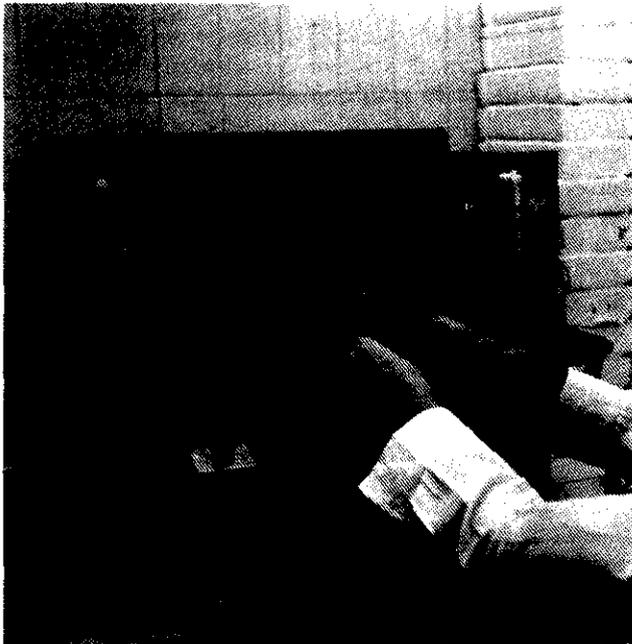


# Medicina.



## **DETERMINACION DE VALORES DE IgE TOTAL POR EL METODO E.L.I.S.A. EN UNA POBLACION SANA**

---

**J. L. GUILLEN LERA**

Jefe del Laboratorio Clínico del G.T.P. de Madrid

**E. ALDAY FIGUEROA**

Jefe de la Unidad de Neumología-Alergia del G.T.P. de Madrid

**F. ALONSO ARENAL**

Departamento de Investigación Aplicada y Verificación

---

### **RESUMEN**

Se ha procedido a la determinación, mediante un método inmunoenzimático (Phaderym IgE PRIST, Pharmacia, Uppsala), de las tasas de IgE en una población controladamente sana (88 personas) que se seleccionó tras comprobar la normalidad de 50 parámetros biológicos correspondientes a Bioquímica, Hematología, Urianálisis, Inmunología, Coprología, Exploración funcional respiratoria, Radiología y Pruebas cutáneas.

De los resultados directos se desprende una gran dispersión de la variable estudiada por lo que se realizó una transformación logarítmica de los valores de dicha variable. Mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov, se comprueba que la distribución resultante es compatible con la hipótesis de una distribución logarítmico-normal, con un margen de error de un 1%.

Se obtiene así una media geométrica de 23,32 u/ml. Dicha media + 1,65 DT, arroja un valor de 98,60 u/ml lo que abarca al 95% de los casos de la muestra estudiada.

No se encuentran diferencias estadísticamente significativas entre los distintos sexos y, por lo que respecta a la edad, se observa una inflexión en los valores del grupo comprendido entre los 31 y 40 años.

Palabras Clave: Inmunología. IgE total. Valores de referencia. PRIST.

## INTRODUCCION

Entre las distintas pruebas que se realizan para detectar la hipersensibilidad de tipo I (medida por Anticuerpos) algunas de ellas se realizan "in vivo" existiendo también una serie de pruebas "in vitro" que comienzan a utilizarse de modo rutinario en los laboratorios inmunológicos. Entre ellas destacan las que emplean antisueros marcados con enzimas y que revelan la concentración de IgE de la muestra mediante la aparición de un color, cuantificable espectrofotométricamente (Enzimo-Inmuno-Ensayo).

Cuando comenzamos a realizar esta técnica se nos presentó el problema de los valores de referencia en la población española pues, si bien existen valores claramente anormales, que superan incluso las 1000 u/ml, en muchos casos se presentan valores intermedios que no permiten una interpretación clara por faltar en la literatura estudios amplios sobre los valores medios en la población española normal.

En nuestro laboratorio hemos elegido la Técnica ELISA por presentar una muy buena correlación con el ya clásico RIA; (1)(2) al cual se sigue considerando como la técnica de referencia. No obstante el Radio-Inmuno-Ensayo presenta los inconvenientes del instrumental, disposiciones reguladoras cada día más estrictas de manejo de radioisótopos, así como la escasa vida media de los antisueros marcados, por lo que parece aconsejable la puesta a punto de técnicas sin estos inconvenientes y que, siendo equiparables, pueden realizarse en cualquier Laboratorio que posea una dotación instrumental media.

Por todo ello hemos procedido a seleccionar una población normal sometida previamente a 50 parámetros de perfil fisiológico para determinar en ella los valores de IgE, bajo nuestras condiciones de trabajo, sometiendo los resultados al tratamiento estadístico correspondiente, para así obtener unas cifras de esta reagina utilizables en un futuro como referencia típica.

## MATERIAL Y METODOS

### Selección de la población

La población estudiada se eligió entre trabajadores de una Empresa de entretelado de material plástico, a la cual se suministra la fibra base ya elaborada, lo que descarta en principio la implicación de otros problemas laborales derivados de la manipulación de polímeros. En esta Empresa se habían realizado previamente estudios de Higiene Industrial, los cuales mostraron unos TLV muy inferiores a los admitidos, en lo que se refiere a riesgo pulvigeno general.

Para incluir a los sujetos en el grupo definitivo el criterio se estableció en función de los siguientes conceptos:

- Anamnesis.  
No poseer historia familiar ni personal de Atopia.  
No presentar antecedentes de intolerancias alimenticias.  
No presentar ningún tipo de alteración dérmica.  
Sin antecedentes de reacciones anormales en vacunaciones.  
Sin antecedentes de episodios infecciosos repetidos, así como no haber padecido ningún proceso infeccioso en el mes anterior a las pruebas.
- Estudio analítico.  
Las muestras se obtuvieron por punción venosa y, tras la retracción del coágulo a temperatura ambiente, se centrifugaron para obtener el suero, descartándose aquéllas que presentaron hemólisis. Los sueros destinados a las determinaciones inmunitarias se preservaron mediante azida sódica.  
Todos los sueros se conservaron a -20°C hasta su procesamiento.  
A todas las muestras se les efectuaron las siguientes determinaciones:  
a) Bioquímicas: en un Autoanalizador SMA-Plus se efectuaron las determinaciones de Glucosa, Colesterol, Proteínas totales, Acido úrico, Nitrógeno uréico sanguíneo y Aspartato amino transferasa.  
b) Hemáticas: Mediante un contador Coulter-S se obtuvieron los recuentos de hemáticas, Leucocitos, cifras de Hemoglobina, Volumen corpuscular medio, Concentración de hemoglobina media, Concentración de hemoglobina corpuscular media y Hematocrito. Además se determinó la

Velocidad de Sedimentación globular y el recuento diferencial de Leucocitos.

c) Urinarias: Densidad, Reacción, Proteínas, Glucosa, Cuerpos cetónicos, Bilirrubina, Urobilinógeno y Sedimento urinario.

d) Inmunológicas: Mediante un Analizador Beckman ICS se estudiaron, en nefelometría cinética, los niveles de Inmunoglobulina G (Ig G), Inmunoglobulina M (Ig M), Inmunoglobulina A (Ig A), Fracción tercera del Complemento (C<sub>3</sub>), Fracción cuarta del Complemento (C<sub>4</sub>) y Alfa-1-antitripsina (AAT).

e) Coprológicas: Se efectuó la investigación de parásitos intestinales, sobre todo Helmintos, mediante el Examen directo y la Técnica de concentración de Baileger.

- Exploración funcional respiratoria.

Esta exploración, realizada de forma ambulatoria, se llevó a cabo con un Espirómetro Monaghan M-403, calculándose los siguientes parámetros: Capacidad Vital Forzada (FCV), Volumen Espiratorio Máximo por segundo (FEV<sub>1</sub>), Índice de Tiffeneau (%FEV<sub>1</sub>) y Peak-Flow.

- Exploración radiológica.

Se practicó radiografía posteroanterior de tórax, por fotoseriación, para descartar alteraciones pulmonares.

- Pruebas cutáneas.

Se estudiaron, mediante la Técnica de cutirreacción, posibles sensibilizaciones frente a los siguientes antígenos: "Pool" de pólenes de gramíneas, "Pool" de pólenes de árboles, Polen de olivo, "Pool" de ácaros. Mediante la técnica de Intradermorreacción se estudió la respuesta frente a *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Mucor*, *Fusarium* y *Penicillium*. Igualmente se probó con Polvo doméstico estandar, *Dermatophagoides pteronissus*, *D. farinae* y Extractos solubles de polvo de la Empresa.

Los extractos antigénicos utilizados fueron suministrados por las Casas Miles-Martin (Dhomé), Leti y Abelló; en cuanto a los antígenos del medio laboral fueron preparados por nosotros mismos, mediante su extracción en líquido de Coca y filtración estéril a través de Milipore.

- Determinación de Inmunoglobulina E (IgE) total. Para determinarla se utilizó el método inmunoenzimático comercial Phadezym IgE PRIST de Pharmacia Diagnostics, suministrado por la Casa ATOM S.A., ligeramente modificado, mediante

agitación rotatoria continua, en las fases de sensibilización; todas las determinaciones, tanto de los sueros patrones como las de las muestras, se hicieron por duplicado.

- Selección final.

Del grupo inicial, que comprendía 104 personas, se eliminaron 16; 7 de ellas por presentar pruebas cutáneas positivas, aún sin ninguna evidencia de sintomatología clínica; 4 por elevación de la Aspartato amino transferasa y 5 por presentar tasas elevadas de glucemia, quedando reducido el grupo de población a un número final de 88.

## RESULTADOS

### Valores directos

Las puntuaciones directas observadas en la muestra total se distribuyen como se recoge en la Fig. 1, mostrando una disimetría de izquierda, con frecuencias máximas en los intervalos comprendidos entre 0 y 40 U/ml. Los parámetros representativos de esta distribución de valores directos nos dan una Media aritmética (X) de 34, 16 U/ml, con una Desviación Típica (DT) de 36,57 U/ml. Como se observa, la DT es ligeramente superior a la Media, lo que nos proporciona una primera idea respecto a la dispersión de la variable estudiada.

### Valores Transformados

Dada la no normalidad de los valores directos en cuanto a su distribución, hemos procedido a realizar una transformación de variable de tipo logarítmico, a fin de corregir la disimetría observada y estabilizar las varianzas. Como resultado de este tratamiento obtenemos la distribución transformada que se observa en la Fig. 2.

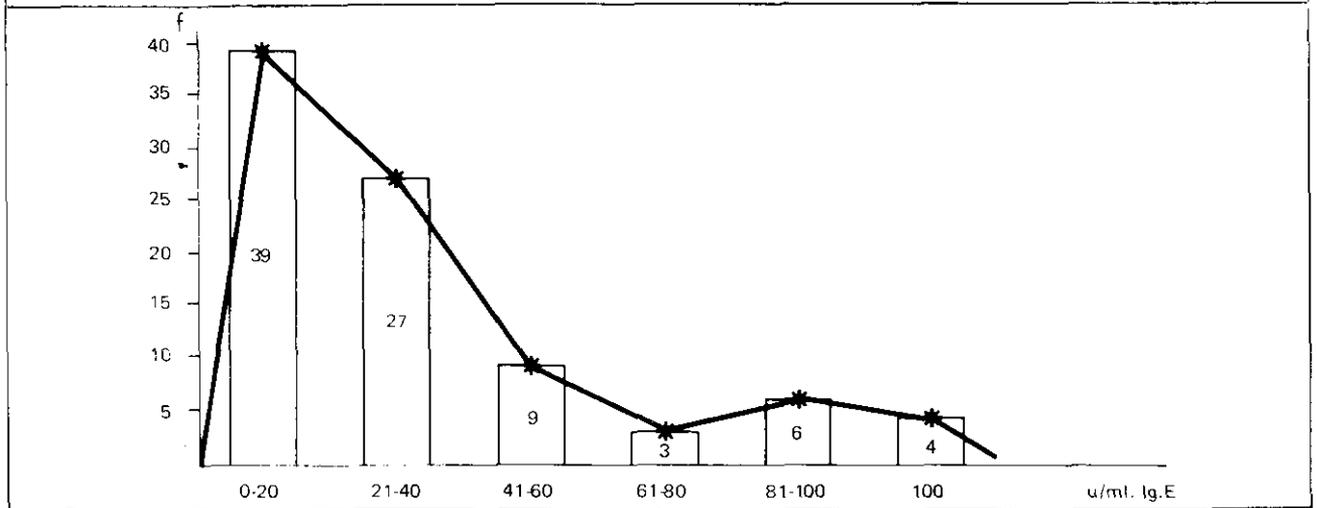
Mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov comprobamos que dicha distribución es compatible con la hipótesis de una distribución logarítmico-normal, con un margen de error de 1%.

Los parámetros estadísticos de los valores transformados figuran en la Tabla I.

### Diferencias por sexos

Una vez realizado el estudio de la muestra total y, con el fin de comprobar la posible incidencia del sexo,

**FIGURA 1**  
**NIVELES SERICOS DE IgE TOTAL**



hemos realizado el análisis de la misma estableciendo una comparación entre los grupos masculino y femenino que la componen, utilizando los valores transformados, tal como se indica en la Tabla II.

Realizado el análisis de las diferencias por la Prueba t de Student, obtenemos un valor  $t = 1,53$ , diferencia no estadísticamente significativa ( $p > 0,05$ ).

**TABLA I**  
**PARAMETROS ESTADISTICOS DE LOS VALORES CORREGIDOS**

n	88	
MG	23,32	u/ml
+ 1 DT	55,87	u/ml
+ 1,3 DT	72,60	u/ml
+ 1,65 DT	98,60	u/ml
$\bar{x}$ log. e	3,1492	
DT (log. e)	0,8738	

n = nº de individuos; MG = Media geométrica; DT = Desviación típica. Los valores MG + 1 DT, 1,3 DT y 1,65 DT delimitan, respectivamente, el 84%, 90%, 95% de los casos de la muestra estudiada.

**TABLA II**  
**VALORES OBSERVADOS POR SEXOS**

	Varones	Hembras
n	31	57
$\bar{x}$ log. e	3,0175	3,2996
DT (log. e)	0,594	0,562
MG	20,444	25,02

### Diferencias por edades

El grupo femenino con una X de 20,8 años y una DT de 4,5, es un grupo de edad baja y prácticamente homogéneo, mientras que el grupo masculino presenta una X de edad significativamente más alta (34,86 años) y una variabilidad más elevada (DT = 10). Debido a estas diferencias no fue posible hacer grupos de edades comparables entre varones y hembras, por lo que respecta a su valores de IgE. En su lugar, y dado que previamente habíamos comprobado la no existencia de diferencias entre los valores de IgE entre los dos sexos, se hizo un estudio global de la muestra, estableciendo cuatro grupos de edades. Los resultados se muestran en la Tabla III.

**TABLA III**  
**VALORES OBSERVADOS POR GRUPOS DE EDADES**

Edad (años)	A ≤ 20	B 21-30	C 31-40	D > 40
n (v + h)	39	26	12	11
$\bar{x}$ log. e	3,232	3,365	2,669	3,201
DT (log. e)	0,902	0,802	0,537	0,638
MG	25,34	28,94	14,43	24,56

Efectuado el análisis de diferencias entre cada una de estas medias y la media general por un lado y, entre las medias de los cuatro grupos de edad por otro, se aprecia que no existen diferencias entre estas medias y la media general, excepto en lo que se refiere al grupo C (entre 31 y 40 años), cuya media resulta significativamente más baja para  $p < 0,05$  ( $t = 2,57 > 1,98$ ).

De la comparación interna entre las medias de los distintos grupos se encuentra que no hay diferencia

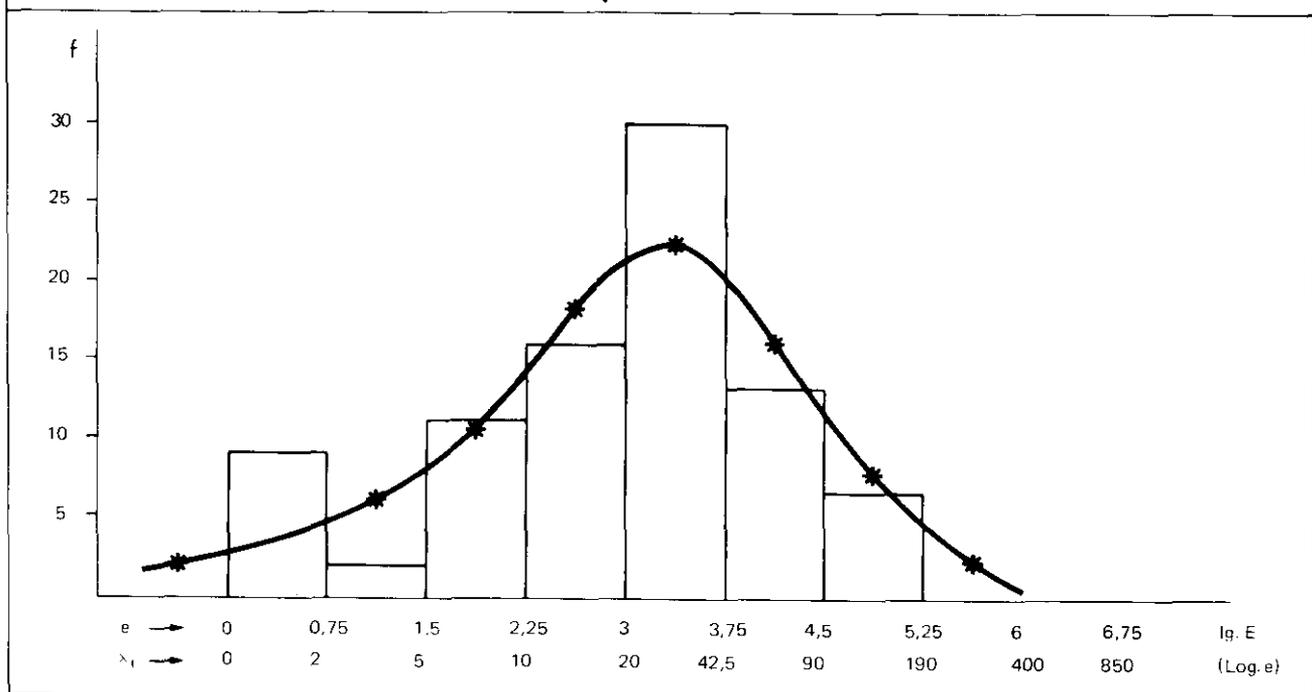
significativa entre los grupo A, B y D. El grupo C, sin embargo, presenta una media significativamente más baja que las de los tres grupos anteriores.

## DISCUSION

La comparación de los resultados obtenidos por nosotros, con los de otros autores nos muestra la existencia de diferencias entre las Medias Geométricas de las distintas determinaciones; nuestra MG = 23,32 es inferior a la MG = 29,7 de Campos y col. (3) y claramente inferior a la MG = 36,3 de Nye y col. (6) y en cambio superior a la MG = 15 de Kjellman y col. (5).

Quizá la comparación más estricta debe desarrollarse con los resultados de Campos y col., ya que en ambos casos se utiliza el mismo método analítico y la misma procedencia geográfica de la muestra. Pensamos que los valores superiores que encuentran estos autores puedan deberse a la selección de la muestra, que, en nuestro caso, eliminó de la misma a los sujetos que, sin clínica ni alteraciones analíticas, mostraron en cambio pruebas cutáneas positivas y que, de no haber realizado estas

**FIGURA 2**  
**HISTOGRAMAS Y CURVAS SUAVIZADAS DE FRECUENCIAS**



# Medicina.

determinaciones, habrían sido incluidos con la muestra como sujetos sanos lo que, posiblemente, habría elevado nuestra media geométrica.

En lo que respecta al grupo de edad comprendido entre 31 y 40 años, significativamente más baja que la del resto de los grupos y que la media general, creemos que no debe considerarse como un dato relevante, ya que se trata de un grupo pequeño del que difícilmente puede extraerse una generalización y que, en todo caso, debería confirmarse o desecharse sobre una muestra más numerosa, ya que no se trata de una disminución de valores en función de la edad, sino de una inflexión en los mismos.

En cuanto a las diferencias de valores entre los distintos sexos encontramos en las mujeres una media ligeramente superior que en los hombres, pero esta diferencia no es estadísticamente significativa.

## AGRADECIMIENTO

A los Dres. J. M. Martínez y Gil de Arana, José Pérez Delgado; a las A.T.S. Mercedes Jabardo García, María José López Gil, Isabel Ballesteros Revuelto y M<sup>a</sup> Victoria del Barrio Arjona; a las Auxiliares Ana Martín Ortega, M<sup>a</sup> Jesús Ramos Sánchez, Pilar Gutiérrez Francisco, Manuela Cortes Berrocal y Antonio Muñoz Barroso, sin cuya colaboración no hubiera sido posible realizar este trabajo.

## REFERENCIAS

- (1) ALBERT, W. H. W.; KLEINHAMMER, G.; LINKE, R. (1978). *Enzyme immunoassay for in vitro diagnosis. En Enzyme Labelled Immunoassay of Hormones and Drugs. Walter de Gruyter & Co., Berlin, New York.*
- (2) BOSCH, A. M. G.; VAN HELL, H.; BRANDS, J.; SCHUURS, A. H. W. M. (1978). *Especificity, sensitivity and reproductibility of enzyme-immunoassays. En Enzyme Labelled Immunoassay of Hormones and Drugs. Walter de Gruyter & Co., Berlin, New York.*
- (3) CAMPOS, A.; ROMAN, A.; BASOMBA, A.; PELAEZ, A.; VILLALMANZO, I. G. (1981). *Valoración de los niveles séricos de IgE total I-Estudio de una población sana adulta. Allergologie et Immunopathologie, 9, 6 (495-500).*
- (4) KJELLMAN, N.I.M. (1976). *Predictive value of high IgE levels in children. Acta Paediat. Scand., 65 (465-471).*
- (5) KJELLMAN, N.I.M.; JOHANSSON, S.G.O.; ROTH, A. (1976). *Serum IgE levels in healthy children quantified by a sandwich technique. Clinical Allergy (51-59).*
- (6) NYE, M.; MEYRETT, T. G.; LANDON, J. (1975). *A detailed investigation of circulating IgE levels in a normal population. Clinical Allergy (5-13).*