VOLUMEN 48
XXXI Verano De la Ciencia
ISSN 2395-9797
www.jovenesenlaciencia.ugto.mx

Caracterización histopatológica del intestino delgado porcino y su posible asociación con lesiones compatibles con bacterias entéricas de importancia veterinaria

Histopathological Characterization of the Porcine Small Intestine and Its Potential Association with Lesions Consistent with Enteric Bacterial Infections of Veterinary Importance

María del Sagrario Caroline Arteaga Domínguez[1], Juan Antonio de Jesús Sánchez Álvarez[1], Daniella Medina Ruiz[2], Elena Franco-Robles Elena [3,4*]

[1]Programa Educativo de Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia. División de Ciencias de la Vida. Campus Irapuato-Salamanca. Universidad de Guanajuato. [2]Departamento de Ciencias Ambientales. División de Ciencias de la Vida. Campus Irapuato-Salamanca. Universidad de Guanajuato. [3]Departamento de Veterinaria y Zootecnia. División de Ciencias de la Vida. Campus Irapuato-Salamanca. Universidad de Guanajuato. [4]Maestría Interinstitucional en Producción Pecuaria. División de Ciencias de la Vida. Campus Irapuato-Salamanca. Universidad de Guanajuato. e.franco@ugto.mx

Resumen

Las enfermedades entéricas bacterianas representan una de las principales causas de pérdidas económicas en la producción porcina debido a su impacto sobre la salud intestinal y el desempeño productivo de los animales. El presente estudio tuvo como objetivo caracterizar histopatológicamente la mucosa del intestino delgado porcino y comparar los hallazgos observados con las lesiones descritas para bacterias entéricas de importancia veterinaria. Se obtuvieron muestras de duodeno, yeyuno e íleon de cerdos sacrificados en el Rastro Municipal de Irapuato, Guanajuato. Los tejidos fueron fijados en formalina al 10 %, procesados mediante la técnica histológica convencional, incluidos en parafina, cortados a 5 µm y teñidos con hematoxilina y eosina para su evaluación microscópica. El análisis histológico mostró una arquitectura mucosa conservada en los tres segmentos intestinales, con vellosidades y criptas de Lieberkühn bien organizadas y sin evidencia de hiperplasia de criptas, necrosis, ulceración o destrucción epitelial. El principal hallazgo consistió en un incremento leve a moderado de la celularidad de la lámina propia, compatible con una respuesta inflamatoria inespecífica de baja intensidad. Aunque algunos cambios macroscópicos observados en el íleon podrían corresponder a procesos entéricos bacterianos, las alteraciones microscópicas identificadas no fueron suficientes para asociarlas con lesiones características de *Lawsonia intracellularis*, *Salmonella enterica* o *Escherichia coli*. Estos resultados resaltan la utilidad de la histopatología como herramienta para la evaluación inicial de la mucosa intestinal y la importancia de complementarla con técnicas microbiológicas y moleculares para establecer un diagnóstico etiológico preciso.

Palabras clave: Histopatología intestinal; cerdo de engorda; mucosa intestinal; enteropatías bacterianas; bacterias entéricas.

Introducción

La producción porcina constituye una de las principales actividades pecuarias a nivel mundial y representa una fuente esencial de proteína de origen animal para la población. No obstante, la rentabilidad y sostenibilidad de este sistema productivo se ven afectadas por diversas enfermedades infecciosas, entre las que destacan las enfermedades entéricas, responsables de importantes pérdidas económicas debido a la disminución de la ganancia de peso, el incremento en la mortalidad, la reducción de la eficiencia alimenticia y los costos asociados a su prevención y tratamiento[1,2]. El intestino delgado participa fundamentalmente en los procesos de digestión, absorción de nutrientes y defensa inmunológica. La integridad de su mucosa es indispensable para mantener la homeostasis intestinal y el adecuado desempeño productivo de los animales. Diversos agentes bacterianos alteran la arquitectura normal de la mucosa intestinal mediante mecanismos que inducen inflamación, hiperplasia, necrosis o daño epitelial, generando cambios morfológicos que pueden

VOLUMEN 48
XXXI Verano De la Ciencia
ISSN 2395-9797
www.jovenesenlaciencia.ugto.mx

ser identificados mediante el análisis histopatológico[1]. Entre las bacterias entéricas de mayor importancia en la producción porcina se encuentran *Lawsonia intracellularis*, *Salmonella enterica* y *Escherichia coli*. *Lawsonia intracellularis* es el agente causal de la enteropatía proliferativa porcina, enfermedad caracterizada por hiperplasia de las criptas intestinales, engrosamiento de la mucosa y disminución de la maduración de los enterocitos, afectando principalmente el íleon de cerdos en crecimiento y finalización[3]. Por su parte, *Salmonella enterica* produce lesiones inflamatorias y necróticas que comprometen la mucosa intestinal y representa además un importante agente zoonótico debido a su potencial de transmisión a los seres humanos mediante alimentos contaminados. En tanto, las cepas patógenas de *Escherichia coli*, particularmente las enterotoxigénicas, ocasionan alteraciones funcionales y estructurales del epitelio intestinal asociadas con diarrea neonatal y postdestete, afectando significativamente el desempeño productivo de los animales[4]. Si bien el diagnóstico definitivo de estas enfermedades requiere pruebas microbiológicas y moleculares específicas, la evaluación histopatológica constituye una herramienta fundamental para reconocer alteraciones compatibles con procesos infecciosos y orientar el diagnóstico diferencial. La observación de lesiones como hiperplasia de criptas, atrofia y fusión de vellosidades, infiltrado inflamatorio, congestión vascular, edema y necrosis proporciona información valiosa sobre la naturaleza y evolución de los procesos patológicos, especialmente cuando se correlaciona con las características descritas para los principales agentes bacterianos entéricos. Por lo tanto, el objetivo de este estudio es caracterizar histopatológicamente las lesiones presentes en duodeno, yeyuno e íleon de cerdos sacrificados en un rastro municipal mediante tinción de hematoxilina-eosina, describiendo las alteraciones morfológicas observadas y correlacionándolas con las lesiones histopatológicas reportadas para *Lawsonia intracellularis*, *Salmonella enterica* y *Escherichia coli*, con el fin de identificar hallazgos compatibles con procesos bacterianos entéricos de importancia veterinaria.

Materiales y métodos

Obtención de la muestra

La recolección del material biológico se llevó a cabo en las instalaciones del Rastro Municipal de Irapuato, ubicado en la carretera federal 90 libre (Irapuato, Guanajuato). Se obtuvieron muestras de intestino delgado (duodeno, yeyuno e íleon) procedentes de 20 cerdos, cortando segmentos de aproximadamente 10 cm por cada porción intestinal. Posteriormente, los fragmentos se lavaron con agua corriente y solución tampón fosfato (PBS 1X) para retirar el contenido luminal, se perfundieron con formalina al 10% y se depositaron en contenedores de 100 ml con solución de formol al 10% para su conservación inicial y traslado al laboratorio, donde se mantuvieron en fijación hasta cumplir un periodo de 24 horas, como se indica en la Figura 1.

VOLUMEN 48
XXXI Verano De la Ciencia
ISSN 2395-9797
www.jovenesenlaciencia.ugto.mx

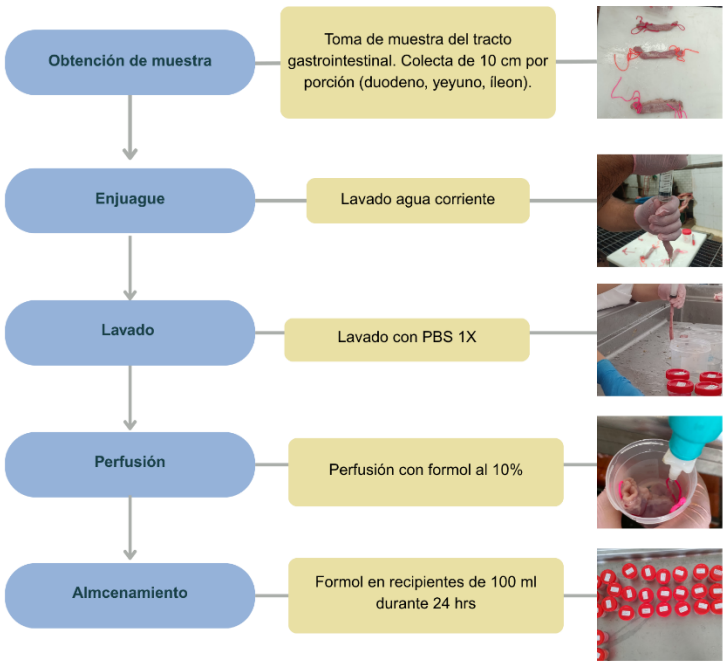


Figura 1. Diagrama de obtención de muestra.

Técnica Histológica

El procesamiento y evaluación de las muestras se realizaron en el Laboratorio de Diagnóstico Clínico Veterinario del Departamento de Veterinaria y Zootecnia, perteneciente a la División de Ciencias de la Vida (DICIVA), Campus Irapuato-Salamanca de la Universidad de Guanajuato, ubicado en la Ex-Hacienda El Copal Km 9, carretera Irapuato-Silao, C.P. 36500, Irapuato, Guanajuato. Transcurridas las 24 horas, se obtuvieron cortes de 2 cm^2 a partir de los segmentos previamente fijados de cada porción intestinal y se enjuagaron con agua corriente para eliminar el exceso de fijador. Posteriormente, los tejidos se sometieron a un proceso de deshidratación gradual en concentraciones crecientes de etanol (90%, 96% y 100%) durante 30 minutos en cada etanol. La clarificación del tejido se realizó mediante inmersión en xilol bajo agitación en un oscilador durante un lapso de 20 a 30 minutos por cambio. La impregnación se llevó a cabo sumergiendo los tejidos en parafina líquida a 65 °C en dos recipientes consecutivos durante 2 horas en cada uno, procediendo finalmente a la confección de bloques empleando parafina fundida a la misma temperatura. Concluido el procesamiento, se realizaron cortes tisulares a un grosor de 5 µm mediante un micrótomo. Las secciones obtenidas se sometieron a la técnica de tinción convencional con Hematoxilina y Eosina (H&E). Finalmente, la evaluación histológica de las preparaciones se llevó a cabo mediante microscopía óptica a magnificaciones de 4X, 40X y 100X (Figura 2).

VOLUMEN 48
XXXI Verano De la Ciencia
ISSN 2395-9797
www.jovenesenlaciencia.ugto.mx

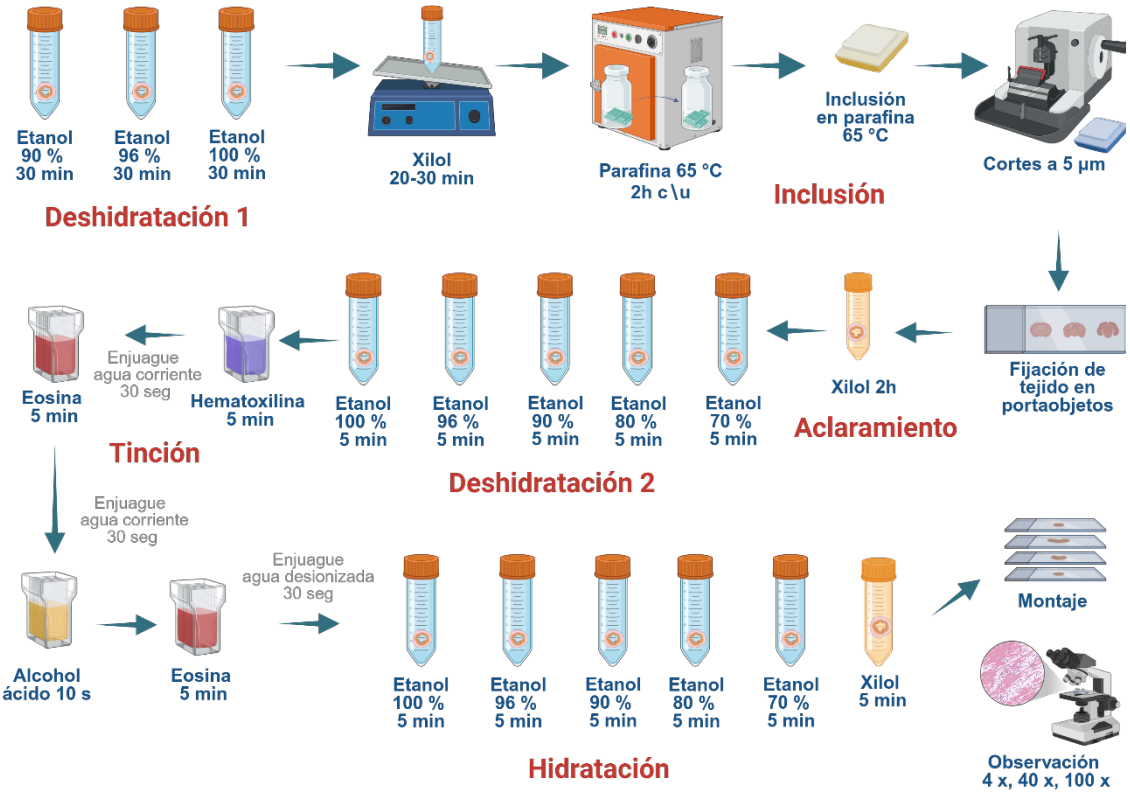


Figura 2. Esquema del procesamiento histológico realizado para las muestras de duodeno, yeyuno e íleon porcinos. El procedimiento incluyó la deshidratación en concentraciones crecientes de etanol, aclaramiento con xilol, inclusión en parafina, obtención de cortes de 5 µm de espesor, montaje en portaobjetos, tinción con hematoxilina y eosina (H&E), seguida de un nuevo proceso de deshidratación, aclaramiento y montaje permanente para su evaluación microscópica a 4×, 40× y 100×.

Resultados

En la Figura 3 se observa la arquitectura intestinal conservada del duodeno, caracterizada por vellosidades largas y bien organizadas, criptas de Lieberkühn de morfología regular y continuidad del epitelio intestinal. No se observaron lesiones compatibles con necrosis, ulceración, hiperplasia marcada de criptas ni infiltrado inflamatorio severo. La lámina propria presentó una celularidad mononuclear discreta, considerada compatible con la población inmunológica residente de la mucosa intestinal.

VOLUMEN 48
XXXI Verano De la Ciencia
ISSN 2395-9797
www.jovenesenlaciencia.ugto.mx

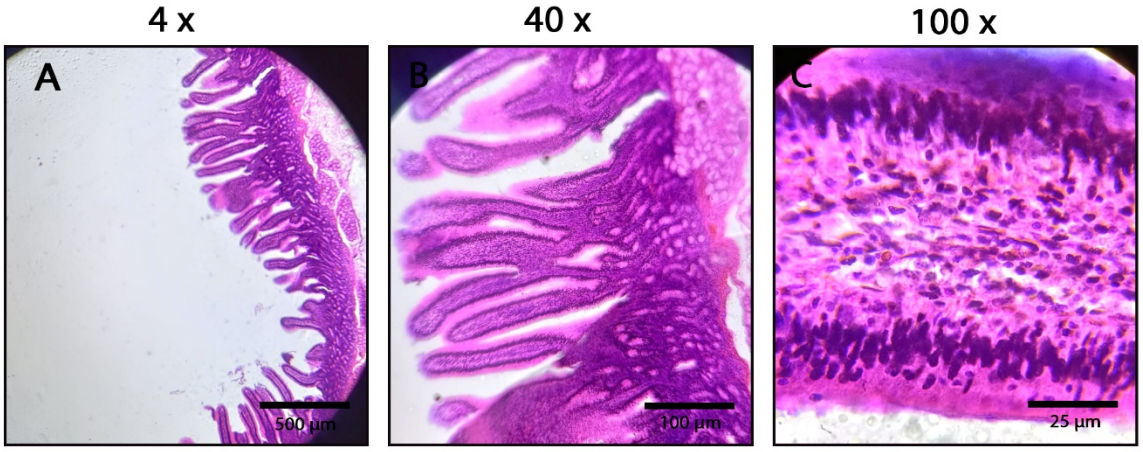


Figura 3. Arquitectura histológica representativa del duodeno de cerdo teñido con hematoxilina y eosina. A. Vista panorámica (4 x) que muestra una arquitectura mucosa conservada, con vellosidades intestinales largas y bien definidas, distribuidas de manera uniforme sobre la superficie luminal y criptas de Lieberkühn regularmente organizadas. B. Aumento intermedio (40X) donde se observa la organización de las vellosidades, el epitelio cilíndrico simple y la disociación normal de las criptas intestinales, sin alteraciones morfológicas evidentes. C. Mayor aumento (100 x) del epitelio intestinal y la lámina propria, en la que se observa la integridad del revestimiento epitelial y una población discreta de células mononucleares residentes, compatible con la composición inmunológica normal de la mucosa intestinal.

En la figura 4 se observa el análisis histopatológico del duodeno, el cual reveló una arquitectura mucosa conservada, caracterizada por vellosidades intestinales largas y bien definidas, con una adecuada relación vellosidad: cripta y una distribución uniforme de las criptas de Lieberkühn. El epitelio cilíndrico simple permaneció íntegro y no se observaron alteraciones compatibles con necrosis, ulceración o hiperplasia de criptas. A mayor aumento, la lámina propria presentó una discreta población de células mononucleares, considerada compatible con la celularidad inmunológica residente de la mucosa intestinal.

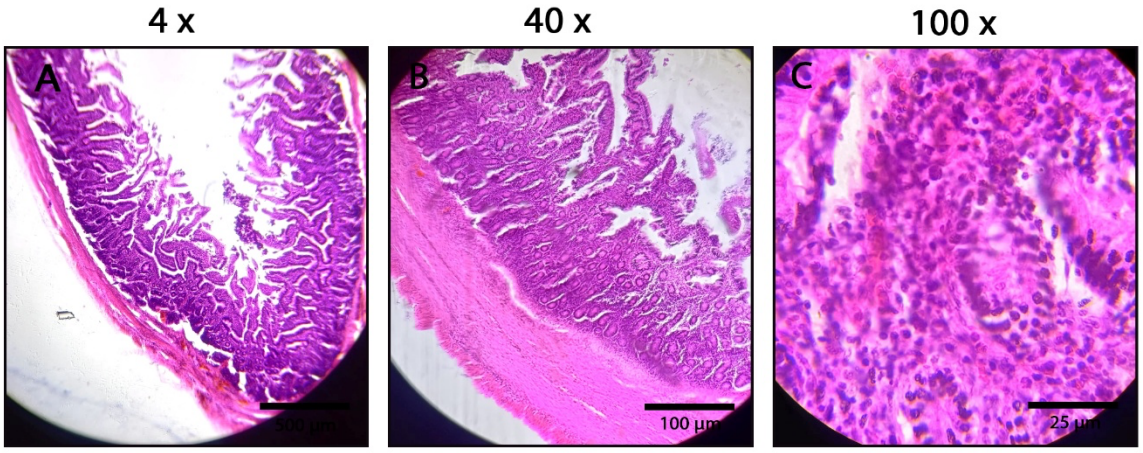


Figura 4. Arquitectura histológica representativa del yeyuno de cerdo teñido con hematoxilina y eosina. A. Vista panorámica (4X) que muestra una arquitectura intestinal conservada con vellosidades bien definidas y distribución uniforme de las criptas de Lieberkühn. B. Aumento intermedio (40 x) donde se aprecia la organización de la mucosa yeyunal, con criptas y vellosidades conservadas, así como un discreto incremento de la celularidad en la lámina propria. C. Mayor aumento (100 x) del epitelio intestinal y la lámina propria, evidenciando un infiltrado mononuclear leve sin alteraciones evidentes del revestimiento epitelial ni necrosis tisular.

El análisis histopatológico del íleon mostró una arquitectura mucosa generalmente conservada, con vellosidades intestinales de morfología regular y criptas de Lieberkühn bien organizadas. La lámina propia presentó un incremento leve a moderado del infiltrado inflamatorio mononuclear en comparación con el duodeno, sin evidencia de necrosis, ulceración o destrucción del epitelio superficial. Tampoco se observaron

VOLUMEN 48
XXXI Verano De la Ciencia
ISSN 2395-9797
www.jovenesenlaciencia.ugto.mx

alteraciones compatibles con hiperplasia marcada de las criptas ni engrosamiento importante de la mucosa. En conjunto, los hallazgos fueron compatibles con un proceso inflamatorio leve de la mucosa intestinal (Figura 5).

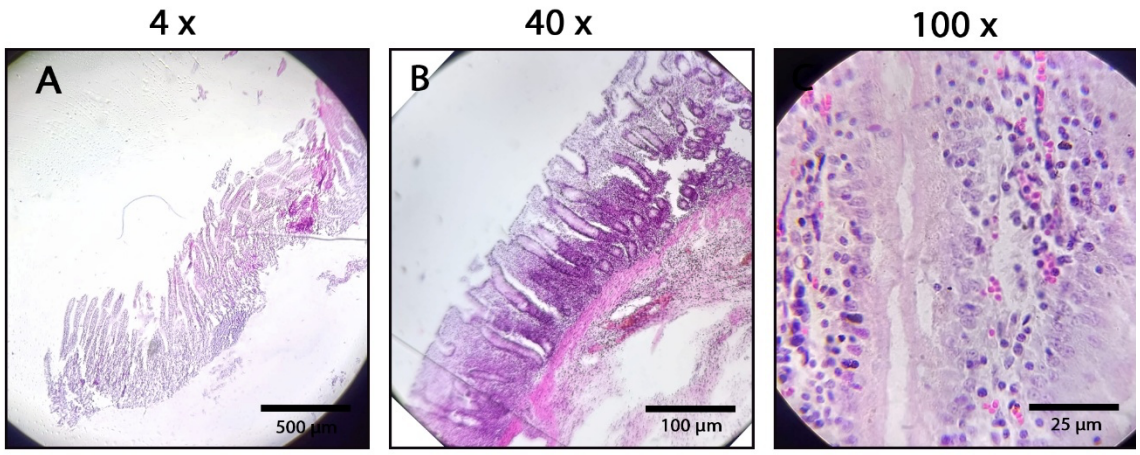


Figura 5. Arquitectura histológica representativa del íleon de cerdo teñido con hematoxilina y eosina. A. Vista panorámica (4X) de la mucosa ileal, donde se observa una arquitectura general conservada con vellosidades intestinales bien definidas y distribución uniforme de las criptas. B. Aumento intermedio (40 x) donde se muestra la organización de las vellosidades y las criptas de Lieberkühn. C. Detalle histológico a 100 x del epitelio intestinal y la lámina propria, donde se observa un infiltrado inflamatorio mononuclear leve a moderado, sin evidencia de necrosis, ulceración ni hiperplasia marcada de las criptas.

La figura 6 muestra el análisis histopatológico de las muestras de duodeno, yeyuno e íleon reveló una arquitectura general conservada de la mucosa intestinal en los tres segmentos evaluados. Las vellosidades y las criptas de Lieberkühn mantuvieron su organización normal, sin evidencia de hiperplasia, necrosis, ulceración ni destrucción glandular. El principal hallazgo consistió en un incremento leve a moderado de la celularidad de la lámina propia, más evidente en las muestras de yeyuno e íleon, compatible con una respuesta inflamatoria crónica de baja intensidad. No se identificaron alteraciones histológicas específicas que permitieran asociar las lesiones con alguno de los principales agentes bacterianos entéricos descritos en cerdos.

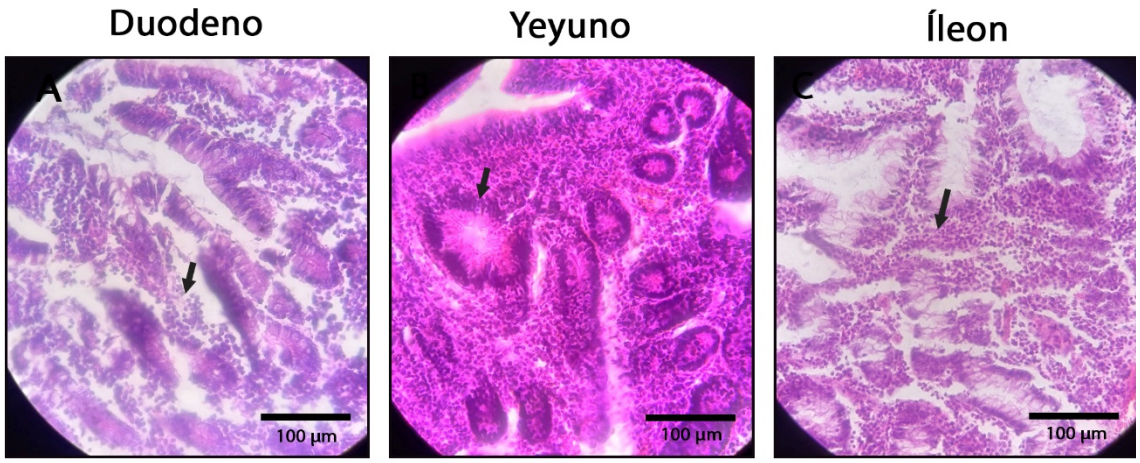


Figura 6. Hallazgos histopatológicos representativos del intestino delgado porcino teñido con hematoxilina y eosina. (A) Duodeno con incremento leve de la celularidad de la lámina propia entre las vellosidades. (B) Yeyuno con incremento moderado de la celularidad alrededor de las criptas de

Lieberkühn y conservación de la arquitectura mucosa. (C) Íleon con incremento leve a moderado de la celularidad de la lámina propia asociado a vellosidades conservadas. En ninguno de los segmentos se observaron lesiones proliferativas, necrosis, ulceración o hiperplasia de las criptas. Las flechas indican las áreas con incremento de la celularidad.

Discusión

El análisis histopatológico de las muestras de intestino delgado porcino permitió identificar una arquitectura intestinal predominantemente conservada, con presencia de alteraciones microscópicas leves en algunos segmentos evaluados. Mediante la tinción de hematoxilina-eosina se observaron cambios poco significativos relacionados principalmente con variaciones en la celularidad de la lámina propia y modificaciones ligeras en la organización de la mucosa intestinal. La baja intensidad de las lesiones sugiere que los animales evaluados no presentaban procesos entéricos severos al momento del muestreo; sin embargo, estos hallazgos no descartan la presencia de procesos subclínicos o infecciones en etapas tempranas, donde la respuesta tisular puede ser limitada.

Las alteraciones inflamatorias leves observadas pueden representar una respuesta inespecífica de la mucosa intestinal ante estímulos antigénicos provenientes de la microbiota residente o microorganismos potencialmente patógenos. La interacción constante entre el epitelio intestinal y la microbiota influye directamente en la homeostasis de la barrera intestinal, por lo que modificaciones discretas en la mucosa pueden presentarse sin que exista necesariamente una enfermedad clínica evidente. La evaluación histológica debe considerar la intensidad, distribución y características de las lesiones antes de establecer una relación directa con un agente etiológico específico (Benton *et al.,* 2023).

Aunque los cambios microscópicos fueron escasos, los hallazgos macroscópicos identificados en el íleon, particularmente la presencia de fibrosis y petequias, representan lesiones de interés debido a la susceptibilidad de este segmento intestinal a diversas enteropatías bacterianas. El íleon constituye el principal sitio de colonización de *Lawsonia intracellularis,* bacteria intracelular obligada asociada con la enteropatía proliferativa porcina. Esta enfermedad presenta diferentes grados de expresión, desde infecciones subclínicas con lesiones discretas hasta cuadros crónicos caracterizados por engrosamiento de la pared intestinal, alteración de la arquitectura mucosal y procesos de remodelación tisular asociados con fibrosis (Vannucci & Gebhart, 2017; McOrist & Gebhart, 2021).

Las lesiones macroscópicas compatibles con fibrosis ileal pueden relacionarse con presentaciones crónicas de la infección por *L. intracellularis,* donde la proliferación persistente de enterocitos y la respuesta inflamatoria local favorecen cambios estructurales en la pared intestinal. Asimismo, las petequias observadas en la mucosa pueden asociarse con procesos hemorrágicos descritos en formas más agudas de enteropatía proliferativa, donde existe daño vascular, congestión y alteración de la integridad mucosal (Collins *et al.,* 2018). No obstante, debido a que estas lesiones no son exclusivas de un único agente, deben interpretarse dentro de un diagnóstico diferencial que incluya otras bacterias entéricas.

Entre los principales agentes diferenciales se encuentra *Salmonella enterica*, bacteria capaz de producir alteraciones intestinales variables dependiendo del serotipo involucrado, la carga bacteriana y la respuesta inmunitaria del hospedador. Las infecciones por Salmonella en porcinos pueden generar inflamación de la mucosa, daño epitelial y lesiones hemorrágicas en cuadros de mayor severidad (Burrough et al., 2019). Además, se ha demostrado que la infección temprana por *Salmonella Typhimurium* puede modificar la composición de la microbiota intestinal antes de la aparición de lesiones histológicas evidentes, indicando que pueden existir alteraciones funcionales o inmunológicas sin cambios microscópicos marcados (Argüello et al., 2018). Sin embargo, en los animales evaluados, no se presentaron lesiones significativas que pudieran asociarse con la presencia de este patógeno.

Por otra parte, *Escherichia coli* constituye otro agente relevante dentro de las enfermedades entéricas porcinas. La capacidad de producir daño intestinal depende de la presencia de factores de virulencia relacionados con adhesión bacteriana, producción de toxinas y alteración de la barrera epitelial. Las cepas

patógenas pueden ocasionar diferentes grados de inflamación y lesión intestinal; sin embargo, la identificación del agente no puede establecerse únicamente mediante la observación histológica debido a que los cambios pueden ser inespecíficos (Fairbrother *et al*., 2002; Sukalić *et al*., 2019).

La diferencia entre la intensidad de los hallazgos macroscópicos y los cambios microscópicos observados puede explicarse por la naturaleza dinámica de los procesos entéricos. Las lesiones intestinales pueden variar dependiendo del momento de infección, la distribución focal del agente, la respuesta inmunitaria individual y la fase de evolución del proceso. Por ello, la ausencia de lesiones histológicas severas no excluye completamente la posibilidad de exposición o infección por bacterias entéricas.

Además, factores asociados al manejo previo al sacrificio pueden influir sobre la integridad intestinal. El estrés ocasionado por cambios ambientales, transporte o manejo puede modificar la función de barrera intestinal y favorecer alteraciones en la respuesta inflamatoria local, incluso sin producir lesiones microscópicas marcadas (Smith *et al*., 2010).

En conjunto, los resultados obtenidos indican que los animales evaluados presentaron una mucosa intestinal mayormente conservada, con alteraciones histológicas leves y lesiones macroscópicas ileales compatibles con procesos entéricos de importancia veterinaria. Aunque la fibrosis y las petequias observadas a nivel macroscópico sugieren la posible participación de agentes bacterianos como *Lawsonia intracellularis*, *Salmonella enterica* o *Escherichia coli*, la confirmación etiológica requiere el apoyo de técnicas complementarias como PCR. La integración de los hallazgos macroscópicos, histológicos y moleculares permitirá una caracterización más precisa de las alteraciones intestinales presentes en poblaciones porcinas.

Conclusión

La evaluación histopatológica permitió determinar que las muestras intestinales presentaron una arquitectura principalmente conservada, con cambios microscópicos leves y lesiones macroscópicas ileales de interés sanitario. La presencia de fibrosis y petequias en íleon es compatible con procesos entéricos bacterianos, particularmente dentro del diagnóstico diferencial de *Lawsonia intracellularis*; sin embargo, la ausencia de lesiones histológicas severas limita establecer una asociación etiológica definitiva. Estos resultados destacan la importancia de complementar la histopatología con herramientas moleculares para una identificación precisa de los agentes involucrados.

Referencias

1. Campillo, M., Smith, S. H., Gally, D. L., & Opriessnig, T. (2021). Review of methods for the detection of Lawsonia intracellularis infection in pigs. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 33(4), 621–631. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33739176/
2. Won, G., Chi, N.-K., & Park, Y. (2022). The effectiveness of commercial vaccination against Lawsonia intracellularis in mitigating the reduction in ADWG, mortality and fecal shedding: A systematic review and meta-analysis. Veterinary Sciences, 9(10), 536. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36288149/
3. Hansen, M. S., Jensen, T. K., Hjulsager, C. K., Angen, Ø., Riber, U., Nielsen, J., Heegaard, P. M. H., & Larsen, L. E. (2022). Experimental infection of high health pigs with porcine circovirus type 2 (PCV2) and Lawsonia intracellularis. Frontiers in Veterinary Science, 9, 994147. https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fvets.2022.994147/full
4. Hankel, J., Sander, S., Muthukumarasamy, U., Strowig, T., Kamphues, J., Jung, K., & Visscher, C. (2022). Microbiota of vaccinated and non-vaccinated piglets under natural Lawsonia intracellularis infection. Frontiers in Veterinary Science, 9, 1004506. https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fvets.2022.1004506/full
5. Argüello, H., Sørensen, G., Carvajal, A., Baggesen, D. L., & Rubio, P. (2018). Early *Salmonella Typhimurium* infection in pigs disrupts microbiome composition. *Scientific Reports, 8*, 7788. https://doi.org/10.1038/s41598-018-26109-1
6. Burrough, E. R., Arruda, B. L., & Plummer, P. J. (2019). Salmonella infections in swine: Pathogenesis and diagnostic approaches. *Veterinary Microbiology, 239*, 108115. https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2019.108115
7. Collins, A. M., Love, R. J., Pozo, J., Smith, S. H., & McOrist, S. (2018). Advances in *Lawsonia intracellularis* research: Pathogenesis, diagnosis and control. *Frontiers in Veterinary Science, 5*, 181. https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00181
8. Fairbrother, J. M., Nadeau, E., & Gyles, C. L. (2002). *Escherichia coli* in postweaning diarrhea in pigs: An update. *Veterinary Research, 33*(5), 467–487. https://doi.org/10.1051/vetres:2002037

9. McOrist, S., & Gebhart, C. J. (2021). Pathogenesis of proliferative enteropathy caused by *Lawsonia intracellularis*. *Journal of Comparative Pathology, 184*, 37–44. https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2020.12.003
10. Schulze Holthausen (2022). Submucosal lymphoid clusters in porcine intestine. *Developmental & Comparative Immunology, 128*, 104112.
11. Smith, F., Clark, J. E., Overman, B. L., Tozel, C. C., Huang, J. H., Rivier, J. E. F., Blikslager, A. T., & Moeser, A. J. (2010). Early weaning stress impairs development of mucosal barrier function in the porcine intestine. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology, 298*(3), G352–G363. https://doi.org/10.1152/ajpgi.00081.2009
12. Sukalić, T., Dobranić, V., Kovačević, D., Šuran, J., & Pavičić, Ž. (2019). Virulence genes of pathogenic *Escherichia coli* in piglets. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 9*, 116. https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00116
13. Vannucci, F. A., & Gebhart, C. J. (2017). Recent advances in *Lawsonia intracellularis* research. *Veterinary Pathology, 54*(4), 546–558. https://doi.org/10.1177/0300985817704780