

NOM-EM-004-SSA1-1999

NORMA OFICIAL MEXICANA DE EMERGENCIA, SALUD AMBIENTAL. CRITERIOS PARA LA DETERMINACION DE LOS NIVELES DE CONCENTRACION DE PLOMO EN LA SANGRE. ACCIONES PARA PROTEGER LA SALUD DE LA POBLACION NO EXPUESTA OCUPACIONALMENTE. METODOS DE PRUEBA.

Al margen un sello con el Escudo Nacional, que dice: Estados Unidos Mexicanos.- Secretaría de Salud.

JOSE IGNACIO CAMPILLO GARCIA, Presidente del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, con fundamento en los artículos 39 de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; 3o., fracción XIII, 13, apartado A, fracción I, 116 y 118, fracciones I y VII, de la Ley General de Salud; 38, fracción II, 40, fracciones III y XI, 41, 48 y 52 de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización; 28 del Reglamento de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización, y 22, fracciones I y VI, y 23, fracción III, del Reglamento Interior de la Secretaría de Salud; me permito ordenar la publicación en el **Diario Oficial de la Federación** de la Norma Oficial Mexicana de Emergencia NOM-EM-004-SSA1-1999.

INDICE

1. Objetivo
 2. Campo de aplicación
 3. Definiciones, símbolos y abreviaturas
 4. Especificaciones
 5. Acciones básicas de protección
 6. Métodos de prueba
 7. Bibliografía
 8. Concordancia con normas internacionales y mexicanas
 9. Observancia de la norma
 10. Vigencia
- Apéndice A

1. Objetivo

Esta Norma Oficial Mexicana establece los criterios y métodos de prueba que deben considerarse para la determinación de los niveles de concentración de plomo en la sangre en niños, mujeres embarazadas y, en general, de la población no expuesta ocupacionalmente, así como las acciones básicas para proteger la salud de estos grupos.

2. Campo de aplicación

Esta Norma Oficial Mexicana es de observancia obligatoria en el territorio nacional para los prestadores de servicios de salud, así como para los laboratorios que realicen pruebas para la determinación de plomo en sangre.

Asimismo, la presente Norma es aplicable como criterio de referencia en el desarrollo de programas de evaluación e investigación de los riesgos y daños a la salud de la población, originados por la contaminación ambiental debida al plomo.

3. Definiciones, símbolos y abreviaturas

3.1 Para los efectos de esta Norma se entiende por:

3.1.1. Concentración de plomo, a la medición en microgramo por decilitro de plomo en la sangre.

3.1.2. Fuente de exposición, al medio que contiene, genera o emite plomo.

3.1.3. Valor criterio, a las concentraciones de plomo en sangre que una vez alcanzadas o excedidas implican efectos adversos a la salud y hacen necesaria la ejecución de medidas preventivas o de control.

3.2 Símbolos y abreviaturas.

3.2.1. Pb: símbolo del plomo.

3.2.2 NPS: Nivel de plomo en sangre

3.2.3 µg/dl: microgramos por decilitro

4. Especificaciones

Los valores criterios que se utilizarán como referencia para determinar los niveles de concentración de plomo en sangre son los siguientes:

- 4.1 El valor criterio para la concentración de plomo en sangre en niños y mujeres embarazadas es de 10 µg/dl.
- 4.2 El valor criterio para la concentración de plomo en sangre en adultos es de 25 µg/dl.
- 4.3 Los prestadores de servicios de atención médica deben notificar a las autoridades sanitarias todos los casos que presenten niveles de plomo en sangre por arriba de los establecidos en los numerales 4.1 y 4.2.

5. Acciones básicas de protección

- 5.1 Ver tabla 1. Acciones básicas de protección en niños menores de 15 años y mujeres embarazadas.
- 5.2 Ver tabla 2. Acciones básicas de protección para población general mayor de 15 años.

Tabla 1. Acciones básicas de protección en niños menores de 15 años y mujeres embarazadas

Nivel de Plomo en Sangre	Acciones
< 10 µg/dl Categoría I	No se requiere ninguna acción a menos que ocurran cambios en las fuentes de exposición. Un individuo en esta categoría no se considera afectado por el plomo.
10-24 µg/dl Categoría II	Repetir la prueba de plomo en sangre venosa, al menos cada 6 meses después del primer resultado hasta disminuir a menos de 10 µ/dl. Realizar una evaluación médica integral para disminuir el NPS. Proporcionar a la familia educación sobre higiene personal y prevención de exposición al plomo y nutrición. Si los niveles persisten, se deben tomar las medidas necesarias para controlar o eliminar la fuente de exposición. Notificar a la autoridad sanitaria. Gestionar ante la autoridad competente, el control o la eliminación de la fuente de exposición a plomo.
25-44 µg/dl Categoría III	Repetir la prueba de plomo en sangre venosa, inmediatamente después del primer resultado, para confirmar el nivel de plomo en sangre. Realizar una evaluación médica integral por especialista, para determinar tipo de atención (manejo de caso): Recomendaciones higiénico-dietéticas. Suplementos alimenticios (Calcio y/o Hierro u otros). Notificar inmediatamente el caso a la autoridad sanitaria. Repetir pruebas de plomo en sangre venosa cada tres meses, hasta alcanzar la categoría II. Realizar determinación de niveles de plomo en sangre a las personas que convivan con el afectado. Proporcionar a la familia educación sobre higiene personal para prevención de exposición al plomo y nutrición. Realizar una investigación para identificar ruta y vía de exposición. Retirar al afectado de la fuente de exposición. Gestionar ante la autoridad competente el control de la fuente de exposición.
45-69 µg/dl Categoría IV	Además de lo señalado en la categoría III; Notificar inmediatamente el caso, por el medio de comunicación más rápido, a la autoridad sanitaria. Repetir las pruebas de plomo en sangre venosa cada mes hasta que la concentración alcance la correspondiente a categoría III. En caso de presentar sintomatología, valorar tratamiento específico por médico especialista. El tratamiento debe aplicarse en un hospital. Gestionar ante la autoridad competente el manejo ambiental inmediato. Realizar un seguimiento médico integral. Referir a servicio de trabajo social, para seguimiento, si es necesario.
>70 µg/dl Categoría V	Además de lo señalado en la categoría IV; Un individuo en este nivel se debe considerar como CASO PARA ATENCION MEDICA INMEDIATA y, ocasionalmente, de emergencia médica. Hospitalizar, evaluar por médico especialista y empezar INMEDIATAMENTE el tratamiento correspondiente, previa identificación de la fuente. El tratamiento debe aplicarse en el hospital. Repetir, al menos semanalmente, la prueba de plomo en sangre venosa, hasta que la concentración alcance la categoría IV. Gestionar ante la autoridad competente la eliminación de la fuente de exposición.

Tabla 2. Acciones básicas de protección para la población general mayor de 15 años

Nivel de Plomo en Sangre	Acciones
< 25 g/dl Categoría I	No se requiere ninguna acción a menos que ocurran cambios en las fuentes de exposición. Un individuo en esta categoría no se considera afectado por el plomo.
25-34 µg/dl Categoría II	Notificar el caso a la autoridad sanitaria. Proporcionar a la familia educación sanitaria respecto a fuentes de exposición al plomo y nutrición. Repetir prueba de plomo en sangre cada seis meses hasta alcanzar concentración de la categoría I. Realizar investigación para identificar la fuente y rutas de exposición. Si los niveles persisten, gestionar ante la autoridad competente la eliminación de la fuente de exposición.
35-44 µg/dl Categoría III	Además de lo señalado en la categoría II; Repetir pruebas de plomo en sangre cada tres meses hasta alcanzar concentración de la categoría II. Realizar determinación de niveles de plomo en sangre a las personas que convivan con el afectado. Gestionar ante la autoridad competente, el control o eliminación de la fuente de exposición a plomo.
45-69 µg/dl Categoría IV	Además de lo señalado en la categoría III; Repetir la prueba de plomo en sangre venosa para confirmación, inmediatamente después del primer resultado. Realizar valoración médica integral para determinar tipo de manejo médico e higiénico-nutricional. Hacer seguimiento médico integral. Gestionar ante la autoridad competente el control inmediato de la fuente de exposición.
>70µg/dl Categoría V	Además de lo señalado en la categoría IV; Efectuar valoración médica por especialista y definir el tratamiento hospitalario. Repetir al menos semanalmente la prueba de plomo en sangre venosa, hasta que las concentraciones alcancen la categoría IV.

6. Métodos de prueba

Los métodos de prueba para la determinación de plomo en sangre, son los que se indican en el Apéndice A de esta Norma, los cuales deben ser utilizados por los laboratorios que realicen análisis para la determinación de plomo en sangre.

7. Bibliografía

7.1 Ley General de Salud. Capítulo IV. Efectos del ambiente en la salud. **Diario Oficial de la Federación**, 7 mayo de 1997.

7.2 Programa de Reforma del Sector Salud 1995-2000. **Diario Oficial de la Federación**, 11 de marzo de 1996.

7.3 WHO. International Programme on Chemical Safety. Environmental Health Criteria 165. Inorganic lead. Geneva World Health Organization 1995.

7.4 Centers for Disease Control and Prevention. Screening young children for Lead Poisoning: Guidance for State and Local Public Health Officials. Atlanta: CDC, 1997.

7.5 United States Food and Drug Administration. Guidance Document for Lead in Shellfish. Center for Food Safety and Applied Nutrition. United States Food and Drug Administration 200 C St., S. W. Washington, D.C. 20204. August 1993.

7.6 Dangers of Lead Still Linger. U.S. Food and Drugs Administration. FDA Consumer. January-February 1998.

7.7 U.S. Department of Health and Human Services. Toxicological Profile for Lead. Public Health Service. Agency for Toxic Substances and Disease Registry.

7.8 R.L. Bornschein, J. Grote, T. Mitchell, P.A. Succop, K.N. Dietrich, K.M. Krafft and P.B. Hammond Effects of Prenatal Lead Exposure on Infant Size at Birth in Lead Exposure and Child Development an International Assessment. Edited by M.A. Smith, L.D. Grant, A.I. Sors. Kluwer Academic Publisher Dordrech/Boston/London 1988, pag. 307-319.

7.9 ATSDR (Agency for Toxic and Disease Registry). Toxicological Profile for Lead. Division of Toxicology/Toxicology Information Branch. Atlanta Georgia. 1997 pages 16-22 y 386.

7.10 Corey O., Galvao A. C. Plomo. Serie Vigilancia No. 8. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud, Organización Panamericana de la Salud. Metepec, Edo. de México 1989.

7.11 ATSDR (Agency for Toxic and Disease Registry). Case Studies in Environmental Medicine: Lead Toxicity. Atlanta Georgia. 1992.

- 7.12 Schnaas Ma. de L. Plomo y Nutrición. Cuadernos de Nutrición. México. Núm.1. Ene-Feb. 1998.
- 7.13 Vega-Contreras -ab Ríos-E-Marcheti-N Agurto-M. Lead exposure and its effects on child health. Rev. Child.-Pediatr. 1990 May-Jun, 6(3), 154-60.
- 7.14 Landrigan-PJ. Tood-AC. Lead poisoning. West-J-Med. 1994. Aug; 16(2):153-9.
- 7.15 Mushak-P. Crocetti-AF. Determination of numbers of lead exposure american children as a function of lead source: integrated summary of a report to the U.S. Congress on childhood lead poisoning. Environ-Res. 1989 Dec.; 50(2):210-29.
- 7.16 Albert L. Introducción a la Toxicología Ambiental. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. (ECO-OPS/OMS). Metepec. Edo. de México. México, 1997.
- 7.17 Isabelle Romieu, Eduardo Palazuelos, Mauricio Hernández Avila, Camilo Ríos, Ilda Muñoz, Carlos Jiménez and Gisela Cahero. Sources of Lead Exposure in Mexico City. Environmental Health Perspectives, Volume 102, Number 4, April 1994.
- 7.18 González-Cossío Teresa, PhD; Karen E. Peterson, ScD, RD; Luz-Elena Sanín, MD, MPHS; Eugenia Fishbein, BS; Eduardo Palazuelos, MD; Antonio Aro, PHD; Mauricio Hernández-Avila, MD, ScD; and Howard Hu, MD, ScD. Decrease in Birth Weight in Relation to Maternal Bone-Lead Burden. Pediatrics Vo. 100, No. 5 November 1997.

8. Concordancia con normas internacionales y mexicanas

Esta Norma es equivalente parcialmente con los criterios internacionales para las concentraciones de plomo en sangre en niños y adultos y acciones básicas de protección a la salud, establecidos por el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC), la Agencia para Sustancias Tóxicas y Registro de Enfermedades (ATSDR), Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de América (EPA), la Administración de Drogas y Alimentos de E.U.A. (FDA), y la Organización Mundial de la Salud (OMS).

9. Observancia de la norma

La vigilancia en el cumplimiento de esta Norma corresponde a la Secretaría de Salud y a los gobiernos de las entidades federativas, en sus respectivos ámbitos de competencia.

10. Vigencia

La presente Norma Oficial Mexicana con carácter emergente, tiene una vigencia de seis meses y entrará en vigor al día siguiente de su publicación en el **Diario Oficial de la Federación**.

Sufragio Efectivo. No Reelección.

México, D.F., a 16 de junio de 1999.- El Presidente del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, **José Ignacio Campillo García**.- Rúbrica.

APENDICE A**METODOS DE PRUEBA PARA DETERMINACION DE PLOMO EN SANGRE**

Este apéndice establece los métodos de prueba para la determinación de la concentración de plomo total en sangre entera mediante las técnicas de espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito y, como método alternativo, el de voltamperometría de redisolución anódica.

Los métodos aquí descritos señalan las etapas a seguir, iniciando con el manejo de la toma de muestra; su preparación; la preservación; el almacenamiento y la determinación del contenido de plomo en la misma por las diferentes técnicas señaladas.

Los laboratorios que realicen la determinación de plomo en sangre, deberán utilizar el método de prueba descrito en el Apéndice A de esta Norma; sin embargo, se podrá utilizar el método alternativo descrito en el mismo, siempre y cuando cumplan con los requisitos mencionados.

Es importante señalar que, en caso de que exista discrepancia en los resultados obtenidos siguiendo el método alternativo, se podrán confirmar dichos resultados, siguiendo el método para la determinación de plomo en sangre por espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito, corrector de fondo, con automuestreador, usando modificador de matriz y plataforma de L'vov., descrito en el Apéndice A.

1. Toma de la muestra

Para que los resultados de las determinaciones de plomo en sangre sean confiables, la colección y el manejo de muestras son factores importantes que hay que controlar adecuadamente, por lo que la muestra debe ser colectada por punción venosa en un lugar cerrado fuera del área de exposición y con las condiciones de higiene adecuadas para evitar la contaminación de la misma.

1.1 Material requerido:

Todo el material utilizado en el desarrollo de este método debe ser exclusivo para esta finalidad y no debe ser empleado para otras determinaciones, para prevenir cualquier tipo de contaminación por otras muestras.

1.1.1 Tubos de extracción de sangre al vacío de 3 a 10 ml de capacidad, que contengan el anticoagulante apropiado.

1.1.2 Anticoagulantes recomendados: K3EDTA (0.011 ml de una solución de EDTA al 15% /ml de sangre) o Na2EDTA (1.5 mg de EDTA/ml de sangre) y/o Heparina Sódica o de litio (143 unidades USP).

Se recomienda usar EDTA-tripotásico debido a que la heparina tiende a permitir la formación de micro-coágulos.

Únicamente para el método de prueba alternativo de Voltamperometría de Redisolución Anódica:

a) En caso de utilizar material con EDTA, se requiere que el tubo sea llenado completamente al tomar la muestra para que la concentración del anticoagulante sea la indicada.

b) Si la persona sujeta a análisis está bajo tratamiento con D-Penicilamina, se deben agregar 100 µl de una solución de cloruro de níquel, para evitar interferencias.

1.1.3 Agujas para toma múltiple estériles.

1.1.4 Adaptador o sujetador de plástico para los tubos al vacío.

1.1.5 Torniquete o liga de hule flexible.

1.1.6 Torundas de algodón.

1.1.7 Alcohol etílico 96°.

1.1.8 Solución de sulfuro de sodio (NaS) al 2% (opcional)¹.

1.1.9 Agua y algún producto limpiador dermatológicamente probado.

1.1.10 Recipiente adecuado para el desecho de material con residuos peligrosos, biológico-infecciosos (NOM-087-ECOL-1994).

1.1.11 Contenedores fríos o hieleras con refrigerantes.

1.1.12 Etiquetas adhesivas.

1.2 Procedimiento:

1.2.1 Lavar perfectamente el brazo, antebrazo y el área de punción con agua y algún producto limpiador dermatológicamente probado, libre de plomo, enjuagando con agua abundante y dejar secar. Es muy importante asegurarse que la superficie de la piel esté escrupulosamente limpia para prevenir contaminación por plomo, por tal motivo, en lugares expuestos a este metal, se recomienda hacer una prueba reveladora de la presencia de plomo aplicando una solución de sulfuro de sodio al 2% con una torunda humedecida en dicha solución.

En caso de realizar la prueba reveladora, la aparición de una coloración que varía desde café claro a negro, indica la presencia de plomo en la superficie de la piel, debiendo lavar nuevamente el área con agua y el producto limpiador escogido. Posteriormente, se debe realizar nuevamente la prueba con sulfuro de sodio al 2%, repitiendo este procedimiento hasta que no se presente coloración alguna.

¹ Se utilizará este reactivo, siempre y cuando se realice la prueba reveladora de la presencia de plomo en la superficie de la piel, descrita en el punto 1.2.1

Nota: El producto limpiador debe estar cubierto permanentemente para que no se contamine.

1.2.2 Identificar y etiquetar claramente el tubo con los datos necesarios.

1.2.3 Colocar la aguja en el adaptador o sujetador para tubos, después colocar el brazo en posición extendida a la altura de los músculos bíceps y hacer un torniquete.

Quitar la cubierta protectora de la aguja, frotar el área con una torunda humedecida con alcohol, localizar la vena y realizar la punción.

Presionar el tubo hacia el fondo del adaptador para romper el vacío de éste y empezar a coleccionar la sangre. Obtener al menos 2 ml de sangre entera. Para el método alternativo de Voltamperometría de Redisolución Anódica se debe coleccionar la sangre hasta llenar el tubo.

1.2.4 Una vez obtenida la sangre necesaria, retirar el torniquete, después retirar la aguja y colocar una torunda de algodón con alcohol haciendo presión en el sitio de la punción.

1.2.5 Agitar suavemente por inversión el tubo donde se colectó la muestra, al menos 20 veces, para mezclar el anticoagulante.

1.2.6 Colocar los tubos con la sangre colectada en gradillas.

1.3 Manejo, transporte y almacenamiento:

Las muestras tomadas deberán ser transportadas al laboratorio para su análisis. Esto implica tiempo, almacenaje y manejo de las mismas.

Cuando las muestras de sangre sean transportadas a distancias cortas y personalmente, podrán mantenerse a temperatura ambiente (25°C), por un lapso no mayor de 6 horas, hasta llegar al laboratorio donde deben refrigerarse a una temperatura de 4-8°C para su conservación y posterior análisis que no debe ser mayor a tres semanas.

Si la muestra va a ser transportada a distancias largas, se debe emplear un recipiente térmico para mantener las muestras a una temperatura fría y constante durante el tiempo de transporte, mediante unos refrigerantes. Las muestras deben estar colocadas en gradillas bien sujetas para evitar que se vayan a caer, golpear y quebrar. Las gradillas se deben poner dentro de la hielera en posición vertical junto con los refrigerantes para mantener una temperatura baja. Cerrar herméticamente la hielera e indicar mediante unas etiquetas la posición en la que debe mantenerse, la fragilidad del envío y el destino de la misma.

En caso de que el análisis de las muestras sea posterior a tres semanas, se deben congelar las muestras a -20°C.

Nota: El criterio para el rechazo de muestras es aplicable a: aquellas cuyo volumen sea menor a 2.0 ml (y para Voltamperometría de Redisolución Anódica, a la capacidad del tubo) y aquellas muestras en las que se sospeche de contaminación debido a manejos inadecuados evidentes.

Toda sangre humana se debe manejar considerándola como transmisora potencial de enfermedades contagiosas (Hepatitis y/o SIDA). Usar guantes quirúrgicos para prevenir el contacto con la piel. Lavarse muy bien las manos con agua y jabón después de manejar especímenes de sangre.

2. Limpieza del material utilizado para el análisis de las muestras

Todo el material de reuso, de vidrio y plástico utilizado para el análisis de muestras para la determinación de plomo total en sangre entera, debe seguir una serie de técnicas de limpieza con el fin de evitar alguna contaminación por plomo y polvo proveniente del medio ambiente.

2.1 Equipos, materiales y reactivos

2.1.1 Material de vidrio y/o plástico a utilizar (pipetas, matraces, vasos, probetas y botes de polipropileno).

2.1.2 Jabón o solución limpiadora catiónica al 2.0%.

2.1.3 Solución de Acido Nítrico (HNO₃) (10%).

2.1.4 Agua deionizada.

2.1.5 Estufa con temperatura de 70°C.

2.1.6 Recipiente de vidrio o plástico grande.

2.1.7 Bolsas de plástico.

2.2 Procedimiento para el lavado:

- Lavar con agua corriente el material de vidrio y/o plástico.
- Sumergir el material en una solución de detergente catiónico al 2.0%, al menos durante 2 horas.
- Enjuagar con agua deionizada.
- Colocar el material en un recipiente grande de plástico o vidrio que contenga ácido nítrico al 10%, dejándolo reposar durante toda la noche.
- Enjuagar abundantemente con agua deionizada.
- Secar perfectamente el material dejándolo escurrir o en la estufa a una temperatura de 70°C por un tiempo de 2 a 3 horas.
- Dejar enfriar el material sobre una superficie teniéndolo cubierto para evitar que le caiga polvo, entre otros.
- Guardar el material en bolsas de plástico para evitar la contaminación por polvo.

3. Método de prueba

ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORCION ATOMICA CON HORNO DE GRAFITO, CORRECTOR DE FONDO, MODIFICADOR DE MATRIZ Y PLATAFORMA DE L'VOV.

Método para la determinación de plomo en sangre total por espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito, corrector de fondo y preferentemente con muestreador automático, usando modificador de matriz y plataforma de L'vov.

Este método es adecuado para evaluar el plomo en sangre total que tenga concentraciones de este metal hasta 80 µg/dl. Sin embargo, pueden ser determinados niveles mayores de plomo cuando se aplican diluciones a la muestra original.

3.1 Principio del método.

A partir de muestras de sangre y estándares de concentración conocida, se obtienen átomos de plomo en estado elemental; se hace pasar a través de éstos un haz de luz de 283.3 nm y se mide la cantidad de luz absorbida, que es proporcional al número de átomos presentes; para ello:

- a) se acondicionan las muestras de sangre y los estándares con modificador de la matriz;
- b) se colocan en forma individual y automatizada en una plataforma de L'vov de temperatura estable, instalada en un tubo de grafito pirolítico;
- c) se someten a un tratamiento térmico inducido por resistencia eléctrica;
- d) se hace pasar a través de la nube atómica obtenida, un haz de luz generado por lámparas específicas de cátodo hueco o de descarga sin electrodo;
- e) se obtiene la respuesta instrumental de absorbancia integrada, usando un corrector de fondo, y
- f) se compara la absorbancia de muestras y estándares para obtener la concentración de plomo en la sangre estudiada.

3.2 Reactivos

Todas las sustancias químicas deben cumplir con los requerimientos de pureza:

- a) Agua deionizada tipo 1; 18 MW cm-1.
- b) Acido nítrico ultrapuro.
- c) Fosfato dibásico de amonio ultrapuro (NH₄)₂ HPO₄.
- d) Octil-fenoxi-polietoxietanol (Tritón X-100), densidad de 1.095 g/ml.
- e) Estándar certificado de plomo
1000 µg/ml
- f) Control certificado de plomo en sangre.

3.3 Material y equipo

3.3.1 Espectrofotómetro de absorción atómica equipado con horno de grafito, corrector de fondo y preferentemente con muestreador automático.

3.3.2 Lámpara de plomo de cátodo hueco o de descarga sin electrodos.

3.3.3 Utilizar argón o nitrógeno como gas de purga, de grado UAP.

3.3.4 Sistema de registro.

3.3.5 Tubos de grafito pirolítico.

3.3.6 Plataformas de L'vov.

3.3.7 Probetas de 10 ml.

3.3.8 Micropipetas con capacidad de: 20 µl volumen fijo; y de 100 µl y 1000 µl volumen variable.

3.3.9 Puntas de plástico para micropipetas.

3.3.10 Matraces volumétricos de: 10, 100 y 1000 ml.

3.3.11 Tubos de ensayo de plástico o copas de muestreo en caso de usar equipo automuestreador.

3.3.12 Guantes para trabajo en el laboratorio.

3.3.13 Material común de laboratorio.

3.4 Preparación de la muestra y estándares

Nota: Usar siempre agua ultrapura.

a) Solución matriz modificadora:

En un matraz aforado de 100 ml añadir 0.2 g. de fosfato dibásico de amonio y la cantidad mínima de agua para obtener su disolución, adicionar 0.5 ml de Tritón X-100 y 0.2 ml de ácido nítrico ultrapuro. Mezclar y aforar con agua deionizada.

b) Solución de lavado para el automuestreador:

Se colocan unos 200 ml de agua caliente (40-50°C) en un recipiente de polipropileno de 2 litros previamente lavado con agua y ácido.

Agregar al recipiente de polipropileno 10 ml de Tritón X-100 medidos en una probeta o pipeta de 10 ml, agitar hasta disolución del reactivo.

Lavar 3 veces la probeta o pipeta volumétrica con agua caliente (40-50°C) y agregar el agua de lavado al recipiente de polipropileno.

Llenar con agua el recipiente de polipropileno hasta un 90% de su volumen total y agitar para mezclar la solución.

Adicionar el agua faltante, según lo permita el nivel de espuma formado (esta solución se prepara según se requiera por el equipo).

c) Preparación de estándares:

c.1 Solución Patrón de Plomo [1000 µg/ml]

De acuerdo con las instrucciones de dilución del fabricante, obtener una solución patrón de 1000 µg/ml en ácido nítrico ultrapuro al 5%. Preparar cada 6 meses.

c.2 Solución intermedia de plomo [10 µg/ml]

En un matraz volumétrico de 100 ml poner 1 ml de solución patrón de plomo [1000 µg/ml] y 5 ml de ácido nítrico y aforar con agua. Preparar cada mes.

c.3 Soluciones de trabajo

Preparar cada semana los estándares de trabajo de 50, 100, 250, 500 y 750 µg/l (5, 10, 25, 50 y 75 µg/dl) de la siguiente manera:

De la solución intermedia de plomo [10 µg/ml]

tomar las siguientes alícuotas, y colocarlas en matraces volumétricos de 10 ml.

Solución intermedia de plomo [10 µg/ml] alícuotas	Agregar HNO ₃ µl	Aforo con agua ⇒	Concentración de las soluciones de trabajo
50 µl	500	⇒	50 µg/l o 5 µg/dl
100 µl	500	⇒	100 µg/l o 10 µg/dl
250 µl	500	⇒	250 µg/l o 25 µg/dl
500 µl	500	⇒	500 µg/l o 50 µg/dl
750 µl	500	⇒	750 µg/l o 75 µg/dl

Nota: Se podrán preparar soluciones de trabajo de una concentración dentro del intervalo de linealidad del método (desde el límite de cuantificación hasta 80 g/dl de concentración).

d) Preparación de estándares de calibración y de las muestras.

Preparar los estándares de calibración en tubos de ensaye o en las copas de muestreo, en caso de usar equipo automuestreador.

d.1 Elaboración de una curva de calibración normal con estándares de plomo acuosos y modificador de matriz.

Preparar los estándares de calibración y las muestras como se describe en el cuadro No. 1, cumpliendo con el intervalo de concentración del cuadro.

	MODIF MATRIZ	AGUA µl	SOLUCIONES DE TRABAJO					MUESTRAS µl	CC µl
			50 (µg/l)	100 (µg/l)	250 (µg/l)	500 (µg/l)	750 (µg/l)		
BLANCO REACTIVO	µl 900	100	-	-	-	-	-	-	-
ESTANDARD 5	900	-	100	-	-	-	-	-	-
ESTANDARD 10	900	-	-	100	-	-	-	-	-
ESTANDARD 25	900	-	-	-	100	-	-	-	-
ESTANDARD 50	900	-	-	-	-	100	-	-	-
ESTANDARD 75	900	-	-	-	-	-	100	-	-
MUESTRAS	900	-	-	-	-	-	-	100	-
*CC	900	-	-	-	-	-	-	-	100

* CC (Control Certificado de plomo en sangre)

d.2 Elaboración de una curva de calibración con adición de estándar

Preparar los estándares de calibración y las muestras como se describe en el cuadro No. 2. Usar una muestra de sangre previamente analizada según el punto 3.4, con bajo contenido de plomo £ 10.00 mg/dl como sangre base, la cual debe tener el mismo anticoagulante que las muestras por analizar.

Homogeneizar la muestra de sangre con agitación suave y adicionar la alícuota al modificador de matriz, enjuagar y mezclar mediante bombeo repetido con la micropipeta, utilizando la punta como agitador para eliminar de ésta toda traza de sangre.

CUADRO No. 2

	MODIF MATRIZ µl	AGUA µl	SOLUCIONES DE TRABAJO				SANGRE BASE 750(µg/l)	MUESTRAS µl	CC µl
			50(µg/l)	100(µg/l)	250(µg/l)	500(µg/l)			
BLANCO REACTIVO ESTANDARD 5	800	100	-	-	-	-	100	-	-
ESTANDARD 10	800	-	100	-	-	-	100	-	-
ESTANDARD 25	800	-	-	100	-	-	100	-	-
ESTANDARD 50	800	-	-	-	100	-	100	-	-
ESTANDARD 75	800	-	-	-	-	100	100	-	-
MUESTRAS	900	-	-	-	-	-	-	100	-
*CC	900	-	-	-	-	-	-	-	100

* CC (Control Certificado de plomo en sangre)

3.5 Procedimiento

3.5.1 El área de preparación y análisis de las muestras debe estar limpia y libre de polvo.

3.5.2 Los parámetros instrumentales son los siguientes:

Longitud de onda: 283,3 nm.

Tipo de señal: absorción atómica con corrección de fondo.

Medición de la señal: Area del pico.

Anchura de banda: De acuerdo con las especificaciones del fabricante.

Los parámetros, tales como las temperaturas y los tiempos de: secado, calcinado y atomizado del horno de grafito, se establecen de acuerdo con las especificaciones del fabricante.

3.5.3 Análisis de la muestra

Una vez preparados los estándares de calibración, proceder a analizarlos, operando el equipo de absorción atómica de acuerdo con las instrucciones del fabricante, usando la longitud de onda de 283.3 nm. Usar corrector de fondo.

El análisis se realiza por duplicado, tomando 20 ml de muestra.

3.5.4 Curva de calibración

Realizar una curvan absorbancia vs concentración con estándares acuosos de plomo o una curva de calibración de adición de estándar, debiendo obtener un coeficiente de correlación $r^2 \geq 0.990$; una pendiente menor a 0.035 y una intersección en el eje Y menor a 0.003

3.5.5 Control de calidad

Analizar el control certificado de plomo en sangre inmediatamente después de la calibración y al menos cada 20 muestras leídas, para comprobar la calidad de los resultados.

En caso de que la lectura del estándar de calidad esté fuera del intervalo, recalibrar y repetir las lecturas del último lote de muestras.

Cuando alguna muestra exceda el intervalo lineal definido con esta curva, se analizará nuevamente, realizando una dilución 1:20 de la siguiente manera: 100 µl de sangre más 1900 µl de modificador de matriz.

3.5.6 Expresión de los resultados

Calcular la concentración de las muestras, se determina por interpolación en la gráfica de la curva de calibración o utilizando la ecuación de la recta de regresión calculada.

Para muestras que se han diluido, considerar el factor de dilución.

La concentración de plomo en las muestras se reportan directamente en $\mu\text{g}/\text{dl}$

3.5.7 Límite de detección

Límite de detección 1.45 μg de plomo/dl de sangre (0.07 μmol de plomo / l de sangre).

3.5.8 Linearidad

Desde el límite de cuantificación hasta 80.00 μg de plomo / dl de sangre (3.86 μmol de plomo / l de sangre).

3.5.9 Precisión

Coefficiente de variación (% de desviación estándar relativa) = 10%

4. Método de prueba alternativo

VOLTAMPEROMETRIA DE REDISOLUCION ANODICA

Método para la determinación de plomo en sangre total por voltamperometría de redisolución anódica.

La técnica requiere de muestras pequeñas como μl . Este método es adecuado para evaluar el plomo en sangre total que tenga concentraciones de este metal hasta 80 $\mu\text{g}/\text{dl}$.

4.1 Principio del método.

Es un método electroquímico de óxido -reducción. Remoción voltamétrica anódica, virtualmente libre de interferencias.

En una primera etapa, el plomo de la muestra se deposita sobre un microelectrodo, después de un tiempo perfectamente medido se para la electrólisis y la agitación. En la segunda etapa se redissuelve el plomo variando el potencial. Trazar una curva intensidad contra potencial. En la curva de intensidad potencial se obtiene un pico correspondiente a la oxidación del plomo. El área bajo la curva es directamente proporcional a la concentración de plomo adecuado a los estándares correspondientes.

4.2 Reactivos

Los recomendados por los fabricantes de voltímetros, los cuales son suministrados de acuerdo con la concentración de trabajo.

a) Reactivo electroquímico para la prueba, recomendado por el fabricante, el cual contiene:

Cloruro de cromo ($\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) . 1.07% en peso.

Acetato de Calcio ($\text{Ca}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$), 1.43% en peso.

Mercurio Iónico 0.0028% en peso.

Agentes tensoactivos para eliminar la espuma.

Acidos y soluciones buffers para controlar el pH.

b) Agua desionizada tipo 1; 18 MW cm^{-1} .

c) Controles de calibración de plomo específicos para voltimetría de concentración conocida baja y alta (5 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 2 y 60 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 5), los recomendados por el fabricante.

4.3 Material y equipo

Todo el material que se utilice en la determinación de plomo en sangre y que se encuentre en contacto con el aparato o la sangre debe estar libre de plomo.

4.3.1 Voltímetro y reactivo de acuerdo con lo recomendado por el fabricante.

4.3.2 Micropipetas de 100 μl .

4.3.3 Puntas de plástico para micropipetas.

4.3.4 Guantes apropiados para el trabajo en el laboratorio.

4.3.5 Material común de laboratorio.

4.4 Preparación del equipo:

De acuerdo con las indicaciones del fabricante, tomando en cuenta el número de lecturas recomendadas por el mismo.

4.5 Calibración del aparato

El equipo debe ser calibrado utilizando los controles de calibración de baja y alta concentración de plomo, los cuales deben ser leídos por duplicado, ambas lecturas deben estar dentro del intervalo estipulado por el fabricante.

4.6 Control de calidad

Analizar el control certificado de plomo en sangre inmediatamente después de la calibración y al menos cada 20 muestras leídas, para comprobar la calidad de los resultados.

En caso de que la lectura del control de plomo certificado esté fuera del intervalo, recalibrar y repetir las lecturas del último lote de muestras.

Cuando alguna muestra exceda el intervalo lineal definido con esta curva, se analizará nuevamente, realizando una dilución al 50%.

4.7 Procedimiento:

En un tubo con 2.9 ml de reactivo electroquímico para la prueba, se agregan 100 µl de sangre homogeneizada directamente al reactivo, teniendo cuidado de no depositar la sangre en las paredes del tubo.

La preparación de las muestras se realiza por duplicado.

Agitar suavemente hasta que el precipitado que se forma sea disuelto y cuidar de no hacer mucha espuma.

El procedimiento del análisis se realizará de acuerdo con las condiciones indicadas por el fabricante por lo que se refiere a la forma de inicio, tiempo requerido para hacer la lectura, forma en que se da la lectura y enjuague del electrodo.

Se prosigue de esta manera hasta leer el número de muestras recomendadas por el fabricante. En general, son 120 muestras.

4.8 Expresión de los resultados

La concentración del plomo en la muestra se reporta directamente en µg/dl.

4.9 Límite de detección

Límite de detección 1.45 µg de plomo/dl de sangre (0.07 µmol de plomo / l de sangre).

4.10 Linearidad

Desde 3mg/dl hasta 80.00 µg de plomo / dl de sangre (3.86 µmol de plomo / l de sangre).

4.11 Precisión

Coefficiente de variación (% de desviación estándar relativa) = 10%.