

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO



FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

PROGRAMA DE MAESTRÍA EN MEDICINA VETERINARIA, MENCIÓN EN CLÍNICA Y CIRUGÍA DE PEQUEÑAS ESPECIES COHORTE 2023

**Evaluación de la resistencia de *Proteus mirabilis* a Quinolonas y Betalactámicos
y su relación con factores de virulencia**

Trabajo de Titulación, previo a la obtención del Título de Cuarto Nivel de Magíster
en Medicina Veterinaria, mención en Clínica y Cirugía de Pequeñas Especies

Modalidad del Trabajo de Titulación: Trabajo de investigación

Autora: MVZ. Alva Tatiana Borja Ramos

Directora: Dra. Sandra Margarita Cruz Quintana, Ph.D.

Ambato – Ecuador

2026

A LA UNIDAD ACADÉMICA DE TITULACIÓN DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

El Tribunal receptor del Trabajo de Titulación, presidido por el Ing. Carlos Luis Vásquez Freytez, PhD, e integrado por los señores: BQF. Isabel Cristina López Villacís, Mg. y Dr. Roberto Ismael Almeida Secaira, Mg. designados por la Unidad Académica de Titulación de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, para receptor el Trabajo de Titulación con el tema: “**Evaluación de la resistencia de *Proteus mirabilis* a Quinolonas y Betalactámicos y su relación con factores de virulencia**” elaborado y presentado por el señor MVZ. Alva Tatiana Borja Ramos, para optar por el Título de cuarto nivel de Magíster en Medicina Veterinaria, Mención en Clínica y Cirugía de Pequeñas Especies; una vez escuchada la defensa oral del Trabajo de Titulación, el Tribunal aprueba y remite el trabajo para uso y custodia en las bibliotecas de la UTA.

Ing. Carlos Luis Vásquez Freytez, PhD.
Presidente y Miembro del Tribunal

BQF. Isabel Cristina López Villacís, Mg.
Miembro del Tribunal

Dr. Roberto Ismael Almeida Secaira, Mg.
Miembro del Tribunal

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

La responsabilidad de las opiniones, comentarios y críticas emitidas en el Trabajo de Titulación presentado con el tema: “**Evaluación de la resistencia de *Proteus mirabilis* a Quinolonas y Betalactámicos y su relación con factores de virulencia**”, le corresponde exclusivamente a: MVZ. Alva Tatiana Borja Ramos, Autora bajo la Dirección de la Dra. Sandra Margarita Cruz Quintana, Ph.D., Directora del Trabajo de Titulación, y el patrimonio intelectual a la Universidad Técnica de Ambato.

MVZ. Alva Tatiana Borja Ramos

c.c.: 0202120481

AUTOR

Dra. Sandra Margarita Cruz Quintana, Ph.D.

c.c.: 1756730238

DIRECTORA

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que el Trabajo de Titulación, sirva como un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos de mi trabajo, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad.

MVZ. Alva Tatiana Borja Ramos
c.c.: 0202120481

INDICE GENERAL DE CONTENIDOS

PORTADA.....	i
A LA UNIDAD ACADÉMICA DE TITULACIÓN DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS.....	ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	iii
DERECHOS DE AUTOR	iv
INDICE GENERAL DE CONTENIDOS.....	v
ÍNDICE DE TABLAS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
AGRADECIMIENTO	ix
DEDICATORIA	x
RESUMEN EJECUTIVO.....	xi
ABSTRACT.....	xiii
CAPÍTULO I.....	1
EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	1
1.1. Introducción	1
1.2. Justificación.....	3
1.3. Objetivos.....	5
<i>Evaluar la resistencia de Proteus mirabilis aislado de carne de pollo frente a quinolonas y betalactámicos y determinar su relación con factores de virulencia de importancia clínica, veterinaria y epidemiológica.</i>	5
1.3.1. General	5
1.3.2. Específicos	5
CAPÍTULO II	6
MARCO TEÓRICO.....	6
2.1. Antecedentes investigativos.....	6
2.2. Fundamentación científica	9
2.2.1. Proteus mirabilis: taxonomía y características generales.....	9

2.2.2.	Distribución y reservorios	13
2.2.3.	Importancia clínica y veterinaria de <i>Proteus mirabilis</i>	14
2.2.4.	Resistencia antimicrobiana.....	16
2.2.4.1.	Resistencia a quinolonas	20
2.2.4.2.	Resistencia a betalactámicos	26
CAPÍTULO III		29
MARCO METODOLÓGICO		29
3.1.	Lugar de investigación	29
3.2.	Tipo de investigación.....	29
3.3.	Prueba de Hipótesis	29
3.4.	Población o muestra.....	30
3.5.	Recolección de información	32
3.5.1.	Reactivación e identificación de cepas de <i>Proteus mirabilis</i>	32
3.5.2.	Preparación de una mastermix para la PCR.....	32
3.5.3.	Condiciones de PCR convencional	35
3.5.4.	Electroforesis horizontal en gel de agarosa	37
3.5.5.	Factores de virulencia.....	39
3.6.	Procesamiento de la información y análisis estadístico	39
3.7.	Variables respuesta	40
CAPÍTULO IV		41
RESULTADOS Y DISCUSIÓN		41
4.1.	Determinación de genes de resistencia a quinolonas (<i>gyrA</i> y <i>aac</i>) en <i>Proteus mirabilis</i> aislados de carne de pollo	41
4.2.	Identificación de genes de resistencia a betalactámicos (<i>blactxm</i> y <i>blatem</i>) en <i>Proteus mirabilis</i> aislados de carne de pollo.....	45
4.3.	Relación entre la resistencia antibiótica de <i>Proteus mirabilis</i> y los factores de virulencia (hemolisinas y efecto <i>swarming</i>).....	53
CAPÍTULO V		59
CONCLUSIONES, RECOMENDACIONES, BIBLIOGRAFÍA, ANEXOS.		59
5.1.	Conclusiones	59

5.2.	Recomendaciones	60
5.3.	Bibliografía	61

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Primers utilizados para amplificar los genes gyrA, aac (6')-Ib-cr , blaTEM y blaCTX-M en los aislados de <i>Proteus mirabilis</i>	32
Tabla 2.	Preparación del master mix para PCR en base a la dilución de primers (gyrA, aac (6')-Ib-cr , blaTEM y blaCTX-M) y ADN de muestras de <i>P. mirabilis</i>	33
Tabla 3.	Detección de los genes de resistencia a quinolonas gyrA y aac en aislamientos de <i>Proteus mirabilis</i> procedentes de carne de pollo.....	43
Tabla 4.	Detección de los genes de resistencia a betalactámicos blatem y blactxm en aislamientos de <i>Proteus mirabilis</i> procedentes de carne de pollo.....	48
Tabla 5.	Comparación global de la frecuencia de detección de los cuatro genes mediante Q de Cochran	52
Tabla 6.	Frecuencia de detección de genes de resistencia en aislamientos de <i>Proteus mirabilis</i> procedentes de carne de pollo.....	52
Tabla 7.	Comparaciones pareadas entre genes mediante prueba exacta de McNemar con corrección de Holm	52

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mecanismo de acción de las fluoroquinolonas sobre la ADN girasa y la topoisomerasa IV bacterianas.	21
Figura 2. Resistencia a quinolonas por mutaciones cromosómicas en regiones QRDR.	23
Figura 3. Resistencia a quinolonas por disminución de la acumulación intracelular.	24
Figura 4. Resistencia a quinolonas por mecanismos plasmídicos.	25
Figura 5. Mecanismo de acción de los betalactámicos y mecanismos que reducen su efecto antibacteriano.	27
Figura 6. Condiciones de los genes de resistencia para PCR.....	36
Figura 7. Procedimiento para electroforesis en gel de agarosa.....	38
Figura 8. Perfil electroforético de los productos amplificados mediante PCR para el gen <i>gyrA</i> , asociado con resistencia a quinolonas, en aislamientos de <i>Proteus mirabilis</i> obtenidos de carne de pollo. M: marcador de peso molecular; CN: control negativo.	41
Figura 9. Perfil electroforético de los productos amplificados mediante PCR para el gen <i>acc</i> , asociado con resistencia a quinolonas, en aislamientos de <i>Proteus mirabilis</i> obtenidos de carne de pollo. M: marcador de peso molecular; CN: control negativo.	42
Figura 10. Perfil electroforético de los productos amplificados mediante PCR para el gen <i>blactxm</i> , asociado con resistencia a betalactámicos, en aislamientos de <i>Proteus mirabilis</i> obtenidos de carne de pollo. M: marcador de peso molecular; CN: control negativo.	46
Figura 11. Perfil electroforético de los productos amplificados mediante PCR para el gen <i>blatem</i> , asociado con resistencia a betalactámicos, en aislamientos de <i>Proteus mirabilis</i> obtenidos de carne de pollo. M: marcador de peso molecular; CN: control negativo.	47

AGRADECIMIENTO

Quiero expresar mi más profundo agradecimiento a Dios, por ser siempre mi guía y fortaleza en cada paso de mi vida personal y profesional, permitiéndome alcanzar esta importante meta.

De manera especial agradezco a mis padres, por su amor incondicional, el apoyo constante y por ser el pilar fundamental en mi formación, brindándome siempre la motivación necesaria para seguir adelante.

De igual manera, extendiendo mi sincero agradecimiento a la Dra. Sandra Cruz, quien, con su valiosa colaboración, paciencia y orientación durante todo el proceso de desarrollo de mi proyecto de investigación, se convirtió en un apoyo fundamental para la culminación de este logro.

A mis hermanas y a mi hermano, gracias por sus consejos y palabras de aliento, que han contribuido a mi crecimiento personal y me han motivado a ser una estudiante responsable y comprometida.

Finalmente, agradezco a toda mi familia, quienes nunca dejaron de creer en mis capacidades y me brindaron su apoyo incondicional en cada etapa de este camino.

Tatiana Borja Ramos

DEDICATORIA

El presente trabajo de investigación va dedicado con amor para mi padre, Galvis Borja Camacho, así mismo para mi madre, Teresa Ramos Montero, quienes han sido mi compañía y el sostén fundamental en cada proceso de mi vida académica, porque a sus valiosos consejos y apoyo constante y ejemplo, me he formado como una persona genuina y con grandes valores y principios que han guiado mi trayectoria profesional.

Asimismo, dedico este logro con especial cariño a mis hermanas y a mi hermano, quienes, con sus enseñanzas y palabras de aliento, han contribuido a forjar en mí el sentido de responsabilidad, esfuerzo y perseverancia necesarios para enfrentar cada reto.

Finalmente, este logro también es para mis queridos sobrinos, quienes son una fuente constante de alegría, amor e inspiración, y representan una motivación permanente para superarme y alcanzar nuevas metas.

A todos ellos, mi eterno agradecimiento por ser parte esencial de este importante logro académico.

Tatiana Borja Ramos

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
MAESTRÍA EN MEDICINA VETERINARIA
COHORTE 2023

TEMA: *EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA DE *Proteus mirabilis* A QUINOLONAS Y BETALACTÁMICOS Y SU RELACIÓN CON FACTORES DE VIRULENCIA*

MODALIDAD DE TITULACIÓN: Trabajo de investigación

AUTORA: MVZ. Alva Tatiana Borja Ramos

DIRECTORA: Dra. Sandra Margarita Cruz Quintana, Ph. D.

FECHA:

RESUMEN EJECUTIVO

La resistencia antimicrobiana representa una amenaza creciente para la salud pública, salud animal y la inocuidad alimentaria. *Proteus mirabilis* es un bacilo Gram negativo oportunista, reconocido por su presencia en animales, alimentos de origen animal y ambientes relacionados con la cadena alimentaria. El objetivo de esta investigación fue evaluar la resistencia de *P. mirabilis* aislado de carne de pollo frente a quinolonas y betalactámicos, y determinar su relación con factores de virulencia de importancia clínica, veterinaria y epidemiológica. El estudio se desarrolló bajo un diseño no experimental, transversal y descriptivo. Se analizaron 41 cepas de *P. mirabilis* conservadas en el Laboratorio de Microbiología y Biología Molecular de la Universidad Técnica de Ambato, procedentes de centros de expendio registrados y no registrados del cantón Ambato. La detección de genes de resistencia se realizó mediante PCR para *gyrA* y *aac (6')-Ib-cr*, asociados con quinolonas, y *blaTEM* y

blaCTX-M, asociados con betalactámicos. Los productos amplificados fueron visualizados por electroforesis en gel de agarosa. Además, se evaluaron factores de virulencia mediante hemólisis en agar sangre y motilidad tipo *swarming*. Los resultados evidenciaron altos valores de frecuencia de genes de resistencia. El gen *gyrA* se detectó en 85,37 % de los aislamientos y *aac (6')-Ib-cr* en 80,49 %. En cuanto a betalactámicos, *blaTEM* se identificó en 80,49 % y *blaCTX-M* en 58,54 % de las cepas. Estos hallazgos demuestran que la carne de pollo puede actuar como reservorio de *P. mirabilis* portador de determinantes genéticos de resistencia. La coexistencia de genes de resistencia con hemólisis y *swarming* sugiere un potencial riesgo sanitario, por lo que se recomienda fortalecer la vigilancia molecular, la inocuidad alimentaria y el uso racional de antimicrobianos bajo el enfoque de Una Salud.

DESCRIPTORES: betalactámicos; carne de pollo; factores de virulencia; quinolonas; resistencia antimicrobiana.

EVALUATION OF *Proteus mirabilis* RESISTANCE TO QUINOLONES AND β -LACTAMS AND ITS RELATIONSHIP WITH VIRULENCE FACTORS

DEGREE MODALITY: Research Project

AUTHOR: MVZ. Alva Tatiana Borja Ramos

ADVISOR: Dra. Sandra Margarita Cruz Quintana, Ph.D.

DATE:

ABSTRACT

Antimicrobial resistance is a growing threat to public health, veterinary medicine and food safety. *Proteus mirabilis* is an opportunistic Gram-negative bacillus recognised for its occurrence in animals, animal-derived foods and environments associated with the food chain. The aim of this study was to evaluate the resistance of *P. mirabilis* isolated from chicken meat to quinolones and β -lactams, and to determine its relationship with virulence factors of clinical, veterinary and epidemiological importance. The study was conducted using a non-experimental, cross-sectional and descriptive design. A total of 41 *P. mirabilis* strains preserved at the Microbiology and Molecular Biology Laboratory of the Universidad Técnica de Ambato were analysed. These strains originated from registered and non-registered retail outlets in Ambato canton. Resistance genes were detected by PCR: *gyrA* and *aac (6')-Ib-cr*, associated with quinolone resistance, and *blaTEM* and *blaCTX-M*, associated with β -lactam resistance. The amplified products were visualised by agarose gel electrophoresis. In addition, virulence factors were assessed through haemolysis on blood agar and swarming motility. The results showed high frequencies of resistance genes. The *gyrA* gene was detected in 85.37% of the isolates and *aac (6')-Ib-cr* in 80.49%. Regarding β -lactams, *blaTEM* was identified in 80.49% and *blaCTX-M* in 58.54% of the strains. These findings demonstrate that chicken meat may act as a reservoir of *P. mirabilis*

carrying genetic determinants of antimicrobial resistance. The coexistence of resistance genes with haemolysis and swarming suggests a potential health risk; therefore, strengthening molecular surveillance, food safety measures and the rational use of antimicrobials under the One Health approach is recommended.

KEYWORDS: antimicrobial resistance; β -lactams; chicken meat; virulence factors quinolones.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Introducción

La resistencia antimicrobiana constituye una de las principales amenazas para la salud pública, la salud animal y la inocuidad alimentaria. En este contexto, *Proteus mirabilis*, además de ser considerado un patógeno oportunista en infecciones urinarias, también es reconocido actualmente como un microorganismo de interés epidemiológico, debido a su capacidad para circular entre humanos, animales, alimentos y el ambiente (Chowdhury et al., 2026). Su presencia en productos de origen animal, incluyendo la carne de pollo, adquiere relevancia porque estos alimentos pueden actuar como medios de transmisión a consumidores, manipuladores de animales de producción y animales de compañía, particularmente cuando existen prácticas de cocción insuficiente, contaminación cruzada o suministro de proteína cruda a mascotas (El-Saeed et al., 2024; Ramatla et al., 2024).

La carne de pollo representa un sustrato ideal para *P. mirabilis* debido a que esta bacteria puede formar parte de la microbiota intestinal de las aves y llegar al producto final mediante contacto fecal durante el faenamiento, evisceración, lavado, manipulación o almacenamiento. Este riesgo aumenta cuando existen deficiencias en higiene de superficies, utensilios, manos, guantes, equipos o cadena de frío (Mohammadi et al., 2025).

Desde el punto de vista clínico, *P. mirabilis* tiene importancia por su rol en infecciones urinarias, infecciones de heridas, procesos respiratorios, gastrointestinales, otitis, prostatitis, infecciones de pie diabético y, en casos severos, bacteriemia o sepsis. Su capacidad de producir ureasa, hemolisinas, proteasas, adhesinas, biopelícula y motilidad tipo swarming favorece la colonización, invasión tisular, persistencia bacteriana y recurrencia de infecciones (Ali et al., 2026; Was et al., 2020).

En animales domésticos, *P. mirabilis* también representa un patógeno oportunista de importancia veterinaria debido a que se asocia principalmente con infecciones del tracto urinario, cistitis bacteriana complicada, pielonefritis, recurrencia de infecciones urinarias y posible formación de urolitos de estruvita debido a su actividad ureasa. En perros, un estudio retrospectivo reportó que los cultivos positivos para *P. mirabilis* se relacionaron sobre todo con cistitis bacteriana y que la mayoría de los casos correspondieron a infecciones urinarias complicadas, lo que resalta su relevancia clínica en pacientes con factores predisponentes anatómicos, funcionales o inmunológicos (Decôme et al., 2020).

Asimismo, las infecciones urinarias bacterianas en animales son una causa frecuente de consulta y uso de antimicrobianos en pequeños animales; por ello, la identificación de *P. mirabilis* debe acompañarse de cultivo y antibiograma, especialmente cuando existen infecciones recurrentes, antecedentes de tratamientos previos o sospecha de resistencia antimicrobiana. En animales de producción y otras especies domésticas, se ha descrito su participación en cuadros como diarrea, neumonía, infecciones urinarias y conjuntivitis en especies como ovinos, porcinos, bovinos y aves, lo que amplía su importancia sanitaria más allá de los animales de compañía (Liu et al., 2025).

Dada la complejidad del control de las infecciones causadas por *P. mirabilis*, el estudio de la resistencia a antibióticos, especialmente del grupo de las quinolonas puesto que la ciprofloxacina y levofloxacina, han sido utilizados ampliamente en infecciones urinarias y otros procesos bacterianos. Sin embargo, la resistencia puede aparecer por mutaciones en regiones determinantes de resistencia a quinolonas, especialmente en *gyrA*, así como por genes plasmídicos como *aac (6')-Ib-cr*. Alqurashi et al. explican que la resistencia a fluoroquinolonas en *P. mirabilis* puede relacionarse con modificaciones en DNA girasa y topoisomerasa IV, incluyendo *gyrA*, *gyrB*, *parC* y *parE*, además de cambios en permeabilidad y bombas de eflujo (Alqurashi et al., 2022a). Por otra parte, los genes *blaTEM* y *blaCTX-M* se asocian con producción de betalactamasas de amplio espectro, las cuales hidrolizan penicilinas y cefalosporinas (betalactámicos), reduciendo la eficacia terapéutica. En este sentido, Ramatla et al.

(2024) encontraron en aislamientos de pollos de engorde genes *blaCTX-M* en 62 %, *blaTEM* en 58 % y *blaCTX-M-2* en 38 %, además de resistencia importante a fluoroquinolonas, lo que evidencia el valor epidemiológico de estudiar carne de pollo y derivados avícolas.

Aparte de la detección de los genes de resistencia es importante establecer su relación con la capacidad de virulencia para determinar si los aislamientos resistentes muestran una mayor expresión de hemólisis, *swarming* u otros factores que incrementen su capacidad de colonización, persistencia o transmisión. Liu et al. (2025) demostraron a partir de aislamientos de perros que *P. mirabilis* puede portar simultáneamente genes de virulencia y resistencia, incluyendo *aac(6')-Ib*, *qnrD*, *blaCTX-M* y *blaTEM*, además de mostrar motilidad *swarming* y formación de biofilm.

La literatura reciente señala constantemente resalta la importancia de *P. mirabilis* debido a su frecuente presencia en productos animales que conducen a un riesgo de transmisión zoonótica (Liu et al., 2025). Por ello, investigar aislamientos procedentes de carne de pollo permitirá generar evidencia local útil para vigilancia sanitaria, control de faenamiento, educación de manipuladores, uso racional de antibióticos y prevención de exposición humana y animal. Con base en lo expuesto y considerando un enfoque de Una Salud, el presente estudio pretende evaluar la resistencia de *Proteus mirabilis* aislado de carne de pollo frente a quinolonas y betalactámicos con el fin de determinar su relación con factores de virulencia de importancia clínica veterinaria.

1.2. Justificación

La resistencia antimicrobiana constituye un problema prioritario para la salud pública, la medicina veterinaria y la inocuidad alimentaria, debido a que reduce la eficacia de los tratamientos, favorece la persistencia de infecciones y facilita la diseminación de bacterias multirresistentes entre humanos, animales, alimentos y ambientes (Rhouma et al., 2025). En este contexto, *Proteus mirabilis* ha adquirido importancia epidemiológica por su capacidad de actuar como patógeno oportunista, portar genes de resistencia y expresar factores de virulencia asociados con la colonización e invasión

de tejidos y, con la persistencia bacteriana. Su presencia en productos alimenticios, incluyendo la carne de pollo tiene especial relevancia porque puede actuar como vía para la exposición frente a consumidores, expendedores de carne, particularmente cuando existen fallas en el faenamiento, conservación, cocción o manipulación (Chakkour et al., 2024; Nissanka et al., 2025).

Desde el punto de vista científico, el estudio de los genes de resistencia a antibióticos aporta evidencia local sobre la circulación de genes de resistencia a quinolonas y betalactámicos en aislamientos de *P. mirabilis* procedentes de carne de pollo expendida en Ambato. Las quinolonas, como ciprofloxacina y levofloxacina, y los betalactámicos, como penicilinas y cefalosporinas, son antimicrobianos de importancia clínica y veterinaria; por ello, la detección de genes como *gyrA*, *aac (6')-Ib-cr*, *blaTEM* y *blaCTX-M* permite caracterizar mecanismos moleculares relevantes para la vigilancia microbiológica (Galgano et al., 2025; Kareem et al., 2021; Shariati et al., 2022). Además, la evaluación de factores de virulencia como la hemólisis y la motilidad tipo *swarming* permite comprender si los aislamientos resistentes también presentan rasgos que podrían incrementar su capacidad de colonización, persistencia y diseminación.

La investigación posee relevancia social y sanitaria porque se enmarca en el enfoque de Una Salud, al integrar la relación entre producción animal, alimentos de origen animal, salud humana y medicina veterinaria. La carne de pollo contaminada con bacterias resistentes puede constituir una vía de transmisión de microorganismos o determinantes genéticos de resistencia hacia la comunidad. En consecuencia, los resultados pueden servir como insumo para fortalecer prácticas de higiene en centros de expendio, mejorar procesos de control sanitario, promover educación en manipulación de alimentos y orientar acciones de prevención frente a la resistencia antimicrobiana.

Por tanto, el estudio resulta pertinente, factible y útil para generar evidencia local sobre *P. mirabilis* resistente en carne de pollo, contribuyendo al desarrollo de estrategias de

vigilancia, prevención y uso racional de antimicrobianos en el ámbito clínico, veterinario y alimentario.

1.3. Objetivos

Evaluar la resistencia de *Proteus mirabilis* aislado de carne de pollo frente a quinolonas y betalactámicos y determinar su relación con factores de virulencia de importancia clínica, veterinaria y epidemiológica.

1.3.1. General

Evaluar la resistencia de *Proteus mirabilis* aislado de carne de pollo frente a quinolonas y betalactámicos y determinar su relación con factores de virulencia de importancia clínica, veterinaria y epidemiológica.

1.3.2. Específicos

- a. Determinar genes de resistencia a quinolonas (*gyrA* y *aac*) en *Proteus mirabilis* aislados de carne de pollo.
- b. Identificar genes de resistencia a betalactámicos (*blatem* y *blacctxm*) en *Proteus mirabilis* aislados de carne de pollo.
- c. Relacionar la resistencia antibiótica de *Proteus mirabilis* con factores de virulencia (hemolisinas y efecto *Swarming*).

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes investigativos

Alqurashi et al. (2022) desarrollaron una revisión con el objetivo de analizar los mecanismos de resistencia antimicrobiana de *P. mirabilis* y su impacto en salud pública. La metodología se basó en la revisión de evidencias sobre resistencia a betalactámicos, cefalosporinas, fluoroquinolonas, aminoglucósidos y otros antimicrobianos. Entre los resultados más relevantes, los autores describieron que la resistencia puede estar mediada por betalactamasas, enzimas modificadoras de antibióticos, pérdida de porinas, bombas de eflujo, modificación de dianas y transferencia horizontal mediante plásmidos, transposones e integrones. Además, señalaron que las mutaciones en *gyrA* y otras regiones QRDR son relevantes para la resistencia a fluoroquinolonas. Concluyeron que *P. mirabilis* representa un problema creciente de salud pública y que es necesario fortalecer la vigilancia molecular de sus mecanismos de resistencia.

Mirzaei et al. (2019) realizaron una investigación con el objetivo de caracterizar los perfiles de susceptibilidad antimicrobiana, factores de virulencia y relación clonal de *P. mirabilis* aislado de pacientes con infección urinaria en Irán. La metodología incluyó 110 aislamientos urinarios, evaluación fenotípica de virulencia, susceptibilidad antimicrobiana, detección de genes de resistencia y virulencia por PCR, y análisis clonal por PFGE. Los resultados mostraron que todos los aislamientos formaron biofilm y expresaron hemolisina; además, se detectaron genes de virulencia como *mrpH*, *mrpA*, *pmfA*, *ureG* y *hpmA*. La prevalencia de genes PMQR fue de 4,5 % para *aac (6')-Ib-cr* y 0,9 % para *qnrA*. Los autores concluyeron que la alta frecuencia de factores de virulencia y la presencia de resistencia antimicrobiana justifican la vigilancia de *P. mirabilis* en ambientes clínicos y epidemiológicos.

Ramatla et al. (2024) desarrollaron un estudio en Sudáfrica con el objetivo de evaluar la prevalencia de *P. mirabilis* en pollos de engorde, sus patrones de resistencia

antimicrobiana, producción de ESBL y presencia de genes de virulencia. La metodología incluyó 480 muestras fecales agrupadas de pollos de engorde en matadero, confirmación molecular por PCR, antibiograma por difusión en disco y detección de nueve genes de virulencia y 26 genes de resistencia. Los resultados identificaron 26 aislamientos de *P. mirabilis*, todos portadores de genes de virulencia como *ireA*, *ptA*, *zapA*, *ucaA*, *pmfA*, *atfA*, *mrpA*, *hlyA* y *hpmA*. Además, se reportó resistencia a ciprofloxacina en 62 % y levofloxacina en 54 %, con genes *blaCTX-M*, *blaTEM*, *qnrA* y *qnrD*. Los autores concluyeron que los aislamientos procedentes de pollos representan un riesgo para la salud pública por su potencial zoonótico y multirresistente.

Mohammadi et al. (2025) investigaron la asociación entre formación de biofilm, expresión de genes de virulencia y resistencia antibiótica en *P. mirabilis* aislado de pollos de engorde. La metodología incluyó 100 pollos, de los cuales se confirmaron 50 aislamientos de *P. mirabilis* mediante PCR; además, se evaluó susceptibilidad antimicrobiana por difusión en disco, nueve genes de virulencia y formación de biofilm mediante cristal violeta. Los resultados mostraron resistencia elevada a cloranfenicol y trimetoprim/sulfametoxazol, multirresistencia en 36 %, formación de biofilm en 88 % y presencia de genes como *ireA*, *pmfA*, *atfA*, *zapA*, *hpmA* y *ptA*. Los autores concluyeron que las granjas avícolas pueden actuar como reservorios importantes de *P. mirabilis* resistente y que se requiere uso prudente de antibióticos en medicina veterinaria.

Liu et al. (2023) realizaron un estudio en perros domésticos y callejeros con el objetivo de investigar motilidad *swarming*, formación de biofilm, resistencia antimicrobiana, genes de virulencia, genes de resistencia e integrones en *P. mirabilis*. La metodología incluyó 241 muestras fecales, de las cuales se aislaron 75 cepas. Los resultados evidenciaron alta prevalencia de *swarming* intenso y fuerte capacidad de biofilm; además, se detectaron genes de virulencia como *ureC*, *FliL*, *ireA*, *zapA*, *ptA*, *hpmA*, *hpmB*, *pmfA*, *rsbA*, *mrpA* y *ucaA*, junto con genes de resistencia como *aac(6')-Ib*, *qnrD*, *blaCTX-M* y *blaTEM*. Los autores concluyeron que los animales de compañía pueden

actuar como reservorios de cepas resistentes y que la vigilancia veterinaria es necesaria para reducir riesgos de transmisión.

Joseph et al. (2025) desarrollaron una investigación clínica con el objetivo de determinar la prevalencia y distribución de resistencia a betalactámicos en aislamientos clínicos de *P. mirabilis*, con énfasis en genes carbapenemasas *blaNDM-1* y *blaKPC-2*. La metodología incluyó 100 aislamientos clínicos obtenidos durante 10 meses, identificados mediante técnicas microbiológicas y perfilados por susceptibilidad antimicrobiana. Los resultados mostraron resistencia elevada a ciprofloxacina, ceftazidima y cotrimoxazol; además, 83 % de los aislamientos fueron multirresistentes, 19 % portaron *blaNDM-1*, 8 % *blaKPC-2* y 4 % ambos genes. Los autores concluyeron que la vigilancia molecular y el uso prudente de antibióticos son esenciales para limitar la diseminación de *P. mirabilis* resistente en entornos clínicos.

Ali et al. (2026) realizaron un estudio en pacientes con infección urinaria con el objetivo de aislar e identificar *P. mirabilis* y evaluar factores de virulencia y susceptibilidad antimicrobiana. La metodología incluyó 300 muestras de orina, identificación microbiológica y VITEK 2, evaluación fenotípica de virulencia, difusión en disco y MIC para algunos betalactámicos. Los resultados identificaron 50 aislamientos de *P. mirabilis*; todos expresaron ureasa, proticina y adhesión. Se observó resistencia completa a amoxicilina y nitrofurantoína, susceptibilidad completa a imipenem y amikacina, y resistencia variable a ciprofloxacina, ácido nalidíxico, gentamicina y amoxicilina/clavulanato. Los autores concluyeron que *P. mirabilis* combina múltiples factores de virulencia con resistencia antimicrobiana, lo que exige vigilancia continua.

Liu et al. (2025) elaboraron una revisión sobre riesgos zoonóticos de *P. mirabilis* en animales y alimentos de origen animal. El objetivo fue sintetizar evidencia sobre detección, patogenicidad, resistencia antibiótica y posibles rutas de transmisión hacia humanos. La metodología consistió en una revisión de estudios sobre animales silvestres, animales de producción, animales de compañía, alimentos derivados de animales y ambientes relacionados. Los autores destacaron que *P. mirabilis* se detecta

en animales y productos animales, y que existen similitudes genómicas y patrones de resistencia compartidos entre aislamientos animales y humanos. Concluyeron que se requiere vigilancia desde el enfoque de Una Salud para comprender y controlar su potencial zoonótico.

Hasona et al. (2026) realizaron una revisión desde la perspectiva Una Salud con el objetivo de analizar la interacción entre virulencia y resistencia antimicrobiana de *P. mirabilis* en reservorios humanos y animales. La metodología integró evidencia epidemiológica y genómica sobre circulación de cepas entre humanos, animales, alimentos y ambientes. Los resultados resaltaron que factores de virulencia como ureasa, *swarming* y biofilm favorecen infecciones urinarias severas y, al mismo tiempo, pueden facilitar persistencia y diseminación de resistencia mediante elementos genéticos móviles. Los autores concluyeron que el control de *P. mirabilis* resistente requiere vigilancia integrada, uso racional de antimicrobianos, control de infecciones y estrategias coordinadas entre salud humana, salud animal e inocuidad alimentaria.

2.2. Fundamentación científica

2.2.1. *Proteus mirabilis*: taxonomía y características generales

Proteus mirabilis es una bacteria Gram negativa que cada vez más está adquiriendo importancia en microbiología clínica, veterinaria, alimentaria y ambiental. Aunque inicialmente había sido considerada como un patógeno oportunista asociado a infecciones del tracto urinario, actualmente su relevancia en salud pública, debido a su circulación entre humanos, animales, alimentos de origen animal y ambientes relacionados con la producción y manipulación de alimentos (Liu et al., 2025).

El género *Proteus* fue descrito por Gustav Hauser en 1885, cuyo nombre hace referencia a su marcada plasticidad morfológica y conductual durante el fenómeno de *swarming*. *Proteus mirabilis* fue reconocido tempranamente por su movilidad en medios sólidos debido a la presencia de flagelos peritricos, su diferenciación celular

durante la migración colectiva y su capacidad de producir ureasa (Chakkour et al., 2024).

Desde el punto de vista médico, *P. mirabilis* se reconoce como uno de los agentes de mayor importancia en infecciones urinarias, particularmente en pacientes con catéter urinario, alteraciones anatómicas, comorbilidades o exposición previa a antimicrobianos. Su papel en infecciones asociadas a catéter se explica por la interacción entre motilidad *swarming*, adhesión, formación de biopelícula, producción de ureasa, alcalinización de la orina y formación de cristales de estruvita y apatita, lo que puede favorecer obstrucción del catéter, recurrencia infecciosa, pielonefritis, bacteriemia y sepsis. Además, puede estar presente en infecciones de heridas, tejidos blandos, tracto respiratorio, tracto gastrointestinal y cuadros sistémicos (Chakkour et al., 2024).

Con relación a su rol en la salud animal, *P. mirabilis* puede actuar como patógeno oportunista en pequeños animales, asociándose a infecciones urinarias, cistitis bacteriana complicada, pielonefritis y recurrencia de infecciones, mientras que en animales de producción puede encontrarse en tracto gastrointestinal, heces, canales, carne y ambientes de faenamiento. Adicionalmente, estos animales pueden actuar como reservorios de cepas multirresistentes y portadoras de genes de virulencia, por lo que, su detección en carne para consumo humano, no debe interpretarse solo como un indicador microbiológico de contaminación, sino como una señal de riesgo sanitario potencial para consumidores, manipuladores y animales expuestos a alimentos crudos o insuficientemente cocidos (Liu et al., 2025).

Por otra parte, *P. mirabilis* también ha mostrado tener una amplia capacidad para adquirir resistencia antimicrobiana mediante betalactamasas, integrones, plásmidos, transposones, pérdida de porinas, bombas de eflujo y mutaciones en genes que codifican dianas antibióticas. En quinolonas y fluoroquinolonas, las mutaciones en regiones determinantes de resistencia a quinolonas, especialmente en *gyrA*, *gyrB*, *parC* y *parE*, reducen la afinidad del antimicrobiano por la ADN girasa y la topoisomerasa

IV; mientras que genes plasmídicos como aac (6')-Ib-cr pueden contribuir a resistencia de bajo nivel y favorecer la selección de cepas resistentes. En betalactámicos, genes como blaTEM, blaCTX-M, blaSHV, blaOXA y, en escenarios más críticos, carbapenemasas como blaNDM o blaKPC, se asocian con hidrólisis del antibiótico y fracaso terapéutico (Alqurashi et al., 2022).

Desde el punto de vista taxonómico, *P. mirabilis* pertenece al dominio Bacteria y actualmente se ubica dentro del orden Enterobacterales y la familia Morganellaceae. La reclasificación de varios miembros tradicionalmente agrupados dentro de Enterobacteriaceae respondió a análisis filogenómicos que propusieron nuevas familias dentro de Enterobacterales, entre ellas Morganellaceae. Algunas bases taxonómicas actuales utilizan el filo Pseudomonadota, mientras que en textos microbiológicos y documentos académicos todavía se emplea el término Proteobacteria como denominación tradicional; por ello, para mantener coherencia con la tabla propuesta en la tesis, puede conservarse “Proteobacteria”, aclarando entre paréntesis su equivalencia moderna con Pseudomonadota (Adeolu et al., 2016).

Esta bacteria es un bacilo Gram negativo, no esporulante, anaerobio facultativo, generalmente móvil y con flagelos peritricos, aunque su morfología puede presentar variaciones según el ambiente, observándose como un bacilo corto en medios líquidos, mientras que en medios sólidos se muestra como células swarmer, alargadas, hiperflageladas y organizadas en migración colectiva, lo que explica la forma característica de “ojo de buey” observado en agar, una característica clave para diagnosticar al género *Proteus* (Hasona et al., 2026).

La condición *swarming* es una de las características más distintivas de *P. mirabilis*. La cual consiste en el alargamiento de las células, junto con el incremento en el número de flagelos y el desplazamiento coordinado formando ondas concéntricas. Esta característica ha sido considerada un rasgo de virulencia puesto que favorece la colonización ascendente, la dispersión sobre catéteres, la invasión de nichos urinarios y la interacción con otros factores como hemolisinas, proteasas, adhesinas y sistemas

de regulación de superficie. Estudios recientes han encontrado que la motilidad *swarming* puede asociarse con genes como *hlyA* y reguladores como *rsmA*, lo que refuerza su utilidad como marcador fenotípico en investigaciones que relacionan resistencia antimicrobiana y virulencia (Veisi et al., 2025).

Otro rasgo importante, es la producción de ureasa, la cual promueve la alcalinización del tracto urinario, lo que favorece la precipitación de cristales de estruvita y apatita, contribuye a la formación de biopelículas cristalinas y facilita la persistencia bacteriana. Esto explica la capacidad del microorganismo para inducir urolitiasis, obstrucción de catéteres y recurrencia infecciosa, además de favorecer su supervivencia en matrices ricas en nutrientes y en superficies de manipulación si existen fallas de higiene o contaminación cruzada (Alqurashi et al., 2022).

Proteus mirabilis también es capaz de expresar otros factores de virulencia, entre ellos fimbriae MR/P, PMF, ATF y UCA que facilitan la adhesión a células epiteliales y superficies abióticas; hemolisinas HpmA/HpmB y HlyA que contribuyen al daño tisular y evasión inmune; proteasa ZapA para degradar sustratos del hospedador y puede participar en invasión y, por último, los sideróforos y sistemas de adquisición de hierro que favorecen la supervivencia bacteriana en ambientes donde el hospedador limita nutrientes esenciales (Chakkour et al., 2024; Hasona et al., 2026).

La formación de biopelícula representa una estrategia de persistencia especialmente importante debido a que incrementan la tolerancia frente a antimicrobianos, desinfectantes y mecanismos inmunitarios, además de favorecer la permanencia en superficies clínicas, catéteres, equipos, utensilios y ambientes de procesamiento. En aislamientos clínicos recientes se ha observado que la producción de biopelícula y el *swarming* son comportamientos interrelacionados, aunque no siempre actúan de forma paralela; algunos estudios sugieren una relación inversa, donde cepas más formadoras de biopelícula pueden mostrar menor motilidad *swarming* y viceversa (Veisi et al., 2025).

2.2.2. Distribución y reservorios

Proteus mirabilis posee una distribución amplia y puede encontrarse en el tracto intestinal de humanos y animales, en suelo, agua, aguas residuales, superficies de procesamiento, alimentos y ambientes asociados a animales, debido a la alta adaptabilidad metabólica, que incluye su capacidad de comportarse como anaerobio facultativo y colonizar nichos diversos. Esto hace que, por lo general, actúe como comensal en el tracto intestinal, pero también puede comportarse como oportunista en pacientes con inmunosupresión, lesiones tisulares, con contaminación alimentaria o exposición a antimicrobianos (Alqurashi et al., 2022).

Entre las especies animales, los perros, gatos, aves de corral, porcinos, bovinos, ovinos y especies acuáticas se consideran como los reservorios más importantes. En animales de compañía, su importancia radica en la posibilidad de transmisión de infecciones urinarias, mientras que, en animales de producción, la contaminación puede ocurrir durante faenamiento, evisceración, transporte, almacenamiento o manipulación (Liu et al., 2025).

En pollos, *P. mirabilis* puede formar parte de la microbiota intestinal y contaminar carne o canales durante el faenamiento. Estudios recientes en pollos y productos avícolas han reportado aislamientos portadores de genes de resistencia y virulencia, incluyendo blaCTX-M, blaTEM, qnrA, qnrD, hpmA, zapA, pmfA, ucaA, atfA e ireA. Ramatla et al. (2024) detectaron resistencia a ciprofloxacina y levofloxacina en aislamientos de pollos de engorde, junto con genes ESBL y otros genes de virulencia y de manera similar Sarwar et al. (2025) reportaron alta ocurrencia de *P. mirabilis* multirresistente en fuentes avícolas, con resistencia a ampicilina, cefepime y ciprofloxacina.

En América Latina, existen estudios que respaldan la importancia de los productos cárnicos como reservorios. En el sur de Brasil, Sanches et al. (2023) evaluaron *P. mirabilis* productor de ESBL/AmpC en carne de pollo, cerdo, res e infecciones urinarias comunitarias, y encontraron que los aislamientos de carne de pollo mostraron

los mayores niveles de multirresistencia, además de relaciones clonales con aislamientos de infecciones urinarias comunitarias. De manera similar, estudios recientes reportaron aislamientos de *P. mirabilis* en carne de pollo comercializada en Ambato, Ecuador, con resistencia significativa hacia fluoroquinolonas, resistencia intermedia a amoxicilina/ácido clavulánico y sensibilidad a aminoglucósidos. Aunque este tipo de evidencia debe integrarse con estudios moleculares más robustos, resulta directamente pertinente para justificar investigaciones locales que evalúen genes como *gyrA*, *aac (6')-Ib-cr*, *blaTEM* y *blaCTX-M*, junto con fenotipos de virulencia como hemólisis y *swarming* (Velasategui et al., 2025).

2.2.3. Importancia clínica y veterinaria de *Proteus mirabilis*

Proteus mirabilis puede comportarse como patógeno oportunista en ambientes hospitalarios y veterinarios, especialmente cuando existen factores predisponentes como alteraciones anatómicas del tracto urinario, cateterización, inmunosupresión, tratamientos antimicrobianos previos o exposición a ambientes contaminados. En humanos, su efecto infectivo está asociado a la acción conjunta de ureasa, adhesinas, flagelos, hemolisinas, formación de biopelícula y motilidad *swarming*, factores que favorecen la colonización y la capacidad para evadir la respuesta inmune (Afifi et al., 2025; Milo et al., 2021; Yang et al., 2024).

La ureasa promueve la hidrólisis de la urea y eleva el pH urinario, lo que favorece la precipitación de cristales de estruvita y apatita que se integran a la biopelícula bacteriana y pueden producir incrustación, obstrucción del catéter, retención urinaria y ascenso bacteriano hacia vías urinarias superiores y como consecuencia, se produce infección localizada que luego puede ocasionar pielonefritis y, en pacientes vulnerables, bacteriemia o urosepsis (Milo et al., 2021; Yang et al., 2024). En este contexto, estudios recientes muestran un incremento en la ocurrencia de cepas multirresistentes, resistencia extendida y reducción de opciones terapéuticas, especialmente frente a betalactámicos, fluoroquinolonas y otros grupos usados en infecciones urinarias complicadas (ElTaweel et al., 2024; Hassuna et al., 2025).

El fenómeno de resistencia microbiana adquiere mayor importancia en pacientes internados en unidades de cuidados intensivos, donde las infecciones del torrente sanguíneo causadas por *P. mirabilis* se relacionan con factores de riesgo clínicos, dispositivos invasivos y presión antibiótica. Por ello, la vigilancia de *P. mirabilis* debe incluir, además de la sensibilidad antimicrobiana, la evaluación de virulencia y potencial de diseminación sistémica (Afifi et al., 2025).

Con relación a la importancia veterinaria, *P. mirabilis* se ha asociado con cistitis bacteriana, bacteriuria clínicamente significativa, infecciones recurrentes y cuadros favorecidos por factores anatómicos, funcionales o higiénicos en caninos que constituye un reservorio clínico de la bacteria, especialmente en casos de enfermedades urinarias previas, incontinencia, alteraciones vulvares, sondajes o tratamientos antimicrobianos repetidos un reservorio clínico más importante para este microorganismo, especialmente cuando existen enfermedades urinarias previas, incontinencia, alteraciones vulvares, sondajes o tratamientos antimicrobianos repetidos (Fonseca et al., 2021; Jańczak et al., 2026).

Por otra parte, en animales de producción, *P. mirabilis* tiene relevancia como microorganismo oportunista, reservorio de genes de resistencia y contaminante potencial de alimentos de origen animal. En bovinos, se ha detectado en contextos de mastitis, ambientes de explotación lechera y sistemas donde la presión antimicrobiana puede favorecer selección de bacterias resistentes y aunque no suele considerarse un patógeno principal en la glándula mamaria, su aislamiento en leche o ambientes ganaderos debe interpretarse como indicador de contaminación ambiental, higiene deficiente o desequilibrio microbiológico (Bertolini et al., 2022; Chalmers et al., 2023; Langhorne et al., 2024).

En aves, la contaminación por *P. mirabilis* puede originarse durante la crianza, transporte, sacrificio, evisceración o manipulación, donde se han mostrado cepas multirresistentes, genes de virulencia y resistencia a antimicrobianos en patos sanos y

enfermos (Algammal et al., 2021), carnes y productos acuáticos con cepas portadoras de genes de resistencia (Ma et al., 2022).

2.2.4. Resistencia antimicrobiana

La resistencia antimicrobiana (RAM) puede definirse como la capacidad de una bacteria para sobrevivir, multiplicarse o mantener su viabilidad en presencia de concentraciones de compuestos antimicrobianos que normalmente inhibirían o eliminarían a una población bacteriana susceptible (WHO, 2022). La resistencia puede ser intrínseca, cuando forma parte natural de la biología del microorganismo, o adquirida, cuando es producto de mutaciones genéticas o por incorporación de genes de resistencia. En bacterias Gram negativas como *Proteus mirabilis*, esta problemática adquiere particular relevancia porque la pared celular externa, la presencia de porinas, los sistemas de eflujo y la facilidad para adquirir plásmidos contribuyen a limitar la acción de múltiples familias antimicrobianas, entre ellas betalactámicos y quinolonas (Agga & Amenu, 2024; Murray et al., 2022).

La resistencia antimicrobiana constituye un problema de salud pública debido a que limita la eficacia de tratamientos mediante el uso de antibióticos, lo cual incrementa la tasa de mortalidad, los costos sanitarios, el tiempo de hospitalización y la presión sobre los sistemas de salud, pero también afecta la medicina veterinaria, la producción animal, la inocuidad alimentaria y el ambiente. Por esta razón, desde un enfoque de Una Salud se considera a la resistencia antimicrobiana como un problema de salud pública, debido a que las cepas resistentes o sus genes pueden desplazarse desde animales de producción hacia consumidores, manipuladores y animales de compañía mediante contaminación cruzada, contacto directo o consumo de productos insuficientemente cocidos (Agga & Amenu, 2024; Murray et al., 2022).

La resistencia antimicrobiana es de gran importancia en bacterias Enterobacterales, que incluye géneros de importancia clínica como *Escherichia*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Morganella*, *Providencia* y *Proteus*, debido a que, por una parte, son frecuentemente responsables de causar infecciones y, por la otra parte,

muestran una alta capacidad para adquirir, conservar y transferir genes de resistencia. Adicionalmente, este tipo de bacterias muestran preferencia por la zona intestinal de humanos y animales, lo cual favorece el intercambio genético entre bacterias comensales y patógenas, especialmente bajo presión selectiva por uso de antimicrobianos. En este grupo, la producción de betalactamasas de amplio espectro, AmpC y carbapenemasas constituye uno de los mecanismos más importantes de resistencia a betalactámicos, mientras que la resistencia a quinolonas puede depender de mutaciones en genes diana, genes plasmídicos, bombas de eflujo y disminución de permeabilidad. Por ello, Enterobacterales resistentes a cefalosporinas de tercera generación y carbapenémicos han sido clasificados como patógenos prioritarios por su impacto clínico, epidemiológico y terapéutico (Caliskan-Aydogan & Alocilja, 2023; Husna et al., 2023; Sati et al., 2025).

En *Proteus mirabilis*, la resistencia a las quinolonas puede asociarse con mutaciones en las regiones determinantes de la ADN girasa y la topoisomerasa IV, principalmente en *gyrA*, *gyrB*, *parC* y *parE*. Asimismo, genes plasmídicos como *aac (6')-Ib-cr* pueden acetilar ciertas fluoroquinolonas y contribuir a niveles bajos o intermedios de resistencia, favoreciendo posteriormente la selección de mutaciones cromosómicas. Frente a betalactámicos, genes como *blaTEM*, *blaCTX-M*, *blaSHV*, *blaOXA* y, en algunos contextos, carbapenemasas, reducen la eficacia de penicilinas, cefalosporinas y otros antimicrobianos críticos. Esta situación justifica estudiar de manera conjunta los genes de resistencia y los factores de virulencia, porque una cepa resistente y virulenta posee mayor potencial de persistencia, transmisión y daño clínico (Caliskan-Aydogan & Alocilja, 2023; Husna et al., 2023; Sati et al., 2025).

Uno de los mecanismos generales de resistencia más relevantes es la modificación del sitio diana, en el cual, la bacteria altera la estructura molecular sobre la cual actúa el antimicrobiano, de modo que el fármaco pierde afinidad o capacidad inhibitoria. En quinolonas, por ejemplo, las mutaciones en *gyrA* y *parC* modifican regiones críticas de la ADN girasa y la topoisomerasa IV, enzimas esenciales para la replicación y superenrollamiento del ADN bacteriano. Como consecuencia, ciprofloxacina,

levofloxacin y otras fluoroquinolonas no logran unirse con eficacia al complejo enzima-ADN, disminuyendo su actividad bactericida (Belay et al., 2024; Caliskan-Aydogan & Alocilja, 2023).

Otro mecanismo de resistencia se refiere a la producción de enzimas inactivadoras, principalmente frente a betalactámicos. Las betalactamasas hidrolizan el anillo betalactámico del antibiótico, impidiendo la unión con las proteínas fijadoras de penicilina, bloqueando así la inhibición de la síntesis de pared celular. En Enterobacterales, las betalactamasas ESBL, como CTX-M, TEM y SHV son capaces de conferir resistencia a penicilinas, cefalosporinas de amplio espectro y monobactámicos. Por otra parte, las carbapenemasas como KPC, NDM, VIM, IMP y OXA-48-like pueden comprometer carbapenémicos, que son antimicrobianos usualmente reservados para infecciones por bacterias multirresistentes (Caliskan-Aydogan & Alocilja, 2023; Husna et al., 2023).

Las bombas de eflujo representan sistemas de transporte que expulsan activamente antimicrobianos desde el interior bacteriano hacia el exterior, reduciendo la concentración intracelular del fármaco por debajo del nivel necesario para ejercer su efecto. En bacterias Gram negativas, estas bombas pueden tener amplio espectro y participar en resistencia a quinolonas, tetraciclinas, cloranfenicol, betalactámicos, desinfectantes y colorantes. Este mecanismo puede facilitar la supervivencia inicial de la bacteria en presencia de antimicrobianos y permitir la acumulación posterior de mutaciones o genes adicionales. En Enterobacterales, sistemas como AcrAB-TolC se han asociado con fenotipos multirresistentes y con adaptación a ambientes sometidos a presión antimicrobiana. En *P. mirabilis*, este mecanismo puede actuar de forma complementaria a mutaciones en dianas de quinolonas y a la producción de betalactamasas, fortaleciendo la capacidad de persistencia bacteriana (Belay et al., 2024; Rouvier et al., 2025).

La disminución de permeabilidad es otro mecanismo de resistencia presente en bacterias Gram negativas. En este caso, la membrana externa actúa como barrera

selectiva y permite el ingreso de moléculas hidrofílicas a través de las porinas y cuando estas disminuyen su expresión, pierden o modifican su estructura, reduciendo el ingreso del antimicrobiano. Este mecanismo es especialmente relevante frente a betalactámicos, incluidos cefalosporinas y carbapenémicos, y puede potenciarse cuando coexiste con la producción de betalactamasas. Así, una bacteria que produce ESBL o AmpC y, al mismo tiempo, reduce la entrada del antibiótico, puede alcanzar niveles de resistencia más elevados (Belay et al., 2024; Caliskan-Aydogan & Alocilja, 2023).

La transferencia horizontal de genes es uno de los procesos más importantes de resistencia antimicrobiana. A diferencia de la transmisión vertical, que ocurre durante la división bacteriana, la transferencia horizontal permite que bacterias no relacionadas intercambien material genético mediante conjugación, transformación o transducción. En Enterobacterales, la conjugación mediada por plásmidos es especialmente importante porque facilita la diseminación de genes como *blaCTX-M*, *blaTEM*, *qnr*, *aac (6')-Ib-cr* y carbapenemasas entre bacterias intestinales, ambientales, clínicas y alimentarias. Además, integrones, transposones e islas genómicas pueden acumular múltiples genes de resistencia y virulencia, generando cepas multirresistentes con mayor capacidad adaptativa (Caliskan-Aydogan & Alocilja, 2023; Castañeda-Barba et al., 2024; Michaelis & Grohmann, 2023).

Por último, la presencia de biopelícula puede influir en la expresión de la resistencia antimicrobiana. En el caso de las biopelículas, se forma una matriz extracelular que crea un microambiente de protección, por la cual, la bacteria presenta menor tasa metabólica, mayor tolerancia a antimicrobianos y mayores oportunidades de intercambio genético y, a través de ella, los genes de resistencia pueden transferirse con más frecuencia, especialmente mediante plásmidos conjugativos (Agga & Amenu, 2024; Michaelis & Grohmann, 2023; WHO, 2022).

2.2.4.1. Resistencia a quinolonas

Las quinolonas constituyen una familia de antimicrobianos sintéticos de amplio espectro y capacidad para alcanzar concentraciones terapéuticas en tejidos y fluidos biológicos. Dentro de este grupo, las fluoroquinolonas se caracterizan por incorporar un átomo de flúor en la estructura quinolónica, lo que incrementa su penetración celular, estabilidad farmacológica y actividad frente a bacterias Gram negativas y, en algunos casos, Gram positivas (Alqurashi et al., 2022; Fukuda et al., 2026).

La ciprofloxacina es una fluoroquinolona de segunda generación con elevada actividad frente a bacilos Gram negativos causantes de infecciones del tracto urinario, gastrointestinales, respiratorias, osteoarticulares, cutáneas y sistémicas causadas por bacterias susceptibles. En *P. mirabilis*, la ciprofloxacina ha sido empleada como marcador para evaluar la resistencia a fluoroquinolonas, debido a que la disminución de la sensibilidad puede estar asociada con alteraciones moleculares en ADN girasa, topoisomerasa IV, bombas de eflujo o genes plasmídicos de resistencia (Alqurashi et al., 2022; Shariati et al., 2022).

La levofloxacina es una fluoroquinolona de tercera generación, correspondiente al isómero activo de la ofloxacina, con amplio espectro antibacteriano y actividad frente a algunos patógenos respiratorios. En bacterias Gram negativas, comparte con ciprofloxacina el blanco molecular principal sobre topoisomerasas bacterianas, por lo que la resistencia puede aparecer por mutaciones en regiones determinantes de resistencia a quinolonas, reducción de acumulación intracelular y genes plasmídicos (Alqurashi et al., 2022; Fukuda et al., 2026).

Su mecanismo de acción se basa en la inhibición de las enzimas bacterianas esenciales para la organización del ADN, principalmente la ADN girasa y la topoisomerasa IV. La ADN girasa, compuesta por subunidades GyrA y GyrB, introduce superenrollamiento negativo en el ADN y permite aliviar la tensión generada durante replicación y transcripción. La topoisomerasa IV, formada por ParC y ParE, participa principalmente en la separación de cromosomas hijos después de la replicación. Las

fluoroquinolonas estabilizan el complejo ADN-enzima después del corte de la doble hebra e impiden el religado normal del ADN; como consecuencia, se acumulan rupturas cromosómicas, se bloquea la replicación bacteriana y se desencadena muerte celular. Esta acción explica su efecto bactericida, pero también permite comprender por qué mutaciones en *gyrA*, *gyrB*, *parC* o *parE* pueden reducir la afinidad del fármaco y generar resistencia (Fukuda et al., 2026; Shariati et al., 2022) (Fig. 1).

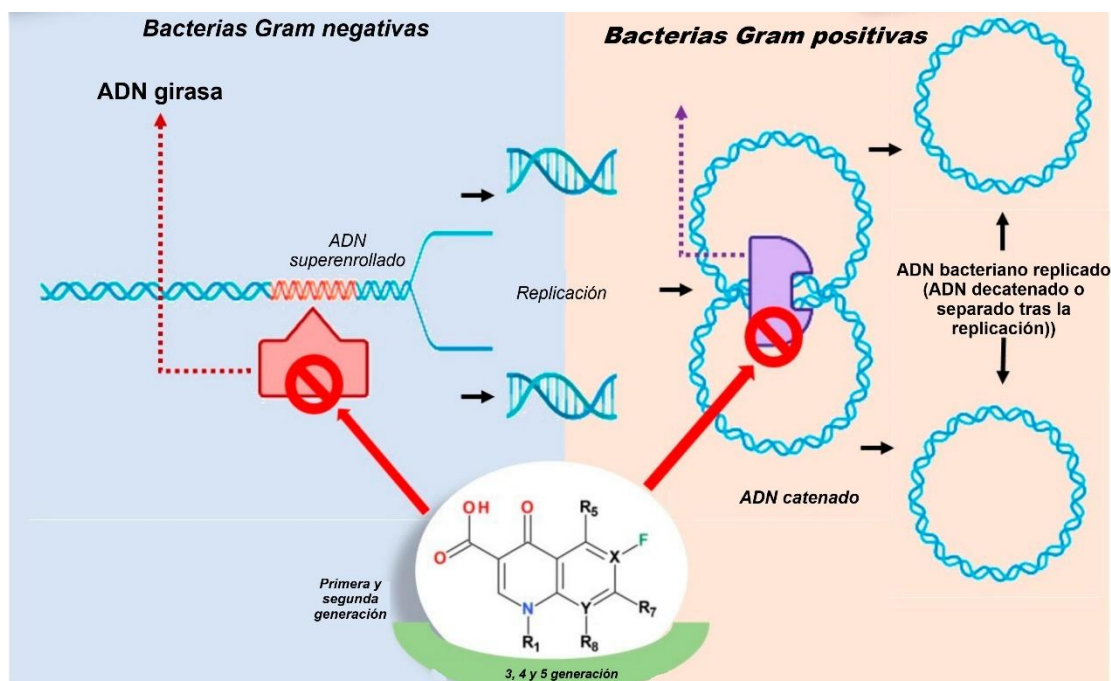


Figura 1. Mecanismo de acción de las fluoroquinolonas sobre la ADN girasa y la topoisomerasa IV bacterianas.

Las fluoroquinolonas inhiben enzimas esenciales para la organización del ADN bacteriano. En bacterias Gram negativas, la ADN girasa constituye un blanco principal, ya que participa en el control del superenrollamiento durante la replicación; mientras que la topoisomerasa IV interviene en la separación de cromosomas hijos después de la replicación. La estabilización del complejo ADN-enzima-fluoroquinolona impide el religado normal del ADN, genera rupturas cromosómicas y conduce a la muerte bacteriana. Adaptado de Rusu et al. (2021) y Fukuda et al. (2026).

En bacterias Gram negativas, la ADN girasa es considerada el principal blanco de las fluoroquinolonas, mientras que la topoisomerasa IV actúa como blanco secundario; sin embargo, la importancia relativa puede variar según la especie bacteriana y el antimicrobiano evaluado. En términos moleculares, la unión de ciprofloxacina o levofloxacina al complejo topoisomerasa-ADN depende de interacciones específicas en regiones conservadas de las subunidades enzimáticas. Cuando estas regiones sufren sustituciones de aminoácidos, el antibiótico pierde capacidad de estabilizar el complejo de clivaje, lo que disminuye su efecto bactericida (Fukuda et al., 2026; Shariati et al., 2022).

Los mecanismos de resistencia a quinolonas pueden agruparse en tres grandes categorías: mutaciones cromosómicas en regiones QRDR, reducción de acumulación intracelular por bombas de eflujo o alteraciones de permeabilidad, y mecanismos plasmídicos de resistencia. Las mutaciones QRDR suelen producir el efecto más directo sobre la diana del antimicrobiano, mientras que las bombas de eflujo disminuyen la concentración intracelular del antibiótico y los genes plasmídicos pueden proteger la diana, modificar el fármaco o expulsarlo de la célula (Alqurashi et al., 2022; Caliskan-Aydogan & Alocilja, 2023; Liang et al., 2025).

Las mutaciones QRDR ocurren en las regiones determinantes de resistencia a quinolonas de los genes que codifican las topoisomerasas bacterianas (Fig. 2). En el caso de *gyrA*, estas mutaciones afectan la subunidad A de la ADN girasa, particularmente la zona involucrada en la interacción con el complejo quinolona-enzima-ADN. En Enterobacterales, las sustituciones más descritas suelen localizarse en residuos equivalentes a Ser83 y Asp87 de GyrA en *Escherichia coli*, aunque la numeración exacta puede variar según la especie. En *P. mirabilis*, se han descrito sustituciones en GyrA, GyrB, ParC y ParE asociadas con resistencia a ciprofloxacina y levofloxacina, lo que indica que la resistencia puede involucrar tanto ADN girasa como topoisomerasa IV. En una tesis enfocada en *gyrA*, la amplificación y detección de esta región permite identificar si la resistencia fenotípica observada puede

relacionarse con alteraciones cromosómicas de la diana antimicrobiana (Alqurashi et al., 2022; Fukuda et al., 2026; Shariati et al., 2022).

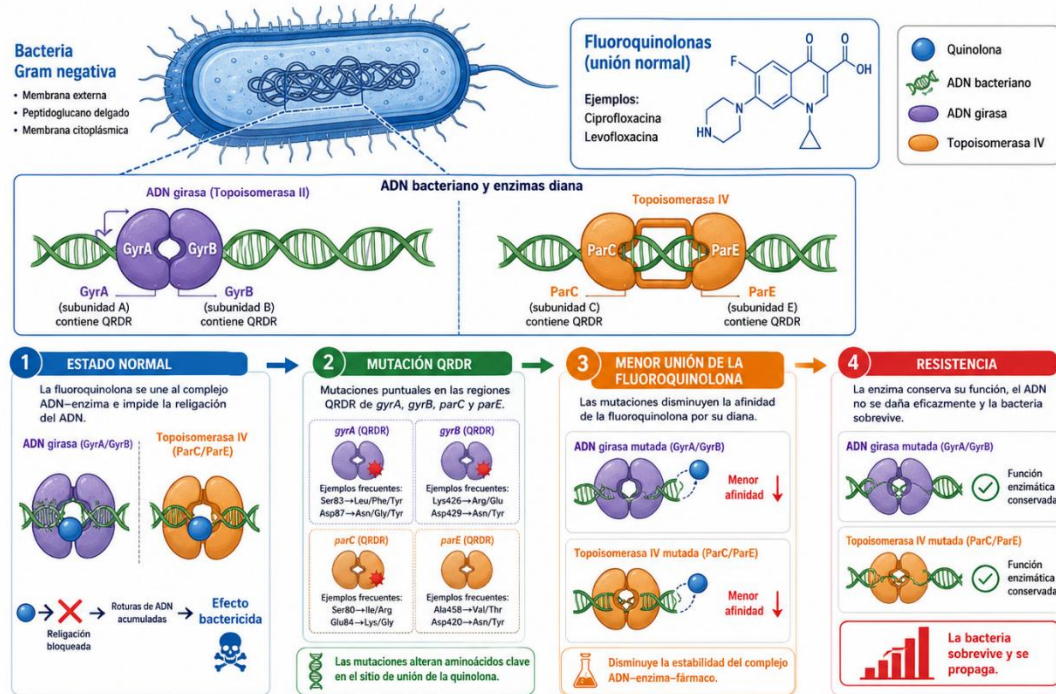


Figura 2. Resistencia a quinolonas por mutaciones cromosómicas en regiones QRDR.

Las mutaciones en las regiones determinantes de resistencia a quinolonas, conocidas como QRDR, afectan principalmente genes que codifican las enzimas diana de las fluoroquinolonas: *gyrA* y *gyrB* en la ADN girasa, y *parC* y *parE* en la topoisomerasa IV. Estas sustituciones modifican aminoácidos clave del sitio de unión del antimicrobiano, reducen la afinidad de ciprofloxacina o levofloxacina por el complejo ADN-enzima y disminuyen la capacidad del fármaco para bloquear el religado del ADN. Como consecuencia, la enzima conserva parcialmente su función, el daño cromosómico inducido por la quinolona se reduce y la bacteria puede sobrevivir. (Elbehiry & Marzouk, 2025; Shariati et al., 2022).

Las bombas de eflujo contribuyen a la resistencia a quinolonas mediante la expulsión activa del antimicrobiano hacia el exterior de la célula bacteriana, reduciendo la

acumulación intracelular de ciprofloxacina o levofloxacina y puede generar disminución de sensibilidad, especialmente cuando se combina con mutaciones QRDR o genes plasmídicos. En bacterias Gram negativas, los sistemas de eflujo de la familia RND, como AcrAB-TolC y sistemas relacionados, pueden transportar múltiples sustratos, incluyendo quinolonas, cloranfenicol, tetraciclinas, betalactámicos y desinfectantes (Caliskan-Aydogan & Alocilja, 2023; Liang et al., 2025; Shariati et al., 2022).

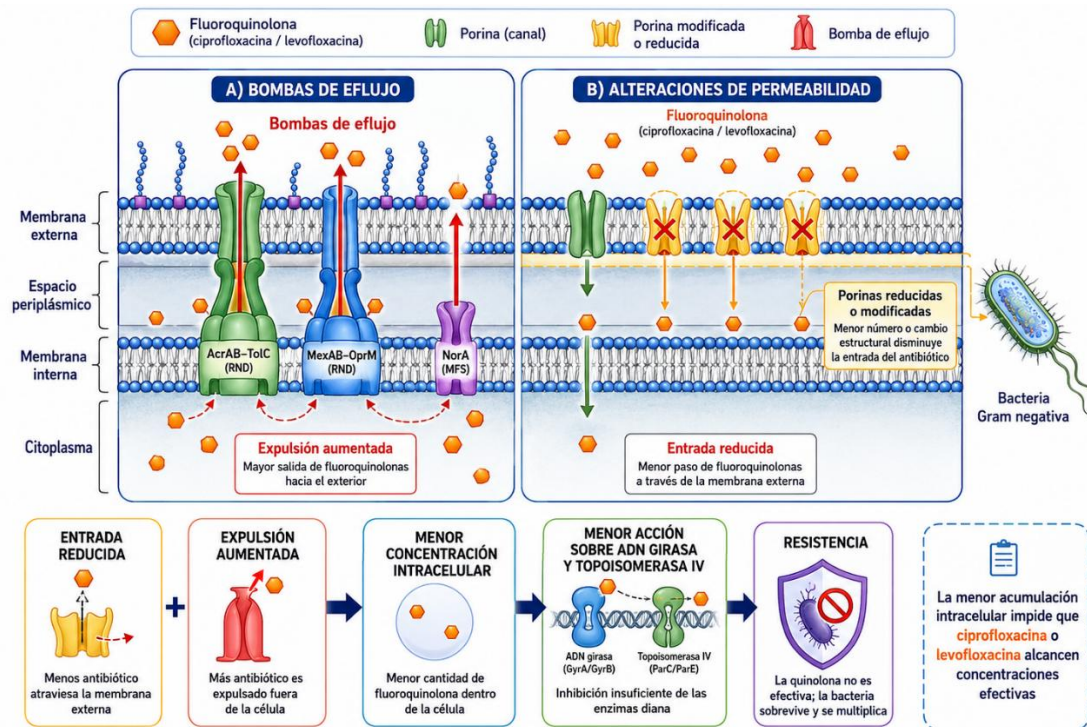


Figura 3. Resistencia a quinolonas por disminución de la acumulación intracelular. La resistencia a quinolonas también puede producirse cuando la concentración intracelular del antibiótico disminuye por dos mecanismos complementarios: aumento de la expulsión mediante bombas de eflujo y reducción de la entrada por alteraciones en porinas o permeabilidad de la membrana externa. En bacterias Gram negativas, estos procesos impiden que ciprofloxacina o levofloxacina alcancen concentraciones suficientes en el citoplasma para inhibir de forma eficaz a la ADN girasa y a la

topoisomerasa IV. (Caliskan-Aydogan & Alocilja, 2023; Elbehiry & Marzouk, 2025; Shariati et al., 2022).

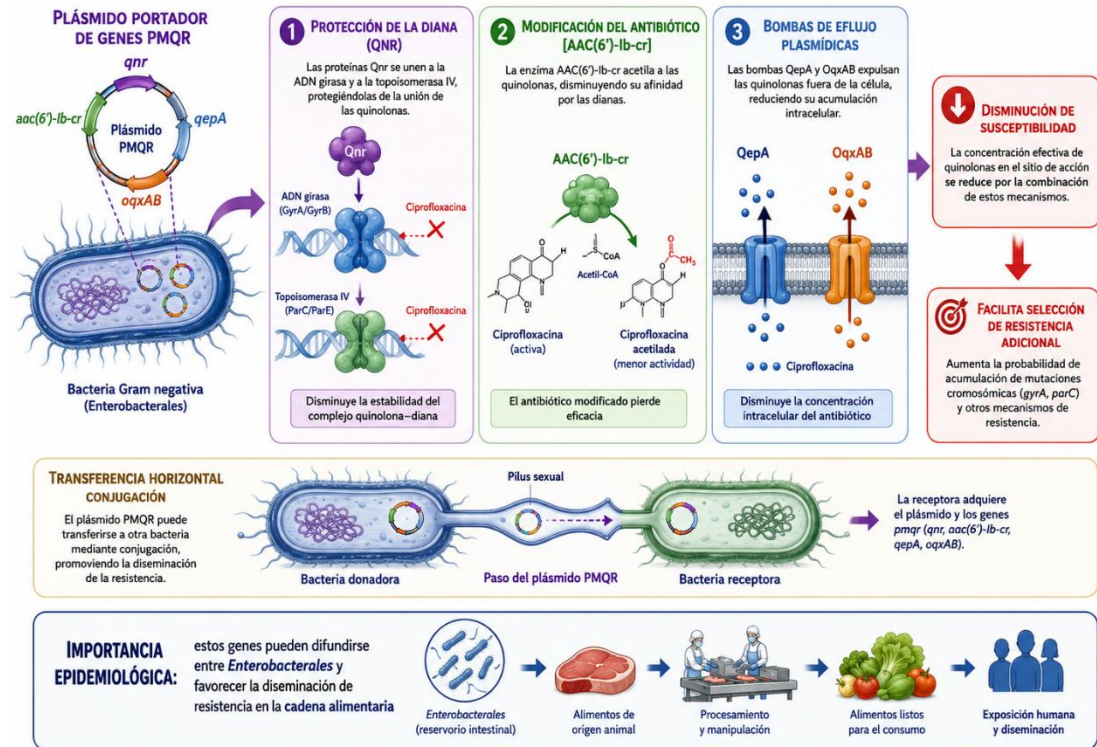


Figura 4. Resistencia a quinolonas por mecanismos plasmídicos.

Los mecanismos plasmídicos de resistencia a quinolonas, conocidos como PMQR, incluyen genes como *qnr*, *aac(6')-Ib-cr*, *qepA* y *oqxAB*. Las proteínas Qnr protegen a la ADN girasa y a la topoisomerasa IV frente a la acción de las quinolonas; la enzima AAC(6')-Ib-cr modifica por acetilación algunas fluoroquinolonas, como ciprofloxacina, reduciendo su actividad; y las bombas QepA/OqxAB disminuyen la acumulación intracelular del antimicrobiano. Aunque estos mecanismos suelen conferir resistencia de bajo nivel, su importancia epidemiológica radica en que se localizan en plásmidos transferibles y pueden diseminarse entre *Enterobacteriales* mediante transferencia horizontal. (Elbehiry & Marzouk, 2025; Michaelis & Grohmann, 2023; Shariati et al., 2022).

Los mecanismos plasmídicos de resistencia a quinolonas, conocidos como PMQR, tienen especial relevancia porque pueden transferirse horizontalmente entre bacterias. A diferencia de las mutaciones QRDR, los PMQR suelen conferir resistencia de bajo nivel, pero favorecen la supervivencia bacteriana en presencia de quinolonas y facilitan la selección posterior de mutaciones cromosómicas. Además, los genes PMQR pueden coexistir en el mismo plásmido con genes de resistencia a betalactámicos, aminoglucósidos, sulfonamidas o tetraciclinas, generando bacterias con perfiles multirresistentes (Liang et al., 2025; Michaelis & Grohmann, 2023).

2.2.4.2. Resistencia a betalactámicos

Los betalactámicos constituyen una de las familias antimicrobianas más utilizadas en medicina humana y veterinaria y se incluyen penicilinas, cefalosporinas, monobactámicos y carbapenémicos. Tienen un anillo betalactámico en su estructura, el cual es indispensable para la unión a las proteínas fijadoras de penicilina. En el caso de las penicilinas y cefalosporinas, los genes *blaTEM* y *blaCTX-M* se relacionan directamente con resistencia frente a estos antimicrobianos (Castanheira et al., 2021; Husna et al., 2023).

Las penicilinas interfieren con la síntesis de la pared celular, aunque algunas penicilinas naturales o aminopenicilinas pueden perder eficacia frente a bacilos Gram negativos productores de betalactamasas, mientras que, al usarse en combinación con inhibidores, como amoxicilina/ácido clavulánico, se restablece la actividad frente a enzimas sensibles al inhibidor. Las cefalosporinas, por su parte, se organizan por generaciones y presentan diferencias en espectro, estabilidad frente a betalactamasas y actividad frente a Gram negativos. Las cefalosporinas de tercera generación, como cefotaxima y ceftazidima, tienen especial importancia porque las BLEE, particularmente CTX-M, pueden hidrolizarlas y generar resistencia clínica (Jacobs et al., 2024).

El mecanismo de acción de los betalactámicos se basa en la inhibición de las proteínas fijadoras de penicilina, especialmente transpeptidasas involucradas en el entrecruzamiento del peptidoglicano. Al unirse de forma covalente a estas enzimas, los

betalactámicos impiden la maduración de la pared celular bacteriana, producen inestabilidad osmótica y favorecen la lisis bacteriana. Si el antibiótico es hidrolizado por una betalactamasa antes de alcanzar su diana, o si disminuye su entrada por la membrana externa, el efecto terapéutico se reduce de forma significativa (Montaner et al., 2023).

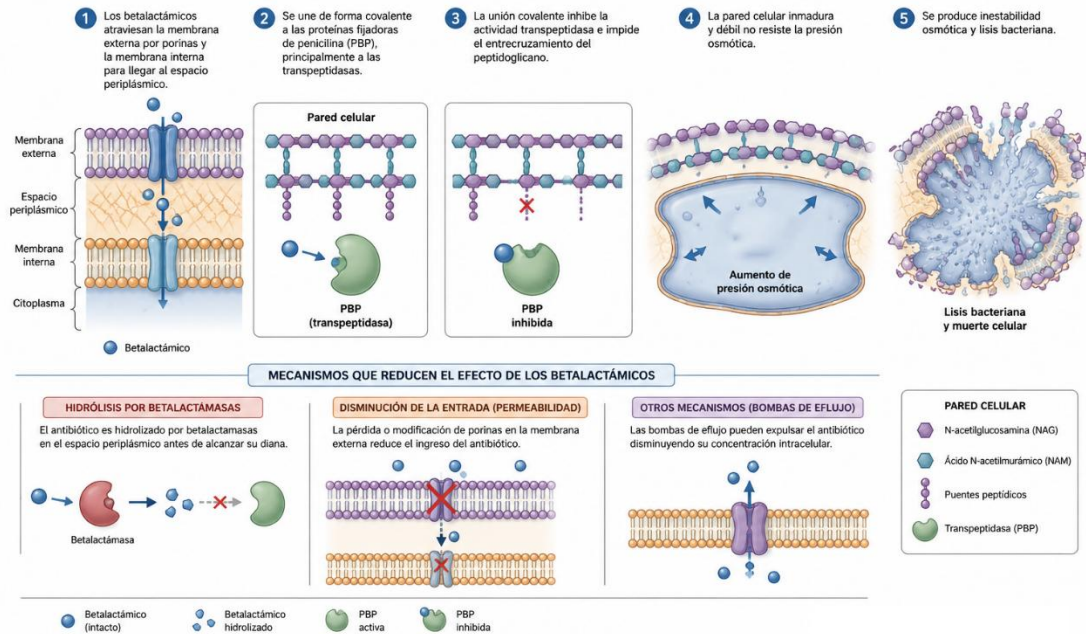


Figura 5. Mecanismo de acción de los betalactámicos y mecanismos que reducen su efecto antibacteriano.

Los antibióticos betalactámicos atraviesan la membrana externa de las bacterias Gram negativas a través de porinas y alcanzan el espacio periplásmico, donde se unen de forma covalente a las proteínas fijadoras de penicilina (PBP), especialmente transpeptidasas responsables del entrecruzamiento del peptidoglicano. Esta inhibición impide la maduración normal de la pared celular, genera debilidad estructural, inestabilidad osmótica y, finalmente, lisis bacteriana. El efecto terapéutico puede disminuir cuando el antibiótico es hidrolizado por betalactamasas antes de alcanzar su diana, cuando se reduce su ingreso por pérdida o modificación de porinas, o cuando bombas de eflujo disminuyen su concentración intracelular o periplásmica (Montaner et al., 2023).

Las betalactamasas son enzimas bacterianas capaces de hidrolizar el anillo betalactámico y neutralizar la actividad del antimicrobiano, las cuales se dividen en cuatro clases: A, B, C y D. Las clases A, C y D son serin-betalactamasas, porque utilizan un residuo de serina en su sitio activo, mientras que la clase B corresponde a metalobetalactamasas dependientes de zinc. En Enterobacterales, las enzimas de clase A incluyen TEM, SHV, CTX-M y KPC; la clase C comprende principalmente AmpC; la clase B incluye NDM, VIM e IMP; y la clase D agrupa enzimas tipo OXA (Bush, 2023; Jacobs et al., 2024).

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1. Lugar de investigación

El estudio molecular fue desarrollado en el Laboratorio de Biología Molecular de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Técnica de Ambato, Campus Querochaca, cantón Cevallos.

3.2. Tipo de investigación

La investigación fue desarrollada bajo un diseño no experimental de tipo transversal con un alcance descriptivo y correlacional. El diseño no experimental no implica la manipulación de las variables de estudio, por lo que, el investigador se limita a observar el fenómeno a estudiar. Así mismo, el estudio plantea la recolección de datos en un solo momento (estudio transversal) para establecer características importantes del fenómeno estudiado y de ese modo poder describir las posibles tendencias de las variables (alcance descriptivo). Posteriormente se realizaron análisis de asociación entre las variables mediante un patrón predecible (alcance correlacional) (Hernández-Sampieri & Mendoza, 2018).

3.3. Prueba de Hipótesis

Partiendo de la pregunta de investigación: ¿Existe asociación entre la resistencia a quinolonas y betalactámicos y la expresión de factores de virulencia en aislamientos de *Proteus mirabilis* procedentes de carne de pollo?, se planteó la hipótesis de investigación:

H₁: Los aislamientos de *Proteus mirabilis* procedentes de carne de pollo que presentan genes de resistencia a quinolonas y betalactámicos muestran mayor frecuencia o intensidad de factores de virulencia, como hemólisis y motilidad *swarming*, en comparación con aislamientos susceptibles.

3.4. Población o muestra

Para el estudio se usarán 41 cepas de *P. mirabilis* preservadas a -20 °C del laboratorio de Microbiología y Biología Molecular de la Universidad Técnica de Ambato provenientes de 14 centros de expendio registrados y de 23 centros de expendios no registrados del cantón Ambato (Tabla 1). Estas cepas fueron previamente reactivadas y comprobadas para verificar que sean muestras de *P. mirabilis* en buen estado. Se tomaron como referencia aislamientos realizados en estudios previos sobre caracterización fenotípica de *P. mirabilis*, en los que las muestras y cepas fueron conservadas y analizadas en dicho laboratorio (Chicaiza, 2025; Coka, 2023; Medina, 2026).

Tabla 1. *Cepas de Proteus mirabilis aisladas de carne de pollo conservadas en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato.*

Nº	Código IDgen	Código de acceso NCBI	Nombre de la cepa
1.	B331	MN749808.1	NCTC 11938
2.	B333	CP053685.1	MPE5203
3.	B334	LC060912.1	JCM 1669
4.	B350	MW767054.1	PM1
5.	B351	MN546001.1	UFV 131
6.	B352	ON460264.1	BLPS5
7.	B359	CP053685.1	MPE5203
8.	B360	MN749808.1	NCTC 11938
9.	B361	MN749808.1	NCTC 11938
10.	B363	LC060912.1	JCM 1669
11.	B365	MN749808.1	NCTC 11938
12.	B366	MN749808.1	NCTC 11938
13.	B368	CP045538.2	CRE14IB
14.	B369	MN749808.1	NCTC 11938
15.	B371	MN749808.1	NCTC 11938

16.	B372	MN749808.1	NCTC 11938
17.	B373	MN545923.1	UFV 105
18.	B375	CP053718.1	MPE4069
19.	B382	MN749808.1	NCTC 11938
20.	B385	MN749808.1	NCTC 11938
21.	B388	MN749808.1	NCTC 11938
22.	B389	MN749808.1	NCTC 11938
23.	B394	MN749808.1	NCTC 11938
24.	B395	MN749808.1	NCTC 11938
25.	B397	LC060912.1	JCM 1669
26.	B408	MN749808.1	NCTC 11938
27.	B414	CP053719.1	MPE0346
28.	B417	CP046048.1	HN2p
29.	B420	KY964505.1	10B
30.	B423	MN749808	NCTC 11938
31.	B425	MN749808.1	NCTC 11938
32.	B427	MN749810.1	ATCC 29906
33.	B428	CP046048.1	HN2p
34.	B433	CP046048.1	HN2p
35.	B434	KY856935.1	FR207
36.	B435	MN749808.1	NCTC 11938
37.	B440	CP053718.1	MPE4069
38.	B441	CP053685.1	MPE5203
39.	B442	MN749808.1	NCTC 11938
40.	B455	MN749808.1	NCTC 11938
41.	B483	MH084809.1	ADY23

Nota: Elaboración propia a partir del informe A-309.4 del proyecto de “Identificación molecular de microorganismos – Universidad Técnica de Ambato”.

3.5. Recolección de información

3.5.1. Reactivación e identificación de cepas de *Proteus mirabilis*

Las muestras fueron procesadas mediante técnicas microbiológicas convencionales. Se realizó enriquecimiento, siembra en medios selectivos o diferenciales y selección de colonias compatibles con *Proteus* spp. Posteriormente, se aplicaron pruebas bioquímicas orientativas, como movilidad (*swarming*), fermentación de lactosa y otras pruebas de identificación de enterobacterias.

3.5.2. Preparación de una mastermix para la PCR

Para la amplificación de los genes *gyrA*, *aac* (6')-Ib-cr, *blaTEM* y *blaCTX-M* en los aislados de *P. mirabilis* se utilizaron los primers mostrados en la tabla 2. Posteriormente, se realizó PCR para detectar genes asociados con resistencia a quinolonas y betalactámicos.

Para la amplificación de cada gen, se preparó una mezcla de reacción o *master mix* de acuerdo con las concentraciones y volúmenes establecidos en la Tabla 3. Posteriormente, se distribuyeron 23 µL de esta mezcla en cada uno de los microtubos de PCR previamente rotulados.

Tabla 2. *Primers utilizados para amplificar los genes *gyrA*, *aac* (6')-Ib-cr, *blaTEM* y *blaCTX-M* en los aislados de *Proteus mirabilis*.*

Gen de resistencia	Primers	Secuencia del primer	Tamaño del amplicón (pb)	Referencia
<i>gyrA</i>	<i>gyrA F</i>	TGGATTATGCGATGTCGGTCAT	937	(Das et al., 2023)
	<i>gyrA R</i>	TTTGGCGTCAACTTCCACTTC		
	<i>blaTEM F</i>	ATAAAATTCTTGAAGACGAAA		

blaTEM	blaTEM R	R-GACAGTTACCAATGCTTAATC	800	Ahmed & Shimamoto (2015)
	blaCTXM F	CGCTTTGCGATGTGCAG		Das et al. (2023)
blaCTXM	blaCTXM R	ACCGCGATATCGTTGGT	550	
aac	aac F aac R	TTGCGATGCTCTATGAGTGGCTA CTCGAATGCCTGGCGTGTTT	482	Park et al. (2006)

A cada tubo se añadieron 2 µL de ADN molde correspondiente a cada aislamiento de *P. mirabilis*, obteniéndose un volumen final de reacción de 25 µL por muestra. Este procedimiento se realizó de manera independiente para cada gen evaluado, manteniendo las mismas condiciones de preparación y evitando la contaminación cruzada entre muestras. Como control negativo de la reacción, se preparó un tubo adicional que contenía 23 µL de master mix y 2 µL de agua libre de nucleasas en sustitución del ADN molde. Finalmente, todos los microtubos fueron colocados en el termociclador para el desarrollo del programa de amplificación correspondiente.

Los productos amplificados fueron separados mediante electroforesis en gel de agarosa, teñidos con SYBR Safe, y visualizados mediante transiluminador.

Tabla 3. Preparación del master mix para PCR en base a la dilución de primers (*gyrA*, *aac* (6')-Ib-cr, *blaTEM* y *blaCTX-M*) y ADN de muestras de *P. mirabilis*

Etapas	Componente / reactivo	Preparación o concentración	N.º de reacciones	Volumen por reacción (µL)	Volumen total (µL)
Dilución de primers	Primer forward y primer	45 µL de H ₂ O pura + 5 µL de cada primer			50 µL de primers diluidos

	reverse 1/10				
	para cada gen				
Preparación de <i>master mix</i>	Green Taq polimerasa	Listo para uso	33	12,5	412,5
Preparación de <i>master mix</i>	Primer forward diluido	Dilución 1/10	33	1	33
Preparación de <i>master mix</i>	Primer reverse diluido	Dilución 1/10	33	1	33
Preparación de <i>master mix</i>	H ₂ O libre de nucleasas	Estéril, libre de nucleasas	33	7	231
Preparación de <i>master mix</i>	MgCl ₂	Según concentración del reactivo	33	1,5	49,5
Volumen final de <i>master mix</i>				23	759
Preparación de cada microtubo	<i>Master mix</i>	Mezcla preparada	1	23	
Preparación de cada microtubo	ADN molde de muestra de <i>P. mirabilis</i>	ADN bacteriano extraído	1	2	
Volumen final por microtubo para PCR				25	

Tomado de (Gómez, 2024)

3.5.3. Condiciones de PCR convencional

Una vez preparada la mezcla de reacción y añadido el ADN molde correspondiente, los microtubos fueron colocados en el termociclador para la amplificación mediante PCR convencional. Para cada gen evaluado se trabajó con un volumen final de reacción de 25 μ L, compuesto por 23 μ L de *master mix* y 2 μ L de ADN bacteriano. Adicionalmente, se incluyó un control negativo, preparado con agua libre de nucleasas en sustitución del ADN molde, con el propósito de verificar la ausencia de contaminación durante el proceso de amplificación.

La amplificación de los genes de resistencia se realizó en el termociclador C1000 Touch™ CFX96, Bio-Rad, disponible en el Laboratorio de Biología Molecular. Se emplearon programas para cada gen de forma individual, debido a las diferencias en las condiciones óptimas de amplificación de cada marcador molecular. Los perfiles fueron adaptados de (Gómez, 2024; Pazmiño, 2024) (Fig. 6).

Para la amplificación del gen *gyrA*, el programa inició con una desnaturalización inicial a 95 °C durante 3 minutos seguido de 30 ciclos de amplificación conformados por desnaturalización a 95 °C durante 45 segundos, anillamiento a 56 °C durante 45 segundos y extensión a 72 °C durante 90 segundos. Finalmente, se aplicó una extensión final a 72 °C durante 10 minutos, con el propósito de completar la síntesis de los fragmentos amplificados.

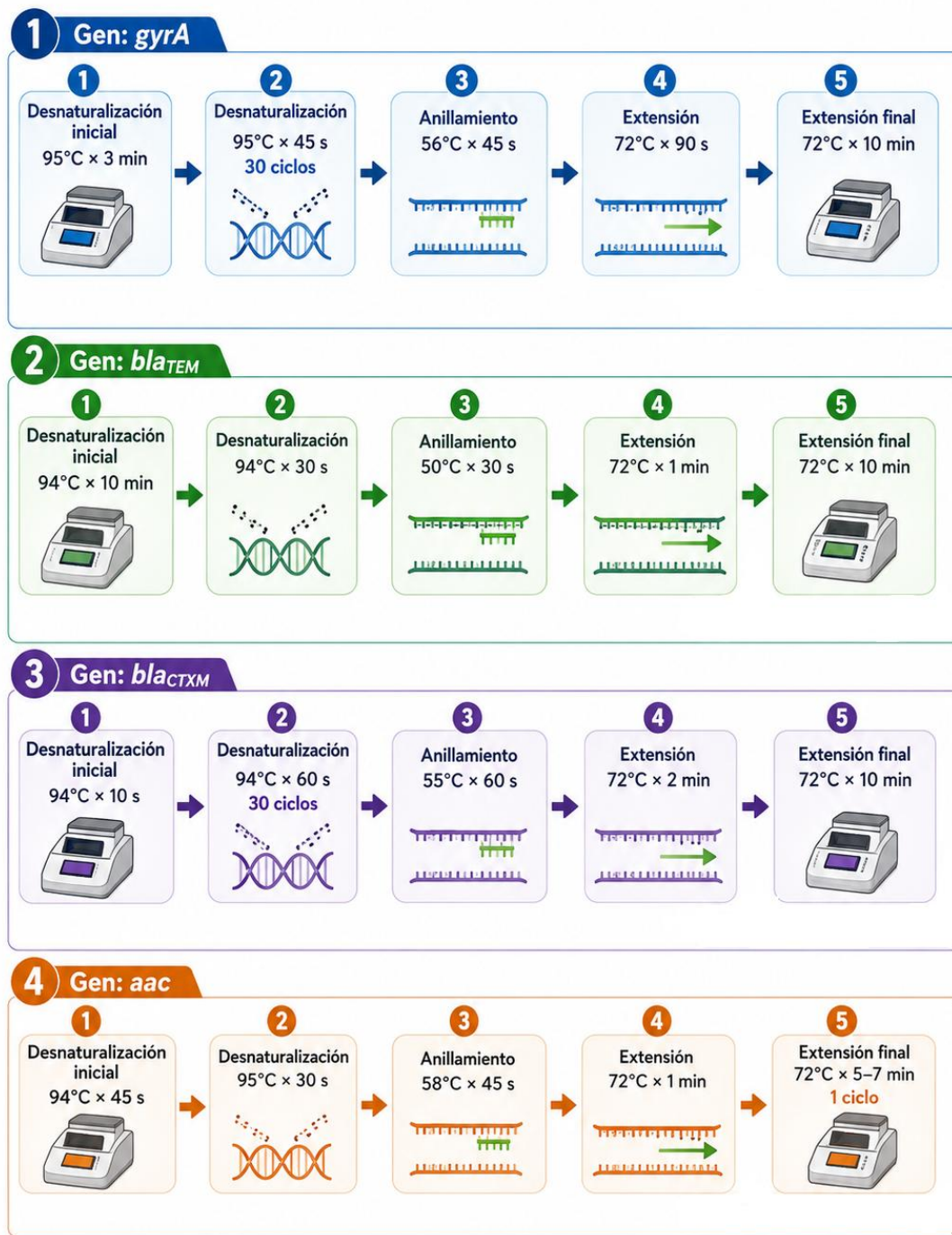


Figura 6. Condiciones de los genes de resistencia para PCR.

Para la amplificación del gen *blaTEM*, el programa inició con una desnaturalización inicial a 94 °C durante 10 minutos. A continuación, se desarrolló la fase cíclica de amplificación, conformada por desnaturalización a 94 °C durante 30 segundos, anillamiento a 50 °C durante 30 segundos y extensión a 72 °C durante 1 minuto. El proceso concluyó con una extensión final a 72 °C durante 10 minutos, con la finalidad de asegurar la elongación completa de los productos de PCR.

Para la amplificación del gen *blaCTX-M*, se utilizó un programa térmico que inició con una desnaturalización inicial a 94 °C durante 10 segundos. Posteriormente, se realizaron 30 ciclos compuestos por desnaturalización a 94 °C durante 60 segundos, anillamiento a 55 °C durante 60 segundos y extensión a 72 °C durante 2 minutos. Finalmente, se aplicó una extensión final a 72 °C durante 10 minutos, con el fin de completar la amplificación del fragmento esperado.

Para la amplificación del gen *aac (6')-Ib-cr*, el programa inició con una desnaturalización inicial a 94 °C durante 45 segundos. Luego, se desarrolló la fase de amplificación conformada por desnaturalización a 95 °C durante 30 segundos, anillamiento a 58 °C durante 45 segundos y extensión a 72 °C durante 1 minuto. Finalmente, se aplicó una extensión final a 72 °C durante 5 a 7 minutos, correspondiente al ciclo final de elongación de los productos amplificados.

Una vez finalizada la amplificación de cada gen, los productos de PCR fueron conservados para su posterior análisis mediante electroforesis en gel de agarosa, con el propósito de verificar la presencia de bandas específicas de acuerdo con el tamaño esperado de cada amplicón.

3.5.4. Electroforesis horizontal en gel de agarosa

Una vez finalizada la amplificación mediante PCR convencional de las muestras correspondientes a los genes *gyrA*, *aac (6')-Ib-cr*, *blaTEM* y *blaCTX-M*, los productos obtenidos fueron analizados mediante electroforesis horizontal en gel de agarosa (Fig. 7).



Figura 7. Procedimiento para electroforesis en gel de agarosa.

Para ello, se preparó un gel de agarosa al 1 %, siguiendo las recomendaciones metodológicas descritas por Srivastava et al. (2025). Previamente, el buffer TAE fue diluido con agua destilada hasta obtener una concentración de trabajo 1X, la cual fue empleada tanto para la preparación del gel como para el desarrollo de la corrida electrofórica.

Para la elaboración del gel, se pesó 1 g de agarosa y se disolvió en 100 mL de buffer TAE 1X. La mezcla fue calentada en un horno de microondas mediante pulsos cortos de aproximadamente 30 segundos, hasta lograr la completa disolución de la agarosa. Posteriormente, el matraz fue agitado suavemente hasta obtener una solución homogénea y, una vez alcanzada una temperatura adecuada para su manipulación, se incorporó el agente intercalante correspondiente para la visualización del ADN. A continuación, la solución fue vertida cuidadosamente en el soporte de electroforesis previamente armado con el peine colocado en la ranura central, evitando la formación de burbujas y procurando una distribución uniforme del gel. El gel se dejó solidificar durante aproximadamente 20 minutos.

Después de la solidificación, se retiró cuidadosamente el peine, quedando formados los pocillos destinados a la carga de las muestras. El gel fue colocado en la cubeta de electroforesis y cubierto con buffer TAE 1X hasta alcanzar el nivel recomendado para la corrida. Posteriormente, se cargaron 5 µL de cada producto de PCR en los pocillos correspondientes. En el primer pocillo se colocó el marcador de peso molecular, con un rango aproximado de 200 a 1000 pb, mientras que en el último pocillo se cargó el control negativo, constituido por agua libre de nucleasas, con el propósito de verificar la ausencia de contaminación durante el proceso de amplificación.

Finalmente, la cubeta fue cerrada y conectada a la fuente de poder. La corrida electroforética se realizó a 80 voltios durante un periodo aproximado de una a una hora y media. Una vez concluida la migración de los fragmentos, el gel fue retirado de la cubeta y llevado al transiluminador Bio-Rad para la visualización y registro de las bandas amplificadas, de acuerdo con el tamaño esperado para cada gen evaluado.

3.5.5. Factores de virulencia

La fase correspondiente a la relación entre la resistencia antibiótica de *P. mirabilis* y los factores de virulencia se evaluó mediante una revisión de literatura científica disponible, tomando como base los resultados obtenidos en los objetivos específicos 1 y 2. Para ello, se consideró la frecuencia de detección de los genes de resistencia a quinolonas (*gyrA* y *aac* (6')-Ib-cr) y a betalactámicos (*bla*TEM y *bla*CTX-M) identificados en los aislamientos analizados. Posteriormente, estos hallazgos fueron contrastados con evidencia bibliográfica actual sobre la asociación entre resistencia antimicrobiana, hemólisis y motilidad tipo swarming en *P. mirabilis*, con el propósito de interpretar el posible vínculo entre los determinantes genéticos de resistencia y los factores de virulencia de importancia clínica, veterinaria y epidemiológica.

3.6. Procesamiento de la información y análisis estadístico

La información fue organizada en una base de datos en Microsoft Excel y posteriormente fue analizada usando el programa estadístico SPSS. Para comparar la

frecuencia de detección de los genes de resistencia evaluados, las variables fueron codificadas de forma dicotómica, considerando como positivo la presencia de amplificación y como negativo la ausencia de una banda específica. Debido a que los cuatro genes fueron evaluados en los mismos 41 aislamientos de *P. mirabilis*, se aplicó la prueba Q de Cochran, recomendada para realizar comparaciones de proporciones pareadas en más de dos variables dicotómicas. Cuando se detectaron diferencias, se realizaron comparaciones post hoc mediante la prueba exacta de McNemar entre pares de genes, aplicando corrección de Holm para controlar el error por comparaciones múltiples.

3.7. Variables respuesta

La presencia o ausencia de genes asociados con resistencia a quinolonas y β -lactámicos, la cual fue determinada mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en los aislados de *Proteus mirabilis* obtenidos de carne de pollo. Se evaluaron los genes *gyrA* y *aac(6')-Ib-cr*, relacionados con resistencia a quinolonas, así como los genes *blaTEM* y *blaCTX-M*, asociados con resistencia a antibióticos β -lactámicos. La variable se expresó de forma cualitativa, registrándose la presencia (+) o ausencia (–) de cada uno de los genes en las 41 muestras analizadas.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Determinación de genes de resistencia a quinolonas (*gyrA* y *aac*) en *Proteus mirabilis* aislados de carne de pollo

En la amplificación del gen *gyrA* se observó la presencia de bandas específicas con un tamaño aproximado de 937 pb en la mayoría de los aislamientos analizados, evidenciando la presencia de esta secuencia genética en las cepas estudiadas. Asimismo, el control negativo no mostró señales de amplificación, lo que confirmó la especificidad de la reacción y la ausencia de contaminación durante el procedimiento experimental (Fig. 8).

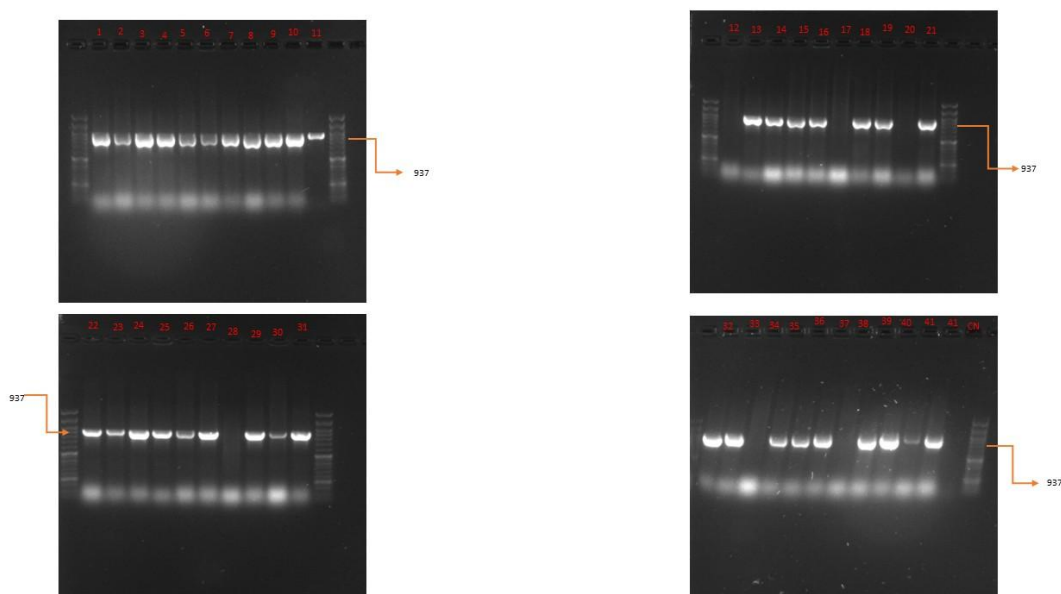


Figura 8. Perfil electroforético de los productos amplificados mediante PCR para el gen *gyrA*, asociado con resistencia a quinolonas, en aislamientos de *Proteus mirabilis* obtenidos de carne de pollo. M: marcador de peso molecular; CN: control negativo.

Por otra parte, la amplificación del gen *aac* produjo fragmentos de aproximadamente 482 pb en varios de los aislamientos evaluados, lo que indica la existencia de determinantes genéticos asociados con mecanismos plasmídicos de resistencia a quinolonas. Se observó variabilidad en la intensidad de las bandas entre las diferentes muestras, aunque las señales positivas fueron claramente distinguibles y se localizaron en la posición correspondiente al tamaño esperado del amplicón. El control negativo permaneció sin amplificación, validando nuevamente la confiabilidad de la técnica empleada (Fig. 9).

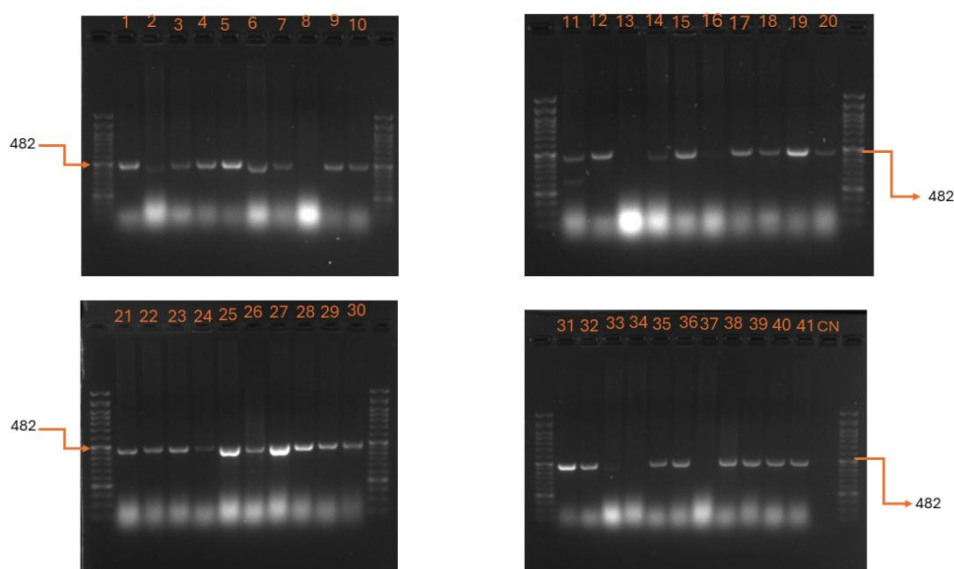


Figura 9. Perfil electroforético de los productos amplificados mediante PCR para el gen *aac*, asociado con resistencia a quinolonas, en aislamientos de *Proteus mirabilis* obtenidos de carne de pollo. M: marcador de peso molecular; CN: control negativo.

Con base en los resultados, se evidenció una elevada frecuencia de genes asociados con resistencia a quinolonas en los aislamientos de *P. mirabilis* obtenidos de carne de pollo (Tabla 4). Del total de 41 cepas analizadas, 35 (85,37 %) presentaron amplificación del gen *gyrA*, mientras que 33 aislamientos (80,49 %) fueron positivos para el gen *aac*.

Tabla 4. Detección de los genes de resistencia a quinolonas *gyrA* y *aac* en aislamientos de *Proteus mirabilis* procedentes de carne de pollo.

Aislamiento	Nombre del gen	
	<i>gyrA</i>	<i>aac</i>
1	+	+
2	+	+
3	+	+
4	+	+
5	+	+
6	+	+
7	+	+
8	+	—
9	+	+
10	+	+
11	+	+
12	—	+
13	+	—
14	+	+
15	+	+
16	+	—
17	—	+
18	+	+
19	+	+
20	—	—
21	+	+
22	+	+
23	+	+
24	+	+
25	+	—
26	+	+
27	+	+
28	—	+
29	+	+
30	+	+
31	+	+
32	+	+
33	+	—
34	—	+
35	+	+
36	+	—
37	+	+
38	—	+
39	+	+
40	+	+
41	+	—

Porcentaje de cepas positivas	85,37	80,49
CN	—	—

La distribución de ambos genes mostró que la mayoría de los aislamientos portaron simultáneamente *gyrA* y *aac*. En total, 29 cepas (70,73 %) fueron positivas para ambos genes, lo que indica la coexistencia de mecanismos cromosómicos y plasmídicos asociados con la resistencia a quinolonas. Asimismo, se identificaron seis aislamientos (12,20 %) positivos únicamente para *gyrA* (aislamientos 8, 13, 16, 25, 33, 36 y 41), mientras que cinco cepas (12,20 %) presentaron exclusivamente el gen *aac* (aislamientos 12, 17, 28, 34 y 38). Solamente un aislamiento (2,44 %), correspondiente al aislamiento 20, no presentó ninguno de los genes analizados.

La elevada detección del gen *gyrA* en los aislamientos analizados sugiere la presencia generalizada de uno de los principales genes diana de las quinolonas en *P. mirabilis*, sin embargo, este resultado no es concluyente, debido a que este gen forma parte del genoma bacteriano y codifica una subunidad esencial de la enzima ADN girasa, la cual interviene en el mantenimiento de la topología del ADN durante la replicación (Weigel et al., 2002). La resistencia a fluoroquinolonas se asocia principalmente con mutaciones puntuales en la región determinante de resistencia a quinolonas, conocida como QRDR, especialmente en *gyrA*, *gyrB*, *parC* y *parE* (Abdelkreem et al., 2020; Weigel et al., 2002). En consecuencia, la confirmación de la presencia de mutaciones asociadas con resistencia requiere la realización de pruebas con PCR que incluya la secuenciación del amplicón o con pruebas fenotípicas de susceptibilidad antimicrobiana.

Por otra parte, la alta frecuencia de *aac* (6')-Ib-cr representa un potencial problema epidemiológico debido a su implicación en la resistencia a quinolonas. La enzima *Aac* (6')-Ib-cr puede provocar la disminución de la actividad antibacteriana de las fluoroquinolonas, como ciprofloxacina y norfloxacina, por acetilación. Aunque este mecanismo suele conferir resistencia de bajo nivel, su importancia radica en que puede favorecer la supervivencia bacteriana bajo presión antimicrobiana y facilitar la selección posterior de mutaciones cromosómicas en las regiones QRDR (Gharbi et al., 2023). Además, al encontrarse frecuentemente asociado con plásmidos u otros elementos genéticos móviles, puede transferirse horizontalmente entre bacterias Gram negativas, incrementando el riesgo de diseminación de determinantes de resistencia en ambientes clínicos, veterinarios, alimentarios y comunitarios (Gharbi et al., 2023).

4.2. Identificación de genes de resistencia a betalactámicos (*blactxm* y *blatem*) en *Proteus mirabilis* aislados de carne de pollo

En la amplificación del gen *blactxm*, se observó la presencia de bandas específicas de aproximadamente 550 pb en varios de los aislamientos analizados. La intensidad de las bandas fue variable entre las muestras, identificándose aislamientos con amplificación claramente definida y otros sin evidencia de producto de PCR, lo que indica una distribución heterogénea de este determinante genético entre las cepas estudiadas. Los controles negativos no presentaron bandas de amplificación, lo que confirma la especificidad de la reacción y descarta contaminación durante el proceso experimental (Fig. 10).

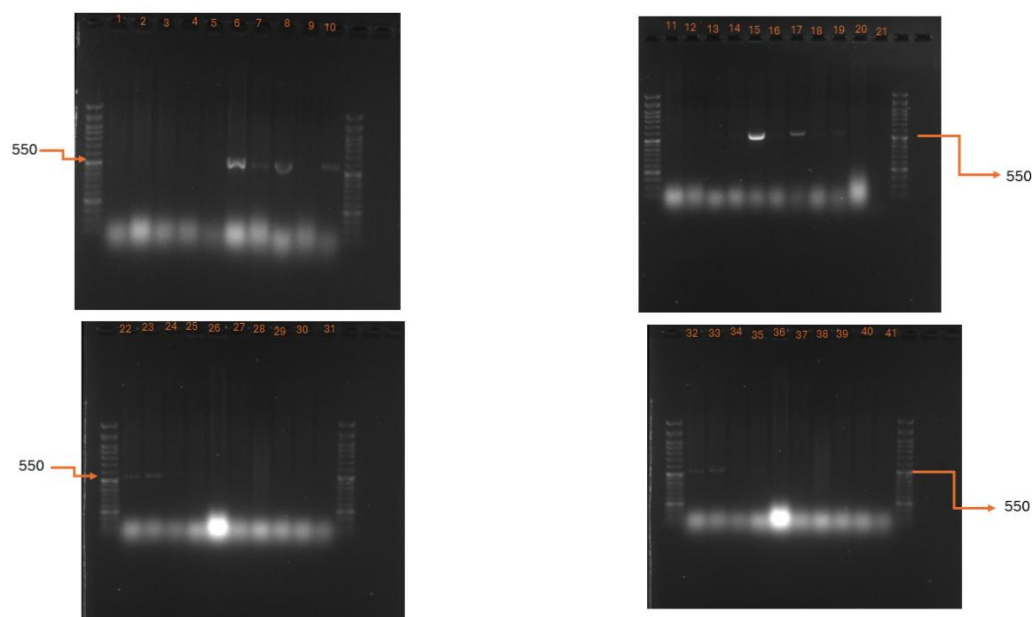


Figura 10. Perfil electroforético de los productos amplificados mediante PCR para el gen *blaCTXM*, asociado con resistencia a betalactámicos, en aislamientos de *Proteus mirabilis* obtenidos de carne de pollo. M: marcador de peso molecular; CN: control negativo.

Por otra parte, la amplificación del gen *blaTEM* produjo fragmentos de aproximadamente 800 pb. En los geles de electroforesis se evidenciaron bandas específicas en un elevado número de aislamientos, observándose una mayor frecuencia de detección en comparación con el gen *blaCTXM* (Fig. 11). Las bandas positivas presentaron una adecuada definición y correspondieron al tamaño esperado del amplicón, mientras que los controles negativos permanecieron sin amplificación.

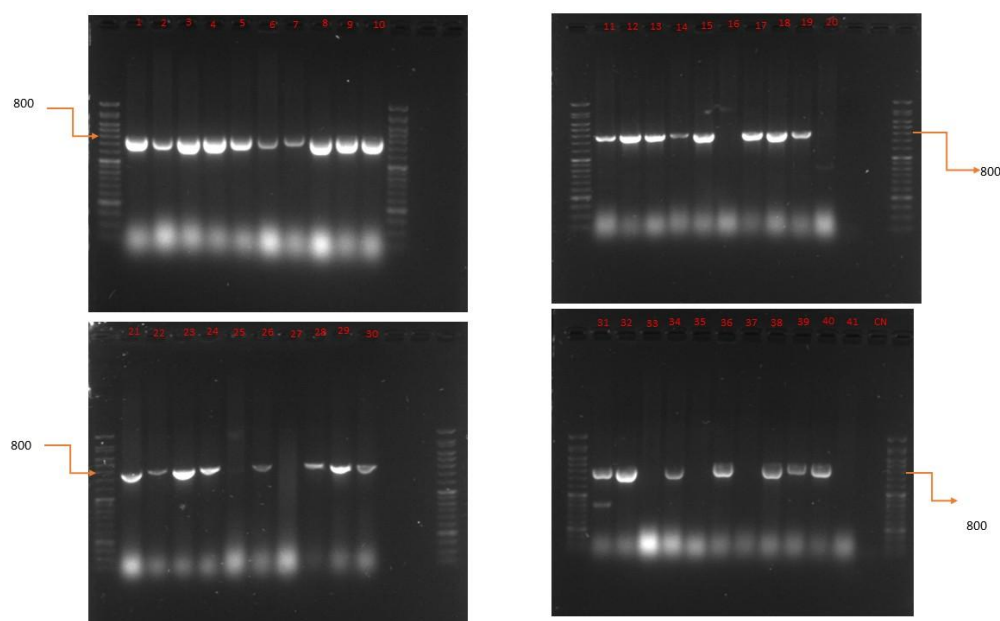


Figura 11. Perfil electroforético de los productos amplificados mediante PCR para el gen *blaTEM*, asociado con resistencia a betalactámicos, en aislamientos de *Proteus mirabilis* obtenidos de carne de pollo. M: marcador de peso molecular; CN: control negativo.

Adicionalmente, se observó una alta frecuencia de genes asociados con resistencia a antibióticos β -lactámicos en los aislamientos de *P. mirabilis* obtenidos de carne de pollo (Tabla 5). Del total de 41 cepas analizadas, 33 (80,49 %) presentaron amplificación del gen *blaTEM*, mientras que 24 aislamientos (58,54 %) fueron positivos para el gen *blaCTX-M*. El control negativo no mostró productos de amplificación para ninguno de los genes evaluados, lo que confirma la especificidad y confiabilidad de las reacciones de PCR.

Tabla 5. *Detección de los genes de resistencia a betalactámicos blatem y blactxm en aislamientos de Proteus mirabilis procedentes de carne de pollo.*

Aislamiento	Nombre del gen	
	<i>blatem</i>	<i>blactxm</i>
1	+	—
2	+	—
3	+	—
4	+	—
5	+	—
6	+	+
7	+	+
8	+	+
9	+	—
10	+	+
11	+	—
12	+	—
13	+	+
14	+	+
15	+	+
16	—	+
17	+	+
18	+	+
19	+	+
20	—	—
21	+	—
22	+	+
23	+	+
24	+	+
25	—	+
26	+	—
27	—	—
28	+	—
29	+	+
30	+	—
31	+	+
32	+	+
33	—	+
34	+	+
35	—	+
36	+	—
37	—	+
38	+	—
39	+	+
40	+	—

41	–	+
Porcentaje de cepas positivas	80,49	58,54
CN	–	–

La distribución de ambos genes reveló que 18 aislamientos (43,90 %) portaban simultáneamente *bla*TEM y *bla*CTX-M, evidenciando la coexistencia de diferentes mecanismos de resistencia a β -lactámicos en una proporción importante de las cepas estudiadas. Por otra parte, 15 aislamientos (36,59 %) fueron positivos únicamente para *bla*TEM, mientras que seis cepas (14,63 %) presentaron exclusivamente el gen *bla*CTX-M. Solamente dos aislamientos (4,88 %), correspondientes a los aislamientos 20 y 27, no mostraron amplificación para ninguno de los genes analizados.

La elevada prevalencia del gen *bla*TEM observada en el presente estudio evidencia una amplia distribución de β -lactamasas tipo TEM entre los aislamientos de *Proteus mirabilis* procedentes de carne de pollo. Las enzimas TEM han sido descritas históricamente como uno de los mecanismos adquiridos más frecuentes de resistencia a β -lactámicos en bacterias Gram negativas, incluyendo *P. mirabilis*. Estas β -lactamasas pueden hidrolizar principalmente penicilinas y, dependiendo de la variante alélica, algunas cefalosporinas, lo que limita la eficacia de antimicrobianos utilizados en infecciones de importancia clínica y veterinaria (Dini, 2026). En este sentido, la detección de *bla*TEM en 80,49 % de las cepas analizadas sugiere una importante presión selectiva y una posible circulación de determinantes genéticos de resistencia en la cadena avícola.

Aunque el gen *bla*CTX-M presentó una frecuencia menor que *bla*TEM, su detección en 58,54 % de los aislamientos posee una mayor relevancia clínica y epidemiológica, debido a que las enzimas CTX-M pertenecen al grupo de las β -lactamasas de espectro extendido (BLEE). Estas enzimas se caracterizan por hidrolizar cefalosporinas de tercera generación, especialmente cefotaxima, y se han convertido en uno de los principales mecanismos de resistencia a β -lactámicos en Enterobacterales. En *P. mirabilis*, la presencia de *bla*CTX-M ha sido documentada tanto en aislamientos

clínicos como en cepas procedentes de carne y productos animales, lo que confirma su capacidad para circular entre diferentes reservorios.

Los resultados obtenidos son consistentes con estudios recientes que han identificado a la carne de pollo como una matriz de riesgo para la diseminación de *P. mirabilis* resistente. Sanches et al. (2023) reportaron aislamientos de *P. mirabilis* productores de *ESBL/AmpC* en carne de pollo, cerdo, res e infecciones urinarias comunitarias, observándose los mayores perfiles de multirresistencia en los aislamientos de carne de pollo. De manera similar, Ma et al. (2022) identificaron *P. mirabilis* en carne y productos acuáticos de mercados minoristas, con alta diversidad genética, elevada frecuencia de multirresistencia y presencia de genes de importancia clínica, incluyendo el gen *blaCTX-M*.

La coexistencia de *blaTEM* y *blaCTX-M* en una proporción importante de los aislamientos también debe analizarse desde el enfoque de Una Salud. En el presente estudio, 18 cepas portaron simultáneamente ambos genes, lo que sugiere la posible acumulación de diferentes mecanismos de resistencia a β -lactámicos en un mismo aislamiento (López et al., 2025). Esta condición puede favorecer perfiles multirresistentes, especialmente cuando estos genes se encuentran asociados con plásmidos, transposones, integrones u otros elementos genéticos móviles (Hossain et al., 2026).

En comparación con otros estudios, la frecuencia de *blaTEM* encontrada en esta investigación fue superior a la reportada por (Sarwar et al., 2025) en *P. mirabilis* procedente de fuentes animales y ambientales, quienes detectaron *blaTEM* en 25,67 % y *blaCTX-M* en 49 % de los aislamientos. No obstante, la frecuencia de *blaCTX-M* observada en el presente estudio fue cercana a la reportada en investigaciones realizadas en carnes de aves, lo que refuerza la importancia de la cadena de producción y expendio de pollo como posible escenario de selección y diseminación de cepas resistentes. Las diferencias observadas podrían ser atribuidas al origen de las muestras, la presión selectiva de cada región, las características genéticas de las cepas circulantes

y a las prácticas de manejo, que incluyen el uso de antimicrobianos, las condiciones de faenamiento y las prácticas de higiene.

Desde el punto de vista epidemiológico, la detección de *blaCTX-M* en más de la mitad de los aislamientos representa un hecho relevante, ya que las BLEE se asocian con la resistencia a cefalosporinas de amplio espectro y, con frecuencia, se encuentran acompañadas de genes de resistencia a otros grupos antimicrobianos como quinolonas, aminoglucósidos, sulfonamidas y tetraciclinas. Por ello, la presencia simultánea de genes de resistencia a β -lactámicos y quinolonas en *P. mirabilis* aislado de carne de pollo sugiere que estos alimentos podrían participar en la circulación de bacterias multirresistentes o de sus determinantes genéticos (Bedenić et al., 2025; Girlich et al., 2020). Estos hallazgos muestran evidencias sobre la circulación de mecanismos genéticos asociados con la resistencia a antibióticos β -lactámicos de importancia clínica y veterinaria, lo que sugiere que estas cepas podrían constituir reservorios potenciales de determinantes de resistencia con capacidad de diseminación entre microorganismos de interés en salud pública.

El análisis estadístico evidenció diferencias significativas en la frecuencia de detección de los cuatro genes evaluados (Q de Cochran = 10,03; gl = 3; p = 0,018) (Tabla 6). El gen *gyrA* presentó la mayor frecuencia de detección, con 35 aislamientos positivos de 41 analizados (85,37 %), seguido de *aac (6')-Ib-cr* y *blaTEM*, ambos con 33 aislamientos positivos (80,49 %), mientras que el gen *blaCTX-M* mostró la menor frecuencia, con 24 aislamientos positivos (58,54 %) (Tabla 7). En las comparaciones pareadas, la diferencia más relevante se observó entre *gyrA* y *blaCTX-M*, manteniéndose significativa después de la corrección de Holm ($p_{ajustada}$ = 0,044) (Tabla 8). Estos resultados indican que, aunque los cuatro genes circularon entre los aislamientos estudiados, el gen *blaCTX-M* presentó una frecuencia significativamente menor en comparación con *gyrA*.

Tabla 6. Comparación global de la frecuencia de detección de los cuatro genes mediante Q de Cochran

Prueba estadística	Variables comparadas	n	Estadístico	gl	Valor p
Q de Cochran	<i>gyrA</i> , <i>aac (6')-Ib-cr</i> , <i>blaTEM</i> y <i>blaCTX-M</i>	41	10,03	3	0,018

Tabla 7. Frecuencia de detección de genes de resistencia en aislamientos de *Proteus mirabilis* procedentes de carne de pollo

Gen evaluado	Grupo antimicrobiano asociado	Cepas positivas (n)	Cepas negativas (n)	Frecuencia positiva (%)
<i>gyrA</i>	Quinolonas	35	6	85,37
<i>aac (6')-Ib-cr</i>	Quinolonas	33	8	80,49
<i>blaTEM</i>	Betalactámicos	33	8	80,49
<i>blaCTX-M</i>	Betalactámicos	24	17	58,54

Tabla 8. Comparaciones pareadas entre genes mediante prueba exacta de McNemar con corrección de Holm

Comparación pareada	Gen 1 positivo/Gen 2 negativo	Gen 1 negativo/Gen 2 positivo	Valor p	Valor p ajustado
<i>gyrA</i> vs. <i>aac (6')-Ib-cr</i>	7	5	0,774	1,000 ^{ns}
<i>gyrA</i> vs. <i>blaTEM</i>	7	5	0,774	1,000 ^{ns}
<i>gyrA</i> vs. <i>blaCTX-M</i>	13	2	0,007	0,044*
<i>aac (6')-Ib-cr</i> vs. <i>blaTEM</i>	3	3	1,000	1,000 ^{ns}
<i>aac (6')-Ib-cr</i> vs. <i>blaCTX-M</i>	15	6	0,078	0,392 ^{ns}
<i>blaTEM</i> vs. <i>blaCTX-M</i>	15	6	0,078	0,392 ^{ns}

4.3. Relación entre la resistencia antibiótica de *Proteus mirabilis* y los factores de virulencia (hemolisinas y efecto *swarming*)

De los 41 aislamientos analizados, 14 cepas fueron positivas simultáneamente para los cuatro genes de resistencia evaluados, lo que representa el 34,15 %. Dentro de este grupo, 12/14 cepas fueron hemolíticas, equivalentes al 85,71 %, mientras que 4/14 presentaron efecto *swarming*, correspondientes al 28,57 %. Además, cuatro cepas (B375, B382, B389 y B427) presentaron simultáneamente los cuatro genes de resistencia, hemólisis y efecto *swarming* (Tabla 9).

Tabla 9. Cepas de *Proteus mirabilis* positivas simultáneamente para los cuatro genes de resistencia y su relación con hemólisis y efecto *swarming*

Aislamiento	Código IDgen	Nombre de la cepa	<i>gyrA</i>	<i>aac</i> (6')- <i>Ib-cr</i>	<i>blaTEM</i>	<i>blaCTX-M</i>	Hemólisis	Efecto <i>swarming</i>
6	B352	BLPS5	+	+	+	+	—	—
7	B359	MPE5203	+	+	+	+	+	—
10	B363	JCM 1669	+	+	+	+	—	—
14	B369	NCTC 11938	+	+	+	+	+	—
15	B371	NCTC 11938	+	+	+	+	+	—
18	B375	MPE4069	+	+	+	+	+	+
19	B382	NCTC 11938	+	+	+	+	+	+
22	B389	NCTC 11938	+	+	+	+	+	+
23	B394	NCTC 11938	+	+	+	+	+	—
24	B395	NCTC 11938	+	+	+	+	+	—
29	B420	10B	+	+	+	+	+	—
31	B425	NCTC 11938	+	+	+	+	+	—
32	B427	ATCC 29906	+	+	+	+	+	+
39	B442	NCTC 11938	+	+	+	+	+	—

Estos resultados evidenciaron que una alta proporción de cepas, además de mostrar genes de resistencia, también presentaron actividad hemolítica, lo que sugiere la

coexistencia de determinantes genéticos de resistencia antimicrobiana con factores asociados al daño celular. En contraste, el efecto *swarming* se observó en una menor proporción de las cepas positivas para los cuatro genes, lo que indica que la presencia de un perfil multigénico de resistencia no siempre está asociado con la expresión del efecto *swarming*. No obstante, las cepas B375, B382, B389 y B427 presentaron simultáneamente los cuatro genes de resistencia, hemólisis y efecto *swarming*, por lo que representan aislamientos de especial interés epidemiológico debido a la coexistencia de resistencia a quinolonas, resistencia a β -lactámicos y factores fenotípicos de virulencia.

La patogenicidad de *P. mirabilis* está determinada por la interacción coordinada de múltiples factores de virulencia y mecanismos de resistencia antimicrobiana, cuya coexistencia incrementa la capacidad de adaptación, supervivencia y persistencia del microorganismo tanto en el ambiente como en el hospedador. Diversos estudios han demostrado que la expresión de factores de virulencia y la adquisición de genes de resistencia constituyen procesos estrechamente relacionados, lo que favorece la emergencia de cepas con mayor potencial patógeno y relevancia epidemiológica (Filipiak et al., 2020; Mohammadi et al., 2025).

La alta frecuencia de genes asociados con resistencia a quinolonas y β -lactámicos observada en el presente estudio demuestran la circulación de múltiples mecanismos de resistencia en cepas de *P. mirabilis* aisladas de carne de pollo y sugieren que estos microorganismos podrían constituir un importante reservorio de genes de resistencia con potencial impacto en la salud animal y humana.

Entre los principales factores de virulencia de *P. mirabilis* destaca la motilidad tipo *swarming*, el cual permite a la bacteria colonizar nuevas superficies y facilita la invasión tisular, desempeñando un papel fundamental en el establecimiento y progresión de las infecciones (Chakkour et al., 2024; Hasona et al., 2026). Este fenómeno consiste en la diferenciación de células vegetativas cortas en células elongadas e hiperflageladas capaces de desplazarse coordinadamente sobre superficies

sólidas. Durante este proceso se produce una regulación simultánea de numerosos genes relacionados con la patogenicidad, incluyendo aquellos responsables de la producción de ureasa, proteasas, hemolisinas, adhesinas y formación de biopelículas (Salama et al., 2025).

Estudios recientes han demostrado que el efecto *swarming* está estrechamente relacionado con la producción de hemolisinas. En este sentido, el efecto *swarming* facilita la colonización rápida de superficies biológicas, como el uroepitelio y, paralelamente, la expresión de hemolisinas, particularmente la HpmA, una toxina perteneciente a la familia RTX (*Repeats in Toxin*), potencia el daño tisular y la obtención de recursos del hospedador. En este contexto, la HpmA no solo actúa mediante la lisis de eritrocitos, sino que también contribuye indirectamente a la disponibilidad de hierro, el cual es un elemento clave para el crecimiento bacteriano y la progresión de la infección (Jamali et al., 2026). En consecuencia, esta característica metabólica tiene importancia relacionada con el tracto urinario, donde el hierro se encuentra altamente limitado debido a su secuestro por proteínas del hospedador, lo cual junto con la actividad hemolítica asociada a HpmA representan una ventaja adaptativa, ya que permite la liberación de hierro y otros nutrientes esenciales, incrementando así la actividad bacteriana y favoreciendo tanto la supervivencia como la expansión poblacional durante el proceso infeccioso.

Estudios previos han demostrado que la expresión de hemolisinas y la diferenciación hacia el estado *swarming* están coordinadas a nivel genético y fisiológico, sugiriendo la existencia de redes regulatorias que sincronizan la movilidad con la expresión de factores de daño. Esta coordinación permite que las células en estado *swarmer*, altamente móviles e invasivas, no solo se desplacen eficientemente sobre superficies, sino que simultáneamente expresen determinantes de virulencia que facilitan la invasión tisular y la evasión de respuestas del hospedador (Schaffer & Pearson, 2015). Con base en estos hallazgos, se demuestra que, además de la actividad citotóxica de las hemolisinas, esta también incrementa la capacidad adaptativa de la bacteria al mejorar la adquisición de nutrientes durante el proceso infeccioso (Mohammadi et al., 2025).

Adicionalmente, la relación entre los factores de virulencia y la resistencia antimicrobiana ha sido descrita por diversos autores. Estudios con cepas clínicas de *P. mirabilis* encontraron una asociación significativa entre la presencia de múltiples determinantes de virulencia y perfiles de multirresistencia, demostrándose que la producción de biopelículas y la expresión de factores relacionados con la motilidad favorecieron la persistencia bacteriana y aumentaron la tolerancia frente a los antimicrobianos (Filipiak et al., 2020). De manera similar, Elhoshi et al. (2023) demostraron que los aislamientos multirresistentes de *P. mirabilis* estuvieron relacionados con una mayor frecuencia en la actividad hemolítica y el efecto *swarming*. Estas características proporcionan ventajas adaptativas a las bacterias debido a que les confieren mayores niveles de sobrevivencia en ambientes sometidos a presión selectiva por efecto del uso de productos antimicrobianos, lo que sugiere una estrecha relación entre los mecanismos de resistencia y los factores de virulencia.

Por otra parte, la elevada detección del gen *aac* (6')-Ib-cr tiene una marcada relevancia epidemiológica, debido a que constituye uno de los principales mecanismos plasmídicos de resistencia a quinolonas. Este gen codifica una enzima aminoglucósido acetiltransferasa bifuncional capaz de modificar aminoglucósidos y, además, acetilar determinadas fluoroquinolonas, especialmente ciprofloxacina y norfloxacina, reduciendo su actividad antibacteriana y favoreciendo una menor susceptibilidad. Aunque este mecanismo suele conferir resistencia de bajo nivel, su importancia radica en que proporciona una ventaja adaptativa inicial que puede facilitar la selección posterior de mutaciones cromosómicas en las regiones QRDR de *gyrA*, *gyrB*, *parC* o *parE*, incrementando progresivamente los niveles de resistencia a fluoroquinolonas (Kariuki et al., 2023).

La importancia de este gen radica en que este se localiza en plásmidos u otros elementos genéticos móviles, lo que favorece su diseminación horizontal entre Enterobacterales de origen clínico, ambiental o alimentario. Kariuki et al. (2023) reportaron que *aac* (6')-Ib-cr fue el determinante PMQR más frecuente en aislamientos no susceptibles a ciprofloxacina de *E. coli* y *Klebsiella* spp., y además observaron

coportación con otros genes PMQR, como *qnrB* o *qnrS*, fenómeno asociado con el aumento de las concentraciones mínimas inhibitorias y mayor riesgo de falla terapéutica. De igual manera, Vázquez et al. (2022) demostraron que los genes PMQR pueden encontrarse en plásmidos movilizables y asociados con secuencias de inserción, lo que favorece su circulación entre bacterias de diferentes orígenes y países.

De manera similar, la alta frecuencia de los genes *blaTEM* y *blaCTX-M* sugiere una amplia circulación de β -lactamasas entre los aislamientos estudiados. Las enzimas codificadas por estos genes constituyen uno de los mecanismos más importantes de resistencia a β -lactámicos en Enterobacterales, ya que hidrolizan penicilinas y cefalosporinas, reduciendo la eficacia terapéutica de antimicrobianos ampliamente utilizados en infecciones urinarias, heridas y otros procesos bacterianos (Hasona et al., 2026a). En particular, las β -lactamasas CTX-M pertenecen al grupo de las β -lactamasas de espectro extendido (BLEE), con actividad relevante frente a cefotaxima y otras cefalosporinas de espectro expandido. Su importancia epidemiológica se relaciona con su diversidad alélica, su amplia distribución mundial y su frecuente asociación con plásmidos, secuencias de inserción e integrones, capaces de transportar simultáneamente genes de resistencia a β -lactámicos, aminoglucósidos, sulfonamidas, trimetoprim y fluoroquinolonas (Fakorede et al., 2023).

Esto coincide con los resultados de Bedenić et al. (2025), quienes demostraron la presencia de BLEE tipo CTX-M y β -lactamasas AmpC mediadas por plásmidos en aislamientos hospitalarios y comunitarios de *P. mirabilis*. Los autores reportaron que los aislamientos productores de BLEE portaban genes *blaCTX-M* y, además, identificaron *blaTEM-1* como β -lactamasa adicional en varios aislamientos. Esto confirma que *P. mirabilis* puede acumular múltiples determinantes de resistencia, incluyendo genes asociados con aminoglucósidos, sulfonamidas, trimetoprim, cloranfenicol, tetraciclinas y fluoroquinolonas. Asimismo, la detección de *aac (6')-Ib-cr* en aislamientos portadores de *blaCTX-M-65* evidencia la posible coexistencia de resistencia a β -lactámicos y fluoroquinolonas dentro de un mismo perfil multirresistente. Además, observaron que todos los aislamientos evaluados presentaron

actividad ureasa, hemólisis y motilidad, factores vinculados con la patogenicidad de *P. mirabilis*.

Aunque la relación entre el efecto *swarming* y la resistencia antimicrobiana continúa siendo objeto de estudio, algunos autores han descrito una asociación compleja entre ambos procesos. Por un lado, Filipiak et al. (2020) observaron que las cepas susceptibles de *P. mirabilis* presentaban con mayor frecuencia una motilidad *swarming*, mientras que las cepas resistentes mostraban predominantemente una menor capacidad de expansión sobre agar, lo que sugirió que la motilidad no necesariamente está asociada con la expresión de mayores niveles de resistencia antimicrobiana. En este sentido, Auer et al. (2019) demostraron que las células *swarmer* de *P. mirabilis* pueden experimentar modificaciones estructurales en el peptidoglicano, lo que disminuye la rigidez celular, incrementando su susceptibilidad a ciertos antibióticos que actúan sobre la pared bacteriana, posiblemente debido al elevado costo energético asociado con la expresión simultánea de múltiples mecanismos de defensa.

Finalmente, la alta frecuencia de genes asociados con resistencia a quinolonas y β -lactámicos observada en este estudio, junto con la presencia de factores de virulencia como la hemólisis y el efecto *swarming*, pone de manifiesto el potencial patógeno de los aislamientos de *P. mirabilis* procedentes de carne de pollo. De ese modo, la coexistencia de estas características podría favorecer la supervivencia bacteriana, incrementar la capacidad de colonización y facilitar la diseminación de cepas resistentes a través de la cadena alimentaria.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES, RECOMENDACIONES, BIBLIOGRAFÍA, ANEXOS.

5.1. Conclusiones

- a. Se encontró una alta frecuencia de genes asociados con resistencia a quinolonas en los aislamientos de *Proteus mirabilis* procedentes de carne de pollo, con una frecuencia del 85,37 % del gen *gyrA*, mientras que el gen *aac (6')-Ib-cr* fue identificado en el 80,49 % de las muestras. Estos resultados evidencian que existe una amplia circulación de determinantes genéticos vinculados con resistencia a quinolonas en los aislamientos estudiados.
- b. También se identificó una alta frecuencia de genes relacionados con resistencia a betalactámicos, siendo el gen *blaTEM* detectado en el 80,49 % de las muestras analizadas, mientras que *blaCTX-M* se identificó en el 58,54 %. Además, 18 aislamientos, correspondientes al 43,90 %, portaron simultáneamente ambos genes. Estos hallazgos indican que los aislamientos de *P. mirabilis* procedentes de carne de pollo constituyen un reservorio importante de β -lactamasas, incluidas β -lactamasas tipo TEM y CTX-M, estas últimas asociadas con fenotipos BLEE de importancia clínica, veterinaria y epidemiológica.
- c. Con respecto a la relación entre la resistencia antibiótica de *P. mirabilis* y los factores de virulencia, se demostró la coexistencia de factores genéticos de resistencia antimicrobiana y los factores de virulencia en las cepas analizadas, particularmente en lo relativo a la presencia hemolisinas y efecto *swarming*. Esto sugiere que los aislamientos de *P. mirabilis* procedentes de carne de pollo no solo poseen genes asociados con resistencia a quinolonas y betalactámicos, sino también rasgos fenotípicos vinculados con colonización, diseminación y daño tisular.

5.2. Recomendaciones

- a. Se sugiere complementar la detección del gen *gyrA* con secuenciación de la región QRDR, debido a que la amplificación por PCR confirma la presencia del gen, pero no permite determinar mutaciones puntuales responsables de resistencia a quinolonas. De igual manera, sería conveniente secuenciar los amplicones de *blaTEM* y *blaCTX-M* para identificar variantes alélicas específicas y establecer su relevancia epidemiológica.
- b. Se recomienda reforzar las buenas prácticas de higiene en centros de expendio de carne de pollo, especialmente en lo relacionado con limpieza de superficies, separación de alimentos crudos y cocidos, lavado de manos, desinfección de utensilios, mantenimiento de cadena de frío y educación sanitaria de manipuladores. Estas medidas son esenciales para reducir el riesgo de contaminación cruzada y exposición a bacterias resistentes.
- c. Finalmente, se recomienda promover el uso racional de antimicrobianos en la medicina veterinaria y producción animal, evitando tratamientos empíricos innecesarios y fortaleciendo la toma de decisiones basada en cultivo, antibiograma y criterios clínicos. La reducción de presión selectiva es fundamental para limitar la emergencia y diseminación de bacterias resistentes en animales, alimentos y ambientes.

5.3. Bibliografía

- Abdelkreem, R. H., Yousuf, A. M., Elmekki, M. A., & Elhassan, M. M. (2020). DNA Gyrase and Topoisomerase IV Mutations and their effect on Quinolones Resistant *Proteus mirabilis* among UTIs Patients. *Pakistan Journal of Medical Sciences*, 36(6), 1234–1240. <https://doi.org/10.12669/pjms.36.6.2207>
- Adeolu, M., Alnajar, S., Naushad, S., & S. Gupta, R. (2016). Genome-based phylogeny and taxonomy of the ‘Enterobacteriales’: proposal for Enterobacterales ord. nov. divided into the families Enterobacteriaceae, Erwiniaceae fam. nov., Pectobacteriaceae fam. nov., Yersiniaceae fam. nov., Hafniaceae fam. nov., Morganellaceae fam. nov., and Budviciaceae fam. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66(12), 5575–5599. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001485>
- Afifi, M., Abdelrazek, M., Nasr, Y., Amasha, M., Shoela, E., Shalaby, R., Aboelyazid, Y., Aboelyazid, S., Nasr, D., Zaki, S. G., Mohamed, A. M., Mohamed, S., Mohamed, M. F., Morsy, G. A. M. K., & Badr, M. A. E. A. (2025). *Proteus mirabilis* in ICU Patients: Prevalence, Risk Factors, and Future Expectations of Bloodstream Infections. *Cureus*, 17(8), e91083. <https://doi.org/10.7759/cureus.91083>
- Agga, G. E., & Amenu, K. (2024). Antimicrobial resistance in food-producing environments: a One Health approach. *Frontiers in Antibiotics*, 3, 1436987. <https://doi.org/10.3389/frabi.2024.1436987>
- Ahmed, A. M., & Shimamoto, T. (2015). Molecular characterization of multidrug-resistant *Shigella* spp. of food origin. *International Journal of Food Microbiology*, 194, 78–82. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.11.013>
- Algammal, A. M., Hashem, H. R., Alfifi, K. J., Hetta, H. F., Sheraba, N. S., Ramadan, H., & El-Tarabili, R. M. (2021). atpD gene sequencing, multidrug resistance traits, virulence-determinants, and antimicrobial resistance genes of emerging XDR and MDR-*Proteus mirabilis*. *Scientific Reports*, 11(1), 9476. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-88861-w>

- Ali, A. S., Al-Samarrai, H. K., Khdhair, O. A., Al-Shamari, A. K., & Abd Ali, H. H. (2026). Virulence Factor and Antimicrobial Susceptibility Patterns of *Proteus mirabilis* Strains Isolated from Patients with Urinary Tract Infections at a Tertiary Care Hospital in Hilla City. *Israa University Journal of Applied Science*, 9, 2–14. <https://doi.org/10.52865/NELZ3369>
- Alqurashi, E., Elbanna, K., Ahmad, I., & Abulreesh, H. H. (2022). Antibiotic resistance in *Proteus mirabilis*: Mechanism, status, and public health significance. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 16(3), 1550–1561. <https://doi.org/10.22207/JPAM.16.3.59>
- Auer, G. K., Oliver, P. M., Rajendram, M., Lin, T.-Y., Yao, Q., Jensen, G. J., & Weibel, D. B. (2019). Bacterial Swarming Reduces *Proteus mirabilis* and *Vibrio parahaemolyticus* Cell Stiffness and Increases β -Lactam Susceptibility. *MBio*, 10(5). <https://doi.org/10.1128/mBio.00210-19>
- Bedenić, B., Luxner, J., Zarfel, G., Grisold, A., Dobrić, M., Đuras-Cuculić, B., Kasalo, M., Bratić, V., Dobretzberger, V., & Barišić, I. (2025). First Report of CTX-M-32 and CTX-M-101 in *Proteus mirabilis* from Zagreb, Croatia. *Antibiotics*, 14(5), 462. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14050462>
- Belay, W. Y., Getachew, M., Tegegne, B. A., Teffera, Z. H., Dagne, A., Zeleke, T. K., Abebe, R. B., Gedif, A. A., Fenta, A., Yirdaw, G., Tilahun, A., & Aschale, Y. (2024). Mechanism of antibacterial resistance, strategies and next-generation antimicrobials to contain antimicrobial resistance: a review. *Frontiers in Pharmacology*, 15, 1444781. <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1444781>
- Bertolini, A. B., Prado, A. M., Thyssen, P. J., de Souza Ribeiro Mioni, M., de Gouvea, F. L. R., da Silva Leite, D., Langoni, H., de Figueiredo Pantoja, J. C., Rall, V. M., Guimarães, F. F., Joaquim, S. F., Guerra, S. T., Hernandez, R. T., Lucheis, S. B., & Ribeiro, M. G. (2022). Prevalence of bovine mastitis-related pathogens, identified by mass spectrometry in flies (Insecta, Diptera) captured in the milking environment. *Letters in Applied Microbiology*, 75(5), 1232–1245. <https://doi.org/10.1111/lam.13791>
- Bush, K. (2023). Classification for β -lactamases: historical perspectives. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 21(5), 513–522. <https://doi.org/10.1080/14787210.2023.2194633>

- Caliskan-Aydogan, O., & Alocilja, E. C. (2023). A Review of Carbapenem Resistance in Enterobacterales and Its Detection Techniques. *Microorganisms*, 11(6), 1491. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11061491>
- Castañeda-Barba, S., Top, E. M., & Stalder, T. (2024). Plasmids, a molecular cornerstone of antimicrobial resistance in the One Health era. *Nature Reviews Microbiology*, 22(1), 18–32. <https://doi.org/10.1038/s41579-023-00926-x>
- Castanheira, M., Simner, P. J., & Bradford, P. A. (2021). Extended-spectrum β -lactamases: an update on their characteristics, epidemiology and detection. *JAC-Antimicrobial Resistance*, 3(3), dlab092. <https://doi.org/10.1093/jacamr/dlab092>
- Chakkour, M., Hammoud, Z., Farhat, S., El Roz, A., Ezzeddine, Z., & Ghssein, G. (2024). Overview of *Proteus mirabilis* pathogenicity and virulence: Insights into the role of metals. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1383618. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1383618>
- Chalmers, G., Anderson, R. E. V., Murray, R., Topp, E., & Boerlin, P. (2023). Characterization of *Proteus mirabilis* and associated plasmids isolated from anaerobic dairy cattle manure digesters. *PLOS ONE*, 18(8), e0289703. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0289703>
- Chicaiza, V. (2025). “*Detección de las hemolisinas HpmA y HpmB en Proteus mirabilis como un importante factor de virulencia* [Tesis de Grado]. Universidad Técnica de Ambato.
- Chowdhury, G., Majumdar, T., Modi, D., Dolma, K. G., Chaliha Hazarika, S., Sarmah, P., Das, S., Mukhopadhyay, A. K., Ojha, A. K., Das, M., & Ramamurthy, T. (2026). Description on the prevalence of *Proteus mirabilis* through an integrated sampling framework for health, food, and environment in Northeast India and an integrative review with reference to one health context. *Frontiers in Microbiology*, 16, 1708233. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1708233>
- Coka, C. (2023). “*Evaluación de antibiorresistencia de cepas de Proteus spp. aisladas en carne de pollo en la Ciudad de Ambato, Provincia de Tungurahua* [Tesis de grado]. Universidad Técnica de Ambato.
- Das, T., Nath, C., Das, P., Ghosh, K., Logno, T. A., Debnath, P., Dash, S., Devnath, H. S., Das, S., & Islam, M. Z. (2023). High prevalence of ciprofloxacin

- resistance in *Escherichia coli* isolated from chickens, humans and the environment: An emerging one health issue. *PLOS ONE*, 18(11), e0294043. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0294043>
- Decôme, M., Cuq, B., Fairbrother, J.-H. L., & Conversy, B. (2020). Clinical significance of *Proteus mirabilis* bacteriuria in dogs, risk factors and antimicrobial susceptibility. *The Canadian Journal of Veterinary Research*, 84, 252–258.
- Dini, I. (2026). Mechanisms of Bacterial Resistance and Innovative Strategies to Overcome Antimicrobial Resistance. *Antibiotics*, 15(3), 319. <https://doi.org/10.3390/antibiotics15030319>
- Elbehiry, A., & Marzouk, E. (2025). From farm to fork: antimicrobial-resistant bacterial pathogens in livestock production and the food chain. *Veterinary Sciences*, 12, 862. <https://doi.org/10.3390/vetsci12090862>
- Elhoshi, M., El-Sherbiny, E., Elsheredy, A., & Aboulela, A. G. (2023). A correlation study between virulence factors and multidrug resistance among clinical isolates of *Proteus mirabilis*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 54(3), 1387–1397. <https://doi.org/10.1007/s42770-023-01080-5>
- El-Saeed, B. A., Elshebrawy, H. A., Zakaria, A. I., Abdelkhalek, A., Imre, K., Morar, A., Herman, V., & Sallam, K. I. (2024). Multidrug-Resistant *Proteus mirabilis* and Other Gram-Negative Species Isolated from Native Egyptian Chicken Carcasses. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 9(9), 217. <https://doi.org/10.3390/tropicalmed9090217>
- ElTaweel, M., Said, H. S., & Barwa, R. (2024). Emergence of extensive drug resistance and high prevalence of multidrug resistance among clinical *Proteus mirabilis* isolates in Egypt. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 23(1), 46. <https://doi.org/10.1186/s12941-024-00705-3>
- Fakorede, C. O., Amisu, K. O., Saki, M., & Akinyemi, K. O. (2023). Co-existence of extended-spectrum β -lactamases blaCTX-M-9 and blaCTX-M-15 genes in *Salmonella* species isolated from febrile and diarrhoeagenic patients in Lagos, Nigeria: a cross-sectional study. *European Journal of Medical Research*, 28(1), 3. <https://doi.org/10.1186/s40001-022-00960-0>

- Filipiak, A., Chrapek, M., Literacka, E., Wawszczak, M., Głuszek, S., Majchrzak, M., Wróbel, G., Łysek-Gładysińska, M., Gniadkowski, M., & Adamus-Białek, W. (2020). Pathogenic Factors Correlate With Antimicrobial Resistance Among Clinical *Proteus mirabilis* Strains. *Frontiers in Microbiology*, *11*, 579389. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.579389>
- Fonseca, J. D., Mavrides, D. E., Graham, P. A., & McHugh, T. D. (2021). Results of urinary bacterial cultures and antibiotic susceptibility testing of dogs and cats in the UK. *Journal of Small Animal Practice*, *62*(12), 1085–1091. <https://doi.org/10.1111/jsap.13406>
- Fukuda, D., Powell, D., Mulgirigama, A., Vojtek, I., Ozeki, H., Yoshimoto, D., Iida, H., Johira, N., Kayama, Y., Kawamatsu, S., & Suzuki, S. (2026). Bacterial DNA topoisomerase IV and DNA gyrase inhibitors: history of the quinolones, their clinical usage and potential alternatives for the future. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *81*(3). <https://doi.org/10.1093/jac/dkag054>
- Galgano, M., Pellegrini, F., Catalano, E., Capozzi, L., Del Sambro, L., Sposato, A., Lucente, M. S., Vasinioti, V. I., Catella, C., Odigie, A. E., Tempesta, M., Pratelli, A., & Capozza, P. (2025). Acquired Bacterial Resistance to Antibiotics and Resistance Genes: From Past to Future. *Antibiotics*, *14*(3), 222. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14030222>
- Gharbi, M., Abbas, M. A. S., Hamrouni, S., & Maaroufi, A. (2023). First Report of aac(6')-Ib and aac(6')-Ib-cr Variant Genes Associated with Mutations in gyrA Encoded Fluoroquinolone Resistance in Avian *Campylobacter coli* Strains Collected in Tunisia. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(22), 16116. <https://doi.org/10.3390/ijms242216116>
- Girlich, D., Bonnin, R. A., Dortet, L., & Naas, T. (2020). Genetics of Acquired Antibiotic Resistance Genes in *Proteus* spp. *Frontiers in Microbiology*, *11*, 256. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00256>
- Gómez, D. (2024). *Presencia de genes de resistencia a los antibióticos en Escherichia coli aislada de carne de pollo que se expende en el cantón de Ambato* [Tesis de Maestría]. Universidad Técnica de Ambato.
- Hasona, I. F., Awad, A., Younis, G., & Mohamed, W. F. (2026). A One Health Perspective on *Proteus mirabilis*: The Interaction of Virulence and Antimicrobial

- Resistance Across Human and Animal Reservoirs. *Microorganisms*, 14(2), 444.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms14020444>
- Hassuna, N. A., Kotb, D. N., Lami, M., & Abdelrahim, S. S. (2025). Characterization of antimicrobial resistance among *Proteus mirabilis* isolates from catheter-associated urinary tract infections and non-catheter-associated urinary tract infections in Egypt. *BMC Infectious Diseases*, 25(1), 767.
<https://doi.org/10.1186/s12879-025-11118-8>
- Hernández-Sampieri, R., & Mendoza, C. (2018). *Metodología de la investigación: las rutas cuantitativa, cualitativa y mixta*. McGraw Hill Interamericana Editores S.A.
- Hossain, H., Ali, Md. H., Ahmad, T., Sayeed, S. S. B., Sakib, Md. A. N., Brishty, K. A., Saleh, Md. S. J., Hosen, Md. M., Ahmed, S., Ahmed, S., Chowdhury, Md. S. R., & Rahman, Md. M. (2026). Mobile Genetic Elements as Central Drivers of Antimicrobial Resistance: Molecular Mechanisms, Evolutionary Ecology, One Health Implications and Control Strategies. *Antibiotics*, 15(4), 418.
<https://doi.org/10.3390/antibiotics15040418>
- Husna, A., Rahman, Md. M., Badruzzaman, A. T. M., Sikder, M. H., Islam, M. R., Rahman, Md. T., Alam, J., & Ashour, H. M. (2023). Extended-Spectrum β -Lactamases (ESBL): Challenges and Opportunities. *Biomedicines*, 11(11), 2937.
<https://doi.org/10.3390/biomedicines11112937>
- Jacobs, L. M. C., Consol, P., & Chen, Y. (2024a). Drug Discovery in the Field of β -Lactams: An Academic Perspective. *Antibiotics*, 13(1), 59.
<https://doi.org/10.3390/antibiotics13010059>
- Jacobs, L. M. C., Consol, P., & Chen, Y. (2024b). Drug Discovery in the Field of β -Lactams: An Academic Perspective. *Antibiotics*, 13(1), 59.
<https://doi.org/10.3390/antibiotics13010059>
- Jamali, H., Pereira, T., & Dozois, C. M. (2026). Environmental and Regulatory Control of RTX Toxins in Gram-Negative Pathogens. *Toxins*, 18(1), 27.
<https://doi.org/10.3390/toxins18010027>
- Jańczak, D., Górecki, P., Skrzypek, N., Sobkiewicz, D., Paczocha, M., Chrzanowski, A., Maj, A. K., Stryjek, R., Zasada, A. A., & Golke, A. (2026). Urinalysis and Antimicrobial Susceptibility of Bacteria Isolated from Urine of Dogs and Cats in

- Poland in 2023: Associations Between Urine Parameters and Bacteriuria. *Microbiology Research*, 17(1), 11.
<https://doi.org/10.3390/microbiolres17010011>
- Joseph, A. S., Manjari, C. V. S., Lathakumari, R. H., & Vajravelu, L. K. (2025). Emergence of β -lactamase-producing *Proteus mirabilis* in clinical settings: A genotypic investigation of resistance mechanisms and carbapenemase genes blaNDM-1 and blaKPC-2. *Biotechnology Notes*, 6, 177–182.
<https://doi.org/10.1016/j.biotno.2025.07.001>
- Kareem, S. M., Al-kadmy, I. M., Kazaal, S. S., Mohammed Ali, A. N., Aziz, S. N., Makharita, R. R., Algammal, A. M., Al-Rejaie, S., Behl, T., Batiha, G. E.-S., El-Mokhtar, M. A., & Hetta, H. F. (2021). Detection of gyrA and parC Mutations and Prevalence of Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Genes in *Klebsiella pneumoniae*. *Infection and Drug Resistance*, Volume 14, 555–563.
<https://doi.org/10.2147/IDR.S275852>
- Kariuki, K., Diakhate, M. M., Musembi, S., Tornberg-Belanger, S. N., Rwigy, D., Mutuma, T., Mutuku, E., Tickell, K. D., Soge, O. O., Singa, B. O., Walson, J. L., Pavlinac, P. B., & Kariuki, S. (2023). Plasmid-mediated quinolone resistance genes detected in Ciprofloxacin non-susceptible *Escherichia coli* and *Klebsiella* isolated from children under five years at hospital discharge, Kenya. *BMC Microbiology*, 23(1), 129. <https://doi.org/10.1186/s12866-023-02849-2>
- Langhorne, C., Horsman, S., Wood, C., Clark, R., Price, R., Henning, J., Grewar, J. D., Wood, B. J., Ranjbar, S., McGowan, M. R., & Gibson, J. S. (2024). Bacterial culture and susceptibility test results for clinical mastitis samples from Australia's subtropical dairy region. *Journal of Dairy Science*, 107(2), 1151–1163. <https://doi.org/10.3168/jds.2023-23838>
- Liang, S., Cai, W., Mao, R., Chen, M., Dai, X., Jin, X., & Kong, W. (2025). Three simple and cost-effective assays for AAC(6')-Ib-cr enzyme activity. *Frontiers in Microbiology*, 16, 1513425. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1513425>
- Liu, L., Dong, Z., Ai, S., Chen, S., Dong, M., Li, Q., Zhou, Z., Liu, H., Zhong, Z., Ma, X., Hu, Y., Ren, Z., Fu, H., Shu, G., Qiu, X., & Peng, G. (2023). Virulence-related factors and antimicrobial resistance in *Proteus mirabilis* isolated from domestic and stray dogs. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1141418.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1141418>

- Liu, X. L., Wu, S. Y., & Yu, Z. (2025). Zoonotic Risks of *Proteus mirabilis*: Detection, Pathogenicity, and Antibiotic Resistance in Animals and Animal-Derived Foods. In *Microorganisms* (Vol. 13, Number 9). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI).
<https://doi.org/10.3390/microorganisms13092060>
- Liu, X.-L., Wu, S.-Y., & Yu, Z. (2025). Zoonotic risks of *Proteus mirabilis*: Detection, pathogenicity, and antibiotic resistance in animals and animal-derived foods. *Microorganisms*, 13(9), 2060.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms13092060>
- López, L., Calderón, D., Salinas, L., Graham, J. P., Blount, Z. D., & Trueba, G. (2025). A plasmid with the bla CTX-M gene enhances the fitness of *Escherichia coli* strains under laboratory conditions. *Microbiology (Reading, England)*, 171(1), 001525. <https://doi.org/10.1099/mic.0.001525>
- Ma, W.-Q., Han, Y.-Y., Zhou, L., Peng, W.-Q., Mao, L.-Y., Yang, X., Wang, Q., Zhang, T.-J., Wang, H.-N., & Lei, C.-W. (2022). Contamination of *Proteus mirabilis* harbouring various clinically important antimicrobial resistance genes in retail meat and aquatic products from food markets in China. *Frontiers in Microbiology*, 13, 1086800. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1086800>
- Medina, K. (2026). *Evaluación del efecto swarming en Proteus mirabilis aislado de carne de pollo que se expende en Ambato* [Tesis de Grado]. Universidad Técnica de Ambato.
- Michaelis, C., & Grohmann, E. (2023). Horizontal Gene Transfer of Antibiotic Resistance Genes in Biofilms. *Antibiotics*, 12(2), 328.
<https://doi.org/10.3390/antibiotics12020328>
- Milo, S., Heylen, R. A., Glancy, J., Williams, G. T., Patenall, B. L., Hathaway, H. J., Thet, N. T., Allinson, S. L., Laabei, M., & Jenkins, A. T. A. (2021). A small-molecular inhibitor against *Proteus mirabilis* urease to treat catheter-associated urinary tract infections. *Scientific Reports*, 11(1), 3726.
<https://doi.org/10.1038/s41598-021-83257-2>
- Mirzaei, A., Habibi, M., Bouzari, S., & Karam, M. R. A. (2019). Characterization of antibiotic-susceptibility patterns, virulence factor profiles and clonal relatedness in *proteus mirabilis* isolates from patients with urinary tract infection in Iran.

Infection and Drug Resistance, 12, 3967–3979.

<https://doi.org/10.2147/IDR.S230303>

Mohammadi, M. R., Kiaheyraati, N., Khakpour, M., Fardsanei, F., Hoseini, F. N., Sobhani, S., Zavaraki, M. F., Ejlali, G. K., Alijani, N., & Nikkhahi, F. (2025a). Virulence and Antibiotic Resistance Profiles of *Proteus mirabilis* Strains Isolated From Broiler Chickens: Implications for Poultry and Public Health. *Veterinary Medicine and Science*, 11(6), e70675. <https://doi.org/10.1002/vms3.70675>

Mohammadi, M. R., Kiaheyraati, N., Khakpour, M., Fardsanei, F., Hoseini, F. N., Sobhani, S., Zavaraki, M. F., Ejlali, G. K., Alijani, N., & Nikkhahi, F. (2025b). Virulence and Antibiotic Resistance Profiles of *Proteus mirabilis* Strains Isolated From Broiler Chickens: Implications for Poultry and Public Health. *Veterinary Medicine and Science*, 11(6), e70675. <https://doi.org/10.1002/vms3.70675>

Montaner, M., Lopez-Argüello, S., Oliver, A., & Moya, B. (2023). PBP Target Profiling by β -Lactam and β -Lactamase Inhibitors in Intact *Pseudomonas aeruginosa*: Effects of the Intrinsic and Acquired Resistance Determinants on the Periplasmic Drug Availability. *Microbiology Spectrum*, 11(1), e0303822. <https://doi.org/10.1128/spectrum.03038-22>

Murray, C. J. L., Ikuta, K. S., Sharara, F., Swetschinski, L., Robles Aguilar, G., Gray, A., Han, C., Bisignano, C., Rao, P., Wool, E., Johnson, S. C., Browne, A. J., Chipeta, M. G., Fell, F., Hackett, S., Haines-Woodhouse, G., Kashef Hamadani, B. H., Kumaran, E. A. P., McManigal, B., ... Naghavi, M. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet*, 399(10325), 629–655. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0)

Nissanka, M. C., Dilhari, A., Munasinghe, J. A., Priyadarshana, G., Bandara, K., Munaweera, I., & Weerasekera, M. M. (2025). Decoding *Proteus mirabilis* biofilms: expression of selected virulence genes and association with antibiotic resistance. *BMC Microbiology*, 25(1), 481. <https://doi.org/10.1186/s12866-025-04212-z>

Park, C. H., Robicsek, A., Jacoby, G. A., Sahm, D., & Hooper, D. C. (2006). Prevalence in the United States of *aac*(6')-Ib-cr encoding a ciprofloxacin-modifying enzyme. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50(11), 3953–3955. <https://doi.org/10.1128/AAC.00915-06>

- Pazmiño, A. (2024). *Presencia de genes de resistencia a los antibióticos en Shigella spp. aislada de carne de pollo que se expende en el cantón de Ambato*. [Tesis de Maestría]. Universidad Técnica de Ambato.
- Ramatla, T., Ramaili, T., Lekota, K., Mileng, K., Ndou, R., Mphuthi, M., Khasapane, N., Syakalima, M., & Thekiso, O. (2024). Antibiotic resistance and virulence profiles of *Proteus mirabilis* isolated from broiler chickens at abattoir in South Africa. *Veterinary Medicine and Science*, 10(2), e1371. <https://doi.org/10.1002/vms3.1371>
- Rhouma, M., Carson, C. A., Van Boeckel, T. P., & Madec, J.-Y. (2025). Antimicrobial resistance in livestock: current trends, challenges and future directions. *Revue Scientifique et Technique // Scientific and Technical Review // Revista Científica y Técnica*, 44, 3752. <https://doi.org/10.20506/rst.44.3752>
- Rouvier, F., Brunel, J.-M., Pagès, J.-M., & Vergalli, J. (2025). Efflux-Mediated Resistance in Enterobacteriaceae: Recent Advances and Ongoing Challenges to Inhibit Bacterial Efflux Pumps. *Antibiotics*, 14(8), 778. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14080778>
- Rusu, A., Lungu, I.-A., Moldovan, O.-L., Tanase, C., & Hancu, G. (2021). Structural Characterization of the Millennial Antibacterial (Fluoro)Quinolones—Shaping the Fifth Generation. *Pharmaceutics*, 13(8), 1289. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13081289>
- Salama, L. A., Saleh, H. H., Abdel-Rhman, S. H., Barwa, R., & Hassan, R. (2025). Assessment of typing methods, virulence genes profile and antimicrobial susceptibility for clinical isolates of *Proteus mirabilis*. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 24(1), 4. <https://doi.org/10.1186/s12941-024-00770-8>
- Sanches, M. S., Silva, L. C., Silva, C. R. da, Montini, V. H., Oliva, B. H. D. de, Guidone, G. H. M., Nogueira, M. C. L., Menck-Costa, M. F., Kobayashi, R. K. T., Vespero, E. C., & Rocha, S. P. D. (2023). Prevalence of Antimicrobial Resistance and Clonal Relationship in ESBL/AmpC-Producing *Proteus mirabilis* Isolated from Meat Products and Community-Acquired Urinary Tract Infection (UTI-CA) in Southern Brazil. *Antibiotics*, 12(2), 370. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12020370>

- Sarwar, A., Aslam, B., Mahmood, S., Muzammil, S., Siddique, A. B., Sarwar, F., Khurshid, M., Rasool, M. H., Sasanya, J., & Aljasir, S. F. (2025). Distribution of multidrug-resistant *Proteus mirabilis* in poultry, livestock, fish, and the related environment: One Health heed. *Veterinary World*, 18(2), 446–454. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2025.446-454>
- Sati, H., Carrara, E., Savoldi, A., Hansen, P., Garlasco, J., Campagnaro, E., Boccia, S., Castillo-Polo, J. A., Magrini, E., Garcia-Vello, P., Wool, E., Gigante, V., Duffy, E., Cassini, A., Huttner, B., Pardo, P. R., Naghavi, M., Mirzayev, F., Zignol, M., ... Umubyeyi Nyaruhirira, A. (2025). The WHO Bacterial Priority Pathogens List 2024: a prioritisation study to guide research, development, and public health strategies against antimicrobial resistance. *The Lancet Infectious Diseases*, 25(9), 1033–1043. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(25\)00118-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(25)00118-5)
- Schaffer, J. N., & Pearson, M. M. (2015). *Proteus mirabilis* and Urinary Tract Infections. *Microbiology Spectrum*, 3(5), 1–66. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.UTI-0017-2013>
- Shariati, A., Arshadi, M., Khosrojerdi, M. A., Abedinzadeh, M., Ganjalishahi, M., Maleki, A., Heidary, M., & Khoshnood, S. (2022). The resistance mechanisms of bacteria against ciprofloxacin and new approaches for enhancing the efficacy of this antibiotic. *Frontiers in Public Health*, 10, 1025633. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2022.1025633>
- Srivastava, Y., Tripathi, K., & Kumar, N. (2025). Agarose gel electrophoresis of DNA: Principles, protocols, and applications in molecular analysis. In *Biotechnology Lab Techniques: Culture Media, Microscopy, and Microbial Analysis* (pp. 135–138). Deep Science Publishing. https://doi.org/10.70593/978-93-49307-52-0_27
- Vázquez, X., Fernández, J., Hernáez, S., Rodicio, R., & Rodicio, M. R. (2022). Plasmid-Mediated Quinolone Resistance (PMQR) in Two Clinical Strains of *Salmonella enterica* Serovar Corvallis. *Microorganisms*, 10(3), 579. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10030579>
- Veisi, M., Hosseini-Nave, H., & Tadjrobehkar, O. (2025). Biofilm formation ability and swarming motility are associated with some virulence genes in *Proteus mirabilis*. *BMC Microbiology*, 25(1), 388. <https://doi.org/10.1186/s12866-025-04090-5>

- Velastegui, E., Coka, C., & Cruz, S. (2025). Valoración del perfil de antibiorresistencia de *Proteus mirabilis* a salado de carne de pollo expendida en Ambato. *Pentaciencias*, 11–21.
- Was, R., Hamed, S., Amer, M. A., & Fahmy, L. I. (2020). *Proteus mirabilis* Biofilm: Development and Therapeutic Strategies. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10, 414. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00414>
- Weigel, L. M., Anderson, G. J., & Tenover, F. C. (2002). DNA Gyrase and Topoisomerase IV Mutations Associated with Fluoroquinolone Resistance in *Proteus mirabilis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46(8), 2582–2587. <https://doi.org/10.1128/AAC.46.8.2582-2587.2002>
- WHO. (2022). *Antimicrobial resistance*.
- Yang, A., Tian, Y., & Li, X. (2024). Unveiling the hidden arsenal: new insights into *Proteus mirabilis* virulence in UTIs. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 14, 1465460. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1465460>