

Estudio de la acumulación de plomo en dientes primarios *Study of the accumulation of lead in the primary teeth*

I. Aguinaga¹, E. Manso², F. Guillén^{1,3}, J.J. Viñes³, J.J. Guillén⁵, M.J. Martínez, J.A. Pérez de Ciriza⁴, C. Brun³, B. Marín³, T. Herrera, L. García-Marco⁵, J. Bayo y grupo EPLODIN⁶

RESUMEN

El estudio tiene como objetivo determinar la concentración de plomo en un grupo de niños de la comarca de Pamplona, utilizando como indicador de acumulación de dicho metal en el organismo el diente primario. Asimismo se intenta relacionar la cantidad de plomo acumulado con ciertos factores de exposición recogidos a través de una encuesta realizada en el momento de entrega de la pieza dental. Se analizan 457 dientes mediante la aplicación de una técnica de digestión por microondas de la muestra, y posterior determinación del contenido en plomo con Espectrometría de Absorción Atómica.

La concentración media de plomo obtenida en las muestras fue de $2,60 \pm 1,36 \mu\text{g/g}$ con rango entre $0,25 \mu\text{g/g}$ y $10,71 \mu\text{g/g}$.

La concentración de plomo obtenida en nuestra muestra es inferior a la observada en otros estudios europeos.

Palabras clave: Plomo. Diente. Digestión por microondas.

ABSTRACT

The purpose of the study was to determine the accumulation of lead in deciduous teeth in children living in the area of Pamplona (Spain). In this manner, we tried to make a relationship between the quantity of lead accumulated in the tooth against certain factors of exposure that were documented on a questionnaire carried out at the time that the tooth was presented.

We analysed 457 deciduous teeth using a technique of microwave digestion follow by Atomic Absorption Spectrometry (AAS), to determine the concentration of lead in the sample.

The mean lead concentration was $2.60 \pm 1.36 \mu\text{g/g}$ (range $0.25-10.71 \mu\text{g/g}$).

The lead concentration in our study is inferior to those observed in other european studies.

Key words: Lead. Tooth. Microwave digestion.

ANALES Sis San Navarra 2000; 23 (1): 19-24.

1. Área de Sanidad. Ayuntamiento de Pamplona
2. Hospital de Navarra. Pamplona
3. Departamento de Ciencias de la Salud. Universidad Pública de Navarra
4. Instituto de Salud Pública. Pamplona
5. Área de Sanidad. Cartagena
6. Grupo EPLODIN: S. Moreno, P. Notivol, C. Vicente, M.A. Santos, M.D. Redín.

Este proyecto de investigación ha sido financiado por el Dpto. Salud del Gobierno de Navarra nº 1826/95, Consejería de Sanidad de Cartagena, Universidad Pública de Navarra y las empresas: Centro Comercial Iruña Eroski, Caja de Ahorros de Navarra y Colgate.

Aceptado para su publicación el 30 de septiembre de 1999.

Correspondencia

Inés Aguinaga
Servicio Epidemiología
Ayuntamiento de Pamplona
San Saturnino, 2
31001 Pamplona
Tfno. 948 420529

INTRODUCCIÓN

Durante los años 70 numerosos estudios intentaron relacionar la exposición a bajos niveles de plomo y ciertas alteraciones producidas en el organismo humano. Los más importantes son los realizados en grupos de niños, al ser considerados éstos más vulnerables que los adultos. En muchos casos se ha demostrado la existencia de una relación entre el desarrollo del niño, y más concretamente su desarrollo psicomotor, y la historia de exposición al plomo. En 1979, Needleman y cols¹ relacionaron ciertos problemas de conducta en niños con concentraciones elevadas de plomo en sangre. Posteriormente, Winekko y cols² establecieron una correlación entre el nivel de plumbemia y la aparición de desórdenes neurofisiológicos en niños.

Tradicionalmente para cuantificar el grado de exposición de una población a un contaminante se ha venido midiendo la concentración de sustancias tóxicas, a partir de las fuentes, en el ambiente, que al mismo tiempo sirve como vía de exposición humana (p. ej. plomo contenido en la gasolina, en los alimentos y en el agua). En los estudios epidemiológicos existe una preferencia por el estudio de un substrato biológico obtenido de los sujetos expuestos (p. ej. sangre, heces, dientes) en el que se analiza la concentración de contaminante, los metabolitos producidos por éste o una variación metabólica específica que produzca en el organismo. De esta forma se puede llegar a conocer la relación entre la exposición externa y la exposición interna, la relación dosis-efecto, etc. La ventaja de las medidas biológicas es que representan el nivel de absorción sistémica del individuo (por vía respiratoria, digestiva o cutánea), permitiendo así la integración de todas las vías de exposición, a partir de las diferentes fuentes, y los parámetros toxicocinéticos en relación con la entrada y salida de la sustancia.

La utilización de isótopos estables como trazadores de transferencia en el seno del organismo, permitió a Rabinowitz y cols^{3,4} controlar las condiciones de sus estudios y determinar el proceso sufrido por el plomo absorbido. El modelo pro-

puesto divide al organismo en tres compartimentos:

- Compartimento I: constituido principalmente por la sangre. El trazador aparece rápidamente en sangre y orina. El plomo permanece una media de 35 días en este compartimento. Alrededor de un 95% del plomo de la sangre está asociado con los eritrocitos. Una parte del plomo es directamente excretado por la orina y el resto emigra hacia los otros compartimentos.

- Compartimento II: agrupa principalmente a los tejidos blandos (riñones, hígado, cerebro). El tiempo de permanencia en este compartimento es de unos 40 días. La cantidad total de los compartimentos I y II representa sólo una pequeña fracción de la carga corporal de plomo.

- Compartimento III: constituido principalmente por el esqueleto, el cual contiene la casi totalidad de la carga corporal de plomo (95% en el adulto, 70% en el niño). Tras la interrupción de la ingestión del trazador la concentración en sangre no disminuye rápidamente, como cabría esperar en un modelo de dos compartimentos. Existe una fuente interna de trazador de vida media larga, y un retorno del trazador desde el esqueleto hacia la sangre. El almacenamiento en el compartimento III crece continuamente a lo largo del tiempo, puesto que para niveles constantes de exposición el esqueleto recibe más plomo que el que libera.

El plomo se acumula también en los dientes, por lo que el uso de un diente como indicador, proporciona una información retrospectiva de la exposición de un individuo al plomo. Por otro lado, el diente tiene la ventaja de perderse espontáneamente a una cierta edad y por tanto no es necesaria la utilización de métodos invasivos (extracción de sangre) para conocer la cantidad de plomo en el organismo, detalle importante cuando los sujetos estudiados son niños.

En otros estudios no se ha demostrado la ventaja de medir el nivel de plomo en el esmalte o en la dentina^{1,5}, con respecto al diente entero^{6,7} por lo que hemos considerado que es mejor utilizar el diente completo para disminuir la manipulación de las piezas.

La utilización del diente como indicador de la cantidad de plomo en el organismo tiene ventajas sobre otros indicadores biológicos, como por ejemplo la sangre, ya que ésta nos proporciona tan solo una información puntual y no una información de la historia de exposición. La mayor dificultad del empleo de dientes radica en la técnica de determinación del contenido del plomo en los mismos, debido a la laboriosidad de los métodos tradicionales y al peligro de contaminación de las muestras que ello origina.

El objetivo es conocer el nivel de plomo acumulado en el organismo de los niños de 6 a 9 años de Pamplona, utilizando como indicador el diente, y establecer una relación entre la cantidad acumulada y los posibles factores personales y de exposición ambiental. Al mismo tiempo se adaptó y desarrolló la aplicación de la técnica de digestión por microondas y el análisis por Absorción Atómica con atomización electrotérmica, para determinar la concentración de plomo.

MATERIAL Y MÉTODOS

La población de estudio la constituyeron los dientes primarios de los niños de la Comarca de Pamplona. El tamaño de la muestra necesario se calculó suponiendo una desviación estándar de la plumbemia del 7,5 µg/dl, un error del 0,7% y un nivel de confianza del 95%. El número de dientes requerido fue 441.

La información a la población se realizó a través de todos los medios de comunicación locales (TV, radio y prensa). A los directores de los 71 Centros Educativos de Pamplona y la Comarca mediante información escrita y entrevista personal. Al personal docente, padres y escolares mediante información escrita. También se informó al colegio de Odontólogos y al Departamento de Educación, que nos facilitó el listado de colegios y número de alumnos.

Se identificó el proyecto con el acrónimo EPLODIN (Estudio de Plomo en Dientes de Niños). Para fomentar la recogida de la muestra se utilizó el siguiente eslogan publicitario: *el Ratón Pérez presenta: tu diente por un juguete*. Al niño se le hacía entrega de un vale cangeable por un juegue-

te y de un cuento con contenido pedagógico en el tema de la salud dental, en el momento de la recepción del diente. Al mismo tiempo se cumplimentaba un cuestionario sobre datos personales del niño, datos de los padres, historia de salud del niño, salud bucodental, fecha de pérdida y tipo de pieza dental, exposición a fuentes de plomo de origen alimentario, situación de la vivienda habitual, hábitos tabáquicos de los padres, actividades del niño en relación con exposición a plomo y nivel de estudios de los padres. La participación ciudadana fue satisfactoria y en un plazo de tres semanas se alcanzó la muestra necesaria.

Los análisis de las muestras se realizaron en el Instituto de Salud Pública entre octubre de 1995 y febrero de 1996. Los resultados de los análisis se comunicaron a los padres, a través de una carta, al mismo tiempo que se agradecía su colaboración.

Nuestro equipo desarrolló una técnica de digestión directa con microondas, consistente en la preparación de la muestra por digestión en un horno microondas, y determinación posterior de la concentración de plomo en la matriz resultante con un Espectrofotómetro de Absorción Atómica con atomización electrotérmica y corrector de fondo Zeeman (modelo SpectraAA 400 de Varian con automuestreador y tubos de grafito pirolizados). La técnica se validó mediante el análisis del Material Estándar de Referencia 1486 (polvo de hueso) del National Institute of Standards and Technology (NIST) de concentración de plomo $1,335 \pm 0,014$ µg/g, certificada por Espectrometría de Masas con Ionización Térmica y Dilución Isotópica. El resultado intraensayo e interensayo, al analizar el material de referencia, para 27 dientes estudiados fue de una concentración media de plomo de $1,45$ µg/g $\pm 0,15$, con un rango de $1,63$ µg/g y $1,13$ µg/g.

Una vez puesta a punto la técnica se determinó el contenido de plomo de 457 muestras de dientes, incisivos centrales, laterales y caninos, pertenecientes a niños residentes en Pamplona y su Comarca que no hubieran vivido en más de tres domicilios diferentes, que no hubieran padecido

déficits carenciales, enfermedades graves o crónicas y que no estuvieran tomando medicamentos. También fueron considerados como criterios de exclusión la no identificación del tipo de diente o el desconocimiento de la fecha de pérdida.

Para el análisis estadístico de los datos se utilizó el programa SPSS-PC

RESULTADOS

La muestra de dientes procedía de un 51,2% de varones y un 48,8% de mujeres con una media de edad de 7 años y un rango entre 5 y 9 años.

La concentración media de plomo fue de 2,6 µg/g ($\pm 1,36$) siendo los valores máximo y mínimo 10,4 y 0,24 µg/g respectivamente.

El valor medio de plomo en las niñas fue de 2,65 µg/g y en los niños de 2,5 µg/g no existiendo diferencias significativas entre ambos grupos.

En cuanto a otras variables analizadas como tipo de diente, zona de residencia, proximidad a actividades contaminantes, hábitos, tipo de agua consumida, se utilizó la *t* de Student para la comparación de medias. Cuando la comparación de medias era entre varios grupos el método utilizado fue el análisis de varianza de una vía. En ningún caso se estableció una diferencia estadísticamente significativa en la concentración de plomo.

Límite de detección: con los blancos de reactivos utilizados en todas las series de muestras se evaluó la sensibilidad de la técnica para las soluciones analizadas, obteniéndose un resultado de 4,3 µg/l como valor medio y una desviación estándar de 2,1 µg/l. Los valores máximo y mínimo fueron respectivamente 8,0 y 2,0 µg/l y el valor del límite de detección calculado para la técnica fue de 6,3 µg/l.

DISCUSIÓN

Durante los últimos 30 años en Estados Unidos, el Centro para el Control y Prevención de las Enfermedades ha ido revisando y disminuyendo los niveles de plomo en sangre a partir de los cuales se pueden producir problemas para la salud. Así, desde los 60 µg/dl fijados al inicio de los

años 60, se recomendó disminuir los valores hasta 10 µg/dl en 1991⁸; a partir de ese nivel se considera necesaria una intervención en las fuentes de exposición de plomo para evitar que se produzcan efectos sobre la salud. La Academia Americana de Pediatría⁹ reconoce que se producen alteraciones de la función cognitiva con una concentración de 10 µg/dl en sangre, incluso sin una clara sintomatología clínica. En los niños estadounidenses el valor de plomo en sangre ha disminuido de 16 µg/dl en 1976 a 4,6 µg/dl en la actualidad¹⁰. Esta disminución se debe principalmente a la aplicación de medidas preventivas como la reducción progresiva del plomo en las pinturas, la gasolina y los envases alimentarios.

La concentración de plomo obtenida en los niños de Pamplona y su Comarca es baja en comparación con estudios similares realizados por Winneke y cols² en Alemania en 1982, que revelan una concentración media de plomo en diente de 4,6 µg/g para una muestra de 456 niños y con un intervalo de confianza de 1,4-12,7 µg/g. En Inglaterra, en 1977, Mackie y cols¹¹ obtuvieron valores de $11,8 \pm 6,63$ µg/g para una muestra de 1392 niños. Rabinowitz y cols¹² en Taiwan determinaron una concentración de 4,3 µg/g para una muestra de 862 dientes. Un estudio de características similares, realizado en la ciudad de Cartagena¹³, ha obtenido valores medios de plomo en dientes de 4,05 µg/g en un grupo de 371 niños.

La baja exposición al plomo en nuestra ciudad podría deberse a la apertura en 1989 de rondas de circunvalación que reducen de forma importante el tráfico, el incremento del uso de gasolina sin plomo y a la inexistencia de industrias contaminantes.

Con respecto a las canalizaciones con plomo, en un estudio anterior realizado por el Ayuntamiento de Pamplona¹⁴ las cifras de concentración de plomo en agua revelaron valores bajos en general por lo que se concluía que el agua no representaba un riesgo para la salud. Asimismo, en la actualidad no se utilizan casi elementos cerámicos que puedan contener plomo, y desde hace años los envases utilizados

para los alimentos en conserva no contienen plomo en sus soldaduras.

En cuanto a la técnica de digestión directa con microondas desarrollada por Manso y cols¹⁵ podemos asegurar que mejora en cuanto a rapidez y menor manipulación tanto la empleada por Steenhout y Pourtois⁶, como la utilizada posteriormente por Gil y cols¹⁶.

Por otro lado al emplear el diente entero se evitan problemas de contaminación y alteración de la homogeneidad de las muestras, que se pueden producir en el proceso de preparación de las mismas, al manipular el diente para la utilización de tan sólo alguno de sus componentes (dentina, corona, etc).

El hecho de utilizar un sistema cerrado de digestión de un único paso, además de eliminar en gran parte los riesgos de posible contaminación primaria por el polvo ambiental, evita la contaminación entre las muestras durante el proceso. Al utilizar un procedimiento con un menor número de etapas se reduce, también, la contaminación secundaria debida al material, que se presenta a pesar de ser tratado siempre con ácido nítrico para su descontaminación. Así los análisis efectuados con blancos de reactivos permitieron obtener un buen límite de detección, ya que la concentración en plomo de todas las muestras después de la digestión fue muy superior a dicho límite.

El análisis se efectuó en condiciones de reproductibilidad eliminando los resultados discrepantes mediante el test de Grubbs. Los valores obtenidos aseguran que el procedimiento utilizado es bueno. La utilización del material de referencia certificado permite establecer en términos de aseguramiento de la calidad la trazabilidad de nuestro método.

A la vista de las concentraciones de plomo obtenidas en nuestra muestra podemos decir que el plomo no constituye un problema en la población infantil de Pamplona. Sin embargo, no por ello debemos olvidar que el plomo es un elemento acumulable que sigue presente en nuestro ambiente y que se pueden producir situaciones puntuales de intoxicación. Además no es necesario para el organismo, sino todo lo contrario y por lo tanto se tendría

que intentar su erradicación a través del empleo de otras sustancias no nocivas para la salud.

Creemos que la técnica de digestión directa con microondas utilizada en nuestro estudio para la preparación de las muestras es sencilla, rápida, segura, y reproducible.

BIBLIOGRAFÍA

1. NEEDLEMAN HL, GUNNOE C, LEVINTON A, REED R, PERESIE H, MAHER C et al. Deficits in psychologic and classroom performance of children with elevated dentine lead levels. *N Engl J Med* 1979, 300: 689-695.
2. WINNEKE G, HRDINA KG, BROCKHAUS A. Neuropsychological studies in children with elevated tooth-lead concentrations. I. Pilot study. *Int Arch Occup Environ Health* 1982, 51: 169-183.
3. RABINOWITZ M, WETHERILL G, KOPPLE J. Lead metabolism in the human: stable isotope studies. *Science* 1973; 182: 725-727.
4. RABINOWITZ M, WETHERILL G, KOPPLE J. Kinetic analysis of lead metabolism in healthy humans. *J Clin Invest* 1976; 58: 260-270.
5. GRANDJEAN P, HANSEN ON, LYNGBYE G. Analysis of lead in circumpulpal dentine of deciduous teeth. *Ann Clin Lab Sci* 1984; 14: 270-275.
6. STEENHOUT A, POURTOIS M. Lead accumulation in teeth as a function of age with different exposures. *Br J Ind Med* 1981; 38: 297-303.
7. EWERS U, BROCKHAUS A, WINNEKE G, FREIER Y, JERMANN E, KRAMER U. Lead in deciduous teeth of children living in a non-ferrous smelter area and a rural area of the FRG. *Int Arch Occup Environ Health* 1982, 50: 139-151.
8. NEEDLEMAN HL. The current status of childhood lead toxicity. *Adv Pediatr* 1994; 40: 125-139.
9. American Academy of Pediatrics, Committee on Environmental Health. Lead poisoning: from screening to primary prevention. *Pediatrics* 1993, 92: 176-183.
10. BRODY DJ, PIRKLE JL, KRAMER RA, FLEGAL KM, MATTE TD, GUNTER EW, PASCHAL DC. Blood lead levels in the US population. Phase I of the Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III, 1988 to 1991). *JAMA* 1994, 272: 277-283.
11. MACKIE AC, STEPHENS R, TOWNSEND A, WALDRON HA. Tooth lead levels in Birmingham children. *Arch Environ Health* 1977, 32: 178-185.

12. RABINOWITZ MB, WANG JD, SOONG WT. Dentine lead and child intelligence in Taiwan. *Arch Environ Health* 1991; 46: 351-360.
13. BAYO J. Estudio de plomo, cadmio y cinc en dientes de leche de niños del Municipio de Cartagena: desarrollo de modelos predictivos. Tesis Doctoral 1998.
14. MANSO E, MARTINEZ MT. Estudio de la acumulación de plomo, cadmio, cinc y hierro en el agua de canalización de Pamplona 1991 (mimeografiado).
15. MANSO E, PÉREZ DE CIRIZA JA, AGUINAGA I, GUILLEN F. Método de digestión con microondas para la determinación de plomo en dientes. En: ¿Es el plomo un problema de salud pública en España?. Ed. MAPFRE. Madrid 1998.
16. GIL F, PÉREZ ML, FACIO A, VILLANUEVA E, TOJO R, GIL A. Microwave oven digestion procedure for atomic absorption spectrometry analysis of bone and teeth. *Clin Chim Act* 1993, 221: 23-31.