

RESISTENCIA DE *Lactobacillus* spp. A MALATIÓN 1000

Resistance of *Lactobacillus* spp. to malathion 1000

Marco Angel SIMONI BERRA^{1*}, Jorge Alberto GIRÓN ORTIZ², Fernando HERNÁNDEZ ALDANA³,
Manuel HUERTA LARA⁴, Jorge Antonio YÁÑEZ SANTOS¹ y María Lilia CEDILLO RAMÍREZ¹

¹ Posgrado en Ciencias Ambientales, Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Edificio IC6 (planta baja), Ciudad Universitaria, Colonia Jardines de San Manuel, 72570 Puebla, Puebla, México.

² Centro de Detección Biomolecular, Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Edificio IC11, Ciudad Universitaria, Colonia Jardines de San Manuel, 72570 Puebla, Puebla, México.

³ Laboratorio de Química Ambiental, Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Edificio 103G, Ciudad Universitaria, Colonia Jardines de San Manuel, 72570 Puebla, Puebla, México.

⁴ Departamento Universitario de Desarrollo Sustentable, Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Edificio IC10, Ciudad Universitaria, Colonia Jardines de San Manuel, 72570 Puebla, Puebla, México.

*Autor para correspondencia: mark311@live.com.mx

(Recibido: noviembre de 2020; aceptado: abril de 2022)

Palabras clave: plaguicidas, probióticos, microbiota intestinal, salud.

RESUMEN

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, lo que ocasiona problemas de salud como aumento del estrés oxidante, resistencia a la insulina y alteración del metabolismo de lípidos. El consumo de distintas especies de *Lactobacillus* con capacidad probiótica se ha asociado con diferentes efectos sobre la salud, incluyendo disminución de las alteraciones asociadas al consumo de residuos de plaguicidas. El objetivo del presente estudio fue determinar la resistencia de ocho especies de *Lactobacillus* a diferentes concentraciones de malatión y evaluar cuáles podrían utilizarse para reducir los efectos tóxicos del malatión sobre la salud. Se aislaron e identificaron mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (conocida como PCR, por sus siglas en inglés) 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, con 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 fue visiblemente menor respecto al grupo control. Tomando en cuenta los datos anteriores se puede concluir que la resistencia de *Lactobacillus* spp. a diversas concentraciones de malatión varía de acuerdo con la especie y que siete de las ocho especies evaluadas podrían presentar un potencial efecto benéfico ante el consumo de alimentos contaminados con residuos de este plaguicida.

Keywords: pesticides, probiotics, gut microbiota, health.

ABSTRACT

Malathion is one of the most widely used pesticides in Mexico 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 alteration of lipid metabolism. Furthermore, the consumption of different species of *Lactobacillus* with probiotic capacity has been associated with other effects on health, including the reduction of alterations related to the consumption of pesticide residues. The objective of the present study was to determine the resistance of eight *Lactobacillus* species to different concentrations of malathion and evaluate which could be used to reduce the toxic effects of this pesticide on health. Eight *Lactobacillus* species present in food supplements were isolated and identified by polymerase chain reaction (PCR), and their resistance to the insecticide malathion 1000 at different concentrations was evaluated using the Kirby-Bauer technique. All *Lactobacillus* species considered, except *L. salivarius*, could grow in the presence of malathion at low doses (0.1, 1 %); however, resistance at medium doses (10, 20 %) varies between species, while at high doses (50, 83.6 %) there was no growth, or the number of colonies were visibly lower compared to the control group. Considering the previous data, we can conclude that the resistance of *Lactobacillus* spp. at different concentrations of malathion varies according to the species, and seven of the eight species evaluated could present a potential beneficial effect when consuming food contaminated with malathion residues.

INTRODUCCIÓN

En México y el mundo se ha incrementado el uso de plaguicidas como herramientas esenciales para el control de plagas agrícolas y enfermedades transmitidas por vectores; sin embargo, su uso representa un riesgo potencial para el ambiente y los seres humanos (Navarrete et al. 2018). Se han reportado varios efectos perjudiciales por el empleo de plaguicidas, 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 resistencia y resurgimiento de plagas (Zahirnia et al. 2019).

En la actualidad existe un gran interés sobre los contaminantes ambientales con relación a la seguridad alimentaria (Pérez et al. 2009). Debido a su uso indiscriminado, los plaguicidas de uso agrícola son una de las principales sustancias tóxicas en el ambiente que pueden contaminar los alimentos de consumo humano, representando un importante problema de inocuidad alimentaria y una grave amenaza para la salud (Thompson y Darwish 2019).

El malatión es uno de los plaguicidas más utilizados en el mundo, especialmente en países en desarrollo, donde se ha empleado desde 1956 hasta la fecha (Fuentes et al. 2010, Lasram et al. 2015). México es uno de los principales consumidores de este pesticida a nivel mundial y, de acuerdo con la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA, por su sigla en inglés), es el

principal plaguicida detectado en los productos alimenticios, con una presencia del 23 % en alimentos con inspección sanitaria.

Muchos estudios toxicológicos realizados por la Agencia de Protección Ambiental (EPA, por su sigla en inglés) han clasificado al malatión como un plaguicida altamente tóxico (Arumugam et al. 2015). 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 alimentos (Mostafalou y Abdollahi 2013).

Diversos estudios experimentales in vivo e in vitro apoyan la idea de que la exposición crónica a residuos de plaguicidas no persistentes como el malatión contribuye potencialmente a la alteración del metabolismo de la glucosa y los lípidos (Xiao et al. 2017, Svingen et al. 2018), el aumento de peso (Lukowicz et al. 2018), la resistencia a la insulina e hiperglucemia (Tuzcu et al. 2014, Lasram et al. 2015), el incremento del estrés oxidante y a múltiples cambios patológicos en macromoléculas celulares como ácidos nucleicos, lípidos, carbohidratos, proteínas y enzimas (Arab et al. 2018, Jalili et al. 2019), así como a trastornos del estado de ánimo y disbiosis de la microbiota intestinal (Roman et al. 2019).

La microbiota intestinal, definida como el conjunto de microorganismos vivos que habitan en el intestino, desempeña un papel clave en la homeostasis del hospedador y puede verse alterada, entre otros, por la presencia de residuos de plaguicidas en

la dieta (Roman et al. 2019). Se ha demostrado que varios compuestos ambientales inhiben el crecimiento bacteriano gastrointestinal o inducen disbiosis, la cual se ha relacionado con una serie de enfermedades intestinales y sistémicas como diabetes tipo 2 y obesidad (Claus et al. 2017, Gao et al. 2017).

Lactobacillus es un género de bacterias grampositivas, anaeróbicas y aerotolerantes pertenecientes al filo de los Firmicutes que impacta funciones fisiológicas del hospedador a través de su actividad metabólica (Krishnan et al. 2015, Serra 2016). Muchos probióticos utilizados actualmente provienen del género *Lactobacillus* y su administración en forma de alimentos o suplementos confiere diversos beneficios a la salud del hospedador, como reducción del estrés oxidante (Tian et al. 2017) y disminución de la absorción y toxicidad de organofosforados (Trinder et al. 2016); asimismo, se han asociado con diferentes efectos en el cambio de peso (Million et al. 2012, Drissi et al. 2014, Kang y Cai 2018, Kim et al. 2018) y el control o mejora de pacientes con diabetes mellitus tipo 2 (Evivie et al. 2017, Palacios et al. 2017, Khalili et al. 2019, Niibo et al. 2019, Venkataraman et al. 2019). Estas propiedades pueden indicar que el género *Lactobacillus* es una herramienta potencialmente eficaz contra la toxicidad originada por el consumo de residuos de plaguicidas presentes en los alimentos. Por ello consideramos necesario determinar qué especies de *Lactobacillus* son resistentes al malatión, ya que pueden servir como agentes protectores ante los efectos nocivos de este pesticida.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio 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).

Productos químicos

Se utilizó insecticida de grado comercial malatión 1000 de Agroquímica Tridente (O,O-dimetil fosforoditioato de dietil mercapto succinato al 83.60 %, disolventes y emulsificantes ≤ 16.40 %).

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 y 0.1 %) utilizando agua estéril como solvente. Las diluciones se elaboraron utilizando la fórmula $C_1V_1 = C_2V_2$, donde C_1 y C_2 representan

las concentraciones de las soluciones inicial y final, respectivamente, y V_1 y V_2 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.

Medios y condiciones de cultivo

Los lactobacilos aislados se cultivaron en caldo o agar Mann-Rogosa-Sharp (MRS) a 37 °C durante 24-48 h, en condiciones de aerobiosis.

Obtención y procesamiento de la muestra

Las especies de *Lactobacillus* fueron aisladas a partir de distintos suplementos alimenticios (probióticos) de marcas comerciales. Las muestras se sembraron en caldo MRS durante 24 h para activar los probióticos y posteriormente se sembraron en agar MRS a 37 °C durante 24-48 h, para su aislamiento.

Las especies que presumiblemente pertenecían al género *Lactobacillus* se seleccionaron con base en las características morfológicas de sus colonias, observación microscópica y la prueba de la catalasa.

Prueba de catalasa

La presencia de la enzima catalasa fue verificada colocando una gota de peróxido de hidrógeno (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 indicó que las bacterias no presentaban actividad catalasa, característica del género *Lactobacillus*. Como control positivo se utilizó una cepa de *Staphylococcus aureus* y como control negativo una cepa de *Lactobacillus rhamnosus* donadas por el Centro de Detección Biomolecular (CDB) de la BUAP.

Extracción de ADN e identificación mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Las muestras de ADN se extrajeron de los aislados que cumplían las características de *Lactobacillus*, utilizando el kit de extracción Quick-DNATM Universal Kit de Zymo Research y siguiendo las instrucciones del fabricante. Las especies de *Lactobacillus* se identificaron mediante la técnica de PCR punto final en un termociclador Techne TC-412, utilizando el kit DreamTaq PCR Máster Mix (2X) de Thermo Scientific y siguiendo las instrucciones del fabricante. Los iniciadores específicos para cada especie de *Lactobacillus* empleados en el presente estudio fueron descritos en trabajos previos (Kwon et

al. 2005, Vergara 2018) y sintetizados por la empresa T4 Oligo (**Cuadro I**). Como controles positivos se utilizaron cepas donadas por el 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 . Los productos fueron observados usando electroforesis en gel de agarosa al 2 %.

Resistencia de *Lactobacillus* al malatión

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

Las suspensiones de *Lactobacillus* se prepararon en caldo MRS y se incubaron 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 unidades formadoras de colonias (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), intermedias (moderadamente sensibles) (I) o resistentes (R) a las distintas concentraciones de malatión. Todas las pruebas se realizaron por duplicado.

RESULTADOS

Se aislaron e identificaron un total de ocho especies del género *Lactobacillus* (*L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. casei*, *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. reuteri*, *L. rhamnosus* y *L. salivarius*) presentes en los suplementos alimenticios (probióticos). La selección de especies se realizó de acuerdo con las características fenotípicas del género (**Cuadro II**) y la identificación a nivel de especie se realizó por medio de la técnica de PCR punto final. Los productos de

CUADRO I. INICIADORES PARA *Lactobacillus* spp. UTILIZADOS EN ESTE ESTUDIO.

Especie de <i>Lactobacillus</i>	Iniciador	Secuencia (5'-3')	Tamaño del fragmento (pb)
<i>L. fermentum</i>	Lfer-3F Lfer-3R	ACTAACTTGACTGATCTACGA TTCCTGCTCAAGTAATCATC	192
<i>L. plantarum</i>	Lpla-3F Lpla-3R	ATTCATAGTCTAGTTGGAGGT CCTGAAGTGAAGAAATTTGA	248
<i>L. reuteri</i>	Lreu-4F Lreu-4R	CAGACAATCTTTGATTGTTTAG GCTTGTTGGTTTGGGCTCTTC	303
<i>L. acidophilus</i>	Laci-F Laci-R	AGCTGAACCAACAGATTCAC ACTACCAGGGTATCTAATCC	210
<i>L. rhamnosus</i>	Lrha-F Lrha-R	CAGACTGAAAGTCTGACGG GCGATGCGAATTTCTATTATT	190
<i>L. casei</i>	Lcas-F Lcas-F	CTCAAAGCCGTGACGGTC ACGTGGTGCTAATAATCCTAGTG	742
<i>L. brevis</i>	Lbre-F Lbre-R	GAAGCTAGTGCGAACTGGT CTCCCAGTTTCCGATGCAC	563
<i>L. salivarius</i>	Lsal-F Lsal-R	AGGTTCGAAAGCGTGGGTAG TCCCCGAAGGGAAGCCTAA	280

Nota: los iniciadores específicos para cada especie de *Lactobacillus* fueron descritos en trabajos previos (Kwon et al. 2005, Vergara 2018) y sintetizados por la empresa T4 Oligo.

CUADRO II. CARACTERÍSTICAS DEL GÉNERO *Lactobacillus*.

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

PCR se observaron usando electroforesis en gel de agarosa al 2 % (**Fig. 1a-d**).

El **cuadro III** muestra la resistencia de las ocho especies de *Lactobacillus* aisladas de suplementos probióticos a distintas concentraciones de malatión 1000 mediante la técnica de Kirby-Bauer. Los resultados

CUADRO III. RESISTENCIA DE *Lactobacillus* A DISTINTAS CONCENTRACIONES DE MALATIÓN 1000.

Especie de <i>Lactobacillus</i>	Concentración de malatión 1000 (%)					
	83.6	50.0	20.0	10.0	1.0	0.1
<i>L. reuteri</i>	I	R	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).

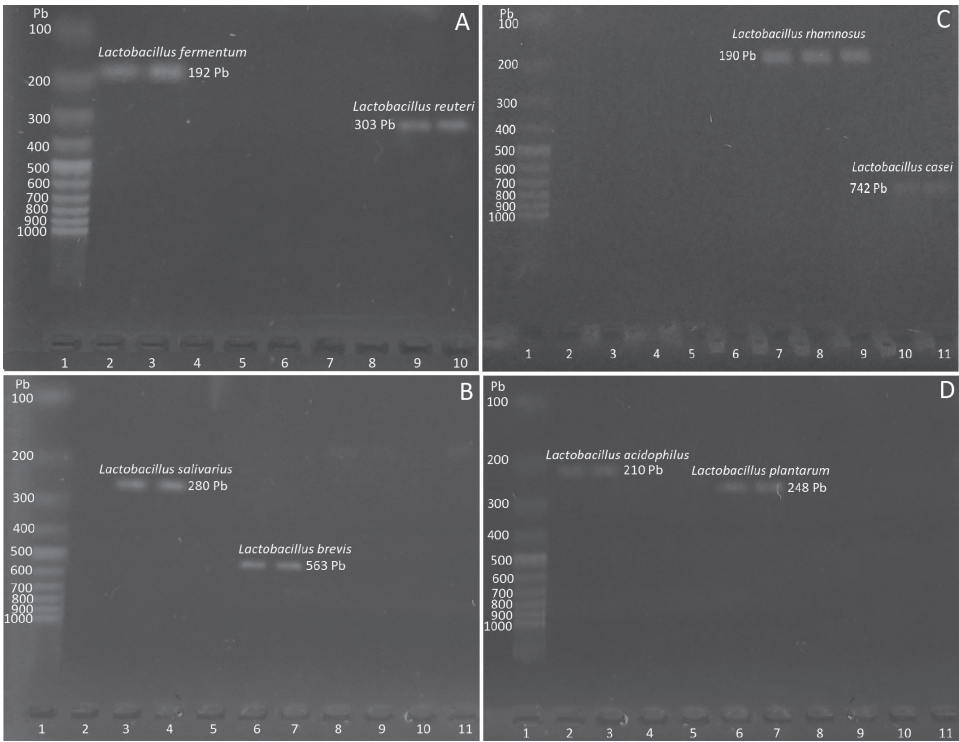


Fig. 1. Electroforesis en gel de agarosa al 2 % de productos obtenidos mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de ocho especies del género *Lactobacillus* aisladas de productos alimenticios (probióticos). (a) Carril 1: marcador de peso molecular de 100 Pb; carril 2: muestra; carril 3: control positivo (*Lactobacillus fermentum*); carril 4: control negativo; carril 9: muestra; carril 10: control positivo (*Lactobacillus reuteri*). (b) Carril 1: marcador de peso molecular de 100 Pb; carril 2: control negativo; carril 3: muestra; carril 4: control positivo (*Lactobacillus salivarius*); carril 6: muestra; carril 7: control positivo (*Lactobacillus brevis*). (c) Carril 1: marcador de peso molecular de 100 Pb; carril 2: control negativo; carril 7: muestra; carril 8: muestra; carril 9: control positivo (*Lactobacillus rhamnosus*); carril 10: muestra; carril 11: control positivo (*Lactobacillus casei*). (d) Carril 1: marcador de peso molecular de 100 Pb; carril 2: muestra; carril 3: control positivo (*Lactobacillus acidophilus*); carril 4: control negativo; carril 6: muestra; carril 7: control positivo (*Lactobacillus plantarum*).

se expresan como: sensible (S) si el diámetro del halo es mayor de 11 mm, intermedio o moderadamente sensible (I) si el diámetro del halo es de 7-11 mm, y resistente (R) si el diámetro del halo es menor de 7 mm.

Todas las especies de *Lactobacillus* evaluadas, a excepción de *Lactobacillus salivarius* (**Fig. 2b**), 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 fue visiblemente menor con relación al grupo control.

DISCUSIÓN

Debido a la preocupación existente por la presencia de residuos de plaguicidas en los alimentos y a sus diversos efectos sobre la salud, se investigó la resistencia de *Lactobacillus* spp. a distintas concentraciones de malatión. La agricultura convencional utiliza plaguicidas para reducir las pérdidas debidas al ataque de determinados organismos vivos convertidos en plagas, por lo que no es extraña la presencia de estos compuestos en diversos alimentos. Expertos como la comisión del Codex Alimentarius, la EPA y la FDA establecen límites máximos de residuos de plaguicidas en los alimentos más comunes, los cuales garantizan que el riesgo a corto y a largo plazo sea insignificante para la gran mayoría de los consumidores; sin embargo, diversos estudios (p. ej., Thompson y Darwish 2019) destacan que la contaminación por sustancias provenientes del ambiente es un problema mundial importante de inocuidad alimentaria y que incluso a dosis muy bajas estos pesticidas pueden representar una grave amenaza para la salud.

Estudios sobre el consumo de probióticos, en particular especies del género *Lactobacillus*, han demostrado que estas bacterias disminuyen la absorción y toxicidad de plaguicidas organofosforados como el malatión (Trinder et al. 2016) e influyen en las funciones fisiológicas del hospedador 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 permiten inferir que su ingesta podría ofrecer un 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 presente estudio para identificar las especies probióticas de *Lactobacillus* que puedan ser resistentes a dosis bajas del malatión.

Los resultados obtenidos muestran que la resistencia a malatión entre especies de *Lactobacillus* es diferente y varía de acuerdo con la concentración a la que son expuestas. De las ocho especies investigadas, *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 y el crecimiento de *L. salivarium* se vio afectado ante las concentraciones más bajas del pesticida.

Esto podría indicar que lo mismo ocurre con las especies que se desarrollan en el intestino del hombre, lo cual nos conduciría a sugerir el uso de probióticos para controlar o contrarrestar los posibles efectos tóxicos y comorbilidades ocasionadas por el consumo crónico de plaguicidas presentes en los alimentos, ya que la exposición a éstos a través de sus residuos no puede evitarse por completo. En este sentido, los controles efectuados por la FDA (2017), descritos

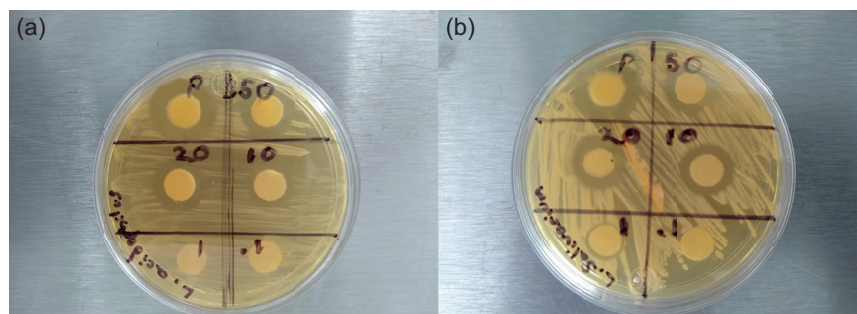


Fig. 2. Resistencias representativas de *Lactobacillus acidophilus* (a) y *Lactobacillus salivarius* (b) a diversas concentraciones de malatión (83.6, (50), (20), (10), (1) y (0.1) %), mediante la técnica de Kirby-Bauer.

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, ya sea por exceso de residuos o bien por haberse detectado la presencia de un plaguicida no autorizado para ese producto alimentario.

Diversos autores concuerdan en que algunos microorganismos pueden utilizar los plaguicidas organofosforados como fuente de carbono y fósforo (Subramanian et al. 1994, Zhang et al. 2014) y que las enzimas aisladas de estos microorganismos, como la carboxilesterasa y la fosfatasa, presentes en *Lactobacillus*, pueden reducir las concentraciones de estos compuestos y por lo tanto sus efectos tóxicos (Zhou y Zhao 2015, Trinder et al. 2016).

Nuestros resultados concuerdan con investigaciones previas en las que se han utilizado bacterias acidolácticas, entre ellas *L. casei* y *L. plantarum*, para disminuir las concentraciones de diversos plaguicidas organofosforados en leche descremada (Zhao y Wang 2012, Zhang et al. 2014, Zhou y Zhao 2015).

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 probablemente la resistencia de *Lactobacillus* spp. a distintas concentraciones de malatión dependa de la cantidad de fosfatasa y carboxilesterasa producida por cada especie.

Cabe mencionar que 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; asimismo, la concentración más baja empleada en el estudio (0.1 %) supera el límite máximo de residuos (LMR) permitido en alimentos y en algunos casos es mayor a concentraciones utilizadas en estudios previos. Sin embargo, no consideramos necesario realizar pruebas de resistencia a concentraciones más bajas, dado que las ocho especies de lactobacilos evaluadas fueron resistentes a esta concentración.

Hoy en día existe un interés creciente por 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 por 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 et al. 2020, Gupta et al. 2020).

Nuestro estudio puede conducir a la caracterización del potencial de diversas especies de *Lactobacillus* spp. resistentes al malatión (y probablemente a otros plaguicidas organofosforados) para contrarrestar los efectos del consumo de alimentos contaminados con plaguicidas, mediante el estudio de un modelo in vivo que demuestre la utilidad de este género de bacterias probióticas.

Aunque el objetivo fundamental de la presente investigación es determinar la resistencia de *Lactobacillus* spp. a malatión, se sugiere determinar la resistencia de diversas especies de microorganismos probióticos a plaguicidas organofosforados, con el fin de contrarrestar los efectos a la salud y las comorbilidades asociadas al consumo de alimentos contaminados con residuos de estos compuestos.

CONCLUSIONES

No todos los individuos del género *Lactobacillus* presentan la misma resistencia a las concentraciones de malatión, las cuales varían de acuerdo con la especie. Siete especies de *Lactobacillus* (*L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. casei*, *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. reuteri* y *L. rhamnosus*) podrían presentar un efecto benéfico ante el consumo de alimentos contaminados con residuos de malatión y otros plaguicidas organofosforados.

La evaluación de la resistencia de *Lactobacillus* spp. a las diferentes concentraciones de malatión 1000 permitirá seleccionar aquellas especies que tengan posible actividad protectora ante el consumo de residuos de plaguicidas; sin embargo, se requieren estudios in vivo para validar sus efectos benéficos.

REFERENCIAS

- Arab S.A., Nikraves 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>
- 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>
- 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>
- 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>
- FDA (2017). Summary of pesticide residues in domestic surveillance and import samples of animal food and animal food ingredients during fiscal year 2017. U.S Food and Drug Administration. New Hampshire, EUA, 55 pp.
- 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.
- 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>
- 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>
- Hudzicki J. (2009). Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol. American Society for Microbiology, Washington, D.C., EUA, 23 pp.
- Jalili C., Farzaei M.H., Roshankhah S. y Salahshoor M.R. (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
- 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>
- Khalili L., Alipour B., Asghari Jafarabadi M., Hassanailou 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) 1-9 pp. <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>
- 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>
- 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>
- 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-Payastre 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>
- 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>
- 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>
- 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>
- 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>
- 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.
- Reiner K. (2010). Catalase test protocol. American Society for Microbiology, Washington, D.C., EUA, 9 pp.
- 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>
- Serra J. (2016). Microbiota intestinal. *Atención Primaria* 48 (6), 345-346 <https://doi.org/10.1016/j.aprim.2016.04.003>
- 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>
- 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>
- 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>
- 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>
- 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.
- 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>
- Zahirnia A., Boroomand M., Nasirian H., Soleimani S., Salehzadeh A. y Dastan D. (2019). The cytotoxicity of malathion and essential oil of *Nepeta crispa* (Lamiaceae) against vertebrate and invertebrate cell lines. *Pan African Medical Journal* 33, 285. <https://doi.org/10.11604/pamj.2019.33.285.18776>
- 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>