



Actividad fagocítica y toxicidad del extracto acuoso de *Schinus molle* L. sobre *Mus musculus* BALB/c

Phagocytic activity and toxicity of the aqueous extract of *Schinus molle* L. on *Mus musculus* BALB/c

Fransk Carrasco Solano¹ , Cinthya Santa Cruz López^{2*} , Miguel Ángel Ruiz Barrueto³

¹Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. Lambayeque, Perú

²Universidad Nacional de Jaén. Cajamarca, Perú

³Universidad César Vallejo. Lima, Perú.

*Autor para la correspondencia: cisantacruz@gmail.com

Cómo citar este artículo

Carrasco Solano F, Santa Cruz López C, Ruiz Barrueto MA: Actividad fagocítica y toxicidad del extracto acuoso de *Schinus molle* L. sobre *Mus musculus* BALB/c. Rev haban cienc méd [Internet]. 2023 [citado]; Disponible en: <http://www.revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/4815>

Recibido: 31 de marzo de 2022

Aprobado: 13 de diciembre de 2022

RESUMEN

Introducción: La medicina tradicional podría ser una alternativa segura para potenciar la inmunidad de pacientes inmunocomprometidos propensos a infecciones recurrentes.

Objetivo: Evaluar la actividad fagocítica y toxicidad in vivo del extracto acuoso de *Schinus molle* L. en *Mus musculus* BALB/c.

Material y Métodos: Estudio experimental que utilizó una dosis única de extracto acuoso de hojas de *Schinus molle* de 2000 mg/kg. La fagocitosis in vivo se determinó en 10 ejemplares de *M. musculus* BALB/c que cumplieron criterios de inclusión y exclusión, distribuidos aleatoria y equitativamente en los grupos control y experimental. Los especímenes del grupo experimental fueron inoculados vía intraperitoneal con 0,5 ml de suspensión de *Staphylococcus aureus* y 0,5 ml del extracto acuoso. Los del grupo control con 0,5 ml del mismo inóculo bacteriano y 0,5 ml de solución salina estéril. La toxicidad del extracto se evaluó por el método de las clases de toxicidad aguda en 12 ejemplares de ratones con las mismas características y cumpliendo los mismos criterios aplicados en la evaluación de la fagocitosis in vivo.

Resultados: El 57,1 % de los macrófagos expuestos al extracto acuoso de *S. molle* presentaron importante actividad fagocítica, encontrándose una media de 21 bacterias fagocitadas por macrófago. No se evidenciaron significativamente signos ni síntomas de toxicidad en los especímenes durante los 14 días de experimentación.

Conclusiones: El extracto acuoso de *S. molle* incrementó significativamente la fagocitosis in vivo de los macrófagos peritoneales de *M. musculus* BALB/c, sin evidencia de clínica de toxicidad y en ausencia de mortalidad.

Palabras Claves:

Schinus molle, inmunomodulación, toxicidad, plantas medicinales, macrófagos, fagocitosis.

ABSTRACT

Introduction: Traditional medicine could be a safe alternative to enhance the immunity of immunocompromised patients prone to recurrent infections.

Objective: To evaluate the phagocytic activity and in vivo toxicity of the aqueous extract of *Schinus molle* L. on *Mus musculus* BALB/c.

Material and Methods: Experimental study that used a single dose of aqueous extract of *Schinus molle* leaves of 2000 mg/kg. In vivo phagocytosis was determined in 10 specimens of *M. musculus* BALB/c that met the inclusion and exclusion criteria, which were randomly and equally distributed in the control and experimental groups. The specimens of the experimental group were inoculated intraperitoneally with 0.5 ml of *Staphylococcus aureus* suspension and 0.5 ml of the aqueous extract. Those of the control group were inoculated with 0.5 ml of the same bacterial inoculum and 0.5 ml of sterile saline solution. The toxicity of the extract was evaluated by the method of the acute toxicity classes in 12 specimens of mice with the same characteristics that fulfilled the same criteria applied in the evaluation of phagocytosis in vivo.

Results: The results demonstrate that 57.1% of the macrophages exposed to the aqueous extract of *S. molle* showed significant phagocytic activity, finding an average of 21 phagocytosed bacteria per macrophage. No significant signs or symptoms of toxicity were evidenced in the specimens during the 14 days of experimentation.

Conclusions: The aqueous extract of *S. molle* significantly increased in vivo phagocytosis of peritoneal macrophages from *M. musculus* BALB/c, without clinical evidence of toxicity and in the absence of mortality.

Keywords:

Schinus molle, immunomodulation, toxicity, medicinal plants, macrophages, phagocytosis.



INTRODUCCIÓN

El sistema inmunitario cumple un papel primordial en la protección del organismo frente a los agentes infecciosos.⁽¹⁾ Los pacientes con inmunodeficiencias presentan limitada capacidad para emitir una respuesta inmunitaria adecuada. Esto les impide combatir a los microorganismos patógenos de manera eficiente, por lo que adquieren infecciones microbianas con mayor frecuencia y severidad,⁽²⁾ de modo que, el uso de sustancias que activen y potencien la respuesta inmunitaria del huésped resultaría una alternativa terapéutica de gran utilidad.

En Perú, el conocimiento de las propiedades curativas de las plantas ha sido utilizado desde épocas remotas, principalmente por las poblaciones indígenas.⁽³⁾ Se han identificado plantas con actividad antibacteriana, antiviral, antimicótica, antitumoral^(4,5) e incluso actividad inmunomoduladora; es decir, capaces de modificar la magnitud y calidad de la respuesta inmunitaria, ya sea potenciándola o suprimiéndola.^(6,7) Entre las plantas con alto potencial farmacológico se encuentra *Schinus molle* L. (*molle*). Este árbol de la familia *Anacardiaceae*, presenta rápido crecimiento llegando a medir hasta 15 m de altura. Es originario de la zona altoandina de Sudamérica, y se encuentra distribuido en gran parte del territorio peruano.⁽⁸⁾ Estudios sobre la composición fitoquímica de sus estructuras han evidenciado la presencia de compuestos bioactivos como terpenos, taninos, flavonoides, antocianinas, ácidos grasos y esteroides, ácido linoleico, felandreno, limoneno, entre otros.^(9,10) Al *S. molle* se le atribuyen propiedades antibacterianas, antivirales, antifúngicas y anticancerígenas,^(11,12,13) por lo que es empleado tradicionalmente por la población para el tratamiento de infecciones gastrointestinales, genitourinarias, reumatismo, sífilis y gonorrea.

Diversas investigaciones han demostrado su capacidad inhibitoria sobre *Escherichia coli*, *Shigella flexneri*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* resistente a la oxacilina y *Candida albicans*.^(14,15)

Sin embargo, pese a todas las propiedades que posee, es importante evaluar su toxicidad y asegurar su uso sin riesgo para la salud humana.⁽¹⁶⁾ Al respecto, se han publicado ensayos de toxicidad que utilizan una dosis única de la sustancia potencialmente tóxica para minimizar la cantidad de especímenes animales empleados en el experimento.⁽¹⁷⁾ El método de las clases de toxicidad aguda (CTA) determina los posibles efectos adversos de una sustancia administrada a dosis única, así también estima la relación cuantitativa entre la intensidad de la respuesta biológica medible y la concentración de la sustancia a administrar (se establece el rango de la concentración letal 50).^(17,18)

Por lo expuesto anteriormente y considerando la escasa información que evidencie la actividad del molle sobre mecanismos de la respuesta inmunitaria innata, la presente investigación tiene como **objetivo** evaluar la actividad fagocítica y toxicidad in vivo del extracto acuoso de *Schinus molle* L. en *Mus musculus* BALB/c, de modo que se recopile evidencia científica de sus propiedades reportadas, garantice su uso terapéutico y contribuya a la revalorización de las especies vegetales medicinales presentes en Perú.

MATERIAL Y MÉTODO

El presente estudio fue de diseño experimental. La población estuvo conformada por 22 especímenes de *Mus musculus* BALB/c con 20g \pm 24g de peso promedio. La investigación fue ejecutada en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional "Pedro Ruiz Gallo", en la provincia y departamento de Lambayeque-Perú, durante los meses de enero a mayo de 2022.

Los roedores fueron adquiridos del bioterio del Instituto Nacional de Salud (Lima, Perú). Los ejemplares fueron de ambos sexos con edades de entre 30 a 45 días y sin enfermedad previa. Fueron mantenidos en jaulas individuales, a una temperatura ambiental de 22 \pm 3°C, con ciclo luz/oscuridad de 12 horas. Se les proporcionó acceso ad-libitum al agua y alimentos, y se registraron los signos vitales diariamente.

Las hojas de *S. molle* fueron colectadas en los alrededores de la Universidad Nacional "Pedro Ruiz Gallo" (6°42'26"S 79°54'29"O) a 18 m.s.n.m. Una parte del material vegetal fue llevado al Herbario "Pedro Ruiz Gallo" para su identificación, caracterización y certificación.

El extracto acuoso de *S. molle* fue preparado a partir de hojas en etapa de floración y con las mejores condiciones fitosanitarias. El material vegetal fue lavado con abundante agua destilada estéril y posterior a ello se desinfectó con alcohol de 96°. Se emplearon 10 g de hojas frescas, que fueron colocadas en un vaso de precipitación que contenía 100 ml de agua destilada estéril (1:10m/v). El sistema se llevó a calefacción en plancha a 80°C durante 15 min, seguido de un período de enfriamiento de 10 min a temperatura ambiente (25°C). El preparado fue triturado en agua y filtrado tres veces utilizando papel filtro Whatman N° 1; se obtuvo el extracto a la concentración de 100 mg/ml. El extracto se preservó en refrigeración a 4°C en un recipiente de vidrio ámbar estéril, tapado herméticamente, hasta el momento de la experimentación.

La cepa de *Staphylococcus aureus* fue proporcionada por el laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional "Pedro Ruiz Gallo". Fue reactivada en 5 mL de caldo tripticasa de soya durante 24 horas a 37°C en aerobiosis. Posteriormente, el cultivo bacteriano fue centrifugado a 2 500 rpm durante 10 min seguido de dos lavados inmediatos con solución salina fisiológica estéril (SSFE), estandarizándose el inóculo a una concentración de 4 x 10⁶ células/ml.⁽¹⁹⁾

El aislamiento y estandarización de los macrófagos peritoneales se realizó a partir de 10 especímenes de ratones de ambos sexos y aparentemente sanos. Los roedores fueron distribuidos de manera aleatoria y equitativamente entre los grupos experimental y control, considerando un período de aclimatación de 5 días y siguiendo las recomendaciones de Saravia, *et al.*⁽²⁰⁾

A los ejemplares del grupo experimental se les administró vía intraperitoneal 0,5 mL del inóculo de *S. aureus* y 0,5 mL del extracto acuoso de *S. molle* por triplicado. Mientras que a los especímenes del grupo control se les suministró 0,5 mL del inóculo de *S. aureus* y 0,5 mL de SSFE. Posteriormente a 6 horas de la inoculación los especímenes de ambos grupos fueron sacrificados y con ayuda de una torunda estéril se obtuvieron muestras de líquido peritoneal para su análisis a partir de frotis en lámina portaobjeto y tinción con Giemsa.⁽¹⁹⁾ El porcentaje de fagocitosis se determinó mediante recuento del número de macrófagos fagocíticos en 100 campos microscópicos y el total de bacterias fagocitadas. Las lecturas se realizaron en microscopio binocular Boeco BM-120 a 1000 aumentos.

Por otra parte, se evaluó la toxicidad del extracto acuoso de *S. molle* mediante el método de las clases de toxicidad aguda, recomendado por la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE).^(18,21) Para ello, se distribuyeron de manera aleatoria y equitativamente 12 ratones de ambos sexos en los grupos control y experimental. Al grupo experimental se le administró el extracto a un volumen de 0,1ml/10g, con una dosis máxima de 2 000 mg/kg por vía oral mediante cánula gástrica, iniciando con los especímenes machos en ayuno de 4 horas. Al grupo control solo se le suministró SSFE. Los roedores fueron sometidos a observación clínica diaria durante 14 días.

Para la evaluación de toxicidad se valoró el peso, tiempo de muerte de los animales y las manifestaciones de signos y síntomas de toxicidad aguda en ojos, piel, mucosas, patrones de comportamiento, actividad sensorial, actividad neuromuscular, problemas respiratorios, cardiovasculares y gastrointestinales. Los especímenes fueron observados hasta que desaparecieron las manifestaciones clínicas de toxicidad, controlándose el peso en los días 0, 7 y 14 del experimento. Luego, fueron sacrificados por dislocación cervical para la evaluación anatomopatológica de sus órganos.^(18,21)

Los datos obtenidos se recopilaron en una ficha de recolección para su posterior análisis estadístico, el cual fue realizado en los programas Microsoft office excel® 2016 y Minitab® 18 para Windows® versión 8. Se determinó la media y desviación estándar de los valores obtenidos y se aplicó la prueba de normalidad de Kolmogórov-Smirnov, seguido de una prueba T student, para establecer las diferencias significativas ($p < 0,05$) entre la fagocitosis in vivo del grupo experimental y grupo control.

El estudio siguió los lineamientos del International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animal⁽²²⁾ y *Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals*.⁽²³⁾ Además, se respetaron los principios éticos de reemplazo, reducción y refinamiento, así como las normas éticas para la experimentación animal de la Guía de Manejo y Cuidado de los Animales, propuestas por el Ministerio de Salud de Perú.⁽²⁴⁾ La investigación se ejecutó posterior a la aprobación del Comité de Ética de la Universidad Nacional de Jaén (Oficio NO 03-2022 / VPI-UNJ/ CE).

RESULTADOS

Se evaluó la actividad del extracto acuoso de *Schinus molle* sobre el índice fagocítico de macrófagos peritoneales de *Mus musculus* BALB/c infectados con *Staphylococcus aureus*. En el grupo experimental, el índice fagocítico fue 57,1 %. Mientras que en el grupo control fue 28,3 %, siendo esta diferencia significativa (Tabla 1).

Grupo	Porcentaje de macrófagos		p-valor*
	Con actividad fagocítica (%)	Sin actividad fagocítica (%)	
Control	28,3 ± 1,16	71,7 ± 1,16	<0,0001
Experimental	57,1 ± 1,09	42,9 ± 1,09	

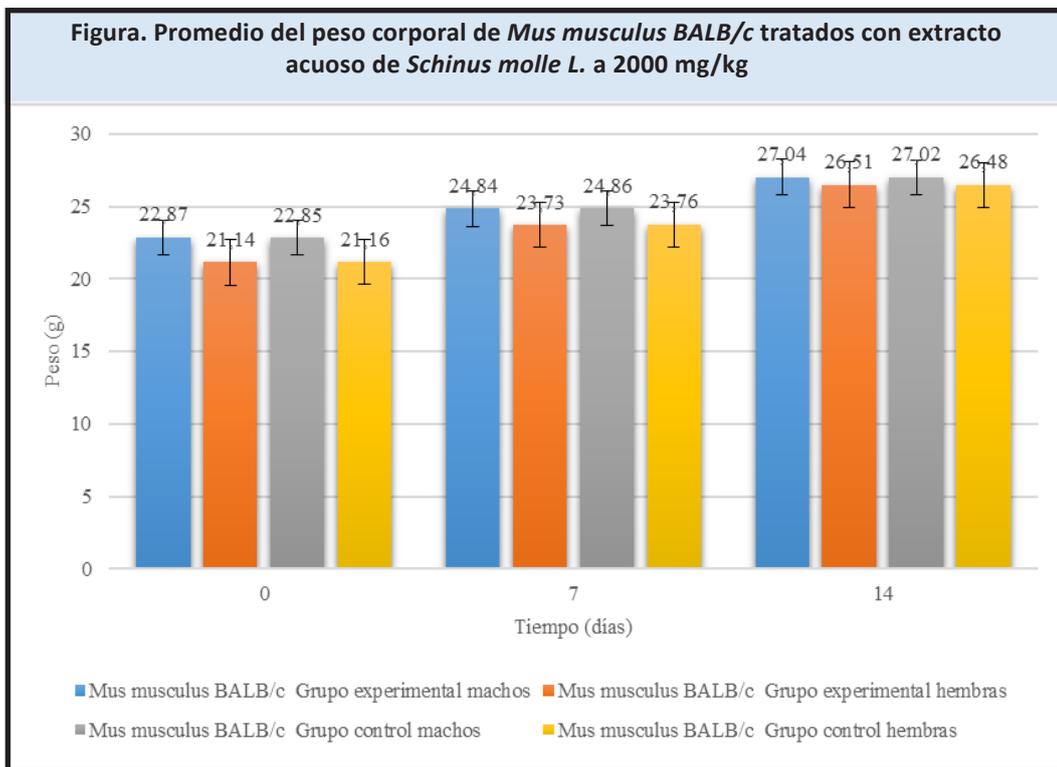
* Prueba de t student

En el grupo experimental, el promedio de bacterias fagocitadas por los macrófagos peritoneales de *Mus musculus* BALB/c fue de 21 ± 0,5521 bacterias; superó el control evaluado ($p < 0,0001$) (Tabla 2).

Grupo	Porcentaje de macrófagos		p-valor*
	Con actividad fagocítica (%)	Sin actividad fagocítica (%)	
Control	10 ± 0,79	0	<0,0001
Experimental	21 ± 0,55 0	0	

* Prueba de t student

El extracto acuoso de hojas de *S. molle* a la dosis de 2000 mg/kg no influyó en la ganancia de peso de los ratones tratados, observándose un incremento sostenido de este durante el período de evaluación (Figura).



Los especímenes de *Mus musculus* BALB/c presentaron signos de piloerección después de 30 min de aplicado el tratamiento. Además, se observó un cambio en el comportamiento de los animales (se percibían inquietos). Los órganos blancos se mantuvieron sin alteraciones o daños visibles, y todos los ratones se mantuvieron vivos hasta finalizado el experimento (Tabla 3).

Tabla 3. Signos y síntomas de toxicidad aguda en *Mus musculus* BALB/c inoculados con 2000 mg/kg del extracto acuoso de *Schinus molle* L

Órganos/Sistema	Signos y síntomas	
	Machos	Hembras
<i>Autónomo/Cutánea</i>	Piloerección en la primera media hora	Piloerección en la primera media hora
<i>Comportamiento</i>	Inquietos en las primeras horas	Inquietos en las primeras horas
<i>Sensorial</i>	Ausentes	Ausentes
<i>Neuromuscular</i>	Ausentes	Ausentes
<i>Cardiovascular</i>	Ausentes	Ausentes
<i>Respiratorio</i>	Ausentes	Ausentes
<i>Ocular</i>	Ausentes	Ausentes
<i>Gastrointestinal</i>	Ausentes	Ausentes

DISCUSIÓN

Al evaluar la actividad in vivo del extracto acuoso de *S. molle* sobre la fagocitosis de macrófagos peritoneales, se observó un incremento significativo del índice fagocítico en el grupo experimental (57,1 %), respecto al grupo control (28,3 %) ($p < 0,0001$) (Tabla 1). Además, de mayor cantidad de bacterias fagocitadas y fagosomas formados en los macrófagos de *Mus musculus* del grupo experimental ($p < 0,0001$) (Tabla 2). Estos resultados coinciden con los obtenidos en estudios sobre el efecto de las plantas *Medicago sativa* (alfalfa)⁽²⁵⁾ y *Coriandrum sativum* L. (*culantro*),⁽²⁶⁾ que demostraron inducir un incremento significativo de la actividad fagocítica de leucocitos y macrófagos, respectivamente.

Asimismo, diversas investigaciones evidenciaron que principios activos como monoterpenos (felandreno, alfa y beta pineno, limoneno), terpenos y flavonoides poseen efecto estimulador de la respuesta inmunitaria.^(10,27) Dichas sustancias forman parte de la composición bioquímica de las hojas del molle y serían las encargadas de estimular la actividad metabólica de los macrófagos. De modo que, favorecen la síntesis de fagosomas en mayor número y tamaño. Dichos compuestos activan e inducen la liberación del interferón gamma, factor de necrosis tumoral, factor estimulante de colonias de monocitos y granulocitos, incrementando la actividad fagocítica de los macrófagos.^(28,29)

Un hallazgo demostró que el aceite esencial de *S. molle* activa la cascada de óxido nítrico, interleucina-10 y factor de necrosis tumoral alfa,⁽¹¹⁾ potenciando la fagocitosis. Cabe señalar que, los macrófagos realizan actividad fagocítica y los péptidos obtenidos de la digestión de los patógenos microbianos favorecen la activación de los linfocitos T y B. De modo que los macrófagos no solo tienen un papel importante en la inmunidad innata, sino también en la adaptativa al inducir una mejora de la respuesta inmunológica.⁽³⁰⁾

A través del control frecuente del peso de los ratones, se estableció la cantidad del extracto necesaria para ocasionar signos y síntomas tóxicos en los animales, es decir, el peso indica la cantidad de tejido expuesto a la acción de una sustancia tóxica.⁽²¹⁾ Además, se demostró que el extracto acuoso no influyó en el incremento de peso de los especímenes evaluados, registrándose dentro de los valores normales (Figura).

La supervivencia de los animales expuestos al extracto acuoso de *S. molle* a 2000kg/mg, demostró que la dosis letal 50 fue superior a la dosis empleada. También se analizaron los cambios visualizados en los animales tratados, durante los 14 días del experimento, encontrándose signos de piloerección al transcurrir 30 min después de aplicado el tratamiento (Tabla 3). Sumado a ello, se observó cambio en el comportamiento de los ratones tratados; esto estaría relacionado con el proceso de adaptación del animal a la sustancia inoculada. La mayoría de parámetros evaluados no sufrió cambios significativos durante el experimento al ser comparada con el grupo control.

Otros estudios sobre *S. molle* concluyeron que no presentó toxicidad sobre *Musca domestica*, *Chrysoperla externa*, *Trichogramma pintoi* y *Copidosoma koehleri*, al no evidenciar signos de mortalidad en larvas y pupas expuestas al extracto de molle.^(31,32) Dichas investigaciones coinciden con los resultados obtenidos, donde el extracto acuoso del molle a la concentración empleada tampoco fue tóxico para los animales tratados.

En este sentido, la necropsia también resultó de gran utilidad para evaluar la toxicidad del extracto, lográndose visualizar los posibles cambios ocurridos en los órganos de los ratones del grupo experimental. Entre ellos, un ligero cambio de color (palidez) en los riñones de los ratones expuestos al tratamiento (Tabla 4). Al respecto, Murkunde,⁽³³⁾ manifestó que la posición anatómica al momento de la muerte puede influir en el color que presentan los órganos al realizar una necropsia, lo que haría sospechar que no se trató de un efecto a causa del extracto acuoso de *S. molle*.

Cabe señalar que el estudio se limitó a evaluar la actividad del extracto en macrófagos peritoneales. No se incluyeron las evaluaciones de citocinas proinflamatorias como la IL-6 y TNF y otras células de la respuesta inmune (linfocitos), útiles para medir la intensidad de la respuesta biológica establecida. Sin embargo, los resultados obtenidos permitieron demostrar la actividad del molle sobre la primera línea de defensa del huésped.

CONCLUSIONES

El extracto acuoso de *S. molle* incrementó la actividad fagocítica in vivo de los macrófagos peritoneales de *Mus musculus BALB/c*. Sumado a ello, se observó un incremento en el tamaño de los macrófagos, número de pseudópodos y de fagosomas (vacuolas formadas alrededor de las bacterias fagocitadas por los macrófagos). No ocasionó la muerte de los animales de experimentación y no manifestó síntomas indicativos de toxicidad ni alteraciones en los órganos estudiados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sattler S. The Role of the Immune System Beyond the Fight Against Infection. Adv Exp Med Biol [Internet]. 2017 [Citado 20/02/2022];1003:[Aprox. 11 p.]. Disponible en: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-57613-8_1
2. Alonso A, Candelaria B, Valdés L, Alonso A, Candelaria B, Valdés L. Inmunodeficiencias primarias: un reto para la inmunogenética. Rev Cuba Reumatol [Internet]. 2020 [Citado 20/02/2022];22(2):[Aprox. 28 p.]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S181759962020000200009
3. Corell-Doménech M. Terapeutas alternativos en México y la estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023: comunicación, creencias y factores socio-económicos. Perspect comun [Internet]. 2019 [Citado 22/02/2022];12(1):[Aprox. 18 p.]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-48672019000100059>
4. Feitosa V, Dantas R, Wanderley Y, Nascimento WW. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais indicadas para uso no Sistema Único de Saúde. Rev Cubana Estomatol [Internet]. 2019 [Citado 22/02/2022];56(4):e1159. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0034-75072019000400001
5. Gallegos-Zurita M, Gallegos-Z D. Plantas medicinales utilizadas en el tratamiento de enfermedades de la piel en comunidades rurales de la provincia de Los Ríos Ecuador. An Fac Med [Internet]. 2017 [Citado 24/02/2022];78(3):[Aprox. 6 p.]. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102555832017000300011&lng=es
6. Perejón-Rubiol del R, García-Giménez MD. Plantas medicinales que actúan sobre el sistema inmune. Ars Pharm [Internet]. 2021 [Citado 24/02/2022];63(1):[Aprox. 13 p.]. Disponible en: <https://revistaseug.ugr.es/index.php/ars/article/view/22187>
7. Ahmed HM, Babakir-Mina M. Investigation of rosemary herbal extracts (*Rosmarinus officinalis*) and their potential effects on immunity. Phytother Res [Internet]. 2020 [Citado 27/02/2022];34(8):[Aprox. 9 p.]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32086980/>

8. Ramírez L, Mostacero J, López E, De La Cruz AJ, Gil AE. Aspectos etnobotánicos de Cuspón, Perú: Una comunidad campesina que utiliza 57 especies de plantas en sus diversas necesidades. *Scientia Agropecuaria* [Internet]. 2020 [Citado 27/02/2022];11(1):[Aprox. 7 p.]. Disponible en: <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/scientiaagrop/article/view/2799>
9. Pawlowski Â, Ricachenevsky FK, Machado ME, Da Silva ER, Zini CA, Soares GLG. *Schinus Essential Oils: Chemical Composition by GC×GC-TOFMS and Phytotoxic Effects on Arabidopsis thaliana*. *Chem Biodivers* [Internet]. 2022 [Citado 27/02/2022];19(12):[Aprox. 11 p.]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36259377/>
10. Pereira AC. *Schinus molle* e *Schinus terebinthifolius*: Revisão sistemática da classificação, e aspectos químicos, fitoquímicos, biológicos e farmacobotânicos. *Braz J Nat Sci* [Internet]. 2020 [Citado 01/ 03/ 2022];3(3):[Aprox. 23 p.]. Disponible en: <https://bjns.com.br/index.php/BJNS/article/view/109>
11. Kim MJ, Kim DW, Kim JG, Shin Y, Jung SK, Kim Y-J. Analysis of the Chemical, Antioxidant, and Anti-Inflammatory Properties of Pink Pepper (*Schinus molle* L.). *Antioxidants* [Internet]. 2021 [Citado 01/03/2022];10(7):[Aprox. 14 p.]. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2076-3921/10/7/1062/htm>
12. do Prado AC, Garces HG, Bagagli E, Rall VLM, Furlanetto A, Fernandes JA, et al. *Schinus molle* essential oil as a potential source of bioactive compounds: antifungal and antibacterial properties. *J Appl Microbiol*. [Internet]. 2019 [Citado 04/03/2022];126(2):[Aprox. 6 p.]. Disponible en: <https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jam.14157>
13. El-Nashar HAS, Mostafa NM, Abd El-Ghffar EA, Eldahshan OA, Singab ANB. The genus *Schinus* (*Anacardiaceae*): a review on phytochemicals and biological aspects. *Nat Prod Res* [Internet]. 2022 [Citado 04/03/2022];36(18):[Aprox. 16 p.]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2021.2012772>
14. Turchetti G, Garzoli S, Laghezza V, Sabia C, Iseppi R, Giacomello P, et al. Antimicrobial Testing of *Schinus molle* (L.) Leaf Extracts and Fractions Followed by GC-MS Investigation of Biological Active Fractions. *Molecules* [Internet]. 2020 [Citado 05/03/2022];25(8):[Aprox. 15 p.]. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/8/1977>
15. Alfaro-Pérez MY, Ruiz-Barrueto MA. Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso de *Schinus molle* (*molle*) sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *REBIOL* [Internet]. 2018 Dic [Citado 05/03/2022];38(1):[Aprox. 12 p.]. Disponible en: <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/faccbiol/article/view/2145>
16. Gruszycki MR, Tauguinás AL, Báez CM, Alba DA, Gruszycki AE. Importancia de la farmacovigilancia en medicina herbaria. *Rev cubana Plant Med* [Internet]. 2017 [Citado 05/03/2022];22(1):[Aprox. 10 p.]. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v22n1/pla03117.pdf>
17. Paixao A, Mancebo B, Regalado AI, Chong D, Sánchez LM. Evaluación de la Toxicidad Aguda Oral del extracto etanólico de *Tephrosia vogelii* Hook (*kalembe*). *Rev Salud Anim* [Internet]. 2017 [Citado 08/03/2022];39(2):[Aprox. 8 p.]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2017000200002
18. Pérez M, Jiménez EE, Boffill M, González DM, Verdecía B, Blanco F. Evaluación de la Toxicidad Aguda de un Extracto de *Boldoa purpurascens* Cav. por el Método de las Clases. *Lat Am J Pharm* [Internet]. 2008 [Citado 08/03/2022];27(2) [Aprox. 4 p.]. Disponible en: http://www.latamjpharm.org/trabajos/27/2/LAJOP_27_2_2_5_MJAVE6D8JF.pdf
19. Velázquez ML, Anhuamán R, Agreda-Callirgos J, Agreda - Gaitán J, Muñoz EJ, Alayo G. Efecto del Temephos sobre la respuesta inmune innata y adaptativa de *Mus musculus* BALB/c inoculado con *Candida albicans*. *REBIOL* [Internet]. 2013 [Citado 10/03/2022];33(2):[Aprox. 7 p.]. Disponible en: <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/faccbiol/article/view/556>
20. Saravia V, Luján M, Chávez M, Becerra L, Jiménez Marianela, Cabeza J. Efecto de la savia liofilizada de *Musa acuminata* Colla “plátano de seda” sobre la respuesta inmune de *Mus musculus* BALB/c frente a *Escherichia coli* O157:H7. *UCV-Scientia* [Internet]. 2011 [Citado 10/03/2022];3(1):[Aprox. 6 p.]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/6181482.pdf>
21. Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE). *Acute Oral Toxicity– Up-and-Down Procedure*. Guide N° 425 [Internet]. Francia: Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos; 2001 [Citado el 14/03/2022]. Disponible en: <http://www.oecd.org>
22. National Research Council (US) Institute for Laboratory Animal Research. *The Development of Science-based Guidelines for Laboratory Animal Care: Proceedings of the November 2003 International Workshop* [Internet]. Washington (DC): National Academies Press (US); 2004 [Citado el 14/03/2022]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20669462/>

23. Zimmermann M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. Pain [Internet]. 1983 [Citado el 14/03/2022];16(2):109-10:[Aprox. 5 p.]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6877845>
24. Instituto Nacional de Salud. Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: ratón [Internet]. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud; 2008 [Citado el 14/03/2022]. Disponible en: http://bvs.minsa.gob.pe/local/INS/962_INS68.pdf
25. Amaro J, Iparraguirre ME. Efecto del consumo de extracto de alfalfa (*Medicago sativa L.*) sobre el recuento de leucocitos, en ratones (*Mus musculus*). Rev Med Hered [Internet]. 2018 [Citado el 14/03/2022];29(2):[Aprox. 4 p.]. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1018130X2018000200006&lng=es&nrm=iso
26. Ishida M, Nishi K, Kunihiro N, Onda H, Nishimoto S, Sugahara T. Immunostimulatory effect of aqueous extract of *Coriandrum sativum L.* seed on macrophages. J Sci Food Agric [Internet]. 2017 [Citado 14/03/2022];97(14):[Aprox. 9 p.]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28369918/>
27. Doleski PS, Ferreira CH, Calil J, Palermo M. Composición química y actividad biológica del aceite esencial de *Schinus molle L.* Rev Cuba Farm [Internet]. 2015 [Citado 14/03/2022];49(1):[Aprox. 11 p.]. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/far/v49n1/far13115.pdf>
28. Quintans JSS, Shanmugam S, Heimfarth L, Araújo AAS, Almeida JRGDS, Picot L, et al. Monoterpenes modulating cytokines - A review. Food Chem Toxicol [Internet]. 2019 [Citado 18/03/2022];123:[Aprox. 17 p.]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30389585/>
29. Maleki SJ, Crespo JF, Cabanillas B. Anti-inflammatory effects of flavonoids. Food Chem [Internet]. 2019 [Citado 20/03/2022];299:[Aprox. 10 p.]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814619312300?via%3Dihub>
30. Guerriero JL. Macrophages: Their Untold Story in T Cell Activation and Function. Int Rev Cell Mol Biol [Internet]. 2019 [Citado 20/03/2022];342:[Aprox. 20 p.]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1937644818300698?via%3Dihub>
31. Iannacone J, Alvarino L. Toxicidad de *Schinus molle L. (Anacardiaceae)* a cuatro controladores biológicos de plagas agrícolas en el Perú. Acta Zool Mex. 2010;26(3): 603-15.
32. Iannacone J, Lamas G. Efectos toxicológicos de extractos de molle (*Schinus molle*) y lantana (*Lantana camara*) sobre *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae), *Trichogramma pinto* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) y *Copidosoma koehleri* (Hymenoptera: Encyrtidae) en Perú. Agricultura Técnica. 2003; 63(4): 347-60.
33. Murkunde YV. Necropsy Procedures for Laboratory Animals. Singapore: Springer; 2020.

Financiamiento

La investigación fue financiada con recursos propios

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses y el trabajo es original

Contribución de autoría

Fransk Carrasco-Solano. Concepción y diseño del estudio, búsqueda bibliográfica, recolección de los datos, elaboración y revisión del manuscrito.

Cintha Santa Cruz-López. Búsqueda bibliográfica, análisis estadístico de los datos, elaboración y revisión del borrador y versión final del manuscrito.

Miguel Ángel Ruiz-Barrueto. Búsqueda bibliográfica, elaboración del borrador y versión final del manuscrito.

Ambos autores participamos en la discusión de los resultados y hemos leído, revisado y aprobado el texto final.

26. Zagastizabal M. Eficacia de dos desinfectantes de uso hospitalario frente a biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* formadas sobre acero inoxidable [Tesis especialidad Química Farmacéutica]. Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2018. Disponible en: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/9986>

27. Magariños M, Penacca A, Reynaldo M, Castelo S, Martínez A, Demartini E, *et al.* Actividad antimicrobiana de germicidas halogenados frente a aislamientos hospitalarios. Acta Farm Bonaer [Internet]. 2001; 20 (3):197–203. Disponible en: http://www.latamjpharm.org/trabajos/20/3/LAJOP_20_3_1_6_AZ25G94MC9.pdf

28. Reynaldo M, Flores M, Viegas J, Magariños M. Efficacy of biocides against hospital isolates of *Staphylococcus* sensitive and resistant to methicillin, in the province of Buenos Aires, Argentina. Rev Panam Salud Publica [Internet]. 2004; 16 (3):187–92. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/s1020-49892004000900005>

29. Ramzi A, Oumokhtar B, Ez Zoubi Y, Filali Mouatassef T, Benboubker M, El Ouali Lalami A. Evaluation of Antibacterial Activity of Three Quaternary Ammonium Disinfectants on Different Germs Isolated from the Hospital Environment. Biomed Res Int [Internet]. 2020;2020:6509740. Disponible en: <https://doi.org/10.1155/2020/6509740>