



FACULTAD DE CIENCIAS EXPERIMENTALES

Trabajo de Fin de Grado en Biotecnología

Curso 2025/2026

Diseminación de resistencias
antimicrobianas en pacientes con patología
respiratoria

Departamento de Producción Vegetal y Microbiología

Autor: Eduardo Feroso Gutierrez

Modalidad: Experimental

Tutora: Consuelo Ferrer Rodríguez

Cotutora: Noelia Gómez Sánchez

RESUMEN

Introducción: La resistencia a los antimicrobianos constituye un importante problema de salud pública y se produce cuando los microorganismos desarrollan mecanismos que les permiten sobrevivir en presencia de estos compuestos. El objetivo de este trabajo fue caracterizar la microbiota y los perfiles de resistencia presentes en los bioaerosoles generados durante broncoscopias y compararlos con muestras de Lavado broncoalveolar (LBA). **Materiales y métodos:** Se realizó un estudio prospectivo y observacional con muestras pareadas de LBA y bioaerosoles de pacientes sometidos a broncoscopia. Los bioaerosoles se capturaron mediante filtros de cuarzo y las muestras se cultivaron en diferentes medios microbiológicos. Los aislamientos bacterianos se evaluaron frente a ampicilina y, en los resistentes, se determinó la susceptibilidad a otros cinco antibióticos. **Resultados:** Se analizaron 15 muestras de LBA y 15 de bioaerosoles, obteniéndose 145 aislamientos microbiológicos (134 bacterianos y 11 fúngicos). De los aislamientos bacterianos, 53 (39,6 %) fueron resistentes a ampicilina y 6 (4,5 %) presentaron un perfil de multirresistencia. Se identificaron géneros habituales del microbioma respiratorio y especies oportunistas de relevancia clínica. **Discusión:** Los resultados evidencian la presencia de microorganismos resistentes y multirresistentes en ambas matrices. La coincidencia de algunos aislamientos sugiere una posible aerosolización durante la broncoscopia, aunque serán necesarios estudios con mayor tamaño muestral y técnicas moleculares de mayor resolución para confirmarla.

Palabras clave: Resistencias antimicrobianas, bioaerosoles, LBA, broncoscopia, microbiota

ABSTRACT

Introduction: Antimicrobial resistance is a major public health problem and occurs when microorganisms develop mechanisms that enable them to survive in the presence of these compounds. The aim of this study was to characterise the microbiota and resistance profiles present in bioaerosols generated during bronchoscopies and to compare them with bronchoalveolar lavage (BAL) samples. **Materials and methods:** A prospective, observational study was conducted using paired samples of BAL and bioaerosols from patients undergoing bronchoscopy. The bioaerosols were collected using quartz filters and the samples were cultured on various microbiological media. Bacterial isolates were tested for susceptibility to ampicillin and, in the case of resistant isolates, susceptibility to five other antibiotics was determined. **Results:** Fifteen LBA samples and 15 bioaerosol samples were analysed, yielding 145 microbiological isolates (134 bacterial and 11 fungal). Of the bacterial isolates, 53 (39.6%) were resistant to ampicillin and 6 (4.5%) exhibited a multidrug-resistance profile. Common genera of the respiratory microbiome and clinically relevant opportunistic species were identified. **Discussion:** The results demonstrate the presence of resistant and multidrug-resistant microorganisms in both matrices. The overlap between some isolates suggests possible aerosolisation during bronchoscopy, although studies with larger sample sizes and higher-resolution molecular techniques will be required to confirm this.

Keywords: Antimicrobial resistance, bioaerosols, bronchoalveolar lavage (BAL), bronchoscopy, microbiota.

ABREVIATURAS UTILIZADAS

MDR (Multidrug-Resistant): microorganismo multirresistente.

ARGs: Genes de resistencia a antimicrobianos.

AS: Agar Sangre

BHI: Brain Heart Infusion

CDC: Centers for Disease Control and Prevention

EPOC: Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica

LBA: Lavado Broncoalveolar

MLNA: Modified Leeman Notman Agar

mNGS: Secuenciación metagenómica de Nueva Generación

MH: Müller-Hinton

OMS: Organización Mundial de la Salud

PM: Particulate Matter

RAM: Resistencia a los antimicrobianos

SDA: Sabouraud Dextrose Agar

THG: Transferencia horizontal de genes

UBNI: Unidad de Broncoscopia y Neumología Intervencionista

UCI: Unidad de Cuidados Intensivos

UMH: Universidad Miguel Hernández

ÍNDICE

1.	INTRODUCCIÓN.....	6
1.1.	Los antimicrobianos	6
1.2.	Resistencia a los antimicrobianos	7
1.2.1.	Mecanismos de resistencia.....	7
1.2.2.	Mecanismos de generación de resistencias en los microorganismos	8
1.2.3.	Propagación de la resistencia a los antimicrobianos.....	9
1.3.	Microbiota y organismos patógenos de las vías respiratorias	13
1.4.	Resistencias antimicrobianas en entornos hospitalarios	13
2.	Antecedentes, hipótesis y objetivos	14
2.1.	Antecedentes	14
2.2.	Hipótesis.....	14
2.3.	Objetivos.....	14
3.	Materiales y métodos	15
3.1.	Diseño del estudio	15
3.2.	Consideraciones éticas	15
3.3.	Toma de muestras.....	16
3.4.	Datos o variables del estudio	17
3.5.	Procesado y cultivo de las muestras	17
3.5.1.	Lavado broncoalveolar (LBA).....	17
3.5.2.	Procesado y cultivo de los filtros	17
3.6.	Análisis crecimiento microbiano	18
3.6.1.	Detección de resistencias a antibióticos.....	18
3.7.	Identificación de microorganismos	19

4.	Resultados.....	21
4.1.	Análisis de las variables clínicas del estudio.....	22
4.2.	Detección de microorganismos por cultivo.....	24
4.2.1.	Carga microbiana por filtro (UFC/filtro)	24
4.2.2.	Identificación de los aislamientos bacterianos y fúngicos	25
4.3.	Caracterización de los perfiles de resistencia antimicrobiana	26
4.4.	Relación entre los microorganismos y el perfil de resistencia en función de la clínica de los pacientes.....	29
5.	Discusión	30
6.	Conclusiones y proyección futura.....	32
6.1.	Conclusiones.....	32
6.2.	Proyección futura	33
7	Bibliografía.....	34



1. INTRODUCCIÓN

La resistencia a los antimicrobianos (RAM) es un fenómeno natural que aparece cuando un microorganismo adquiere la capacidad de sobrevivir o proliferar en presencia de los medicamentos utilizados para combatirlos, dificultando el tratamiento de las infecciones producidas y aumentando el riesgo de propagación, enfermedad grave y muerte. La RAM supone una amenaza global debido a que reduce la eficacia de tratamientos que son esenciales para un gran número de pacientes, haciendo más peligrosas intervenciones médicas habituales, como las cirugías, los trasplantes o la quimioterapia.

En 2023, aproximadamente una de cada seis infecciones bacterianas confirmadas por laboratorios en todo el mundo resultaba ser resistente a los antibióticos. Además, entre 2018 y 2023 la resistencia aumentó en más del 40 % de las combinaciones patógeno-antibiótico analizadas, incrementándose cada año entre un 5-15 %. Desde la OMS estiman que la resistencia a los antibióticos es mayor en las regiones del Sudeste Asiático y Mediterráneo Oriental, donde 1 de cada 3 infecciones reportadas es resistente mientras que en la región africana resulta ser 1 de cada 5 infecciones [1]. En Europa la estimación más reciente indica que aproximadamente 1 de cada 10 infecciones bacterianas notificadas y confirmadas por laboratorio en 2023 presentaba resistencia a antibióticos [2]. Respecto al impacto sobre la salud humana de la RAM, en 2021, a la resistencia bacteriana le fue directamente atribuible alrededor de 1,14 millones de muertes y se asoció con 4,71 millones de fallecimientos a escala mundial [3].

1.1. Los antimicrobianos

Un antimicrobiano es cualquier sustancia natural, semisintética o sintética capaz de inhibir el crecimiento o eliminar microorganismos, incluyendo bacterias, hongos, virus y parásitos. Cada uno de los compuestos farmacológicos catalogados en dicho grupo presentan un mecanismo de acción que consiste en alterar o bloquear alguna de las funciones esenciales de los microorganismos sensibles a ellos, como por ejemplo la síntesis de la pared celular, proteínas o ácidos nucleicos. En función del tipo de microorganismo frente al que actúan, los antimicrobianos pueden clasificarse en antibióticos, antifúngicos, antivirales y antiparasitarios. Dentro de los antibióticos, según su mecanismo de acción, estos pueden clasificarse en diferentes categorías [4,5]:

- Inhibidores de la síntesis de la pared celular (β -lactámicos, glucopéptidos).
- Inhibidores de la síntesis proteica (aminoglucósidos, tetraciclinas, macrólidos).
- Inhibidores de la síntesis de ácidos nucleicos (quinolonas, rifamicinas).

- Aquellos que interfieren con las vías metabólicas (sulfonamidas).

1.2. Resistencia a los antimicrobianos

1.2.1. Mecanismos de resistencia

Los microorganismos pueden desarrollar diferentes mecanismos moleculares que les permiten sobrevivir en presencia de los antimicrobianos [6]. Estos mecanismos pueden actuar reduciendo la concentración intracelular del fármaco, inactivándolo o modificando su interacción con la diana terapéutica. Entre los principales mecanismos de resistencia destacan los siguientes:

En primer lugar, la producción de estructuras bacterianas complejas capaces de extruir el compuesto antimicrobiano fuera de la célula, también conocidas como bombas de eflujo, pueden resultar en un mecanismo de resistencia a los antimicrobianos bastante prevalente. Existen cinco familias principales de bombas de eflujo, las cuales difieren en su estructura y permiten afectar a un rango amplio de antimicrobianos diferentes.

En segundo lugar, la disminución de la permeabilidad de la membrana constituye un importante mecanismo de resistencia bacteriana, al limitar la entrada del antimicrobiano en la célula. Este mecanismo adquiere especial relevancia en las bacterias gramnegativas, cuya membrana externa actúa como una barrera adicional. En este contexto, las porinas desempeñan un papel clave al regular el paso de moléculas a través de dicha membrana.

Otra de las estrategias más comunes y eficaces para hacer frente a la presencia de antibióticos es la modificación enzimática del compuesto. En este caso, las bacterias producen enzimas que inactivan al antimicrobiano, añadiendo fracciones químicas específicas al compuesto que permiten la inactivación o destrucción de la molécula al completo, haciendo que el antibiótico sea incapaz de realizar su función.

Finalmente, las bacterias pueden desarrollar otro sistema de protección para evitar la acción del antibiótico interfiriendo en su sitio diana. Para lograrlo, se han desarrollado diferentes tácticas, como la protección del sitio diana, la cual funciona impidiendo que el antibiótico alcance su sitio de unión, o modificaciones puntuales del sitio diana que resultan en una menor afinidad por el antibiótico [7].

Los determinantes genéticos responsables de estos mecanismos de resistencia pueden localizarse tanto en el cromosoma bacteriano como en elementos genéticos móviles, facilitando su transferencia entre microorganismos y contribuyendo a la diseminación de la resistencia antimicrobiana.

1.2.2. Mecanismos de generación de resistencias en los microorganismos

La resistencia a los antimicrobianos es un fenómeno natural que surge a lo largo del tiempo debido a cambios genéticos que se producen en los microorganismos. Los principales factores implicados en la aparición y propagación de resistencias son las mutaciones espontáneas y la transferencia horizontal de genes.

Mutaciones espontáneas: Los microorganismos pueden desarrollar cambios aleatorios en su secuencia de ADN mediante una serie de mutaciones puntuales que les otorguen resistencia frente a algún antimicrobiano. Cuando estas alteraciones resultan beneficiosas en presencia de antibióticos, la variante mutada tiende a multiplicarse y a sobrevivir, a diferencia de la que no haya sufrido dicha mutación [8].

Transferencia horizontal de genes (THG): Consiste en un proceso natural mediante el cual las bacterias pueden adquirir información genética o intercambiar genes de resistencia entre sí gracias a la presencia de plásmidos y otros elementos genéticos móviles. Este es un mecanismo clave para la rápida diseminación de genes de resistencia a antimicrobianos en diversos ambientes y entre diferentes especies bacterianas, incluso entre especies filogenéticamente distantes [6, 8,9, 10].

Los mecanismos más comunes de transmisión horizontal de genes son (Figura 1):

Transformación: proceso por el cual las bacterias captan ADN extracelular que se encuentra libre en el medio y estabilizado, y posteriormente lo integran en su genoma mediante recombinación homóloga [11].

Transducción: consiste en la transferencia de genes bacterianos mediada por un bacteriófago tras infecciones sucesivas. El ADN bacteriano es integrado erróneamente en la cápside del bacteriófago. Posteriormente, al infectar una segunda bacteria receptora, el bacteriófago inyecta en ella este ADN bacteriano y este logra integrarse correctamente en el genoma de la célula receptora [11].

Conjugación: consiste en la transferencia de ADN plasmídico mediante el pili y la maquinaria conjugativa. Los plásmidos son elementos genéticos extracromosómicos que se replican de forma independiente y facilitan la diseminación de genes entre bacterias, incluidos los genes de resistencia a los antimicrobianos, favoreciendo su persistencia cuando aportan una ventaja adaptativa frente a la célula huésped [11,12].

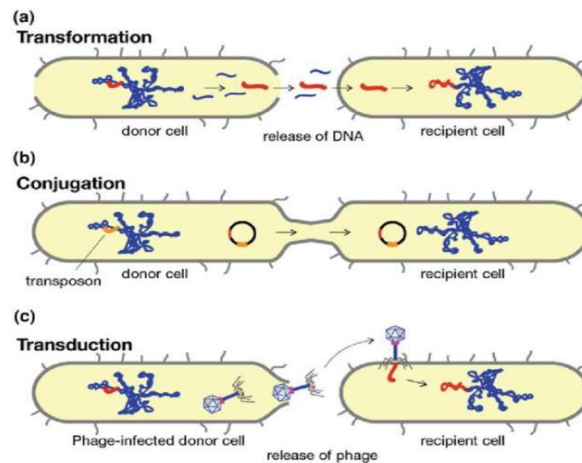


Figura 1. Mecanismos de transmisión horizontal en bacterias, obtenida de *Evolutionary Biology: Genome Evolution, Speciation, Coevolution and Origin of Life* [13].

1.2.3. Propagación de la resistencia a los antimicrobianos.

El uso inadecuado de antibióticos ejerce una presión selectiva que favorece la aparición y expansión de bacterias resistentes. La prescripción innecesaria, el uso injustificado de antibióticos de amplio espectro, la automedicación y el incumplimiento del tratamiento facilitan este proceso. Mientras las bacterias sensibles son eliminadas o inhibidas, las resistentes sobreviven y se multiplican. Así, aumentan las cepas resistentes, disminuye la eficacia de los antibióticos y se dificulta el tratamiento de las infecciones bacterianas.

Ambientes generadores de resistencia antimicrobiana

La generación y propagación de microorganismos resistentes puede producirse en diversos entornos, entre los que destacan los hospitales y centros sanitarios, las aguas residuales y los sistemas de producción agropecuaria.

Hospitales y centros de salud: constituyen uno de los principales reservorios de microorganismos resistentes debido al elevado consumo de antimicrobianos y a la elevada concentración de pacientes colonizados o infectados. Además, los residuos procedentes de secreciones, excreciones y materiales clínicos pueden contribuir a la dispersión de microorganismos resistentes y genes de resistencia en el entorno hospitalario [14, 15].

Aguas residuales: representan otra fuente importante de residuos de antibióticos, residuos de antifúngicos y microorganismos resistentes en las aguas residuales procedentes de los hogares, industrias farmacéuticas, entre otros. La eliminación incompleta de estos compuestos durante los procesos de depuración favorece su liberación al medio ambiente [16,17,18].

Agricultura, ganadería y acuicultura: el empleo de manera intensiva de antimicrobianos en la producción animal (ganado y acuicultura) y en la agricultura, ya sea tanto como promotores del crecimiento (producción vegetal) como para prevenir o tratar enfermedades, incrementa de forma notable la presencia ambiental de microorganismos resistentes y de genes de resistencia [19, 20,21].

Vías de transmisión de microorganismos

La diseminación de microorganismos, sean resistentes o no, puede producirse mediante diferentes vías de transmisión, cuya relevancia depende del microorganismo, el entorno y la frecuencia de exposición.

En el ámbito sanitario, el contacto directo con pacientes colonizados o infectados por microorganismos y el contacto indirecto a través de las manos del personal, equipos, material sanitario y superficies contaminadas constituyen mecanismos relevantes de transmisión [22].

Fuera del hospital, la resistencia antimicrobiana también circula entre personas, otros animales, alimentos y el medio ambiente, incluidos el agua, el suelo y los residuos. Esta interconexión ha dado lugar a la perspectiva denominada “One health”, que consiste en un enfoque integrado en el cual se reconoce que la salud humana, animal y ambiental están estrechamente relacionadas. Debido a esta relación se promueve la colaboración interdisciplinar con el objetivo de prevenir y controlar amenazas como la resistencia a los antimicrobianos, las zoonosis y la contaminación ambiental [23].

Los aerosoles y bioaerosoles pueden transportar bacterias resistentes y genes de resistencia en hospitales y otros entornos extrahospitalarios. No obstante, detectar genes de resistencia en el aire no demuestra que existan microorganismos viables ni que haya transmisión o infección. Estos aspectos deben evaluarse mediante estudios específicos. Por ello, el análisis de bioaerosoles es necesario para la vigilancia microbiológica. Permite estudiar una posible vía de dispersión de la resistencia antimicrobiana, especialmente en el ámbito hospitalario.

Aerosoles

Una de las vías por las cuales las bacterias pueden diseminarse es a través del aire, desplazándose desde una fuente o reservorio hasta alcanzar nuevos nichos ecológicos. Según el *Center for Disease Control and Prevention* (CDC) un aerosol es una suspensión de partículas sólidas o gotas líquidas en el aire u otro medio gaseoso, incluyendo polvo, niebla, humos o gotas respiratorias [24]. Por su parte, un bioaerosol es un aerosol que contiene material de origen biológico, ya sea viable o no viable, e incluye bacterias, hongos, virus, esporas, polen, fragmentos celulares y diversos productos microbianos, como toxinas [25].

Por lo general, estos pueden clasificarse según su naturaleza, tamaño y método de generación. Si atendemos a su origen, estos pueden proceder de la resuspensión de partículas del suelo, de los mares y océanos, incendios forestales, biogénicos o aerosoles secundarios que se producen al llevarse a cabo reacciones químicas [26]. Según su tamaño, se pueden clasificar en partículas grandes ($100\text{ }\mu\text{m}$ $>10\text{ }\mu\text{m}$) que duran poco tiempo en suspensión en el aire y quedan atrapados en las vías respiratorias altas, partículas medianas, también llamadas PM_{10} ($10\text{ }\mu\text{m}$ $>5\text{ }\mu\text{m}$) que se mantienen en el aire más tiempo y pueden llegar a la fracción torácica, o partículas finas o PM_5 ($<5\text{ }\mu\text{m}$), que pueden llegar a los alveolos y se mantienen mayor tiempo en suspensión [27]. A nivel microbiológico la cifra más aceptada es que los aerosoles $<10\text{ }\mu\text{m}$ alcanzan la fracción pulmonar tal y como se observa en la figura 2 [28].

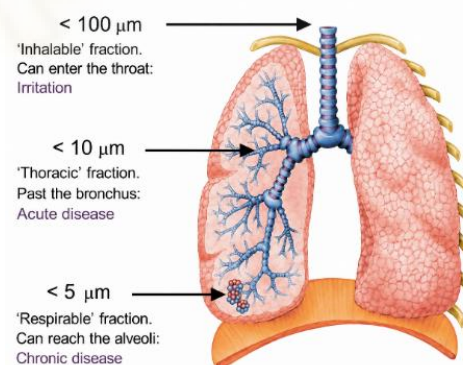


Figura 2. Clasificación de los aerosoles en función de su tamaño [28].

Esta exposición a los bioaerosoles, se vuelve más peligrosa cuando los microorganismos presentes en estos aerosoles contienen elementos de resistencia y dificultan su tratamiento. Además de su presencia, estos elementos pueden transferirse de un microorganismo a otro mediante la transferencia horizontal de genes [26].

Maniobras que pueden favorecer la dispersión de microorganismos por aerosoles

Los bioaerosoles se pueden generar en altas concentraciones en ciertos procedimientos médicos denominados “Procedimientos médicos generadores de aerosoles”. Algunos de estos procedimientos generadores de aerosoles son: la reanimación cardiopulmonar, la intubación y extubación endotraqueal, la ventilación no invasiva o manual y la broncoscopia, y son considerados como tales por la Organización mundial de la salud (OMS) y el Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) [29].

La broncoscopia es una técnica que se emplea para investigar diversas patologías respiratorias, como infecciones pulmonares, neoplasias, enfermedades intersticiales, hemorragias o anomalías estructurales del árbol bronquial (Figura 3). Además, permite la obtención de muestras biológicas, como el lavado broncoalveolar (LBA), cepillados o biopsias, que resultan fundamentales para el diagnóstico microbiológico, citológico e histopatológico [30]. Gracias a la broncoscopia se consigue de manera directa muestras procedentes del espacio alveolar y bronquial distal, proporcionando una mayor sensibilidad diagnóstica y una menor contaminación de la biota orofaríngea en comparación con otras muestras respiratorias convencionales [31].

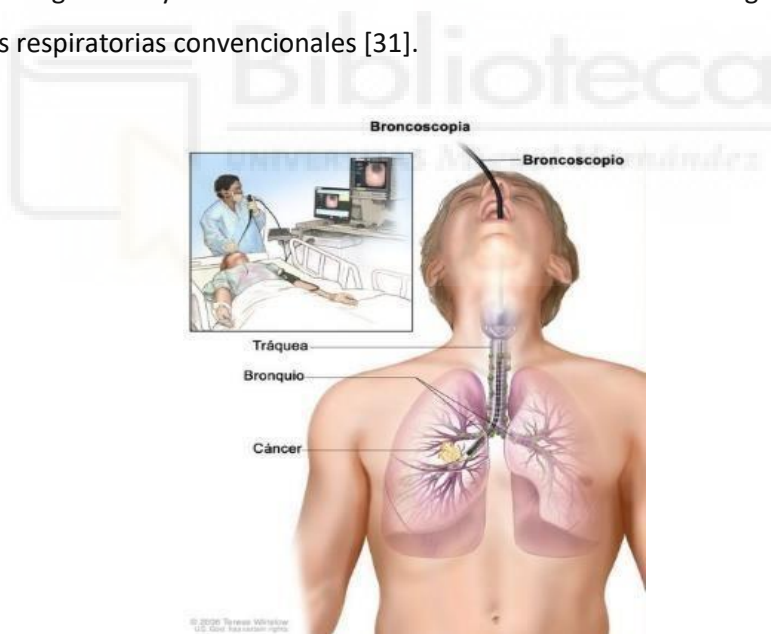


Figura 3. Esquema de la realización de una broncoscopia. Imagen tomada de la página web del NIH [32].

El LBA ha adquirido durante los últimos años una importancia creciente en el proceso de identificación de microorganismos multirresistentes y en el estudio de la resistencia antimicrobiana, especialmente en pacientes con neumonía grave, neumonía asociada a ventilación mecánica e inmunosupresión [33]. Además, la incorporación de técnicas moleculares avanzadas, como la secuenciación metagenómica de nueva generación (mNGS), ha permitido mejorar significativamente

la detección precoz de bacterias, virus y hongos, así como de genes asociados a resistencia antimicrobiana [33].

Diversos estudios recientes han demostrado que las muestras de LBA presentan una elevada capacidad diagnóstica y una mejor correlación clínica en comparación con otras muestras respiratorias, favoreciendo una optimización más precisa del tratamiento antimicrobiano y contribuyendo consecuentemente a un mejor control de la resistencia bacteriana en el ámbito hospitalario [34].

1.3. Microbiota y organismos patógenos de las vías respiratorias

Como se ha comentado anteriormente, durante la realización del procedimiento de broncoscopias, se provoca la expulsión de bioaerosoles, en los cuales se puede encontrar microorganismos de la microbiota del sistema respiratorio del paciente. El microbioma pulmonar está compuesto de diferentes géneros de bacterias. Dentro de los géneros bacterianos más presentes se encuentran *Pseudomonas*, *Streptococcus*, *Streptomyces*, *Proteus* y *Haemophilus*. Aunque también se pueden hallar géneros anaerobios especializado como es el caso de *Prevotella*, *Veillonella* y *Porphyromonas* [35]. En el caso de los hongos también hay mucha diversidad, siendo los más comunes *Malassezia*, *Candida*, *Saccharomyces*, *Penicillium*, *Dictyostelium* y *Fusarium*, aunque también están presentes en menor medida *Aspergillus*, *Davidiellaceae* y *Eurotium* [35]. Un aspecto importante que hay que destacar es que cada paciente tiene un microbioma pulmonar único y de alta resiliencia, el cual tiende a estar controlado por una o varias especies colonizadoras importantes, como *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Stenotrophomonas* o *Achromobacter* [35].

1.4. Resistencias antimicrobianas en entornos hospitalarios

Las resistencias antimicrobianas presentes en bioaerosoles han sido descritas en numerosos estudios, que evidencian la existencia de microorganismos portadores de genes de resistencia en partículas suspendidas en el aire de distintos entornos hospitalarios [36, 37, 38]. En particular, se ha observado que los microorganismos procedentes de las vías respiratorias presentan una elevada abundancia de genes de resistencia frente a tetraciclinas y al grupo MLSB (macrólidos, lincosamidas y estreptograminas B) [36]. Recientes estudios han demostrado que los bioaerosoles hospitalarios pueden albergar una importante carga de microorganismos patógenos portadores de genes de resistencia a los antimicrobianos (ARGs) lo que supone un potencial riesgo para la salud pública debido a su posible contribución en la transmisión de bacterias multirresistentes y en la aparición de infecciones nosocomiales [39].

2. Antecedentes, hipótesis y objetivos

2.1 Antecedentes

El laboratorio de Micología del departamento de Producción Vegetal y Microbiología de la Universidad Miguel Hernández (UMH), en colaboración con el departamento de Física Aplicada de la UMH, empezó hace seis años una línea de investigación con el objetivo de conocer el riesgo que presentaban el personal sanitario hacia los bioaerosoles. Este proyecto comenzó con la detección de SARS-CoV-2 en aerosoles en entornos con pacientes COVID-19. Esta línea de estudio prosiguió en años posteriores con la medición del riesgo ocupacional que presentaban el personal sanitario extrahospitalario, concretamente los que trabajaban en clínicas odontológicas.

Hace dos años se amplió el estudio para conocer el riesgo ocupacional en ambientes clínicos. Para ello se contó con la colaboración del Hospital Universitario de San Juan y del Hospital Universitario del Vinalopó. En dicho estudio se valoró la carga y diversidad microbiana (bacterias, hongos y virus respiratorios) a la que estaban expuestos el personal sanitario durante la realización de broncoscopias. El pasado año se evaluó la exposición de los profesionales sanitarios a microorganismos patógenos resistentes a los antimicrobianos mediante el análisis de los bioaerosoles en las salas donde se realizaban las broncoscopias.

En la presente anualidad, se pretende ampliar dicho estudio mediante el análisis conjunto de muestras de bioaerosoles y de LBA con el fin de determinar la posible concordancia entre los microorganismos resistentes a los antimicrobianos detectados en ambas matrices.

2.2 Hipótesis

Los bioaerosoles generados en entornos hospitalarios, especialmente en áreas con elevada producción de partículas respiratorias, como las salas de broncoscopias, constituyen un reservorio potencial de microorganismos resistentes a antimicrobianos. Se plantea que estos bioaerosoles podrían contribuir a la dispersión aérea de microorganismos multirresistentes, contribuyendo a la diseminación de infecciones nosocomiales y de la resistencia antimicrobiana dentro del ámbito hospitalario.

2.3 Objetivos

El objetivo principal de este trabajo es caracterizar la microbiota y el perfil de resistencia en bioaerosoles y muestras de LBA. Para ello, se plantean los siguientes objetivos específicos:

1. Cuantificar y caracterizar la carga microbiana viable presente en los bioaerosoles y en muestras de LBA.
2. Determinar los perfiles fenotípicos de resistencia a los antimicrobianos de los microorganismos aislados en ambos tipos de muestras.
3. Comparar los microorganismos identificados y sus perfiles de resistencia a los antimicrobianos en bioaerosoles y muestras de LBA
4. Evaluar la posible asociación entre los microorganismos identificados y sus perfiles de resistencia a los antimicrobianos en función de la clínica de los pacientes.

3. Materiales y métodos

3.1. Diseño del estudio

Este estudio consiste en un trabajo prospectivo y observacional, en el cual se han obtenido muestras de LBA y bioaerosoles producidos durante la realización de broncoscopias en la Unidad de Broncoscopia y Neumología Intervencionista (UBNI) del Hospital Universitario de San Juan.

La toma de muestras se realizó entre el 24 de febrero del 2026 y el 9 de junio del 2026. Se recogieron los aerosoles y muestras de LBA procedentes de aquellos pacientes que, a juicio clínico, necesitaban una broncoscopia por motivos ajenos al estudio y que firmaron el consentimiento informado para participar en el estudio. Se excluyeron del estudio aquellos pacientes en los que la sospecha clínica del paciente fuera de tuberculosis, debido a que no se podía cumplir el nivel de bioseguridad necesario para trabajar con ese tipo de muestras. El análisis de las muestras se realizó en el laboratorio de Micología Médica del departamento de Producción Vegetal y Microbiología de la UMH en el campus de San Juan (Alicante).

3.2. Consideraciones éticas

Este estudio ha sido aprobado por el comité de ética del Hospital Universitario de San Juan y de la Universidad Miguel Hernández, código COIR: TFG.GBI.CFR.EFG.251028. Todos los procedimientos han sido diseñados de acuerdo con los principios éticos para la investigación médica en seres humanos (declaración de Helsinki de la AMM; reglamento de la UE -UE2016/679 de 27 de abril- y ley española 3/2018 de 5 de diciembre- sobre investigación biomédica).

3.3. Toma de muestras

Se toman dos tipos de muestras por paciente: el LBA y los aerosoles generados durante el procedimiento de la toma del LBA (broncoscopia). Las muestras de LBA fueron obtenidas por el Servicio de Neumología mediante broncoscopia realizada según la práctica clínica habitual. Tras su recogida, las muestras se etiquetaron mediante un código alfanumérico para garantizar su anonimización y se transportaron inmediatamente al laboratorio de microbiología de la UMH para su procesamiento.

Para la toma de muestra de los bioaerosoles, se emplearon muestreadores personales de aerosoles (10 L/min) equipados con filtros de cuarzo de 37 mm y entrada PM₁₀, conectados a una bomba de aire portátil (Figura 4). El dispositivo se colocó sobre la ropa del personal de neumología, situando el filtro a la altura del pecho y la bomba en un bolsillo con el fin de evaluar los microorganismos exhalados por los pacientes que alcanzaban al profesional durante la realización de la broncoscopia (Figura 5). Una vez finalizada la actividad, el filtro se retiró y almacenó en colectores estériles y herméticos previamente etiquetados para su transporte al laboratorio. Cada filtro contenía la muestra de aire correspondiente a un único paciente. Los muestreadores registraron el tiempo de exposición, el volumen, la temperatura y la humedad relativa del entorno.



Figura 4. A) Captador de aire “Personal Impactors Model 200”. B) Cabezal PM10. C) Filtros de cuarzo. Imagen de la web de Fisher Scientific [40].



Figura 5. Colocación del captador de aire para la toma de muestras.

3.4. Datos o variables del estudio

Durante la toma de muestras se registraban las siguientes variables. Por un lado, están los datos referidos al paciente: Edad, Sexo, Fumador Si/no, Sospecha diagnóstica, Diagnóstico clínico, Diagnóstico microbiológico y Tratamiento del paciente. En el caso del tratamiento se buscaba saber si el paciente estaba en tratamiento con antimicrobianos, medicación quimioterápica o corticoides (incluyendo los inhalados debido a que las muestras del paciente procedían del árbol bronquial). Por otro lado, están los datos referidos al muestreo de los bioaerosoles: duración del procedimiento, la temperatura de la sala, la humedad relativa de la sala y el volumen de aire total recogido.

3.5. Procesado y cultivo de las muestras

3.5.1. Lavado broncoalveolar (LBA)

El LBA (4-6 mL) se distribuyó en 4 tubos Eppendorf® de 1.5 mL y se centrifugaron durante 5 minutos a 5000 rpm. Se eliminó el líquido sobrenadante necesario para obtener un volumen de unos 0.5 mL. Posteriormente, la muestra se homogeneizó para proceder a su cultivo en diferentes medios microbiológicos. Se inocularon 0,1 mL de muestra en placas de agar sangre (AS), agar Brain Heart Infusion (BHI), agar Sabouraud dextrosa (SDA) y Modified Leeman Notman Agar (MLNA). El resto se almacenó a -20°C. Las placas inoculadas se incubaron en condiciones de aerobiosis a 37 °C durante un periodo de 48 a 72 horas.

3.5.2. Procesado y cultivo de los filtros

Una vez en el laboratorio de Micología Médica de la UMH, el filtro se dividió en 4 fragmentos: 2 de ellos se cultivaron para la detección de bacterias en medios de AS, y BHI. El tercer fragmento se dividió a su vez en dos partes, uno para la detección de hongos en (SDA) y el otro para cultivarlo en medio MLNA. Por último, el fragmento restante se almacenó a – 20 °C para estudios posteriores (Figura 6). Las placas, se incubaron a 37 °C en aerobiosis durante 48-72 horas.

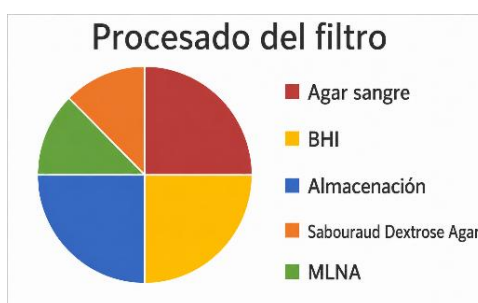


Figura 6. Esquema de procesado de filtros.

3.6. Análisis crecimiento microbiano

Una vez cultivada las muestras tanto de bioaerosoles como de LBA, se procedió a la evaluación del crecimiento de colonias bacterianas y fúngicas en los medios empleados (AS, BHI, SDA y MLNA). Se realizó un conteo de las colonias y para la identificación de estas, se realizó un primer análisis macroscópico de la forma, color y número de colonias en cada filtro. Una vez registrados estos datos, se procedió al aislamiento de cada una de las colonias para su estudio mediante microbiología clásica (tinción y cultivo) y biología molecular (PCR y secuenciación).

3.6.1. Detección de resistencias a antibióticos

Todos los aislamientos fueron testados para la detección de resistencia a la ampicilina mediante su aislamiento en un medio BHI suplementado con ampicilina, que pertenece a la familia de los antibióticos β -lactámicos. Aquellas cepas que fueron resistentes a la ampicilina se les realizó un estudio adicional de sensibilidad antimicrobiana con el fin de evaluar la posible presencia de multirresistencia. Para ello, se seleccionaron entre cinco y siete antibióticos representativos de diferentes familias antimicrobianas, entre las que se incluyeron las siguientes:

- Ciprofloxacino (1 μ g): Pertenece a la familia de las quinolonas
- Eritromicina (15 μ g): Pertenece a la familia de los macrólidos
- Fosfomicina (200 μ g): Pertenece a la familia de las fosfomicinas
- Gentamicina (30 μ g): Pertenece a la familia de los aminoglucósidos
- Ceftriaxona (30 μ g): Pertenece a las cefalosporinas de 3^ª generación
- Tetraciclina (30 μ g): Pertenece a la familia de las tetraciclinas
- Sulfametoxazol/trimetoprim (20 μ g): Es una combinación del sulfametoxazol que forma parte de la familia de las sulfonamidas, con el trimetoprim que forma de la familia de las Diaminopirimidinas.

La sensibilidad o resistencia de las bacterias a los agentes antimicrobianos fue valorada mediante el método de difusión en placa de Kirby-Bauer. Tras inocular la cepa a estudio en un medio de Müller-Hinton (MH), se colocaron discos de antibióticos de concentración conocida y se incubaron durante 24 horas a 37 °C. Se realizó la medición del diámetro de los halos de inhibición, que según criterios estandarizados de interpretación, pueden ser resistentes (R), sensibles (S) o de sensibilidad intermedia

(I). Los resultados del antibiograma se interpretaron siguiendo los puntos de corte establecidos por EUCAST.

3.7. Identificación de microorganismos

Extracción del DNA de bacterias o levaduras

La extracción de DNA de las colonias bacterianas y de las levaduras se realizó mediante el uso de la matriz comercial InstaGene™ de Bio-Rad. Brevemente, el protocolo consiste en resuspender una colonia en 150 µL de matriz Instagene™ en un tubo Eppendorf® estéril. Posteriormente se agita y se incuba a 56° C durante 10 minutos y después a 100° C durante otros 8 minutos. Finalmente se centrifuga a 5000 rpm durante un minuto y se recoge el DNA, el cual se encuentra situado en el sobrenadante para su posterior amplificación. La identificación de los hongos filamentosos se llevó a cabo mediante la observación macroscópica y microscópica de las colonias.

Amplificación de DNA bacteriano y fúngico

Para amplificar la región V1-V3 del gen 16S rRNA en bacterias y la región ITS1-5,8S-ITS2 en hongos se realizó una PCR convencional. Las regiones amplificadas se muestran en la Figura 7, mientras que las condiciones de reacción y los cebadores empleados se recogen en las Tablas 1 y 2, respectivamente.

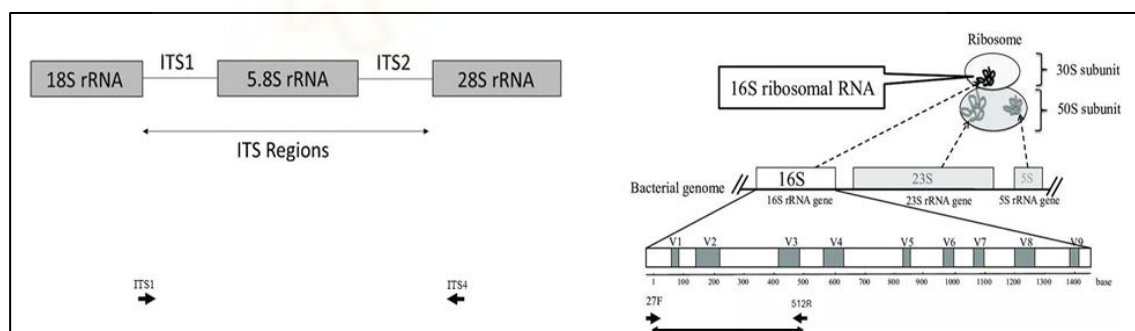


Figura 7. Región del genoma en el que se muestra dónde hibridan los cebadores y la región que amplifican en hongos (izq.) y bacterias (dcha). Fuentes: Modificado de Fukuda et al. J UOEH 2016, Modificado de Krystin GenoHub blog 2023.

Tabla 1. Cebadores de la amplificación de las regiones seleccionadas de bacterias y hongos

Primer	Región hibridación	Secuencia	Referencia	Fragmento
Bac-F (27F)	16S rRNA	AGAGTTTGATYMTGGCTCAG	Kim et al. 2012	515pb
Bac-R (512R)	16S rRNA	TTACCGCGGCKGCTGGCAC	Kim et al. 2012	515pb
ITS1	18S RNA gene	TCCGTAGGTGAACCTGCGG	Ferrer et al. JCM 2001	500-850 pb
ITS4	28S RNA gene	TCCTCCGCTTATTGATATGC	Ferrer et al. JCM 2001	500-850 pb

Tabla 2. Protocolo de amplificación por PCR llevado a cabo para la amplificación bacteriana

Número de ciclos	Temperatura	Tiempo	Proceso
1	95 °C	5 min	Desnaturalización inicial
40	95 °C	30 seg	Desnaturalización
	55 °C	1 min	Hibridación sonda
	72 °C	1 min	Extensión
1	72 °C	5 min	Extensión final

Electroforesis y secuenciación del DNA

Para verificar el éxito de la amplificación, los productos de PCR se analizaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 2 % preparado en tampón TBE. La electroforesis se realizó durante 30 minutos a 100 V. La amplificación se consideró satisfactoria cuando se observó una banda de aproximadamente 500 pb en el caso de las bacterias y de entre 400 y 700 pb en el caso de los hongos.

Secuenciación Sanger

Previamente a la secuenciación, los productos de PCR fueron purificados para eliminar el exceso de cebadores y dNTPs no incorporados. Para ello, se empleó el kit ExoProStar™ (Illustra™) que combina una exonucleasa de tipo I capaz de degradar DNA monocatenario residual y una fosfatasa alcalina que elimina los dNTPs libres presentes en la reacción.

Una vez purificados, los productos de PCR se enviaron a una empresa externa (STABVIDA) para su secuenciación por el método Sanger.

Identificación de las cepas por biología molecular

Las secuencias obtenidas (región V1-V3 del gen 16S rRNA, aproximadamente 450–500 pb) fueron comparadas mediante BLAST con la base de datos GenBank (NCBI). La asignación taxonómica se realizó considerando el mayor porcentaje de identidad y cobertura de alineamiento. No obstante, debido a la elevada conservación de esta región entre especies filogenéticamente próximas, la identificación a nivel de especie debe interpretarse como una identificación presuntiva en aquellos casos en los que varias especies presentaron porcentajes de identidad equivalentes.

4. Resultados

Entre el 24 de febrero de 2026 y el 9 de junio de 2026, se recogieron un total de 16 pares de muestras de pacientes, constituidos por bioaerosoles y muestras de LBA, obtenidas durante la realización de broncoscopias en la UBNI (Unidad de Broncoscopia y Neumología Intervencionista) del hospital de San Juan de Alicante. De las 16 muestras recogidas, únicamente se pudieron procesar 15, debido a que la muestra correspondiente al paciente 2 se deshidrató por un problema técnico con el incubador. Por ese motivo dicha muestra fue excluida de los análisis posteriores.

Con el fin de verificar que, ni los filtros ni su manipulación durante la preparación de los muestreadores constituían una fuente de contaminación microbiológica, se realizaron cuatro controles negativos. Para ello, los filtros se colocaron en los muestreadores y se sometieron al mismo procedimiento aplicado para las muestras experimentales, con la excepción de que la bomba de aire permaneció desconectada. Posteriormente, los filtros se procesaron y cultivaron en los distintos medios microbiológicos. En todos los casos, los cultivos resultaron negativos, confirmando la ausencia de microorganismos viables asociados a los filtros o a su manipulación (figura 8).

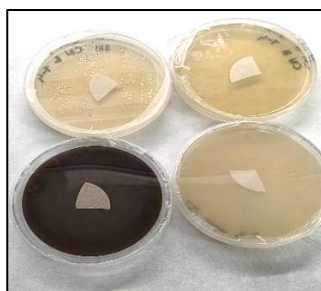


Figura 8. Controles negativos aerosoles.

Durante el muestreo de los bioaerosoles generados durante las broncoscopias, se registraron diversos parámetros ambientales y operativos, cuyos valores medios y sus correspondientes desviaciones estándar se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Resumen de variables en los aerosoles

Variable	Media $\pm$ Desviación estándar
Tiempo (min)	8,26 $\pm$ 2,78
Volumen (L)	82,98 $\pm$ 27,78
Temperatura (°C)	20,47 $\pm$ 1,41
Humedad relativa (%)	48,17 $\pm$ 10,65

4.1 Análisis de las variables clínicas del estudio

Con el objetivo de caracterizar la población del estudio, se recopilaron variables clínicas y demográficas de los pacientes sometidos a broncoscopia, incluyendo la edad, el sexo, el hábito tabáquico y el diagnóstico clínico. La distribución de estas variables se muestra en la Tabla 4.

Tabla 4. Resumen de los datos de los pacientes.

Variable		Frecuencia	Porcentaje
Género	Hombres (H)	8	53,33 %
	Mujeres (M)	7	46,67 %
	Total (Género)	15	100 %
Edad (años)		63,73 $\pm$ 17,50	—
Hábito tabaquico	No fumador	5	33,33 %
	Exfumador	9	60,00 %
	Fumador	1	6,67 %
	Total (Hábito tabaquico)	15	100 %
Total (Global)		15	100 %

Durante la realización de las broncoscopias por parte del servicio de Neumología se reconocieron un total de 13 sospechas clínicas diferentes. Estas se agruparon en tres categorías principales: procesos neoplásicos pulmonares, procesos infecciosos y otras patologías respiratorias. Dentro del grupo de procesos neoplásicos se incluyeron diagnósticos como nódulo pulmonar, adenocarcinoma, neoplasia pulmonar y hemoptisis de origen oncológico. El grupo de procesos infecciosos comprendió cuadros como neumonía e infiltrados pulmonares de posible origen infeccioso. Finalmente, en la categoría de otras patologías se incluyeron enfermedades respiratorias crónicas como la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), las bronquiectasias y otras afecciones (Figura 9).

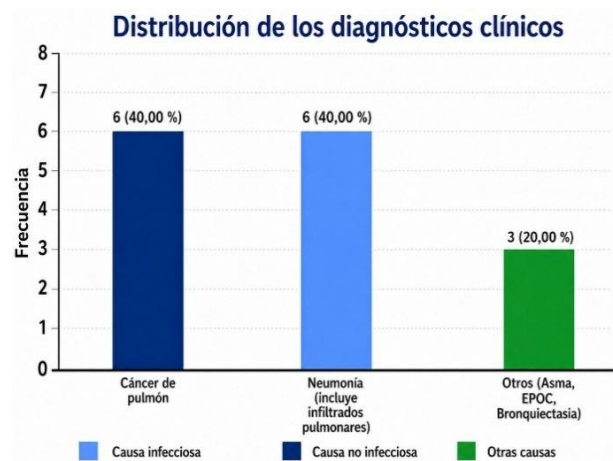


Figura 9. Gráfica donde se muestran las sospechas clínicas agrupadas por procesos neoplásicos pulmonares, procesos infecciosos y otras patologías.

Los resultados del diagnóstico microbiológico de las muestras de LBA, realizados por el Servicio de Microbiología del Hospital Universitario de San Juan de Alicante, permitieron identificar un total de seis diagnósticos microbiológicos diferentes. El hallazgo más frecuente fue la presencia de microbiota orofaríngea habitual, principalmente en aquellas muestras procedentes de pacientes con sospecha de patología no infecciosa. Por el contrario, en las muestras correspondientes a pacientes con sospecha de infección respiratoria se aislaron microorganismos potencialmente patógenos, entre los que destacaron *Staphylococcus aureus*, así como *Candida albicans* (Tabla 5). Respecto a los tratamientos previos a la realización de la broncoscopia, se observó que la mayoría de los pacientes recibían tratamiento antibiótico, corticoides o una combinación de ambos.

Tabla 5. Relación entre diagnóstico clínico, diagnóstico microbiológico y los tratamientos de los pacientes previo a la broncoscopia.

Diagnóstico clínico	Diagnóstico microbiológico	Corticoides	Antibióticos
Neumonía	<i>Candida albicans</i> + <i>Pneumocystis jirovecii</i>	Sí	Sí
	<i>Staphylococcus aureus</i>	No	Sí
	Microbiota orofaríngea habitual	Sí	Sí
	Microbiota orofaríngea habitual	No	Sí
	Microbiota orofaríngea habitual	Sí	No
Cáncer/neoplasia pulmonar	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	No	No
	<i>Aspergillus</i> spp. + <i>Haemophilus influenzae</i>	No	No
	<i>Aspergillus</i> spp. + microbiota orofaríngea escasa (posible colonización)	No	No
	Microbiota orofaríngea habitual	No	No
	Microbiota orofaríngea habitual	No	No
	Microbiota orofaríngea habitual	Sí	No
Asma	Microbiota orofaríngea habitual	No	Sí
EPOC	Microbiota orofaríngea habitual	Sí	No
Bronquiectasia	Microbiota orofaríngea habitual	Sí	Sí
Infiltrado pulmonar	Microbiota orofaríngea habitual	No	Sí

4.2 Detección de microorganismos por cultivo

A partir de las 15 parejas de muestras de LBA y bioaerosoles, se obtuvo un total de 77 aislamientos microbiológicos en las muestras de LBA (37 aislamientos en AS, 23 en BHI, 12 en SDA y 5 en MLNA) y 68 aislamientos en las muestras de aerosoles (27 aislamientos en AS, 29 en BHI, 11 en SDA y 1 en MLNA).

4.2.1. Carga microbiana por filtro (UFC/filtro)

Para calcular la carga microbiana por filtro, se procedió de distinta manera en el caso de bacterias y de hongos por presentar diferente especificidad en el crecimiento en los medios de cultivo. En el cálculo de la carga bacteriana se tuvo en cuenta que hay especies que crecen en todos los medios y otras que no lo hacen en ninguno. En primer lugar, se contó el número de colonias que crecieron en los dos medios de cultivo para bacterias (AS y BHI) y se multiplicó por dos ya que cada uno correspondía a $\frac{1}{2}$ del filtro. La carga bacteriana promedio se estimó en 7,47 UFC/filtro.

Para el cálculo de la carga fúngica, dado que los hongos identificados son capaces de crecer en los cuatro medios utilizados, se sumó el número de colonias obtenidas en cada uno de los medios ($\frac{1}{4}$ AS + $\frac{1}{4}$ AN + $\frac{1}{8}$ BHI + $\frac{1}{8}$ SAB) y se multiplicó por $\frac{4}{3}$. De este modo, se minimiza el error estadístico ya que el número de colonias obtenidas fue bajo. La carga fúngica media se estimó en 2,67 UFC/filtro.

Si sumamos ambos resultados obtenemos la carga microbiana (bacterias y hongos) por filtro, que fue de 10,14 UFC/filtro. Este valor se divide entre el volumen de aire muestreado en m³ (un promedio de 0,083 m³ por filtro), para obtener el valor de UFC por volumen de aire muestreado. De esta forma, se ha obtenido un promedio de 122,13 UFC/m³.

4.2.2. Identificación de los aislamientos bacterianos y fúngicos

Durante el desarrollo de este estudio se identificaron un total de 57 aislamientos bacterianos, distribuidos en 20 géneros diferentes. El género más frecuentemente aislado fue *Staphylococcus*, que representó la mayor proporción de los microorganismos recuperados. Seguido de *Bacillus*, *Streptococcus*, *Neisseria*, *Micrococcus* y *Streptomyces*. Gran parte de ellos fueron Gram positivos (75,44 %) frente al 24,56 % de Gram negativos. La presencia de una amplia diversidad de géneros bacterianos pone de manifiesto la complejidad de la microbiota presente en las muestras analizadas.

Atendiendo solo a las muestras de LBA el género más representativo sería el de *Streptococcus* (20,59%) seguido de *Staphylococcus* (17,65%), *Neisseria* (14,71%). En general, el 64,71 % fueron Gram positivos y el resto Gram negativos. Entre las bacterias identificadas en las muestras de LBA se encontraron *Serratia marcescens* (Figura 10), *Enterobacter quasihormaechei*, *Staphylococcus aureus*, *Rothia mucilaginosa*, *Neisseria perflava*, *Bacillus cereus* y *Pseudomonas* spp.



Figura 10: Detalle del cultivo en agar sangre del LBA obtenido del paciente 4 donde se observan dos colonias de *Serratia marcescens*.

En cuanto a las muestras de bioaerosoles el género más abundante fue *Staphylococcus* (39,13%) seguido de *Bacillus* (17,39%), también se aislaron otros géneros como *Micrococcus*, *Streptomyces*, *Cellulosimicrobium* y *Erwinia*. A nivel de especies se identificaron, *Staphylococcus coagulasa negativos* (*S. epidermidis*, *S. hominis*, *S. caprae*), *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis*, *Micrococcus luteus*, *Kocuria rhizophila*, *Dermaococcus nishinomiyaensis*, *Erwinia tasmaniensis*, *Faucicola osloensis* y *Niallia nealsonii*. En general, el 91,3 % fueron Gram positivos y el resto Gram negativos (8,7%).

En cuanto a los aislamientos fúngicos, el género identificado con mayor frecuencia fue *Aspergillus* sp. detectándose en seis muestras de aerosoles (Figura 11). Por su parte, *Candida albicans* se identificó

en una muestra de LBA. Además, se detectó un aislamiento perteneciente al género *Fusarium* y otro al género *Magnusiomyces*, ambos procedentes de muestras de LBA. Estos resultados evidencian la presencia de diversos hongos potencialmente relevantes desde el punto de vista clínico tanto en las muestras respiratorias como en los bioaerosoles analizados.



Figura 11. Filtro correspondiente a los aerosoles obtenidos durante la broncoscopia del paciente 9 en medio BHI. Se aprecian dos colonias de *Aspergillus niger*.

4.3 Caracterización de los perfiles de resistencia antimicrobiana

Considerando conjuntamente los aislamientos procedentes de las muestras de LBA y de bioaerosoles, se identificaron un total de 53 cepas resistentes a la ampicilina. De estas, 6 cepas (4,5 %) presentaron un perfil de multirresistencia.

El análisis de susceptibilidad antimicrobiana de los aislamientos procedentes de las muestras de LBA mostró que, de los 72 aislamientos bacterianos, 26 (36,1 %) mostraron resistencia a la ampicilina. Entre estos aislamientos ampicilina resistentes, 4 presentaron un perfil de multirresistencia, por lo tanto, un 5,5% de los aislados de LBA mostraron MDR. Por su parte, de los 62 aislamientos bacterianos recuperados de las muestras de aerosoles, 27 (43,5 %) fueron resistentes a la ampicilina. De ellos, 3 aislamientos mostraron resistencia a tres o más familias de antimicrobianos (Figura 12).

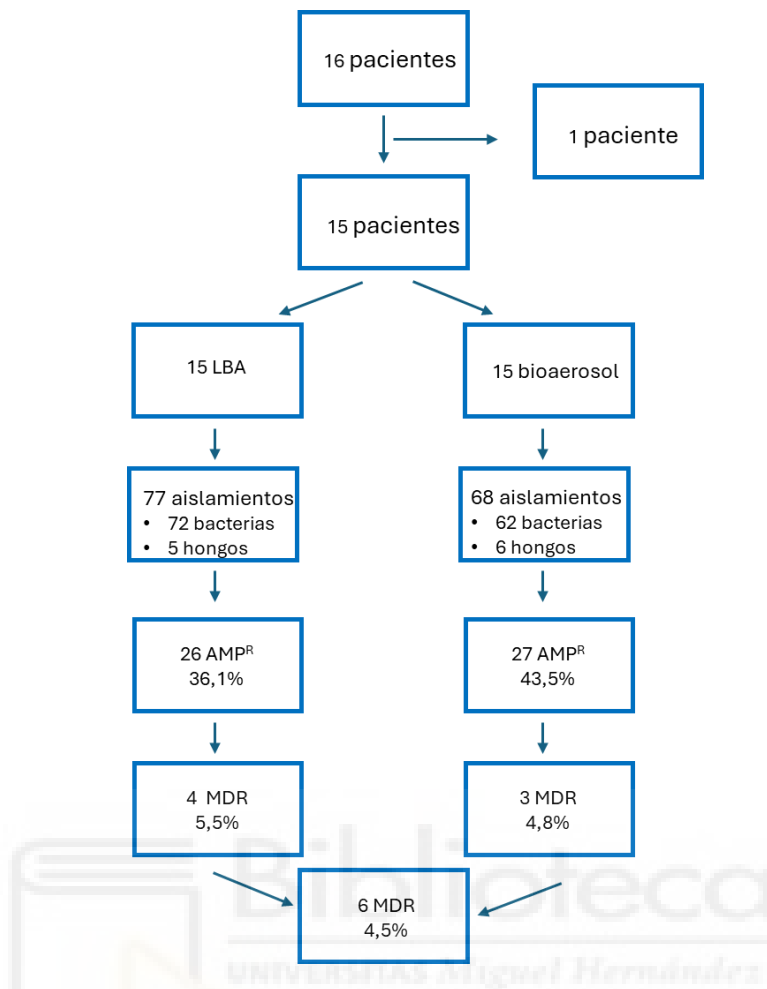


Figura 12. Flujo sobre las muestras recogidas en el estudio, sus aislamientos microbianos y las resistencias a antibióticos que presentaron, AMP^R: resistente a ampicilina. MDR resistencia a 3 o más familias de antibióticos.

Estos resultados evidencian una elevada proporción de bacterias resistentes a β -lactámicos tanto en las muestras de LBA como en los bioaerosoles, así como la presencia de microorganismos multirresistentes en ambos tipos de muestras. Las cepas MDR en LBA fueron *Bacillus cereus*, *Enterobacter quasiormaechei*, *Serratia marcescens* y *Streptococcus mobilis* (Figura 13). Las cepas MDR en aerosoles fueron a *Bacillus cereus*, *Staphylococcus hominis* y *Faucicola osloensis* (Figura 14).

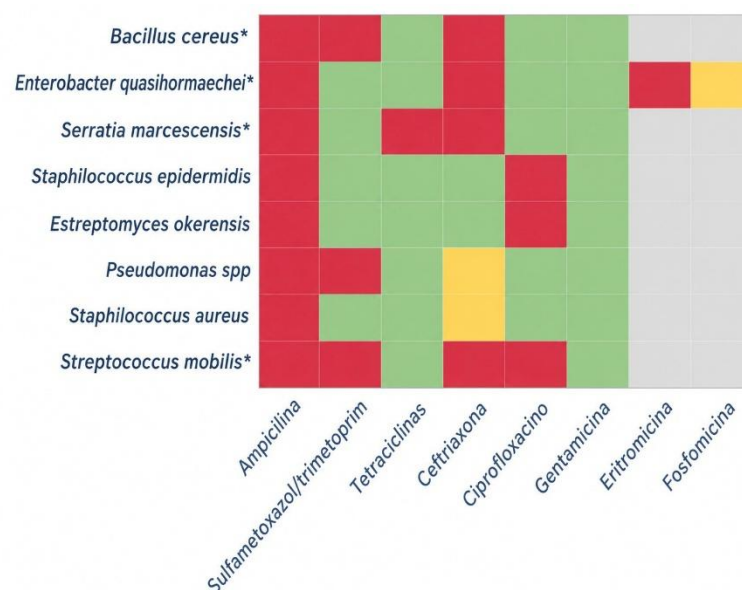


Figura 13. Mapa de calor de los perfiles de susceptibilidad antimicrobiana obtenidos para los aislamientos bacterianos identificados a partir de las muestras de LBA. El color rojo indica resistencia al antibiótico, el amarillo corresponde a sensibilidad aumentada a la exposición (categoría intermedia o sensible con incremento de la exposición) y el color verde indica sensibilidad al antimicrobiano. Los asteriscos señalan las cepas MDR.

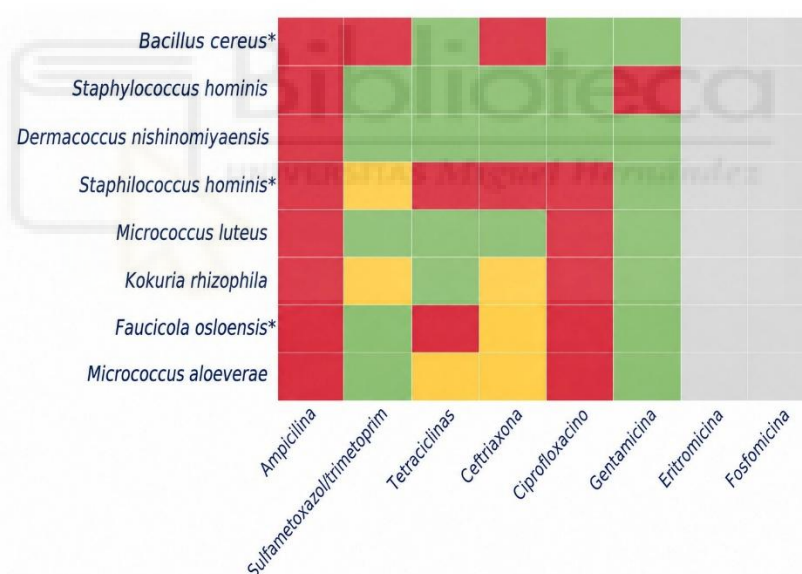


Figura 14. Mapa de calor de los perfiles de susceptibilidad antimicrobiana obtenidos para los aislamientos bacterianos identificados a partir de las muestras de aerosoles. El color rojo indica resistencia al antibiótico, el amarillo corresponde a sensibilidad aumentada a la exposición (categoría intermedia o sensible con incremento de la exposición) y el color verde indica sensibilidad al antimicrobiano. Los asteriscos señalan las cepas MDR.

En cuanto a las coincidencias en los perfiles de resistencia a antimicrobianos entre los aislados en LBA y los aislados en los bioaerosoles, solo hemos encontrado en un paciente donde se aisló *Bacillus cereus* en ambos tipos de muestras y con el mismo patrón de resistencias antibióticos (Figura 15).



Figura 15. Antibiograma de *Bacillus cereus* aislado de LBA (izq.) y del bioaerosol (dcha.).

Los resultados de los antibiogramas mostraron un perfil de resistencia igual en ambos aislamientos. Concretamente, las cepas fueron resistentes a ampicilina, ceftriaxona y sulfametoxazol-trimetoprim, mientras que presentaron sensibilidad frente a ciprofloxacino, gentamicina y tetraciclina. Esta coincidencia tanto en la identificación microbiológica como en el perfil de resistencia sugiere una posible relación entre los microorganismos presentes en el árbol respiratorio del paciente y aquellos detectados en los bioaerosoles generados durante la broncoscopia.

4.4 Relación entre los microorganismos y el perfil de resistencia en función de la clínica de los pacientes.

Se observó que 13 de los 15 pacientes presentaron al menos un aislamiento resistente a ampicilina, y cuatro pacientes albergaron microorganismos multirresistentes. Las muestras donde se identificaron las bacterias MDR (*Bacillus cereus*, *Enterobacter quasiormaechei*, *Serratia marcescens* y *Streptococcus mobilis*) correspondían a pacientes con distintos diagnósticos clínicos, incluyendo neumonía, cáncer de pulmón e infiltrado pulmonar. Asimismo, la mayoría de los pacientes con aislamientos resistentes habían recibido tratamiento antibiótico previo o se encontraban bajo tratamiento antimicrobiano en el momento de la broncoscopia (Tabla 6). No se realizaron análisis estadísticos debido al reducido tamaño muestral.

Tabla 6. Relación entre datos demográficos, diagnóstico clínico, tratamiento y RAM

Nº	Sexo	Tabaco	Diagnóstico clínico	Corticoides	Antimicrobiano previo	Antibiótico	¿AMP R en LBA?	¿MDR en LBA?	Especies MDR	Antibióticos Resistentes
1 H	Exfum	Neumonía	Si	Si		Meropenem	Si	Si	<i>Bacillus cereus</i>	Ampicilina, Ceftriaxona y Sulfametoxazol
3 H	Exfum	Neumonía	Si	Si		Ciprofloxacino + amoxicilina/clavulánico	Si	Si	<i>Enterobacter quasihormaechei</i>	Ampicilina, Eritromicina y Ceftriaxona
4 H	Exfum	Cáncer de pulmón	No	No			Si	Si	<i>Serratia marcescens</i>	Ampicilina, Tetraciclinas y Ceftriaxona
5 H	Exfum	Asma	No	Si		Azitromicina	Si	No		
6 H	No	Neumonía	No	Si		Amoxicilina/clavulánico	No	No		
7 H	Exf	Cáncer pulmón	No	No			Si	No		
8 H	Exfum	Neumonía	No	Si		Ceftriaxona + azitromicina	Si	No		
9 M	No	Cáncer de pulmón	No	No			Si	No		
10 M	No	Cáncer pulmón	No	No			Si	No		
11 M	No	Neumonía	Si	No			Si	No		
12 H	Exfum	Cáncer pulmón	Si	No			Si	No		
13 M	Exfum	EPOC	Si	No			Si	No		
14 M	No	Cáncer pulmón	No	No			No	No		
15 M	Exfum	Bronquiectasia	Si	Si		Meropenem	Si	No		
16 M	Fum	Infiltrado pulmonar	No	Si		Levofloxacino	Si	Si	<i>Streptococcus mobilis</i>	Ampicilina, Ceftriaxona, Ciprofloxacino y Sulfametoxazol

5. Discusión

El presente estudio tuvo como objetivo caracterizar la microbiota y los perfiles de resistencia a los antimicrobianos presentes en bioaerosoles generados durante broncoscopias y compararlos con los detectados en muestras de LBA. Los resultados obtenidos confirman la presencia de una elevada diversidad microbiana tanto en las muestras clínicas como en los aerosoles recogidos durante el procedimiento, incluyendo microorganismos pertenecientes a géneros descritos habitualmente en el microbioma respiratorio humano y otros asociados a infecciones oportunistas o nosocomiales.

La carga microbiana detectada en los bioaerosoles durante las broncoscopias confirma que este procedimiento genera aerosoles con microorganismos viables. Estos resultados son consistentes con los descritos por Gómez-Sánchez et al., [41] quienes estimaron una exposición media de 98,94 UFC/m³ durante la broncoscopia y observaron un incremento de la carga microbiana respecto a las muestras ambientales previas al procedimiento, reforzando el papel de la broncoscopia como procedimiento generador de bioaerosoles y el potencial riesgo de exposición para el personal sanitario.

Uno de los hallazgos más relevantes fue la recuperación de 145 aislamientos microbiológicos, de los cuales 134 correspondieron a bacterias y 11 a hongos. La presencia predominante de géneros como *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Streptomyces*, *Pseudomonas* o *Enterobacter* coincide con estudios previos que describen una elevada diversidad bacteriana en las vías respiratorias y en los bioaerosoles

hospitalarios, así como la detección de hongos pertenecientes a los géneros *Aspergillus*, *Candida*, y *Fusarium* [33].

Respecto a la resistencia antimicrobiana, el 39,6 % de los aislamientos bacterianos resultaron resistentes a la ampicilina y aproximadamente el 6 % presentaron un perfil de multirresistencia. Estos resultados ponen de manifiesto que los microorganismos resistentes forman parte tanto de la microbiota respiratoria de los pacientes como de los bioaerosoles. Aunque la resistencia a β -lactámicos es un fenómeno ampliamente descrito en microorganismos ambientales y clínicos, la detección de cepas multirresistentes en aerosoles adquiere especial relevancia debido a su potencial papel en la diseminación de resistencias dentro del entorno hospitalario.

Los microorganismos multirresistentes identificados pertenecieron a géneros con una reconocida importancia clínica, como *Enterobacter*, *Serratia* y *Bacillus*. En particular, la identificación de *Enterobacter quasihormaechei* y *Serratia marcescens* resulta de interés debido a que ambas especies han sido descritas como patógenos oportunistas asociados a infecciones nosocomiales y poseen una elevada capacidad para adquirir y mantener mecanismos de resistencia antimicrobiana. La detección de estas especies en pacientes sometidos a broncoscopia refuerza la importancia de la vigilancia microbiológica en procedimientos respiratorios invasivos.

Uno de los resultados más interesantes del estudio fue la coincidencia observada en el paciente 1, en el que se identificó *Bacillus cereus* tanto en la muestra de LBA como en la muestra de aerosoles, presentando además perfiles de resistencia similares. Aunque este hallazgo no permite demostrar de forma concluyente una transmisión directa, sí constituye una evidencia preliminar de que algunos microorganismos presentes en el árbol respiratorio inferior pueden ser aerosolizados durante la broncoscopia y alcanzar el entorno inmediato del personal sanitario. Este resultado es coherente con trabajos previos que han demostrado incrementos significativos de la carga microbiana ambiental durante procedimientos broncoscópicos [42].

Por otra parte, la mayoría de los pacientes incluidos en el estudio recibían tratamiento antibiótico, corticoideo o ambos. Este hecho debe tenerse en cuenta al interpretar los resultados microbiológicos, ya que la exposición previa a antimicrobianos puede modificar la composición de la microbiota respiratoria y favorecer la selección de microorganismos resistentes.

La relación entre el diagnóstico clínico y los hallazgos microbiológicos mostró que los aislamientos de microorganismos potencialmente patógenos fueron más frecuentes en pacientes con neumonía o cáncer de pulmón, mientras que en pacientes con EPOC, bronquiectasias o asma predominó la

detección de microbiota habitual. Estos resultados sugieren que la presencia de microorganismos resistentes o potencialmente patógenos puede estar relacionada con la enfermedad subyacente y con la exposición previa a tratamientos antimicrobianos.

No obstante, el estudio presenta algunas limitaciones. En primer lugar, el tamaño muestral fue reducido, lo que limita la capacidad para establecer asociaciones estadísticas robustas entre variables clínicas y microbiológicas. En segundo lugar, la identificación de microorganismos se basó en una secuencia parcial del gen 16S rRNA (V1-V3), aunque esta metodología permite una identificación fiable del género y, en muchos casos, de la especie, algunas identificaciones específicas deben considerarse presuntivas y requerirían técnicas de mayor resolución para su confirmación. Al basarse el estudio fundamentalmente en métodos de cultivo, es posible que parte de la diversidad microbiana presente en las muestras no haya sido detectada. Finalmente, la coincidencia observada entre microorganismos aislados en LBA y aerosoles se evaluó mediante identificación fenotípica y perfiles de resistencia, pero no mediante técnicas moleculares de alta resolución que permitieran confirmar la identidad clonal de los aislamientos.

A pesar de estas limitaciones, este trabajo aporta evidencia sobre la presencia de microorganismos resistentes y multirresistentes en los bioaerosoles generados durante broncoscopias, apoyando la hipótesis de que estos procedimientos pueden contribuir a la dispersión de microorganismos procedentes de las vías respiratorias de los pacientes. Los resultados obtenidos refuerzan la necesidad de continuar investigando el papel de los bioaerosoles hospitalarios en la epidemiología de la resistencia antimicrobiana y en la protección de los profesionales sanitarios expuestos a este tipo de procedimientos.

6. Conclusiones y proyección futura

6.1 Conclusiones

- Se evidenció una elevada diversidad microbiana en las muestras de LBA y en los bioaerosoles generados durante las broncoscopias, con un total de 145 aislamientos bacterianos y fúngicos.
- Los bioaerosoles mostraron un predominio marcado de bacterias Gram positivas, especialmente del género *Staphylococcus*. Mientras que en los hongos destacó *Aspergillus*.
- Se detectó una elevada proporción de aislamientos resistentes a ampicilina, representando aproximadamente el 40 % de los aislamientos bacterianos obtenidos.

- Un 4,5% de los aislamientos presentaron perfiles de multirresistencia, incluyendo especies de relevancia clínica como *Enterobacter quasihormaechei* y *Serratia marcescens*, lo que refuerza la preocupación por la propagación de cepas resistentes en entornos clínicos.
- La coincidencia de *Bacillus cereus* entre LBA y bioaerosol con perfiles de resistencia similares en ambas matrices, es compatible con una posible aerosolización de microorganismos procedentes del árbol respiratorio durante la broncoscopia.
- Son necesarios estudios con un mayor número de pacientes y el empleo de técnicas moleculares de alta resolución para confirmar la relación entre los microorganismos presentes en las vías respiratorias y aquellos detectados en los bioaerosoles hospitalarios.

6.2 Proyección futura

El presente trabajo constituye un estudio preliminar dentro de un proyecto de investigación más amplio centrado en la evaluación del riesgo de transmisión de patógenos y genes de resistencia a través de bioaerosoles en entornos clínicos. Los resultados obtenidos han permitido validar la metodología de muestreo y procesamiento de muestras de bioaerosoles y lavado broncoalveolar, así como demostrar la presencia de microorganismos resistentes y multirresistentes en ambas matrices.

Como continuación de esta línea de investigación, se prevé ampliar el número de pacientes y de muestras analizadas con el fin de obtener una mayor potencia estadística y determinar con mayor precisión la relación entre los microorganismos presentes en el árbol respiratorio y aquellos detectados en los bioaerosoles generados durante las broncoscopias.

Además, el proyecto incorporará técnicas de biología molecular, incluyendo PCR, secuenciación de librerías y secuenciación genómica, para la identificación de genes de resistencia antimicrobiana y de elementos genéticos móviles implicados en su transferencia horizontal. Estas herramientas permitirán confirmar la relación genética entre los aislamientos detectados en las muestras clínicas y ambientales, así como evaluar la posible dispersión de genes de resistencia a través de los bioaerosoles.

Para profundizar en la búsqueda de microorganismos resistentes con el objetivo de mejorar la protección del personal sanitario se deberían considerar otras pruebas invasivas donde se producen bioaerosoles como por ejemplo las gastroscopias. También sería interesante evaluar la persistencia temporal de los microorganismos en el aire en las salas tras la realización de estos procedimientos médicos invasivos. Con todo esto se lograría obtener una visión más representativa y ampliada de la diversidad microbiana, de los perfiles de resistencia y del riesgo de exposición profesional.

Y por último estudiar la viabilidad de los microorganismos en el aire y su capacidad de diseminación en distintos contextos clínicos podría ofrecer información valiosa para implementar medidas de control más eficaces con el fin de reducir el riesgo tanto para el personal sanitario como para los pacientes que vayan a ingresar o que se encuentren en el hospital.

7 Bibliografía

[1] World Health Organization. **WHO warns of widespread resistance to common antibiotics worldwide.** La OMS advierte sobre una resistencia generalizada a los antibióticos comunes en todo el mundo

[2] World Health Organization. *Global antibiotic resistance surveillance report 2025*. Geneva: WHO; 2025. content

[3] GBD 2021 Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–2021: a systematic analysis with forecasts to 2050. *The Lancet*. 2024;404(10459):1199–1226. doi:10.1016/S0140-6736(24)01867-1.

[4] Kapoor, Garima; Saigal, Saurabh; Elongavan, Ashok. Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. *Journal of Anaesthesiology Clinical Pharmacology* 33(3):p 300-305 – Sep 2017. | https://doi.org/10.4103/joacp.JOACP_349_15

[5] Muteeb, G.; Rehman, M.T.; Shahwan, M.; Aatif, M. Origin of Antibiotics and Antibiotic Resistance, and Their Impacts on Drug Development: A Narrative Review. *Pharmaceuticals* 2023, 16, 1615. <https://doi.org/10.3390/ph16111615>

[6] World Health Organization: WHO. (2025, 24 abril). Resistencia a los antimicrobianos. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>

[7] Munita, J. M., & Arias, C. A. (2016). Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiology spectrum*,4(2),10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015>

[8] Medlineplus, enciclopedia médica, (2025, 24 abril) Resistencia a los antibióticos, <https://medlineplus.gov/spanish/ency/patientinstructions/000957.htm>

[9] Tao, Shuan, Chen, Huimin, Li, Na, Wang, Tong, Liang, Wei, The Spread of Antibiotic Resistance Genes In Vivo Model, *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*, 2022, 3348695, 11 pages, 2022. | <https://doi.org/10.1155/2022/3348695>

[10] Soucy, S. M., Huang, J., & Gogarten, J. P. (2015). Horizontal gene transfer: building the web of life. *Nature reviews. Genetics*, 16(8), 472–482. [Horizontal gene transfer: building the web of life](#)

[11] Nicole A. Lermينياux and Andrew D.S. Cameron. 2019. Horizontal transfer of antibiotic resistance genes in clinical environments. *Canadian Journal of Microbiology*. 65(1): 34-44. <https://doi.org/10.1139/cjm-2018-0275>

[12] von Wintersdorff, C. J., Penders, J., van Niekerk, J. M., et al. (2016). Dissemination of Antimicrobial Resistance in Microbial Ecosystems through Horizontal Gene Transfer. *Frontiers in microbiology*, 7, 173. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00173>

[13] Vernikos, G., Medini, D. (2014). Horizontal Gene Transfer and the Role of Restriction-Modification Systems in Bacterial Population Dynamics. In: Pontarotti, P. (eds) *Evolutionary Biology: Genome Evolution, Speciation, Coevolution and Origin of Life*. Springer, Cham. [Horizontal gene transfer: building the web of life | Nature Reviews Genetics](#)

[14] Zhang S, Huang J, Zhao Z, Cao Y, Li B. Hospital Wastewater as a Reservoir for Antibiotic Resistance Genes: A Meta-Analysis. *Front Public Health*. 2020 Oct 28;8:574968. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.574968>

[15] Saadoun I, Jaradat ZW, Tayyar IAA, Nasser ZE, Ababneh Q. Airborne methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the indoor environment of King Abdullah University Hospital, Jordan. *Indoor and Built Environment*. 2014;24(3):315-323. doi:10.1177/1420326X14526604 [Airborne methicillin-resistant Staphylococcus aureus in the indoor environment of King Abdullah University Hospital, Jordan - Ismail Saadoun, Ziad W. Jaradat, Ibraheem Ali Al Tayyar, Ziad El Nasser, Qotaibah Ababneh, 2015](#)

[16] Xu L, Ouyang W, Qian Y, Su C, Su J, Chen H. High-throughput profiling of antibiotic resistance genes in drinking water treatment plants and distribution systems. *Environ Pollut*. 2016 Jun;213:119-126. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.02.013>

[17] Guo J, Li J, Chen H, Bond PL, Yuan Z. Metagenomic analysis reveals wastewater treatment plants as hotspots of antibiotic resistance genes and mobile genetic elements. *Water Res*. 2017 Oct 15;123:468- 78. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.07.002>

[18] World Health Organization. *New global guidance aims to curb antibiotic pollution from manufacturing*. Geneva: WHO; 3 September 2024. [New global guidance aims to curb antibiotic pollution from manufacturing](#)

[19] Zhu YG, Johnson TA, Su JQ, Qiao M, Guo GX, Stedtfeld RD, Hashsham SA, Tiedje JM. Diverse and abundant antibiotic resistance genes in Chinese swine farms. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2013;110(9):3435–3440. doi:10.1073/pnas.1222743110. [Diverse and abundant antibiotic resistance genes in Chinese swine farms | PNAS](#)

[20] Bougnom BP, Thiele-Bruhn S, Ricci V, Zongo C, Piddock LJV. Raw wastewater irrigation for urban agriculture in three African cities increases the abundance of transferable antibiotic resistance genes in soil, including those encoding extended spectrum β -lactamases (ESBLs). *Sci Total Environ*. 2020 Jan 1;698:134201. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134201>

[21] Han B, Ma L, Yu Q, Yang J, Su W, Hilal MG, Li X, Zhang S, Li H. The source, fate and prospect of antibiotic resistance genes in soil: A review. *Front Microbiol*. 2022 Sep 23;13:976657. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.976657>

[22] Centers for Disease Control and Prevention. *MDRO Prevention and Control*. Updated 2024. [MDRO Prevention and Control | Infection Control | CDC](#)

[23] World Health Organization. *One Health*. Geneva: World Health Organization; s. f. Disponible en: https://www.who.int/health-topics/one-health#tab=tab_1 [consultado el 22 de junio de 2026].

[24] National Institute for Occupational Safety and Health. *Aerosols in the Workplace*. Centers for Disease Control and Prevention; 2024. Disponible en: <https://www.cdc.gov/niosh/aerosols/about/index.html> [consultado el 22 de junio de 2026].

[25] Ghosh B, Lal H, Srivastava A. Review of bioaerosols in indoor environment with special reference to sampling, analysis and control mechanisms. *Environment International*. 2015;85:254–272. doi:10.1016/j.envint.2015.09.018.

[26] Habibi, N., Uddin, S., Behbehani, M., Mustafa, A. S., Al-Fouzan, W., Al-Sarawi, H. A., Safar, H., Alatar, F., & Al Sawan, R. M. Z. (2024). Aerosol-Mediated Spread of Antibiotic Resistance Genes: Biomonitoring Indoor and Outdoor Environments. *International journal of environmental research and public health*, 21(8), 983. <https://doi.org/10.3390/ijerph21080983>

[27] Physiology News Magazine: Air pollution and me (2025, 6 abril) <https://www.physoc.org/magazine-articles/air-pollution-and-me/>

[28] Patterson, B., Dinkele, R., Gessner, S., et al. (2024). Aerosolization of viable *Mycobacterium tuberculosis* bacilli by tuberculosis clinic attendees independent of sputum-Xpert Ultra status. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 121(12), e2314813121. <https://doi.org/10.1073/pnas.2314813121>

[29] Leal, J., Farkas, B., Mastikhina, L., et al. (2022). Risk of transmission of respiratory viruses during aerosol-generating medical procedures (AGMPs) revisited in the COVID-19 pandemic: a systematic review. *Antimicrobial resistance and infection control*, 11(1), 102. [R](#)

[30] Zhang H, Deng D, Li S, et al. Clinical impact of metagenomic next-generation sequencing of bronchoalveolar lavage fluids for the diagnosis of pulmonary infections in respiratory intensive care units. *Heliyon*. 2024;10:e35287. doi:10.1016/j.heliyon.2024.e35287. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11336462>

[31] Peng Z, Jin X, Zhuo C, et al. Pathogenic characteristics of sputum and bronchoalveolar lavage fluid samples from patients with lower respiratory tract infection in a large teaching hospital in China: a retrospective study. *BMC Pulm Med*. 2020;20:233. doi:10.1186/s12890-020-01275-8.

[32] National Cancer Institute. *Bronchoscopy procedure* [ilustración en Internet]. SEER Training Modules; [citado 24 jun 2026]. Disponible en: <https://training.seer.cancer.gov/abstracting/procedures/manipulative/>

[33] Kreitmann L, et al. Ventilator-Associated Pneumonia in Immunosuppressed Patients. *Antibiotics*. 2023. Ventilator-Associated Pneumonia in Immunosuppressed Patients

[34] Davidson KR, Ha DM, Schwarz MI, Chan ED. Bronchoalveolar lavage as a diagnostic procedure: a review of known cellular and molecular findings in various lung diseases. *Journal of Thoracic Disease* 2020.

[35] Li, R., Li, J., & Zhou, X. (2024). Lung microbiome: new insights into the pathogenesis of respiratory diseases. *Signal transduction and targeted therapy*, 9(1), 19.

[36] Zhou, Z.-C., Liu, Y., Lin, Z.-J., Shuai, X.-Y., Zhu, L., Xu, L., Meng, L.-X., Sun, Y.-J., & Chen, H. (2021). Spread of antibiotic resistance genes and microbiota in airborne particulate matter, dust, and human airways in the urban hospital. *Environment International*, 153, 106501. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106501>

[37] Khan, B.A., Roy, S., Tahsin, N. et al. Antibiotic resistance of bioaerosols in particulate matter from indoor environments of the hospitals in Dhaka Bangladesh. *Sci Rep* 14, 29884 (2024). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-81376-0>

[38] Habibi, N., Uddin, S., Behbehani, M., Mustafa, A. S., Al-Fouzan, W., Al-Sarawi, H. A., Safar, H., Alatar, F., & Al Sawan, R. M. Z. (2024). Aerosol-Mediated Spread of Antibiotic Resistance Genes: Biomonitoring Indoor and Outdoor Environments. *International journal of environmental research and public health*, 21(8), 983. <https://doi.org/10.3390/ijerph21080983>

[39] Liu Y, Wang Y, Hao C, et al. Pathogenic bacteria and antibiotic resistance genes in hospital indoor bioaerosols: pollution characteristics, interrelation analysis, and inhalation risk assessment. *Environmental Pollution*. 2025;126243.

[40] Cytiva Filtros para muestreo de aire de cuarzo Whatman (2025, 14 abril)
<https://www.fishersci.es/shop/products/whatman-quartz-air-sampling-filters-grade-qm-a-circle/11363345>

[41] Gómez-Sánchez N, Alcalde L, Sancho-Chust JN, Boira I, Gálvez B, Esteban V, Chiner E, Yubero E, Colom MF, Ferrer C. Risk of exposure to bioaerosols in clinical environments: Bronchoscopy. *Am J Infect Control*. 2026 May;54(5):559-564. doi: 10.1016/j.ajic.2025.11.026. Epub 2025 Dec 5. PMID: 41352485.

[42] Liu Y, Du J, Lai Q, et al. Genomic insights into the taxonomic status of the *Bacillus cereus* group. *Scientific Reports*. 2015;5:14082. doi:10.1038/srep14082.

