comportarse fenotípicamente inmóvil?

Cultivo de cepas de *E. coli* en agar en medio movilidad - indol- ornitina (MIO)

Modelos para el estudio de biofilms bacterianos

Método estático



Microscopio Zeiss Axiovert 200

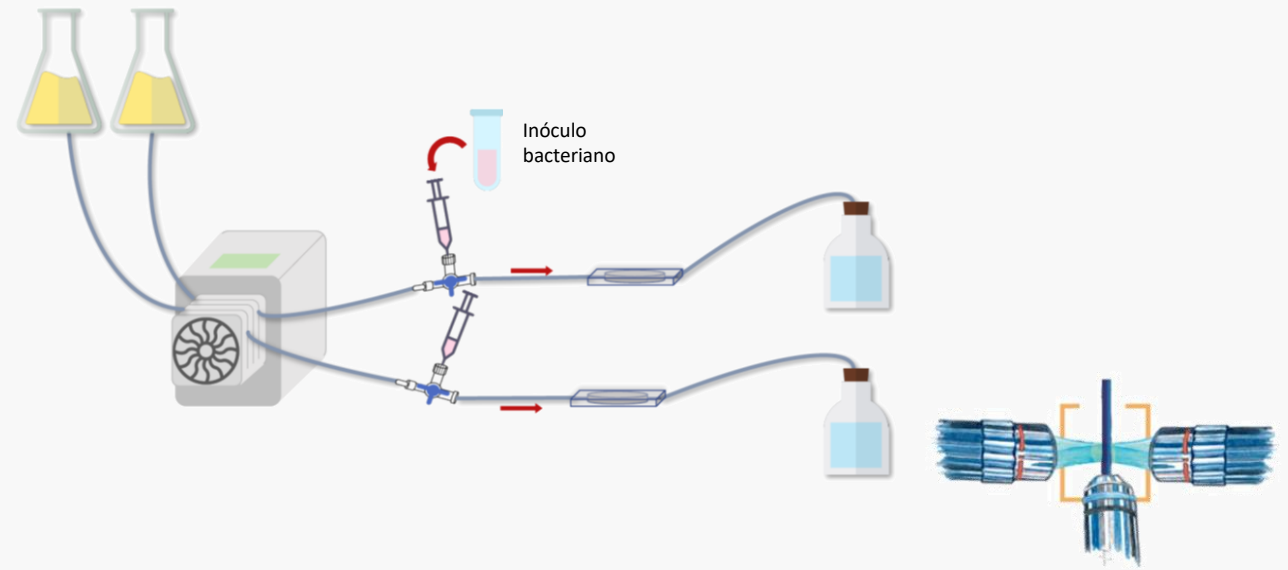
Ventajas

- Reproducibles
- Costo reducido

Desventajas

- Agotamiento de los nutrientes

Método dinámico



Microscopio de Fluorescencia Light Sheet

Ventajas

- Similar a condiciones in vivo

Desventajas

- Montaje

Objetivos

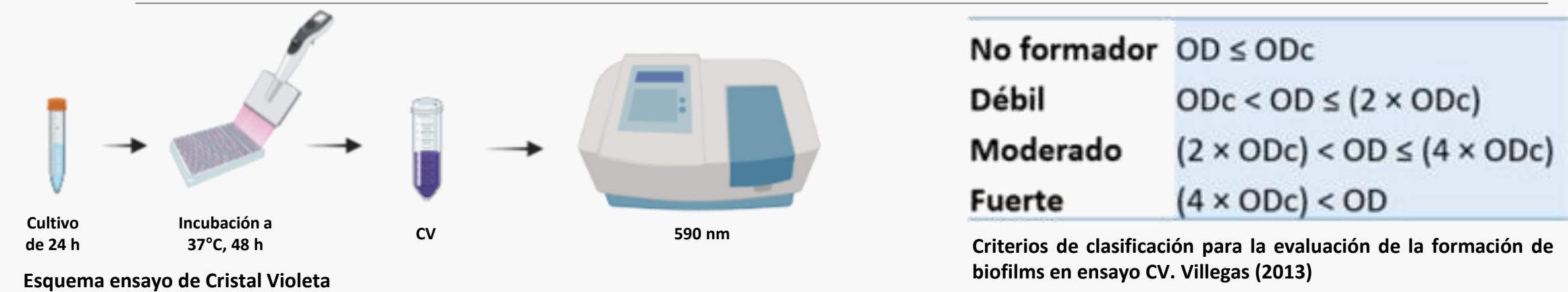
Objetivo general

Detectar y caracterizar la formación de biofilms en la cepa fenotípicamente **inmóvil**, respecto de una cepa control **móvil**, en condiciones de cultivo estático y dinámico.

Objetivos específicos

1. Caracterizar fenotípicamente la cepa **inmóvil** y detectar la formación de biofilms mediante ensayo de cristal violeta
2. Comparar la cinética de formación y caracterizar morfológicamente la formación de biofilms en cultivo estático de la cepa **inmóvil** respecto de la cepa control **móvil**
3. Determinar la presencia, formación y morfología de biofilms de la cepa **inmóvil** respecto de la cepa control **móvil** en condiciones de cultivo dinámico

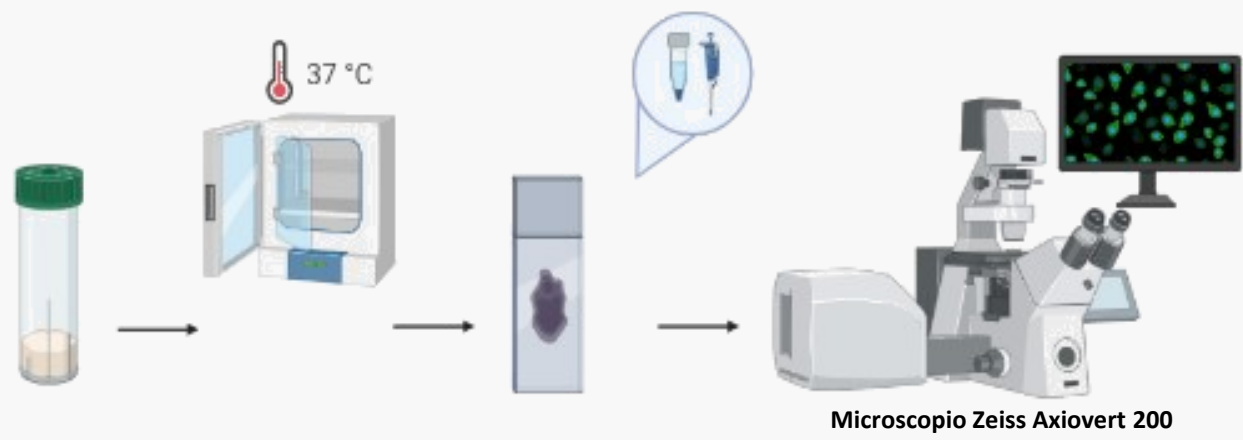
OE.1 La cepa **inmóvil** es una fuerte formadora de biofilms en las condiciones ensayadas



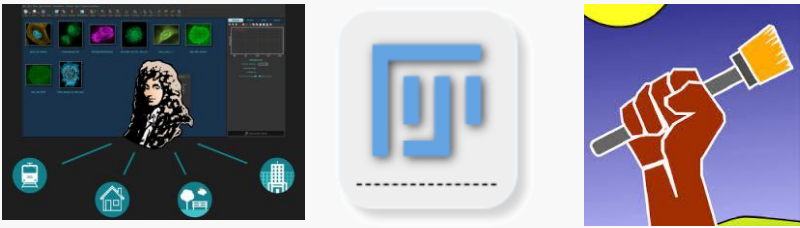
	Exp-1	Exp-2	Exp-3	Promedio
Blanco (DOc)	0,07033333	0,04677778	0,048	0,055037
Promedio cepa (OD65)	0,94666667	0,55722222	1,053	0,8522962

Media de las DO obtenidas en el ensayo de Cristal violeta

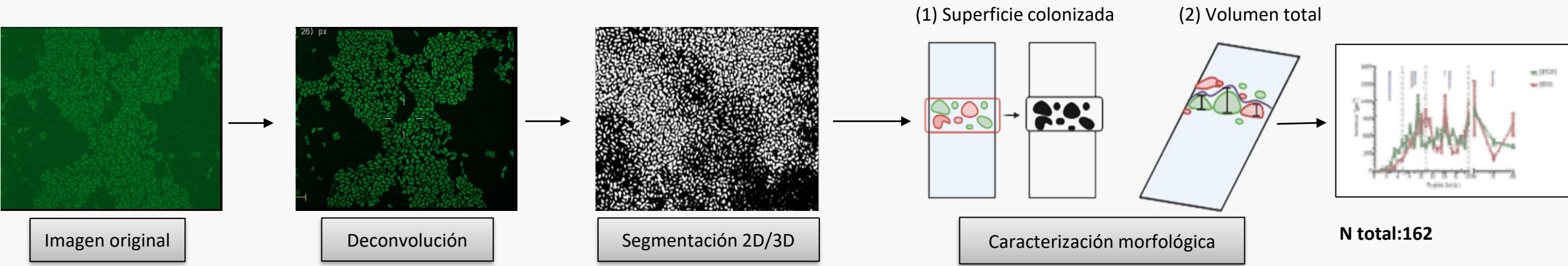
Diseño experimental y procesamiento de imágenes adquiridas en Microscopía confocal



Esquema experimental del cultivo estático

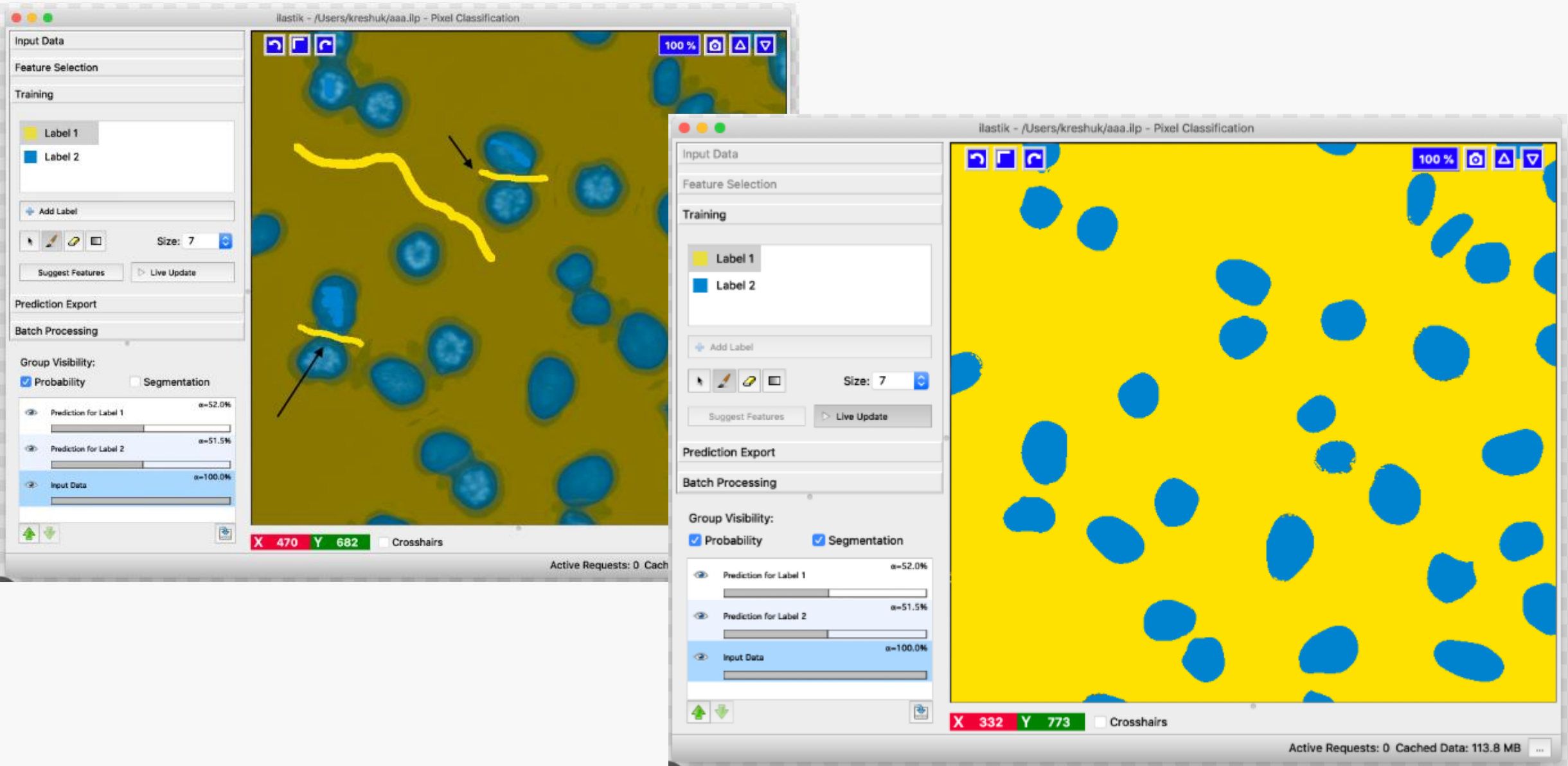


Software´s utilizados para el procesamiento de las imágenes

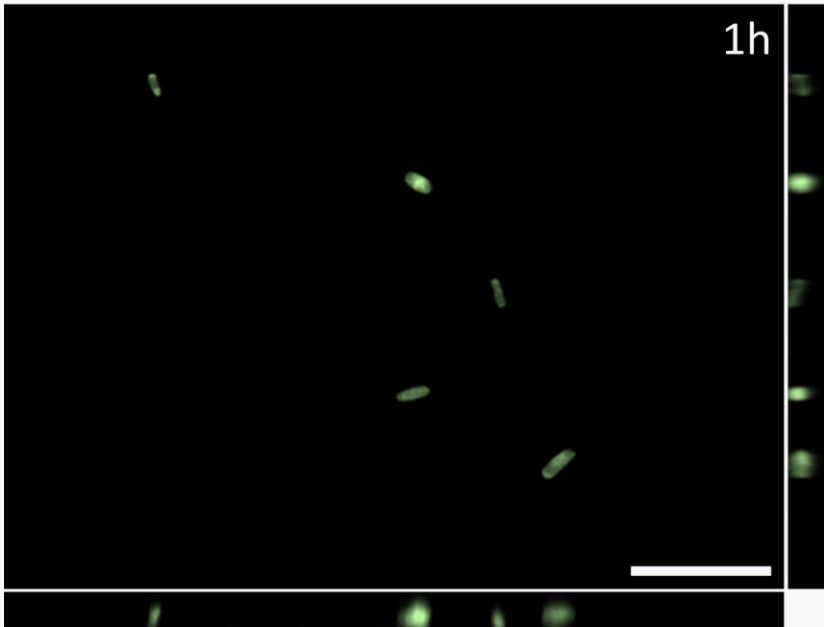


Procesamiento de imágenes obtenidas en CLSM

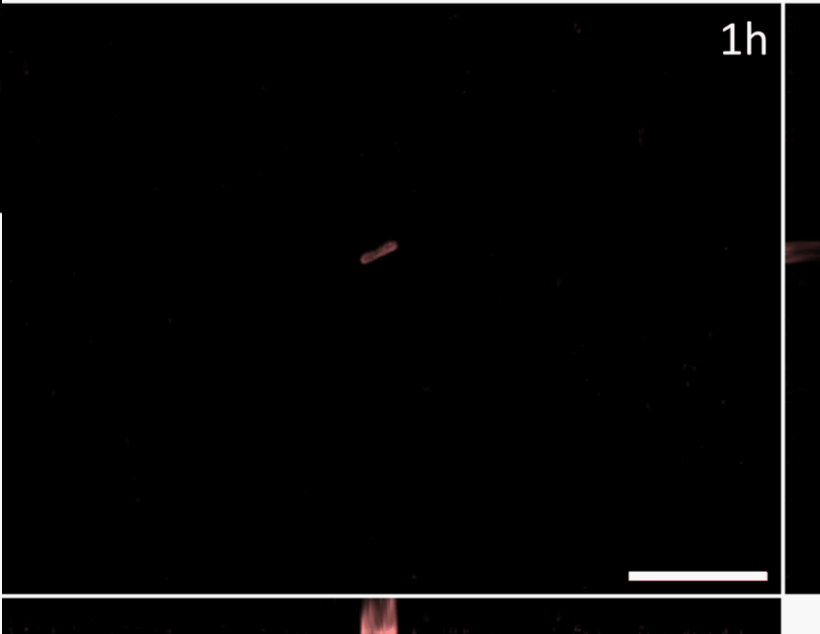
Segmentación de imágenes con Ilastik



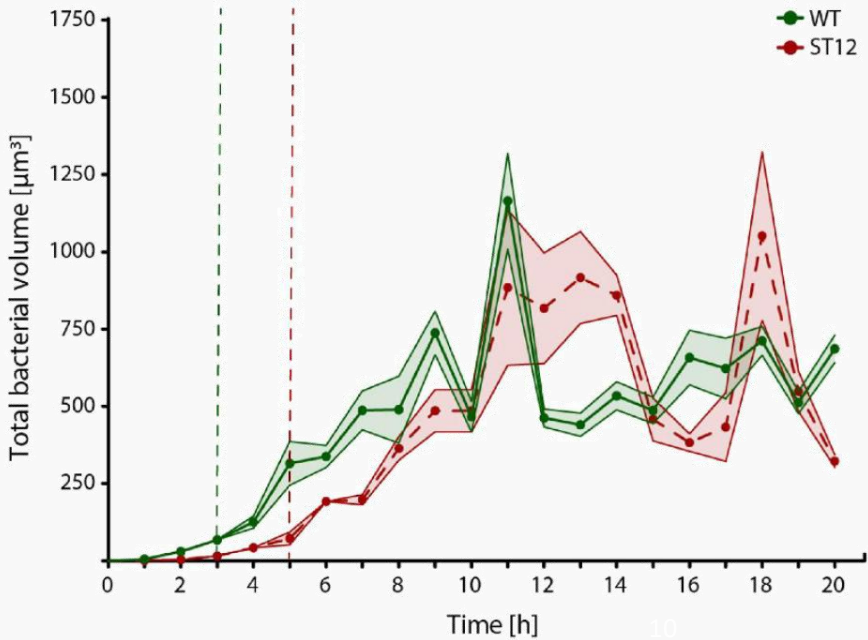
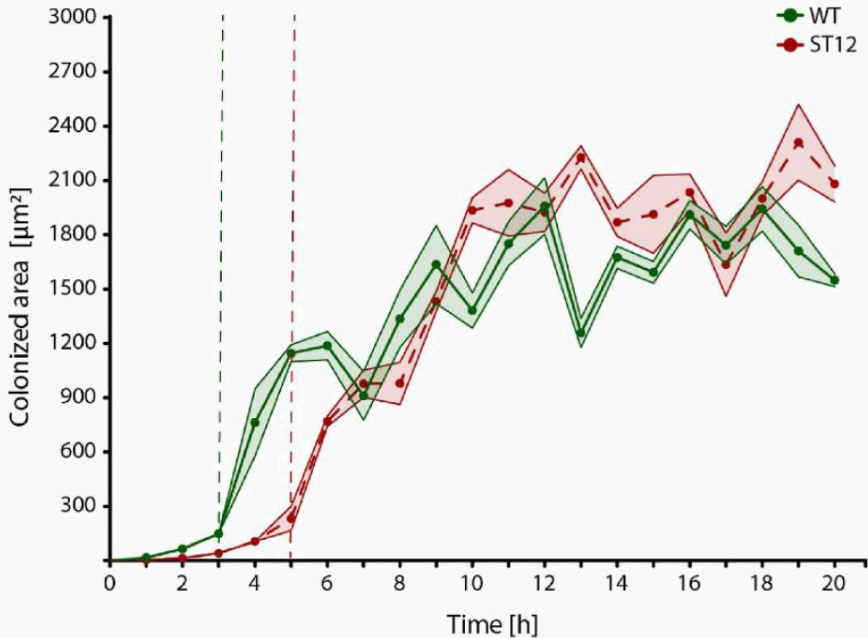
OE.2 En cultivo estático, UPEC fenotípicamente **inmóvil** exhibe un retraso en la transición de adherencia reversible a irreversible



CFT073



ST12 OD65



Objetivos

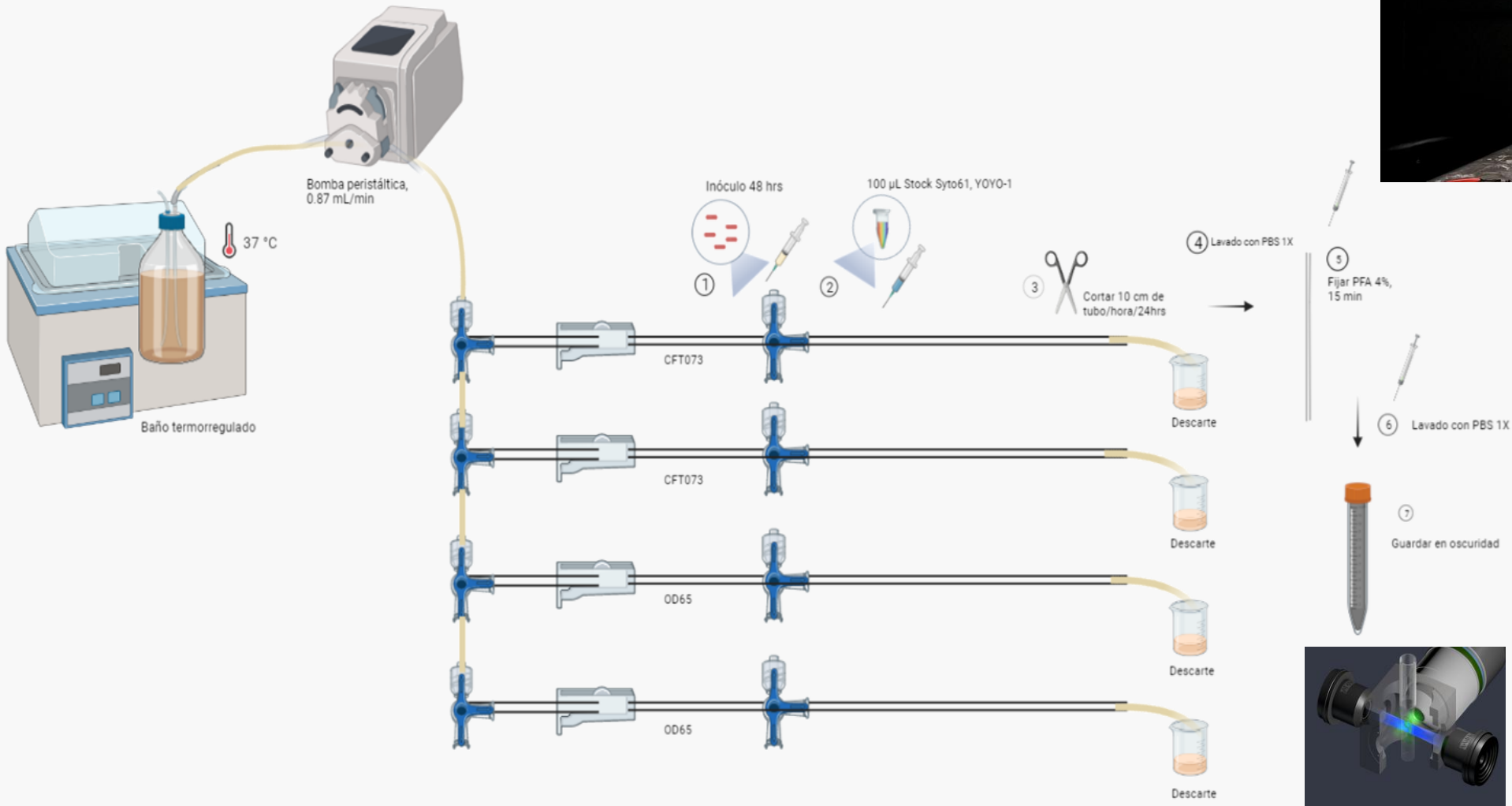
Objetivo general

Detectar y caracterizar la formación de biofilms en la cepa fenotípicamente inmóvil UPEC ST12 OD65, respecto de la cepa control UPEC CFT073 móvil, en condiciones de cultivo estático y dinámico.

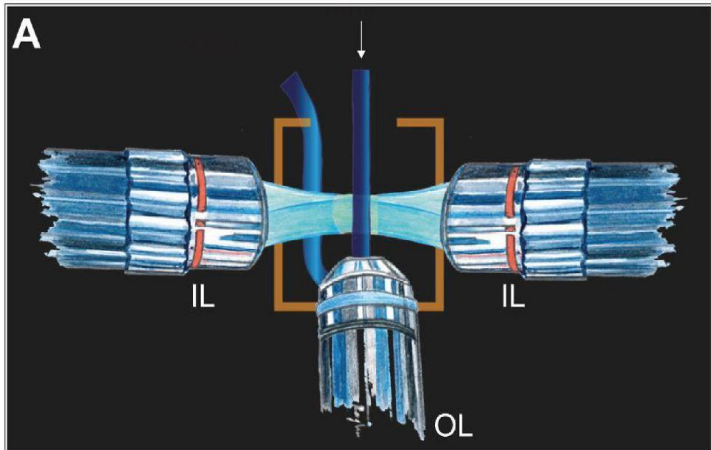
Objetivos específicos

1. Caracterizar fenotípicamente la cepa inmóvil y detectar la formación de biofilms mediante ensayo de cristal violeta
2. Comparar la cinética de formación y caracterizar morfológicamente la formación de biofilms en cultivo estático de la cepa inmóvil respecto de la cepa control móvil
3. **Determinar la presencia, formación y morfología de biofilms de la cepa **inmóvil** respecto de la cepa control **móvil** en condiciones de cultivo dinámico**

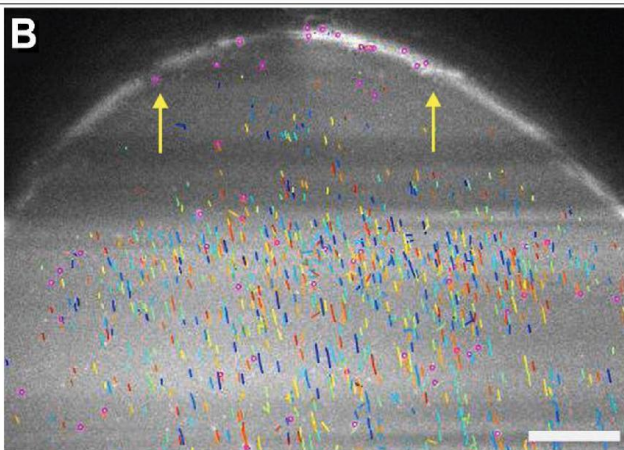
OE.3 Diseño experimental de cultivo dinámico



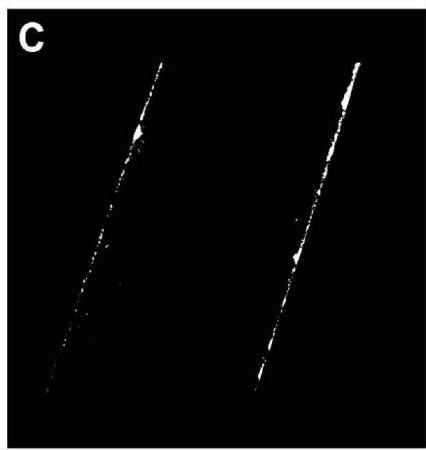
OE.3 Procesamiento de imágenes adquiridas en Microscopio de Fluorescencia Light Sheet



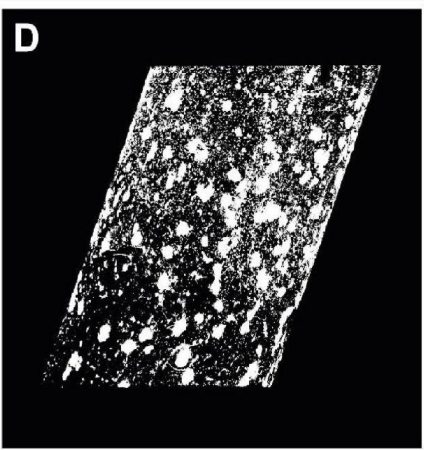
Adquisición



Visualización



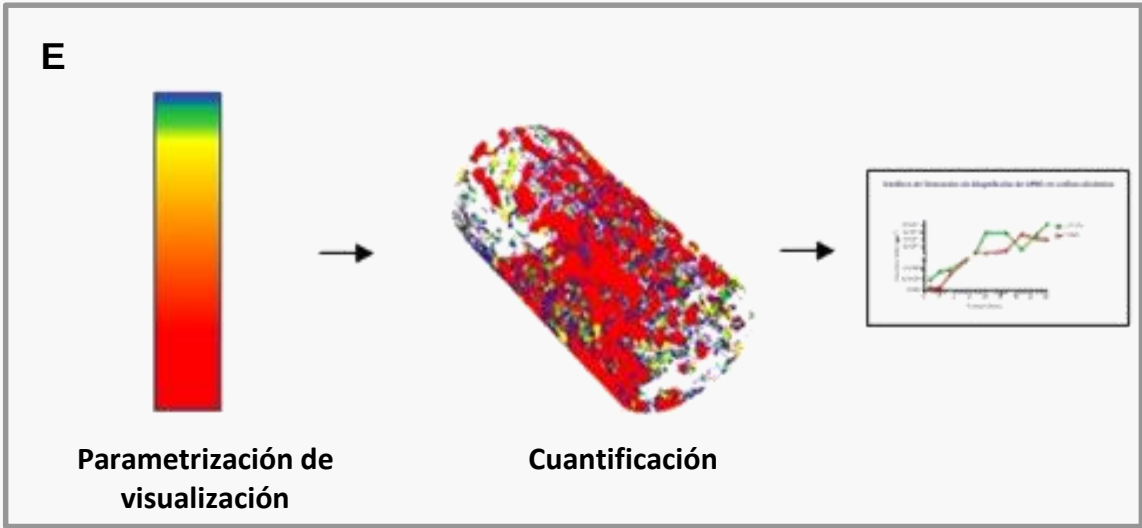
Segmentación



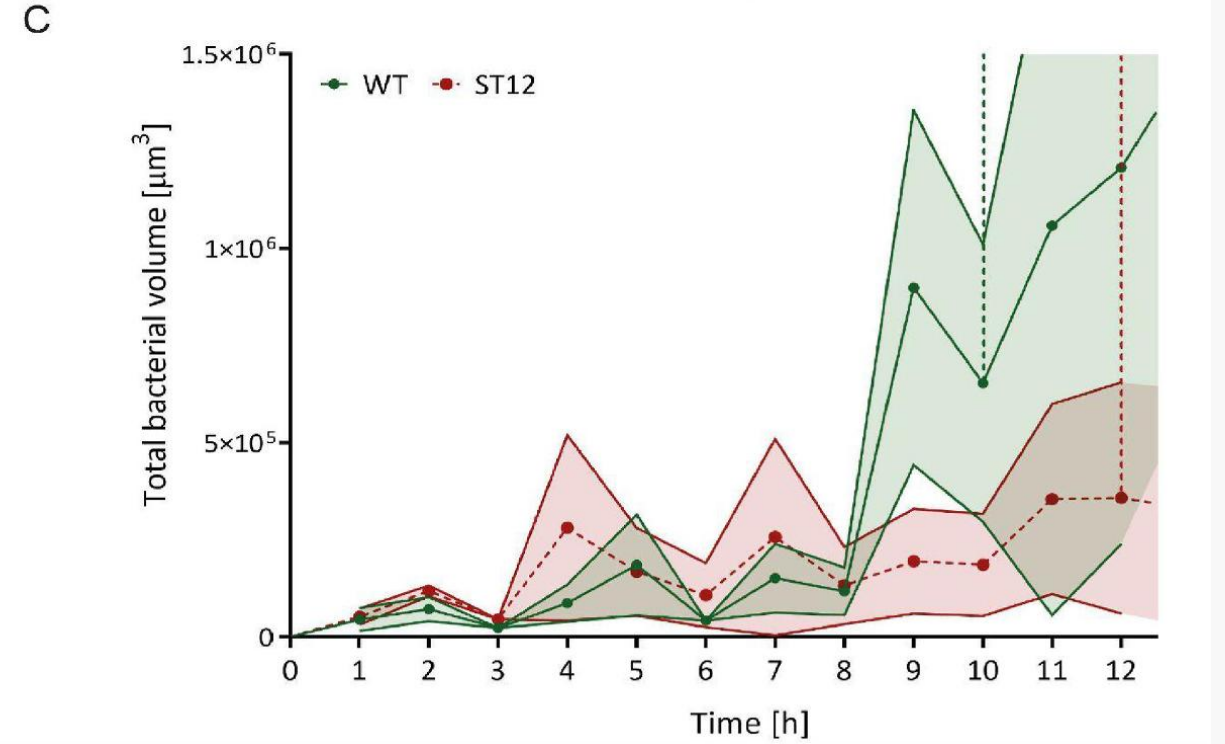
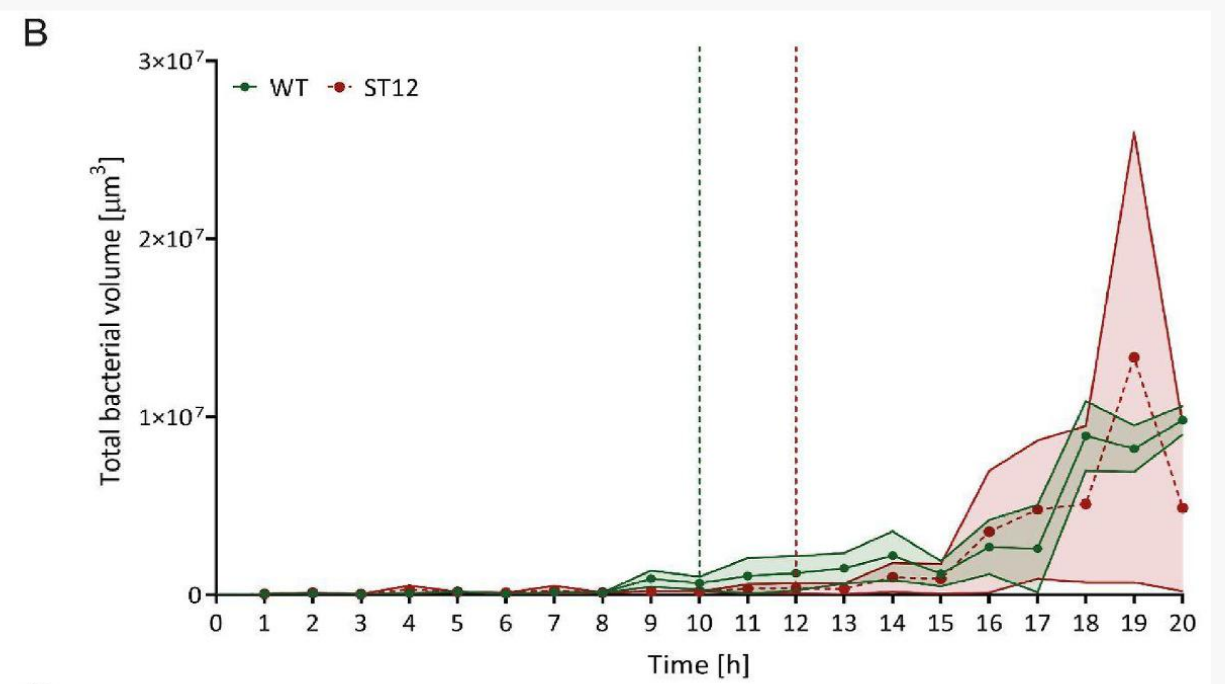
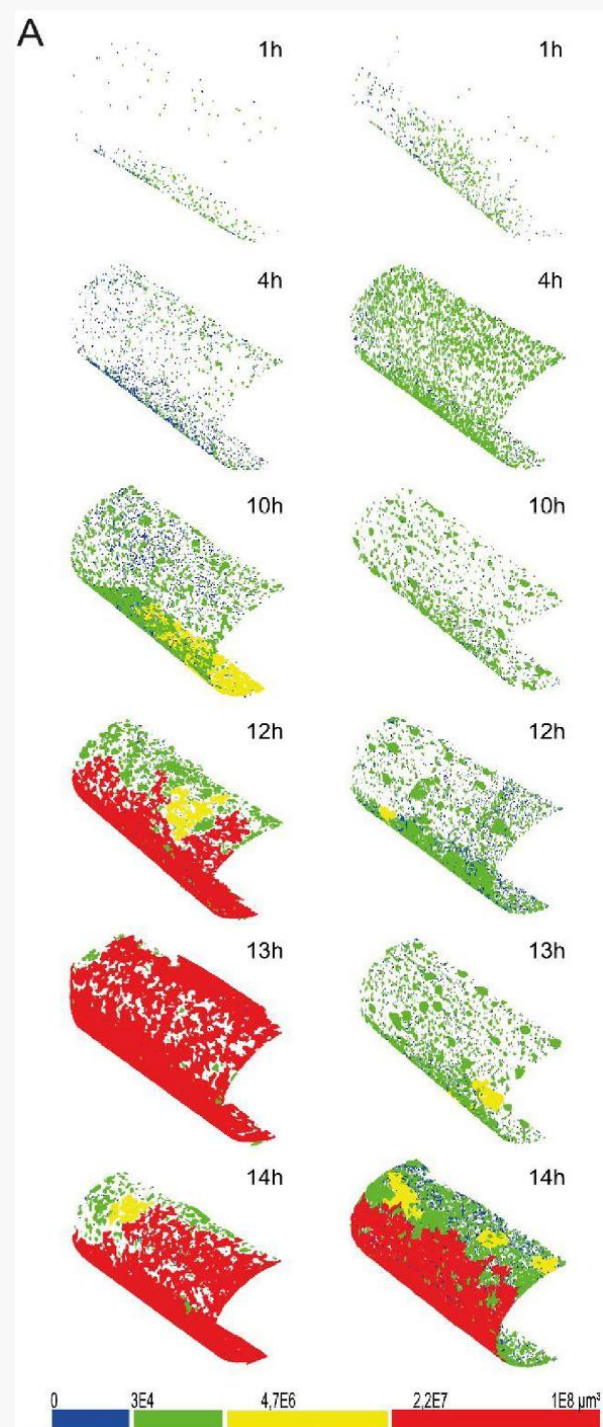
Reconstrucciones 3D



Software's utilizados para el procesamiento de las imágenes



OE.3 En cultivo
dinámico,UPEC
fenotípicamente **inmóvil**
exhibe un retraso en la
transición de adherencia
reversible a irreversible



Conclusiones

- La cepa de UPEC fenotípicamente inmóvil es capaz de formar biofilms, en ambos modelos.
- Si bien facilita la adherencia, la presencia de flagelo no sería determinante para la formación de biofilms en UPEC.
- La metodología desarrollada para medir la formación de biofilms en modelos dinámicos, que emulan las condiciones de un catéter urinario, aportan conocimiento y permiten modelar el desarrollo de estas comunidades en contextos nosocomiales.



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Microbial Pathogenesis

journal homepage: www.elsevier.com/locate/micpath



Delayed biofilm formation in non-motile uropathogenic *Escherichia coli* strain in static and dynamic growth conditions

Nicole Canales-Huerta^{a,b}, Martín Cádiz^{a,b,c}, María Teresa Ulloa^h, Lucas Alé Chilet^{a,b},
Karina Palma^{a,b,c}, Jorge Jara-Wilde^{a,b}, Fabrizio Cuevas^a, María José González^g,
Nicolás Navarro^{f,g}, Jorge Toledoⁱ, Victor Castañeda^j, Paola Scavone^{g,*},
Steffen Härtel^{a,b,c,d,e,**}

Agradecimientos



SCIAN -Lab

Karla Chandía
Lucas Ale
Karina Palma
Jorge Jara
Martín Cadiz
Dante Castagnini
Steffen Härtel



Laboratorio de Biofilms Microbianos /Dpto Microbiología IIBCE

Paola Scavone
María José González
Nicolás Navarro
Luciana Robino
Daniela Arredondo
Joaquín Lozano
Pablo Zunino



REDECA

Jorge Toledo



LEO –Lab

Fabrizio Cuevas
Margarita Meynard



Proyectos: FONDECYT 1211988, 1181823; ACM 170003, BNI, ICM, P09-015-F, Agencia de Cooperación Chilena para el Desarrollo, Ministerio de Relaciones Exteriores, Cooperación Sur-Sur entre Chile y Uruguay

Publicaciones: Mónaco, A., Canales-Huerta, N., Jara-Wilde, J., Härtel, S., Chabalgoity, J. A., Moreno, M., & Scavone, P. (2021). Salmonella Typhimurium triggers Extracellular Traps release in murine macrophages. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 11.

2025
October, 13-24

Innovative Biotechnological Approaches for Biofilm
Control and Characterization

Microscopía Light Sheet Aplicada a Microbiología

TM. M.Sc. Nicole Canales-Huerta
Laboratorio de Biofilms Microbianos, IIBCE, Departamento de Microbiología
15 de octubre 2025