



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

INSTITUTO DE CIENCIAS

POSGRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES



“La Tierra no es de nosotros, nosotros somos de la Tierra”

**EFFECTO PROTECTOR DE LACTOBACILLUS ANTE EL CONSUMO PROLONGADO DE MELATIÓN
EN DOSIS BAJAS A TRAVÉS DEL ESTUDIO EN UN MODELO MURINO.**

TESIS

Que para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS AMBIENTALES

Presenta

MARCO ANGEL SIMONI BERRA

Directora de tesis:

D.C María Lilia Cedillo Ramírez

Diciembre 2022





BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

INSTITUTO DE CIENCIAS

POSGRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES



“La Tierra no es de nosotros, nosotros somos de la Tierra”

**EFFECTO PROTECTOR DE LACTOBACILLUS ANTE EL CONSUMO PROLONGADO DE MELATIÓN
EN DOSIS BAJAS A TRAVÉS DEL ESTUDIO EN UN MODELO MURINO.**

TESIS

Que para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS AMBIENTALES

Presenta

MARCO ANGEL SIMONI BERRA

Comité Tutorial:

Directora	D.C María Lilia Cedillo Ramírez
Co-Director	D.C Jorge Antonio Yañez Santos
Tutor	D.C Jorge Alberto Giron Ortiz
Integrante Comité Tutorial	D.C Fernando Hernández Aldana †
Integrante Comité Tutorial	D.C Manuel Huerta Lara

Diciembre 2022



BUAP

C. Marco Ángel Simoni Berra

Por este conducto me permito comunicarle que los miembros del jurado integrado por:

*D.C JORGE ANTONIO YAÑEZ SANTOS PRESIDENTE
D.C RICARDO MUNGUÍA PÉREZ SECRETARIO
D.C EDITH CHÁVEZ BRAVO PRIMER VOCAL
D.C ELÍAS PEZZAT SAID SEGUNDO VOCAL
D.C MANUEL HUERTA LARA TERCER VOCAL
D.C JORGE ALBERTO GIRON ORTIZ PRIMER SUPLENTE
D.C ROSALÍA DEL CARMEN CASTELÁN VEGA SEGUNDO SUPLENTE*

Designado para la defensa de su tesis **“Efecto protector de lactobacillus ante el consumo prolongado de melatión en dosis bajas a través del estudio en un modelo murino”** han manifestado mediante su voto que ésta cumple con los méritos suficientes para ser defendida como tesis de grado de Doctor en Ciencias Ambientales, por lo que este Posgrado le autoriza la impresión de la misma.

Sin otro asunto en lo particular, quedo de Usted.

ATENTAMENTE

“Pensar bien, para vivir mejor”

H. Puebla de Z; a 10 de noviembre de 2022

D.C Rosalía del Carmen Castelán Vega

Coordinadora

Posgrado en Ciencias Ambientales



**Posgrado en Ciencias
Ambientales ICUAP**

Edif. I C 6, Ciudad Universitaria,
Col. San Manuel, Puebla, Pue.
C.P. 72570
01 (222) 2 29-55-00 Ext. 7056

“Quiero expresar mi más sincero agradecimiento al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por becarne durante cuatro años, en los cuales pude aprender muchas cosas durante la realización de mi tesis y mi estancia en el posgrado”

AGRADECIMIENTOS

La presente tesis representa la culminación del esfuerzo conjunto de muchas personas e instituciones sin las cuales no hubiera podido realizarse y a las cuales me es muy difícil expresarles mis agradecimientos en tan solo unas líneas.

Quiero dar mi más sincero agradecimiento a mi directora de tesis la D.C. María Lilia Cedillo Ramírez por haberme guiado en todo momento, por sus innumerables consejos y comprensión, sin los cuales este trabajo no hubiera visto la luz.

Cabe destacar que la presente investigación de tesis siempre se vio enriquecida por la valiosa ayuda prestada por mi comité tutorial y sinodales, el D.C. Jorge Antonio Yáñez Santos, el D.C. Jorge Alberto Girón Ortiz, el D.C Manuel Huerta Lara, el D.C. Fernando Hernández Aldana †, la D.C Edith Chávez Bravo, el D.C Ricardo Munguía Pérez, la D.C Rosalía del Carmen Castelán Vega y el D.C Elías Pezzat Said gracias a todos ustedes por sus numerosas sugerencias, comentarios y correcciones que han contribuido a mejorar este trabajo.

Agradezco a mis padres por estar siempre ahí, llenarme de ánimos, motivarme y apoyarme en todos mis proyectos.

Así mismo quiero agradecer la ayuda de mis profesores, compañeros y amigos del posgrado en Ciencias Ambientales de la BUAP, los cuales siempre han estado dispuestos a enseñarme, apoyarme y animarme.

También agradezco al Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas, lugar donde realicé gran parte de la tesis.

Gracias a todas y cada una de las personas que formaron parte de esta investigación y me apoyaron con sus muestras y comentarios y a todas las personas que no he nombrado y han puesto de su parte, ayudando a la realización de esta tesis de un modo u otro.

ÍNDICE

RESUMEN.....	- 1 -
ABSTRACT	- 2 -
I. INTRODUCCIÓN	- 3 -
II. MARCO TEORICO.....	- 4 -
2.1 Plaguicidas.....	- 4 -
2.1.1 Clasificación.....	- 4 -
2.1.2 Residuos en alimentos.....	- 5 -
2.1.3 Riesgos para la salud de los plaguicidas organofosforados	- 6 -
2.1.3.1 Toxicidad aguda	- 7 -
2.1.3.2 Toxicidad crónica.....	- 7 -
2.2 Malatión.....	- 8 -
2.2.1 Clasificación y características	- 9 -
2.2.2 Efectos ambientales.....	- 9 -
2.2.3 Efectos a la salud.....	- 10 -
2.3 Sobrepeso y obesidad	- 12 -
2.4 Diabetes	- 14 -
2.5 Microbiota Intestinal.....	- 15 -
2.5.1 Microbiota intestinal y contaminantes ambientales	- 16 -
2.6 Probióticos.....	- 18 -
2.6.1 Lactobacilos	- 18 -
2.6.2 Funciones de los lactobacilos intestinales.....	- 19 -
III. JUSTIFICACIÓN.....	- 19 -
IV. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	- 20 -
4.1 Preguntas de investigación	- 20 -
V. HIPÓTESIS.....	- 20 -
VI. OBJETIVOS.....	- 21 -
6.1 Objetivo general	- 21 -
6.2 Objetivos específicos.....	- 21 -
VII. METODOLOGÍA	- 21 -
7.1 Generalidades	- 21 -
7.2 Muestra	- 21 -
7.2.1 Productos químicos	- 21 -

7.2.2	Animales.....	- 22 -
7.2.3	Lactobacillus	- 22 -
7.2.4	Suplemento probiótico	- 22 -
7.3	Diseño experimental.....	- 23 -
7.3.1	Obtención y procesamiento de la muestra.....	- 23 -
7.2.5	Iniciadores PCR.....	- 24 -
7.3.1.3	Identificación mediante PCR.....	- 25 -
7.3.2	Resistencia de Lactobacillus spp. a malatión.....	27
7.3.3	Selección de las especies de Lactobacillus para el modelo animal.....	27
7.3.4	Grupos de estudio y tratamiento.....	27
7.3.5	Cuantificación de glucosa y peso corporal.....	28
VIII.	RESULTADOS	29
8.1	Resistencia de Lactobacillus spp. a malatión.....	29
8.2	Efecto sobre el peso corporal.....	33
8.3	Niveles de glucosa en sangre.....	35
8.4	Comportamiento y parámetros fisiológicos	37
IX.	DISCUSIÓN.....	38
X.	CONCLUSIONES	46
XI.	REFERENCIAS.	46
XII.	ANEXOS.....	64
12.1	Autorización CICUAL.....	64

RESUMEN

El uso de plaguicidas se ha incrementado en el tiempo a la par del crecimiento de la población mundial y la demanda de alimentos. El malatión es uno de los plaguicidas más utilizados en México y el mundo. Su uso indiscriminado lo ha situado como el principal plaguicida detectado en productos alimenticios reflejándose en diversos problemas de salud como el aumento del estrés oxidativo, la resistencia a la insulina y la alteración del metabolismo de lípidos, factores de riesgo de diabetes y obesidad, dos de las enfermedades cuya prevalencia ha aumentado significativamente en los últimos años. El consumo de diversas especies de *Lactobacillus* con capacidad probiótica se ha asociado a diferentes efectos benéficos sobre la salud de quien los consume, los cuales podrían ayudar a contrarrestar la toxicidad ocasionada por el consumo de alimentos contaminados con residuos de plaguicidas. Los objetivos principales del estudio fueron determinar los efectos de la exposición crónica a malatión a dosis bajas sobre el peso y la glucosa de ratones, así como evaluar la resistencia de ocho especies de *Lactobacillus* a diferentes concentraciones de malatión y determinar el efecto protector de un suplemento probiótico con especies del género *Lactobacillus*. Se aislaron e identificaron por PCR ocho especies de *Lactobacillus* presentes en suplementos alimenticios y se probó su resistencia a diferentes concentraciones del insecticida malatión 1000[®] mediante la técnica de Kirby-Bauer. Todas las especies de *Lactobacillus* evaluadas, a excepción de *L. salivarius*, fueron capaces de crecer en presencia de malatión a dosis bajas (0.1 %, 1 %), sin embargo, la resistencia a dosis medias (10 %, 20 %) varía entre especies, mientras que a dosis altas (50 %, 83.6 %) no hubo crecimiento o el número de colonias era visiblemente menor con respecto al grupo control. En la segunda fase del estudio se determinó el peso y la glucosa sérica cada 10 días de cuatro grupos de ratones (control, malatión (10 ppm), probióticos y malatión (10 ppm) + probióticos) durante 180 días. La administración de malatión condujo a un incremento del peso y los niveles de glucosa en ratones del grupo malatión con respecto a los demás grupos. Teniendo en cuenta los datos anteriores concluimos que la resistencia de *Lactobacillus* spp. a diversas concentraciones de malatión varía de acuerdo con la especie, así mismo, el consumo de alimentos contaminados con residuos de malatión influye en el desarrollo de diabetes y obesidad y que el consumo de probióticos disminuye los efectos generados por la presencia de residuos en los alimentos.

ABSTRACT

The use of pesticides has increased over time along with the growth of the world population and the demand for food. Malathion is one of the most widely used pesticides in México and the world. Its indiscriminate use has placed it as the main pesticide detected in food products, causing health problems such as increased oxidative stress, insulin resistance, and altered lipid metabolism; risk factors for diabetes, and obesity, two diseases whose prevalence has increased significantly in recent years. The consumption of various species of *Lactobacillus* with probiotic capacity has been associated with different beneficial effects on health, which could help counteract the toxicity caused by the consumption of food contaminated with pesticide residues. The main objectives of the study were to determine the effects of chronic exposure to low-dose malathion on weight and glucose in mice, as well as to evaluate the resistance of eight species of *Lactobacillus* to different concentrations of malathion and to determine the protective effect of a supplement probiotic with species of the genus *Lactobacillus*. Eight species of *Lactobacillus* present in food supplements were isolated and identified by PCR and their resistance to different concentrations of the insecticide malathion 1000® was tested using the Kirby-Bauer technique. All of the *Lactobacillus* species tested, except for *L. salivarius*, were able to grow in the presence of malathion at low doses (0.1%, 1%), however, resistance at medium doses (10%, 20%) varied between species, while at high doses (50%, 83.6%) there was no growth or the number of colonies was visibly lower compared to the control group. In the second phase of the study, weight and serum glucose levels were determined every 10 days in four groups of mice (control, malathion (10 ppm), probiotics, and malathion (10 ppm) + probiotics) for 180 days. The administration of malathion led to an increase in weight and glucose levels in mice from the malathion group as compared to the other groups. Considering the above data, we conclude that the resistance of *Lactobacillus spp.* at different concentrations of malathion varies according to the species, likewise, the consumption of food contaminated with malathion residues influences the development of diabetes and obesity, and the consumption of probiotics reduces the effects generated by the presence of residues in food.

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad la humanidad enfrenta varios desafíos, entre ellos el cambio climático, la disminución de la pobreza y la producción e inocuidad de alimentos. La inocuidad alimentaria está amenazada por la presencia de sustancias que no deberían estar presentes en los alimentos como microorganismos patógenos, productos farmacéuticos, metales pesados y plaguicidas. El uso excesivo e inadecuado de los plaguicidas los ha ubicado como uno de los principales contaminantes del ambiente y los alimentos, originando un importante problema de inocuidad alimentaria y de salud (Villarreal et al., 2014). Los plaguicidas son una de las sustancias más tóxicas y estables presentes en el ambiente (Ahmed et al., 2018), se utilizan en todo el mundo y casi todos los humanos están potencialmente expuestos a estos agentes (Navarrete et al., 2018). El malatión es uno de los plaguicidas más utilizados en México y el mundo y de acuerdo con la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) es el principal plaguicida detectado en los productos alimenticios, con una presencia del 23 % en alimentos con inspección sanitaria.

A pesar de que la toxicidad aguda por malatión es bien conocida, poco se sabe de la potencial toxicidad crónica causada por la exposición continua a residuos de este plaguicida en los alimentos. Diversos estudios han vinculado la exposición a residuos de plaguicidas con alteraciones en la homeostasis de la glucosa (Lasram et al., 2008; Nili-Ahmadabadi et al., 2013; Ekremoğlu et al., 2020), el metabolismo de lípidos (Lasram et al., 2014; Lee et al., 2016; Ren et al., 2020), la actividad endocrina (Sargis et al., 2019) y el equilibrio oxidante/antioxidante (Mostafalou et al., 2017 y Arab et al., 2018), alteraciones que pueden conducir al desarrollo de problemas de salud como la diabetes y obesidad, enfermedades que han aumentado drásticamente en las últimas tres décadas de acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS).

Se han evaluado distintos métodos para prevenir o disminuir los efectos tóxicos a la salud por plaguicidas organofosforados, como el uso de antioxidantes y el uso de microorganismos y sus enzimas (Singh et al., 2016 y Sirajuddin et al., 2016). Muchos probióticos utilizados en la actualidad provienen del género *Lactobacillus*, los cuales han demostrado diversos beneficios para la salud del huésped, como la reducción del estrés oxidante (Tian et al., 2017), disminuyen la absorción y toxicidad de organofosforados (Trinder et al., 2016), se han asociado a diferentes efectos en el cambio de peso (Million et al., 2012; Drissi et al., 2014; Kang et al., 2017; Kim et al., 2018) y al control o mejora de pacientes con diabetes mellitus tipo 2 (Palacios et al., 2017; Evivie

et al., 2017; Khalili et al., 2019; Niibo et al., 2019; Venkataraman et al., 2019) han mencionado. Los múltiples beneficios observados en este género de bacterias nos llevan a pensar que podría ser una herramienta potencialmente eficaz contra la toxicidad originada por el consumo de residuos de plaguicidas presentes en los alimentos.

II. MARCO TEORICO

2.1 Plaguicidas

Entre los factores que limitan la producción agrícola y la calidad de las cosechas están las plagas, las cuales pueden atacar a los cultivos desde que las plantas inician su crecimiento, hasta la cosecha y el almacenamiento. La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2018) define a los plaguicidas como “cualquier sustancia destinada a prevenir, destruir, atraer, repeler o combatir cualquier plaga”. Su aplicación se considera un factor importante que contribuye al aumento de la productividad agrícola (Xiao et al., 2017). No obstante, la literatura muestra que el 98% de los insecticidas y el 95% de los herbicidas aplicados, llegan a un destino diferente al objetivo ocasionando varios efectos perjudiciales, tales como: desequilibrio ecológico, toxicidad para organismos no objetivo, agotamiento de la capa de ozono, residuos de plaguicidas en alimentos, forraje, suelo y agua, y el resurgimiento de plagas (Zahirnia et al., 2019). En función de su cantidad y modo de exposición pueden causar efectos tanto agudos como crónicos sobre la salud, impactando sobre el ambiente y todos los organismos asociados con él. En la actualidad, los plaguicidas son una de las sustancias más tóxicas y estables presentes en el ambiente (Ahmed et al., 2018) se utilizan en todo el mundo y casi todos los humanos están potencialmente expuestos a estos agentes a través de los alimentos (Navarrete et al., 2018). impactando sobre el ambiente y todos los organismos asociados con él.

2.1.1 Clasificación

Los plaguicidas pueden clasificarse de diversas maneras. La clasificación recomendada por la OMS establece una diferencia de cada plaguicida basada en la toxicidad aguda (sumamente peligrosos, muy peligrosos, moderadamente peligrosos y poco peligrosos). Sin embargo, otro tipo de clasificaciones de uso frecuente son conforme al tipo de plaga que desean erradicar (insecticida, herbicida, fungicida, etc.), a su estructura química (organoclorados, organofosforados, carbamatos,

piretroides, etc.), su persistencia en el ambiente (poco persistentes, moderadamente persistentes y altamente persistentes), su comportamiento en la planta (sistémicos y de contacto), por su especificidad (selectivos y no selectivos).

2.1.2 Residuos en alimentos

La contaminación química es un problema de seguridad alimentaria a nivel mundial, existen muchas sustancias potencialmente tóxicas en el ambiente que pueden contaminar los alimentos que consumen las personas, siendo los plaguicidas de uso agrícola uno de los principales. La creciente demanda de alimentos a supuesto un incremento en el uso de plaguicidas para aumentar la calidad y producción de los cultivos. No obstante que los plaguicidas permiten controlar la proliferación de plagas y enfermedades en los cultivos, así como reducir o evitar las pérdidas en la producción de alimentos (Alatorre et al., 2016), su uso conlleva el riesgo de exponer a los consumidores tanto a los propios plaguicidas como a sus metabolitos y productos de degradación a través de residuos, representando un importante problema de inocuidad alimentaria (Thompson y Darwish, 2019). Estos residuos se definen como cualquier sustancia presente en alimentos, productos agrícolas o piensos como consecuencia del uso de un plaguicida (FAO, 2018). Diversos estudios han sugerido que, a mayor número de aplicaciones del plaguicida, mayor concentración residual (Fuentes-Matus et al., 2010). Estos residuos pueden ser peligrosos una vez que entran en contacto con el sistema animal, especialmente en humanos, donde pueden presentar un riesgo potencial de inducir enfermedades crónicas (Xiao et al., 2017; Ahmed et al., 2018). La limitación de los niveles máximos de residuos trata de proteger a los consumidores de la presencia de plaguicidas en los alimentos. El *Codex Alimentarium* describe las normas alimentarias internacionales y establece los niveles máximos permitidos para contaminantes en los alimentos según la evaluación de riesgos y la evidencia científica. El Comité del Codex sobre Residuos de Plaguicidas (CCPR) ha establecido límites máximos de residuos (LMR) para más de 5.000 plaguicidas. Este comité también considera los informes de la Reunión FAO / OMS, que estima los límites máximos de residuos (LMR) y las ingestas diarias aceptables (IDA) para las personas. El Malatión es el principal plaguicida detectado en los productos alimenticios, con una presencia del 23 % en alimentos con inspección sanitaria (FDA, 2015).

2.1.3 Riesgos para la salud de los plaguicidas organofosforados

A pesar de las regulaciones en el desarrollo y uso de los plaguicidas con el fin reducir su impacto en la salud, la preocupación por el uso de estas sustancias químicas se incrementa día con día. Debido a su amplia disponibilidad y a su uso generalizado los plaguicidas han pasado a formar parte de la vida cotidiana, impactando la salud de los seres humanos y diversos organismos. (Lu et al., 2008). Los efectos adversos observados dependen de múltiples factores, que incluyen si la exposición es aguda o crónica, la dosis, la ruta de exposición y los detalles de la persona, como la edad, estado de salud y ocupación (Thompson et al., 2019). Algunas de las consecuencias más reconocidas de la exposición a estas sustancias químicas incluyen anomalías del desarrollo neonatal, disrupción endocrina, neurodegeneración, neuroinflamación y cáncer, además, se han informado déficits neuroconductuales y emocionales debido a alteraciones del sistema nervioso central (SNC) (Roman et al., 2019). Un creciente cuerpo de evidencia sugiere que la exposición a plaguicidas organofosforados (PO) puede potenciar el riesgo de obesidad y diabetes tipo 2 (Xiao et al., 2017) y desencadenar varias respuestas fisiológicas que incluyen alteraciones en la homeostasis de la glucosa, hiperglucemia y estrés oxidante. Además, la exposición altera los parámetros bioquímicos de hepatotoxicidad, lo que indica la aparición de daño hepático. Los cambios en la homeostasis de la glucosa y el daño hepático han sido ampliamente investigados e indican la participación de vías de toxicidad adicionales, de hecho, se han demostrado cambios en la homeostasis de la glucosa tanto en animales, como en humanos sometidos a una exposición aguda o crónica. De esta manera, la glucogenólisis, la gluconeogénesis y el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HPA) parecen verse afectados produciendo hiperglucemia. Con respecto al estrés oxidante, los estudios demostraron que la exposición a plaguicidas dio como resultado un aumento de la peroxidación lipídica y una disminución de los niveles de glutatión en el hígado, los riñones, el corazón, la sangre y las estructuras cerebrales. Además, las actividades de las enzimas antioxidantes glutatión peroxidasa (GPx), glutatión reductasa (GR), superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT) también fueron alteradas en varios tejidos (Abreu et al., 2019). Estudios recientes encontraron asociaciones entre la exposición a plaguicidas durante el embarazo temprano y el bajo peso al nacer; también se determinó que estos niños tenían una mayor propensión al aumento en el índice de masa corporal (IMC) hacia la edad escolar y adulta. También se observaron asociaciones entre la exposición persistente a plaguicidas y los biomarcadores potenciales de la enfermedad metabólica, el factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-1) y la hormona estimulante de la

tiroides (TSH) (Svingen et al., 2018). Se ha demostrado que los insecticidas OP tienen efectos obesogénicos moderados; alteran la homeostasis de la glucosa y pueden aumentar la incidencia de trastornos metabólicos como la obesidad y la diabetes a través de la resistencia a la insulina (Mostafalou et al., 2012; Lasram et al., 2015; Xiao et al., 2017). Otros estudios sobre la exposición temprana a niveles bajos o subtóxicos da como resultado prediabetes, anomalías en el metabolismo de los lípidos y promoción de obesidad en respuesta al aumento de grasas en la dieta (Thayer et al., 2012).

Se ha demostrado que algunos plaguicidas actúan como obesógenos (productos químicos inductores de obesidad) a dosis muy bajas. Los diferentes compuestos obesogénicos pueden tener diferentes mecanismos de acción, algunos de los cuales podrían afectar el número y tamaño de las células grasas o las hormonas que afectan el apetito, la saciedad, las preferencias alimenticias y el metabolismo energético (Lee et al., 2016).

2.1.3.1 Toxicidad aguda

Los efectos adversos inmediatos de la sobreexposición aguda a PO están relacionados con su capacidad para inhibir la actividad de la acetilcolinesterasa (AChE), interfiriendo en la transmisión de los impulsos nerviosos y las uniones neuromusculares, por la acumulación del neurotransmisor acetilcolina, lo que finalmente conduce a una alteración generalizada en las actividades fisiológicas y conductuales de cualquier organismo (Kamaladevi et al., 2016). Debido a la sobreestimulación del sistema nervioso se produce disfunción autonómica (aumento de la sudoración, hipersalivación, miosis, diarrea, secreción bronquial profunda, etc.), trastornos de las uniones neuromusculares (debilidad, fasciculaciones, espasmos, etc.) y varios efectos sobre el SNC (mareos, insuficiencia respiratoria, convulsiones y coma) (Xiao et al., 2017). Esos signos y síntomas, conocidos como síndrome colinérgico, generalmente desaparecen en 24 - 48 h (Roman et al., 2019).

2.1.3.2 Toxicidad crónica

A lo largo de la última década, se han incrementado los esfuerzos para descubrir más sobre la toxicidad de la exposición prolongada a bajos niveles de plaguicidas, no solo ocupacionalmente, sino también ambientalmente en la población general a través de los residuos presentes en los alimentos y el agua potable (Roman et al., 2019). Parece que los efectos tóxicos de algunos OP no se limitan a los inhibidores de la colinesterasa; ya que se han observado otras alteraciones, como

daño a las membranas celulares, producción de radicales libres y alteraciones en el sistema antioxidante del cuerpo debido al aumento en acetilcolina (Jalili et al., 2019). Aunque los primeros estudios toxicológicos indicaron que la exposición a niveles elevados de plaguicidas es nociva para la salud humana, recientemente se observó que la exposición crónica a bajos niveles también puede afectar los sistemas endocrino, inmune, nervioso y reproductor. En particular, la evidencia epidemiológica y experimental sustancial ha vinculado la exposición a dosis bajas de plaguicidas con disfunciones metabólicas relacionadas con la obesidad, como la diabetes tipo 2 y el síndrome metabólico (Lee et al., 2016). La activación de los receptores colinérgicos es significativa en la intoxicación aguda, pero otros mecanismos, como, el estrés oxidante y la neuroinflamación son importantes en exposiciones prolongadas a bajos niveles de OP (Mostafalou et al., 2012; Abbasabad et al., 2018). La hiperglucemia ha sido ampliamente citada como uno de los efectos de la exposición e intoxicación por plaguicidas OP en humanos y animales. Sin embargo, los mecanismos definidos que dan como resultado esta hiperglucemia aún no se conoce (Mostafalou et al., 2012). Un creciente cuerpo de evidencia sugiere que la exposición a los plaguicidas puede potenciar el riesgo de obesidad y diabetes tipo 2 (Xiao et al., 2017). Muchos estudios in vivo han demostrado que la exposición a OP provoca hiperglucemia y alteraciones en el metabolismo de la glucosa. El aumento de la glucogenólisis y la gluconeogénesis se consideran dos mecanismos clave asociados con la hiperglucemia inducida por OP. La exposición subcrónica al malatión causa disminución en las proteínas hepáticas, en el contenido de lípidos hepáticos y en la tasa de glucógeno muscular, tal efecto podría estar asociado con la gluconeogénesis hepática y la glucogenólisis (Czajka et al., 2019).

2.2 Malatión

El malatión es uno de los primeros insecticidas OP desarrollados en el mundo, ampliamente utilizado en la agricultura para el control de una extensa gama de insectos en cosechas agrícolas y para la prevención de insectos en granos almacenados (ATSDR, 2003; Singh et al., 2014; Alaviniaa et al., 2019). En los últimos años, se ha observado un marcado aumento en el uso de OP que tienen baja potencia, toxicidad y persistencia (Tuzcu et al., 2014). Es uno de los plaguicidas más utilizados en el mundo, principalmente por los países en desarrollo, donde se ha empleado desde 1956 hasta la fecha. México es uno de los principales consumidores a nivel mundial debido a su amplio

espectro, selectividad y toxicidad, su baja estabilidad química, su baja acumulación en los tejidos y su baja toxicidad para humanos. Estas características lo posicionan en ventaja con respecto a los plaguicidas organoclorados de elevada persistencia y gran bioacumulación (Lasram et al., 2015; CES, 2018).

2.2.1 Clasificación y características

En la tabla 1 se muestra la clasificación del malatión en función de algunas de sus características principales como son toxicidad aguda, vida media, estructura química, acción específica y uso (Ramírez et al., 2001). El Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés), ha clasificado al malatión como "probablemente cancerígeno" en los humanos (IARC, 2016).

Tabla 1. Clasificación del malatión de acuerdo con sus características

Característica	Clasificación
Toxicidad aguda	Toxicidad cambiante Extremadamente tóxico: abejas y organismos acuáticos Moderadamente tóxico: mamíferos y aves
Persistencia	Ligeramente persistente (1 semana)
Estructura química	Organofosforado
Acción específica	Insecticida
Uso	Agrícola, urbano, pecuario, industrial
Estándares ambientales (alimentos)	Cereales y verduras: 3 mg/kg Frutas: 1 mg/kg Límite máximo: 7 mg/kg (<i>Codex Alimentarium</i>)
Degradación	pH 7: 4-6 días; pH 8: 1 día; pH 6: 21 semanas
Ingesta diaria aceptable	0.02 mg/kg día ⁻¹ (EPA, 2015)

Nota. Elaboración propia, 2020.

2.2.2 Efectos ambientales

Muchos estudios toxicológicos realizados por la Agencia de Protección Ambiental (EPA) han clasificado al malatión como un plaguicida altamente tóxico (Kamaladevi et al., 2016). De acuerdo con la EPA (2015) aproximadamente 15 millones de libras se usan en todo el mundo anualmente; tal explotación por parte de los humanos ha contaminado el ambiente. Es un plaguicida ligeramente persistente, por lo que actúa a corto plazo sobre el ambiente cercano al lugar donde se aplica. Esto

causa, por un lado, la contaminación inmediata del ambiente abiótico (suelos, aguas superficiales y aire) y por otro, la muerte de diversos organismos sensibles a los que no se deseaba afectar, como las abejas y los organismos acuáticos, los cuales son extremadamente sensibles a este compuesto (SEMARNAT, 2017b).

2.2.3 Efectos a la salud

El malatión es uno de los plaguicidas más utilizados a nivel mundial y causa envenenamientos agudos y crónicos (Tuzcu et al., 2014). Debido a su influencia en diversos órganos y tejidos, como los órganos endocrinos, el hígado, el páncreas, los músculos y el tejido adiposo, muchos productos químicos pueden interferir con los eventos de señalización molecular y celular además de alterar los metabolismos de la glucosa y los lípidos (Xiao et al., 2017; Svingen et al., 2018). Estudios experimentales in vivo e in vitro apoyan la idea de que los plaguicidas no persistentes (p. Ej. malatión) contribuyen potencialmente a cambios metabólicos y la obesidad (Lukowicz et al., 2018). Este plaguicida ha dado lugar a importantes problemas clínicos por su toxicidad en todo el mundo (Basarslan et al., 2014). Después de su ingesta, se absorbe de forma rápida distribuyéndose principalmente al estómago y los intestinos además del hígado, riñón, tracto urinario y pulmones (Abreu et al., 2019). Al ser un agente altamente lipófilo, tiende a acumularse dentro de los tejidos ricos en lípidos, como el cerebro, causando toxicidad.

El malatión puede ejercer sus principales efectos tóxicos a través de la fosforilación del grupo (-OH) de la serina en el sitio activo de AChE y provocar la inhibición de la actividad enzimática en diferentes tejidos (Alaviniaa et al., 2019). El hígado es uno de los principales órganos diana de la toxicidad de éste OP, causa cambios degenerativos e interrumpe la arquitectura hepática. Su bioactivación está mediada principalmente por enzimas citocromo P450 en el hígado, generando el metabolito activo malaoxón (Abreu et al., 2019).

El estrés oxidante es otro mecanismo que afecta la toxicidad de los pesticidas OP, que conduce a la producción de radicales libres como las especies reactivas de oxígeno (ROS) y la peroxidación de lípidos de las membranas celulares. Además, seguido por cambios en los mecanismos de defensa antioxidante en el cuerpo. En condiciones normales, existe un equilibrio entre la producción y la eliminación de radicales libres. El desequilibrio en este proceso conduce a estrés oxidativo y múltiples cambios patológicos en macromoléculas celulares como los ácidos nucleicos (ADN),

lípidos, carbohidratos, proteínas y enzimas (Abbasabad et al., 2018; Jalili et al., 2019; Roman et al., 2019). Se ha demostrado que la exposición prolongada a niveles bajos de malatión disminuye la actividad de la acetilcolinesterasa y la colinesterasa en ratas Wistar (Zarejousheghani et al., 2018). La exposición a malatión causa síntomas en todo el cuerpo, y su intensidad dependerá de la gravedad de la exposición. Los síntomas incluyen sudoración excesiva, constricción de las pupilas, lagrimeo, salivación, calambres abdominales y musculares, diarrea, náuseas, vómitos y dificultad para respirar (Basarslan et al., 2014; SEMARNAT, 2017a; INEEC, 2018).

De hecho, muchos autores sugirieron que la administración crónica de malatión conduce a la resistencia a la insulina, que es consecuencia directa de la hiperglucemia (Tuzcu et al., 2014; Lasram et al., 2015) y a la alteración de enzimas que juegan un papel importante en la homeostasis de la glucosa muscular (Czajka et al., 2019). En el torrente sanguíneo, los plaguicidas OP son absorbidos rápidamente por el hígado, donde la mayoría de ellos se metabolizan a intermediarios más activos, por lo que el hígado se encuentra en el primer paso de la exposición y es importante debido a su función desintoxicante que está mediada por la glucogénesis y la gluconeogénesis las cuales han sido referidas como un objetivo de su toxicidad. Además, ahora se sabe que los mecanismos potenciales para los efectos observados son la activación de los receptores muscarínicos, causando hiperinsulinemia y sobreproducción de glucosa al aumentar la glucogenólisis para contrarrestar el estrés oxidante inducido por malatión, lo que puede ser un factor de riesgo potencial para el desarrollo de la DM tipo 2 (Mostafalou et al., 2012; Tuzcu et al., 2014). Otros estudios han relacionado el uso de malation con la degeneración macular relacionada con la edad (DMAE), la cual es una de las principales causas de ceguera en los países desarrollados (Montgomery et al., 2017).

Los estudios en animales han demostrado que éste insecticida puede conducir a un comportamiento similar a la ansiedad y trastornos del estado de ánimo (Roman et al., 2019). Se investigó el impacto de la exposición a éste otro OP, en el desarrollo del microbioma intestinal en ratones C57BL / 6 (Gao et al., 2018), se descubrió que alteraba la trayectoria de desarrollo del microbioma intestinal y la detección del quórum, así como los procesos fisiológicos relacionados, como la motilidad y la patogenicidad (Roman et al., 2019). Lasram et al. (2015) han informado alteraciones del metabolismo de los lípidos en animales expuestos a malatión, las cuales podrían ser signo de daño hepático, además, demostraron que eleva las actividades de AST, ALT, ALP, LDH y BLR en plasma, malondialdehído y catalasa en el hígado, mientras que las actividades de GSH, superóxido

dismutasa, glutatión S-transferasa, glutatión peroxidasa y butirilcolinesterasa se redujeron en los animales expuestos. La producción de radicales libres y el posterior estrés oxidante puede inducir la producción de especies de oxígeno activo, (hidroperóxidos, oxígeno singlete, peróxido de hidrógeno y superóxido) que conducen a la destrucción de células, ADN, proteínas y lípidos intracelulares y, en última instancia, a la muerte de las células hepáticas (Jalili et al., 2019)

Raafat et al. (2012) evaluaron el riesgo de resistencia a la insulina asociada con la exposición crónica al malatión entre 98 agricultores. Encontraron un aumento estadísticamente significativo en la circunferencia de la cintura, el IMC y los valores medios del nivel de glucosa en sangre en ayunas, el nivel de insulina en ayunas y el modelo homeostático para evaluar la resistencia a la insulina (conocido como HOMA-IR, por sus siglas en inglés) en los agricultores expuestos. Se sugiere que la exposición crónica a este insecticida puede inducir resistencia a la insulina entre los agricultores no diabéticos expuestos (Czajka et al., 2019). La obesidad y la diabetes se han convertido en enfermedades metabólicas de proporción pandémica. Curiosamente, se está estableciendo un posible vínculo entre los productos químicos ambientales, incluidos los pesticidas, con un aumento en el riesgo de desarrollar diabetes y obesidad (Czajka et al., 2019).

2.3 Sobrepeso y obesidad

La Organización Mundial de la Salud (OMS, 2021), define el sobrepeso y la obesidad como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud. El índice de masa corporal (IMC) es el indicador más simple de la relación entre el peso y la talla que se utiliza frecuentemente para identificar el sobrepeso y la obesidad en la población adulta, puesto que es la misma para ambos sexos (Tabla 2). Se calcula dividiendo el peso de una persona en kilos por el cuadrado de su talla en metros (kg/m^2)

Tabla 2. Clasificación del peso corporal de acuerdo con el IMC

Clasificación	IMC (Kg/m^2)
Peso Bajo	< 18.5
Peso Normal	18.5 - 24.9
Sobrepeso	25 - 29.9
Obesidad Tipo I o moderada	30 - 34.9
Obesidad Tipo II o severa	35 - 39.9
Obesidad Tipo III o mórbida	≥ 40

Nota. Elaboración propia con base en datos de la OMS, 2020.

La obesidad es uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial, que se ha calificado como la epidemia del siglo y a la que se destinan una gran cantidad de recursos económicos y humanos para su manejo, control y prevención (Bibiloni et al., 2009). En 2016, más de 1.900 millones de adultos en todo el mundo tenían sobrepeso y de estos, más de 650 millones eran obesos. La prevalencia mundial de la obesidad casi se triplicó entre 1975 y 2016 (OMS, 2018). Se estima que el 80% de las enfermedades en el hombre son causados por problemas asociados con el exceso de peso corporal (Barczynska et al., 2015). Numerosas enfermedades se han asociado a la obesidad, entre las que destacan la diabetes mellitus tipo 2 (DM-2), la dislipidemia, la hipertensión, la enfermedad coronaria y cerebrovascular, la osteoartritis y ciertos tipos de cáncer (Sanz et al., 2010).

Según el Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) el aumento en las tasas de obesidad y diabetes son las principales amenazas para la salud pública en los Estados Unidos y el mundo, (CDC, 2011), donde la prevalencia de obesidad en humanos se ha duplicado desde 1980 (OMS, 2017). De forma similar, también se han informado aumentos en el peso corporal en mascotas y animales de laboratorio en las últimas décadas (Thayer et al., 2012). El exceso de consumo de calorías y un estilo de vida sedentario son factores de riesgo bien conocidos para la obesidad y la diabetes. Sin embargo, existe un interés creciente en la contribución de los factores de riesgo "no tradicionales" a estas condiciones, incluidos los químicos ambientales y la microbiota intestinal (Auerbach et al., 2016).

La obesidad se caracteriza por un estado inflamatorio crónico, que se puede medir mediante alteraciones significativas en la expresión de marcadores de inflamación, causados por una respuesta secundaria a la función endocrina alterada de los adipocitos. Típicamente, las citocinas proinflamatorias y las citocinas tales como TNF- α e IL-6 están reguladas positivamente en individuos obesos, mientras que los mediadores antiinflamatorios tales como adiponectina son regulados negativamente. Las personas obesas también a menudo muestran un aumento de los niveles de insulina y el factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-1) (Svingen et al., 2018). Bajo el paradigma actual, la inflamación crónica de bajo grado del tejido adiposo es un mecanismo clave de las enfermedades relacionadas con la obesidad; los adipocitos agrandados de individuos obesos reclutan células proinflamatorias y liberan una variedad de citocinas, que predisponen a la resistencia a la insulina a través de la acumulación de grasa ectópica en el tejido no adiposo (Lee

et al., 2016). La leptina es una hormona producida por los tejidos grasos y secretada proporcionalmente a la masa adiposa y funciona como un regulador central de la homeostasis energética. Muchas formas de obesidad se caracterizan por un mayor nivel de leptina circulante, al mismo tiempo que muchas personas obesas son de hecho resistentes a la leptina. Esto sugiere que la leptina es principalmente un marcador de nutrición y no una hormona de saciedad de buena fe como se creía, evidenciada por el hecho de que la leptina es incapaz de reducir el peso en individuos obesos y que los niveles de leptina disminuyen con la restricción calórica y la pérdida de peso (Svingen et al., 2018).

2.4 Diabetes

La diabetes es una enfermedad crónica que aparece cuando el páncreas no produce insulina suficiente o cuando el organismo no utiliza eficazmente la insulina que produce, siendo la diabetes mellitus tipo 2 (DM2) la más común. El efecto de la diabetes no controlada es la hiperglucemia (aumento de la concentración de glucosa en la sangre), que con el tiempo daña gravemente muchos órganos y sistemas del cuerpo, trayendo como consecuencia disfunciones cardiovasculares, neurológicas, renales, entre otras (OMS, 2020).

La etiología de la DM2 está estrechamente relacionada con la obesidad y la resistencia a la insulina. De acuerdo con la OMS el número de personas con diabetes se ha triplicado en los últimos treinta años, aumentando su prevalencia significativamente en los países en desarrollo. Actualmente, la DM2 es el mayor problema al que se enfrenta el sistema nacional de salud en México; es la primer causa de demanda de atención médica y la enfermedad que consume el mayor porcentaje de gastos en las instituciones públicas y de acuerdo con el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) representa la segunda causa de muerte en nuestro país con un aproximado de 150 mil defunciones al año (INEGI, 2021).

La NORMA Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-2010. para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus, establece los niveles de referencia de glucosa en sangre (Tabla 3), define los procedimientos para la detección, diagnóstico y tratamiento de la diabetes y señala acciones a realizar por el sector público, privado y social para su prevención.

Tabla 3. Niveles de glucosa en sangre

	<u>Ayunas (mg / dL)</u>	<u>*Posprandial (mg / dL)</u>
Bajo	< 70	-----
Normal	70 - 100	< 140
Prediabetes	100 - 125	140 -200
Diabetes	> 125	> 200

Nota. * Dos horas después de comer

Elaboración propia con base en la clasificación de la NOM-015-SSA2 2010, 2020.

2.5 Microbiota Intestinal

El término microbiota hace referencia a la comunidad de microorganismos vivos residentes en un nicho ecológico determinado (Ruiz et al., 2010). La microbiota intestinal es la comunidad de microorganismos vivos residentes en el aparato digestivo que pertenecen principalmente a dos filos dominantes, los Firmicutes y los Bacteroidetes, así como Actinobacterias y Proteobacterias (Icaza, 2013). La relación entre las células humanas y la microbiota es cercana a 1:1, supera ampliamente el tamaño del genoma humano aproximadamente 150 veces y representa aproximadamente 1.5 kg de nuestro peso corporal (Sankar et al., 2015; van Olden et al., 2015; Kang y Cai, 2018). Desempeña un papel profundo en el procesamiento metabólico, la producción de energía, el desarrollo inmune y cognitivo y la homeostasis. Las comunidades de microorganismos en nuestro intestino funcionan como un órgano con muchas acciones metabólicas, inmunológicas y de tipo endocrino que influyen en la salud humana (Kang et al., 2018).

Se ha observado que el microbioma intestinal, definido como la población total de microorganismos con sus genes y metabolitos que colonizan el tracto gastrointestinal, no solo induce efectos localizados en el intestino, sino que también influye en muchos órganos distantes. Por ejemplo, puede afectar la salud del cerebro humano a través de componentes bacterianos estructurales, proteínas, enzimas, hormonas o estímulos causados directamente por ésta, a través del eje microbioma-intestino-cerebro, que es una red de comunicación bidireccional, la cual se produce a través de tres vías diferentes: neural (principalmente a través del nervio vago), endocrina

(cortisol) e inmune (citocinas). Además, los productos bacterianos activan el sistema nervioso entérico y estimulan los nervios aferentes (Bei et al., 2017; Roman et al., 2019). Los organismos que componen la microbiota son determinados por una serie de factores que incluyen el tipo de parto (cesárea o vaginal), lactancia materna o alimentación con biberón, las características de la dieta, el ambiente, la edad y los factores genéticos, que en conjunto influyen en el predominio de unos microorganismos sobre otros (Icaza, 2013). La microbiota intestinal es un ecosistema muy diverso, complejo y único para cada persona (Lastours y Fantin, 2015), resultado de largas variaciones interindividuales que dependen de la genética del hospedero y factores ambientales a los que están expuestos (Sanz et al., 2014). Es un factor ambiental involucrado en la obesidad y los trastornos metabólicos, los animales y seres humanos obesos presentan alteraciones en la composición de la microbiota intestinal en comparación con sus homólogos delgados específicamente, se demostró que los sujetos humanos obesos tienen un número reducido de Bacteroidetes y un número mayor de Firmicutes en comparación con los de sus homólogos delgados (Kang et al., 2018).

2.5.1 Microbiota intestinal y contaminantes ambientales

La evidencia científica emergente vincula la disbiosis de la microbiota intestinal con la exposición a agentes ambientales como los OP (Roman et al., 2019). Existe un creciente reconocimiento de la importancia de la microbiota intestinal para la salud humana, y se ha establecido la asociación entre un microbioma intestinal perturbado con enfermedades humanas (Bei et al., 2017). Dado el papel clave de la microbiota intestinal en la homeostasis del huésped, esta microbiota puede verse alterada o modificada temporalmente por factores como los antibióticos, la dieta y las toxinas como los pesticidas (Roman et al., 2019). La exposición a sustancias químicas se ha relacionado con diversos trastornos de la salud, como la obesidad, la diabetes tipo 2, el cáncer y el desequilibrio de los sistemas inmune y reproductor, mientras que la microbiota intestinal contribuye críticamente a una variedad de funciones metabólicas e inmunes en el hospedero. La literatura indica que la microbiota intestinal tiene gran capacidad de metabolizar agentes ambientales, por lo que puede modular la toxicidad para el huésped. Por el contrario, se ha demostrado que los contaminantes ambientales de diversas familias químicas alteran la composición y / o la actividad metabólica de las bacterias intestinales, lo que puede ser un factor importante que contribuye a dar forma al tipo

de microbiota intestinal de un individuo (Claus et al., 2016). Varios compuestos ambientales también han demostrado inhibir el crecimiento bacteriano gastrointestinal o inducir disbiosis la cual se ha relacionado con una serie de enfermedades intestinales y sistémicas. Dados los importantes papeles que desempeñan la microbiota intestinal y sus metabolitos en la regulación de las funciones fisiológicas normales, las perturbaciones funcionales de ésta inducidas por sustancias tóxicas ambientales pueden contribuir a su toxicidad o agravarla.

Los productos químicos sintéticos utilizados actualmente para diversas aplicaciones industriales y agrícolas están generando una contaminación generalizada del ambiente y sus efectos sobre la salud humana son una preocupación mundial. La creciente evidencia indica que la exposición a estos es uno de los múltiples factores que contribuyen al desarrollo de varios trastornos de salud. Sin embargo, no está claro cómo interactúan la microbiota intestinal y los plaguicidas y si estas interacciones son relevantes para la salud humana (Claus et al., 2016).

Se sabe desde hace décadas que los microorganismos intestinales están involucrados en la biotransformación de los xenobióticos. En 1973 Scheline sugirió que el potencial de la microbiota intestinal para metabolizar compuestos extraños era al menos tan grande como el del hígado (Scheline, 1973). El tracto gastrointestinal es la ruta principal por la cual los xenobióticos ingresan al cuerpo humano. La tasa y el alcance del metabolismo bacteriano es influenciado por las cantidades de xenobióticos que llegan al intestino distal, donde la concentración de bacterias es máxima.

Los productos químicos ambientales pueden absorberse poco después de la ingestión, y posteriormente pueden pasar al intestino delgado distal y al ciego por peristaltismo. Alternativamente, ellos o sus metabolitos pueden pasar a la sangre a través de la pared intestinal. Las bacterias tienen amplias capacidades enzimáticas y pueden metabolizar químicos ambientales de varias familias químicas, ya sea aumentando o disminuyendo su toxicidad para el huésped mamífero, sin embargo, los productos químicos ambientales también pueden afectar la composición y / o la función óptima de la microbiota intestinal, con posibles efectos sobre la salud del huésped (Claus et al., 2016).

2.6 Probióticos

Los probióticos son definidos como microorganismos vivos que cuando se consumen en cantidades apropiadas confieren efectos saludables al hospedador. Uno de los principales criterios que deben cumplir las bacterias para ser consideradas probióticas, es ser resistentes a las condiciones del tracto gastrointestinal (Moreno et al., 2011). Los probióticos de uso común incluyen una gran variedad de especies de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*. Dentro de los más utilizados se encuentran las bacterias del género *Lactobacillus*, las cuales confieren varios beneficios para la salud humana. Se ha utilizado ampliamente en productos fermentados que mejoran el estado antioxidante total y reducen el estrés oxidante en individuos sanos (Tian et al., 2017). Diversos estudios han asociado distintas especies de *Lactobacillus* con cambios en el peso (Million et al., 2012; Drissi et al., 2014; Kang et al., 2017; Kim et al., 2018). Autores como (Palacios et al., 2017; Smith et al., 2017; Khalili et al., 2019; Niibo et al., 2019; Venkataraman et al., 2019) han mencionado el control o mejora de pacientes con diabetes mellitus tipo 2, después del tratamiento con probióticos, los cuales también se han utilizado para reducir la toxicidad de OP. Trinder et al. (2016) descubrieron que *Lactobacillus* pueden unirse, pero no metabolizar plaguicidas OP y reducir la absorción intestinal *in vitro*. Curiosamente, el pretratamiento con *L. rhamnosus* redujo la mortalidad y los déficits de crecimiento en *Drosophila*. Otras cepas de *Lactobacillus* como *L. casei* redujeron la citotoxicidad *in vitro* (Roman et al., 2019) y aumentaron la sensibilidad a la insulina (Saha et al., 2021). Estas propiedades pueden significar que el género *Lactobacillus* es una herramienta potencialmente eficaz contra la toxicidad del malatión.

2.6.1 *Lactobacilos*

Los *Lactobacillus* son un género de bacterias Gram positivas, facultativas, que pertenecen al filo de los Firmicutes. Se han asociado a diferentes efectos sobre el cambio de peso, debido a que son los principales degradadores de los carbohidratos complejos y la fibra dietética, por lo que aumentan la eficiencia en la extracción de energía de la dieta, y sus metabolitos son una importante fuente de nutrientes para la microbiota intestinal (Sanz et al., 2014; Barczynska et al., 2015; Berry, 2016). Los lactobacilos sintetizan proteasas y amilasas que facilitan la digestión y absorción de nutrientes, por lo que se pueden catalogar como promotores del crecimiento.

2.6.2 Funciones de los lactobacilos intestinales

Las poblaciones de lactobacilos en el intestino humano impactan funciones fisiológicas del huésped a través de su actividad metabólica (Krishnan et al., 2015). Son capaces de secretar o alterar la producción de moléculas que afectan el equilibrio energético (Rosenbaum et al., 2015), ayudan en la digestión (degradación de los azúcares complejos como la pectina y celulosa), fermenta la fibra dietética, carbohidratos complejos y prebióticos que son beneficiosos para la síntesis de ácidos grasos de cadena corta (SCFA) (ácido butírico, ácido propiónico y ácido acético) y ácido láctico (Barczynska, et al., 2015). También producen enzimas ausentes en los seres humanos para la digestión, sintetizan vitaminas como la biotina y la vitamina K, sintetizan hormonas para dirigir el almacenamiento de grasas en el hospedero, regulan funciones del epitelio y el sistema inmune y previene la colonización por bacterias patógenas (Sankar, et al, 2015). Además, sobreviven en todo el tracto gastrointestinal, ya que son capaces de tolerar la presencia de bilis y pH bajo, asimismo producen un agente antimicrobiano, lo que les permite reducir el número de bacterias en el intestino (Berry, 2016).

III. JUSTIFICACIÓN

La incidencia de obesidad y diabetes ha aumentado de tal manera que la OMS las ha catalogado como la epidemia del siglo. Más del 70% de la población en Mexico tiene sobrepeso y una tercera parte padece obesidad, la cual se ha asociado a la diabetes, que representa la segunda causa de muerte en nuestro país con más de 150 mil defunciones al año. Además de los factores ya conocidos relacionados con el aumento de peso y el desarrollo de diabetes, como son una mala alimentación y el sedentarismo, existe un creciente interés para determinar la contribución de diversos factores de riesgo, entre ellos los plaguicidas, asociados a estas condiciones.

En las últimas décadas ha ido en aumento la presencia de diversos plaguicidas en productos de inspección sanitaria y de acuerdo con la FDA el malatión es principal plaguicida detectado en alimentos con inspección sanitaria, lo cual puede traer consigo consecuencias negativas para la salud de quien consume alimentos contaminados con residuos de estos plaguicidas. A pesar de existir numerosos estudios sobre los efectos de distintos plaguicidas, incluido el malatión, sobre la salud humana, pocos han utilizado un modelo de exposición crónica y dosis similares a una exposición real, a la que podría estar expuesta la población general a través del consumo de alimentos contaminados con residuos de plaguicidas, en este caso el malatión. Por lo que es necesario conocer los efectos que pueda ocasionar el consumo de alimentos contaminados con este

plaguicida, en particular sobre enfermedades como la diabetes y la obesidad, consideradas un desafío en el sistema de salud mexicano.

Los estudios sobre como mitigar los efectos del consumo de plaguicidas a dosis bajas son limitados, por lo que también es importante evaluar futuros tratamientos ante los posibles efectos del consumo de alimentos contaminados con residuos de plaguicidas. A lo largo de los años se ha estudiado el beneficio del consumo de distintos probióticos, muchos de ellos provenientes del género *Lactobacillus*, los cuales han reportado diversas propiedades que confieren varios beneficios para la salud del huésped; propiedades que nos han permitido considerar este género de bacterias como una herramienta potencialmente eficaz contra la toxicidad originada por el consumo de residuos de plaguicidas presentes en los alimentos. Por este motivo es necesario investigar, antes que nada, la resistencia de diversas especies de *Lactobacillus* al plaguicida malatión y en una segunda instancia evaluar las especies de fácil acceso a la población que sean resistentes a este insecticida y observar si pueden servir como agentes protectores ante los efectos nocivos del consumo de malatión a dosis bajas.

IV. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

4.1 Preguntas de investigación

- a) ¿Cuál es el efecto del consumo prolongado de malatión en dosis bajas?
- b) ¿Cómo influye el consumo de *Lactobacillus* en el peso corporal?
- c) ¿El consumo de *Lactobacillus* puede ayudar ante la ingesta crónica de malatión en dosis bajas?

V. HIPÓTESIS

En función de los objetivos que se describirán más adelante se puede formular las siguientes hipótesis:

- “El consumo crónico de malatión en dosis bajas, puede influir en el desarrollo de diabetes y obesidad de quien consume alimentos contaminados con este insecticida”.
- “El género de bacterias *Lactobacillus* podría disminuir los efectos del consumo prolongado de malatión e influir en el peso corporal”

VI. OBJETIVOS

6.1 Objetivo general

- 1) Determinar el efecto del consumo prolongado de malatión en dosis bajas, así como evaluar el efecto de *Lactobacillus spp.* sobre el peso corporal, los niveles de glucosa sérica y el consumo prolongado de malatión a través del estudio en un modelo murino.

6.2 Objetivos específicos

- 1) Aislar e identificar distintas especies de *Lactobacillus* presentes en suplementos alimenticios.
- 2) Determinar que especies de *Lactobacillus* son resistentes a malatión.
- 3) Evaluar el efecto de la ingesta prolongada de malatión a dosis bajas y determinar si esta influye en el peso corporal y los niveles de glucosa en sangre.
- 4) Observar el efecto del género *Lactobacillus* en cuanto al incremento o disminución de peso.
- 5) Identificar si las especies del género *Lactobacillus* pueden presentar un efecto protector ante el consumo crónico de alimentos contaminados con malatión en dosis bajas.

VII. METODOLOGÍA

7.1 Generalidades

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en las instalaciones del laboratorio de Micoplasmas del Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas del Instituto de Ciencias de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP).

7.2 Muestra

7.2.1 Productos químicos

Se utilizó el plaguicida de grado comercial: Malatión 1000 (O,O-Dimetil fosforoditioato de dietil mercaptosuccinato) de Agroquímica Tridente a una concentración de 10 ppm, la cual se seleccionó con base al riesgo que pueda asemejar una exposición real para la población general a través del consumo de alimentos.

Con el fin de conocer la resistencia de *Lactobacillus spp.* a malatión se prepararon seis soluciones a diferentes concentraciones de este insecticida (83.6 %, 50 %, 20 %, 10 %, 1 %, 0.1 %) utilizando agua estéril como solvente. Las diluciones se elaboraron utilizando la fórmula $C1 V1 = C2 V2$, donde C1 y C2 representan las concentraciones de las soluciones inicial y final respectivamente y V1 y V2 representan sus volúmenes. Las soluciones se catalogaron como dosis altas (83.6 % y 50 %), dosis medias (20 % y 10 %) y dosis bajas (1 % y 0.1 %) de acuerdo con la cantidad de principio activo presente.

7.2.2 Animales

Resulta necesario el uso de modelos experimentales capaces de reproducir las respuestas de manera semejante a lo que acontece en el ser humano. Se utilizaron 20 ratones macho de cuatro semanas de edad de la cepa *BALB/c*, los cuales fueron tratados conforme las guías de manejo y cuidado de animales de laboratorio del Comité Institucional para el Cuidado y uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP). Los criterios de inclusión fueron seleccionar ratones macho de la misma cepa (*BALB/c*), de la misma edad y con un peso similar. Se mantuvieron con un ciclo de luz-oscuridad de 12 h, una temperatura de $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$. y comida y agua a voluntad. Los ratones se sometieron a un periodo de adaptación de una semana y posteriormente se dividieron aleatoriamente en cuatro grupos de cinco animales y se trataron durante 180 días. El grupo 1 sirvió de control (sin intervenciones), el grupo 2 se le administró malatión (10 ppm), el grupo 3 se le administró un suplemento probiótico y el grupo 4 (M+ P) se le administró malatión (10 ppm) y el suplemento probiótico.

7.2.3 Lactobacillus

Las especies de *Lactobacillus* fueron aisladas de suplementos alimenticios (probióticos) comerciales y fueron comparadas con controles positivos proporcionadas por el Centro de Detección Biomolecular (CDB) de la BUAP. Para la conservación de los controles positivos y de cada aislado se utilizó caldo MRS y glicerol al 25 % y fueron almacenadas a -80°C .

7.2.4 Suplemento probiótico

Con el fin de determinar si el tratamiento con un probiótico revertía los efectos generados por el consumo de malatión en dosis bajas, tales como el incremento de peso y los niveles de glucosa en sangre, se eligió un probiótico comercial con la siguiente mezcla de microorganismos: *L.*

acidophilus ($5.0 * 10^8$ UFC), *L. casei* ($5.0 * 10^8$ UFC), *L. plantarum* ($0.88 * 10^8$ UFC), *L. rhamnosus* ($2.2 * 10^8$ UFC), *B. infantis* ($1.38 * 10^7$ UFC) y *S. thermophilus* ($3.33 * 10^5$ UFC). El probiótico se seleccionó conforme a los principales *Lactobacillus* presentes los suplementos probióticos de uso común que fueran resistentes a malatión.

7.3 Diseño experimental

7.3.1 Obtención y procesamiento de la muestra

Las especies de *Lactobacillus* fueron aisladas a partir de distintos probióticos. Las muestras se sembraron en caldo MRS durante 24 h para activar a los probióticos y posteriormente se sembraron en agar MRS a 37°C durante 24-48 h, para su aislamiento. Las especies que presumiblemente permitían considerarlas como *Lactobacillus* se seleccionaron en base a las características morfológicas de sus colonias, la observación microscópica y la prueba de la catalasa (Reiner, 2010).

7.3.1.1 Prueba de catalasa

La presencia de la enzima catalasa fue verificada colocando una gota de peróxido de hidrogeno (H_2O_2) al 3 % en contacto con una colonia de cada aislado bacteriano, la catalasa descompone el H_2O_2 en agua y oxígeno, generando el desprendimiento de burbujas (Reiner, 2010). La ausencia de burbujas indico que las bacterias no presentaban actividad catalasa, característica del género *Lactobacillus*. Como control positivo se utilizó una cepa de *S. aureus* y como control negativo una cepa de *L. rhamnosus* donadas por el Centro de Detección Biomolecular (CDB) de la BUAP.

7.3.1.2 Extracción del ADN

Las muestras de ADN se extrajeron de los aislados que cumplían las características de *Lactobacillus*, utilizando el kit de extracción Quick-DNA™ Universal Kit de Zymo Research, siguiendo las instrucciones del fabricante:

1. Colocar una colonia de cada aislado de *Lactobacillus* en un tubo para microcentrífuga y añadir 95 μ L de agua 95 μ L de Buffer para tejido sólido y 10 μ L de Proteinasa K.

2. Agitar en Vórtex y después incubar a 55°C de 1-3 h hasta que el tejido solubilice. Se agita nuevamente y se centrifuga a 12,000 rpm por 1 minuto. Transferir el sobrenadante a un tubo limpio.
3. Añadir 400 µL del Buffer de unión genómica al sobrenadante y mezclar.
4. Transferir la mezcla a una columna de extracción Zymo-Spin y se coloca en un tubo colector y centrifugar a 12,000 rpm por 1 minuto. Descartar el tubo colector.
5. Añadir 400 µL del Buffer de pre-lavado a la columna en un nuevo tubo colector y centrifugar a 12,000 rpm por 1 minuto. Vaciar el tubo colector.
6. Añadir 700 µL del Buffer de lavado a la columna y centrifugar a 12,000 rpm por 1 minuto. Vaciar el tubo colector.
7. Añadir 200 µL del Buffer de lavado a la columna y centrifugar a 12,000 rpm por 1 minuto. Descartar el tubo colector.
8. Para eluir el DNA, se transfiere la columna de extracción a un tubo para microcentrífuga limpio y se añade 50 µL del Buffer de elución, se incuba por 5 minutos a 60°C y después se centrifuga a 12,000 rpm por 1 minuto. La solución recogida será el DNA purificado.
9. Se almacena la muestra a -70°C, para su conservación. y la posterior realización de la PCR.

7.2.5 Iniciadores PCR

Se utilizaron iniciadores específicos para cada especie de *Lactobacillus* descritos en trabajos previos (Hyuk-Sang et al., 2004; Kwon et al., 2005; Vergara, 2018) y sintetizados por la empresa T4 Oligo (Tabla 4).

Tabla 4. *Iniciadores para Lactobacillus spp. utilizados en este estudio*

Especies de <i>Lactobacillus</i>	Iniciador	Secuencia (5' - 3')	Tamaño del fragmento (pb)
<i>L. fermentum</i>	Lfer-3F	ACTAACTTGACTGATCTACGA	192
	Lfer-3R	TTCACTGCTCAAGTAATCATC	
<i>L. plantarum</i>	Lpla-3F	ATTCATAGTCTAGTTGGAGGT	248
	Lpla-3R	CCTGAACTGAGAGAATTTGA	
<i>L. reuteri</i>	Lreu-4F	CAGACAATCTTTGATTGTTTAG	303
	Lreu-4R	GCTTGTTGGTTTGGGCTCTTC	

<i>L. acidophilus</i>	Laci-F	AGCTGAACCAACAGATTCAC	210
	Laci-R	ACTACCAGGGTATCTAATCC	
<i>L. rhamnosus</i>	Lrha-F	CAGACTGAAAGTCTGACGG	190
	Lrha-R	GCGATGCGAATTTCTATTATT	
<i>L. casei</i>	Lcas-F	CTCAAAGCCGTGACGGTC	742
	Lcas-F	ACGTGGTGCTAATAATCCTAGTG	
<i>L. brevis</i>	Lbre-F	GAAGCTAGTGGCGAACTGGT	563
	Lbre-R	CTCCCAGTTTCCGATGCAC	
<i>L. salivarius</i>	Lsal-F	AGGTTCGAAAGCGTGGGTAG	280
	Lfsal-R	TCCCCGAAGGGAAAGCCTAA	

Nota. * Los iniciadores específicos para cada especie de *Lactobacillus* fueron sintetizados por la empresa T4 Oligo.

Elaboración propia con base en datos descritos en trabajos previos (Kwon *et al.*, 2005; Vergara, 2018), 2020

7.3.1.3 Identificación mediante PCR

La identificación de las especies de *Lactobacillus* se realizó mediante la técnica de PCR punto final en un termociclador TECHNE TC-412, utilizando el kit DreamTaq PCR Master Mix (2X) de Thermo Scientific, siguiendo las instrucciones del fabricante:

- I. Por cada muestra de DNA, colocar en un tubo para PCR: 25 μ L de DreamTaq PCR Master Mix (2X), 0.2 μ L del Forward Primer, 0.2 μ L del Reward Primer, 4 μ L de DNA y 20.6 μ L de agua libre de nucleasas. (Volumen Total 50 μ L).
- II. Agitar el tubo de PCR con la mezcla en Vortex.
- III. Realizar la PCR utilizando el ciclo térmico recomendado para cada microorganismo, según las condiciones descritas en otros estudios (Tabla 5).

Tabla 5. Condiciones de PCR utilizadas en el estudio *Lactobacillus*

	<i>L. fermentum</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>L. reuteri</i>	<i>L. acidophilus</i>
Tamaño del fragmento	192 Pb	248 Pb	303 Pb	210 Pb
Desnaturalización inicial	95°C / 5min	95°C / 5min	95°C / 5min	95°C / 5min
Numero de ciclos	35	35	35	35
Desnaturalización	95°C / 20s	95°C / 20s	95°C / 20s	95°C / 20s
Alineación y extensión	60°C / 2min	60°C / 2min	60°C / 2min	68°C / 2min
Extensión final	72°C / 10min	72°C / 10min	72°C / 10min	72°C / 10min
	<i>L. rhamnosus</i>	<i>L. casei</i>	<i>L. brevis</i>	<i>L. salivarius</i>
Tamaño del fragmento	190 Pb	742 Pb	563 Pb	280 Pb
Desnaturalización inicial	95°C / 5min	95°C / 5min	95°C / 5min	95°C / 5min
Numero de ciclos	35	35	35	35
Desnaturalización	95°C / 30s	95°C / 30s	95°C / 30s	95°C / 30s
Alineación	62°C / 45s	62°C / 45s	62°C / 45s	55°C / 45s
Extensión	72°C / 1min	72°C / 1min	72°C / 1min	72°C / 1min
Extensión final	72°C / 10min	72°C / 10min	72°C / 10min	72°C / 10min

Nota. Elaboración propia con base en datos descritos en trabajos previos (Hyuk-Sang et al., 2004; Kwon et al., 2005; Vergara, 2018), 2020.

7.3.2 Resistencia de *Lactobacillus* spp. a malatión

Para determinar la capacidad de resistencia o tolerancia al insecticida malatión 1000[®], de las distintas especies de *Lactobacillus* aisladas e identificadas en la investigación, se hicieron bioensayos mediante la técnica de Kirby-Bauer (Hudzicki, 2009), impregnando discos estériles de 6 mm de diámetro con 5 µL del insecticida malatión a seis diferentes concentraciones de ingrediente activo (83.6 %, 50 %, 20 %, 10 %, 1 %, 0.1 %). Se establecieron dos controles. El primero, cada uno de los *Lactobacillus* sin plaguicida con el fin de monitorizar el crecimiento del microorganismo durante el tiempo del ensayo. El segundo, se realizó con cada una de las seis concentraciones del insecticida sin inóculo para asegurar que no estuviesen previamente contaminado por microorganismos.

Las suspensiones de *Lactobacillus* se prepararon en caldo MRS incubándose durante 24-48 h a 37°C. Las suspensiones se ajustaron al estándar 0.5 en la escala de McFarland equivalente a 1.5×10^8 UFC/mL, se sembraron en placas Petri con agar MRS y se procedió a colocar los discos a diferentes concentraciones de malatión. Las placas se incubaron a 37°C durante 24-48 h y se procedió a medir el diámetro de los halos de inhibición (Hudzicki, 2009). De acuerdo con el tamaño en milímetros de los halos de inhibición, se determinó si las diversas especies de *Lactobacillus* eran sensibles (S), intermedio o moderadamente sensibles (I) o resistentes (R) a las distintas concentraciones de malatión. Las pruebas se realizaron por duplicado.

7.3.3 Selección de las especies de *Lactobacillus* para el modelo animal

Se seleccionaron las especies de *Lactobacillus* que fueron más frecuentemente aisladas en suplementos probióticos y que además fueran resistentes al malatión en dosis bajas (*acidophilus*, *casei*, *plantarum* y *rhamnosus*); dichas especies se eligieron para montar el experimento en un modelo murino y observar su efecto a largo plazo en cuanto al incremento o disminución de peso, así como evaluar si existe un efecto protector ante el consumo de malatión en dosis bajas.

7.3.4 Grupos de estudio y tratamiento

El estudio se realizó con 20 ratones macho de seis semanas de edad de la cepa *BALB/c*, los cuales se distribuyeron en cuatro grupos con cinco animales por grupo con el fin de observar el efecto en los niveles de glucosa y el peso corporal de la administración oral de malatión y *Lactobacillus* durante 180 días.

Los grupos se asignaron de manera aleatoria simple y se dividieron de la siguiente manera:

- I. Control (n=5): Sin Intervención
- II. Malatión(n=5): Malatión (10 ppm)
- III. Probióticos (n=5): Suplemento probiótico
- IV. Probióticos + Malatión (n=5): Suplemento probiótico + Malatión (10 ppm)

El suplemento probiótico y el malatión se adicionaron en el agua, la cual se sustituía cada 24 h. La dosis de malatión se seleccionó en base a estudios previamente publicados que demostraron la presencia de residuos de malatión en alimentos y que pueda asemejarse a una exposición real. Para la población general, la manera más probable a través de la cual el malatión puede entrar al cuerpo es al ingerir alimentos o agua contaminados, debido a esto, en el presente trabajo de investigación se consideró la vía de administración oral como la más conveniente, ya que esta utiliza la forma natural de absorción que es el intestino, además la mayoría de los probióticos, en este caso *Lactobacillus spp.*, también son administrados por esta vía.

También se evaluaron parámetros fisiológicos (piloerección, cambios en el brillo de los ojos, cambios en la expresión facial, posición de las orejas y del bigote, etc.) y el comportamiento animal (intranquilidad, agresividad, pérdida del apetito, disminución del consumo de agua).

7.3.5 Cuantificación de glucosa y peso corporal

Las mediciones de los niveles de glucosa y el peso corporal se realizaron al inicio del experimento y cada 10 días durante un periodo de 180 días, dejando a los animales en ayuno durante 8 h antes de las mediciones. Los niveles de glucosa se midieron con la ayuda de un glucómetro marca Gmate WHEEL, la muestra de sangre se obtuvo por medio de punción de la cola de los ratones. La medición del peso corporal (g) se realizó con una balanza digital de marca Rhino modelo BABOL-100G.

7.3.6 Análisis estadístico

Los datos obtenidos se tabularon y almacenaron en una base de datos utilizando Microsoft Excel. Todos los análisis se realizaron con el programa estadístico GraphPad Prism 9. Los datos se analizaron utilizando el análisis de varianza (ANOVA) seguido de la prueba de Tukey para

determinar si existían diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los diferentes grupos. Los resultados se presentan como la media ($n=5$) \pm la desviación estándar (DE).

VIII. RESULTADOS

8.1 Resistencia de *Lactobacillus* spp. a malatión

Se aislaron e identificaron ocho especies de *Lactobacillus* (*L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. casei*, *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. reuteri*, *L. rhamnosus* y *L. salivarius*) provenientes de suplementos probióticos. Las especies se seleccionaron de acuerdo con las características fenotípicas del género (Tabla 6) y la identificación se realizó mediante la técnica de PCR de punto final. Los productos de PCR se observaron usando electroforesis en gel de agarosa al 2 % (Figura. 1 A, B, C, D).

Tabla 6. Características del género *Lactobacillus*

Prueba	Resultado
Colonias	Pequeñas, circulares, convexas, suaves y blancas
Tinción de Gram	Bacilos Gram positivos
Catalasa	Negativa

Nota. Elaboración propia, 2020.

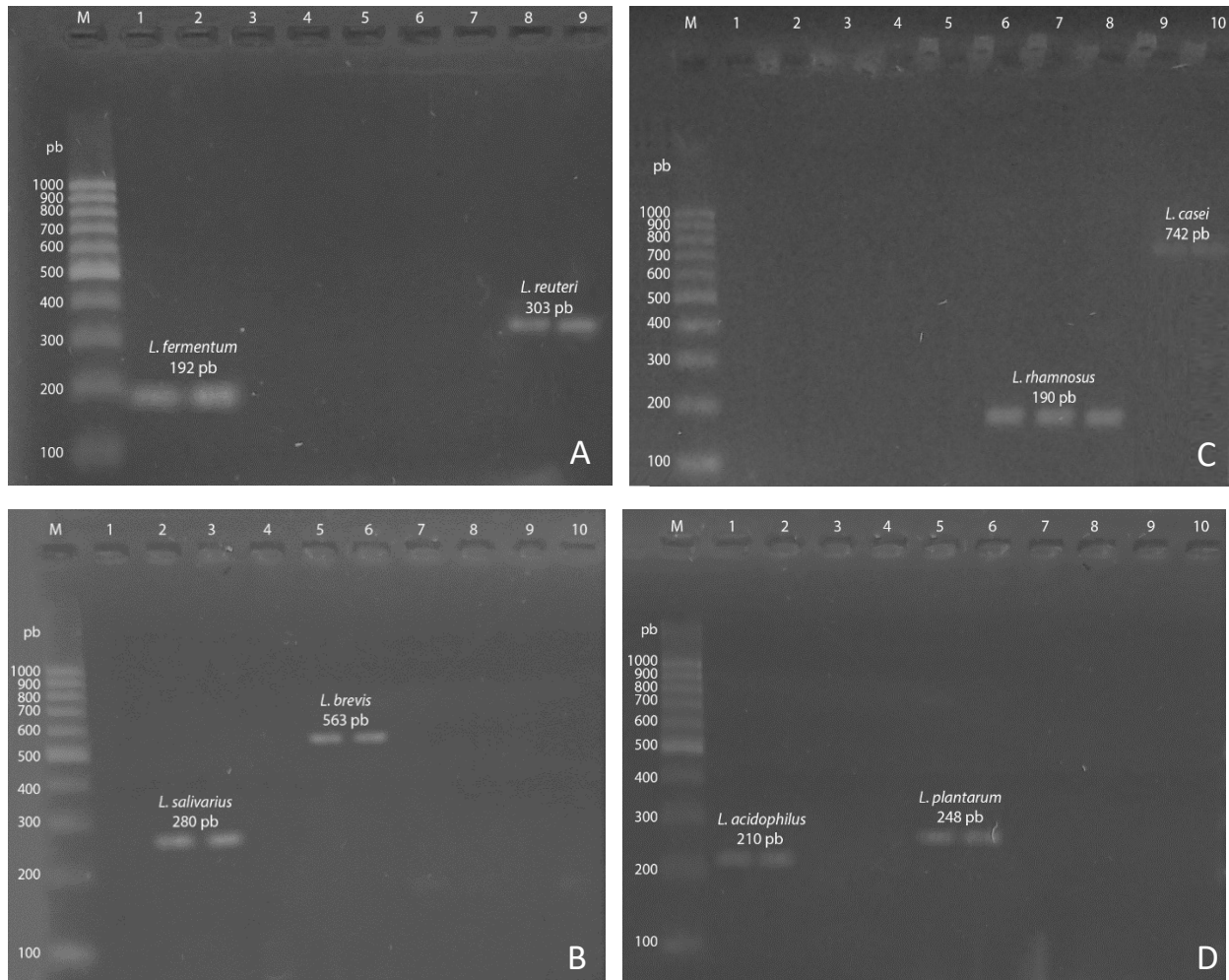


Figura 1. Electroforesis en gel de agarosa al 2 % de productos de PCR de ocho especies del género *Lactobacillus* aisladas de productos alimenticios (probióticos). **A.** Carril M: marcador de peso molecular de 100 Pb, carril 1: muestra, carril 2: control positivo (*L. fermentum*), carril 3: control negativo, carril 8: muestra, carril 9: control positivo (*L. reuteri*). **B.** Carril M: marcador de peso molecular de 100 Pb, carril 1: control negativo, carril 2: muestra, carril 3: control positivo (*L. salivarius*), carril 5: muestra, carril 6: control positivo (*L. brevis*). **C.** Carril M: marcador de peso molecular de 100 Pb, carril 2: control negativo, carril 6: muestra, carril 7: muestra, carril 8: control positivo (*L. rhamnosus*), carril 9: muestra, carril 10: control positivo (*L. casei*). **D.** Carril M: marcador de peso molecular de 100 Pb, carril 1: muestra, carril 2: control positivo (*L. acidophilus*), carril 3: control negativo, carril 5: muestra, carril 6: control positivo (*L. plantarum*).

Nota. Elaboración propia. Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas. CICM, BUAP, 2020.

La tabla 7 muestra la resistencia a seis diferentes concentraciones (83.6 %, 50.0 %, 20.0 %, 10.0 %, 1.0 % y 0.1 %) de malatión 1000[®], mediante la técnica de Kirby-Bauer, de las ocho especies de *Lactobacillus* aisladas de suplementos probióticos. Los resultados se expresan como: Sensible (S) si el diámetro del halo es mayor de 11 mm, intermedio (I) si el diámetro del halo es de 7-11 mm y resistente (R) si el diámetro del halo es menor de 7 mm.

Tabla 7. Resistencia de *Lactobacillus* a distintas concentraciones de malatión 1000[®]

<i>Lactobacillus</i>	Concentración de malatión 1000 [®]					
	83.6 %	50.0 %	20.0 %	10.0 %	1.0 %	0.1 %
<i>L. reuteri</i>	I	I	R	R	R	R
<i>L. plantarum</i>	S	I	R	R	R	R
<i>L. brevis</i>	S	I	I	R	R	R
<i>L. salivarius</i>	S	S	S	S	I	R
<i>L. acidophilus</i>	S	I	I	I	R	R
<i>L. fermentum</i>	S	I	I	R	R	R
<i>L. casei</i>	S	I	R	R	R	R
<i>L. rhamnosus</i>	S	S	S	I	R	R

Nota. * Los resultados se obtuvieron por duplicado mediante el método de Kirby-Bauer y se expresan como: Sensible (S), Intermedio o Moderadamente Sensible (I) y Resistente (R).
Elaboración propia, 2020.

Todas las especies de *Lactobacillus* evaluadas, a excepción de *L. salivarius* (Figura. 2D), fueron capaces de crecer en presencia de malatión a dosis bajas (0.1 %, 1 %), sin embargo, la resistencia a dosis medias (10 %, 20 %) varía entre especies, mientras que a dosis altas (50 %, 83.6 %) no hubo crecimiento o el número de colonias era visiblemente menor con respecto al grupo control.

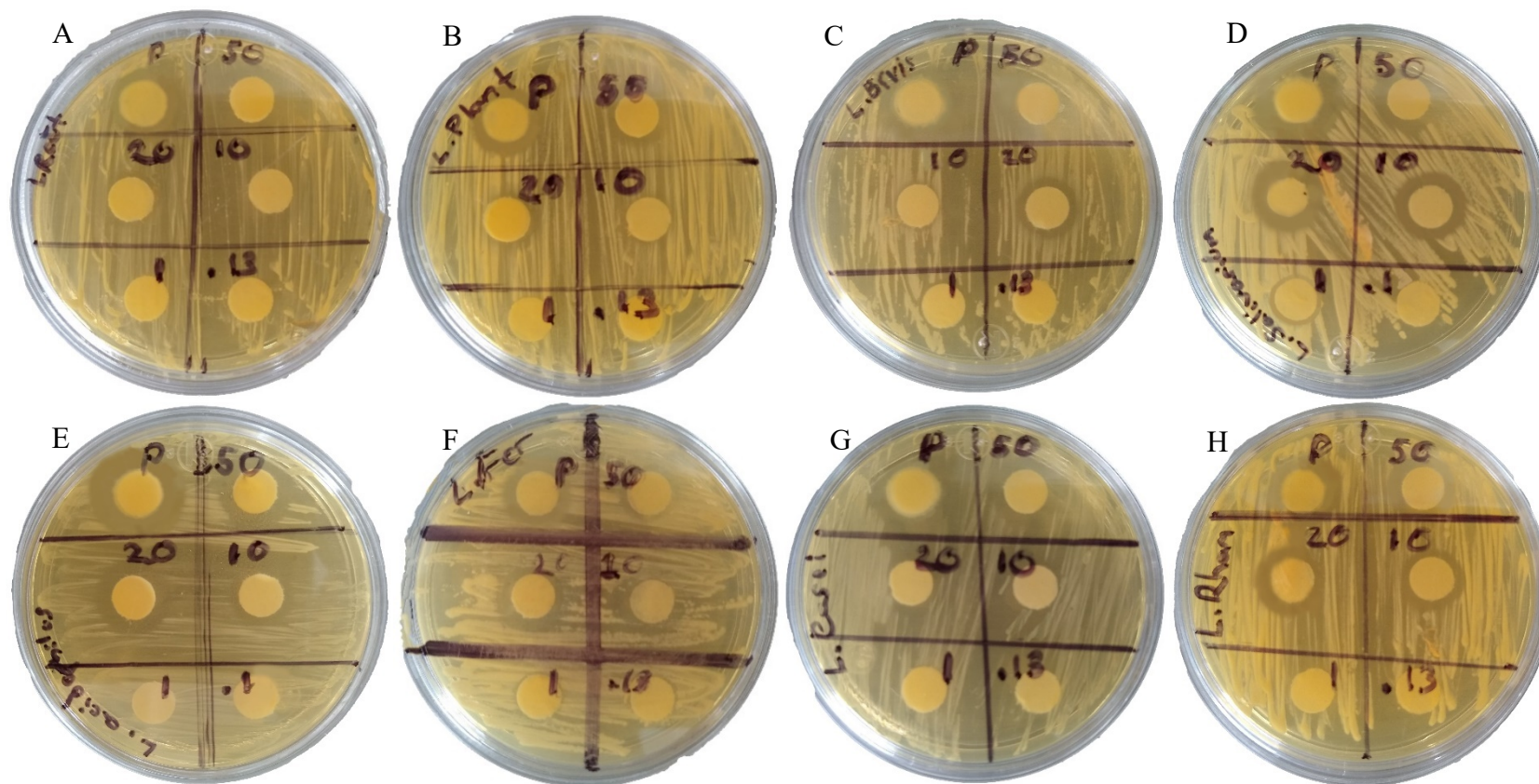


Figura 2. Resistencias representativas de **A.** *L. reuteri*, **B.** *L. plantarum*, **C.** *L. brevis*, **D.** *L. salivarius* **E.** *L. acidophilus*, **F.** *L. fermentum*, **G.** *L. casei*, **H.** *L. rhamnosus*, a diversas concentraciones de malión (P (83.6 %), 50 %, 20 %, 10 %, 1 %, y 0.1 %) mediante la técnica de Kirby-Bauer.

Elaboración propia. Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas. CICM, BUAP. 2020.

8.2 Efecto sobre el peso corporal

Se estudiaron 20 ratones macho de la cepa BALB/c de 6 semanas de edad, divididos en 4 grupos. La Tabla 8 muestra la media y la desviación estándar del peso corporal de los 4 grupos de ratones cada 10 días durante los 180 días del experimento.

Tabla 8. *Peso de ratones (g) a intervalos de 10 días*

Día	Control	Malatión	Probióticos	Malatión + Probióticos
0	15.19 ± 0.80	15.41 ± 1.50	15.36 ± 1.09	15.58 ± 0.97
10	20.79 ± 1.77	21.31 ± 2.21	21.28 ± 1.35	20.65 ± 1.50
20	28.59 ± 2.62	28.05 ± 2.60	29.20 ± 3.17	28.90 ± 2.18
30	33.01 ± 3.58	32.57 ± 4.37	32.17 ± 3.32	31.51 ± 4.58
40	33.61 ± 1.66	32.65 ± 5.64	30.89 ± 2.78	34.27 ± 4.51
50	31.68 ± 1.78	32.12 ± 5.21	30.44 ± 3.34	34.94 ± 5.65
60	33.69 ± 3.16	35.22 ± 5.05	33.06 ± 2.61	35.80 ± 5.34
70	34.31 ± 2.89	37.79 ± 4.31	35.87 ± 2.91	37.06 ± 5.66
80	36.27 ± 1.91	38.49 ± 5.75	36.21 ± 4.11	38.54 ± 5.09
90	38.74 ± 2.54	39.37 ± 5.66	36.99 ± 2.91	38.37 ± 5.04
100	37.79 ± 1.51	39.78 ± 5.51	37.48 ± 3.86	38.75 ± 4.16
110	38.37 ± 1.97	41.60 ± 4.92	38.07 ± 2.65	39.83 ± 3.77
120	38.86 ± 1.87	42.64 ± 4.94	39.78 ± 2.55	39.90 ± 3.90
130	38.45 ± 1.88	43.57 ± 3.84	38.82 ± 1.78	39.57 ± 3.78
140	37.80 ± 1.45	43.88 ± 2.81	38.77 ± 1.70	39.27 ± 3.56
150	37.54 ± 1.44	43.68 ± 2.45	38.27 ± 1.44	39.52 ± 3.97
160	37.34 ± 1.17	43.72 ± 2.60	38.51 ± 2.32	39.19 ± 4.13
170	37.35 ± 0.56	44.14 ± 2.21	38.35 ± 1.25	39.06 ± 3.06
180	37.58 ± 0.57	44.00 ± 1.67	38.42 ± 1.31	39.13 ± 3.68

Nota. * Los resultados se expresan como la media ± SD de cinco ratones por grupo. Elaboración propia, 2021.

En la figura 3 se muestra la evolución del peso corporal promedio de los cuatro grupos de estudio durante los 180 días de la investigación. Se puede observar que la ganancia de peso fue mayor en los dos grupos a los cuales se les administro malatión, siendo más notoria en el grupo malatión a partir del día 110 en comparación con los demás grupos.

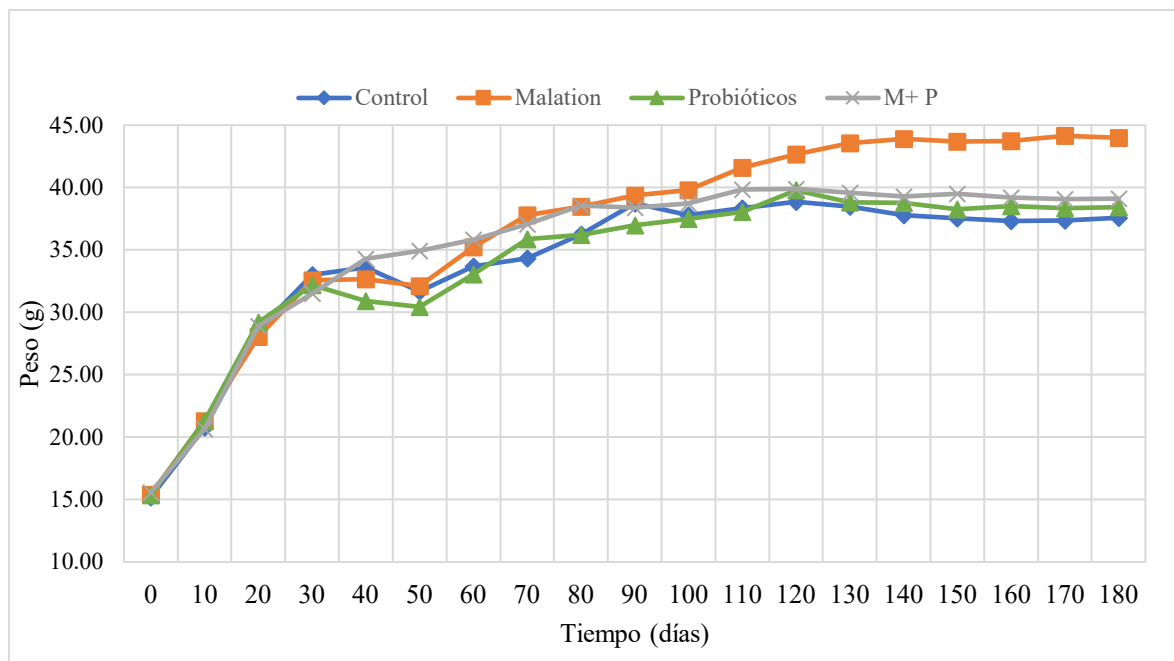


Figura 3. Evolución del peso corporal de los cuatro grupo de estudio durante 180 días. Los datos se expresan como la media de 5 animales por grupo. Elaboración propia, 2021.

En la figura 4 se muestra la comparación de los valores promedios del peso (g) de ratones BALB/c, después de la administración de malatión, probióticos y M + P, durante 180 días. De acuerdo con los resultados obtenidos se puede observar que la ganancia de peso del grupo malatión fue mayor (36.84 ± 8.2 g) con respecto a al grupo control (34.05 ± 6.4 g), probióticos (34.10 ± 6.5 g) y M+ P (35.25 ± 6.8 g). Así mismo, al comparar los cambios de peso entre los diferentes grupos, se observó que el grupo de ratones a los que se les administro malatión presentaron diferencias significativas en comparación con los ratones del grupo control ($p < 0.0001$), los del grupo probióticos ($p < 0.0001$) y los del grupo M+ P ($p = 0.0034$). Los resultados sugieren que el consumo de malatión en dosis bajas si influye en el aumento de peso y que la administración de probióticos a la par del consumo de alimentos contaminados con malatión ayuda a disminuir este incremento de peso. Sin embargo, esta disminución de peso no es del todo efectiva ya que el el grupo M + P también tuvo un aumento de peso significativo al compararlo con el grupo control ($p = 0.0387$).

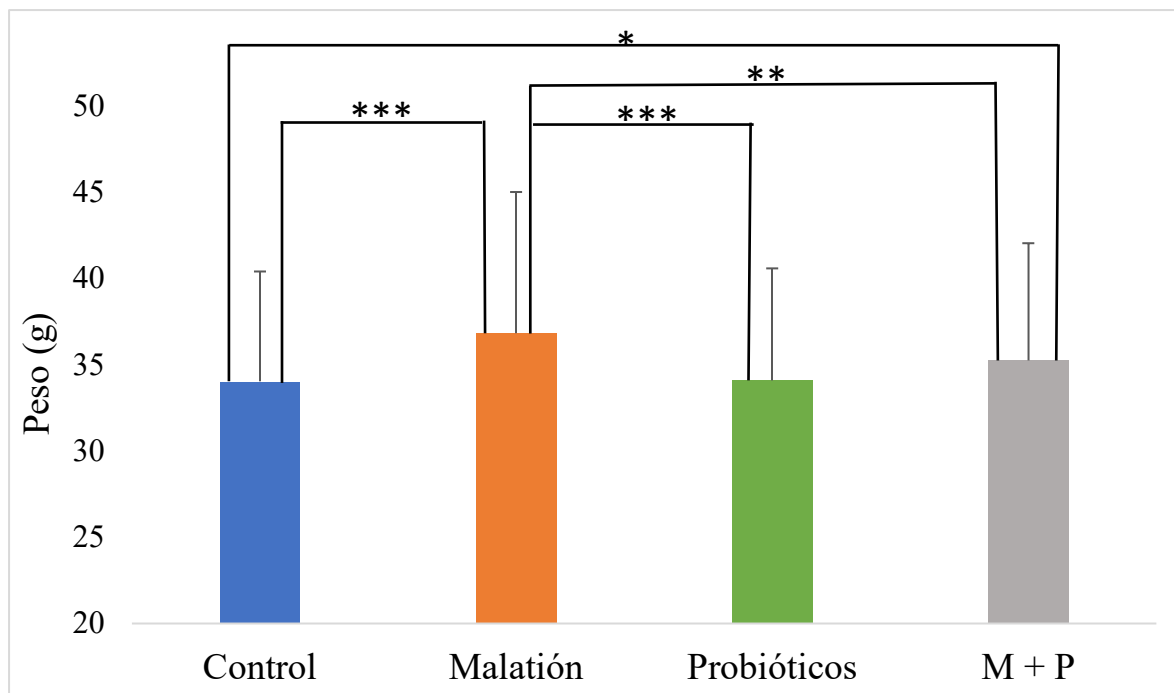


Figura 4. Efecto del tratamiento con malatión y probióticos en el peso de ratones durante 180 días. Los datos se expresan como la media \pm DE (n=5). Los valores fueron significativos a * $p=0.0387$, ** $p=0.0034$ y *** $p < 0.0001$ en comparación entre los distintos grupos. Elaboración propia, 2021.

8.3 Niveles de glucosa en sangre

En lo que respecta a los niveles de glucosa en sangre se midieron cada 10 días durante los 180 días del experimento. Los resultados se pueden apreciar en la tabla 9 como la media \pm desviación estándar.

Tabla 9. Niveles de glucosa (mg/dL) a intervalos de 10 días

Día	Control	Malatión	Probióticos	Malatión + Probióticos
0	95.6 \pm 6.84	96.40 \pm 7.40	94.40 \pm 5.50	97.80 \pm 4.44
10	95.00 \pm 3.32	97.40 \pm 3.44	97.40 \pm 3.05	96.60 \pm 6.91
20	92.00 \pm 5.79	113.60 \pm 10.60	103.20 \pm 6.26	107.40 \pm 4.45
30	95.40 \pm 12.05	118.20 \pm 19.37	109.40 \pm 9.53	116.40 \pm 14.29
40	111.60 \pm 7.20	120.00 \pm 15.95	107.20 \pm 21.63	119.60 \pm 10.92
50	92.80 \pm 5.89	120.00 \pm 20.84	97.20 \pm 11.71	97.00 \pm 2.92
60	97.00 \pm 14.35	109.20 \pm 10.35	96.00 \pm 11.55	101.00 \pm 5.83
70	105.40 \pm 17.74	101.40 \pm 2.88	96.60 \pm 9.40	106.20 \pm 11.10
80	105.60 \pm 13.90	122.40 \pm 7.13	100.80 \pm 12.87	116.60 \pm 12.26
90	107.40 \pm 11.63	120.60 \pm 6.19	104.60 \pm 14.91	106.00 \pm 4.69

100	105.20 ± 10.99	128.40 ± 14.03	104.00 ± 9.97	102.80 ± 7.92
110	108.80 ± 7.19	121.40 ± 6.35	108.20 ± 11.50	106.80 ± 13.39
120	108.20 ± 5.54	128.00 ± 13.78	106.80 ± 9.78	107.60 ± 11.76
130	103.00 ± 4.85	130.00 ± 9.57	105.40 ± 8.08	106.00 ± 11.25
140	103.60 ± 7.30	136.80 ± 7.05	107.40 ± 7.54	105.40 ± 8.44
150	102.80 ± 4.76	140.80 ± 7.63	107.60 ± 7.30	108.80 ± 6.10
160	104.20 ± 4.32	139.40 ± 8.56	106.00 ± 5.70	104.60 ± 7.54
170	101.00 ± 4.47	142.60 ± 9.56	107.20 ± 6.98	108.20 ± 7.43
180	100.20 ± 3.56	141.60 ± 11.99	105.40 ± 6.62	107.40 ± 6.77

Nota. Los resultados se expresan como la media ± SD de cinco ratones por grupo. Elaboración propia, 2021.

La figura 5 muestra los niveles de glucosa promedio de los grupos de estudio durante los 180 días de la investigación. Se puede observar que el grupo al cual le fue administrado el malatión se mantuvo por encima de los niveles considerados normales (70-110 mg/dL) y en constante aumento la mayor parte del experimento (Fig. 5).

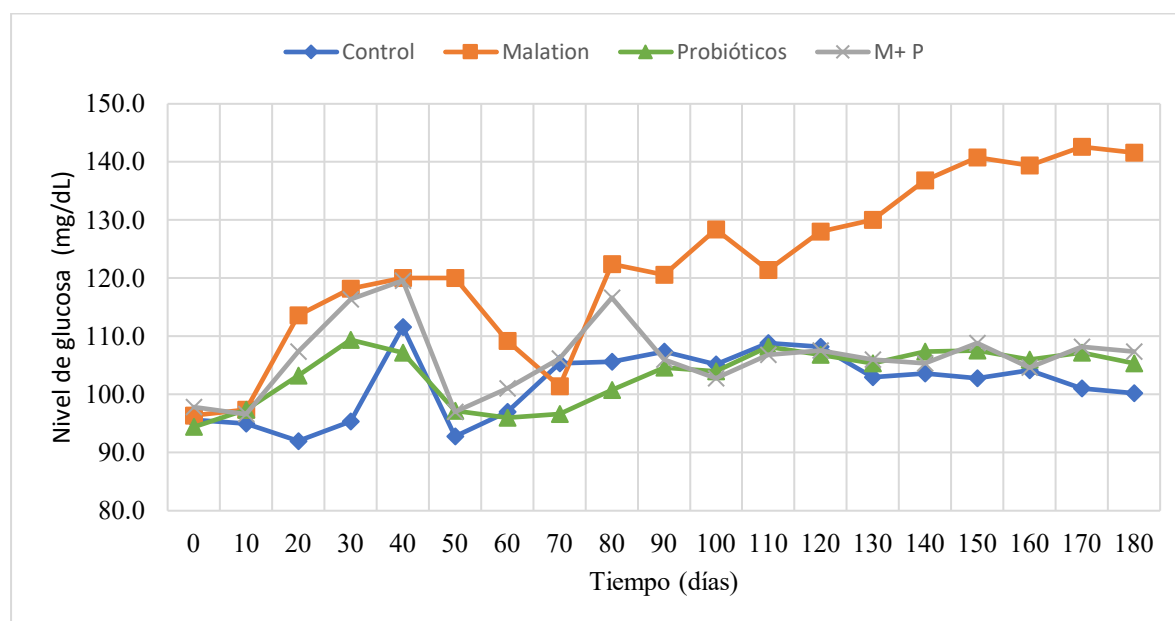


Figura 5. Efecto de la administración de malatión y probióticos en los niveles de glucosa de ratones durante 180 días. Los datos se expresan como la media de 5 animales por grupo. Elaboración propia, 2021.

La administración crónica de malatión durante 180 días condujo a un incremento en los niveles séricos de glucosa del grupo malatión (122.5 ± 14.5 mg/dL) con respecto a al grupo control (101.8 ± 5.7 mg/dL), probióticos (103.4 ± 4.7 mg/dL) y M+ P (106.4 ± 6.2 mg/dL). El análisis estadístico

mostro diferencias significativas ($p < 0.0001$) en los niveles de glucosa del grupo de ratones a los que se les administro malatión con respecto a los ratones del grupo control, probióticos y M + P (Figura 6).

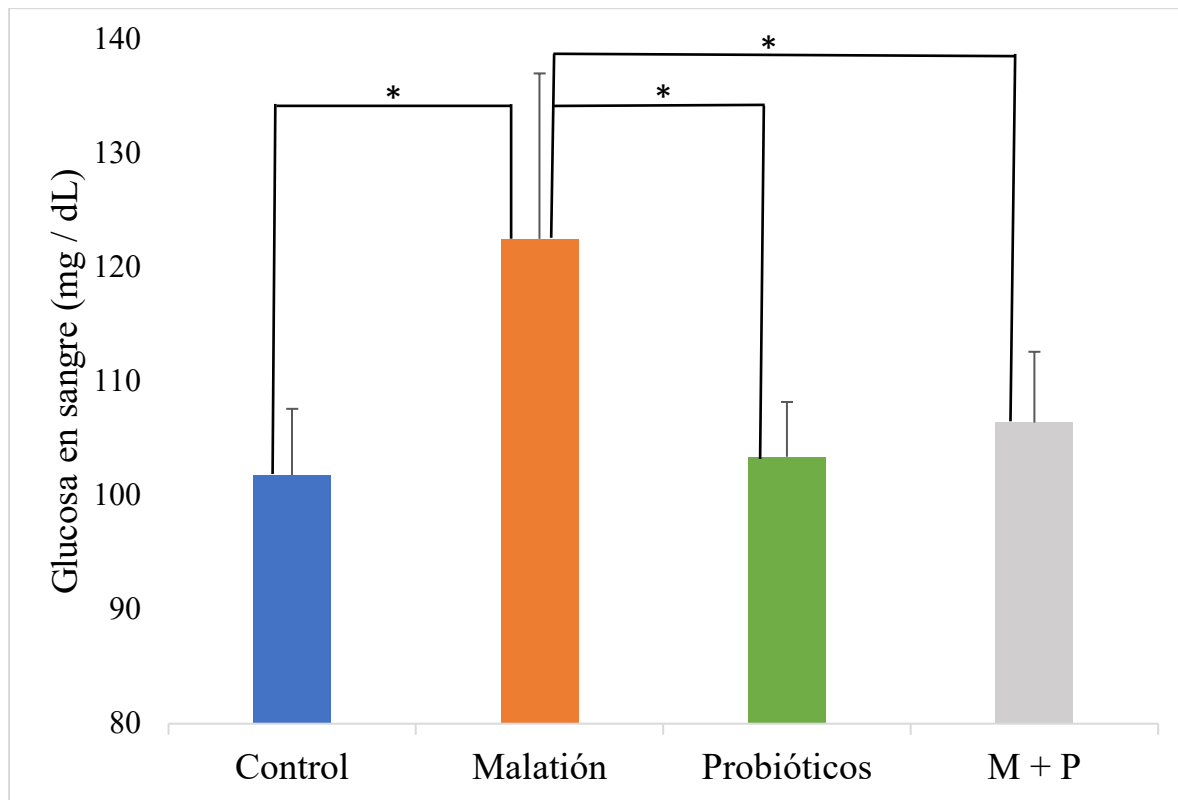


Figura 6. Efecto del tratamiento con malatión y probióticos en el nivel de glucosa en sangre de ratones durante 180 días. Los datos se expresan como la media \pm DE ($n=5$). Los valores fueron significativos a $* p < 0.0001$ en comparación con el grupo malatión.

Elaboración propia, 2021.

8.4 Comportamiento y parámetros fisiológicos

No se observaron cambios en el comportamiento (intranquilidad, agresividad, pérdida del apetito, comportamiento, etc.) o los parámetros fisiológicos (piloerección, cambios en el brillo de los ojos, cambios en la expresión facial, posición de las orejas y del bigote, etc.) en ningún grupo de estudio.

IX. DISCUSIÓN

La agricultura convencional hace uso de los plaguicidas para reducir las pérdidas debidas al ataque de diversas plagas, aumentando el rendimiento de las cosechas, por lo que no es extraña la presencia de estos plaguicidas en diversos alimentos. Sin embargo, el uso extendido de estos productos ha significado diversos problemas para la salud del ambiente, organismos no objetivo y los seres humanos. Datos de la FAO (2021) muestran que el uso de plaguicidas en el mundo aumentó un 36 % en el periodo comprendido entre 2000 y 2019. El uso de estos productos se ha regulado de acuerdo con las leyes y reglamentos ambientales de cada país, evaluando si existen efectos acumulativos por las exposiciones dietéticas a plaguicidas. Para proteger a los consumidores de los efectos perjudiciales de los plaguicidas la comisión del Codex Alimentarius, establecida por la OMS y la FAO, fija límites máximos de residuos de plaguicidas para los alimentos más comunes y habituales, que garantizan que para la gran mayoría de los consumidores el riesgo a corto y a largo plazo sea insignificante. Sin embargo, existen diversos estudios como los de Thompson y Darwish (2019) que hacen referencia a que la contaminación por sustancias provenientes del ambiente es un problema mundial importante de inocuidad alimentaria y que incluso a dosis muy bajas pueden representar una grave amenaza para la salud.

El consumo de probióticos ha manifestado brindar bienestar a través de estrategias encaminadas al establecimiento y control de la salud. En particular el género *Lactobacillus* ha demostrado disminuir la absorción y toxicidad de plaguicidas organofosforados como el malatión (Trinder et al., 2016) e impactar en funciones fisiológicas del huésped a través de su actividad metabólica, mejorando su salud (Krishnan et al., 2015). La capacidad probiótica de las bacterias del género *Lactobacillus* y sus múltiples beneficios citados en la literatura, nos lleva a inferir que su ingesta podría presentar un potencial efecto benéfico ante el consumo de alimentos contaminados con residuos de plaguicidas organofosforados como el malatión. Consideraciones de este tipo nos han motivado a llevar a cabo el estudio que se detalla en este texto, e identificar las especies probióticas de *Lactobacillus* que puedan ser resistentes a distintas concentraciones de malatión, en particular a dosis bajas, lo cual sugiere que pueden sobrevivir ante el consumo de alimentos con residuos de este plaguicida, uno de los más utilizados en la agricultura y el de mayor presencia en productos de inspección sanitaria.

Los resultados obtenidos muestran que la resistencia a malatión entre especies de *Lactobacillus* es diferente y varía conforme a la concentración a la que son expuestas. La mayor concentración bacteriana se observó a las concentraciones de plaguicidas más bajas, mientras que a las concentraciones más altas se observó un efecto inhibitorio. Todas las especies de *Lactobacillus* aisladas de suplementos probióticos exhibieron en mayor o menor medida resistencia al plaguicida malatión. De las especies evaluadas *L. reuteri*, *L. plantarum* y *L. casei* mostraron una mayor resistencia a concentraciones elevadas de malatión, mientras que *L. rhamnosus*, *L. acidophilus*, *L. brevis*, y *L. fermentum* resistieron concentraciones menores, en tanto que, *L. salivarium*, vio afectado su crecimiento ante las concentraciones más bajas del insecticida. Es probable que las diversas especies de *Lactobacillus* utilicen el malatión como fuente de energía, lo que permite presumir su posible degradación.

Todas las especies de *Lactobacillus* toleraron los efectos nocivos del malatión a la concentración más baja empleada en el estudio, con ello podríamos pensar que quizá suceda lo mismo con las especies en el intestino del hombre, lo cual nos conduciría a sugerir el uso de probióticos para controlar o contrarrestar los posibles efectos tóxicos y las comorbilidades que pueda ocasionar el consumo crónico de plaguicidas presentes en los alimentos, ya que la exposición a plaguicidas a través de sus residuos no es evitable al cien por ciento, para muestra los controles efectuados por la FDA (2017), descritos en el resumen de residuos de plaguicidas presentes en alimentos, demuestran que cerca del 48 % de los productos analizados contienen uno o más residuos y el 4 % supera los límites permisibles, bien por exceso de residuos o bien por haberse detectado la presencia de un plaguicida no autorizado para ese producto alimentario.

La tolerancia al malatión presentada por las especies de *Lactobacillus* puede estar dada por diversos mecanismos. Diversos autores concuerdan que algunos microorganismos pueden utilizar a los plaguicidas organofosforados como fuente de carbono y fósforo (Subramanian et al., 1994 y Zhang et al., 2016) y que las enzimas aisladas de estos microorganismos como la carboxilesterasa y la fosfatasa, presentes en *Lactobacillus*, pueden reducir las concentraciones de estos plaguicidas y por lo tanto sus efectos tóxicos (Zhou et al., 2015; Trinder et al., 2016). Nuestros resultados concuerdan con investigaciones previas, en las que se han utilizado bacterias ácido lácticas, entre ellas *L. casei* y *L. plantarum*, para disminuir las concentraciones de diversos plaguicidas organofosforados en leche descremada (Zhao et al., 2012; Zhou et al., 2015; Zhang et al., 2016), además, Singh et al. (2013) y Sirajuddin et al. (2019) demostraron la eficiencia de la enzima

carboxilesterasa en la degradación de malatión por microorganismos que lo utilizan como fuente de energía, por lo que, es probable que la resistencia de *Lactobacillus spp.* a distintas concentraciones de malatión dependa de la cantidad de fosfatasa y carboxilesterasa producida por cada especie.

Las concentraciones de malatión empleadas en este estudio se definieron como altas o bajas conforme a la cantidad de principio activo presente en cada solución, así mismo, la concentración más baja empleada en el estudio (0.1%) supera el límite máximo de residuos (LMR) permitido en los alimentos y en algunos casos es mayor a concentraciones utilizadas en estudios previos, sin embargo, no consideramos realizar pruebas de resistencia a concentraciones más bajas que esta, dado que las ocho especies de lactobacilos evaluadas fueron resistentes a esta concentración.

La evaluación de la resistencia de *Lactobacillus spp.* a las diferentes concentraciones de malatión 1000[®] permitió seleccionar las especies con posible actividad protectora ante el consumo de residuos de plaguicidas, sin embargo, se requieren estudios *in vivo* para validar sus efectos benéficos.

Hoy en día existe un interés creciente por tratar de disminuir los efectos tóxicos a la salud motivados por el consumo de alimentos contaminados con plaguicidas. La eficacia limitada y los efectos adversos de diversos medicamentos, han detonado el interés de generar nuevos tratamientos para prevenir o disminuir los problemas a la salud con el uso de bioterapias como el consumo de microorganismos probióticos (Arumugam et al., 2015; Trinder et al., 2016; Tian et al., 2017) y otros antioxidantes naturales (Kotb et al., 2016; Ghorbani-Taherdehi et al., 2020; Gupta et al., 2020). Nuestro estudio puede dar pie para caracterizar el potencial de diversas especies de *Lactobacillus spp.* que sean resistentes al malatión y probablemente a otros plaguicidas organofosforados, a través del estudio en un modelo *in vivo*, que nos ayude a conocer la utilidad que este género de bacterias probióticas pueda tener ante los efectos del consumo de alimentos contaminados con plaguicidas.

Así mismo sugerimos determinar la resistencia de diversas especies de microorganismos probióticos a plaguicidas organofosforados, con el fin de contribuir a contrarrestar los efectos a la salud y las comorbilidades asociadas al consumo de alimentos contaminados con residuos de plaguicidas. Además, el estudio de diversos microorganismos con elevada resistencia a determinados químicos ambientales puede ser de sumo interés en procesos de biorremediación.

La obesidad y la diabetes son dos de las principales amenazas para la salud pública en México y el mundo. Se estima que el 90 % de los casos de DM2 son atribuibles al sobrepeso y la obesidad. En México, el 70 % de la población padece sobrepeso y una tercera parte sufre de obesidad. Además de los determinantes “tradicionales” relacionados con el aumento de peso y el desarrollo de diabetes, como son una mala alimentación y el sedentarismo, existe un creciente interés para determinar su complejidad y la contribución de diversos factores de riesgo asociados a estas condiciones.

La exposición a plaguicidas representa una grave amenaza para la salud de múltiples organismos. Actualmente los estudios sobre la exposición crónica a bajas concentraciones de estos xenobióticos son de creciente interés. Diversos estudios han demostrado que estas sustancias pueden ser perjudiciales para la salud de múltiples formas. Autores como Fabricio et al., 2016 y Czajka et al., 2019 han sugerido que la exposición a plaguicidas organofosforados (PO) puede influir en el aumento de la incidencia de obesidad y diabetes. Las personas pueden estar expuestas a los plaguicidas a través de varias rutas, siendo la alimentación la principal vía de exposición para las personas que no trabajan en la agricultura. Investigaciones como las realizadas por Pérez et al., (2009), Fuentes-Matus et al., (2010) y Jaramillo-Colorado et al., (2010) han determinado la presencia de residuos de malatión y otros plaguicidas organofosforados en frutas y verduras, incluso se ha detectado la presencia de plaguicidas no reportados por agricultores, probablemente por su uso en cultivos cercanos.

Pocos estudios han evaluado el efecto del consumo crónico de plaguicidas, a dosis a las que una persona puede estar expuesta a través del consumo de alimentos. La mayoría de los estudios publicados han evaluado los efectos de los plaguicidas a dosis que superan en gran medida el límite máximo de residuos (LMR) y a tiempos de exposición agudos o subcrónicos. En nuestro estudio intentamos utilizar un protocolo de exposición dietaria a malatión a una dosis real a la que pueden estar expuesta las personas a través de la ingesta de alimentos.

La mayoría de las investigaciones realizadas sobre los efectos de los plaguicidas en la salud, se enfocan al estudio de un conjunto relativamente reducido de estos, en particular al efecto de los plaguicidas con una mayor persistencia en el ambiente, descuidando aquellos que son los más utilizados hoy en día en la agricultura, como los plaguicidas organofosforados.

Los plaguicidas se han catalogado como sustancias químicas que alteran el sistema endocrino (EDC), interfiriendo con la acción hormonal y aumentando el riesgo de diabetes, obesidad y otros trastornos metabólicos (Mnif et al., 2011; Abo El-Atta et al., 2020). Diversos estudios han vinculado la exposición a PO al desarrollo de diversos problemas de salud como la alteración del metabolismo energético, afectando la absorción en el intestino y el almacenamiento de energía en el músculo, tejido adiposo e hígado (He et al., 2020). El hígado, uno de los órganos más importante en la homeostasis de la glucosa y la producción de enzimas relacionadas a esta, es uno de los principales objetivos de toxicidad del malatión (Rezg et al., 2007; Kalender et al., 2009). En estudios animales se han relacionado las alteraciones en la homeostasis de la glucosa con varios plaguicidas, incluido el malatión (Ramirez-Vargas et al., 2018; Ekremoğlu et al., 2020). Distintos autores observaron que la exposición a malatión puede causar hiperglucemia, que se explica por la estimulación de la glucogenólisis en varios órganos y de la gluconeogénesis en el hígado (Pournourmohammadi et al., 2005; Rezg et al., 2007; Vosough-Ghanbari et al., 2007), por la alteración de la actividad de diversas enzimas que juegan un papel importante en la homeostasis de la glucosa, como la enzima glucógeno fosforilasa (Abdollahi et al., 2004; Pournourmohammadi et al., 2007; Lasram et al., 2008) y por inducir resistencia a la insulina (Mostafalou et al., 2011; Lasram et al., 2014).

Otros investigadores como Raafat et al. (2012) y Rani et al. (2020) observaron un aumento en la circunferencia de la cintura y resistencia a la insulina en agricultores no diabéticos expuestos a malatión y otros plaguicidas. La exposición subcrónica al malatión ha demostrado que la resistencia a la insulina está relacionada con el daño oxidativo e inflamación, inducidos por la generación de radicales libres y la peroxidación lipídica, la cual ha sido identificada como un mecanismo importante de toxicidad del malatión, de acuerdo con Pournourmohammadi et al. (2005). La exposición a organofosforados tanto in vivo como in vitro, se ha vinculado a la inflamación crónica y al estrés oxidativo (Nili-Ahmadabadi et al., 2013; Lasram et al., 2014) los cuales están relacionados con la obesidad y la diabetes tipo 2 a través de diversos mecanismos. Mostafalou et al. (2011), Lasram et al. (2014) y (Xiao et al., 2017) observaron que la inflamación y estrés oxidativo causado por plaguicidas daña órganos como el páncreas, los músculos y el hígado, alterando el metabolismo de lípidos, carbohidratos, proteínas y ADN.

Los plaguicidas pueden afectar la homeostasis del peso corporal a través de múltiples vías. Se han observado alteraciones del metabolismo de lípidos en animales expuestos al malatión (Lasram et

al., 2008; Rezg et al., 2010). Se ha demostrado que algunos pesticidas actúan como obesógenos al promover la adipogénesis y a menudo actúan a dosis por debajo del nivel de efectos adversos no observados (Lee et al., 2016). Gálvez-Ontiveros et al. (2020) resumieron varios estudios en los cuales se demuestra que la exposición a OP induce disbiosis de la microbiota intestinal, inflamación y alteración del metabolismo de lípidos, además Ganesan et al. (2017) demostraron que la disbiosis intestinal provocada por la exposición a PO indujo intolerancia a la glucosa y problemas de peso.

Todas las perturbaciones, anteriormente citadas, inducidas por el uso o exposición a plaguicidas pueden provocar cambios en el peso corporal y los niveles de glucosa, por lo cual nos dimos a la tarea de observar si el consumo de plaguicidas a una dosis similar a la que una persona podría estar expuesta a través del consumo de alimentos puede conducir al desarrollo de diabetes y/o sobrepeso. En la presente investigación se empleó una dosis dentro del LMR, por lo que puede representar una exposición real en personas por el consumo de alimentos contaminados. En el estudio realizado durante 180 días pudimos observar, un incremento en el peso y los niveles de glucosa de ratones tratados con malatión con respecto a los del grupo control, por lo que es probable que la exposición prolongada a residuos de malatión, presente en los alimentos, pueda predisponer al desarrollo de diabetes y obesidad. En un estudio similar Lukowicz et al. (2018) observaron un incremento de peso corporal e hiperglucemia después de la exposición dietética a un cocktail de plaguicidas en dosis no tóxicas, lo cual concuerda con nuestros resultados. Por su parte Svingen et al. (2017) observaron interferencias en la señalización celular y molecular, que contribuyeron al desarrollo de problemas metabólicos en niños expuestos a plaguicidas a temprana edad.

No obstante, investigadores como Xiao et al. (2017) y Czajka et al. (2019) han concluido que, a pesar de las diversas alteraciones observadas por la exposición a plaguicidas, existen inconsistencias sobre si la exposición a estos aumenta el riesgo de desarrollar obesidad y diabetes, estas inconsistencias pueden deberse a la toxicidad única de cada plaguicida, a las dosis empleadas y al tiempo de exposición.

También se investigó el efecto de la administración de probióticos sobre los niveles de glucosa y el peso de ratones. Diversos estudios han vinculado el consumo de especies probióticas, en particular especies del género *Lactobacillus*, con múltiples beneficios. Se ha reportado que su administración contribuye a la reducción del estrés oxidativo (Tian et al., 2017), disminuyen la absorción y toxicidad de PO (Trinder et al., 2016; Claus et al., 2017; Feng et al., 2018), se han asociado al aumento o disminución de peso (Drissi et al., 2014; Kang et al., 2017; Kim et al.,

2018) y el control o mejora de pacientes con diabetes (Evivie et al., 2017; Palacios et al., 2017; Khalili et al., 2019; Niibo et al., 2019; Venkataraman et al., 2019). Estas propiedades nos llevaron a pensar que el consumo de probióticos pueda servir como una herramienta protectora ante los efectos nocivos de diversas sustancias químicas y en este caso el malation.

Varios investigadores concuerdan que el consumo de probióticos a un nivel de 10^8 - 10^9 UFC/g por día es una cifra comúnmente citada para el consumo adecuado de probióticos (Jurado-Gamez et al., 2020). La duración de la suplementación con probióticos también juega un papel importante, se ha documentado que el uso de probióticos puede aumentar su efecto cuando la administración es mayor a ocho semanas (Estrada-Riega et al., 2019), siendo 12 semanas la duración ideal para observar efectos positivos (Crovesy et al., 2017). Además, se ha observado un efecto positivo con el consumo de múltiples especies de probióticos como lo demostraron Bagarolli et al. (2017) al combinar especies de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*.

Los estudios sobre el uso de probióticos como coadyudantes para el tratamiento de los efectos ocasionados por el consumo de alimentos contaminados con residuos de plaguicidas son limitados. Arumugam et al. (2013) determinaron que *L. casei* protege contra el estrés oxidativo inducido por malation, así mismo Zhao et al. (2012), Zhang et al. (2014) y Zhou et al. (2015) observaron que diversas bacterias ácido lácticas (BAL), entre ellas *Lactobacillus spp.*, tienen la capacidad de degradar PO y demostraron que cuanto mayor sea la producción de enzima fosfatasa por parte de estas bacterias, la degradación de los plaguicidas será mayor.

En nuestro estudio no observamos cambios significativos en el peso corporal o los niveles de glucosa en ratones del grupo control con respecto a los que les fueron administrados probióticos, no obstante si pudimos observar una reducción importante de estos niveles cuando comparamos el grupo M+P con respecto al grupo malation, lo que nos indica que los probióticos administrados, en particular los del género *Lactobacillus* podrían servir como un agente protector prometedor contra la toxicidad inducida por la exposición a malation y los problemas de salud asociados.

Nuestro estudio utilizó un probiótico compuesto por *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *B. infantis* y *S. thermophilus*. La mayoría de estas especies de probiótico ya han sido investigadas y su consumo se ha asociado con cambios en el peso corporal. Existen diversos datos concernientes al peso corporal después de la administración de probióticos. Estudios previos han demostrado que el uso de probióticos influye de manera positiva en la ganancia de peso de ratones, como ejemplo Barron et al. (2019) y Jurado-Gamez et al. (2020) observaron un incremento de peso

después de la administración de *L. casei*, Agerholm et al. (2000) informaron aumento de peso con el uso de *L. rhamnosus* y *L. acidophilus*, además, Million et al. (2012) asociaron el consumo de *L. reuteri* con el desarrollo de obesidad. Drissi et al. (2014) clasificaron a *L. reuteri*, *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. sakei* y *L. ingluviei* como especies de *Lactobacillus* asociadas al incremento de peso.

En contraste otros estudios han informado que los probióticos pueden tener efectos positivos en la pérdida de peso. Estudios con *L. gasseri* (Kadooka et al., 2013; Drissi et al., 2014), *L. rhamnosus* (Sanchez et al., 2014), *L. acidophilus* + *B. infantis* (Chang et al., 2011), *L. plantarum* (Drissi et al., 2014; Kim et al., 2018), demostraron promover la disminución de peso.

Otros estudios que han intentado asociar cambios en el peso corporal con el consumo de *Lactobacillus* spp. no han observado cambios en el peso de quienes fueron administrados o no fueron estadísticamente significativos (Jung et al., 2013). Nuestra investigación concuerda con estos estudios ya que no se observaron cambios en el peso del grupo administrado con probióticos con respecto al grupo control.

Drissi et al. (2014) atribuyen los cambios de peso por el consumo de *Lactobacillus* a variaciones en el genoma de este género de bacterias. Los *Lactobacillus* asociados a la protección del peso codifican bacteriocinas y genes implicados en el transporte de carbohidratos y el metabolismo de fructosa, manosa, almidón y sacarosa, mientras que los *Lactobacillus* asociados al incremento de peso albergan enzimas implicadas en el metabolismo de lípidos. Es probable que la pérdida o ganancia de peso pueda explicarse por las características particulares de cada probiótico, su interacción con otros compuestos y su capacidad para modular la microbiota intestinal de cada individuo.

La suplementación con probióticos en combinación con la modificación del estilo de vida tiende a tratar y prevenir los trastornos metabólicos, lo que requiere más investigación. Estudios sobre el uso de probióticos ante el consumo de residuos de plaguicidas son escasos, sin embargo, nuestro estudio concuerda con investigaciones cuyo objetivo es reducir los niveles de hiperglucemia con el uso de probióticos y demostrar su potencial antidiabético. Para ejemplo los trabajos publicados por Saha et al., (2021) quienes observaron que la suplementación con *L. casei* y *L. rhamnosus* mejora la tolerancia a la glucosa; Panahi et al., (2016) observaron que el consumo de yogurt adicionado con diversas especies de *Lactobacillus* o *Bifidobacterium* reduce el peso y el riesgo de desarrollar DM2; Toejing et al., (2016) y Gulnaz et al., (2021) demostraron que la suplementación

con *Lactobacillus* spp. mejora la hiperglucemia al modificar favorablemente la microbiota intestinal.

X. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos sugieren que no todas las especies de *Lactobacillus* resisten al malatión, esta resistencia varía de acuerdo con la especie y la concentración de plaguicida a la que son expuestas. Todas las especies *Lactobacillus* resistieron el malatión a una concentración del 0.1 % y siete especies crecieron a la concentración del 1 % (*L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. casei*, *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. reuteri* y *L. rhamnosus*).

Por lo que los probióticos del género *Lactobacillus* pueden presentar un potencial efecto benéfico ante el consumo de alimentos contaminados con residuos de malatión y otros plaguicidas organofosforados.

El consumo del probiótico con cuatro especies del género *Lactobacillus* no influyo en el incremento o disminución de peso de los ratones.

El consumo crónico de alimentos contaminados con residuos de malatión aumenta los niveles de glucosa y el peso, por lo que puede influir en el desarrollo de diabetes y/u obesidad.

El consumo de probióticos puede ayudar a disminuir los efectos generados por la presencia de residuos de malatión en los alimentos, lo que se observó en el peso corporal y los niveles de glucosa de ratones.

Estos hallazgos pueden contribuir a catalogar a los probióticos del género *Lactobacillus* como una herramienta para el tratamiento de la diabetes y/u obesidad ocasionada por el consumo crónico de plaguicidas presentes en los alimentos, ya que reducen los niveles de glucosa y favorecen la pérdida de peso.

XI. REFERENCIAS.

Abdel Daim M. M., Abushouk A. I., Bungău S. G., Bin-Jumah M., El-kott A. F., Shati A. A. y Alkahtani S. (2020). Protective effects of thymoquinone and diallyl sulphide against malathion-induced toxicity in rats. *Environmental Science and Pollution Research* 27 (10), 10228-10235. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-07580-y>

Abdollahi M., Donyavi M., Pournourmohammadi S. y Saadat M. (2004). Hyperglycemia associated with increased hepatic glycogen phosphorylase and phosphoenol pyruvate carboxykinase in rats following subchronic exposure to malathion. *Comparative Biochemistry and Physiology. Toxicology & Pharmacology* 137 (4), 343-347. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2004.03.009>

Abo El-Atta H. y El-Hawary A. (2020). Is childhood obesity a result of toxic exposure to cadmium or malathion: an observational pilot Egyptian study. *Toxicology Communications* 5, 11-14. <https://doi.org/10.1080/24734306.2020.1869898>

Abreu E., Savall A., Boneberg A., Martins B., Gervini V., Sampaio T. y Pinton S. (2019). (3Z)-5-Chloro-3-(Hydroxyimino) indolin-2-one attenuates hyperglycemia, increased hepatic glycogen content and hepatic damage induced by malathion acute exposure in rats. *Nutrition and Metabolism* 16, 61. <https://doi.org/10.1186/s12986-019-0374-3>

Agerholm-Larsen L., Raben A., Haulrik N., Hasen A. S., Manders M., y Astrup A. (2000). Effect of 8 week intake of probiotic milk products on risk factors for cardiovascular diseases. *European Journal of Clinical Nutrition* 54 (4), 288-297. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1600937>

Ahmed A., Shamsi A. y Bano B. (2018). Deciphering the toxic effects of iprodione, a fungicide and malathion, an insecticide on thiol protease inhibitor isolated from yellow Indian mustard seeds. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 61, 52-60 <https://doi.org/10.1016/j.etap.2018.05.019>

Alatorre R. C., Gallága J. C., Conde P. C y Rosales J. A (2016). Catálogo de plaguicidas. México: COFEPRIS (Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios).

Alavinia S. J., Mirvaghefi A., Farahmand H., Rafiee G., Alavinia S., Shiry N. y Moodi S. (2019). DNA damage, acetylcholinesterase activity, and hematological responses in rainbow trout exposed to the organophosphate malathion. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 182, 109311. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.05.081>

Arab S.A., Nikravesh M.R., Jalali M. y Fazel A. (2018). Evaluation of oxidative stress indices after exposure to malathion and protective effects of ascorbic acid in ovarian tissue of adult female rats. *Electronic Physician* 10 (5), 6789-6795. <https://doi.org/10.19082/6789>

Arumugam K., Ganguli A. y Balamurugan K. (2015). *Lactobacillus casei* stimulates phase-II detoxification system and rescues malathion induced physiological impairments in *Caenorhabditis elegans*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C Toxicology and Pharmacology* 179, 19-28. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2015.08.004>

Arumugam K., Ganguli A., Kumar M. y Balamurugan K. (2013). *Lactobacillus casei* protects malathion induced oxidative stress and macromolecular changes in *Caenorhabditis elegans*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 105, 213–223. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2013.02.005>

ATSDR. (2003). Malati3n. Agencia para Sustancias T3xicas y el Registro de Enfermedades; Division Toxicologica, E.U.A, 9 pp.

Auerbach S., Filer D., Reif D., Walker V., Holloway A., Schlezinger, J. y Thayer K. (2016). Prioritizing environmental chemicals for obesity and diabetes outcomes research: a screening approach using ToxCast high throughput data. *Environmental Health Perspectives* 124 (8). <https://doi.org/10.1289/ehp.1510456>

Badr A. (2020). Organophosphate toxicity: updates of malathion potential toxic effects in mammals and potential treatments. *Environmental Science and Pollution Research* 27, 26035-26057 <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08937-4>

Bagarolli R., Tobar N., Oliveira A., Ara3jo T., Carvalho B., Rocha, G. y Saad M. (2017). Probiotics modulet the gut microbiota and improve insulin sensitivity in DIO Mice. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 50, 16-25 <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2017.08.006>

Barczynska R., Bandurska K., Slizewska K., Litwin M., Szalecki M., Libudzisz Z. y Kapusniak J. (2015). Intestinal microbiota, obesity and prebiotics. *Polish Journal of Microbiology* 64 (2), 93-100.

Barr3n Gonz3lez M. P., Medrano Cosme A. E., Eguiarte Lara D. J., Cuellar Guevara F. L., Qui3ones Guti3rrez Y. y Medina Ortiz V. A. (2019). Dise3o de encapsulados *Lactobacillus casei* y su efecto en el peso de ratones Balb/c. *Investigaci3n y Desarrollo en Ciencia y Tecnolog3a de Alimentos* 4 (1), 276-283.

Bastos P., Bastos A., Gurgel A. y Gurgel I. (2020). Carcinogenicidade e mutagenicidade do malathion e seus dois an3logos: uma revis3o sistem3tica. *Ci3ncia & Sa3de Coletiva* 25 (8), 3273-3298. <https://doi.org/10.1590/1413-81232020258.10672018>

Ba3arslan S., Alp H., Senol S., Evliyao3lu O. y Ozkan U. (2014). Is intralipid fat emulsion a promising therapeutic strategy on neurotoxicity induced by malathion in rats? *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* 18 (4), 471-476.

Berry D. (2016). The emerging view of Firmicutes as key fibre degraders in the human gut. *Environmental Microbiology* 18 (7), 2081-2083. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13225>

Bian Y., Wang Y., Liu F., Li X. y Wang B. (2020). The stability of four organophosphorus insecticides in stored cucumber samples is affected by additives. *Food Chemistry* 331, 127352. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127352>

Bibiloni R., Membrez M. y Chou C. (2009). Microbiota intestinal, obesidad y diabetes. *Annales Nestlé* 67, 39-48. <https://doi.org/10.1159/000225915>

CDC. (2011). National Diabetes Fact Sheet, 2011. Obtenido de Centers for Disease Control and Prevention: <https://www.cdc.gov/diabetes/pubs/pdf/methods11.pdf>

CES. (2018). Environmental Information System Malathion. Centre for Ecological Sciences Indian Institute of Science <http://wgbis.ces.iisc.ernet.in/energy/HC270799/HDL/ENV/enven/vol347.htm>

Chang B. J., Park S. U., Jang Y. S., Ko S. H., Joo N. M., Kim S. I., Kim C. H. y Chang D. K. (2011). Effect of functional yogurt NY-YP901 in improving the trait of metabolic syndrome. *Eur J Clin Nutr* 65 (11), 1250-1255. <https://doi.org/10.1038/ejcn.2011.115>

Claus S.P., Guillou H. y Ellero-Simatos S. (2017). Erratum: The gut microbiota: ¿a major player in the toxicity of environmental pollutants. *NPJ Biofilms and Microbiomes* 3, 17001. <https://doi.org/10.1038/npjbiofilms.2017.1>

Crovesy L., Ostrowski M., Ferreira D., Rosado E. L. y Soares-Mota, M. (2017). Effect of *Lactobacillus* on body weight and body fat in overweight subjects: a systematic review of randomized controlled clinical trials. *International Journal of Obesity* 41 (11), 1607–1614. <https://doi.org/10.1038/ijo.2017.161>

Czajka M., Matysiak - Kucharek M., Jodlowska-Jedrych B., Sawicki K., Fal B., Drop B. y Kapka L. (2019). Organophosphorus pesticides can influence the development of obesity and type 2 diabetes with concomitant metabolic changes. *Environmental Research* 178, 108685. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.108685>

Derbalah A., Khattab I. y Allah, M. (2020). Isolation and molecular identification of *Aspergillus flavus* and the study of its potential for malathion biodegradation in water. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 36, 91. <https://doi.org/10.1007/s11274-020-02869-4>

Dorđević, T. y Đurović-Pejčev R. (2016a). Evaluation of *Lactobacillus plantarum* and *Saccharomyces cerevisiae* in the Presence of Bifenthrin. *Current Microbiology* 72, 680-691. <https://doi.org/10.1007/s00284-016-1000-5>

Dorđević, T. y Đurović-Pejčev R. (2016b). The potency of *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus plantarum* to dissipate organophosphorus pesticides in wheat during fermentation. *Journal of Food Science and Technology* 53, 4205-4215. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2408-4>

Drissi F., Merhej V., Angelakis E., El Kaoutari A., Carrière F., Henrissat B. y Raoult D. (2014). Comparative genomics analysis of *Lactobacillus* species associated with weight gain or weight protection. *Nutrition and Diabetes* 4 (2), e109. <https://doi.org/10.1038/nutd.2014.6>

Ekremoğlu M., Severcan C., Pasaoglu O., Şen B. y Pasaoglu H. (2020). An investigation of acute effects at various doses of malathion on glucose homeostasis and insulin resistance in rat liver, pancreas and serum. *Journal of Mind and Medical Sciences* 7, 85-93. <https://doi.org/10.22543/7674.71.P8593>

EPA. (2015). Health and environmental effects profile for malathion. United States Environmental Protection Agency <https://cfpub.epa.gov/ncea/risk/recordisplay.cfm?deid=39349>

Erthal R., Staurengo-Ferrari L., Fattori V., Luiz K., Cunha F. Pescim, R. y Fernandes G. (2020). Exposure to low doses of malathion during juvenile and peripubertal periods impairs testicular and sperm parameters in rats: Role of oxidative stress and testosterone. *Reproductive Toxicology* 96, 17-26. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2020.05.013>

Estrada-Riega I., Vizzuett-Cienfuegos K. A. y Cruz-Vidaños J. C. (2019). Uso de probióticos para el control glucémico en pacientes con diabetes mellitus tipo 2. *Revista del Hospital Juárez de México* 86 (4), 202-205.

Evivie S.E., Huo G.C., Igene J.O. y Bian X. (2017). Some current applications, limitations and future perspectives of lactic acid bacteria as probiotics. *Food and Nutrition Research* 61 (1), 1318034. <https://doi.org/10.1080/16546628.2017.1318034>

Fabricio G., Malta A., Chango A. y Mathias P. (2016). Environmental contaminants and pancreatic beta-cells. *Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology* 8 (3), 257-263. <https://doi.org/10.4274/jcrpe.2812>

FAO. (2018). Definiciones para los fines del codex alimentarius. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. <http://www.fao.org/docrep/W5975S/w5975s08.htm>

FAO. (2021). Statistical yearbook world food and agriculture 2021. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. <https://www.fao.org/3/cb4477en/online/cb4477en.html>

FDA. (2018). Summary of Pesticide Residues in Domestic Surveillance and Import Samples of Animal Food and Animal Food Ingredients during Fiscal Year 2017. Obtenido de U.S Food and Droug Administration.

Feng P., Ye Z., Kakade A., Virk A., Li X. y Liu P. (2018). A review on gut remediation of selected environmental contaminants: possible roles of probiotics and gut microbiota. *Nutrients* 11 (1), 22. <https://doi.org/10.3390/nu11010022>

Fuentes M.C., León S., Díaz G., Mario N. y Gutiérrez R. (2010). Determinación de residuos de malatión y malaoxón en mango de las variedades Ataulfo y Tommy Atkins producidos en Chahuities, Oaxaca. *Agrociencia* 44, 215-223.

Gálvez-Ontiveros Y., Páez S., Monteagudo-Sanchez C. y Rivas A. (2020). Endocrine disruptors in food: impact on gut microbiota and metabolic diseases. *Nutrients* 12 (4), 1158. <https://doi.org/10.3390/nu12041158>

Ganesan V., Ramprasath T., Swaminathan K., Mithieux G., Rajendhran J., Dhivakar M. y Subbiah, R. (2017). Gut microbial degradation of organophosphate insecticides-induces glucose intolerance via gluconeogenesis. *Genome Biology* 18, 8. <https://doi.org/10.1186/s13059-016-1134-6>

Gao B., Bian X., Mahbub R. y Lu K. (2017). Sex-specific effects of organophosphate diazinon on the gut microbiome and its metabolic functions. *Environmental Health Perspectives* 125 (2), 198-206. <https://doi.org/10.1289/EHP202>

Ghorbani T.F., Nikraves M.R., Jalali M., Fazel A. y Gorji-Valokola M. (2020). Evaluation of the anti-oxidant effect of ascorbic acid on apoptosis and proliferation of germinal epithelium cells of rat testis following malathion-induced toxicity. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences* 23, 569-575. <https://doi.org/10.22038/ijbms.2020.35952.8608>

Goda S. K., Elsayed I. E., Khodair T. A., El-Sayed W. y Mohamed M. E. (2010). Screening for and isolation and identification of malathion-degrading bacteria: cloning and sequencing a gene that potentially encodes the malathion-degrading enzyme, carboxylestrase in soil bacteria. *Biodegradation* 21 (6), 903-913. <https://doi.org/10.1007/s10532-010-9350-3>

Gulnaz A., Nadeem J., Han J.-H., Lew L. C., Dong S., Park Y.-H. y Yan Y. (2021). *Lactobacillus* spp in reducing the risk of diabetes in high-fat diet-induced diabetic mice by modulating the gut microbiome and inhibiting key digestive enzymes associated with diabetes. *Biology*, 10 (4), 348. <https://doi.org/10.3390/biology10040348>

Guo W., Pan B., Sakkiah S., Yavas G., Ge W., Zou W. y Hong H. (2019). Persistent organic pollutants in food: contamination sources, health effects and detection methods. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 16 (22), 4361. <https://doi.org/10.3390/ijerph16224361>

Gupta V., Kumar A., Pereira M., Siddiqi N. y Sharma B. (2020). Anti-inflammatory and antioxidative potential of aloe vera on the cartap and malathion mediated toxicity in Wistar rats. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 17 (14), 5177. <https://doi.org/10.3390/ijerph17145177>

Gutgesell R., Tsakiridis E., Jamshed S., Steinberg G. y Holloway A. (2020). Impact of pesticide exposure on adipose tissue development and function. *Biochemical Journal* 477 (14), 2639-2653. <https://doi.org/10.1042/BCJ20200324>

Gálvez-Ontiveros Y., Páez S., Monteagudo-Sanchez C. y Rivas A. (2020). Endocrine disruptors in food: impact on gut microbiota and metabolic diseases. *Nutrients* 12 (4), 1158. <https://doi.org/10.3390/nu12041158>

He B., Ni Y. y Fu, Z. (2020). Pesticides-induced energy metabolic disorders. *Science of The Total Environment*, 729, 139033. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139033>

Hudzicki J. (2009). Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol. American Society for Microbiology, Washington, D.C., EUA, 23 pp.

IARC. (2016). Malathion. International Agency for Research on Cancer. <https://monographs.iarc.fr/wp-content/uploads/2018/06/mono112-07.pdf>

Icaza M. (2012). Microbiota intestinal en salud y enfermedad. *Revista de Gastroenterología de Mexico*, 77 (1), 23-25. <https://doi.org/10.1016/j.rgmx.2012.07.010>

INEEC (2018). Malatión. Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático. <http://www2.inecc.gob.mx/sistemas/plaguicidas/pdf/malation.pdf>

Jalili C., Farzaei M., Roshankhah S. y Salahshoor M. (2019). Resveratrol attenuates malathion-induced liver damage by reducing oxidative stress. *Journal of Laboratory Physicians*, 11 (3), 212-219. https://doi.org/10.4103/JLP.JLP_43_19

Jaramillo-Colorado B., Palacio-Herrera F. y Pérez-Sierra I. (2016). Organophosphorus pesticide residues in fruits obtained from market places and supermarkets in Cartagena, Colombia. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias* 25 (4), 39-46 <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.14440.47363>

Jung S. P., Lee K. M., Kang J. H., Yun S. I., Park H. O., Moon Y. y Jong-Yeon K. (2013). Effect of *Lactobacillus gasseri* BNR17 on overweight and obese adults: a randomized, double-blind clinical trial. *Korean Journal of Family Medicine* 34 (2), 80-89. <https://doi.org/10.4082/kjfm.2013.34.2.80>

Jurado-Gámez, H. y Zambrano-Mora, E. J. (2020). Efecto de *Lactobacillus casei* microencapsulado sobre la salud intestinal y parámetros bioquímicos y productivos en pollo de engorde. *Revista U.D.C.A Actualidad y Divulgación Científica* 23 (2). <https://doi.org/10.31910/rudca.v23.n2.2020.1480>

Kadooka Y., Sato M., Ogawa A., Miyoshi M., Uenishi H. y Ogawa H. (2013). Effect of *Lactobacillus gasseri* SBT2055 in fermented milk on abdominal adiposity in adults in a randomized controlled trail. *British Journal of Nutrition* 110 (9), 1696-1703. <https://doi.org/10.1017/S0007114513001037>

Kalender S., Apaydin F., Durak D., Demir F. y Kalender Y. (2009). Malathion-induced hepatotoxicity in rats: The effects of vitamins C and E. *Food and Chemical Toxicology* 48 (2), 633-638. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.11.044>

Kang Y. y Cai Y. (2018). The development of probiotics therapy to obesity: a therapy that has gained considerable momentum. *Hormones* 17 (2), 141-151. <https://doi.org/10.1007/s42000-018-0003-y>

Kermani M., Dowlati M., Gholami M., Sobhi H. R., Azari A., Esrafil A. y Ghaffari H. (2021). A global systematic review, meta-analysis and health risk assessment on the quantity of malathion, diazinon and chlorpyrifos in vegetables. *Chemosphere*, 270, 129382. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.129382>

Khalili L., Alipour B., Asghari Jafarabadi M., Hassanalilou T., Mesgari Abbasi M. y Faraji I. (2019). Probiotic assisted weight management as a main factor for glycemic control in patients

with type 2 diabetes: a randomized controlled trial. *Diabetology and Metabolic Syndrome* 11 (5). <https://doi.org/10.1186/s13098-019-0400-7>

Kim S., Huang E., Park S., Holzapfel W. y Lim S.D. (2018). Physiological characteristics and anti-obesity effect of *Lactobacillus plantarum* K10. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources* 38 (3), 554-569. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2018.38.3.554>

Knapik L. F. O. y Ramsdorf W. (2020). Ecotoxicity of malathion pesticide and its genotoxic effects over the biomarker comet assay in *Daphnia magna*. *Environmental Monitoring and Assessment* 192 (5). <https://doi.org/10.1007/s10661-020-8235-0>

Kotb G., Farag A., Ramadan K. y Farid H. (2016). Protective role of garlic against malathion induced oxidative stress in male albino rats. *Indian Journal of Animal Research* 50, 324-329 <https://doi.org/10.18805/ijar.10712>

Krishnan S., Alden N. y Lee K. (2015). Pathways and functions of gut microbiota metabolism impacting host physiology. *Current Opinion in Biotechnology* 36, 137-145. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2015.08.015>

Kumar S., Kaushik G., Dar M., Nimesh S., Lopez-Chuken U. y Villarreal-Chiu J. (2018). Microbial degradation of organophosphate pesticides: a review. *Pedosphere* 28, 190-208. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(18\)60017-7](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(18)60017-7)

Kwon H.S., Yang E.H., Lee S.H., Yeon S., Kang B.H. y Kim T.Y. (2005). Rapid identification of potentially probiotic *Bifidobacterium* species by multiplex PCR using species-specific primers based on the region extending from 16S rRNA through 23S rRNA. *FEMS Microbiology Letters* 250, 55-62. <https://doi.org/10.1016/j.femsle.2005.06.041>

Lasram M.M., Bouzid K., Douib I.B., Annabi A., El Elj N., El Fazaa S., Abdelmoula J. y Gharbi N. (2015). Lipid metabolism disturbances contribute to insulin resistance and decrease insulin sensitivity by malathion exposure in Wistar rat. *Drug and Chemical Toxicology* 38 (2), 227-234. <https://doi.org/10.3109/01480545.2014.933348>

Lasram M. M., Annabi A. B., Rezg R., Elj N., Slimen S., Kamoun A. y Gharbi N. (2008). Effect of short-time malathion administration on glucose homeostasis in Wistar rat. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 92(3), 114-119. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2008.06.006>

Lastours V. y Fantin B. (2015). Microbiote intestinale: quelle implications thérapeutiques *La Revue de Médecine Interne*, 22-27.

Lee Y. M., Kim K. S. y Jacobs D. (2016). Persistent organic pollutants in adipose tissue should be considered in obesity research: obesity and persistent organic pollutants. *Obesity Reviews* 18 (2), 129-139. <https://doi.org/10.1111/obr.12481>

Liu Y., Liu S., Zhang Y., Qin D., Zheng Z., Zhu G. y Li X. (2019). The degradation behaviour, residue distribution, and dietary risk assessment of malathion on vegetables and fruits in China by GC-FPD. *Food Control*, 107, 106754. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106754>

Lopera C., Gómez F. A., Quinchía, A. M. y Penagos K. (2006). Evaluación de la resistencia de un aislado bacteriano nativo compatible con *Pseudomona* sp. al insecticida lorsban 4EC. *Revista EIA* 5, 101-108.

Lu C., Barr D., Pearson M. y Waller L. (2008). Dietary intake and its contribution to longitudinal organophosphorus pesticide exposure in urban/suburban children. *Environmental Health Perspectives* 116 (4), 537-542. <https://doi.org/10.1289/ehp.10912>

Lukowicz C., Ellero-Simatos S., Régnier M., Polizzi A., Lasserre F., Montagner A., Lippi Y., Jamin E.L., Martin J.F., Naylies C., Canlet C., Debrauwer L., Bertrand-Michel J., Al Saati T., Théodorou V., Loiseau N., Mselli-Lakhal L., Guillou H. y Gamet-Payrastre L. (2018). Metabolic effects of a chronic dietary exposure to a low-dose pesticide cocktail in mice: sexual dimorphism and role of the constitutive androstane receptor. *Environmental Health Perspectives* 126 (6). <https://doi.org/10.1289/EHP2877>

Lumsden E., McCowan L., Pescrille J., Fawcett W., Chen H., Albuquerque E. y Pereira E. (2020). Learning and memory retention deficits in prepubertal guinea pigs prenatally exposed to low levels of the organophosphorus insecticide malathion. *Neurotoxicology and Teratology* 81, 106914. <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2020.106914>

Maden B. y Yildirim Kumral A. (2020). Degradation trends of some insecticides and microbial changes during sauerkraut fermentation under laboratory conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 68 (50), 14988-14995. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c03948>

Marchesi J. (2011). Human distal gut microbiome. *Environmental Microbiology* 13 (12), 3088-3102. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2011.02574.x>

Million M., Maraninchi M., Henry M., Armougom F., Richet H., Carrieri P., Valero R., Raccach D., Vialettes B. y Raoult D. (2012). Obesity-associated gut microbiota is enriched in *Lactobacillus reuteri* and depleted in *Bifidobacterium animalis* and *Methanobrevibacter smithii*. *International Journal of Obesity* 36 (6), 817-825. <https://doi.org/10.1038/ijo.2011.153>

Mnif W., Ibn A., Bouaziz A., Bartegi A., Thomas O. y Roig B. (2011). Effect of endocrine disruptor pesticides: a review. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 8 (6), 2265-2303. <https://doi.org/10.3390/ijerph8062265>

Montgomery M., Postel E., Umbach D., Richards M., Watson M., Blair A. y Kamel F. (2017). Pesticide use and age related macular degeneration in the agricultural health study. *Environmental Health Perspectives* 125 (7). <https://doi.org/10.1289/EHP793>

Moreno B. R., Salas O. J., Pérez-Maldonado C. I. y Jiménez J. M. (2011). Evaluación del potencial probiótico de lactobacilos aislados de heces de lactantes y leche materna. *Revista de Facultad de Medicina* 20 (2), 128-135.

Mostafalou S., Eghbal M., Nili-Ahmadabadi A., Baeeri M. y Abdollahi M. (2012). Biochemical evidence on the potential role of organophosphates in hepatic glucose metabolism toward insulin resistance through inflammatory signaling and free radical pathways. *Toxicology and Industrial Health* 28 (9), 840-851. <https://doi.org/10.1177/0748233711425073>

Mostafalou S. y Abdollahi M. (2013). Pesticides and human chronic diseases: evidences, mechanisms, and perspectives. *Toxicology and Applied Pharmacology* 268 (2), 157–177. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2013.01.025>

Mostafalou S. y Abdollahi, M. (2017). Pesticides: an update of human exposure and toxicity. *Archives of Toxicology* 91, 549-599. <https://doi.org/10.1007/s00204-016-1849-x>

Navarrete M.P., Pedraza A.I., Salas C., Moreno D. y Pérez P. (2018). Low concentrations of permethrin and malathion induce numerical and structural abnormalities in KMT2A and IGH genes in vitro. *Journal of Applied Toxicology: JAT* 38 (9), 1262–1270. <https://doi.org/10.1002/jat.3638>

Niibo M., Shirouchi B., Umegatani M., Morita Y., Ogawa A., Sakai F., Kadooka Y. y Sato M. (2019). Probiotic *Lactobacillus gasseri* SBT2055 improves insulin secretion in a diabetic rat model. *Journal of Dairy Science* 102 (2), 997-1006. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15203>

Nili-Ahmadabadi A., Pourkhalili N., Fouladdel S., Pakzad M., Mostafalou S., Hassani S. y Abdollahi M. (2013). On the biochemical and molecular mechanisms by which malathion induces dysfunction in pancreatic islets in vivo and in vitro. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 106 (1-2), 51-60. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2013.04.003>

Nurulain S., Petroianu G., Shafiullah M., Kalász H., Oz M., Tariq S. y Adeghate E. (2013). Sub-chronic exposure to paraoxon neither induces nor exacerbates diabetes mellitus in Wistar rat. *Journal of Applied Toxicology* 33 (10), 1036-1043. <https://doi.org/10.1002/jat.2794>

OMS. (2018). Residuos de plaguicidas en los alimentos. Organización Mundial de la Salud. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/pesticide-residues-in-food>

OMS. (2019). Obesidad y Sobrepeso Organización Mundial de la Salud. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/>

OMS. (2021). Obesidad y sobrepeso. Obtenido de Organización Mundial de la Salud. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>

OMS. (2020). Diabetes. Organización Mundial de la Salud. <https://www.who.int/health-topics/diabetes>

Otalvaro A., Rey J., Gonzalez M., López A. y Prieto L. (2018). Residuos de plaguicidas organofosforados en la cadena productiva del brócoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) y coliflor (*Brassica oleracea* L. var. *botrytis*) en Colombia: aproximación a un perfil de riesgo. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas* 12 (1), 156-165. <https://doi.org/10.17584/rcch.2018v12i1.7352>

Pakzad M., Fouladdel S., Nili-Ahmadabadi A., Pourkhalili N., Baeeri M., Azizi E. y Abdollahi, M. (2013). Sublethal exposures of diazinon alters glucose homostasis in Wistar rats: biochemical and molecular evidences of oxidative stress in adipose tissues. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 105 (1), 57–61. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2012.11.008>

Palacios T., Vitetta L., Coulson S., Madigan C.D., Denyer G.S. y Caterson I.D. (2017). The effect of a novel probiotic on metabolic biomarkers in adults with prediabetes and recently diagnosed type 2 diabetes mellitus: study protocol for a randomized controlled trial. *Trials* 18 (1), 7. <https://doi.org/10.1186/s13063-016-1762-x>

Panahi S. y Tremblay A. (2016). The potential role of yogurt in weight management and prevention of type 2 diabetes. *Journal of the American College of Nutrition* 35 (8), 717-731. <https://doi.org/10.1080/07315724.2015.1102103>

Peñuela G. y Ballesteros R. (2009). Biodegradación del malatión utilizando microorganismos nativos de suelos agrícolas. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 22 (2), 189-198.

Poomagal S., Ramalingam S., Kumar P. S. y Vo D.V. (2020). A fuzzy cognitive map approach to predict the hazardous effects of malathion to environment (air, water and soil). *Chemosphere* 263, 127926. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127926>

Possamai P., Fortunato J., Feier G., Agostinho F. R., Quevedo J., Wilhelm D. y Dal-Pizzol F. (2007). Oxidative stress after acute and sub-chronic malathion intoxication in Wistar rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 23, 198-204. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2006.09.003>

Pournourmohammadi S., Farzami B., Ostad S., Azizi E. y Abdollahi M. (2005). Effects of malathion subchronic exposure on rat skeletal muscle glucose metabolism. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 19 (1), 191-196. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2004.07.002>

Pournourmohammadi S., Ostad S., Azizi E., Ghahremani M., Farzami B., Minaie B. y Abdollahi M. (2007). Induction of insulin resistance by malathion: evidence for disrupted islets cells metabolism and mitochondrial dysfunction. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 88, 346-352. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2007.02.001>

Pérez M.A., Segura A., García R., Colinas T., Pérez M., Vázquez A. y Navarro H. (2009). Residuos de plaguicidas organofosforados en cabezuela de brócoli (*Brassica oleracea*) determinados por cromatografía de gases. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 25 (2), 103-110.

Pérez-Maldonado C. (2011). Evaluación del potencial probiótico de lactobacilos aislados de heces de lactantes y leche materna. *Revista de Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes* 20 (11).

Raafat N., Abass M. A. y Salem H. M. (2012). Malathion exposure and insulin resistance among a group of farmers in Al-Sharkia governorate. *Clinical Biochemistry* 45 (18), 1591-1595. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2012.07.108>

Ramírez-Vargas M. A., Flores-Alfaro E., Uriostegui-Acosta M., Alvarez-Fitz P., Parra-Rojas I. y Moreno-Godinez M. E. (2018). Effects of exposure to malathion on blood glucose concentration: a meta-analysis. *Environmental Science and Pollution Research* 25(4), 3233-3242. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0890-5>

Ramírez J. y Lacasaña Y. (2001). Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición. *Arch Prev Riesgos Labor*.

Reiner K. (2010). Catalase test protocol. American Society for Microbiology, Washington, D.C., EUA, 9 pp.

Ren X.-M., Kuo Y. y Blumberg B. (2020). Agrochemicals and obesity. *Molecular and Cellular Endocrinology* 515, 110926. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2020.110926>

Rezg R., Mornagui B., Ben Ahmed M., Chouchane S., Belhajmida N., Abdeladhim M. y Gharbi N. (2010). Malathion exposure modulates hypothalamic gene expression and induces dyslipidemia in Wistar rats. *Food and Chemical Toxicology* 48, 1473-1477. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.03.013>

Rezg R., Mornagui B., Kamoun A., El-Fazâa S. y Gharbi N. (2007). Effect of subchronic exposure to malathion on metabolic parameters in the rat. *Comptes rendus biologiques* 330, 143-147. <https://doi.org/10.1016/j.crvi.2006.11.002>

Roman P., Cardona D., Sempere L. y Carvajal F. (2019). Microbiota and organophosphates. *Neurotoxicology* 75, 200-208. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2019.09.013>

Ruiz A., Delgado-Blas V. y Peraza R. (2019). Toxicidad aguda del Malation 500® y Tyson 4E® en *Capitella* sp. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 35, 565-574. <https://doi.org/10.20937/RICA.2019.35.03.04>

Ruiz Alvarez V., Puig Peña Y. y Acosta M. (2010). Microbiota intestinal, sistema inmune y obesidad. *Revista Cubana de Investigaciones Biomedicas* 29, 364-397.

Ríos A., Vida C., Montes E. y Sanchez A. (2017). Residuos de plaguicidas en tomate (*Solanum lycopersicum*) comercializado en Armenia, Colombia. *Revista Vitae* 68-79. [https://doi.org/10.17533/udea.vitae.v24n2\(2\)a08](https://doi.org/10.17533/udea.vitae.v24n2(2)a08)

Sanchez M., Darimont C., Drapeau V., Emady-Azar S., Lepage M., Rezzonico E., Ngom-Bru Catherine, Berger B., Philippe L., Ammon C., Leone P., Chevrier G., MArette A., Dore J. y Tremblay A. (2014). Effect of *Lactobacillus rhamnosus* CGMCC13724 supplementation on weight loss and maintenance in obese men and women *British Journal of Nutrition* 111 (8), 1507- 1519. <https://doi.org/10.1017/S0007114513003875>

Sánchez J., Ettiene G., Buscema I. y Medina D. (2005). persistencia de los insecticidas organofosforados malathion y chlorpiryphos en guayaba (*Psidium guajava* L.). *Revista de la Facultad de Agronomía de La Universidad del Zulia* 22 (1) 62-71.

Saha S., Alam N. y Rahman S. M. N. (2021). The role of probiotic supplementation on insulin resistance in obesity associated diabetes. *Preprints: Medicine and Pharmacology* <https://doi.org/10.20944/preprints202110.0134.v1>

Sandino J., Hurtado D. y Sandoval O. (2016). Prediction of endocrine system affectation in fisher 344 rats by food intake exposed with malathion, applying naïve bayes classifier and genetic algorithms. *International Journal of Preventive Medicine* 7 (1), 111. <https://doi.org/10.4103/2008-7802.190611>

Sankar S., Lagier J.C., Pontarotti P., Raoult D. y Fournier P.E. (2015). The human gut microbiome, a taxonomic conundrum. *Systematic and Applied Microbiology* 38 (4) 276-286. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2015.03.004>

Sanz Y., Olivares M., Moya A. y Agostoni C. (2014). Understanding the role of gut microbiome in metabolic disease risk. *Pediatric research* 77, 236-244. <https://doi.org/10.1038/pr.2014.170>

Sanz Y., Santacruz A. y Gauffin Cano P. (2010). Gut microbiota in obesity and metabolic disorders. *The Proceedings of the Nutrition Society* 69, 434-441. <https://doi.org/10.1017/S0029665110001813>

Sargis R. y Simmons R. (2019). Environmental neglect: endocrine disruptors as underappreciated but potentially modifiable diabetes risk factors. *Diabetologia* 62, 1811-1822. <https://doi.org/10.1007/s00125-019-4940-z>

Shamloo H., Golkari S., Faghfoori Z., Pour A., Lotfi H., Barzegari A. y Yari A. (2016). *Lactobacillus casei* decreases organophosphorus pesticide diazinon cytotoxicity in human huvec cell line. *Advanced Pharmaceutical Bulletin* 6, 201-210. <https://doi.org/10.15171/apb.2016.028>

Scheline R. (1973). Metabolism of foreign compounds by gastrointestinal microorganisms. *Pharmacological Reviews* 25 (4), 451-523.

Serra J. (2016). Microbiota intestinal. *Atención Primaria* 48 (6), 345-346 <https://doi.org/10.1016/j.aprim.2016.04.003>

SEMARNAT (2018). Clasificaciones más importantes de los plaguicidas. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/26573/clasificaciones.pdf>

SEMARNAT. (2017). Riesgos de los plaguicidas para el ambiente. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/26576/riesgos.pdf>

Singh B., Kaur J. y Singh K. (2013). Microbial degradation of an organophosphate pesticide malathion. *Critical Reviews in Microbiology* 40 (2), 146-154 <https://doi.org/10.3109/1040841X.2013.763222>

Sirajuddin D., Khan M., Ul Qader S.A., Iqbal S., Sattar H. y Ansari D.A. (2019). A comparative study on degradation of complex malathion organophosphate using of *Escherichia coli* IES-02 and a novel carboxylesterase. *International Journal of Biological Macromolecules* 145, 445-455 <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.192>

Smith E. E., Gui-Cheng H., John O. J. y Xin B. (2017). Some current applications, limitations and future perspectives of lactic acid bacteria as probiotic. *Food and Nutrition Research* 61 (1), 1318034. <https://doi.org/10.1080/16546628.2017.1318034>

Sobhy W., Elmadawy M., Abdelhiee E., Abdel-Kareem M., Farag A., Aboubakr M. y Fadl, S. (2021). Protective effect of thymoquinone against lung intoxication induced by malathion inhalation. *Scientific Reports* 11, 2498. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82083-w>

Soto M. (2011). Estudio de residuos de plaguicidas en alimentos. Instituto de Salud Pública de Chile, 1-21.

Subramanian G., Sekar S. y Sampooram S. (1994). Biodegradation and utilization of organophosphorus pesticides by cyanobacteria. *International Biodeterioration and Biodegradation* 33 (2), 129-143 [https://doi.org/10.1016/0964-8305\(94\)90032-9](https://doi.org/10.1016/0964-8305(94)90032-9)

Svingen T., Ramhøj L., Mandrup K., Christiansen S., Axelstad M., Vinggaard A.M. y Hass U. (2018). Effects on metabolic parameters in young rats born with low birth weight after exposure to a mixture of pesticides. *Scientific Reports* 8 (1), 305. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-18626-x>

Thayer K., Heindel J., Bucher J. y Gallo M. (2012). Role of environmental chemicals in diabetes and obesity: a national toxicology program workshop review. *Environmental Health Perspectives* 120 (6), 779-789. <https://doi.org/10.1289/ehp.1104597>

Thompson L.A. y Darwish W.S. (2019). Environmental chemical contaminants in food: review of a global problem. *Journal of Toxicology* 2019, 2345283. <https://doi.org/10.1155/2019/2345283>

Tian F., Yu L., Zhai Q., Xiao Y., Shi Y., Jiang J., Liu X., Zhao J., Zhang H. y Chen W. (2017). The therapeutic protection of a living and dead *Lactobacillus* strain against aluminum induced brain and liver injuries in C57BL/6 mice. *PLOS ONE* 12 (4), e0175398. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175398>

Toejing P., Khampithum N., Sirilun S. y Chaiyasut C. (2021). Influence of *Lactobacillus paracasei* HII01 supplementation on glycemia and inflammatory biomarkers in type 2 diabetes: a randomized clinical trial. *Foods* 10 (7), 1455. <https://doi.org/10.3390/foods10071455>

Trinder M., McDowell T.W., Daisley B.A., Ali S.N., Leong H.S., Sumarah M.W. y Reid G. (2016). Probiotic *Lactobacillus rhamnosus* reduces organophosphate pesticide absorption and toxicity to *Drosophila melanogaster*. *Applied and Environmental Microbiology* 82 (20), 6204. <https://doi.org/10.1128/AEM.01510-16>

Tuzcu K., Alp H., Ozgur T., Karcioğlu M., Davarci I., Evliyaoglu O., Karakus A. y Hakimoglu S. (2014). Oral intralipid emulsion use: a novel therapeutic approach to pancreatic β -cell injury caused by malathion toxicity in rats. *Drug and Chemical Toxicology* 37 (3), 261-267. <https://doi.org/10.3109/01480545.2013.838780>

Upegui S., Peñuela G. y Botero, L. (2011). Inorganic nutrients effect addition over the chlorpyrifos, malathion and methyl parathion degradation. *Revista Ingenierías Universidad de Medellín* 10, 43-50.

Venkataraman R., Jose P. y Jose J. (2019). Impact of probiotics on health-related quality of life in type II diabetes mellitus: a randomized single-blind, placebo controlled study. *Journal of Natural Science, Biology and Medicine* 10 (1), 2-7. https://doi.org/10.4103/jnsbm.JNSBM_31_18

Vergara, J.A. (2018). Caracterización de poblaciones de lactobacilos y su probable efecto anticancerígeno en personas con genotipo ApoE3 y ApoE4. Tesis de Maestría. Instituto de Ciencias, Centro de Investigación en Ciencias Microbiológicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, México, 63 pp.

Villarroel S., Rojas D., Herrera L., Arancibia M., Condarco S. y Jarro R. (2014). Uso inadecuado de plaguicidas y sus consecuencias en la salud de la población La Villa, Punata, Cochabamba, Bolivia 37, 11-14.

Vosough-Ghanbari S., Sayyar P., Pournourmohammadi S., Aliahmadi A., Ostad S. y Abdollahi M. (2007). Stimulation of insulin and glucagon synthesis in rat Langerhans islets by malathion in vitro: Evidence for mitochondrial interaction and involvement of subcellular non-cholinergic mechanisms. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 89, 130-136. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2007.05.001>

Xiao X., Clark J.M. y Park Y. (2017). Potential contribution of insecticide exposure and development of obesity and type 2 diabetes. *Food and Chemical Toxicology* 105, 456-474. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.05.003>

Yang X., Zhao Z., Tan Y., Chen B., Zhou C. y Wu A. (2019). Risk profiling of exposures to multiclass contaminants through cereals and cereal-based products consumption: a case study for

the inhabitants in Shanghai, China. Food Control 109, 106964. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106964>

Zahirnia A., Boroomand M., Nasirian H., Soleimani S., Salehzadeh A. y Dastan D. (2019). The cytotoxicity of malathion and essential oil of *Nepeta crispa* (lamiales: lamiaceae) against vertebrate and invertebrate cell lines. Pan African Medical Journal 33, 285. <https://doi.org/10.11604/pamj.2019.33.285.18776>

Zarejousheghani M., Walte A. y Borsdorf H. (2018). Sprayed liquid-gas extraction of semi-volatile organophosphate malathion from air and contaminated surfaces. Analytical Methods 10. <https://doi.org/10.1039/C8AY00636A>


Zhang Y.H., Xu D., Liu J.Q. y Zhao X.-H. (2014). Enhanced degradation of five organophosphorus pesticides in skimmed milk by lactic acid bacteria and its potential relationship with phosphatase production. Food Chemistry 164, 173-178. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.059>

Zhao X.H. y Wang J. (2012). A brief study on the degradation kinetics of seven organophosphorus pesticides in skimmed milk cultured with *Lactobacillus* spp. at 42 °C. Food Chemistry 131, 300–304. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.046>

Zhou X.W. y Zhao X.H. (2015). Susceptibility of nine organophosphorus pesticides in skimmed milk towards inoculated lactic acid bacteria and yogurt starters. Journal of the Science of Food and Agriculture 95 (2), 250-266. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6710>

XII. ANEXOS

12.1 Autorización CICUAL


BUAP

Oficio VIEP/00437/2022

Dra. Carolina Morán Raya
Directora del Instituto de Ciencias de la
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
PRESENTE

*Por este medio hago constar que después de haber verificado que usted es miembro del Padrón de Investigadores de esta Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado y que su protocolo ha sido evaluado por el Comité para el cuidado y uso de animales de laboratorio, por lo cual se le autoriza la solicitud del requerimiento de acuerdo al cronograma adjunto, los cuales serán utilizados para la realización de los experimentos que se requieran para llevar a cabo el protocolo de investigación con clave: **100010155-UALVIEP-22/1 TITULADO "EFECTO PROTECTOR DE LACTOBACILLUS ANTE EL CONSUMO PROLONGADO DE MALATIÓN EN DOSIS BAJAS A TRAVÉS DEL ESTUDIO EN UN MODELO MURINO."** el cuál tiene como equipo de trabajo:*

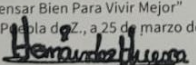
- **Investigadores Responsable:**
Dra. Cedillo Ramírez María Lilia, 100010155, Instituto de Ciencias

- **Alumno(s) Responsable(s) del Proyecto:**
Marco Ángel Simoni Berra, 218570795, Doctorado en Ciencias Ambientales, ICUAP


Asimismo, se hace constar que los animales objeto de este estudio serán criados y mantenidos en las Instalaciones del Bioterio "Claude Bernard", de acuerdo a los lineamientos establecidos en la "Guía para el cuidado y Uso de Animales de Laboratorio" y las especificaciones establecidas en la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, y la Legislación Mexicana relativa vigente y debe ser aprobado por el Comité para el cuidado y uso de animales de laboratorio (CICUAL) de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, el cual le otorgará una clave que deberá de usar.

También se hace constar que se aplicarán todos los esfuerzos encaminados a minimizar el sufrimiento y la cantidad de animales a utilizar en el proyecto, así como los criterios de manejo, anestesia, analgesia y eutanasia vigentes y que el protocolo ha sido avalado por el Comité para la Investigación y Cuidado de los Animales de Laboratorio de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Se extiende la presente para los efectos correspondientes.

Atentamente
"Pensar Bien Para Vivir Mejor"
H. Puebla de Z., a 25 de marzo de 2022


Dra. Rosario Hernández Huesca
Directora General de Investigación



c.c.p. MVZ. Francisco Ramos Collazo, Bioterio "Claude Bernard".
Dra "RHH/alo"

Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado

Torre de Gestión Académica y Servicios Administrativos, piso 6.
Avenida Central, Ciudad Universitaria.
Puebla, Pue. C.P. 72570
Teléfonos: 229 55 00 Ext. 5720, 5621