



Información del artículo

Fecha de recibido

3 de agosto del 2023

Fecha de aprobado

25 de septiembre del 2023

Correspondencia

Katty León Cabanillas
emailkattyleoncab@gmail.com

Conflictos de interés

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

Contribuciones de autoría

KVLC participó en la conceptualización, curación de datos, análisis formal, investigación, metodología, administración del proyecto, visualización y redacción - borrador original del artículo. EDSGR y JPG participaron en la validación, supervisión y redacción - revisión y edición. KVLC, EDSGR y JPG participaron en la revisión crítica del artículo y aprobaron la versión final del manuscrito.

Financiamiento

Autofinanciado

Citar como: León Cabanillas KV, Goicochea Ríos ES, Polo Gamboa J. Efecto de la combinación del aceite esencial de *Calendula officinalis* y clotrimazol sobre *Candida albicans* resistente a fluconazol, *in vitro*. Rev Peru Med Integrativa. 2023; 8(2).

Efecto de la combinación del aceite esencial de *Calendula officinalis* y clotrimazol sobre *Candida albicans* resistente a fluconazol, *in vitro*

Effect of the combination of *Calendula officinalis* essential oil and clotrimazole on fluconazole-resistant *Candida albicans*, *in vitro*

Katty Vanessa León Cabanillas^{1,a}, Evelyn del Socorro Goicochea Ríos^{1,b},
Jaime Polo Gamboa^{1,c}

¹ Universidad César Vallejo, Lima, Perú

² Facultad de Medicina Humana, Universidad César Vallejo. Lima, Perú.

^a Médico Cirujano

^b Doctor en Educación, especialista en Medicina Familiar

^c Microbiólogo

RESUMEN

El **objetivo** de esta investigación es determinar el efecto antifúngico de la combinación de aceite esencial (AE) de *Calendula officinalis* al 100% y clotrimazol a 50ug sobre *Candida albicans* resistente a fluconazol. Estudio experimental en cepas cultivadas en Agar Sabouraud. Se establecieron cuatro grupos: 1) AE al 100% de *Calendula officinalis* (AECO), 2) AECO combinado con clotrimazol 50ug, 3) clotrimazol solo, y 4) agua destilada. La eficacia antifúngica se evaluó midiendo los halos de inhibición post-tratamiento mediante el método Kirby-Bauer, seguido por el análisis con ANOVA y pruebas post hoc de Bonferroni. La combinación de AECO y clotrimazol mostró un halo de inhibición de 24,20 mm, superando al AECO solo (13,30 mm) y al clotrimazol solo (23,90 mm), pero sin mostrar una mejora estadísticamente significativa frente a este último ($p>0,999$). En **conclusión**, AECO combinado con clotrimazol mostró efecto antifúngico contra *Candida albicans* resistente a fluconazol, similar a Clotrimazol solo.

Palabras Clave: *Calendula officinalis*, *Candida albicans*, Clotrimazol, aceite esencial (Fuente: DeCS – BIREME).

ABSTRACT

The **aim** of this research is to determine the antifungal effect of the combination of 100% *Calendula officinalis* essential oil (EO) and clotrimazole at 50ug on fluconazole-resistant *Candida albicans*. An experimental study was conducted on strains cultured in Sabouraud Agar. Four groups were established: 1) 100% *Calendula officinalis* EO (COEO), 2) COEO combined with clotrimazole 50ug, 3) clotrimazole alone, and 4) distilled water. Antifungal efficacy was assessed by measuring post-treatment inhibition halos using the Kirby-Bauer method, followed by ANOVA analysis and Bonferroni post hoc tests. The combination of COEO and clotrimazole showed an inhibition halo of 24.20 mm, surpassing COEO alone (13.30 mm) and clotrimazole alone (23.90 mm), but without showing statistically significant improvement over the latter ($p>0.999$). In **conclusion**, COEO combined with clotrimazole demonstrated an antifungal effect against fluconazole-resistant *Candida albicans*, akin to clotrimazole alone.

Key Words: *Calendula officinalis*, *Candida albicans*, Clotrimazole, essential oil. (Source: MeSH MLN)

INTRODUCCIÓN

En el ámbito ginecológico global, las consultas frecuentes por prurito vaginal y leucorrea están estrechamente vinculadas con las infecciones vaginales, afectando significativamente la calidad de vida de las pacientes ^[1]. Una de las infecciones más comunes es la candidiasis vulvovaginal (CVV), que afecta al 70-75% de las mujeres

en edad reproductiva ^[2]. Además, la recurrencia de esta patología es común, con un 40-50% de las mujeres experimentando episodios recurrentes ^[2]. La falta de diagnóstico y tratamientos efectivos también contribuye a la resistencia microbiana, lo que complica aún más la elección terapéutica ^[1]. En el contexto peruano, las infecciones vaginales, como la CVV u otras, son problemas de salud predominantes, pero no existen datos actualizados sobre su prevalencia e incidencia ^[3]

Candida albicans es el principal agente etiológico de CVV, y la disminución transitoria de la inmunidad vaginal puede favorecer su proliferación. La resistencia al tratamiento convencional, especialmente a fluconazol, es un problema emergente. En este contexto, la medicina tradicional peruana recurre a su vasta biodiversidad vegetal para buscar tratamientos efectivos. La *Calendula officinalis* es una planta que ha mostrado propiedades antifúngicas ^[4], y se ha utilizado en diferentes contextos clínicos, incluida la dermatología y en el tratamiento de la vaginosis bacteriana ^[5].

A pesar de la promesa que muestra la *Calendula officinalis*, su efecto sinérgico con fármacos convencionales como el clotrimazol en el tratamiento de cepas de *Candida albicans* resistentes a fluconazol no es del todo conocido. Dado que la resistencia a antimicóticos está aumentando y que el Perú posee una rica biodiversidad, es crucial investigar tratamientos alternativos basados en recursos naturales, validados a través de métodos científicos ^[6], ^[7].

El objetivo principal de este estudio es determinar el efecto sinérgico antifúngico del aceite esencial de *Calendula officinalis* y clotrimazol a 50ug en cepas de *Candida albicans* resistentes a fluconazol. Los objetivos específicos incluyen la evaluación del efecto antifúngico individual del aceite esencial de *Calendula officinalis* y del clotrimazol a 50ug, así como su efecto combinado en cepas resistentes a fluconazol.

MÉTODOS

Estudio experimental realizado en el laboratorio clínico "San José", ubicado en la ciudad de Trujillo. La población estuvo compuesta por las cepas de *Candida albicans* resistente a fluconazol cultivada en Agar Sabouraud. Las cepas fueron adquiridas de un laboratorio especializado, que las tuvo previamente aisladas y conservadas en óptimas condiciones. La unidad de análisis fue cada colonia. Se formaron cuatro grupos: uno tratado con aceite esencial (AE) de *Calendula officinalis* al 100%, otro con la combinación de AE de *Calendula officinalis* al 100% junto a clotrimazol 50ug, el tercero consistió en clotrimazol 50ug y, el cuarto, un grupo blanco al que se le aplicó agua destilada. Se incluyeron las placas con cultivos puros y cultivadas en 24 horas. Se excluyeron del estudio las placas contaminadas.

El AE de *Calendula officinalis* al 100% fue obtenido de manera comercial de laboratorios Ekala, siendo extraído mediante destilación por arrastre de vapor de las partes aéreas de la planta, con número de lote 2904-SNN-2020 y disposición de certificado de pureza que constaba una gravedad específica de 0,916, una rotación óptica de +1° y un índice de refracción de 1,476. El clotrimazol fue obtenido de laboratorios Laboratorio Portugal, bajo normativas de calidad y pureza estandarizadas.

Siguiendo estrictamente las normas de bioseguridad estipuladas por la Organización Mundial de la Salud (OMS), se llevó a cabo una evaluación del desarrollo fúngico de cepas de *Candida albicans* resistentes a fluconazol, empleando el método de Kirby-Bauer en placas Petri. Inicialmente, se prepararon las placas con Agar Sabouraud como medio de cultivo. Se preparó el inóculo vertiendo 3ml de solución salina fisiológica en un tubo de ensayo, al que se añadió la cepa de *Candida albicans*, ajustándose a una turbidez de 0.5 en la escala de McFarland, asegurando así una adecuada suspensión. Posteriormente, se procedió a sembrar este inóculo en las placas preparadas.

Se prepararon papeles filtro impregnados con los antifúngicos a estudiar, y se colocaron en las placas que ya habían sido inoculadas con la cepa resistente a fluconazol de *Candida albicans*. A continuación, las placas se incubaron a una temperatura de 33-37°C durante 48 horas. Transcurrido este tiempo, se procedió a la medición de los halos de inhibición formados alrededor de los papeles filtro, para determinar la efectividad de cada agente antifúngico frente a las cepas resistentes a fluconazol. Cada halo de inhibición fue meticulosamente medido y registrado junto con el número de muestra correspondiente, permitiendo así evaluar la susceptibilidad del hongo a las distintas sustancias antifúngicas analizadas.

Para el análisis de los datos recabados, se empleó estadística descriptiva, utilizando medidas de tendencia central, con el objetivo de caracterizar el halo de inhibición en cada tratamiento. Adicionalmente, se implementó estadística inferencial para validar hipótesis, recurriendo al ANOVA para determinar si existen diferencias significativas entre las medias y varianzas de los halos de inhibición de los diferentes tratamientos. Posteriormente, se aplicó la prueba post hoc de Tukey para discernir cuál tratamiento fue el más efectivo, comparando los distintos grupos en estudio. El análisis se efectuó utilizando el software SPSS versión 25.0.

En el transcurso de esta investigación, se observaron rigurosamente los principios éticos, contando con la aprobación institucional adecuada. Se aseguró el respeto por la biodiversidad y el medio ambiente en todas las fases del estudio, implementando prácticas sostenibles y éticas para la obtención y uso de los recursos naturales involucrados.

RESULTADOS

Tabla 1. Medida en milímetros del halo de inhibición de los diferentes grupos de tratamiento frente a *Candida albicans* resistentes a fluconazol.

Grupos de estudio	n	Media (mm)	Desviación estándar	Error estándar	IC95%	Mínimo	Máximo
AECO	10	13,30	1,252	0,396	12,40 - 14,20	11	15
AECO+C	10	24,20	1,033	0,327	23,46 - 24,94	22	25
C	10	23,90	0,994	0,314	23,19 - 24,61	22	25
AD	10	0	0	0	0-0	0	0

IC95%: Intervalo de confianza al 95%. AECO: Aceite esencial de *Calendula officinalis* al 100%. AECO+C: Aceite esencial de *Calendula officinalis* al 100% + Clotrimazol 50ug. C: Clotrimazol 50ug. AD: Agua destilada

La Tabla 1 muestra que el grupo AECO+C logró una media de inhibición de 24,20 mm con una desviación estándar de 1,033. El grupo C alcanzó una media de 23,90 mm con una desviación estándar de 0,994. Por otro lado, AECO tuvo un halo medio de inhibición de 13,30 mm con una desviación estándar de 1,252, mientras que AD no mostró actividad antifúngica, con media y desviación estándar de 0. La comparación de las medias de mm de inhibición de todos los grupos usando ANOVA arrojó un valor de $p < 0,001$.

La Tabla 2 y Figura 1, se detallan las comparativas de las medias de los halos de inhibición entre diferentes grupos de tratamiento mediante la prueba post hoc de Bonferroni. Se observa una diferencia significativa entre los grupos AECO+C y AECO, con una media de diferencia de 10,9 mm ($p < 0,001$). Aunque los grupos AECO+C y C muestran diferencias en sus medias de halo de inhibición (24,20 mm y 23,90 mm respectivamente), esta diferencia de -0,3 mm no fue estadísticamente significativa ($p > 0,999$). Finalmente, comparando los grupos tratados (AECO, AECO+C, y C) con el grupo control (AD), se observa una diferencia significativa.

Tabla 2. Diferencia de las medias de mm del halo de inhibición por grupo y su comparación con la prueba post hoc de Bonferroni.

Media de la fila - media de la columna	AECO	AECO+C	C
AECO+C	10,9		
Valor de p	<0,001		
C	10,6	-0,3	
Valor de p	<0,001	>0,999	
AD	-13,3	-24,2	-23,9
Valor de p	<0,001	<0,001	<0,001

AECO: Aceite esencial de *Calendula officinalis*. AECO+C: Aceite esencial de *Calendula officinalis* + Clotrimazol. C: Clotrimazol. AD: Agua destilada

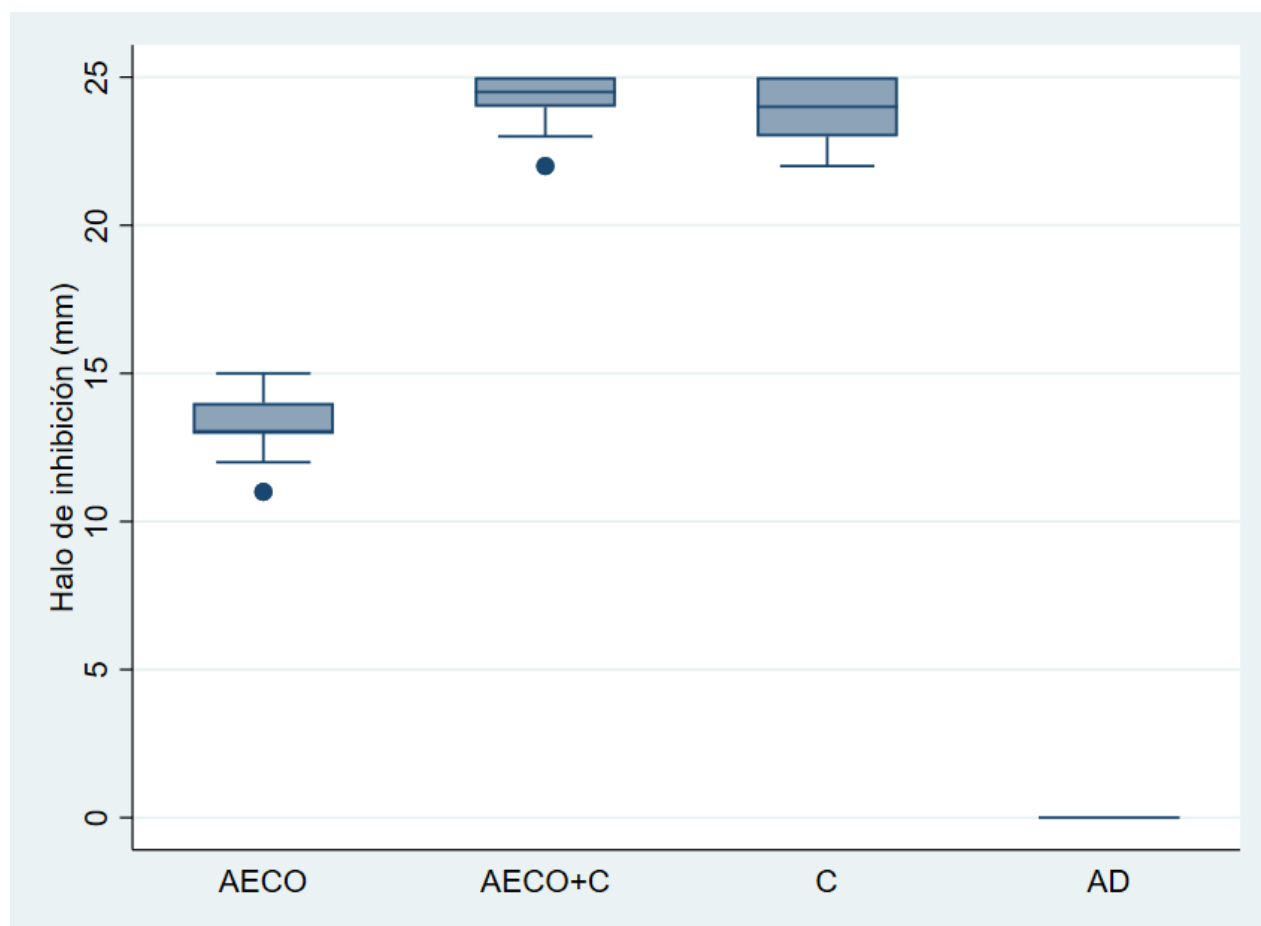
DISCUSIÓN

Ante la prevalente y subdiagnosticada problemática global de la CVV, que impacta significativamente la calidad de vida y genera resistencia patógena, este estudio emerge desde el biodiverso contexto peruano, un territorio que además de no ser ajeno a dicha patología, se caracteriza por su riqueza botánica y prácticas persistentes de medicina tradicional. En particular, se centra en la *Calendula officinalis*, ya reconocida por sus propiedades antimicrobianas y cicatrizantes, explorando su potencial sinérgico antifúngico con el Clotrimazol contra *Candida albicans* resistente a fluconazol, en respuesta a la urgente llamada para descubrir nuevos antifúngicos ante el creciente consumo y resistencia a los tratamientos convencionales [8]. La investigación aspira a cimentar científicamente prácticas tradicionales y abrir nuevas vías terapéuticas en el combate de la CVV u otras patologías causadas por este agente.

Se encontró que el efecto del AE de *Calendula officinalis* al 100% solo es de 13,30 $\pm$ 1,25mm, con lo cual se evidencia que no presentó actividad antifúngica, ya que las zonas de inhibición fueron inferiores al mínimo establecido por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), que es 20mm para considerar eficaz el efecto de un medicamento contra esta levadura [9]. Este resultado es inferior en comparación al estudio de Gazim Z. *et al* [10], realizado en Brasil, en el que evaluaron la actividad antifúngica del AE de *Calendula officinalis* sobre distintas cepas de *Candida*, dentro de las cuales, 3 cepas de *Candida albicans* obtenidas de muestras de pacientes con candidiasis vulvovaginal, se obtuvieron halos de inhibición de 18mm, 15mm y 15mm respectivamente.

La disparidad en los resultados podría radicar en varios factores. Primero, las cepas utilizadas en el estudio brasileño eran frescas y no mostraban resistencia farmacológica, lo que podría facilitar una mayor susceptibilidad al AE. Segundo, es pertinente considerar

Figura 1.



AECO: Aceite esencial de *Calendula officinalis*. AECO+C: Aceite esencial de *Calendula officinalis* + Clotrimazol. C: Clotrimazol. AD: Agua destilada

el origen del AE utilizado en nuestro estudio. Aunque adquirido comercialmente con certificado de pureza, la calidad, los métodos de extracción y procesamiento, así como el almacenamiento del aceite, pueden influir de manera crucial en su potencial antifúngico. Las condiciones de producción y los componentes bioactivos del AE pueden variar según el método de obtención y las condiciones de crecimiento de las plantas, por lo que incluso pequeñas variaciones podrían repercutir significativamente en su actividad biológica. Además, las diferencias geográficas y climáticas entre las regiones de donde provienen las *Calendula officinalis* usadas en cada estudio podrían también implicar perfiles fitoquímicos distintos, lo que subraya la importancia de investigar más profundamente la consistencia y la replicabilidad de los AE en investigaciones antifúngicas futuras. Este hallazgo refuerza la necesidad de un estándar más riguroso y uniforme en la producción y certificación de AE para garantizar la coherencia y replicabilidad en futuras investigaciones científicas y aplicaciones médicas [2,3].

Asimismo, los resultados hallados en este estudio contrastan frente a las propiedades de otras plantas que mostraron efectos frente a *Candida albicans*. López-Rivera *et al.* encontraron que las emulsiones de aceite esencial de orégano mexicano (*Lippia graveolens*) mantenían un efecto inhibitor sobre *Candida albicans*, siendo particularmente efectiva la emulsión con goma arábiga [13]. Esta eficacia de los aceites esenciales frente a *Candida albicans* se alinea con el estudio de Alcalá-Marcos KM *et al.* [14], quienes identificaron propiedades antimicóticas destacadas en el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) comparables al fluconazol. En contraste, la eficacia no superior de *Calendula officinalis* respecto al clotrimazol en nuestro estudio invita a la exploración más profunda sobre los factores que pueden influir en la variabilidad de la efectividad de los AE de diferentes plantas. Es posible que la composición química, concentración utilizada, o las metodologías de extracción y aplicación influyan significativamente en los resultados obtenidos. En este escenario, es imperativo, dada la gravedad del

panorama de resistencia antifúngica, seguir explorando y comprendiendo a profundidad los mecanismos de acción de estos aceites, así como estandarizar metodologías y estrategias para maximizar y validar su potencial terapéutico en futuras investigaciones y aplicaciones clínicas.

El Clotrimazol a 50ug demostró ser efectivo contra la especie de *Candida albicans* resistente a Fluconazol, presentando una zona de inhibición de $23,90 \pm 0,99$ mm. La efectividad de Clotrimazol puede ser contextualizada mediante los mecanismos de resistencia antimicótica, que involucran tanto factores intrínsecos como mutaciones genéticas que alteran los receptores y bombas de membrana cruciales para el ingreso de azoles al espacio intracelular^{[15], [16]}. Adicionalmente, los azoles, pese a compartir el mecanismo de acción de inhibir la 14- α metilasa, pueden exhibir mecanismos secundarios relacionados con la acumulación de peróxido de hidrógeno, alterando enzimas y dañando organelas intracelulares, lo que puede inducir la muerte de la levadura^[17].

Hay evidencia de susceptibilidad de *Candida albicans* resistente a fluconazol a otros azoles como el clotrimazol. Un estudio liderado por Marchaim D. et al [18] identificó a 25 pacientes con CVV resistentes a fluconazol, y halló que la concentración mínima inhibitoria (CMI) del Clotrimazol para este tipo de *Candida albicans* era en promedio de 0.13 microgramos/mL, subrayando que una menor CMI correlaciona con una zona de inhibición más amplia^[19].

A pesar de que la combinación de aceite esencial de *Calendula officinalis* y Clotrimazol 50ug produjo una zona de inhibición de $24,20 \pm 1,033$ mm, el efecto no superó significativamente al del Clotrimazol solo, lo cual

matiza la perspectiva de una sinergia efectiva entre estos compuestos. La falta de estudios previos que analicen específicamente esta cepa de *Candida albicans* y la combinación de aceite esencial de *Calendula officinalis* con Clotrimazol, limita las comparativas y análisis de estos resultados. Aunque se ha observado cierto nivel de eficacia y se vislumbra la posibilidad de que existan alternativas farmacológicas naturales al alcance de la población, es imperativo que se realicen investigaciones adicionales. El compromiso con la exploración detallada de estas opciones, y su progresión a través de las fases de desarrollo de medicamentos, es crucial para asegurar la seguridad y eficacia de su uso en seres humanos.

Este estudio enfrenta algunas limitaciones, incluyendo la generalización de resultados debido al uso de una única cepa de *Candida albicans* y un tipo específico de aceite esencial de *Calendula officinalis* adquirido comercialmente. La realización del experimento en un entorno de laboratorio, que no replica completamente las condiciones biológicas in vivo, también deben ser tomadas en cuenta al evaluar los hallazgos. A pesar de las limitaciones, el estudio también ostenta fortalezas. Siendo la principal que los resultados proporcionan una base inicial valiosa para futuras investigaciones en el campo de la sinergia antifúngica entre compuestos naturales y farmacológicos en cepas resistentes.

En conclusión, aunque la combinación de *Calendula officinalis* y Clotrimazol demostró poseer una capacidad antifúngica contra la cepa de *Candida albicans*, es crucial subrayar que su efecto no resultó ser superior al de Clotrimazol administrado de manera aislada.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Tapia M de los ÁS, Armijos VYG. Infecciones vaginales y complicaciones durante el embarazo en usuarias del Centro de Salud Universitario de Motupe – Loja. CEDAMAZ. 2021;11(2):119–23. doi:10.54753/cedamaz.v11i2.1180
2. Tapia P C. Candidiasis vulvovaginal. Rev Chil Infectol. 2008;25(4):312–312. doi:10.4067/S0716-10182008000400016
3. De La Hoz Espitia F. Síndrome de flujo vaginal (vaginitis / vaginosis): Actualización diagnóstica y terapéutica. Rev Peru Investig Materno Perinat. 2021;10(2):42–55. doi:https://doi.org/10.33421/inmp.2021224
4. Shahane K, Kshirsagar M, Tambe S, Jain D, Rout S, Ferreira MKM, et al. An Updated Review on the Multifaceted Therapeutic Potential of *Calendula officinalis* L. Pharmaceuticals. 2023;16(4):611. doi:10.3390/ph16040611
5. Pazhohideh Z, Mohammadi S, Bahrami N, Mojab F, Abedi P, Maraghi E. The effect of *Calendula officinalis* versus metronidazole on bacterial vaginosis in women: A double-blind randomized controlled trial. J Adv Pharm Technol Res. 2018;9(1):15–9. doi:10.4103/japtr.JAPTR_305_17
6. Torres GM, Sarmiento OI, Ramírez RI, Guevara O. Evaluación del rendimiento del aceite esencial de caléndula (*Calendula officinalis* L) obtenido por OAH. Rev ION. 2018;31(1):13–9. doi:10.18273/revion.v31n1-2018002
7. Fisher MC, Alastruey-Izquierdo A, Berman J, Bicanic T, Bignell EM, Bowyer P, et al. Tackling the emerging threat of antifungal resistance to human health. Nat Rev Microbiol. 2022;20(9):557–71. doi:10.1038/s41579-022-00720-1
8. García Lozano T, Martínez Arauz S, Gavillero Martín A, Martín Utrilla SA. Estudio in vitro de sensibilidad de la terbinafina en aislamientos clínicos de 38 pacientes oncológicos: a propósito del uso y praxis en podología. Rev Esp Podol. 2018;29(2):70–4.
9. Espinel-Ingroff A. Commercial Methods for Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts: Strengths and Limitations as Predictors of Resistance. J Fungi. 2022;8(3):309. doi:10.3390/jof8030309

10. Gazim ZC, Rezende CM, Fraga SR, Svidzinski TIE, Cor-tez DAG. Antifungal activity of the essential oil from *Calendula officinalis* L. (asteraceae) growing in Brazil. *Braz J Microbiol.* 2008;39:61–3. doi:10.1590/S1517-83822008000100015
11. Swamy MK, Akhtar MS, Sinniah UR. Antimicrobial Proper-ties of Plant Essential Oils against Human Pathogens and Their Mode of Action: An Updated Review. *Evid-Based Complement Altern Med ECAM.* 2016;2016:3012462. doi:10.1155/2016/3012462
12. Mancianti F, Ebani VV. Biological Activity of Essential Oils. *Molecules.* 2020;25(3):678. doi:10.3390/molecu-les25030678
13. López-Rivera RJ, Espinosa-Andrews H, García-Márquez E, Herrera-Rodríguez SE. Efecto antifúngico de emulsio-nes a base de aceite esencial de orégano mexicano (*Lip-pia graveolens*), contra *Candida albicans*. *Salud Jalisco.* 2018;5(1):42–5.
14. Alcalá-Marcos Katherine M, Alvarado-Gamarra A. Gian-carlo, Alejandro-Paredes L Arturo, Huayané-Linares Eduardo. Actividad antimicótica del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (muña) comparado con el fluconazol en cultivo de *Candida albicans*. *CIMEL.* 2011;16(2):83–6.
15. Tapia C. Antifúngicos y resistencia. *Rev Chil In-fectol.* 2012;29(3):357–357. doi:10.4067/S0716-10182012000300020
16. Branco J, Ola M, Silva RM, Fonseca E, Gomes NC, Mar-tins-Cruz C, et al. Impact of ERG3 mutations and ex-pression of ergosterol genes controlled by UPC2 and NDT80 in *Candida parapsilosis* azole resistance. *Clin Mi-crobiol Infect.* 2017;23(8):575.e1-575.e8. doi:10.1016/j.cmi.2017.02.002
17. Cárdenas Parra LY, Perez Cárdenas JE. Mecanismos de resistencia a fluconazol expresados por *Candida glabra-ta*: una situación para considerar en la terapéutica. *Investig En Enferm Imagen Desarro [Internet].* 2020 [cita-do el 2 de agosto de 2023];22. doi:10.11144/Javeriana.ie22.mrfe
18. Marchaim D, Lemanek L, Bheemreddy S, Kaye KS, Sobel JD. Fluconazole-resistant *Candida albicans* vulvovagini-tis. *Obstet Gynecol.* 2012;120(6):1407–14. doi:10.1097/aog.0b013e31827307b2
19. Cercenado E, Saavedra-Lozano J. El antibiograma. In-terpretación del antibiograma: conceptos generales (I) [Internet]. 2009 [citado el 2 de agosto de 2023]. Disponi-ble en: <https://www.elsevier.es/es-revista-anales-pedia-tria-continuada-51-pdf-S1696281809719274>