

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DEL BIOLOGÍA



PREDICCIÓN DEL RIESGO OCUPACIONAL AL MERCURIO MEDIANTE
GENOTOXICIDAD POR EXPOSICIÓN EN EL PROCESO DE
QUIMBALETE MINERO ARTESANAL, RINCONADA-PUNO 2016
TESIS

PRESENTADO POR:

Br. RONAL REYNALDO ZAPANA QUISPE

PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PUNO – PERÚ

2017



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DEL BIOLÓGIA

PREDICCIÓN DEL RIESGO OCUPACIONAL AL MERCURIO MEDIANTE
GENOTOXICIDAD POR EXPOSICIÓN EN EL PROCESO DE QUIMBALETE
MINERO ARTESANAL, RINCONADA – PUNO 2016
TESIS

PRESENTADO POR:

BR. RONAL REYNALDO ZAPANA QUISPE
PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
LICENCIADO EN BIOLÓGIA

APROBADO POR EL JURADO REVISOR CONFORMADO POR:

PRESIDENTE


M.g. MARTHA APARICIO SAAVEDRA

PRIMER MIEMBRO


M.Sc. VICKY CRISTINA GONZALES ALCOS

SEGUNDO MIEMBRO


Mg. DANTE MAMANI SAIRITUPAC

DIRECTORA DE TESIS


Mg. CIRIA IVONNE TRIGOS RONDON

AREA : Ciencias Biomédicas
LINEA: Diagnóstico y Epidemiología
TEMA : Fluidos Biológicos del Hombre (Toxicología)

FECHA DE SUSTENTACION: 21 de diciembre del 2017

DEDICATORIA

A mis queridos padres Ramón Donato y Fidela a quienes amo , admiro y agradezco por todo su apoyo y comprensión, que hicieron realidad este logro en mi vida, el de ser profesional.

A mis hermanos Cesar, Juan Carlos y Katherin, que colaboraron siendo una fuente de amor, cariño y comprensión durante mi formación profesional.

A todos mis primos, amigos y amigas que siempre estuvieron ahí, para darme su apoyo y amor incondicional en mi formación profesional.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, a la virgen de la Candelaria por su protección, sabiduría y consuelo en la mayor parte de mi vida.

Agradezco a la Universidad Nacional Del Altiplano y a mi Facultad De Ciencias Biológicas por estos 5 años de mi formación académica.

Mis más sinceros agradecimientos y mi reconocimiento a la Mg. Ciria Ivonne Trigos Rondon, por la dirección y conducción de este trabajo.

Agradecimiento especial a la M.Sc. Martha Aparicio Saavedra, M.Sc. Vicky Cristina Gonzales Alcos y al Mg. Dante Mamani Sairitupac.

Mis más sinceros agradecimientos al Dr. George Argota Pérez, por su apoyo desinteresado y su amistad incondicional.

Agradezco a las autoridades de nuestra primera casa de estudio "Universidad Nacional del Altiplano", por su trabajo de nobleza y apoyo a la juventud, no solo de la región de Puno, sino del Perú.

Agradezco a las autoridades y docentes de la gloriosa "Facultad de Ciencias Biológicas", por su preocupación y esfuerzo en la formación de los estudiantes durante el periodo de estudio.

INDICE GENERAL

CONTENIDO	PAGINA
I. INTRODUCCION.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1 ANTECEDENTES.....	3
2.2 MARCO TEORICO.....	6
2.3. MARCO CONCEPTUAL.....	17
III. MATERIAES Y MÉTODOS	19
3.1 Ámbito de estudio	19
3.2 Tipo de estudio.....	19
3.3 Población y muestra	19
3.4. Metodología	20
3.4. MÉTODO ESTADÍSTICO	24
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	25
4.1. Determinación de la relación de la concentración de mercurio en sangre de los mineros, según el tiempo de exposición y edad en el proceso de quimbalete minero artesanal.....	25
4.2. Determinación de la relación de genotoxicidad de células sanguíneas mediante la identificación de micronúcleos en hematíes según el tiempo de exposición y edad en el proceso de quimbalete minero artesanal.....	30
4.3 Determinación del riesgo ocupacional en el proceso de quimbalete minero artesanal.....	35
V. CONCLUSIONES	40
VI. RECOMENDACIONES	41
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	42

INDICE DE TABLAS

CONTENIDO	PAGINA
Tabla 1.Contenido corporal de mercurio. _____	9
Tabla 2.Criterios para seleccionar células con presencia de micronúcleos. _____	13
Tabla 3.Concentración de mercurio en trabajadores expuestos durante el proceso de quimbalete minero artesanal (Puno, setiembre 2016 – marzo 2107). _____	25
Tabla 4.Concentración de mercurio en trabajadores expuestos durante el proceso de quimbalete minero artesanal, según tiempo de exposición (Puno, setiembre 2016 – marzo 2107). _____	26
Tabla 5. ANOVA de la concentración de mercurio en trabajadores expuestos durante el proceso de quimbalete minero artesanal, según tiempo de exposición (Puno, setiembre 2016 – marzo 2107). _____	27
Tabla 6.Concentración de mercurio en trabajadores expuestos durante el proceso de quimbalete minero artesanal, según edad (Puno, setiembre 2016 – marzo 2107). _____	28
Tabla 7.ANOVA de la concentración de mercurio en trabajadores expuestos durante el proceso de quimbalete minero artesanal, según edad (Puno, setiembre 2016 – marzo 2107). _____	29
Tabla 8.Valores de genotoxicidad por recuento de micronúcleos en trabajadores durante el proceso de quimbalete artesanal (Puno, setiembre 2016 – marzo 2107). _____	30
Tabla 9.Valores de genotoxicidad por recuento de micronucleos en trabajadores durante el proceso de quimbalete artesanal, según tiempo de exposición (Puno, setiembre 2016 – marzo 2107). _____	31
Tabla 10. ANOVA de los valores de genotoxicidad por recuento de micronucleos en trabajadores durante el proceso de quimbalete artesanal, según tiempo de exposición (Puno, setiembre 2016 – marzo 2107). _____	32
Tabla 11.Valores de registro para genotoxicidad por recuento de micronúcleos en trabajadores durante el proceso de quimbalete artesanal, según edad (Puno, setiembre 2016 – marzo 2107). _____	33

Tabla 12. Valores de registro para genotoxicidad por recuento de micronúcleos en trabajadores durante el proceso de quimbalete artesanal, según edad (Puno, setiembre 2016 – marzo 2107).	33
Tabla 13. Aplicación de la matriz genérica de exposición de riesgo ocupacional mediante puntuación ya establecidos (Puno, setiembre 2016 – marzo 2107).	36
Tabla 14. Aplicación de la matriz genérica para el riesgo con base en asesoría (Puno, setiembre 2016 – marzo 2107).	37
Tabla 15. Consentimiento informado. (Puno-setiembre, 2016)	51
Tabla 16. Declaración de consentimiento informado. (Puno-setiembre, 2016)	52
Tabla 17. Ficha toxicológica ocupacional. (Puno – Setiembre, 2016).	67

INDICE DE FIGURAS

CONTENIDO	PAGINA
Figura 1. Formación de micronúcleos -----	13
Figura 2. Aberraciones cromosómicas (Tomado de Fenech, 2000).-----	14
Figura 3. Certificación de Acreditación para Bluftein Laboratorio Clínico. (Puno- setiembre, 2016). -----	53
Figura 4. Certificación de Acreditación para Bluftein Laboratorio Clínico. -----	54
Figura 5. Certificación de Acreditación para Bluftein Laboratorio Clínico -----	55
Figura 6. Guía de identificación de Ensayo por formación de micronúcleos. (Puno- setiembre, 2016) -----	56
Figura 7. Código de puntuación / matriz genérica de riesgo ocupacional. (Riesgo presumible).-----	57
Figura 8. Código de puntuación / matriz genérica de riesgo ocupacional. (Riesgo presumible).-----	57
Figura 9. Código de puntuación / matriz genérica de riesgo ocupacional. (Riesgo presumible).-----	58
Figura 10. Código de puntuación / matriz genérica de riesgo ocupacional. (Riesgo presumible).-----	58
Figura 11. Código de puntuación / matriz genérica de riesgo ocupacional. (Riesgo presumible).-----	59
Figura 12. Código de puntuación / matriz genérica de riesgo ocupacional. (Riesgo con base en asesoría). -----	59
Figura 13. Código de puntuación / matriz genérica de riesgo ocupacional. (Riesgo con base en asesoría). -----	60
Figura 14. Código de puntuación / matriz genérica de riesgo ocupacional. (Riesgo con base en asesoría). -----	60
Figura 15. Código de puntuación / matriz genérica de riesgo ocupacional. (Riesgo de condiciones de trabajo y daño a la salud).-----	61
Figura 16. Código de puntuación / matriz genérica de riesgo ocupacional. (Riesgo de condiciones de trabajo y daño a la salud).-----	61

Figura 17. Código de puntuación / matriz genérica de riesgo ocupacional. (Riesgo de condiciones de trabajo y daño a la salud).-----	62
Figura 18. Código de puntuación / matriz genérica de riesgo ocupacional. (Ponderado final)-----	62
Figura 19. Código de puntuación / matriz genérica de riesgo ocupacional. (Riesgo ocupacional final)-----	62
Figura 20. Ubicación geográfica. (Puno – Junio del 2016). -----	65
Figura 21. Quimbaletes y quimbalereros en pleno trabajo (Puno – Setiembre, 2016) -	66

RESUMEN

La exposición e intoxicación por mercurio (Hg), ha sido referenciada en muchas ocasiones y lugares. El uso indiscriminado de precursores químicos en actividades ilícitas como la minería ilegal de oro, que se ha incrementado considerablemente en los últimos años llevado a que esta sea una de las más peligrosas para los ecosistemas y especies presentes en ella. El objetivo de la investigación fue determinar el riesgo ocupacional al mercurio mediante genotoxicidad por exposición en el proceso de quimbalete minero artesanal, Rinconada – Puno. El estudio se realizó en octubre del 2016, siendo 15 trabajadores voluntarios, los cuales cumplieron con los criterios de inclusión por exposición directa al mercurio y periodo de tiempo según vida toxicocinética promedio (4 horas diarias) en fluido para respuesta adversa. El riesgo ocupacional se determinó mediante los niveles de mercurio total por espectrofotometría de absorción atómica a vapores fríos, en tanto el análisis de genotoxicidad se llevó a cabo mediante la técnica de tinción de Wright donde se identificaron la presencia de micronúcleos y para la determinación del factor de riesgo se aplicó una matriz genérica de exposición. Resultados: La concentración promedio de mercurio total en sangre fue de $4.46 \pm 2.84 \mu\text{g/l}$ con una alteración genotóxica del 100% con un promedio de $0.0101 \pm 0,0087 \text{ MN}$ y un factor de riesgo MEDIO con una puntuación de 23,0. El análisis de ANOVA, arrojó que existió relación significativa entre la concentración de mercurio total (F: 0.008) y la formación de micronúcleos (F: 0.019) con el tiempo de exposición, en cambio no existe una relación significativa entre la concentración de mercurio total y la formación de micronúcleos con la edad fisiológica. La matriz genérica de exposición de riesgo ocupacional, indicó una clasificación de tipo MEDIO. Se concluyó que, existe riesgo en los trabajadores quimbaleteros mineros artesanales ante la exposición al mercurio, ya que sus concentraciones generaron daños genotóxicos, independientemente de lo mostrado por la matriz genérica.

Palabras clave: *Ocupacional, Mercurio, Genotoxicidad, Micronúcleo, Matriz genérica, minería, Puno.*

ABSTRACT

Exposure and poisoning by mercury (Hg), has been referenced in many occasions and places. The indiscriminate use of chemical precursors in illicit activities such as illegal gold mining, which has increased considerably in recent years, making it one of the most dangerous for the ecosystems and species present in it. The objective of the research was to determine the occupational risk to mercury through genotoxicity due to exposure in the artisan quimbalete mining process, Rinconada - Puno. The study was conducted in October 2016, with 15 volunteer workers, who met the inclusion criteria for direct exposure to mercury and time period according to average toxicokinetic life (4 hours a day) in fluid for adverse response. The occupational risk was determined by the total mercury levels by cold vapor atomic absorption spectrophotometry, while the genotoxicity analysis was carried out using the Wright stain technique where the presence of micronuclei was identified and for the determination of the factor risk was applied a generic exposure matrix. Results: The average concentration of total mercury in blood was $4.46 \pm 2.84 \mu\text{g} / \text{l}$ with a genotoxic alteration of 100% with an average of $0.0101 \pm 0.0087 \text{ MN}$ and a MEDIUM risk factor with a score of 23.0. The analysis of ANOVA, showed that there was a significant relationship between the concentration of total mercury (F: 0.008) and the formation of micronuclei (F: 0.019) with the exposure time, however there is no significant relationship between the total mercury concentration and the formation of micronuclei with physiological age. The generic occupational risk exposure matrix indicated a MEDIUM type classification. It was concluded that, there is a risk in artisanal quimbaleteros mining workers before exposure to mercury, since their concentrations generated genotoxic damages, independently of what is shown by the generic matrix.

Keywords: Occupational, Mercury, Genotoxicity, Micronucleus, Matrix, Puno.

I. INTRODUCCION

El mercurio es un metal en estado líquido (Department of Health and Human Services-Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1999), el cual se utiliza en el proceso de separación del oro. Durante dicho proceso, algunos trabajadores pertenecientes a la minería artesanal, utilizan los quimbaletes para triturar la arenilla que es mezclada con el mercurio donde por lo general, este es llevado a cabo sin medios de protección. IARC (2002), la exposición laboral al mercurio, es fundamentalmente por vía respiratoria y donde los principales efectos ocasionados son de tipo neuróticos, nefrotóxicos y genotóxicos, aun cuando las concentraciones pueden ser bajas (ATDRS, 1999).

En los últimos años, la determinación de daños genotóxicos mediante la aplicación del ensayo por formación de micronúcleos en distintas células como por ejemplo; las epiteliales de exfoliación, ha cobrado gran importancia, siendo muy aplicada en grupos y actividades con alta gama de vulnerabilidad como la minería aurífera (Suhas *et al.*, 2004), así como este tipo de ensayo, posibilita valorar la inestabilidad genética (Zalacain, Sierrasesumaga y Patiño, 2005), siendo actualmente validado y aceptado por protocolos internacionales (Fenech *et al.*, 1999).

Los micronucleos son indicadores de daño cromosómico de tipo numérico y estructural, los cuales permiten evaluar la aneugenicidad y clastogenicidad de una sustancia compuesto o mezcla con potenciales de daños genotóxicos (Norppa *et al.*, 1993). Generalmente, estos tipos de daños genotóxicos ocurren durante la etapa de mitosis por una rotura de la cromátina o por la migración cromosómica durante la anafase y se manifiesta como un pequeño núcleo en la célula interfásica (Suhas *et al.*, 2004).

Según Deza (2002), entre los primeros productores de oro a nivel mundial, la República del Perú se sitúa en el octavo lugar desde 1998, asimismo Buezo de Manzanedo (2005), refiere en lo particular que, la minería en pequeña escala, explota casi exclusivamente oro y la misma se desarrolla principalmente en seis regiones del país encontrándose Puno dentro de ellas. La Rinconada, localidad ubicada en el distrito de San Antonio de Putina-Puno, presenta el mayor registro de actividad artesanal e informal, pudiendo observarse que la misma es desarrollada con incumplimientos sobre protección de medios laborales y por ende; el riesgo de exposición al mercurio, puede generar efectos adversos a la salud

humana de forma irreversible, por lo que se hace necesario para la determinación de predicciones de riesgo ocupacional, el uso de herramientas analíticas tempranas para tal finalidad. Es por ello que, la investigación presentó lo siguiente objetivos:

- **Objetivo general**

Predecir el riesgo ocupacional al mercurio mediante la genotoxicidad por exposición en el proceso de quimbalete minero en la Rinconada – Puno, 2016.

Objetivos específicos

Determinar la relación de la concentración de mercurio en sangre de los mineros, según el tiempo de exposición y edad en el proceso de quimbalete minero artesanal.

Determinar la relación de genotoxicidad de células sanguíneas mediante la identificación de micronúcleos en hematíes según el tiempo de exposición y edad en el proceso de quimbalete minero artesanal.

Determinar el riesgo ocupacional en el proceso de quimbalete minero artesanal.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 ANTECEDENTES

La pequeña minería artesanal, es “el tipo de minería más primaria, caracterizada por individuos o grupos de individuos que explotan depósitos en pequeña escala con métodos manuales o equipos muy simples”. La calificación de “informal” de la actividad minera artesanal radica en el hecho que desarrolla sus actividades sin poseer derechos mineros propios o en terrenos de terceros, sin la debida autorización. (M.E.N. Perú, 2015), El año 2005, el PNUMA publicó un extenso documento denominado Evaluación Mundial Sobre el Mercurio en el cual se llamaba la atención de los gobiernos, las industrias y la sociedad civil sobre los peligros del mercurio para la salud (Arana, 2009).

El mayor impacto ambiental es causado por la contaminación por mercurio. Se estima que el mercurio producido por la minería artesanal, en el área de Ica –Arequipa – Ayacucho y Puno, alcanza un volumen aproximado de 105 toneladas al año, correspondiendo 85 toneladas a mercurio líquido y 20 toneladas a mercurio gaseoso (M.E.N. Perú, 2015). En el centro poblado de la rinconada se determinó que recuperar 1 gramo de oro, se necesita entre 5-8 gramos de mercurio, siendo valorado como consecuencia, la emanación de sus vapores en las etapas de amalgamación y refogeo que pueden tener incidencia directa y negativa sobre los propios trabajadores, (Cuentas y Velarde 2002). La falta de información sobre protección y manejo de insumos químicos en la mina rinconada es un problema de nunca acabar.

En un estudio por Mamani (2012) determinó que el 62% de trabajadores poseen conocimiento deficiente, el 28% conocimiento regular sobre medidas preventivas y efectos tóxicos: referente a los aspectos relacionados al mercurio la mayor parte de los trabajadores tienen conocimiento incorrecto: el 58% sobre amalgamación, el 48% en vía de ingreso, el 74% en población de mayor riesgo, y en efectos tóxicos del mercurio la gran parte posee conocimiento incorrecto: el 70% en vías respiratorias, el 54% en sistema nervioso y a nivel de los ojos, el 52% a nivel de los oídos, el 68% en vía digestiva.

El mercurio pertenece a un grupo grande de agente genotoxico capas de inducir a la formación de alteraciones del ADN (Micronucleos) (OMS, 2015). La asociación del daño genotoxico con el mercurio se vio reflejado en varias investigaciones, tales

investigaciones sugieren que los daños genotóxicos registrados pueden estar asociados a la actividad minera como consecuencia de la liberación de metales pesados, teniendo resultados cuantitativos, la concentración de medias de Hg en sangre de los habitantes de ($<5.80 \mu\text{g/L}$) establecidos por la EPA. Se registró daño en el ADN ($\text{FAM} = 0.18 - 2.56$) en sangre de habitantes de la mina el Alacrán (Madrid, 2012). Como también en Colombia en un estudio se determinó la exposición de mercurio total en sangre en individuos clasificados como controles, estuvo en el rango de $0.1-0.2 \mu\text{g/L}$ y su formación por micronúcleos en células inmunológicas (linfocitos) osciló entre 0.008 ± 0.0014 , resultados fueron generados a efectos de mezclas con aguas infiltradas procedentes de zonas con actividad minera, ubicada al norte de Antioquia y el sur de Bolívar (Hernández *et al.*, 2014).

En el departamento de Córdoba al norte de Colombia se realizó un investigación donde evaluaron la exposición al mercurio en la mina de oro Alacran, teniendo como resultado que niveles de Hg-T en orina que estuvieron alrededor de $3.16 \mu\text{g/l}$ y $339.15 \mu\text{g/l}$, siendo justificado por la exposición ocupacional de los trabajadores. De igual forma, el 28.6% de los trabajadores presentaron concentraciones de mercurio que estuvieron por encima al valor recomendado por la Organización Mundial de la Salud que establece solo un $20 \mu\text{g/l}$ (Mesquidaz *et al.*, 2013), en cambio en Cuba se realizó una investigación sobre: marcadores de estrés oxidativo y genotoxicidad en trabajadores cubanos con exposición ocupacional prolongada al mercurio, donde se obtuvo: que hubo un incremento significativo en el daño en el ADN donde al realizarse la comparación con individuos no expuestos se encontró, un riesgo incrementado en 6.2 veces con respecto a los valores de peróxidos (IC 95%: 1.3-3.0) y 9.3 veces al daño en ADN (IC 95%: 1.3-30), concluyéndose que al eliminarse la exposición, los niveles de peróxido y el daño al ADN pudieron ser reducidos en el 31 y 51% de los trabajadores muestreados (Riveñon *et al.*, 2014).

La exposición al mercurio trae como consecuencia muchas enfermedades ya descritas por varios autores, como daños nefrológicos, neurológicos, entre otras, las minas debieran ser consideradas como actividades potencialmente peligrosos para la salud (Arana 2009), en el departamento de toxicología de la Universidad de Antioquia de Colombia se determinó el daño del ADN de personas expuestas a mercurio, donde se encontró que en individuos con tiempo de exposición durante 15 años, las concentraciones de este elemento en orina fueron en $4,8 \mu\text{g/l}$ (variabilidad individual con rango entre 0.64 y $320 \mu\text{g/l}$). En los

individuos no expuestos, la concentración promedio fue de 0.34 $\mu\text{g/l}$ y su rango estuvo entre 0.1 y 11.1 $\mu\text{g/l}$, respectivamente. Pero sí hubo mayor daño del ADN y concentraciones más altas de mercurio en los expuestos que en los controles (Castaño *et al.*, 2013).

El Perú cuenta con una riqueza en recursos naturales altos como los minerales “Oro, Plata, Cobre, etc” (Jasuai, 2015), de tal modo la minería artesanal es una problema de nunca acabar, siendo las mejores oportunidades para su desarrollo se dieron en los yacimientos auríferos de Madre de Dios, Puno y del llamado Sur Medio (Ica, Ayacucho y Arequipa) del Perú (Rosales *et al.*, 2013), los efectos sobre el ADN no son ajenos a en el Perú, en Tulin al norte de Lima - Perú se realizó un estudio sobre daño genotóxico en trabajadores de la minería artesanal expuestos al mercurio, donde indicó que el monitoreo biológico arrojó que el 17% presentaron concentraciones de mercurio urinario por encima a los 2.5 $\mu\text{g/L}$. En el caso de la evaluación genotóxica se evidenció que, el 15% expuestos al mercurio presentaron micronúcleos (Rosales *et al.*, 2013), indicaron que las células epiteliales al constituir la primera barrera de defensa por vía digestiva e inhalatoria frente a determinados agentes genotóxicos, informan tempranamente cualquier tipo sobre este daño, por cuanto hace relevante el análisis de formación por micronúcleos (Hei y Filipic 2004).

En el departamento de Puno - Perú la minería artesanal no es ajena, en principal en la provincia de San Antonio de Putina, en el centro poblado la Rinconada, En este lugar habitan 35 000 personas, donde el 83,3% se dedican a la minería y el resto a actividades comerciales para su desarrollo y supervivencia en la zona. Para caracterizar los riesgos de salud pública de estas comunidades se usó el enfoque de sistemas; entrevistas a profundidad y trabajo con grupos focales en una población de 260 familias, Se requieren intervenciones para evitar daños a la salud que condicionan los riesgos encontrados (Goyzueta y Trigos, 2009), los efectos genotóxicos también son problemas que no se están tomando en cuenta, una investigación realizada sobre el nivel de genotoxicidad de las aguas del río Ramis (principal contaminante del Lago Titicaca en Puno), utilizando para ello eritrocitos de la sangre periférica del pez *Brachydarío rerio* (cebrafish), encontraron formación de micronúcleos en el biomodelo para todos los puntos seleccionados como estación de muestreo y donde asumieron que al estar impactadas las aguas con metales pesados, pueden ser causante de este tipo de daño.(Scotto *et al.*, 2013),

En otro estudio de evaluación genotóxica y citotóxica donde se utilizó como modelo biológico de experimentación *Cyprinus carpio*, fue observado que el proceso de bioacumulación por metales, finalmente arrojó formación de micronucleos en las células sanguíneas. (Nuñez *et al.*, 2010).

2.2 MARCO TEORICO

2.2.1 Gestión ambiental de la minería de oro en el Perú

El auge minero reside a los Andes en el corazón de problemáticas locales, provinciales, nacionales e internacionales y liga las formas de organización espacial y las dinámicas territoriales cordilleranas a tendencias económicas, sociales y políticas que trascienden las propias fronteras nacionales, pues la mayoría de los minerales extraídos son destinados a la exportación (Szablowski, 2007; Alimonda, 2011). Resulta relevante observar los vínculos entre las actividades mineras y el desarrollo territorial e interrogar cuáles son las consecuencias territoriales asociadas a las nuevas jerarquías funcionales de una economía globalizada, donde se afirma que las implantaciones extractivas derivan de la puesta en producción de espacios a-territoriales, esenciales para el funcionamiento del mundo globalizado contemporáneo, aunque contribuyan a la fragmentación del espacio nacional (Magrin y Laetitia, 2011).

La información de tipo ambiental constituye un "valioso activo" en la gestión ambiental hacia la sostenibilidad. Saber y medir lo que pasa en la dimensión ambiental, es muy importante debido a que se generan, sustentan, deterioran y/o renuevan el total de bienes y servicios ambientales (Vega, 2011). La actividad minera constituye una gran oportunidad para la sociedad que, si es aprovechada de manera sostenible, podría contribuir al desarrollo social y económico equitativo de las poblaciones y de las regiones en las cuales se desarrolla esa actividad (Garzón, 2011). La tradición milenaria de extracción y beneficio artesanal, día a día se va perdiendo y en contraposición la mecanización de la actividad minera y de los procesos de beneficios la han ido reemplazando; adicionalmente, la aparición de sustancias altamente tóxicas como el cianuro, están sustituyendo la concentración gravimétrica (CRC, 2007), por lo que, sin duda alguna, el impacto actual de la minería representa una gran preocupación ambiental para los gobiernos.

2.2.2 Impactos negativos de la minería

Dentro de los impactos negativos de la actividad minera se encuentra la contribución al calentamiento global, agotamiento de recursos no renovables, destrucción, alteración y fragmentación de hábitats naturales (algunos de ellos estratégicos), pérdida de la biodiversidad, pérdida de la capa vegetal y químicas del suelo (especialmente la minería a cielo abierto), drenajes con alto contenidos de sustancias tóxicas como cianuro o metales pesados generados durante la operación o después del cierre por lixiviación, daños en la salud de los trabajadores mineros (UE, 2010).

Asimismo, el impacto sanitario y ambiental, es el inadecuado manejo de los residuos de dicho proceso los cuales son depositados al aire libre sin tratamiento previo cerca de las fuentes de agua generando emisiones tóxicas a la atmosfera, al suelo y el agua (UE, 2010). Los desechos contienen grandes cantidades de metales pesados tóxicos y material ácido, los relaves mineros contienen grandes cantidades de desecho como son los metales pesados, material ácido y compuestos químicos de proceso, sino que provoca la muerte de toda biodiversidad acuática, así como hace biodisponible los contenidos de metales pesados presentes, haciendo que estos sean altamente tóxicos para la salud humana (Deza, 2002).

2.2.4 Contaminación por mercurio en la minería artesanal

El uso inadecuado del mercurio para amalgamar el oro, hace que se contamine los cuerpos de aguas superficiales y subterráneos, suelos y el aire (Mosquera *et al.*, 1999). Durante la separación del oro en el proceso de quimbaleta, la solución acuosa que queda en el relave, posee no solo mercurio, sino también oro (0.4-1.2 onzas de Au/TM) y es aquí donde nuevamente, los trabajadores añaden más mercurio, pues el mercurio que inicialmente fue utilizado, no puede ser reciclado nuevamente, ya que su poder de amalgamación se limitó. Asimismo, al depositarse tanto contenidos de mercurio sobre el suelo como la evaporación de agua mezclada con concentraciones de mercurio, puede hacer que en algún momento, exista traslado y deposición hacia otros lugares, a través de los vientos, lo cual pudiera justificar la presencia contaminante del mercurio en zonas alejadas a la(s) fuente(s) de exposición (Álvarez, 2011).

2.2.5. Mercurio

El mercurio (Hg) es un metal blanco plateado muy tóxico, el único en estado líquido a 0°C, muy denso y poco compresible; de tensión superficial muy alta y débil reacción calorífica, posee gran capacidad de amalgamar a casi todos los metales. Se evapora a 13°C y encontramos trazas de él en cualquier producto que se analice. No es esencial para ningún proceso biológico, pero se acumula en la mayoría de seres vivos. En la naturaleza existe como sulfuros de mercurio (cinabrio, rojo), de arsénico (rejalgar), hierro (piritas), mixto (metacinabrio, negro), de antimonio (estibina), pero también se le haya directamente unido a minerales de zinc, cobre, oro y plomo (Zenz,1988).

2.2.6. Toxicología del mercurio

El mercurio es un metal pesado, cuya presencia en la anatomía humana es tóxica, aun cuando se encuentra a bajas concentraciones. Por otra parte, desde el punto de vista toxicocinético, las vías de entrada del mercurio al organismo humano son la respiratoria (por inhalación), digestiva y cutánea. Por la vía respiratoria, no es frecuente la absorción de los metales en estado de gas o vapor excepto en el mercurio, siendo probablemente el único caso en que la exposición en su forma elemental, es de importancia en la práctica. El vapor de mercurio es no polar (no se disuelve en la membrana mucosa del tracto nasofaríngeo y traqueo bronquial), pues fácilmente penetra la membrana alveolar y pasa a la sangre absorbiéndose un 80% de la cantidad inhalada. Este porcentaje es el resultado de la relación cuantitativa entre el volumen de inspiración y el espacio muerto fisiológico del pulmón. Generalmente los gases y vapores se depositan en el tracto respiratorio de acuerdo con su solubilidad en agua. Los gases altamente solubles en agua se disuelven en la mucosa de la membrana o en el fluido del tracto respiratorio superior, mientras que los gases y vapores menos solubles en agua, penetran profundamente en el árbol bronquial alcanzando el alvéolo. Experimentalmente, se ha observado que se deposita por igual en el árbol bronquial que en el alvéolo. Se estima que la solubilidad del mercurio elemental en los lípidos del cuerpo está entre 0,5 y 2,5 mg/L, considerando que la concentración de saturación del mercurio en aire puede ser solo de 0,06 mg Hg/L a 40°C. El coeficiente de reparto entre el aire y los lípidos de la pared alveolar y sangre pulmonar es aproximadamente de 20 a favor del cuerpo. Este hecho sugiere que el mercurio elemental pasa fácilmente, a través de la membrana alveolar por simple difusión. (Español *et. al.*, 2001).

Tabla 1. Contenido corporal de mercurio.

COMPARTIMENTO	MERCURIO TOTAL (%)	METILMERCURIO (%)
Músculo	44	54
Hígado	22	19
Riñón	9	-
Sangre	9	15

Fuente: Organismo de Supervisión de los Recursos Forestales y de Fauna Silvestre “OSINFOR” (2014).

2.2.7. Genética toxicológica

Se trata de evaluar la capacidad que tienen los agentes de inducir cualquiera de los tres tipos generales de cambios (o mutaciones) que puede sufrir el material genético (ADN): cambios génicos, cromosómicos y genómicos. En organismos como los humanos, los genes se componen de ADN, que consta de una serie de unidades llamadas bases de nucleótidos. La genotoxicidad puede producir efectos importantes e irreversibles sobre la salud humana. El daño genotóxico es un paso crítico en la inducción del cáncer y puede intervenir también en la inducción de defectos de nacimiento y muerte fetal. Los ensayos que miden la mutación génica son los que detectan la sustitución, adición o supresión de nucleótidos en un gen. Los ensayos que miden la mutación cromosómica son los que detectan rupturas o reordenaciones cromosómicas en las que intervienen uno o varios cromosomas. Los ensayos que miden la mutación genómica son los que detectan cambios en el número de cromosomas, fenómeno que se denomina aneuploidía (Huff, 1993)

La evaluación de la toxicidad genética ha cambiado mucho desde que Herman Muller desarrolló en 1927 el primer ensayo de detección de agentes genotóxicos (mutágenos). Desde entonces se han desarrollado más de 200 ensayos que miden las mutaciones del ADN; no obstante, no llegan a diez los que normalmente se utilizan hoy para evaluar la toxicidad genética. En esta sección se examinan los ensayos, se describe lo que esos ensayos miden y se estudia su papel en la evaluación de la toxicidad. (Huff, 1993)

La integridad del ADN constituye un aspecto fundamental para la salud y el buen funcionamiento de los organismos vivos; sin embargo, este material genético es

susceptible a daños causados por numerosos agentes y/o procesos. Aunque la mayoría del daño que se produce el material genético puede ser reparado eficientemente por una compleja maquinaria enzimática de reparación, parte de esta maquinaria escapa a este proceso y es donde aparecen procesos carcinogénicos. Existe una clara relación entre el daño primario en el ADN y la afectación a la salud, comprometiéndose entonces la vida (Tejador, 2011).

La genética toxicológica es la rama de la Toxicología que se encarga de evaluar la alteración y efecto sobre el material genético dado la exposición algún agente físico, químico y biológico. Esta capacidad de interacción de los agentes con el material genético se define como genotoxicidad. La estrecha relación que hay entre mutágenos y carcinógenos es el centro de interés para la genética toxicológica tanto para las disciplinas ambientales como en las disciplinas médicas. (Tejador, 2011).

El efecto de un agente genotóxico depende tanto del blanco celular como de su acción directa o indirecta y de la interacción que tiene con las proteínas involucradas en la integridad del genoma. Un determinado agente puede generar cambios en las pares de bases, aberraciones cromosómicas estructurales por clastogenesis, pérdida de cromosomas enteros o parte de ello por aneuploidia, alteraciones en el ADN, alteraciones en los mecanismos de reparación y en los eventos de recombinación mitótica entre otros. Los protocolos de las pruebas de genotoxicidad han sido estandarizados por la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OECD), con la finalidad de detectar las mutaciones genéticas cromosómicas y otras tantas alteraciones del ADN, utilizando modelos de estudio procariontes y eucariotes, así como sistemas de ensayos *in vitro* e *in vivo* (Madrid, 2011).

2.2.8. Biomarcadores de genotoxicidad

Los biomarcadores son indicadores de eventos celulares o moleculares que ocurren en la interacción entre el agente genotóxico y las células, permitiendo la determinación de sus posibles efectos en la salud humana. Estos biomarcadores pueden clasificarse como de exposición, susceptibilidad y de efecto (Grandjean, 1992). Un biomarcador de exposición es definido como una sustancia o su metabolito exógeno o el producto de una interacción entre un agente xenobiótico y las moléculas o células blanco que es medida por un comportamiento dentro de un organismo. Un biomarcador de efecto es definido como una

medida bioquímica, fisiológica, comportamental o alguna otra alteración dentro de un organismo que dependiendo de la magnitud, puede ser asociada a una enfermedad o a un daño establecido para la salud. Con las técnicas de aberraciones cromosómicas, cromátides hermanas, micronucleos, ensayo cometa y *test* de mutaciones génicas se puede identificar este tipo de biomarcadores. El biomarcador de susceptibilidad se define como un indicador sobre una habilidad adquirida o inherente de un organismo a responder, sobre los cambios de exposición de un agente xenobiotico. Los polimorfismos genéticos representan un ejemplo de indicador individual de susceptibilidad a los compuestos químicos (Carranza, 2011).

La prueba de micronúcleo, al igual que el ensayo cometa son los *test* de genotoxicidad más utilizados porque han demostrado ser herramientas fundamentales para evaluar daño genético en diferentes tejidos de varias especies de animales y los posibles efectos de productos químicos en la salud de los seres humanos, antes de su comercialización (Malladi *et al.*, 2007).

Algunos de los metales pesados tienen afinidad nucleofílica con el ADN, lo que les permiten adherirse y formar aductos. Los aductos son unidades covalentes entre moléculas de bajo peso molecular y otra de alto peso molecular. La unión de estos metales ocasiona ruptura en una de las cadenas, lo cual que genera un fragmento desapareado; y por ende, la pérdida de información genética, una vez que la célula inicia su división celular (Bernard, 2011).

Los puentes nucleoplasmáticos o dicentricos (NPBs) se forman a partir de la adhesión de cromosomas por medio de sus telómeros, previo a que estos viajen a los polos opuestos. Durante el anafase tardío, los cromosomas están en cada polo y se puede romper el puente que lo mantiene unido para formar células hijas con un núcleo, disminuyendo de esta manera la frecuencia de esta aberración en la siguiente generación celular. Por esta razón, los NPBs son tan raros durante la prueba de micronúcleos (Tejador, 2011).

La situación más regular, está relacionada a la identificación celular con yemas nucleares, lo cual es producto de una amplificación algo excesivo del material genético donde en el núcleo de las células implicadas se observa con un abultamiento y apariencia de micronúcleos adheridos que en ocasiones se desprende para formar micronúcleos

ordinarios (Fenech & Crott, 2002). Esta información es fundamental para determinar el riesgo a padecer cáncer u otras alteraciones en poblaciones expuestas a metales pesados (Hintzsche & Stopper, 2010).

2.2.9. Ensayo de micronúcleo

La técnica de MN, es una prueba de genotoxicidad que permite de forma rápida y versátil la detección de micronúcleos y otras aberraciones cromosómicas durante el biomonitoreo de células en una población determinada. Esta prueba permite la evaluación de daños en el material genético, a partir de la identificación de micronúcleos en poblaciones expuesta a un agente tóxico (Norppa & Falck, 2003). Además, es de gran utilidad porque obtener una estimación de las alteraciones en el material genético, posibilita un diagnóstico del daño en el ADN, ya que se expresa con un incremento en la frecuencia de células con micronúcleos, binucleadas, con yemas nucleares y puentes dicéntricos. Los micronúcleos es el resultado de un daño previo en el ADN, evento que provoca mutaciones y por ende un cambio en la expresión del material genético (Lindbergh *et al.*, 2007).

Este fenómeno desencadena una serie de acontecimientos dentro de los cuales está presente, ruptura de cromosomas acrocéntricos y alteración de la formación del huso mitótico, dejando como consecuencia células con fragmentos o incluso cromosomas completos desapareados para luego formarse alrededor de los mismos, una envoltura nuclear y por consiguiente, el armazón responsable de las manifestación de núcleos de menor tamaño como principal formación durante la anafase (Norppa & Falck, 2003).

Es actualmente uno de los métodos más utilizados en ensayos citogenéticos y en el campo de la toxicología genética para evaluar daños producidos por diferentes agentes químicos y físicos es el ensayo de formación por MN como se muestra en la figura 1.

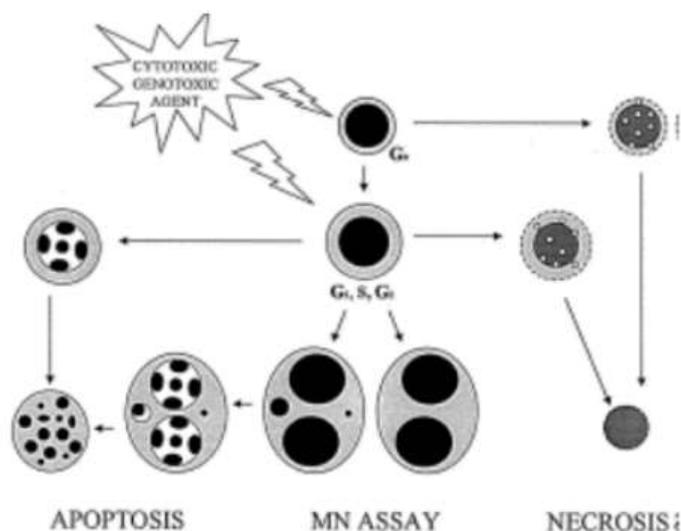


Figura 1. Formación de micronúcleos

Fuente: Fenech (2000).

Tabla 2. Criterios para seleccionar células con presencia de micronúcleos.

Todas las células deben ser binucleadas (BN)
Los dos núcleos deben tener la membrana nuclear intacta y estar situados en el mismo espacio citoplasmático
Los dos núcleos de la célula BN deben tener tamaño e intensidad del colorante similar
Los dos núcleos dentro de una célula BN pueden estar unidos por un puente nucleoplasmático fino que no es más amplio de una cuarta parte del diámetro del núcleo mayor

El ensayo de micronúcleos mediante la exfoliación de células de la mucosa bucal, así como el realizado en linfocitos de sangre periférica, es un método muy sensible en el monitoreo de células durante la evaluación de daños en el ADN de poblaciones expuestas a entornos ambientales contaminados y exposiciones ocupacionales.

Esta prueba permite también la caracterización de algunas aberraciones cromosómicas, tales como BN, NBUD, NPB (figura 3). Por otro lado, esta técnica revela los efectos citotóxicos (apoptosis y necrosis) de células previamente expuestas a sustancias químicas, físicas y biológicas (Holland *et al.*, 2008; Hintzsche *et al.*, 2010).

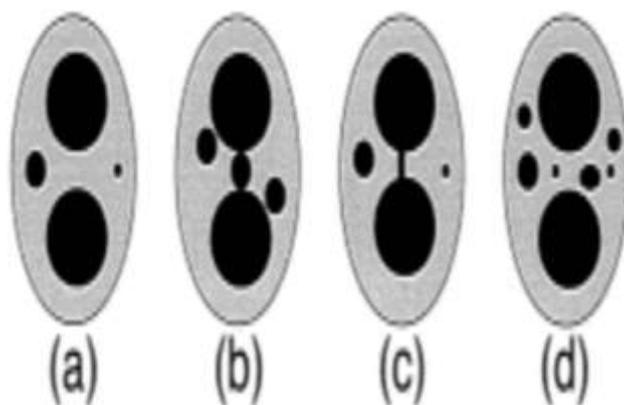


Figura 2. Aberraciones cromosómicas (Tomado de Fenech, 2000).

Leyenda: a) célula binucleada con dos micronúcleos (MN); b) célula binucleada con yemas nucleares (NBUD); c) puente nucleoplasmático (NPB); célula binucleada, polimicronucleada.

2.2.10. La salud ocupacional del minero artesanal

La Organización Internacional del Trabajo (OIT, 1999), plantea que más de 13 millones de personas en el mundo realizan actividad minera en pequeña escala (MPE); y en América Latina y el Caribe, representa alrededor de 1.6 millones de personas, existen diversas opiniones que tratan de informar la expansión de la minería en pequeña escala para la región, donde se explica que las causas de su rápida expansión (últimos 20 años), han sido, por una parte, la búsqueda de alternativas a la identificación sobre condiciones de pobreza directamente relacionada con el desempleo urbano y; por otra parte, a la baja rentabilidad de las actividades agropecuarias tradicionales en zonas rurales. Asimismo, en algunos casos de países como en el Perú, puede considerarse de forma subjetiva la situación de violencia política (conflictos socio ambientales) (Martínez 2002). Puede expresarse a criterios interpretativos que la explotación de la pequeña minería, independientemente que trae consigo desarrollo económico, genera en múltiples ocasiones desequilibrios para los ecosistemas (como se mencionó anteriormente), así como a la salud humana (GRILMBP, 2002).

La propia OIT (1999), indicó que entre los primeros cinco riesgos para la salud en las operaciones mineras de pequeña escala se encuentran la neumoconiosis (exposición al polvo), exposición del mercurio y otras sustancias químicas, daños auditivos (presencia de ruido y altas vibraciones), daños respiratorios por ventilación deficiente y efectos locomotores por exceso de esfuerzo. Los escasos estudios sobre la salud ocupacional en trabajadores de la minería artesanal en el Perú, indican la alta probabilidad de encontrarse

los daños mencionados anteriormente, siendo las afectaciones respiratorias de tipo crónicas las de mayores incidencias (Espinosa 2005).

Sin embargo, según la Dirección General de Salud Ambiental (1996), el principal riesgo al que se exponen los trabajadores de la minería artesanal, es el contacto e inhalación al mercurio, haciendo extensivo tal peligro, ya que en numerables ocasiones, esta actividad de la quema de amalgama se realiza en las propias viviendas, pudiendo afectar a otros miembros del núcleo familiar.

2.2.11. Matriz de exposición ocupacional

La falla en la mejoría de los determinantes sociales de la salud ocupacional unida a la falta de acceso a servicios médicos de buena calidad, genera problemas que repercuten en el bienestar y desarrollo de los países (Papas *et al.*, 1993; Marmot, 2001).

Con base en la perspectiva médica, se define a la salud y a la atención médica como bienes con características únicas sobre las cuales los gobiernos y las instituciones de salud requieren información confiable y precisa para tomar decisiones respecto a cuánto deben invertir para mejorar la salud de los trabajadores y la población en general (Kennedy *et al.*, 1998).

La habilidad para sentir y evitar las condiciones ambientales peligrosas es necesaria para la supervivencia de todos los organismos incluyendo al hombre. En las recientes décadas, el profundo desarrollo de las tecnologías químicas, ha estado acompañada por el potencial para causar daños a corto, mediano y largo plazo tanto en las condiciones laborales como a los ecosistemas y sus diversas formas de vida. El difícil manejo de los peligros de hoy, ha forzado la creación de una nueva disciplina intelectual denominada *Evaluación de Riesgo*, diseñada y dirigida para ayudar a identificar, caracterizar y cuantificar la probabilidad de ocurrencia de daños (Albert, 2004).

El desconocimiento total o parcial sobre el riesgo por exposición a sustancias químicas, ha traído como consecuencias, daños y pérdidas irreversibles incluyendo hasta la muerte humana. Son conocidos los impactos sobre la salud humana de las sustancias químicas que pueden ser explosivas, inflamables y nocivas donde el eje principal de toda acción está en la necesidad de implementar acciones preventivas para disminuir el riesgo a las

enfermedades y accidentes. Es por ello que se ha reconocido internacionalmente, la importancia de la evaluación por exposición a este tipo de riesgo, incluyéndose evaluaciones toxicológicas ocupacionales para el control de las sustancias peligrosas, fundamentalmente las tóxicas con efectos inmediatos, sistémicos y no reversibles (Mullan & Murthy, 1991).

En la actualidad, la búsqueda de forma más precisa para la evaluación, control con carácter preventivo sobre la salud de los trabajadores, continúa siendo un reto. En este sentido, una de las herramientas que ha sido empleada con cierto grado de éxito son las matrices de exposición. Las matrices aparecieron a partir de los años ochenta del siglo pasado con la finalidad de superar la sobreestimación que puede surgir al evaluar de forma semicuantitativa la exposición a un determinado agente presente en el ambiente de trabajo; a la fecha son ampliamente utilizadas cuando las posibilidades para llevar a cabo un monitoreo ambiental son limitadas, o bien, cuando no existen registros de higiene industrial (Goldberg *et al.*, 1993).

En los últimos 15 años, las matrices de exposición laboral (MEL) han sido desarrolladas y promovidas por diferentes centros de investigación en epidemiología ocupacional como un método para la caracterización ocupacional. A pesar de su imprecisión es una herramienta útil para estudios analíticos con el fin de determinar el riesgo ocupacional en investigación epidemiológica y para fines preventivos desde el punto de vista de higiene ocupacional. La matriz más sencilla fue elaborada por Reed y Harcourt en 1941, en la cual se utilizó 108 industrias con 79 riesgos potenciales, pero solo a partir de 1980 se han difundido ampliamente las MEL para población general como actividades económicas específicas. Las primeras matrices tenían doble entrada, se cruzaba un sector económico u ocupación con una serie de agentes de riesgo. El uso del sector económico como determinante, fue la razón por la cual llamaron a estos sistemas matrices de exposición laboral (en inglés Job exposure laboral = JEL).

En muchos países desarrollados, existen los registros históricos de mediciones ambientales y de monitoreo biológicos (datos primarios), que junto a datos secundarios, han permitido construir la exposición laboral a agentes específicos, ya sea en forma general de matrices o por actividad económica con todos sus respectivos agentes (Espinosa *et al.*, 2005).

2.3. MARCO CONCEPTUAL

- Evaluación de biotoxicidad: La exposición de organismos vivos a un efluente o medios ambientales para determinar su toxicidad (Código, 2012).
- Genotóxico: compuesto de naturaleza química o física que puede inducir, directa o indirectamente, alteraciones en el material genético de los seres vivos con el consiguiente bloqueo de la replicación así como la aparición de mutaciones que derivarían en patologías y/o cambios en las características de dichos organismos (Suárez y Soberón, 2009).
- Matriz de exposición ocupacional: herramienta que permite predecir el riesgo a la salud laboral ante la exposición algún(s) agente(s) químico(s) peligroso(s) (Tamayo y Argota, 2012).
- Micronúcleos: fragmentos o cromosomas completos que quedan fuera del núcleo durante la mitosis mediante su estudio se pueden evaluar los efectos de genotóxicos ambientales y ocupacionales (Torres, 2013).
- Mina de oro/minería del oro/operación de la minería del oro: Instalación o actividad que usa cianuro para lixiviar oro del mineral, que incluye una instalación o actividad en la cual se usa el cianuro como reagente de flotación para separar el material aurífero de otros materiales que contienen metales, siempre y cuando la flotación se ubique en un mismo sitio donde el cianuro se usa también para lixiviar oro del mineral (Código, 2012).
- Riesgo: probabilidad de que ocurra un efecto adverso a nivel individual o poblacional, por la exposición a una concentración o dosis específica de un agente peligroso. Desde luego, esto abarca dos dimensiones: a) la posibilidad de que haya un resultado negativo; y b) la incertidumbre sobre la aparición, duración y magnitud del resultado adverso, por lo que riesgo también se puede definir como: situación o acción en donde son posibles dos o más resultados; se desconocen las posibilidades de aparición de un resultado en particular y, al menos una de las posibilidades es indeseable (Albert, 1997).

- Marcador de riesgo: variables de personas, por lo tanto endógenas, que no se pueden controlar y que definen a los individuos particularmente vulnerables (Del pino, 2009).
- Indicador de riesgo: variable o característica endógena o exógena que puede ser controlado que precede al comienzo del problema de salud, que está asociada a un incremento de la probabilidad de ocurrencia de dicho problema (Del Pino, 2009).
- Sinergia: La sinergia, comúnmente, refleja un fenómeno por el cual actúan en conjunto varios factores, o varias influencias, observándose así un efecto, además del que hubiera podido esperarse operando independientemente, dado por la con causalidad (Selle, 2006).
- Toxicidad: efecto dañino sobre una estructura biológica o matriz ambiental (Tamayo y Argota, 2012).
- Aneugenicidad: Ensayo de aberraciones cromosómicas en células de mamífero (de Lapuente *et al.*, 2014).

III. MATERIAES Y MÉTODOS

3.1 Ámbito de estudio

El estudio se realizó en la zona poblada y minera de La Rinconada, la cual está ubicada en el distrito de Ananea, provincia de San Antonio de Putina – región de Puno, cuya coordenadas geográficas referenciales son las siguientes: 14°37'54"S 69°26'47"O.

3.2 Tipo de estudio

Atendiendo al enfoque cuantitativo de investigación, según el estado actual del conocimiento científico se aplicó un estudio de tipo descriptivo.

3.3 Población y muestra

3.3.1 Población

Según Goyzueta y Trigos (2009) y Lázaro *et al.*, (1995), en el año 2009 la población minera en la Rinconada, estaba constituida por unos 35000 habitantes aproximadamente, actualmente está constituido por 50 000 habitantes (INEI-2012).

3.3.2 Muestra

Actualmente en la mina la Rinconada existen empresas dedicadas al moliendo (proceso encargado de la separación del mineral de las rocas mediante procesos mecánicos “quimbaletes” y químicos “mercurio”), las cuales son artesanales e ilegales, aproximadamente existen más de 500 empresas dedicadas a este rubro, por lo cual se consideró tomar una muestra para la investigación del proyecto y fueron seleccionados mediante un muestreo no probabilístico por conveniencia (selección directa e intencionalmente a los individuos que integran la muestra, en función de la facilidad de acceder a ellos), solo se obtuvo 15 trabajadores mineros artesanales que voluntariamente accedieron a ser partícipes de esta investigación, ya que la población como las empresas presentan déficits en información ambiental por tal motivo no accedieron a la toma de muestra.

Los 15 trabajadores quimbaleteros mineros artesanales cumplieron con los siguientes criterios:

- **Criterios de inclusión**

- 1) Con una edad comprendida entre 25 a 50 años de edad

- 2) Actividad laboral mínima de 2 años ininterrumpida en la minera a la fecha del estudio
 - 3) Tener una jornada laboral mínima de 4hr/día
- **Criterios de exclusión**
 - 1) No antecedentes patológicos
 - 2) No presentar antecedentes de exposición a radioterapia y quimioterapia

En el anexo 1, puede mostrarse el consentimiento informado, el cual indicó los derechos y deberes con relación al estudio.

3.4. Metodología

3.3.1 Determinación de mercurio en sangre

La toma de muestra sanguínea se realizó al final de la jornada laboral correspondiente al fin de semana. Para ello, se procedió a la limpieza de la piel, usando agua y jabón y posteriormente, se aplicó alcohol etílico al 70%. La sangre se recolectara mediante punción venosa y depositada en vacutainer en los que se utilizó como anticoagulante solución al 10% de sal sódica del EDTA. La sangre puede almacenarse bajo estado de congelación como lo sugerido por Rojas (1998). Se obtuvo 8 ml de muestra biológica de sangre venosa por venopunción para lo cual se utilizaron 3ml destinados a la cuantificación de mercurio y 5ml para la identificación de micronúcleos.

Para la cuantificación del mercurio, se utilizó el método de espectrometría por absorción atómica. La espectroscopia de absorción atómica (a menudo llamada espectroscopia AA o AAS, por *atomic absorption spectroscopy*) es un método instrumental de la química analítica que permite medir las concentraciones específicas de un material en una mezcla y determinar una gran variedad de elementos. Esta técnica se utiliza para determinar la concentración de un elemento particular (el analito) en una muestra y puede determinar más de 70 elementos diferentes en solución o directamente en muestras sólidas utilizadas en farmacología, biofísica o investigación toxicológica.

El método es analógicamente parecido a la técnica AA, el plasma recalentado es inducido en un campo magnético y se forma una antorcha plasmática que es espectroscópica ya sea axial o radialmente.

Se puede generar un plasma acoplado por inducción al dirigir la energía de un generador de frecuencia de ondas de radio hacia un gas apropiado, comúnmente argón ICP.

Este inductor genera rápidamente un campo magnético oscilante orientado al plano vertical (axial o perpendicular) de la espiral. La ionización del gas argón entrante se inicia con una chispa de la llamada espiral de Tesla. Los iones resultantes y sus electrones asociados luego interactúan con el campo magnético fluctuante. Esto genera energía suficiente para ionizar átomos de argón por excitación de choque.

Los electrones generados en el campo magnético son acelerados perpendicularmente hacia la antorcha. A altas velocidades, los cationes, aniones y electrones conocidos como corriente turbulenta (Corriente de Eddy), colisionarán con los átomos de argón para producir mayor ionización, lo que produce un gran aumento de temperatura.

En 2 microsegundos, se crea un estado estable con alta densidad electrónica. Se produce plasma en la parte superior de la antorcha. La temperatura en el plasma varía entre 6000-10 000 K, usualmente 8000 K. Una larga y bien definida cola emerge desde la parte superior de la antorcha. Esta antorcha de alta intensidad luminosa es la fuente espectroscópica que permite la técnica analítica. La misma contiene todos los átomos del analito y los iones que fueron excitados por el calor del plasma. Las ventajas analíticas del ICP -Plasma Acoplado por Inducción yace en su capacidad de analizar una gran cantidad de analitos en un período corto con muy buenos límites de detección para la mayoría de los elementos.

Los elementos pueden ser analizados en forma axial para bajos límites de concentración, o radial para elevadas concentraciones. La variante de análisis axial está definida en el área del óptico perpendicular a la antorcha

La determinación de mercurio en sangre fue enviada al laboratorio “Bluftein Laboratorio Clínico”, el cual está ubicado en la Avenida Horacio Urteaga No. 1581 en Jesús María, Lima.

3.3.2 Test de micronúcleos y anormalidades nucleares en células sanguíneas

La evaluación se realizó en 1000 células sanguíneas (eritrocitos) por muestra (5 repeticiones/ paciente) donde se seleccionó como indicador de genotoxicidad, la frecuencia de formación de micronúcleos (anexo 2).

De secado de 30 min, luego fueron coloreados con la coloración Wright, ya que esta coloración tiende a colorear material nuclear, lo cual nos ayudó a la identificación del de los micronúcleos (Koneman, 2006), el cual está compuesto por eosina y azul de metileno donde al oxidarse se conoce como azur B (a una concentración de 0.8 g/L empleando como solvente alcohol metílico). La eosina es un colorante ácido que tiene afinidad por componentes alcalinos. Existen dos compuestos conocidos como eosina y que están intrínsecamente relacionados: eosina Y, conocida también como tetrabromofluoresceína –o, comúnmente, eosina amarilla–, y la eosina B, conocida como dibromodinitrofluoresceína o eritrosina B azulada. Ambos compuestos son intercambiables, sin que sean notables las diferencias entre ellos en el resultado de la tinción, por lo que la preferencia de una sobre otra no sigue un criterio objetivo. A pesar de ello, en esta investigación se utilizó la eosina Y, donde al ser un compuesto ácido cuya propiedad está basada en su polaridad negativa, permite enlazarse con constituyentes celulares de carga positiva, por esta razón, puede colorear componentes citoplasmáticos. La tonalidad resultante de la tinción con eosina es rosada-anaranjada para citoplasmas y rojo intenso en el caso de los eritrocitos. El típico color de los núcleos celulares, mayoritariamente morado, se basa en la interacción molecular entre eosina y un complejo azul de metileno-DNA (Koneman, 2006).

La intensidad de la coloración depende del contenido de azur B y de la relación con la eosina amarilla. El resultado de la tinción puede ser influido por diferentes factores como el valor del pH de los colorantes y de la solución amortiguadora (López *et. al.*, 2013).

3.3.3 Análisis de riesgo mediante matriz genérica de exposición ocupacional

La matriz genérica de exposición ocupacional, estuvo estructurada en 3 secciones: evaluación de riesgo presumible, evaluación de riesgo con base en asesorías y evaluación de riesgo de las condiciones de trabajo y daño a la salud. Una vez establecidas se tuvo en cuenta que los menús representados constituyeran variables significativas de exposición y estimación de riesgo.

En el diseño y creación de la matriz de riesgo estimado en toxicología ocupacional, cada sección contiene varios menús los cuales consideran factores, indicadores y marcadores de riesgo. La primera sección, caracterizada por riesgo presumible, contiene cinco menús, los cuales permiten estimar de forma preliminar, el riesgo que posee un puesto de trabajo. En esta sección no se considera la interacción entre puestos, pero si permite informar científicamente cualquier toxicidad referida por exposición.

RIESGO PRESUMIBLE:

- Tipo de industria
- Identificación de agentes químicos
- Toxicidad referida
- Principales biomarcadores de interés a señalar
- Eventos centinelas en toxicología ocupacional

En la segunda sección se considerarán seis menús y estuvo basada en asesoría al puesto y área, coincidiendo en algún menú con otros formatos (Hawskin *et al.*, 1989). Durante esta actividad, es posible rectificar la puntuación de la sección anterior, ya que permite la comprobación de variables dentro de los menús.

RIESGO CON BASE EN ASESORIA:

- Número de individuos expuestos
- Frecuencia de la exposición
- Duración de la exposición
- Proximidad a la fuente de exposición
- Control de la exposición según medios de protección
- Puesto de trabajo bajo influencia de otros puestos o áreas

Las dos etapas anteriores permitieron la localización y valoración de riesgos y condiciones de trabajo capaces de perjudicar la salud de los trabajadores. Se hace necesario, comparar dicha información con los daños realmente causados en aquellas personas que trabajan en tales condiciones

En la tercera sección, se trabajó de manera coordinada con la unidad asistencial de salud para evaluar las determinaciones específicas. Esta sección, consideró las condiciones de trabajo y daños a la salud (Figura 7), mediante evaluaciones subjetivas y objetivas realizadas a los trabajadores y técnicos en seguridad y salud. En esta etapa lo fundamental, es detectar las patologías que se producen en los trabajadores tanto las declaradas como aquellas cuyos primeros indicios comienzan a producirse, con el fin de adoptar las medidas preventivas necesarias para no llegar a situaciones irreversibles.

RIESGO DE CONDICIONES DE TRABAJO Y DAÑO A LA SALUD:

- Evaluación de las condiciones de trabajo (objetivas y subjetivas)
- Evaluación de daños a la salud ((EDS = ND x % Ad_m x 1000 / 100)

3.4. MÉTODO ESTADÍSTICO

Para el tratamiento de los resultados se aplicó como métodos estadísticos el análisis de ANOVA, Según lo expresado por Montgomery (1991). Todos los cálculos se realizaron utilizando el software profesional Statgraphics (Stapoint Technologies 1994-2001), donde los resultados se consideraron significativos a un nivel de confianza del 95% ($p \leq 0.05$).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Determinación de la relación de la concentración de mercurio en sangre de los mineros, según el tiempo de exposición y edad en el proceso de quimbalete minero artesanal.

En el trabajo diario los quimbaleteros de la minería artesanal utilizan el mercurio para separar y extraer el oro de las rocas o piedras en las que se encuentra expuestas,

Tabla 3. Concentración de mercurio en trabajadores expuestos durante el proceso de quimbalete minero artesanal (Puno, setiembre 2016 – marzo 2107).

PACIENTE	CÓDIGO	CONCENTRACIÓN (µg/l)
1	0001	2.11
2	0002	2.21
3	0003	1.50
4	0004	6.15
5	0005	6.85
6	0006	2.89
7	0007	1.90
8	0008	7.92
9	0009	8.06
10	0010	1.85
11	0011	6.42
12	0012	7.11
13	0013	1.78
14	0014	1.56
15	0015	8.69
Promedio		4.46
Desviación estándar		2.84

Los resultados que se obtuvieron de los 15 trabajadores quimbaleteros fue en un promedio de 4.46 µg/l de mercurio total en sangre periférica, encontrándose concentraciones mínimas de mercurio total de 1.50 µg/l y una máxima concentración de 8.69 µg/l, como se muestra en la tabla 03, la media de la concentración de mercurio es de 4.46 ± 2.84 µg/l.

Como también en CENSOPAS (2010) se determinó en sus resultados de las pruebas toxicológicas muestran un comportamiento asimétrico de las concentraciones de mercurio, encontrándose valores menores a 2,5 $\mu\text{g Hg/l}$ en 152 personas y valores mayores a 90 $\mu\text{g Hg/l}$ en 4 personas expuestas al mercurio, lo que nos indica que al estar expuesto al mercurio no se pudo encontrar concentraciones altas de mercurio en sangre, sabiendo que el mercurio y sus derivados son verdaderos contaminantes del ambiente con un importante impacto sobre la salud humana (Gaioli *et. al.*, 2012), en cambio Hernandez *et. al.*, (2014), reporto concentraciones elevadas de mercurio que superaron los límites permisibles establecidos por la OMS, concentraciones de $19.1 \pm 1.3 \mu\text{g Hg/l}$ en una población contaminada por los relieves mineros.

4.1.1. determinación de la relación de la concentración de mercurio y el tiempo de exposición.

Para el análisis en los trabajadores mineros, inicialmente se realizó una clasificación por intervalos de clases de edades según el tiempo de exposición con respecto al a concentración de mercurio como se muestra en la tabla 04.

Tabla 4. Concentración de mercurio en trabajadores expuestos durante el proceso de quimbalete minero artesanal, según tiempo de exposición (Puno, setiembre 2016 – marzo 2107).

TIEMPO DE EXPOSICION	Nro. de trabajadores	Porcentaje	Concentración de Hg
3-7 años	7	46,6 %	1,96
8-11 años	7	46,6 %	6,6
12 A MAS años	1	6,8 %	7,11
TOTAL	15	100 %	5,22

Dado los resultados de mercurio total en sangre, los mismos superaron el valor recomendado por la Organización Mundial de la Salud, quien establece un límite permisible de 4.3 $\mu\text{g/l}$. Se observó una tendencia directamente proporcional entre el tiempo de exposición y las concentraciones de mercurio en sangre donde prácticamente es similar con el intervalo fisiológico, ya que si en algún momento se interrumpe el servicio laboral, ello indica que las concentraciones de mercurio en sangre, cinéticamente disminuyen, siendo observado y quizás justificado tanto en el tiempo de exposición correspondiente a: 3 – 7 años y 8 -11 años respectivamente.

El tiempo de exposición de los trabajadores fue desde 3 años hasta 20 años de trabajo, en la tabla se describe 3 rangos de edades los cuales nos indica que a mayor sea exposición laboral que presentes mayor será el nivel de mercurio total en sangre periférica, teniendo un 46,6 % de la muestra total con un tiempo de exposición entre 8 – 11 años un nivel de mercurio total de 6,60 $\mu\text{g/l}$ respectivamente, como también un 6,8 % muestra total con un tiempo de exposición entre los 12 a más, un nivel de mercurio de 7,11 $\mu\text{g/l}$.

Doria et al., (2013) menciona que los altos valores de Hg en orina (los niveles de Hg – T en orina están alrededor del 3.16 $\mu\text{g/L}$ y 339,15 $\mu\text{g/L}$) se debe a la exposición ocupacional de los trabajadores en la mina artesanal de oro donde se emplea mercurio metálico para la recuperación del metal precioso, en comparación con los resultados encontrados en el estudio (1.5 – 8.69 $\mu\text{g/L}$) con los de Doria *et. al.*, (2013), las concentraciones son bajas, mientras que el 28,6% de las muestras de los trabajadores de la mina el Alacrán superan las cantidades recomendadas por la Organización Mundial de la Salud (20 $\mu\text{g/L}$).

Tabla 5. ANOVA de la concentración de mercurio en trabajadores expuestos durante el proceso de quimbaleta minero artesanal, según tiempo de exposición (Puno, setiembre 2016 – marzo 2107).

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Pr > F
Modelo	1	49,039	49,039	9,963	0,008
Error	13	63,986	4,922		
Total corregido	14	113,026			

La concentración de mercurio total en sangre periférica y el tiempo de exposición de los trabajadores quimbaleteros de la minería artesanal, tienen una relación estadísticamente significativa, ya que posee una relación directa concordante con el resultado obtenido en la prueba de ANOVA, con una F calculada de (F 0,008), donde se relaciona la concentración de mercurio con el tiempo de exposición, con un 5% de margen error .

La relación que se obtuvo con la concentración de mercurio total en sangre periférica con el tiempo de exposición de los mineros nos muestra que a mayor sea la exposición al mercurio existirá una mayor concentración de Hg total, como fue mencionado en Hernandez *et al.*, (2014), cuando realizo su investigación en sucre Colombia, donde

manifiesta que el incremento del Hg se debe a que la población está expuesta a la contaminación de aguas contaminadas por la práctica de la minería artesanal, como también Castaño *et al.*, (2013), demostró en su investigación, que personas expuestas al mercurio presentaban concentraciones promedios de 4,8 µg/l (en orina) los cuales estuvieron expuesto 15 años al mercurio, tal igual que este investigación que obtuvo una concentración promedio de 4,46 µg/l (sangre) y un tiempo de exposición promedio desde los 26 a 50 años. Como también Mesquidez *et al.*, (2013), encontró niveles de mercurio en orina alrededor de 3,16 µg/l hasta 339,15 µg/l esto siendo justificado por la exposición ocupacional que los trabajadores presentan en el estudio, como también Rosales *et al.*, (2013) encontró que el 17% de los evaluados “mineros artesanales” presentaron concentraciones de mercurio en orina mayor a los 2,5 µg/L; siendo este valor el límite de detección.

4.1.2. determinación la relación de la concentración de mercurio y edad en los mineros artesanales.

La variabilidad de la edad de los mineros artesanales es muy grande, ya que no existe edad para este trabajo, se observó una población minera de diferentes edades tanto menores de edad: cumpliendo una función de pallaqueo, y una población adulta joven: los cuales cumplen funciones mineras desde la extracción del mineral hasta la obtención del mineral precioso (oro), y una población adulta mayor que se dedica al cachorro y entre otras funciones.

Se obtuvo una población de 15 mineros adultos joven y adultos, en un promedio de edad de 20 a 50 años, obteniendo los siguientes resultados:

Tabla 6. Concentración de mercurio en trabajadores expuestos durante el proceso de quimbaleta minero artesanal, según edad (Puno, setiembre 2016 – marzo 2107).

EDAD	Nro. de trabajadores	Porcentaje	Concentración de Hg
26 -32	6	40.0 %	4.91 µg/L
33-41	7	46.6 %	3.21 µg/L
42-50	2	13.4 %	7.52 µg/L
TOTAL	15	100 %	5.22 µg/L

Los grupos etarios (edad) con más altos niveles de concentración fueron los adultos jóvenes de 26 – 32 años ($Hg=4.91 \mu g/l$), y en 42 – 50 años ($Hg=7.52$) que representa el 40.0 % y 13.4% de la población total respectivamente, por otro lado no existe una relación estadísticamente significativa, ya que no posee una relación directa concordante con el resultado obtenido en la prueba de ANOVA, con una F calculada de (F 0,913), donde se no existe relaciona entre concentración de mercurio con el tiempo de exposición.

Tabla 7. ANOVA de la concentración de mercurio en trabajadores expuestos durante el proceso de quimbalete minero artesanal, según edad (Puno, setiembre 2016 – marzo 2107).

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Pr > F
Modelo	1	0,109	0,109	0,013	0,913
Error	13	112,917	8,686		
Total corregido	14	113,026			

Al no existir una relación estadísticamente, esto se debe a que la población minera artesanal en principal los quimbaleteros no tiene un edad base para empezar ejercer este trabajo, por una minería artesanal e ilegal existe mineros de toda edad, tanto varones como mujeres dedicados a este oficio.

Por lo tanto se obtuvo como resultado que la concentración de mercurio no esta relacionado a la edad en los mineros artesanales “quimbaleteros”, Como corrobora Ashel, (2012), donde menciona que la edad y la duración de la residencia en una región en particular no tenían una relación significativa con los niveles de mercurio medidos en el cabello, del mismo modo se encontró que Monteagudo (2001) utilizaron criterios similares en el grupo etario (edad fisiológica) de 24 a 34 años, teniendo resultados semejantes con respecto al grupo etario y el nivel elevado de Hg que presenta cada población estudiada, cada estudio con diferentes muestras biológicas, a su vez CENSOPAS (2010) (DIRESA MADRE DE DIOS) en su informe técnico, encontró que en el rango de edad de 20 a 59 años existe una elevado nivel de mercurio en orina, un promedio de $10,60 \mu g/l$ con unos valores de 2,76 como mínimo y 99,84 como valor máximo lo que corrobora que las edades con mayor nivel están en este rango de edad.

4.2. Determinación de la relación de genotoxicidad de células sanguíneas mediante la identificación de micronúcleos en hematíes según el tiempo de exposición y edad en el proceso de quimbalete minero artesanal.

El daño genotóxico ocasionado por la exposición al mercurio puede ser medido a través del uso de biomarcadores de efecto temprano, tales como la formación de micronúcleos, La técnica de micronúcleos se utiliza para poder determinar la presencia daño cromosómico, como la ruptura de un fragmento o cromosomas enteros, los trabajadores 15 quimbaleteros mineros artesanales que fueron analizados se determinó que el 100 % presentaban hematíes con micronúcleos. Lo que indica que de la población estudiada de 15 mineros todos presentaron aberraciones cromosómicas (micronúcleos), en algunos casos con una mínima cantidad, lo cual nos indica que existe un problema de daño cromosómico en los trabajadores que manipula el mercurio en sus labores diarias, como también se podría considerar los otras formas de ingreso del mercurio al organismo.

4.2.1. Cuantificación de micronúcleos.

Para la cuantificación los micronúcleos según el protocolo se realizó un conteo de 1000 hematíes por muestra, lo cual fue repetido 5 veces para poder tener un promedio y luego calcular la cantidad de micronúcleos en cada paciente (Tabla 08).

Tabla 8. Valores de genotoxicidad por recuento de micronúcleos en trabajadores durante el proceso de quimbalete artesanal (Puno, setiembre 2016 – marzo 2107).

PACIENTE	CÓDIGO	REPETICIONES					PROMEDIO	CANTIDAD DE MICRONUCLEOS(*)
1	0001	2	4	2	2	4	2.8	0.0028
2	0002	4	4	3	4	2	3.4	0.0034
3	0003	1	1	0	0	2	0.8	0.0008
4	0004	25	21	19	15	12	28.4	0.0284
5	0005	14	7	14	11	6	10.4	0.0104
6	0006	1	3	5	2	5	4.2	0.0042
7	0007	3	6	2	3	2	4	0.004
8	0008	16	13	8	17	15	14.4	0.0144
9	0009	28	22	25	18	26	23.8	0.0238
10	0010	3	5	5	4	6	4.6	0.0046
11	0011	12	7	9	8	9	9	0.009
12	0012	19	22	19	17	16	18.6	0.0186
13	0013	0	2	1	3	0	1.2	0.0012
14	0014	5	5	4	7	2	4.6	0.0046
15	0015	24	19	22	21	18	20.8	0.0208
PROMEDIO						10,07	0,0101	
DESVIACION ESTANDAR						8,66	0,0087	

(*) La determinación de micronúcleos está dada por número de micronúcleos/1000.

La media de los 15 trabajadores quimbaleteros mineros fue de 0.0101 micronúcleos y una desviación estándar de 0,0087, lo que nos indica que el promedio de los trabajadores quimbaleteros mineros fue de cada 1000 hematíes contados 10.07 son hematíes con presencia de micronúcleos, en donde se determinó valones mínimos de 0.0008 micronúcleos y un valor máximo de 0.0238 micronúcleos respectivamente, a comparación de Albert, (2004), donde determino la presencia de micronúcleos en sangre periférica en una promedio de $0.02 \pm 0,004$ micronúcleos por 1000 células, teniendo una similitud con los resultados que se obtuvieron en esta investigación, la cual nos indica que si es posible encontrar una alteraciones genotoxicas en células sanguíneas en principal en hematíes.

Se obtuvo un 100% de alteración genotóxica en los 15 mineros artesanales los que estuvieron expuestos al mercurio en su labor diaria, corroborado con la investigación que realizó Hernández *et. al.*, (2014), encontrando un daño genotóxico en el total de las muestras de sangre se expuesto de la región de la Mojana correlacionados con la correlación de mercurio, como también Madrid *et. al.*, (2011), donde menciona que existió un alto registro del daño al DNA, (determinado por la identificación de micronúcleos) en sangre de los habitantes de la mina de Alacran-Colombia.

4.2.2. Determinación de la relación de la alteración genotóxica y el tiempo de exposición.

Para el análisis en los trabajadores mineros, inicialmente se realizó una clasificación por intervalos de clases según edad según el tiempo de exposición.

Tabla 9. Valores de genotoxicidad por recuento de micronúcleos en trabajadores durante el proceso de quimbalete artesanal, según tiempo de exposición (Puno, setiembre 2016 – marzo 2107).

TIEMPO DE EXPOSICION	NRO	PORCENTAJE	MICRONUCLEOSOS (MEDIA)	CANTIDAD DE MICRONUCLEOS
3-7	7	46,6 %	0.3257	0.0033
8-11	7	46,6 %	1.5657	0.0157
12 A MAS	1	6,8 %	1.86	0.0186
TOTAL	15	100 %	1.2505	0.0125

La presencia de los micronucleos es uno de los indicadores de la alteración genotóxica que algunos compuestos químicos que pueden presentar, se obtuvo trabajadores quimbaleteros mineros que presentan microcucleos están en un rango desde los 3 hasta más de los 12 años de tiempo exposición, teniendo un incremento de la presencia de micronucleos paralelamente con el tiempo de exposición que presentan los trabajadores. Los rangos de tiempo de exposición mínimos que se encontró están desde los 3 a 7 años con una cantidad de 0.0033 micronucleos, el cual está representado con un 46,6% de los 15 mineros estudiados, como también un valor promedio máximo en un rango de tiempo de exposición de 12 a más años con una cantidad de 0.0125 micronucleos, lo que representa un 6.8% de la población total.

La relación de la alteración genotóxica, representado con la formación de micronucleos y el tiempo de exposición, nos indica que a medida que aumenta los años de servicios laborales o el tiempo de exposición para los trabajadores mineros artesanales existe una mayor posibilidad de la alteración genotóxica mediante la formación de micronucleos respectivamente.

Tabla 10. ANOVA de los valores de genotoxicidad por recuento de micronucleos en trabajadores durante el proceso de quimbalete artesanal, según tiempo de exposición (Puno, setiembre 2016 – marzo 2107).

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Pr > F
Modelo	1	0,000	0,000	7,240	0,019
Error	13	0,001	0,000		
Total corregido	14	0,001			

La presencia de la alteración genotóxica con el recuento de micronúcleos y el tiempo de exposición de los trabajadores quimbaleteros de la minería artesanal, tienen una relación estadísticamente significativa, ya que posee una relación directa concordante con el resultado obtenido en la prueba de ANOVA, con una F calculada de (F 0,019), donde se relaciona la alteración genotóxica con el tiempo de exposición, con un 5% de margen error.

El tiempo de exposición es un factor muy importante para la formación de micronucleos y por consecuencia la alteración genotóxica, como también Cebulka *et. al.*, (2005), menciona que el tiempo de exposición ocupacional al mercurio tiene una relación con la

eficiencia de reparación del ADN en un 75,7 % para < 10 años en el empleo y 64.1% para los 21 – 35 años asociado con aumento de daño citogenético, del mismo modo Akiyama *et. al.*, (2010), obtuvieron que aun en concentraciones mínimas de mercurio en la amalgamación producen aberraciones cromosómicas.

4.2.3. Determinación la relación de la alteración genotóxica y edad en los mineros artesanales.

Tabla 11. Valores de registro para genotoxicidad por recuento de micronúcleos en trabajadores durante el proceso de quimbalete artesanal, según edad (Puno, setiembre 2016 – marzo 2107).

EDAD	NRO	PORCENTAJE	MICRONUCLEOS (MEDIA)	CANTIDAD DE MICRONUCLEOS
26 -32	6	40.0 %	13.733	0.0137
33-41	7	46.6 %	5.0857	0.0051
42-50	2	13.4 %	16.5000	0.0165
Total	15	100.0 %	11.773	0.0118

Los rangos de edades fisiológicas con mayor presencia fueron entre 26 – 32 años y 42 – 50 años que representan el 53.4% del total de trabajadores quimbaleteros mineros estudiados (0.0137 y 0.0118 micronucleos) y un valor mejor entre 33 – 41 años lo que representa un 46,6 % (0.005 micronucleos), por otro lado no existe una relación estadísticamente significativa, ya que no posee una relación directa concordante con el resultado obtenido en la prueba de ANOVA, con una F calculada de (F 0,511).

Tabla 12. Valores de registro para genotoxicidad por recuento de micronúcleos en trabajadores durante el proceso de quimbalete artesanal, según edad (Puno, setiembre 2016 – marzo 2107).

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Pr > F
Modelo	1	0,000	0,000	0,456	0,511
Error	13	0,001	0,000		
Total corregido	14	0,001			

La edad con respecto a la alteración genotóxica no tiene mucha significancia, ya que la edad no está relacionada a la presencia de micronúcleos, como se pudo determinar.

Donde la relación de mercurio total en sangre y la formación de micronúcleos están significativamente relacionados, que a mayor sea el tiempo de exposición la concentración de mercurio aumenta y por consecuencia el daño genotóxico (formación de micronúcleos) se manifiesta paralelamente, mientras que, con el intervalo fisiológico (edad fisiológica) la concentración de mercurio total. Como también menciona Berces *et al* (1993), que observó una ligera dependencia de la edad con respecto a la alteración genotóxica, Del mismo modo, un aumento lineal en la frecuencia de micronúcleos con iones de mercurio respectivamente

La genotoxicidad de los compuestos de mercurio se ha investigado en una gran variedad de blancos genéticos, utilizando tanto organismos procariotas como eucariotas (De Flora *et al.*, 1994). Algunos resultados han sido pocos confiables y no muestran una tendencia clara. Podría mencionarse que compuestos de mercurio en general no inducen efectos mutagénicos en ensayos con bacterias pero pueden ejercer genotoxicidad sobre los cromosomas de las células eucariotas, provocando aberraciones cromosómicas, clastogenicidad y efectos aneuploídicos (De Flora *et al.*, 1994; Akiyama *et al.*, 2001; Thier *et al.*, 2003).

Los estudios de biomonitorización en humanos expuestos al mercurio han mostrado un incremento en las frecuencias de aberraciones cromosómicas y de micronúcleos en linfocitos de sangre (Franchi *et al.*, 1994; Amorin *et al.*, 2000). Otros casos han encontrado resultados negativos y/o discordantes, poniéndose de manifiesto que los estudios citogenéticos de individuos expuestos a este metal no son muy específicos (De flora *et al.*, 1994; Celbulska *et al.*, 2005; Silva *et al.*, 2005).

Respecto a los mecanismos involucrados en la genotoxicidad del mercurio se ha considerado que es debido a la capacidad del metal de reaccionar con los grupos sulfhidrilo de la tubulina, afectando las funciones del huso mitótico y que provoca como consecuencia, aberraciones cromosomales y poliploides (De Flora *et al.*, 1994).

Por otro lado, muchos estudios *in vitro* e *in vivo* sugieren que la genotoxicidad de las formas inorgánicas y orgánicas de mercurio se debe a la generación de radicales libres

(Rao *et al.*, 2001). Una elevada formación de complejos entre mercurio y el glutatión, principalmente antioxidantes de las células, produciría un daño en el ADN indirectamente, a través de la acumulación de especies reactivas de oxígeno, las cuales son eliminadas normalmente por el glutatión (De Flora *et al.*, 1994; Ercal *et al.*, 2001; Valko *et al.*, 2005).

Aun cuando se han detectado algunas evidencias de que tanto el mercurio inorgánico como el orgánico pueden causar tumores renales en roedores (Nacional Toxicology Program, 1993), no existe evidencia suficiente que demuestre que los compuestos de mercurio puedan causar carcinogenicidad en humanos (Boffeta, 1993; De Flora *et al.*, 1994). No obstante, algunas observaciones han mostrado un cierto grado de riesgo de glioblastoma es dentistas y enfermeros dentales que utilizan amalgamas que contienen mercurio (Ahlbom *et al.*, 1986).

De esta manera y de acuerdo con la información acumulada sobre los efectos genotóxicos y carcinogénicos del mercurio, la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer "por sus siglas en inglés: IARC", han clasificado los compuestos de mercurio en los siguientes grupos (Boffeta, 1993):

- Compuestos de metilmercurio en el grupo 2B (posibles carcinógenos)
- Los compuestos inorgánicos de mercurio y el mercurio metálico en el grupo 3 (considerados no carcinogénicos en humanos).

4.3 Determinación del riesgo ocupacional en el proceso de quimbalete minero artesanal.

4.3.1. Determinación del riesgo presumible.

De acuerdo a la clasificación realizada por la matriz genérica de exposición, el riesgo presumible fue de tipo bajo con una puntuación de 44 puntos, ya que la misma refiere los siguientes intervalos de clasificación:

1. Alto : 61 – 70 puntos
2. Medio : 49 – 60 puntos
3. Bajo : 23 – 48 puntos

Para ello, en el riesgo presumible la puntuación asignada correspondió según los criterios siguientes:

Tabla 13. Aplicación de la matriz genérica de exposición de riesgo ocupacional mediante puntuación ya establecidos (Puno, setiembre 2016 – marzo 2107).

MATRIZ GENERICA		
RIESGO PRESUMIBLE	PUNTUACION	TOTAL
Tipo de industria y sector (Minera)	15 pts.	15 pts.
Agentes químicos (1 - 45 Agentes Químicos)	3 pts.	3 pts.
Toxicidad referida (Mediana Y Sistémica)	10 pts.	10 pts.
Principales biomarcadores (Biológicos)	3 pts.	3 pts.
Eventos centinelas en toxicología ocupacional (Incapacidad)	6 pts.	6 pts.
PUNTAJE TOTAL DEL RIESGO PRESUMIBLE		37 pts

Es preciso señalar que debido esperarse una puntuación más elevada y por ende, un riesgo diferente al bajo, ya que el tipo de industria que se está analizando es la minera con una puntuación de 15 puntos, donde solo se determinó la presencia de una sola una agente químico a trabajar (mercurio) con una puntuación de 3 puntos, como ya se mencionó la toxicidad del mercurio es a largo plazo y sistémica, y solo se realizó el análisis sobre un tipo de biomarcador (la utilización de sustancias químicas “mercurio” que trajo como consecuencia la formación de micronúcleos), donde hubiera sido necesario de igual forma, aplicar análisis físico y biológico de forma simultánea en los trabajadores mineros artesanal. Asimismo, no es reconocido por parte de los propios mineros artesanales que exista, muerte de individuos por exposición al mercurio, pero si enfermedades como enfermedades intestinales crónicas y agudas (diarreas), problemas neuronales (irritabilidad, náuseas y dolor de cabeza entre otras), lo que hizo que con referencia a los tipos de eventos centinelas, la puntuación fue tan solo de 6 puntos.

4.3.2. Determinación del riesgo presumible con base en asesoría:

Para el análisis de riesgo presumible con base en asesoría, también se establece criterios de puntuación ya establecidos por la matriz genérica y son los siguientes:

1. Alto : 20 – 30 puntos
2. Medio : 19 – 14 puntos
3. Bajo : 13 – 14 puntos

Tabla 14. Aplicación de la matriz genérica para el riesgo con base en asesoría (Puno, setiembre 2016 – marzo 2107).

RIESGO CON BASE EN ASESORIA	PUNTUACION	TOTAL
Número de individuos expuestos (10-15 individuos)	3 pts	3 pts
Frecuencia de exposición (Diaria)	4 pts	4 pts
Duración de la exposición (4 hrs - 12 hrs)	4 pts	4 pts
Proximidad a la fuente de exposición (50 cm o Menos)	4 pts	4 pts
Controles de la exposición según medios de protección (No existe protección)	10 pts	10 pts
Puestos de trabajo bajo la influencia de otros puestos o áreas (3 Puestos O Áreas)	4 pts	4 pts
RIESGO CON BASE EN ASESORIA		29 pts

Con respecto al riesgo con base en asesoría nos dio como resultado un nivel alto de riesgo, que se muestra en la tabla 14, en la tabla se muestra los 6 aspectos que se tomó para determinar el riesgo en esta parte del estudio, como el número de individuos que se trabajó que fue de 15 trabajadores mineros artesanales de la mina rinconada, que mediante el esquema de puntuación de la matriz genérica nos da una puntuación de 3 puntos, en cambio con respecto a la frecuencia de exposición que los trabajadores están expuestos es muy alta (diaria), ya que los trabajadores de la minería artesanal tienen que realizar este trabajo para que puedan sostenerse económicamente, y la duración de exposición es de 4 horas a más diarias por el mismo sistema que ellos trabajan, la proximidad de exposición es muy cerca a la persona de 50 cm a menos, porque todo el trabajo es manual.

Los quimbaleteros cumplen un trabajo muy importante la que es de separar el oro de los metales y la roca que ellos extraen, en este labor los trabajadores mineros no cuentan con ninguna medida de protección y a la vez tienen que interactuar más de 3 trabajadores en una misma área de trabajo lo que nos indica que la exposición es muy fuerte y constante.

4.3.3. Determinación del riesgo de las condiciones de trabajo y daño a la salud:

Asimismo, para el riesgo de las condiciones de trabajo y daños a la salud, se establece la siguiente expresión: $(RCTDs) = ECT \times EDS$

Donde de determino dos parámetros, el primero fue la evaluación de las condiciones de trabajo (ECT), que a la vez está dividido en dos evaluaciones que fueron: una evaluación subjetiva (ES) y una evaluación objetiva (EO), y evaluación de daños a la salud (EDS).

La evolución subjetiva se realizó mediante la encuestar a los trabajadores mineros, de los malestares que ellos presentaban los más comunes fueron la diarreas, nausea, dolor de cabeza e irritabilidad en un 90 % de los trabadores presentaba estos problemas de salud, lo que indica que las condiciones de trabajo les producía un nivel alto de malestares laborales. Lo que nos indica que la puntuación es de un nivel alto de 3 puntos.

La evaluación objetiva se realizó mediante la verificación de las historias clínicas de los trabajadores en estudio en el centro de salud de la rinconada, en este caso no se encontró reportes algunos de los trabadores mineros en estudio ya que no contaban con ningún sistema de seguro. Lo que nos indica que la puntuación es de un nivel bajo de 1 puntos.

Dado que no existió un criterio técnico en cuanto a la labor de extracción de oro acompañado a los mineros artesanales y que ellos solo refieren que sus condiciones establecidas son preventivas, obteniéndose finalmente 2 punto.

Para la evaluación de las condiciones de daños a la salud, la misma establece la siguiente expresión y el riesgo según el intervalo de puntuación correspondiente:

$$EDS = ND \times \% Ad_{Bm} / 100 \times 1000$$

Dónde:

- ND: número de determinaciones
- % Ad_{Bm} : porciento admisible para biomarcadores
- 1000: Factor de seguridad

El riesgo en la evaluación de daño a la salud es baja ya que solo se consideró un solo biomarcador y un número de determinantes de 15 trabajadores.

Se determinó el valor final correspondió a 23.0 siendo medio el riesgo de exposición por tal razón este resultado indica que puede existir la posibilidad de ocurra un evento en el ambiente de trabajo, de características negativas (produzca daño) y con consecuencia severas; este evento puede ser generado por una condición de trabajo directa, indirecta o

confluyente, capaz de desencadenar alguna perturbación en la salud o integridad física del trabajador como también daños genotóxicos que presentan los 15 mineros artesanales que fueron estudiados, sabiendo que el mercurio es un elemento extremadamente tóxico, donde puede afectar principalmente el sistema nervioso central y provocar alteraciones (Crespo *et al.*, 2005), como también corrobora Cebulka *et al.*, (2005) donde sugiere que la exposición ocupacional al mercurio causa deficiencia importante en la reparación del ADN. No obstante las discordancias en diversas secciones, la matriz puede ser útil para caracterizar el riesgo de exposición en puestos de trabajo de este tipo de empresas (empresas pequeñas) (Zenz, 1988), en cambio Tamayo, (2012), menciona que la matriz contribuye un instrumento de gestión para estimar el riesgo toxicológico la cual contribuye a preservar la salud laboral.

V. CONCLUSIONES

1. Los valores de la concentración promedio de mercurio total en sangre de los quimbaleteros mineros artesanales fue de $4.46 \pm 2.84 \mu\text{g/l}$. Con una relación significativa entre la concentración de mercurio y el tiempo de exposición ($F: 0.008$), con un 5% de margen error, en cambio no existe relación significativa entre la concentración de mercurio y la edad.
2. El 100 % de los trabajadores mineros artesanales presentan daños genotóxicos, ya que el ensayo por formación de micronúcleos con un promedio de $0,0101 \pm 0,0087$, así lo reveló, siendo mayores estas formaciones a medidas que aumenta el tiempo de exposición, pero no interviene la edad en la formación de los micronucleos considerando que la que para el trabajo de la minería en principal del quimbaletero no existe una edad de inicio ni de final, sabiendo que la mina rinconada se practica la minería artesanal e ilegal casi en su totalidad.
3. Al aplicar la matriz genérica de exposición de riesgo ocupacional, esta herramienta arrojó que el daño fue de tipo MEDIO según los criterios de selección medidos, con una puntuación de 23,0 ya que no fueron evaluadas determinaciones que definen la operacionalidad real de la matriz en función a mediciones que se exigen.

VI. RECOMENDACIONES

1. Evaluar formación de micronúcleos en células epiteliales bucales como medio de selección menos invasivo.
2. Determinar pruebas neuro-funcionales y correlacionarlas con las concentraciones de mercurio en sangre.
3. Evaluar con mayor exactitud, el riesgo con base en asesoría por puesto y área de trabajo, así como incluir criterios objetivos de evaluación laboral.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Aguilar F. J., (2001). "Toxicología Laboral Básica", Curso De Formación Para El Desempeño De Funciones De Nivel Superior En Prevención De Riesgos Laborales En La Administración General Del Estado. I.N.S.H.T. Módulo 3, Ud. 3.2 (J Bérce 1993)
- Akiyama M. Oshima H. Nakamura, M., (2001). Genototoxicity of mercuri used in chromosome a (J Bérce 1993)ration test. *Toxicol in Vitro* 15: 463-467.
- Albert L. A., (2004). Curso básico de Toxicología Ambiental. ISBN 968-18-2609-4.
- Albert L. A., (1997). Evaluación de riesgo. Cap. 22. Introducción a la toxicología ambiental. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. División de salud y ambiente. OPS/OMS. Metepec. Estado de México. pp 387. ISBN 92-75-322333
- Albiano N. F., (2000). Toxicología laboral: criterios para la vigilancia de los trabajadores expuestos a sustancias químicas peligrosas [Internet]. Organización Iberoamericana de Seguridad Social. (Consultado 05-julio-2016). Recuperado en: <http://www.oiss.org/estrategia/IMG/pdf/>
- Arana Zegarra M.,(2009). El caso del derrame de mercurio en choropampa y los daños a la salud en la población rural expuesta, simposio: salud ambiental, Peru Med Exp Salud Publica. 2009; 26(1): 113 Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2009; 26(1): 113-18
- ATDRS (2013). Agency for Toxic Substances and Disease Registry Division of Toxicology and Human Health Sciences Atlanta, GA 30333. (Consultado 05 julio 2016). Recuperado en: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles>
- Barcelos G. R., Angeli J. P., Serpeloni J. M., Gruta D., Rocha B. A., Bastos J. K., Knasmüller S., Júnior F. B., (2011). La quercetina protege a las células del hígado derivadas de seres humanos contra el mercurio - inducida daño de ADN

y alteraciones del estado redox. *Mutat Res.* Dec 24; 726 (2): 109-15. doi: 10.1016/j.mrgentox.2011.05.011.

Bérces J., Otos M., Szirmai S., Crane-Uruena C., Köteles G. J., (1993). Usondo el ensayo de micronucleos para detectar efectos genotoxicos de iones metálicos. *Environ health perspect.*, 101 (suppl 3):11 – 13.

Carranza P. L., (2011). Cuantificación de micronúcleos en células de sangre periférica de moto taxistas que trabajan en la ciudad de Cartagena de indias. Universidad nacional de Colombia facultad de medicina, departamento de toxicología. Bogotá – Colombia.

Castaño TW, Magos L, Myers GJ. (2003). The toxicology of mercury- -current exposures and clinical manifestations. *N Engl J Med*; 349(18):1731-7.

Cebulska-Wasilewska A, Panek A, Zabiński Z, Moszczyński P, Au WW., (2005). Occupational exposure to mercury vapour on genotoxicity and DNA repair. *Mutat Res*; 586(2):102- 14

Chacón L, Ruiz F, Zapico R., (2005). *Rev. Metal.* Madrid. Vol. Extr. pp. 390-394.

Código Internacional para el Manejo del Cianuro., (2012). Instituto Internacional para el Manejo del Cianuro. (Consultado 05-julio-2016). Recuperado en: <http://www.cianydecode.org>

Cuentas Alvarado Mario, Velarde Ochoa Jhon, (2002). Evaluación Del Uso De Mercurio En Los Procesos De Amalgamación De Oro En Quimbaletes Y Molinos En La Rinconada – Puno, Universidad Nacional del Altiplano, Puno

Del pino C. R., Frías O. A., Palomino M. P., (2009). Apuntes y materiales de clase de enfermería comunitaria. TEMA 3 casualidades de epidemiología y validez. (Consultado 10 de julio del 2016). Recuperado en: <http://www4.ujaen.es/~rdelpino/Del%20Pino%202009.pdf>

- Del Valle J.C., (2006). Ciclo de vida y análisis de riesgo del cianuro en la planta de procesos de Orcopampa. Tesis de Maestría (Red Desir-Proyecto ALFA). EAP de Ingeniería Geológica - UNMSM, Lima.
- Deza A.N. (2002). Oro, cianuro y otras crónicas ambientales. Editorial Universitaria UNC. Cajamarca, Perú.
- Espinosa MT, Partanen T, Piñeros M, Chaves J, Posso H, Monge P, Blanco L y Wesseling C., (2005). Determinación del historial de exposiciones en la epidemiología ocupacional. *Revista Panamericana de la Salud Pública*. Vol 18(3). ISSN: 1020-4989.
- Fenech M, Holland N, Chang WP, Zeiger E, Bonassi S. 1999. The Human MicroNucleus Project--An international collaborative study on the use of the micronucleus technique for measuring DNA damage in humans. *Mutat Res*; 428(1-2):271-83.
- Fenech M. 2002. Biomarkers of genetic damage for cancer epidemiology. *Toxicology*. 27; 181- 182: 411-166.
- Gandhi P, Sharma P, Kaur and Badaruddoza A., (2003). The micronucleus test in urothelial cells and uterine smears of cervix cancer patients: a comparison. *Int J Hum Genet*; 3(2):121-6.
- Garzón G.C.A., (2011). Hacia una política de gestión integral de pasivos ambientales en Colombia. Tesis de investigación para optar por el título de Magíster en Ingeniería-Ingeniería Ambiental. Departamento de Ingeniería Química y Ambiental. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia.
- Goldberg M, Kromhout H, Guenel P, Fletcher AC, Gerin M, Glass DC *et al.*, (1993). Job exposure matrices in industry. *Int J Epidemiol*; 22 (Suppl2): pp 10-15.
- Goyzueta Gilmar, Trigos Ciria, (2009). RIESGOS DE SALUD PÚBLICA EN EL CENTRO POBLADO MINERO ARTESANAL LA RINCONADA (5200

MSNM) EN PUNO, PERÚ, Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2009; 26(1): 41-44.

Grandjean, P. 1992. Individual susceptibility to toxicity. *Toxicol Letters* 64/65:43-51.

Greswell C.R.E., (2009). Métodos comprobados para descubrir y extraer oro. Lt. Primera impresión, 1994.

Hawskin N, Norwood S, Rock J., (1986-1989). A strategy of occupational exposure assessment. AIHA Exposure Assessment Strategy Committee. Recuperado en: <https://www.aiha.org/publications-and-resources/TheSynergist/AIHANews/Pages/Just-Published-Fourth-Edition-of-A-Strategy-for-Assessing-and-Managing-Occupational-Exposures.aspx>.

Hei T, Filipic M., (2004). Role of oxidativedamage in thegenotoxicity of arsenic. *Free Radical Biology and Medicine*. 37(5): 574-581.

Hernández M. M., Marrugo N. J. L., (2014). Genotoxicidad de metales presentes en el agua de bebida en la Región de la Mojana, departamento de Sucre, Colombia. Memorias del II Seminario de Ciencias Ambientales Sue-Caribe & VII Seminario Internacional de Gestión Ambienta. ISBN: 978-958-9244-64-7. Pag. 129-135

Huff, JE. (1993). Chemicals and cancer in humans: First evidence in experimental animals. *Environ Health Persp* 100:201-210.

IARC (2002). International agency for research on cancer. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Some Traditional Herbal Medicines, Some Mycotoxins, Naphthalene and Styrene VOLUME 82 This publication represents the views and expert opinions of an IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, which met in Lyon.

Jasauí Mauricio, (2015). INFORME SECTORIAL PERÚ: SECTOR MINERO, pacific credit rating . (consultado el 20 de marzo del 2017) recuperado de

http://www.ratingspcr.com/uploads/2/5/8/5/25856651/pe-201512-fin_minero_v01.pdf.

Letaj K., Elezai I., Selimi Q., Kurteshi K., (2012). Efectos de la contaminación ambiental con metales pesados en la frecuencia de micronúcleos en epiteliales bucales células de origen humano POBLACIÓN en Mitrovica. DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE PRISHTINA, Prishtinë, República de Kosovo, REVISTA DE LA SALUD RIESGOS QUÍMICOS (JCHR) , Volumen 2 , Número 3 ; Página (s) 1-4.

London L, Myres J.E., (1998). Use of a crop and job specif exposure matrix for retrospective asesment of long term exposure in studies of chronic neurotoxic effects of agrochemical. *Occup Environ Med*; 55:194-201.

Madrid G. L., Gracia L. C., Marrugo J. L., Urango I. D. (2011). Genotoxicidad de metales pesados (Hg, Zn, Cu, Pb Y Cd) asociado a explotaciones mineras en pobladores de la cuenca del río San Jorge del departamento de Córdoba, COLOMBIA. Universidad de Córdoba. Laboratorio de Toxicología y Gestión Ambiental. Cra 6 N°76-103 Montería – Córdoba, *Rev. Asoc. Col. Cienc.(Col.)*, 23: 103-111; 2011

Mamani Pari Gleny, (2012). Nivel De Conocimiento Sobre Medidas Preventivas Y Efectos Tóxicos Del Mercurio En Trabajadores De La Mina La Rinconada, PUNO – 2012, Tesis, Universidad Nacional Del Altiplano Facultad De Enfermería Escuela Profesional De Enfermería, Respositorio Institucional UNA-Puno.

Miner. Eng. 12, pp 877-892.

Mullan J.R., Murthy I.L., (1991). Eventos centinelas en salud ocupacional. *Americal Journal of Industrial Medicine*; 19: pp 775-799. Wiley-Liss, Inc.

Norppa H , Falck G. C . (2003). What do human micronuclei contain? Mutagénesis. (CNBI) PMID:12714687 May; 18 (3): 221-33.

- Norppa H, Luomahaara S, Heikanen H, Roth S, Sorsa M, Renzi L., (1993). Micronucleus assay in lymphocytes as a tool to biomonitor human exposure to aneuploidogens and clastogens. *Environ Health Perspect*; 101 Suppl 3:139-43.
- Nuñez BJA, Galar MM, García MS, Gómez O.L.M., (2010). Daño genotóxico y citotóxico producido por mercurio sobre células sanguíneas de (*Cyprinus carpio*). Laboratorio de Toxicología Acuática. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas - IPN, México DF.
- Papas G, Queen S, Hadden W, Fisher G., (1993). The increasing disparity in mortality between socioeconomic group in the United States, 1960 and 1986. *N Engl J Med*; 329: pp 103-109.
- Rees KL, Van Deventer J.S.J., (1999). Modelado de procesos oro. Modelado I. lotes de los procesos de lixiviación, preg-robo y adsorción sobre carbón activado
- Rojas C. D., (1998). Monitoreo biológico en salud ocupacional (Monitoreo biológico para aplicar a los trabajadores de una fábrica de plaguicidas). Cuba la Habana. Editorial ciencias médicas. pag. 2 – 4.
- Rojas, M., (1998). Tópicos de actualidad en toxicología ocupacional. Libro resumen. X Congreso Latinoamericano de Toxicología. Palacio de las Convenciones. C. Habana, Cuba.
- Rosa CC, Marrugo JL., (2013). Efectos genotóxicos asociados a metales pesados en una población humana de la región de La Mojana-Colombia.
- Rosales R. J., Malca N. E., Alanoca J. J., Chavez M., Gonzales M. A. (2013). Daño genotóxico en trabajadores de minería artesanal expuestos al mercurio. *Rev. Perú. Med exp. Salud publica* vol. 30 N°4,: 595 – 600.

- Suhas S, Ganapathy KS, Gayatri Devi M, Ramesh C., (2004). Application of the micronucleus test to exfoliated epithelial cells from the oral cavity of beedi smokers, a high-risk group for oral cancer. *Mutat Res*; 561(1-2):15-21.
- Tamayo Rivas S. , Argota Pérez G.,(2012). Matriz diseñada en toxicología ocupacional, Centro de Toxicología y Biomedicina, Santiago de Cuba, Cuba. *MEDISAN* 2012; 16(2):161
- Tejador I. C., (2011). Biomonitorio de células bucales a partir de micronucleos en soldadores de metales en Cartagena (bolívar),
- Tolbert PE, Shy CM, Allen JW., (1991). Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: a reid test in snuff users. *Am J Epidemiol*; 134(8):840-50.
- U.S. Department of Health and Human Services-Agency for Toxic Substances and Disease Registry: ATDRS., (1999). Toxicological profile for mercury. Atlanta, Georgia:. (Consultado 05-julio-2016). Recuperado en: <http://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp46.pdf>
- Unión Europea: U.E., (2010). Guía de la Comisión Europea sobre la realización de actividades extractivas no energéticas de conformidad con los requisitos de Natura.2000. Luxemburgo.
- Vega M.L., (2011). Parametrización sistémica de la dimensión ambiental. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ingeniería. Revista Ingeniería e Investigación.
- World Health Organization, International Agency for Research on Cancer: IARC., (1993). Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: Beryllium, Cadmium, Mercury, and Exposures in the Glass Manufacturing Industry. Geneva: WHO. (Consultado 05-julio-2016). Recuperado en: <http://monographs.iarc.fr/ENG/monographs/vol58/pdf>
- Zabinski Z, Panek A, Wierzevska A, Kasper E, Dyga W, Moszczynski P, *et al.* (2001). Influence of occupational exposure to mercury vapours on lymphocytes

susceptibility to the induction of genetic damage. Kraków, Poland: Institute of Nuclear Physics.

Zalacain M, Sierrasesúmaga L, Patiño A., (2005). El ensayo de micronúcleos como medida de inestabilidad genética inducida por agentes genotóxicos. *An Sist Sanit Navar*; 28(2):227-36.

Zenz C, ed. Occupational medicine: principles and practical applications. 2nd Ed. Chicago: Mosby; 1988

ANEXOS

Anexo 1. Consentimiento informado.

Tabla 15. Consentimiento informado. (Puno-setiembre, 2016)

No	Derechos a conocer
1	- el carácter individual de la invitación a participar como sujeto de la investigación, así como los objetivos y métodos de la investigación
2	- la duración prevista de la participación del sujeto
3	- los beneficios para el sujeto o para otros que razonablemente encerraría esperar como resultado de la investigación
4	- todo riesgo o molestia previsible para el sujeto resultante de su participación en la investigación
5	- todo procedimiento o tratamiento alternativo que pudiese ser tan ventajoso para el sujeto como el procedimiento o tratamiento que se esté ensayando
6	- el límite hasta el cual se mantendrá el carácter confidencial de los registros en los cuales se indica la identidad del sujeto
7	- alcance de la obligación del investigador si la tuviese, de proporcionar servicios médicos al sujeto
8	- que se administrará tratamiento gratuitamente para determinados tipos de lesiones relacionadas con la investigación
9	- que el sujeto, su familia o los familiares que tenga su cargo serán indemnizados en caso de discapacidad o muerte resultante de dichas lesiones
10	- la persona tiene plena libertad para negarse a participar y tendrá plena libertad para retirarse de la investigación y en cualquier momento, sin que ello le acarree una sanción o la pérdida de los beneficios que por su permanencia tendría derecho a recibir
	Obligaciones de los investigadores con relación al consentimiento informado
1	- transmitir al presunto sujeto toda la información que necesite para dar un consentimiento debidamente informado
2	- ofrecer al presunto sujeto amplias oportunidades de hacer preguntas e instarlo a que las haga
3	- excluir toda posibilidad de engaño injustificado, influencia indebida o intimidación
4	- como regla general, lograr que el presunto sujeto firme algún documento que acredite su consentimiento informado
5	- renovar el consentimiento informado de cada sujeto si las condiciones o los procedimientos de la investigación sufren modificaciones importantes
6	- pedir el consentimiento del sujeto únicamente cuando este tenga pleno conocimiento de los hechos pertinentes y de las consecuencias de la participación y haya tenido suficientes oportunidades para decidir si participará en la investigación

Tabla 16. Declaración de consentimiento informado. (Puno-setiembre, 2016)

DECLARACIÓN DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO

TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN

**PREDICCIÓN DE RIESGO OCUPACIONAL AL MERCURIO MEDIANTE
GENOTOXICIDAD, ANÁLISIS SANGUÍNEO Y MATRIZ GENÉRICA DE
EXPOSICIÓN DURANTE EL PROCESO DE QUIMBALETE MINERO ARTESANAL,
RINCONADA-PUNO**

Yo,

- a) He leído la hoja de información que se me ha entregado
- b) He podido hacer preguntas sobre el estudio
- c) He recibido suficiente información sobre el estudio
- d) He hablado con Bach. Ronal Reynaldo Zapana Quispe

Comprendiendo que mi participación es completamente voluntaria, puedo retirarme del estudio en las siguientes situaciones:

- 1) Cuando lo desee
- 2) Sin tener que dar explicación alguna
- 3) Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos o en los análisis que se me está proporcionando.

Presto libremente mi conformidad para participar en el proyecto de tesis anteriormente titulado

Fecha

Hora

Nombre del participante

Firma del participante

En caso el participante sea iletrado solo será necesario su huella digital, la firma de un familiar o testigo. Al haberse explicado el proyecto de investigación al participante y poder responder las preguntas, se tiene la comprensión de la información y acceso voluntariamente a participar.

Fecha.....

Hora

Nombre del investigador

Firma del investigador

Anexo 2. Certificación de Acreditación para Blufstein Laboratorio Clínico.



Figura 3. Certificación de Acreditación para Blufstein Laboratorio Clínico. (Puno-setiembre, 2016).



Figura 4. Certificación de Acreditación para Blufstein Laboratorio Clínico.

Certificación de Acreditación para Bluftein Laboratorio Clínico. (Puno-setiembre, 2016)

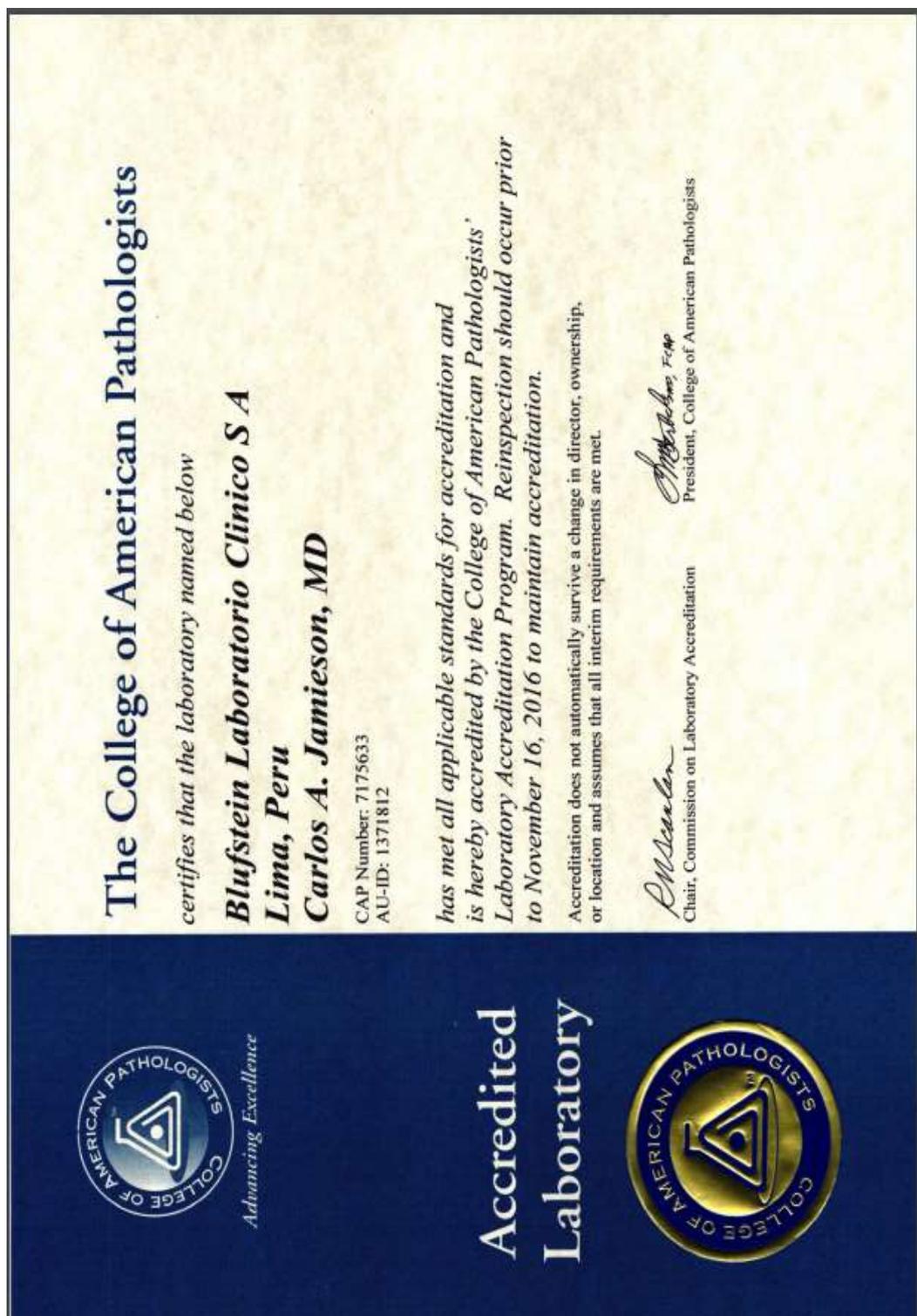


Figura 5. Certificación de Acreditación para Bluftein Laboratorio Clínico

Anexo 3. Guía de identificación de Ensayo por formación de micronúcleos.

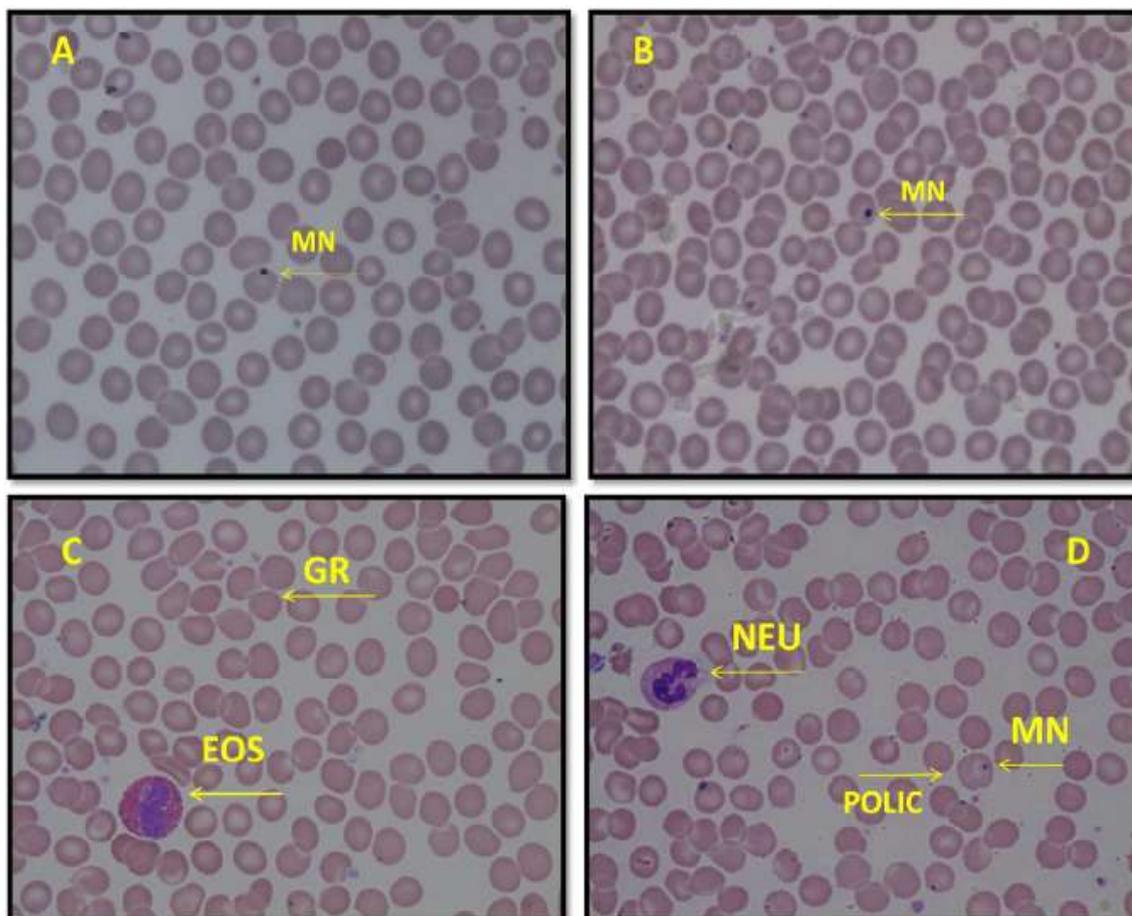


Figura 6. Guía de identificación de Ensayo por formación de micronúcleos. (Puno-setiembre, 2016)

Leyenda: fotografías de MN y estructuras celulares presentes en extendidos de sangre periférica.

- A y B presencia de micronúcleo (MN) en glóbulo rojo (GR)
- C eosinófilo (EOS) y glóbulos rojos (GR)
- D neutrófilo (NEU) Y micronúcleo (MN) en glóbulo rojo policromático (POLIC)
- E monocito (MON)
- F linfocitotos (LIN)

Anexo 4. Código de puntuación / matriz genérica de riesgo ocupacional. (*Puno-setiembre, 2016*)

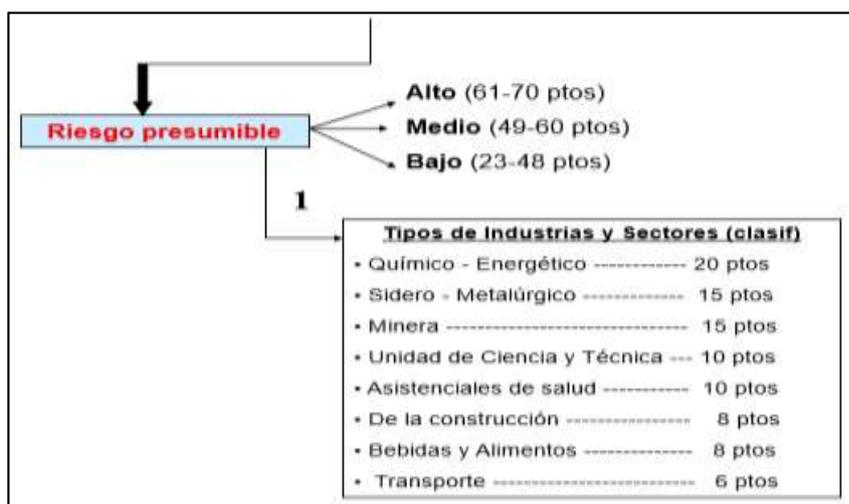


Figura 7. Código de puntuación / matriz genérica de riesgo ocupacional. (*Riesgo presumible*).

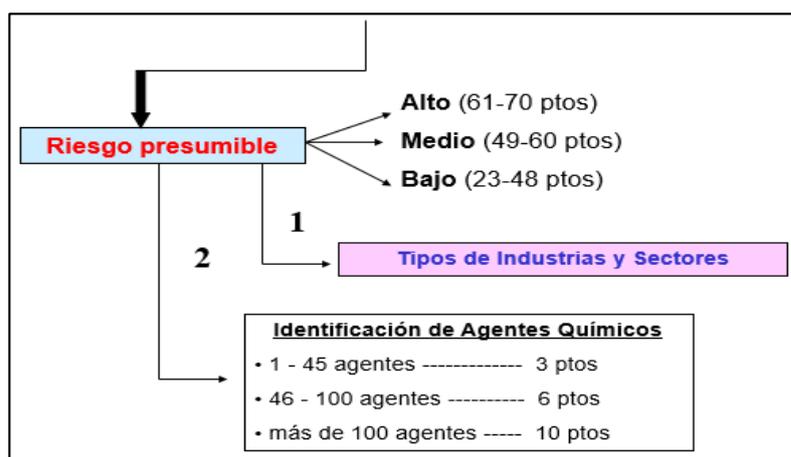


Figura 8. Código de puntuación / matriz genérica de riesgo ocupacional. (*Riesgo presumible*).

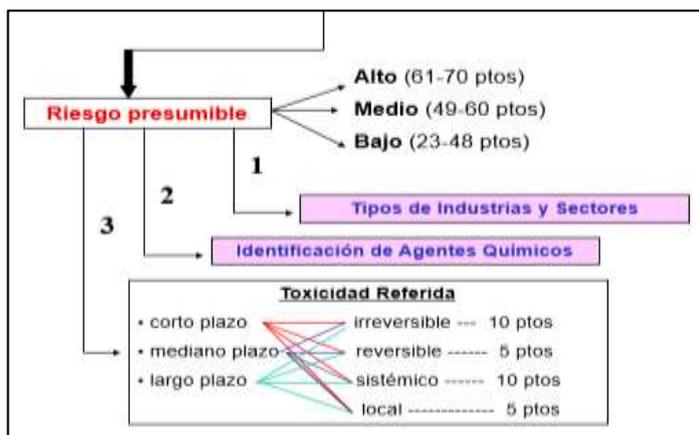


Figura 9. Código de puntuación / matriz genérica de riesgo ocupacional. (Riesgo presumible).

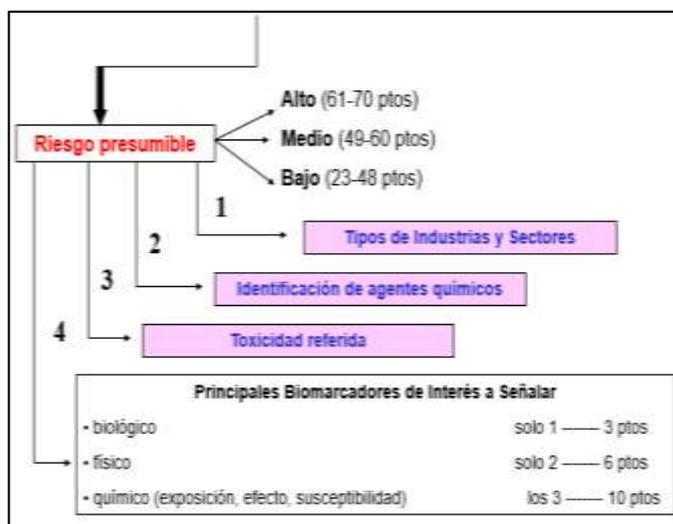


Figura 10. Código de puntuación / matriz genérica de riesgo ocupacional. (Riesgo presumible).

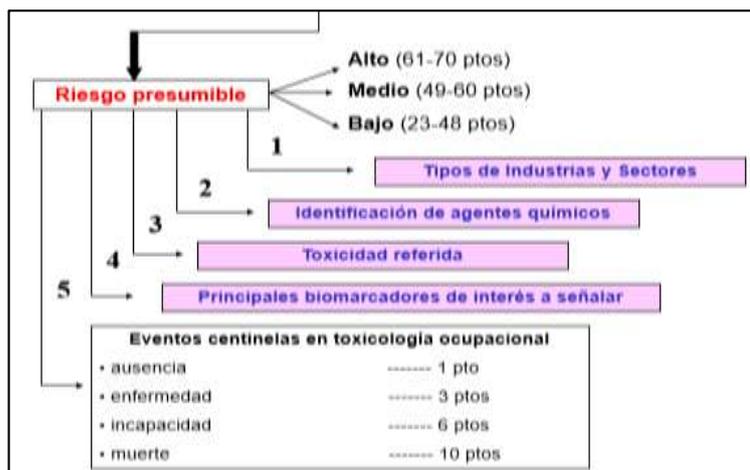


Figura 11. Código de puntuación / matriz genérica de riesgo ocupacional. (Riesgo presumible).

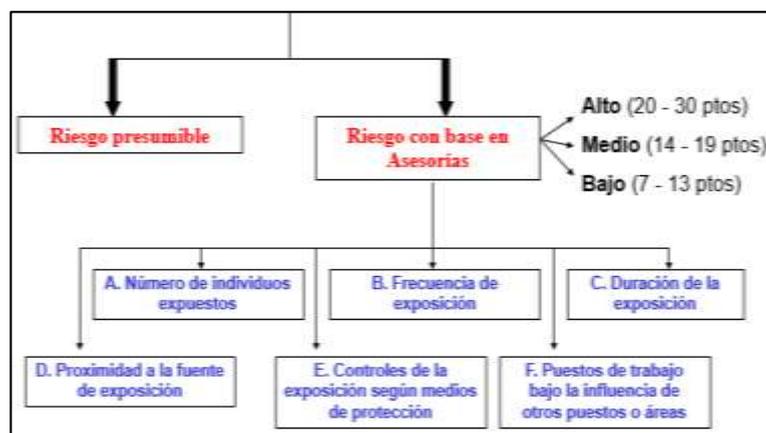


Figura 12. Código de puntuación / matriz genérica de riesgo ocupacional. (Riesgo con base en asesoría).

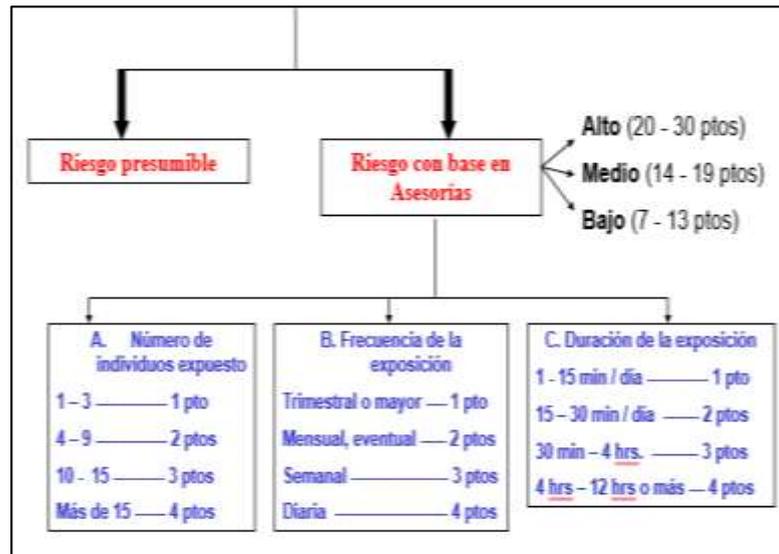


Figura 13. Código de puntuación / matriz genérica de riesgo ocupacional. (Riesgo con base en asesoría).

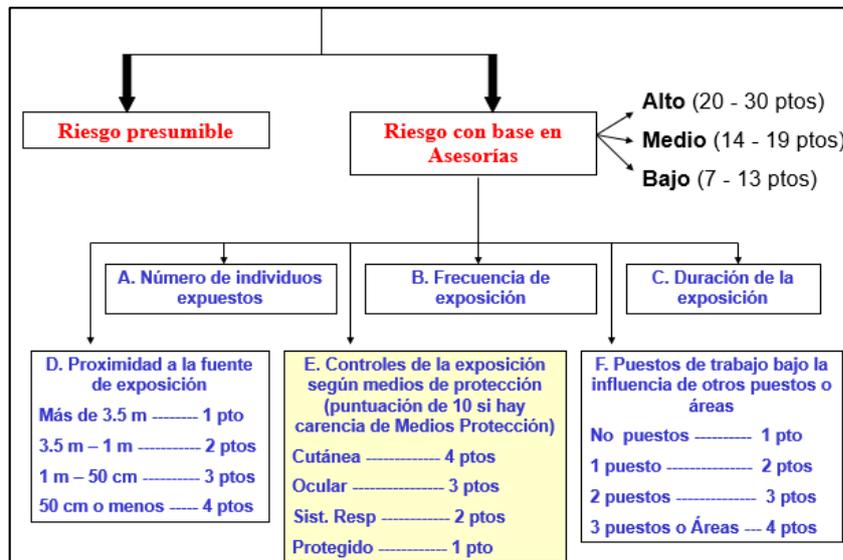


Figura 14. Código de puntuación / matriz genérica de riesgo ocupacional. (Riesgo con base en asesoría).

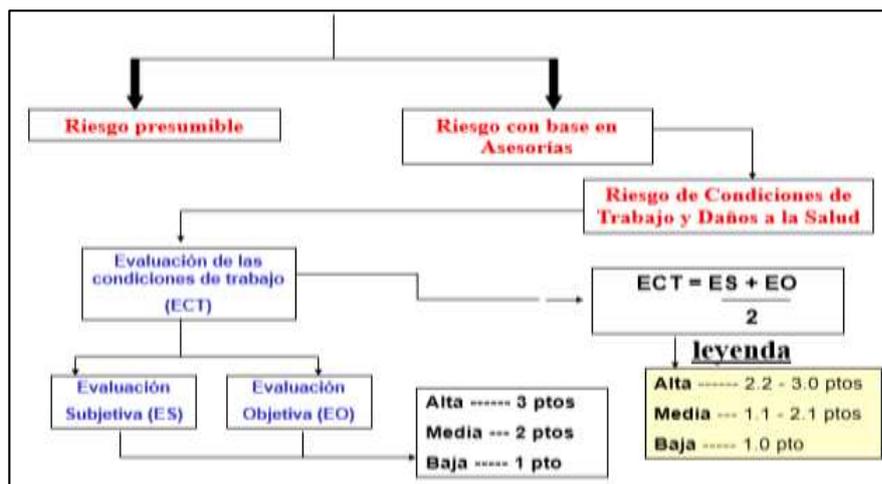


Figura 15. Código de puntuación / matriz genérica de riesgo ocupacional. (Riesgo de condiciones de trabajo y daño a la salud).

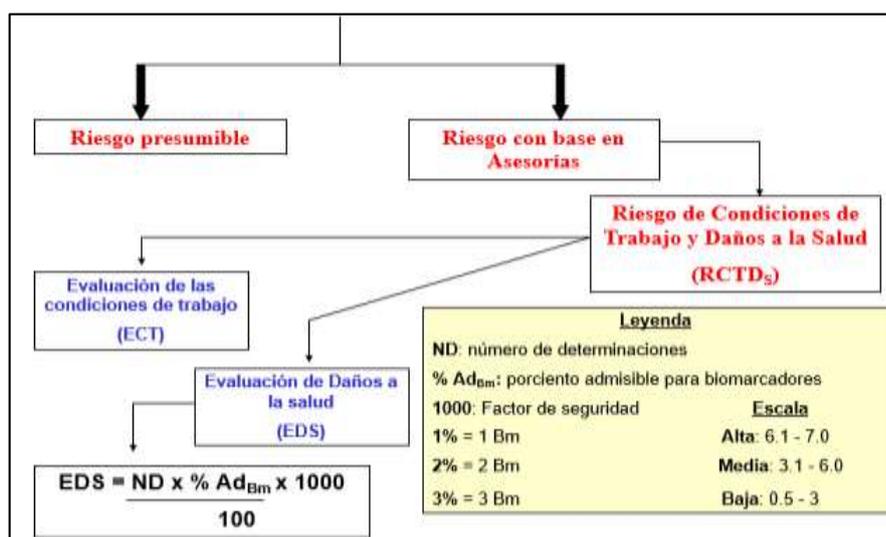


Figura 16. Código de puntuación / matriz genérica de riesgo ocupacional. (Riesgo de condiciones de trabajo y daño a la salud).

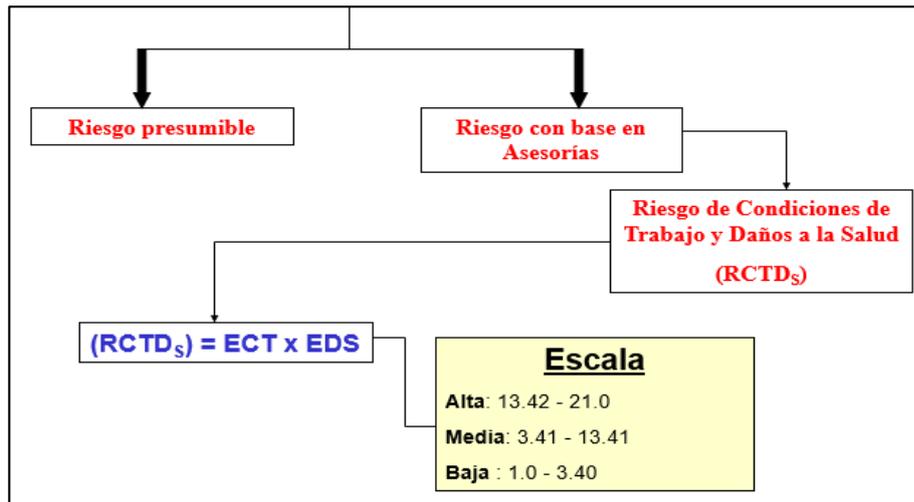


Figura 17. Código de puntuación / matriz genérica de riesgo ocupacional. (Riesgo de condiciones de trabajo y daño a la salud).



Figura 18. Código de puntuación / matriz genérica de riesgo ocupacional. (Ponderado final)



Figura 19. Código de puntuación / matriz genérica de riesgo ocupacional. (Riesgo ocupacional final)

Anexo 4

Análisis de la varianza / concentraciones de mercurio total en sangre. (Puno – Marzo, 2017).

Análisis de varianza (hg):

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Pr > F
Modelo	1	49,039	49,039	9,963	0,008
Error	13	63,986	4,922		
Total corregido	14	113,026			

Calculado contra el modelo $Y=Media(Y)$

La tabla ANOVA descompone la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre grupos y un componente dentro de grupos. El coeficiente F, que en este caso fue igual a 9.963, es el cociente entre el estimado entre grupos y el estimado dentro de grupos. Puesto que el valor P del coeficiente F fue menor a 0.05, existió diferencia estadísticamente significativa entre los valores para la formación de micronúcleos al compararse el tiempo de exposición e intervalos fisiológicos con un nivel del 95.0% de confianza.

Análisis de varianza (hg):

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Pr > F
Modelo	1	0,109	0,109	0,013	0,913
Error	13	112,917	8,686		
Total corregido	14	113,026			

Calculado contra el modelo $Y=Media(Y)$

Tabla 1 . Análisis de la varianza / formación de micronúcleos (Puno – Marzo, 2017).

APÉNDICES

Apéndice 1. Ubicación geográfica del centro poblado la Rinconada – Puno (Puno – Junio del 2016).



Figura 20. Ubicación geográfica. (Puno – Junio del 2016).

FUENTE: Google. (s.f).La Rinconada.
<https://www.google.com.pe/maps/place/La+Rinconada>.

Apéndice 2.



Figura 21. Quimbaletes y quimbaleros en pleno trabajo (Puno – Setiembre, 2016)

Apéndice 3. Ficha toxicológica ocupacional. (Puno – Setiembre, 2016)

Tabla 17. Ficha toxicológica ocupacional. (Puno – Setiembre, 2016).

FICHA TOXICOLOGICA OCUPACIONAL			
I.- DATOS GENERALES			
1. NOMBRE Y APELLIDOS:			
2. EDAD:			
3. LUGAR DE PROCEDENCIA			
II.- EVALUACION DE RIESGO OCUPACIONAL (minería artesanal)			
1. Años de experiencia laboral			
2. Cuantas sustancias químicas usted manipula en su trabajo			
3. ¿A cuál o cuáles factores se expone usted en su puesto de trabajo?			
Mecánicos	<input type="checkbox"/>	Físico	<input type="checkbox"/>
Químicos	<input type="checkbox"/>	Biológicos	<input type="checkbox"/>
4. ¿Presenta usted alguna enfermedad durante el trabajo que usted labora?			
SI	<input type="checkbox"/>	NO	<input type="checkbox"/>
5. ¿Cuántas veces a la semana usted labora en su centro de trabajo?			
6. ¿Cuántas horas al día usted está expuesto?			
7. ¿Qué tan cerca está usted de las sustancias que manipula?			
8. ¿Qué medios de protección utiliza para la manipulación de las sustancias que usted utiliza?			
9. ¿Cuántas personas laboran en el mismo lugar q usted?			
10. ¿Usted presenta algún tipo de enfermedad?			
SI	<input type="checkbox"/>	NO	<input type="checkbox"/>
11. ¿Usted realiza alguna consulta médica en el centro de salud de su localidad?			



HOSPITAL REGIONAL MANUEL NUÑEZ BUTRÓN
AV. EL SOL N°1022

DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA CLÍNICA Y ANATOMÍA PATOLÓGICA

"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

CONSTANCIA

El Jefe del Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica del Hospital Regional "Manuel Núñez Butrón" de Puno.

HACE CONSTAR:

Que el Sr. Ronal Reynaldo ZAPANA QUISPE bachiller la Facultad en Ciencias Biológicas de la UNA Puno ha realizado su trabajo de Investigación en el Servicio de Patología Clínica del Hospital Regional "MNB" de Puno: "Predicción del Ocupacional al Mercurio Mediante Genotoxicidad por Exposición en el Proceso de Quimbaleta Minero Artesanal, Rinconada- Puno 2016" durante los meses de Setiembre a Noviembre del 2016. Según consta en archivo del servicio.

Se expide el presente a solicitud personal para fines administrativos que crea por conveniente.

Puno, 13 de Marzo del 2018

Atentamente



Dr. Francisco A. Huja Soto
Patólogo Clínico y Anatomía Patológica
JEFE DE DEPARTAMENTO
C.M.P. 12862 N.º 13730