Evaluación de la función pancréatica exocrina en el gato mediante análisis coprológicos

Rosario Lucena Solís*
Pedro J. Ginel Pérez*
Rocío López Rodríguez*
Manuel Novales Durán*
Eva Martín Suárez*
José Mª Molleda Carbonell*

Abstract

Serum TLI (Trypsin-like-immunoreactivity) determination for the diagnosis of exocrine pancreatic insufficiency in the cat remains as an experimental technique; thus, coprologic analyses are still required to make a diagnosis of exocrine pancreatic insufficiency in this species. For this purpose, concentrations of steatorrea, amylorrea, creatorrea and of fecal amylase and trypsine in normal cats are required. Three fecal samples obtained during three consecutive days from 36 healthy cats were studied. Steatorrea, amylorrea and creatorrea levels were determined by microscopic analysis after Sudan III and lugol's iodine staining, respectively. Fecal amylase and trypsine were detected by radial enzyme diffusion. Results of every parameter were highly variable (0-187 fat droplets/10 fields and 0-23 muscle fibers/10 field. Starch granules were not found in most of the cats; fecal amilase ranged from 4 to 17 mm and fecal tripsine from 4 to 18 mm), and all of these parameters should be considered to confirm a diagnosis. Fecal amylase and trypsine values lower than 7 mm with higher fat, starch and muscle fibers levels are indicative of exocrine pancreatic insufficiency. Doubtful results would require a new fecal analysis after a three day diet with high content of fat, proteins and starch to assess pancreatic function.

Key words: Exocrine pancreatic insufficiency, Cat, Diagnosis.

Resumen

La determinación sérica de TLI (*Trypsin-like-immunoreactivity*) para el diagnóstico de la insuficiencia pancreática exocrina en el gato, sólo se ha desarrollado recientemente y de forma experimental, de ahí que su diagnóstico en esta especie aún deba basarse en la realización de análisis coprológicos. Para ello es fundamental el conocimiento

Recibido el 21 de abril de 1997 y aceptado el 13 de noviembre de 1997.

^{*} Departamento de Patología Clínica Veterinaria, Hospital Clínico Veterinario, Campus Rabanales, Carretera Madrid-Cádiz, Km 396, 14014, Córdoba, España.

de las concentraciones de esteatorrea, creatorrea y amilorrea, así como de amilasa y tripsina fecales en gatos sanos. Se estudiaron muestras fecales durante tres días consecutivos de 36 gatos sanos. Las concentraciones de esteatorrea, creatorrea y amilorrea se determinaron mediante exámenes microscópicos de las heces tras su tinción con Sudán III y con lugol iodado, respectivamente. La amilasa y tripsina fecales se determinaron mediante difusión radial en agar. Todos estos parámetros mostraron aisladamente gran variabilidad (0-187 glóbulos de grasa/10 campos; 0-23 fibras musculares/10 campos: en la mayoría de los gatos no se observó almidón; la amilasa fecal osciló entre 4 y 17 mm y la tripsina entre 4 y 18 mm) lo que condujo a su estudio conjunto para su correcta interpretación. Los valores de amilasa y de tripsina fecales inferiores a 7 mm junto con la presencia de cantidades elevadas de grasa, almidón y fibras musculares en heces se consideraron indicativos de insuficiencia pancreática. Los resultados dudosos requerirán la repetición de las pruebas tras la administración previa, durante al menos tres días, de una dieta con alto contenido en grasa, proteínas y almidón.

Palabras clave: Insuficiencia pancreática exocrina, Gato, Diagnóstico.

La insuficiencia pancreática exocrina (IPE) se define como la deficiencia en la producción de las enzimas pancreáticas necesarias para la digestión de los nutrimentos. Su desarrollo requiere que al menos entre 85%-90% del parénquima pancreático se encuentre dañado. ^{1,2}

Hasta ahora el diagnóstico de la insuficiencia pancreática exocrina en el hombre y en el perro, sujetos en los que la enfermedad es muy frecuente, se realizaba en función de la clínica y de los exámenes coprológicos. Estos exámenes consisten en la determinación de esteatorrea, amilorrea y creatorrea, así como de las concentraciones de amilasa y tripsina fecales. 1,3,4,5 Sin embargo, la determinación de estos parámetros quedó relegada cuando se estableció la determinación sérica de la TLI (*Trypsin-like-immunoreactivity*), parámetro que es especie-específico. 2,3,6

En la especie felina, la aparente reducida incidencia de insuficiencia pancreática condujo a que su diagnóstico no se desarrollase al mismo nivel. Sin embargo, los exámenes post mortem respecto de alteraciones pancreáticas felinas han mostrado una incidencia superior a la esperada. Su reducida presentación obedecía, pues, a la forma vaga de presentación de estas alteraciones y a la falta de pruebas sensibles y específicas para su diagnóstico en el gato.²

Recientemente se ha desarrollado, aunque sólo experimentalmente, la determinación de la TLI sérica felina⁶. Por ello, el diagnóstico de la insuficiencia pancreática en esta especie aún debe basarse en la realización de exámenes coprológicos. El conocimiento de los parámetros fecales en gatos sanos es requisito indispensable para su interpretación. El propósito de este estudio ha sido establecer el rango de glóbulos de grasa, fibras musculares, almidón, amilasa y tripsina fecales en una población de gatos clínicamente sanos.

Población

Se contó con una población de 36 gatos clínicamente sanos, de edades comprendidas entre los 2 meses y los 7 años, de diferentes razas (22 gatos Europeos, 10 Siameses y 4 Persas), siendo 19 machos y 17 hembras. Todos los gatos tenían libre acceso a la comida durante todo el día, ésta consistió tanto en alimento seco como comida enlatada, casera o una combinación de todos ellos. En 25 de los gatos analizados el estado de vacunación y de desparasitación era el adecuado, mientras que en el resto era incompleto o se desconocía.

Toma de muestras

Para el presente estudio, se controló la dieta de los gatos de modo que la alimentación, 7 días antes y durante los tres días de recogida, permaneciera constante. Se tomó una muestra diaria de heces de cada gato durante tres días seguidos, recogiéndolas por separado y manteniéndolas refrigeradas hasta su determinación. El análisis coprológico se realizó el último día de la toma de muestras.

Examen microscópico de las heces

Se preparó una suspensión con 50 g de heces en 2-3 ml de suero fisiológico. La posible presencia de esteatorrea se detectó mediante la adición, a una muestra de la suspensión de heces, de una gota de una solución de Sudán III, observándose los glóbulos de grasa teñidos de color anaranjado. La creatorrea y amilorrea se hicieron evidentes añadiendo 1-2 gotas de una solución de lugol iodado a una muestra de heces, de modo que las fibras musculares adquirieron una coloración amarillo-marrón y el almidón aparecía como gránulos violáceos. Se examinaron 10 campos de 10 aumentos elegidos al azar y se contó el número de glóbulos de grasa y de fibras musculares en cada campo. 1,5,6 La presencia de almidón se cuantificó mediante una escala discontinua según el criterio de los autores (-: no almidón; +: 1-5 gránulos/ 10 campos; ++: 5-20 gránulos/10 campos; +++: >20gránulos/10 campos).

En todos los casos se realizaron técnicas de flotación y sedimentación de heces para descartar la presencia de parásitos intestinales.

Cuadro 1

ÍNDICES DESCRIPTIVOS DE LA DISTRIBUCIÓN DE LA PRESENCIA DE GRASA, MÚSCULO, ALMIDÓN Y DE LOS VALORES DE AMILASA Y TRIPSINA FECALES DE LAS TRES MUESTRAS DE LOS 36 GATOS SANOS ESTUDIADOS

| Variable | N | Media | D.E. | E.E.M. | Rango | Máx. | Min. |
|----------|-----|--------|--------|--------|---------|---------|-------|
| Grasa | 108 | 23.824 | 30.734 | 2.957 | 187.000 | 187.000 | 0.000 |
| Músculo | 108 | 3.870 | 3.704 | 0.356 | 23.000 | 23.000 | 0.000 |
| Amilasa | 108 | 9.324 | 2.590 | 0.249 | 13.000 | 17.000 | 4.000 |
| Tripsina | 108 | 13.037 | 3.734 | 0.359 | 14.000 | 18.000 | 4.000 |
| Amilasa | 36 | 10.347 | 2.532 | 0.422 | 12.000 | 17.000 | 7.000 |
| Tripsina | 36 | 14.306 | 3.371 | 0.251 | 11.000 | 18.000 | 7.000 |

N = 108: total de las muestras; N = 36: valores superiores de amilasa y tripsina de cada gato. D.E.: Desviación estándar; E.E.M.: Error estándar de la media; Máx.: Máximo; Mín.: Mínimo

Determinación de amilasa y tripsina fecales

La determinación de amilasa y tripsina fecales se realizó mediante difusión radial en gel de agar. Para ello se preparó una suspensión de heces al 1:10 en un amortiguador fosfato salino (PBS pH 7.0, 4°C, 11) (8.0 g NaCl, 0.2 g KCl, 0.25 g Na₂HPO₄.2H₂O, 0.2 g KH₂PO₄, 0.1 g CaCl₂, 0.1 g MgCl₂·6H₂O). Tras disolver las heces lo más homogéneamente posible, se centrifugaron a 100 g durante 10 minutos; después se separó el sobrenadante donde quedaron disueltas las enzimas pancreáticas.*

Como testigo positivo de las placas se utilizó una suspensión de enzimas pancreáticas comerciales a base de 50 mg de Pankreon** en 1 ml de PBS. Esta suspensión se homogenizó y centrifugó a 100 g durante 10 minutos, separando y reservando el sobrenadante como fuente de enzimas pancreáticas.

Para la determinación de la amilasa pancreática se disolvió 1 g de agar en 90 ml del amortiguador PBS. Por otro lado, se añadió 1 g de almidón y 0.1 g de azida sódica a 10 ml de amortiguador. Posteriormente se dejó enfriar el agar hasta 65°C y se le añadió la solución de almidón. En cada placa de Petri se añadieron 8 ml del agar y a continuación se dejaron enfriar a temperatura ambiente.

Para la determinación de la tripsina pancreática fecal, se disolvió 1 g de agar en 45 ml de amortiguador PBS, preparándose a su vez una solución con 5 ml de amortiguador, 1 g de caseinato de calcio y 0.1 g de azida sódica. Cuando el agar se encontró listo, se dejó enfriar

hasta 65°C y se le añadió la solución de caseinato. A cada placa de Petri se le añadieron 8 ml de la mezcla de agar y se dejó enfriar a temperatura ambiente.

En el agar solidificado se realizaron de 5 a 7 pocillos de 6 mm de diámetro en cada placa. En cada pocillo tanto de las placas de amilasa como de las de tripsina, se colocaron 20 µl de las muestras problema y se incluyó 20 µl del testigo positivo en cada una de las placas. Después de lo anterior, las placas se incubaron a 37°C durante 19 h tras lo cual aparecieron halos de difusión alrededor de los pocillos. Para la mejor evidencia de los halos, las placas de amilasa se tiñeron con una solución 1:10 de lugol iodado y las de tripsina con una solución de ácido acético al 7%. Las concentraciones de estas enzimas se expresaron en función del diámetro de los halos medidos con lupa graduada, a los cuales se les restó los 6 mm correspondientes al diámetro del pocillo.

Análisis estadístico

Se determinaron los índices descriptivos de la distribución de cada variable, considerando las muestras de cada gato individualmente. Se establecieron grupos en función de la edad, sexo y la presencia de parásitos intestinales y se compararon los parámetros fecales en cada grupo mediante la realización de un análisis de varianza simple. Se seleccionaron los valores superiores de amilasa y tripsina fecales de cada gato y se determinaron los índices descriptivos de los mismos con el fin de establecer el rango normal de concentraciones.

Esteatorrea

El número de glóbulos de grasa en los 10 campos observados por preparación, osciló entre 0 y 187 glóbulos, siendo la media de 23.824 ± 30.734 glóbulos (Cuadro 1).

Laboratory Clinic for Companion Animals, Utrecht, The Netherlands.

^{**} Kalifarma, S.A., Av. Diagonal 507-509, 08029, Barcelona, España.

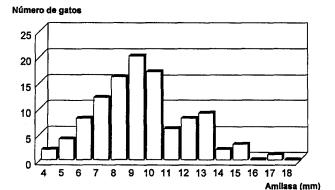


Figura 1: Valores de amilasa fecal, expresados en mm, de cada una de las muestras analizadas de cada gato.

Creatorrea

La presencia de fibras musculares sin digerir en los 10 campos osciló entre 0 y 23 fibras, con una media de 3.870 ± 3.704 fibras (Cuadro 1).

Amilorrea

En la mayoría de los gatos analizados no se hallaron gránulos de almidón fecales. Sólo dos gatos presentaron almidón en las tres muestras analizadas.

Amilasa pancreática fecal

Las concentraciones de amilasa pancreática fecal oscilaron entre 4 y 17 mm (Figura 1), siendo la media de 9.324 ± 2.590 mm (Cuadro 1). Cuando se consideraron las concentraciones superiores de amilasa para cada gato, la media obtenida fue de 10.347 ± 2.532 mm, con un rango de 7 a 17 mm (Cuadro 1).

Tripsina pancreática fecal

Las concentraciones de tripsina fecal oscilaron entre 4 y 18 mm (Figura 2), con un valor medio de 13.037 ± 3.734 mm (Cuadro 1). Cuando se consideraron las concentraciones superiores de tripsina en cada gato, el valor medio encontrado fue de 14.3056 ± 3.371 mm, con un rango que osciló entre 7 y 18 mm (Cuadro 1).

Sólo en 2 de los gatos analizados se observó la presencia de parásitos fecales. Uno de ellos presentaba huevos de Ancylostoma redondos y ooquistes de Isospora felis y el otro huevos de Toxocara cati. Todas las muestras fecales analizadas contenían polen de diferentes clases y en cantidades variables; asimismo, se observaron fibras vegetales en todas las muestras examinadas.

No se encontraron diferencias en cuanto a la presencia de esteatorrea, creatorrea y amilorrea y las concen-

Número de gatos

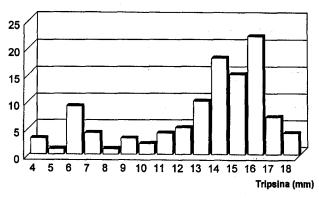


Figura 2: Valores de tripsina fecal, expresados en mm, de cada una de las muestras analizadas de cada gato.

traciones de amilasa y tripsina fecales en función del sexo, ni en función de la presencia o ausencia de parásitos. En cuanto a la edad, se encontraron diferencias significativas para las concentraciones de grasa, amilasa y tripsina, aunque sin importancia desde el punto de vista clínico puesto que todos los valores se encontraron dentro del rango fisiológico. No se encontró correlación entre las concentraciones de tripsina y proteínas musculares ni entre amilasa y almidón.

La insuficiencia pancreática exocrina en el gato suele originarse de forma secundaria a pancreatitis crónicas o asociada a otros procesos sistémicos como infecciones por trematodos (Eurytrema procyonis) u obstrucciones del conducto pancreático por adenocarcinomas con atrofia acinar secundaria. ^{1,2,3,4} Cursa con diarreas crónicas de intestino delgado que se asocian con pérdida de peso y con polifagia, aunque en el gato la forma subclínica es la más frecuente. ^{2,3,5} La deficiencia de enzimas pancreáticas se caracteriza por la aparición de esteatorrea, creatorrea y amilorrea, así como por una reducción en la cantidad de enzimas pancreáticas que se eliminan en las heces. La determinación de todos estos parámetros y su interpretación conjunta resulta útil como método diagnóstico de la insuficiencia pancreática exocrina. ^{3,4}

Existen diversas opiniones en relación al efecto de la dieta sobre los parámetros fecales pero ningún autor ha demostrado que el administrar una dieta determinada, previamente a la determinación de estos parámetros, tenga utilidad diagnóstica alguna. En estudios sobre la función pancreática en perros realizados por Simpson y Doxey,⁶ se administraba una dieta específica previa 3 días antes de la realización de los análisis coprológicos. Sin embargo, estudios similares en gatos mantenían la dieta habitual.^{2,7} Ante estos datos y considerando que el cambio de dieta suele ser mal aceptado por el animal, en este trabajo sólo se controló que la dieta habitual del animal se mantuviese constante 7 días antes de la realización de las pruebas y durante la toma de las muestras.

En este estudio el número de glóbulos de grasa y de fibras musculares de cada muestra fue muy variable (rango 0-187 glóbulos de grasa y 0-23 fibras musculares), no sólo entre gatos sino también en muestras de un mismo gato. La presencia de almidón se detectó de forma esporádica en la mayoría de los casos. La variabilidad de estos parámetros fecales fue también descrita por Simpson y Doxey⁶ en perros. En condiciones normales parte de los nutrimentos son eliminados sin digerir en las heces, encontrándose en mayor o menor medida en función de la cantidad de enzimas producidas por el páncreas. Esta cantidad depende de factores como el tipo de alimentación, de la cantidad de ingesta diaria, del momento del día y del día en concreto, factores responsables de las fluctuaciones de estos parámetros. 6,7,8,9. Sin embargo, esta variabilidad se observó también entre muestras de un mismo animal en las que dichos factores se mantuvieron constantes.

En cuanto a las enzimas pancreáticas, el rango para la amilasa fecal osciló entre 4 mm y 17 mm y el de la tripsina entre 4 mm y 18 mm, observándose variación tanto de un gato a otro como en el mismo gato. No existen estudios que determinen la concentración de amilasa fecal en gatos. Williams et al.8 estudiaron la concentración de tripsina fecal en gatos sanos obteniendo un rango similar e igualmente amplio (3-21 mm). Las concentraciones de las enzimas fecales pueden modificarse, además de por los factores anteriormente mencionados, por la degradación de las bacterias fecales. Esta degradación se produce en mayor o menor medida dependiendo del método de conservación de las muestras y del momento de su análisis.⁶ En este estudio todos los análisis coprológicos se realizaron el último día de tomadas las muestras tras mantenerlas bajo refrigeración un espacio de tiempo similar. De esta forma se reducen las interferencias por la degradación enzimática, especialmente en el caso de la amilasa, más lábil frente a la acción bacteriana.8

La capacidad funcional pancreática de cada animal está representada por las concentraciones máximas de tripsina y amilasa fecal. Por este motivo, se seleccionaron en cada gato los valores superiores de amilasa y de tripsina. El rango normal de la amilasa quedó compren-

dido entre 7 y 17 mm y el de la tripsina entre 7 y 18 mm. Según estos resultados, debe sospecharse una insuficiencia pancreática cuando los valores de amilasa y tripsina fecales no superen 7 mm en ninguna de las tres muestras analizadas. De cualquier modo, el análisis fecal durante al menos 3 días seguidos es imprescindible para valorar los resultados, prefiriéndose su realización diaria para disminuir la degradación enzimática.

En conclusión, los análisis coprológicos pueden resultar útiles para la valoración de la función pancreática si se realizan diariamente durante 3 días seguidos, interpretándose conjuntamente las concentraciones de grasa, proteínas y almidón con los de las enzimas fecales

Referencias

- Bunch SE. The exocrine pancreas. In: Nelson RW, Couto CG, editors. Essentials of small animal internal medicine. St. Louis (MO): Mosby Year Book, 1992:432-443.
- Steiner JM, Williams DA. Feline trypsinlike-immunoreactivity in feline exocrine pancreatic disease. Comp Small Anim Pract 1996;18:543-547.
- Strombeck DR. Enfermedades digestivas de los animales pequeños. 2a ed. Buenos Aires, Argentina: Inter-Médica, 1995.
- Zawie DA. Diseases of the pancreas. In: Tams TR, editor. Handbook of small animal gastroenterology. Philadelphia (PA): Saunders, 1996:461-481.
- Hoskins JD, Turk JR, Turk MA. Feline pancreatic insufficiency. Vet Med Small Anim Clin 1982;77:1745-1748.
- Simpson JW, Doxey DL. Evaluation of faecal analysis as an aid to the detection of exocrine pancreatic insufficiency. Br Vet J 1988;144:174-178.
- Pidgeon G. Effect of diet on exocrine pancreatic insufficiency in dogs. J Am Vet Med Assoc 1982;181:232-235.
- 8. Williams DA, Reed SD, Perry L. Fecal proteolytic activity in clinically normal cats and in a cat with exocrine pancreatic insufficiency. J Am Vet Med Assoc 1990; 197: 210-212.
- 9. Lhoste EF, Catala I, Fiszlewicz M, Gueugneau AM, Popot F, Vaissade P, et al. Influence of caecal microflora and two dietary protein levels on the adaptation of the exocrine pancreas: comparative study in germ-free and conventional rats. Br J Nutr 1996;75:433-444.