

Report of research in Kabwe, Zambia - 2016

Research proposal: Visualization of impact of chronic / latent chemical hazard and Geo-Ecological Remediation in Zambia.

Sampling purpose: To assess heavy metal (Pb, Cd, Zn, As, Co, Cu, Cr, Hg, Ni and Se) concentrations, stable Pb isotope ratios and levels of selected biomarkers in human blood (including umbilical blood), urine, fecal, hair and breast milk samples from the communities in Kabwe.

Counter parts: Hokkaido University (HU) & University of Zambia (UNZA)

### ***[Introduction]***

The African continent has experienced rapid economic development during the last decade, and mining is one of the most important sources of economic growth in many African countries. Unfortunately, this has also led to an increase in environmental pollution. Among the chemical pollutants, heavy metal contaminants have now become a significant health hazard in many African countries. For instance, in 2010, four hundred children died of lead poisoning in Zamfara State, Nigeria. However, there is limited ecosystem-monitoring and health risk data in Africa.

The Republic of Zambia, which holds vast mineral resources including copper (Cu), cobalt (Co), zinc (Zn) and lead (Pb) has seen significant growth in the mining industry. Consequently, heavy metal pollution has become one of the biggest environmental challenges in Zambia, with serious health implications for humans and animals. Kabwe is the capital of the Copperbelt Province with a population estimated at 202,914 according to the 2010 census. Kabwe mine was operational for over 90 years until June 1994, and produced many million tonnes of heavy metals including lead, and zinc. Previous studies on heavy metals pollution in Kabwe showed that both environmental and human samples were highly contaminated with the heavy metals, specifically with lead. Given these facts, Kabwe City has been ranked among 'the ten most polluted places in the world'.

### ***[Objective]***

- To investigate the effects of heavy metals on human and the surroundings environment

### *[Sampling]*

A trip was held to Zambia from 9<sup>th</sup> June to 17<sup>th</sup> July 2016 for KABwe Metal Pollution Amelioration Initiative (KAMPAI) project. Prior to sampling, the necessary documents such as ethical clearance, and approval for exporting samples have been on process. The ethical review of the research involving humans has been under review by the Research Ethics Committee of the University of Zambia (UNZAREC), and will be submitted to the Ministry of Health (MOH) in Zambia

The sampling period was from 17<sup>th</sup> June to 7<sup>th</sup> July 2016 in Kabwe, Zambia. Townships such as Kasanda, Makandanyama, Chowa, Mutwe Wansofu, and Makululu (as exposed area) in close proximity to the mine and Nakoli and Lukanga (as control area) far from the mining site were choosing as the sampling spots.

Discussion about the situation of lead pollution in Kabwe with different sectors, such as the regional district officer, and medical officers, was conducted for smooth sampling process. The meeting was very effective and helpful on enhancing the sampling process. The veterinary officers helped us in different aspects including collecting samples and allowed us to use the office compound for sample preparation. The day after the discussion, we went to the townships and observed the situation around the mining area. We saw children playing on the tip of the dumping site, and adults scavenge ores around the site.

For this sampling period; chicken, cow, and dog samples were collected.

Chicken: Each of 5 village chicken from Kasanda, Chowa, Mutwe Wansofu, Makululu, and Nakoli were urchased from the community and excised to collect different tissues. Samples of blood, liver, kidney, muscle, spleen, testis or ovary, lung, gizzard and contents, brain, bone and feather were collected.

Egg: village chicken eggs were purchased from Kasanda, Chowa, Mutwe Wansofu, Makululu, and Nakoli.

Cow: Blood and milk samples from three farms were collected

Dog: Blood samples from Kasanda, Chowa, Mutwe Wansofu, and Lukanga were collected.



General description of the samples is summarized in the following table.

Sample	Area	Sample size
Chicken	Chowa, Mutwe Wansofu, Kasanda, Makululu, Nakoli	Each 5
Egg	Chowa, Mutwe Wansofu, Kasanda, Makululu, Nakoli	Total 40
Dog blood	Chowa	53
	Mutwe Wansofu	20
	Kasanda	27
	Lukanga	40
Cow blood (milk)	Farm 1	31
	Farm 2	16 (15)
	Farm3	27 (6)

### *[What we did and achieved]*

During the stay in Kabwe, we met Professor Jack Caravanos from the Environmental Health, Hunter College of the City University of New York. He gave us lectures on how to use LeadCare II and XRF (X-ray fluorescence) instruments and showed us lead polluted remediated area in Chowa.



### **Measurement of lead in blood samples using LeadCare II**

We measured lead in all blood samples while we were in Kabwe. The result showed difference in lead distribution based on distance, and chicken blood samples had the highest levels of lead compared to cow and dog samples.



### **Measurement of lead in soil samples using XRF**

XRF: is a non-destructive analytical technique used to determine the elemental composition of materials by measuring the fluorescent X-ray emitted from a sample



First we measured lead soil levels in the remediated area. The levels were less than 1000 ppm compared to the polluted ones which reached up to 20000 ppm. However, in some houses we observed high levels of lead up to 5000 ppm. The reason behind this was an ore and contaminated top soil which came from the dumping site. Some houses still brought soil from the polluted areas.

Throughout the sampling process, we measured lead soil level (at 4 places) in each sampling spot using the XRF machine, and same trend was observed as blood samples. Places near to the dumping site had high levels of lead.

Moreover, the materials used to build the houses are even having high levels of lead. Most of the houses are built using concrete, at which the raw material for this brick is coming from the dumping site. This whole scenario is a clear indication that the residents in the townships of Kabwe are highly exposed to lead especially children under 7 years are highly susceptible.



***[Problem occurred]***

1. It was difficult to collect enough chicken and egg samples per community
2. For the allocation of GPS, it was also tiresome for some houses due to none or/and incorrect addresses

***[Future plan]***

After we get the clearance from UNZAREC and MoH, the sampling process will continue for human samples. We intend to collect human samples such as blood (including umbilical blood), milk, urine, fecal, and hair from the communities in Kabwe.

- To assess heavy metal (Pb, Cd, Zn, As, Co, Cu, Cr, Hg, Ni and Se) concentrations
- To measure stable Pb isotope ratios for lead source identification
- To investigate the possible biomarkers of exposure and effect
- Epigenetic alteration: To determine whether biological markers of prenatal maternal lead exposure are associated with genomic methylation of DNA in umbilical cord samples

## KAMPAI グループ2 2016年6・7月サンプリング 活動レポート

グループメンバー：北海道大学 大学院獣医学研究科 毒性学教室

助教：中山 翔太

ポスドク研究員：Yared Beyene

博士課程1年：豊巻 治也（報告者）

[派遣期間]

2016/6/9~2016/7/24

[活動概要]

### 1) Prof. Jack による Lead Care 及び XRF の講習

Pure Earth の Prof. Jack Caravanos による、簡易血中鉛濃度測定器 Lead Care II 及び蛍光 X 線分析装置 (XRF) の使用に関する講習を受けた。Pure Earth と共に活動している Environment Africa Zambia Trust の Zambia Country Director である Mr. Namo Chuma も参加した。両機器は Pure Earth から本プロジェクトへ貸与予定である (MOU 締結予定)。また別の日に Pure Earth の Mr. Gordon Binkhorst にも会い、9 月から行われる予定の Chowa の 2 度目のリメディエーションについて情報交換を行った。



写真 1 (左) . Lead Care II の使い方を教える Prof. Jack

写真 2 (右) . XRF で Chowa の土壌の鉛濃度を測るメンバー

### 2) 動物サンプリング

今回のサンプリングは Kabwe の複数の地域にまたがって行い、ヒトの曝露源となりうる家畜のニワトリとウシ、また家畜に比べヒトと生活圏がより近いと考えられるイヌを対象とした。

#### 2-1) ニワトリサンプリング

ニワトリの調査では、マイン周辺の地域として Chowa、Mutwe Wansofu、Makululu、Kasanda の 4 地域、そしてコントロール地域として Nakoli で、直接家庭を訪問しニワト



リ（血液、脳、心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、筋肉、筋胃及びその内容物、精巣または卵巣）及び卵を採取した。また、イヌのサンプリングの際に訪れた **Katondo** でも卵を採取した。一般的に購入されている卵サンプルとして、地元のスーパーと露店で別途卵を購入した。また、環境サンプルとして家庭周辺の土壌と、GPS 情報を取得した。採取した血液は **Lead Care II** を用いて鉛濃度を測定した。卵に関しては日本に送付後、重量や殻の厚さなどに関して測定する予定である。サンプルは全て日本に送付し、鉛及び他の重金属濃度に関して **ICP-MS** を用いて詳細に測定する予定である。（イヌ及びウシも同様）



写真 3. 庭で放し飼いされているニワトリ

## 2－2）ウシサンプリング

ウシの調査では、複数の家庭が共同してウシの飼育を行っている **Kabwe** 南部に位置する 2 つのコミュニティと、**Chowa** 近郊の農場を訪問し、ウシの血液及び母乳を採取した（図 1）。また環境サンプルとして土壌も採取した。採取した血液は **Lead Care II** を用いて鉛濃度を測定した。



図 1. ウシ農場の位置

## 2－3）イヌサンプリング

イヌの調査ではマイン周辺の地域として **Chowa**、**Kasanda**、**Mutwe Wansofu**、そしてコントロール地域として **Lukanga** でサンプリングを行った。サンプリング方法は、まず当該地域で狂犬病のワクチン接種を呼びかけ、ワクチン接種を打つ際に飼い主の許可をもらい血液を採取した。また、飼い主の名前、住所、電話番号、イヌの名前、年齢、性別、種類、前回のワクチン接種時期に関して、聞き取り調査を行った。また、各家庭を訪問し、GPS 情報を取得した。採取した血液は **Lead Care II** を用いて鉛濃度の測定を行った。また血液サンプルから血漿を分離し、必要に応じて日本で生化学検査を行う予定である。



写真 4 (左) . ウシのサンプリングの様子 写真 5 (右) . イヌのサンプリングの様子

今回の調査ではザンビア大学から Dr. Kaampwe Muzandu、Dr. John Yabe、Dr. Andrew Kataba も参加した。また、動物のサンプリングは Kabwe の Veterinary Office の協力の下行われた。農家とのコミュニケーションなど率先して彼らが行ってくれ、彼らの協力無しにはこれほど多岐にわたるサンプリングを行うことはできなかった。

## [結果・考察]

### 1) Prof. Jack による Lead Care 及び XRF の講習

講習により、UNZA 側も含め、全員が両機器の取り扱いを習得した。Lead Care II で測定できる血中鉛濃度は  $3.3 - 65\mu\text{g}/\text{dL}$  であるが、希釈法を用いることにより上限を超えるサンプルに関しても測定可能であり、その方法についても教わった。

またフィールド演習として Pure Earth が一昨年リメディエーションを行った Chowa 地域（鉛に汚染されていない土壌を各家の庭の土と入れ替えた）で XRF を用いて鉛濃度の再測定を行った。リメディエーションにより汚染されていない土壌に入れ替えられたはずだが、鉱床地域からの粉塵に起因するものと考えられる汚染が既に少なからず見受けられた。また鉱床地域から持ってきたと考えられる廃材が庭などに散乱している家庭も確認され、違法採掘が地域に強く根付いていることが明らかになった。これらのことから、リメディエーションと並行し、地域住民の教育及び鉱床地域の厳格な立ち入り制限と防塵処理が必要であると考えられる。

### 2-1) ニワトリサンプリング

ニワトリのサンプリングに関して、以下に表でまとめた（表 1）。今回血中鉛濃度はヒト用の血中鉛濃度測定器である Lead Care II を用いて測定したため、得られた数値は参考値である。今後、Lead Care II でヒト以外の動物の血液も測定可能な ICP-MS の測定結果と比較し、検討する必要がある（イヌとウシサンプルに関しても同様）。また、今回 Lead Care II の検出限界である血中鉛濃度  $65\mu\text{g}/\text{dL}$  を越えるサンプルに関しては、希釈

法を用いて測定を行った。

上記のリミテーションはあるが、マイン周辺で著しく高い血中鉛濃度が測定された。一方でマインから離れた地域である Nakoli では、低い血中濃度が測定された。このことから、Kabwe の中でもマインから離れている地域では、鉛汚染がそれほど深刻ではない事が推測された。Kabwe 地域の多くの家庭ではニワトリを放し飼いで飼育しており、その行動範囲などが鉛曝露に深く関わっていることが示唆された。また、マイン周辺の地域で採取された卵は、Nakoli 地域で採取されたものより、サイズが小さく殻が薄いように感じた。

ニワトリのサンプリングでは地道に家庭を訪問し、ニワトリと卵の採取に関して直接交渉しなければならず、数を集めるのに大変苦労した。

表 1. ニワトリサンプリングの各地域の詳細情報

地域	サンプリング箇所	ニワトリ (羽)	卵 (個)	血中鉛濃度 (範囲、 $\mu\text{g/dL}$ )
Chowa	5	5	4	非公開
Mutwe Wansofu	3	5	15	非公開
Kasanda	3	—	5	非公開
Makululu	5	12	5	非公開
Nakoli	4	5	5	非公開
Katondo	1	—	1	—
コマーシャル卵	2	—	13	—

## 2-2) ウシサンプリング

ウシのサンプリングに関して、以下に表でまとめた (表 2)。

表 2. ウシサンプリングの各地域の詳細情報

農場	血液サンプル	血中鉛濃度 (範囲、 $\mu\text{g/dL}$ )
コミュニティ 1	31	非公開
コミュニティ 2	16	非公開
Chowa	27	非公開

コミュニティ 1,2 は政府のプログラムにより地域一帯の家庭に家畜が与えられ、それらをコミュニティ内で共同飼育しているとの事だった。コミュニティ 1 では母乳サンプルを集めるのが困難であった。コミュニティ 2 及び Chowa の農場では母乳サンプルが採取



でき、さらに **Chowa** の農場では母仔のペアサンプルも採取できた。今後、母乳サンプルと血中鉛濃度の関連性を明らかにする予定である。マインから距離が離れていることもあり、他の動物種に比べ高い血中鉛濃度は測定されなかった。

マイン周辺は住宅地となっているため、ウシやヤギなどを中・大型の家畜を飼育している家庭や農場を探すのは難しいことが今回の調査で分かった。

2－3) イヌサンプリング

イヌのサンプリングに関して、以下に表でまとめた (表 3)。イヌの血液に関しても、検出限界 **65µg/dL** を越えるサンプルは希釈法を用いて測定を行った。

表 3. イヌサンプリングの各地域の詳細情報

地域	ワクチン接種した イヌの数	採血したイヌの数	血中鉛濃度 (範囲、µg/dL)
Chowa	53	49	非公開
Mutwe Wansofu	20	15	非公開
Kasanda	27	27	非公開
Lukanga	40	37	非公開

イヌはヒトに比べ地表に近いところで生活しているため、汚染土壌からの曝露の影響がヒトよりも強いのではないかと予想していたが、血中鉛濃度 **100µg/dL** を超えた検体は 1 検体のみであった。ニワトリと同様にマイン周辺と離れた地域では血中鉛濃度に大きな差が見られた(図 2)。

図 2. イヌの地域ごとの血中鉛濃度 (黄色 : Chowa、黄緑 : Mutwe Wansofu、赤 : Kasanda、青 : Lukanga)

非公開

今回の調査で **Kabwe** 地域の多くのイヌはニワトリ同様放し飼いで飼育されており、ニワトリよりも更に行動範囲が広いことが予想され、その行動範囲が鉛の曝露に深く関わっていることが示唆された。

#### [今後の活動計画]

日本に送付したニワトリ、ウシ、イヌのサンプルが届き次第、ICP-MS を用いて重金属の濃度測定などを行う予定である。

今回の調査より動物の行動範囲が鉛曝露に関わっていることが推測された。今回サンプリングを行った地域のニワトリとイヌに GPS を装着し、その行動範囲に関する調査を現在計画中である。

ヒトに関する研究計画の倫理審査が UNZA で通り次第、経済学部および医学部の先生方と協力して、Chowa、Mutwe wansofu、Makululu、Kasanda の 4 つの地域を含め、Kabwe 地域全体のコミュニティを網羅したヒトのサンプリングを行う予定である。

また Pure Earth が以前にマイン周辺で行ったヒトの血中鉛濃度の調査に関しても、フォローアップの調査を行う予定である。

#### [その他特記事項]

メンバーの話では Makululu の主要道路が以前の調査で来た際には舗装されていなかったとのことだった。今回の調査時には綺麗に舗装されており、意図したものではないだろうが交通量の多い道路のため粉塵の拡散防止に有効に働いている事が推測された。乾季なことも有り、調査中の砂埃は酷く粉塵対策の必要性を強く感じた。

今回のサンプリングでは Pure Erath から貸与された XRF と Lead Care II という二つの機器が非常に役に立った。これまで日本にサンプルを送付し、測定を行わなければ分からなかった情報が、簡易的ではあるがフィールドで知り得たことは、サンプリングサイトなどを決める際などに非常に役に立った。サンプリングをスムーズに行う上でも、プロジェクトでの XRF の購入と Lead Care II の試薬の安定した供給が今後期待される。

今回は 3 週間のサンプリングであったため、持参した機材は多く、保管場所や機材のアレンジに苦勞した。また採取したサンプルの処理や Lead Care II の測定を行う場所がなく、ホテルの自室や会議室を利用した。毎日部屋から機材を運び出しセットアップしなければならず、不便であった。また、今後ヒトサンプルも取り扱う予定があり、公共のスペースではなく、それ相応の場所が必要だと感じた。今後サンプリングが活発になっていくことも考慮すると、サンプリング機材の保管やサンプルの処理ができるプロジェクトの拠点が Kabwe に必要だと考える。