





# **Exposició a subproductes de la cloració a les piscines i efectes respiratoris en banyistes**

Laia Font i Ribera

TESI DOCTORAL UPF / 2010

Directora: Cristina Villanueva i Belmonte  
Centre de Recerca en Epidemiologia Ambiental

Tutor: Jordi Sunyer i Déu  
Departament de Ciències Experimentals i de la Salut





Amb l'esperança que els resultats d'aquest treball aportin el seu granet de sorra  
per contribuir a millorar la salut i el benestar dels infants.



## Agraïments

En primer lloc, vull agrair a la Cristina tot el temps i l'esforç que m'ha dedicat a mi i a la meva tesi durant aquests quatre anys. Sense el seu recolzament constant i la seva infinita paciència aquest treball no hagués estat possible. Gràcies per ser tant accessible, per haver-me ofert l'oportunitat de participar en uns estudis apassionants i per tenir sempre en compte les meves opinions. He après moltíssim al teu costat.

També ha estat clau en el desenvolupament d'aquest treball en Manolis, i també en Jan-Paul i en Mark. Han estat uns pilars fermes que ens han fet de guia. La brúixola d'aquest treball.

Gràcies a en Jordi Sunyer i a la Carme Borrell, per presentar-me l'epidemiologia amb tant d'entusiasme, ara ja fa uns anys, i haver-me guiat i ajudat sempre.

Vull recordar també els milers de persones anònimes, sobretot dones, que han participat desinteressadament en la realització d'aquests estudis. Sense ells la recerca epidemiològica no existiria. Gràcies especialment als voluntaris, molts d'ells amics i companys, que van venir a nedar i a deixar-se fer una mica de tot. Gràcies també a la Lourdes, companya de trajecte i aventures, entre qüestionaris, piscines i mostres. A la meva mare per haver revisat l'ortografia del text amb paciència i curiositat. Al meu pare pel suport en la construcció del pdf final. A les meves cosines Mireia i Eulàlia per haver estat unes models excel·lents i al Pol, per fer la super portada. Gràcies a l'Albert pel recolzament estadístic i metodològic durant tots aquests anys i per tantes altres coses.

Ha estat un luxe fer la tesi al CREAL, per haver pogut compartir seminaris, i cafès, amb grans investigadors i investigadores. Per haver pogut participar i conèixer estudis epidemiològics de primer nivell i per haver pogut assistir a múltiples cursos i congressos internacionals. També, per haver pogut gaudir del

bon ambient que es respira al CREAL i al PRBB en general. Amb tot, em sento molt afortunada d'haver viscut aquests quatre anys.

Aquesta tesi s'ha fet majoritàriament des d'un ordinador situat a una sala, anomenada Sala B. Allà he compartit infinitat d'hores amb la resta d'habitants de la sala, i també els dubtes, alguna solució, els cafès, els dinars, la terrassa, els pastorets, les excursions, el vòlei, el fúting, la ioga... Amb vosaltres també he après molt.

Moltes gràcies a tots.



**RESUM**

## RESUM

**ANTECEDENTS:** La natació té beneficis per la salut, però l'assistència a piscines comporta l'exposició a subproductes de la cloració (SPC). Els banyistes podrien tenir cert risc de patir efectes respiratoris, com l'asma, però l'evidència és inconsistent. L'objectiu principal és determinar si l'assistència a piscines s'associa a efectes respiratoris aguts i crònics, especialment l'asma infantil.

**MÈTODES:** Per avaluar efectes aguts es mesura funció pulmonar i diferents biomarcadors respiratoris a 48 adults sans abans i després de nedar en una piscina clorada. Per avaluar efectes crònics: estudi transversal a Sabadell (9-12 anys; N=3.223) i estudi longitudinal en una cohort de naixement (ALSPAC, Regne Unit; 7-10 anys; N=5.738). Informació sobre assistència a piscines durant la infància i símptomes d'asma i al·lèrgia recollida amb qüestionari i espirometria.

**RESULTATS:** L'únic efecte agut detectat és un lleuger augment de la permeabilitat pulmonar, estimada amb la concentració de CC16 en sang, correlacionat amb l'exposició a SPC i l'exercici físic. L'assistència a piscines no s'associa a un augment del risc d'asma, tampoc entre els nens atòpics, però s'associa a una menor prevalença d'alguns símptomes respiratoris i millor funció pulmonar. Els nens asmàtics que havien anat a la piscina tenen menys símptomes d'asma.

**CONCLUSIÓ:** Es detecta un lleuger efecte agut sobre la permeabilitat de l'epitel·li pulmonar dels banyistes, però actualment se'n desconeix la rellevància clínica. Aquest treball no dona suport a la hipòtesi que l'assistència a piscines durant la infància augmenta el risc d'asma. Al contrari, la natació s'associa lleugerament a menys símptomes d'asma entre els 7 i 12 anys d'edat.

## RESUMEN

**ANTECEDENTES:** La natación tiene beneficios para la salud, pero la asistencia a piscinas conlleva la exposición a subproductos de la cloración (SPC). Los bañistas podrían tener un exceso de riesgo de padecer efectos respiratorios, como el asma, pero la evidencia es inconsistente. El objetivo principal es determinar si la asistencia a piscinas se asocia a efectos respiratorios agudos y crónicos, especialmente el asma infantil.

**MÉTODOS:** Para evaluar efectos agudos se mide función pulmonar y diferentes biomarcadores respiratorios en 48 adultos sanos antes y después de nadar en una piscina clorada. Para evaluar efectos crónicos: estudio transversal en Sabadell (9-12 años; N=3.223) y estudio longitudinal en una cohorte de nacimiento (ALSPAC, Reino Unido; 7-10 años; N=5.738). Información sobre asistencia a piscinas durante la infancia y síntomas de asma y alergia recogida mediante cuestionario y espirometría.

**RESULTADOS:** El único efecto agudo detectado es un ligero aumento de la permeabilidad pulmonar, estimada mediante la concentración de CC16 en sangre, correlacionado con la exposición a SPC y el ejercicio físico. La asistencia a piscinas no se asocia a un aumento del riesgo de asma, tampoco en los niños atópicos, pero se asocia a una menor prevalencia de algunos síntomas respiratorios y mejor función pulmonar. Los niños asmáticos que habían ido a la piscina tienen menos síntomas de asma.

**CONCLUSIÓN:** Se detecta un ligero efecto agudo sobre la permeabilidad del epitelio pulmonar de los bañistas, pero actualmente se desconoce la relevancia clínica. Este trabajo no da soporte a la hipótesis que la asistencia a piscinas durante la infancia aumenta el riesgo de asma. Al contrario, la natación se asocia ligeramente a menos síntomas de asma entre los 7 y 12 años de edad.

## ABSTRACT

**BACKGROUND:** Swimming is a healthy activity, but swimming pool attendance enhances the exposure to disinfection by-products (DBP). Swimming pool attendants may have a higher risk of suffering from respiratory conditions, such as asthma, but the evidence is inconsistent. The aim is determine if swimming pool attendance is associated with acute and chronic respiratory effects, especially childhood asthma.

**METHODS:** To evaluate acute effects lung function and several respiratory biomarkers were measured in 48 healthy adults before and alter swimming in a chlorinated pool. To evaluate chronic effects: cross-sectional study in Sabadell (9-12 years; N=3,223) and longitudinal study in a birth cohort (ALSPAC, UK; 7-10 years; N=5,738). Information on swimming pool attendance and asthma and allergic symptoms was collected by questionnaire and spirometry.

**RESULTS:** The only acute effect detected was an slight increase in the lung epithelium permeability, estimated by serum CC16 concentration, correlated with DBP exposure and physical activity. Swimming pool attendance was not associated with an increased asthma risk, neither in atopic children, but was associated with a lower prevalence of some respiratory symptoms and higher lung function. Asthmatic children who attended swimming pools had less asthma symptoms.

**CONCLUSION:** An slight acute effect on the lung epithelium permeability was detected among swimmers, but the clinical relevance is currently not understood. This work do not support the hypothesis that swimming pool attendance during childhood increases the asthma risk. On the contrary, swimming is associated to slightly lower prevalence of asthma symptoms in children 7 to 12 years old.

## **PREFACI**

Aquesta tesi doctoral s'ha realitzat al Centre de Recerca en Epidemiologia Ambiental de Barcelona, durant els anys 2006 a 2010, sota la direcció de la Dra. Cristina Villanueva Belmonte i amb el suport econòmic de la "Ayuda predoctoral para la formación en investigación" del Institut de Salut Carlos III.

La tesi es presenta com a recull de publicacions segons la normativa del Programa de Doctorat en Biomedicina del Departament de Ciències Experimentals i de la Salut, de la Universitat Pompeu Fabra. Consta d'un resum, i dels següents capítols: introducció, justificació, objectius, mètodes i resultats (que inclou 2 articles publicats i 3 articles acceptats per ser publicats), discussió, conclusions i bibliografia. Els articles presentats provenen principalment del projecte PISCINA. Aquest és un estudi liderat des del Centre de Recerca en Epidemiologia Ambiental i finançat pel Ministeri d'Educació i Ciència (SAF2005-07643-C03-01, SAF2007-62719, FISCP06/00341). Formen part d'aquest projecte l'estudi transversal a Sabadell (Articles 2 i 4) i l'estudi semiexperimental sobre efectes aguts (Article 1). El tercer article de la tesi forma part de l'estudi de la Universitat de Bristol (Regne Unit) *Avon Longitudinal Study of Parents and Children* (ALSPAC, [www.bristol.ac.uk/alspac/](http://www.bristol.ac.uk/alspac/)). L'últim article de la tesi està emmarcat dins el projecte INMA (Infància i mediambient; [www.proyectoinma.org](http://www.proyectoinma.org)), també liderat des del Centre de Recerca en Epidemiologia Ambiental. S'inclouen les àrees d'estudi de les cohorts d'Astúries, Sabadell, Granada i València.

Una comunicació sobre el segon article de la tesi (ERJ 2009) va guanyar el premi "Young Epidemiologist Award" al congrés de la International Society of Environmental Epidemiology (ISEE) de l'any 2008. Una comunicació sobre el tercer article de la tesi (AJRCCM 2010) va guanyar el premi "Pediatric Respiratory Epidemiology Abstract Grant" al congrés de la European Respiratory Society (ERS) de l'any 2010.

La meua participació en la realització dels articles presentats en aquesta tesi inclou la revisió bibliogràfica, anàlisi estadística de les dades i redacció dels manuscrits. També he participat en el treball de camp dels articles 1, 2, 4 i 5.

# ÍNDIX

RESUM.....	1
PREFACI .....	5
ÍNDIX.....	7
INTRODUCCIÓ.....	9
Les piscines i el seu ús. Beneficis i riscos.....	10
Subproductes de la desinfecció a les piscines .....	13
Formació .....	13
Distribució i incorporació .....	16
Toxicologia i estudis epidemiològics .....	18
Normatives i nivells detectats.....	22
Efectes respiratoris per exposició a les piscines.....	26
Evidències prèvies .....	26
Assistència a piscines i asma infantil .....	28
JUSTIFICACIÓ .....	33
OBJECTIUS.....	35
MÈTODES I RESULTATS .....	37
Article1 .....	39
<b>Short-term changes in respiratory biomarkers after swimming in a chlorinated pool.</b> Laia Font-Ribera, Manolis Kogevinas, Jan-Paul Zock, Federico P Gómez, Esther Barreiro, Mark J Nieuwenhuijsen, Pilar Fernandez, Carolina Lourencetti, Maitane Pérez-Olabarría, Mariona Bustamante, Ricard Marcos, Joan O Grimalt, Cristina M Villanueva. <i>Environmental Health Perspective</i> . 2010.	
Article 2.....	71
<b>Swimming pool attendance and risk of asthma and allergic symptoms in children.</b> Laia Font-Ribera, Manolis Kogevinas, Jan-Paul Zock, Mark J Nieuwenhuijsen, Dick Heederik, Cristina M Villanueva. <i>European Respiratory Journal</i> 2009; 34: 1304–1310.	

Article 3.....	79
<b>Swimming pool attendance, asthma, allergies and lung function in the ALSPAC child cohort.</b> Laia Font-Ribera, Cristina M Villanueva, Mark J Nieuwenhuijsen, Jan-Paul Zock, Manolis Kogevinas, John Henderson. <i>American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine</i> . 2010.	
Article 4.....	113
<b>Patterns of water use and exposure to trihalomethanes among children in Spain.</b> Laia Font-Ribera, Manolis Kogevinas, Mark J Nieuwenhuijsen, Joan O Grimalt and Cristina M Villanueva. <i>Environmental Research</i> . 2010.	
Article 5.....	123
<b>Trihalometanos en agua de piscinas en cuatro zonas de España participantes en el proyecto INMA.</b> Laia Font-Ribera, Ana Esplugues, Ferran Ballester, Begoña Martínez-Arguelles, Adonina Tardon, Carmen Freire, Marina F Fernández, Gloria Carrasco, Amparo Cases, Jordi Sunyer, Cristina M Villanueva. <i>Gaceta Sanitaria</i> . 2010.	
DISCUSSIÓ .....	129
Risc d'efectes respiratoris i asma infantil .....	130
Efectes a curt termini: estudi amb biomarcadors .....	130
Efectes crònics: assistència a piscines i asma infantil .....	131
Exposició a Subproductes de la Cloració a les piscines .....	135
Concentracions .....	135
Assistència a piscines .....	140
Limitacions .....	141
Fortaleses .....	142
Futures línies de recerca.....	143
CONCLUSIONS.....	147
BIBLIOGRAFIA.....	149



# INTRODUCCIÓ

### ***Les piscines i el seu ús. Beneficis i riscos.***

El sedentarisme i la falta d'activitat física són un problema de salut pública important als països occidentals, que afecta de forma més marcada als països del sud d'Europa (Vaz et al. 1999), i especialment a les dones i a les persones de posició socioeconòmica desafavorida (Observatori Català de l'Esport 2006). La natació és un dels esports més practicats tant a Europa com a Espanya (Vaz et al. 1999; Observatori Català de l'Esport 2006). Segons l'Observatori Català de l'Esport, la natació recreativa és, amb diferència, l'esport més practicat a Catalunya en adults, en tots els nivells socioeconòmics, grups d'edat i tant en homes com sobretot en dones (Observatori Català de l'Esport 2006). En edat infantil, el patró de pràctica esportiva segons gènere és molt similar al dels adults. Els nens practiquen més esports que les nenes, una diferència que s'accentua a l'adolescència (Institut Barcelona Esports-Ajuntament de Barcelona 2007). La natació és un dels esports més practicats entre la població infantil de Barcelona, també de forma més marcada en nenes que en nens (Institut Barcelona Esports-Ajuntament de Barcelona 2007).

La natació aporta els beneficis de l'activitat física sobre la forma física i la reducció de l'índex de massa corporal (Cox et al. 2010). És una activitat terapèutica per combatre el mal d'esquena (Dundar et al. 2009) i que, comparat amb altres esports, té un risc menor de causar lesions (Pons-Villanueva et al. 2010). A més, la natació és practicable per persones d'un rang més ampli d'edat i de condició física, com ara persones amb obesitat o amb mobilitat reduïda. Els cursos de natació, majoritàriament realitzats en piscines, són actualment la via principal per aprendre a nedar. La natació forma part del currículum escolar de forma obligatòria a diversos països d'Europa, però aquest no és el cas de Catalunya. Són pocs els estudis que han avaluat si la capacitat de nedar disminueix el risc d'ofegar-se, i els resultats no són concloents (Brenner 2003). Tot i així, la capacitat de nedar és imprescindible no sols per poder practicar la

natació, sinó per gaudir dels aspectes lúdics i recreacionals relacionats amb l'aigua, tant en piscines o parcs aquàtics, com en espais naturals.

És que més enllà de la natació, l'assistència a les piscines és també una activitat recreacional practicada per persones de totes les edats i que ha augmentat notòriament durant les últimes dècades. Als països occidentals amb estius calorosos l'assistència a piscines descobertes durant l'estiu és molt comú. Darrerament, ha augmentat la popularitat dels jacuzzi o piscines d'hidromassatge, en què l'usuari se submergeix en aigua calenta amb finalitats relaxants. Una altra pràctica a les piscines que també ha augmentat darrerament, és la natació per nadons o matronació (*baby swimming* en anglès), a la que se li atribueixen beneficis pel desenvolupament de l'infant i de la seva relació amb els pares (Kochen & McCabe 1986). No s'han trobat dades sobre quina és la prevalença o la freqüència de l'assistència a piscines cobertes o descobertes en població general de l'Estat Espanyol, ni de quina és l'extensió de la pràctica de la matronació.

Tradicionalment, l'avaluació del risc per a la salut de l'assistència a les piscines s'ha centrat en el risc dels efectes més greus com són l'ofegament (mortal o no mortal) i el risc de lesions medul·lars per capbussades en piscines poc profundes. A Catalunya, els ofegaments són la segona causa d'accidents mortals entre la població infantil (Departament de Salut. Generalitat de Catalunya. 2003), però no hi ha dades de quina proporció dels ofegaments tenen lloc a les piscines. Els ofegaments no fatals poden tenir conseqüències greus, com ara deficiències neurològiques a llarg termini (WHO 2006). Les conseqüències de les lesions medul·lars són irreversibles, molt greus (sovint causen quadriplègia) i tenen un alt cost econòmic (WHO 2006). La proporció de lesions medul·lars que es deuen a capbussades en aigües poc fondes s'estima entre el 4% i el 14% segons el país (WHO 2006).

L'assistència a les piscines també comporta un risc d'infeccions per la presència de microorganismes a l'aigua de la piscina. En molts casos, els brots infecciosos

s'associen a contaminacions d'origen fecal, amb la presència de bacteris o protozois patògens com les espècies de *Shigella*, *Escherichia coli* O157 o *Giardia* (WHO 2006). Altres patògens no provinents de femtes i que poden provocar brots infecciosos a les piscines són, entre d'altres, espècies de *Legionella*, *Pseudomonas aeruginosa* o *Micobacterium*. Per tal de reduir al màxim la presència de microorganismes a l'aigua de les piscines, es recomana que els banyistes es dutxin abans d'entrar a la piscina i que l'aigua rebi un tractament adequat que inclou principalment la filtració i la desinfecció (Figura 1) (WHO 2006). El clor és el desinfectant més utilitzat a les piscines, igual que a l'aigua de consum (WHO 2006). La desinfecció és un procés clau tant per garantir la salubritat de l'aigua de la piscina, com en l'elaboració de l'aigua potable. La cloració de l'aigua va ser un dels avenços més importants de la salut pública del segle passat, que va permetre reduir bruscament la incidència de malalties infeccioses com el còlera o el tifus. En els últims anys però, s'ha anat evidenciant que la desinfecció de l'aigua genera alguns subproductes que poden ser perjudicials per la salut. L'exposició a aquests compostos químics durant l'assistència a les piscines i el risc que podrien ser per la salut dels banyistes és actualment un motiu de preocupació i de recerca.

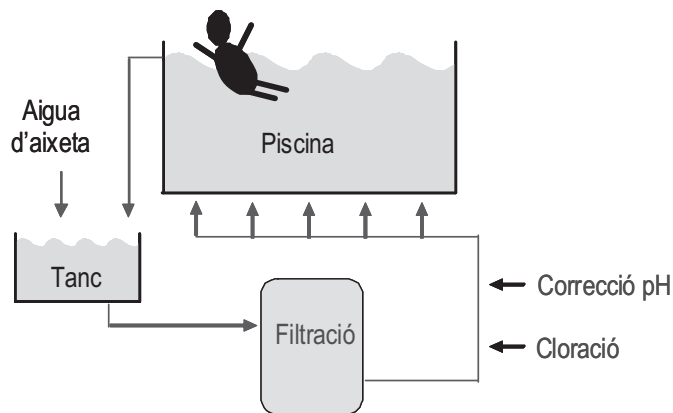


Figura 1. Esquema del tractament de l'aigua d'una piscina. Adaptat de (Zwiener et al. 2007).

## ***Subproductes de la desinfecció a les piscines***

### **Formació**

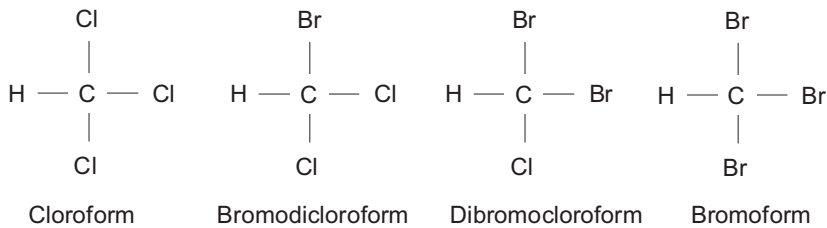
Els subproductes de la desinfecció (SPD) són uns compostos químics que es formen involuntàriament per la reacció d'un desinfectant amb la matèria present a l'aigua. Els SPD són una barreja de més de 700 compostos (Richardson et al. 2007), la composició de la qual depèn tant del desinfectant emprat com de la matèria orgànica i inorgànica present a l'aigua. Els subproductes sorgits de la desinfecció amb clor, s'anomenen subproductes de la cloració (SPC). En països on l'aigua de l'aixeta es desinfecta amb clor, com és el cas de l'Estat Espanyol i de la majoria de països, els SPC es troben tant a l'aigua de l'aixeta com a l'aigua de les piscines, tot i que la composició varia entre els dos tipus d'aigua.

La majoria de piscines desinfecten l'aigua amb compostos derivats del clor. Alguns desinfectants alternatius per a les piscines inclouen el brom, ozó, coure i sals de plata, però no són gaire utilitzats ni s'espera que en els pròxims anys substituïssin els desinfectants clorats (Zwiener et al. 2007). Actualment, la cloració de l'aigua a les piscines públiques es realitza principalment amb clor líquid, en forma d'hipoclorit sòdic. El clor reacciona amb l'aigua formant àcid hipoclorós, conegut també com a clor lliure:  $\text{Cl}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{HOCl} + \text{HCl}$ . Al ser altament reactiu, el clor lliure tant inactiva els microorganismes presents a l'aigua (desinfecta), com oxida també compostos dissolts a l'aigua (Weaver et al. 2009). Així, segons la matèria amb la que reacciona el clor lliure, es formen uns SPC o uns altres.

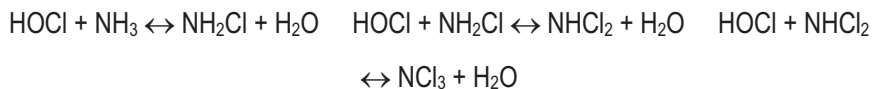
Els trihalometans (THM) són el grup de SPC que es troben en concentracions més elevades a l'aigua clorada tant de l'aixeta com de la piscina, i consegüentment, són els que han estat més estudiats. Els THM van ser descoberts per Rook al 1974 (Rook 1974) i l'any 1980 van ser detectats en aigua de piscina (Beech et al. 1980). Els THM provenen de molècules de metà en què tres àtoms d'hidrogen han estat substituïts per àtoms d'elements halògens. Habitualment, se solen detectar els quatre trihalometans que tenen els àtoms

d'hidrogen substituïts únicament per àtoms de clor o brom: el cloroform ( $\text{CHCl}_3$ ), el bromodicloroform ( $\text{CHBrCl}_2$ ), el dibromocloroform ( $\text{CHBr}_2\text{Cl}$ ) i el bromoform ( $\text{CHBr}_3$ ) (Figura 2).

Figura 2. Esquema dels quatre trihalometans que contenen únicament els halògens clor o brom



A diferència de l'aigua d'aixeta on la matèria orgànica de l'aigua d'origen és el substrat de la formació de SPC, a les piscines hi ha altres fonts de compostos que poden ser precursors de SPC. Alguns d'aquests compostos poden ser aportats pels banyistes en forma de fluids corporals, partícules de la pell, cabells, microorganismes o cosmètics, o poden provenir d'altres organismes com algues o fulles (en el cas de piscines exteriors). La matèria orgànica que prové dels banyistes és rica en compostos nitrogenats i dona lloc a SPC nitrogenats, que no es troben a l'aigua de l'aixeta. La majoria de compostos nitrogenats són urea, amoníac, creatinina i aminoàcids que provenen principalment de l'orina i de la suor dels banyistes (WHO 2006). Les cloramines són SPC nitrogenats que es formen per la reacció del clor lliure amb l'amoníac. Segons el nombre d'àtoms de clor a la molècula, es distingeix la monocloramina ( $\text{NH}_2\text{Cl}$ ), la dicloramina ( $\text{NHCl}_2$ ) i la tricloramina ( $\text{NCl}_3$ ), que es formen a l'aigua de les piscines mitjançant reaccions químiques consecutives:



Algunes mesures higièniques com dutxar-se abans d'entrar a l'aigua de la piscina o no orinar-hi, poden ser efectives per reduir l'aportació de compostos nitrogenats

i consegüentment la formació de SPC (Weaver et al. 2009). Tot i així, la obligatorietat de dutxar-se abans d'entrar a la piscina no és una pràctica estesa arreu i, tot i la dificultat per quantificar-ho, les normes socials apunten que nedadors de totes les edats orinen sovint a la piscina (Weaver et al. 2009).

Altres SPC que es troben a l'aigua de les piscines són els àcids acètics halogenats (AAH), que també es troben a l'aigua de l'aixeta, les halocetones o el clorur de cianogen (Zwiener et al. 2007; Weaver et al. 2009).

La composició i la concentració relativa dels SPC a l'aigua de la piscina és un sistema dinàmic, que canvia amb múltiples factors com ara la temperatura o la quantitat i el comportament dels banyistes (Zwiener et al. 2007). Un altre factor important és la composició de SPC a l'aigua d'origen que s'utilitza per omplir la piscina. Al seu torn, la concentració de SPC a l'aigua de l'aixeta varia geogràficament i temporalment, ja que la seva formació durant la desinfecció de l'aigua també depèn de paràmetres com el desinfectant utilitzat, l'origen de l'aigua (superficial o subterrània), la temperatura, el pH o el contingut de bromat o de carboni orgànic total a l'aigua utilitzada (Nieuwenhuijsen et al. 2000). La concentració de THM sol ser superior durant les estacions càlides, degut a les temperatures més altes i a la diferent quantitat i composició de la matèria orgànica a l'aigua d'origen (Nieuwenhuijsen et al. 2000). A l'aigua de l'aixeta, el cloroform sol ser el trihalometà més concentrat, tot i que els trihalometans bromats poden predominar en la cloració d'aigües riques en compostos bromats, com és el cas d'algunes zones de l'àrea metropolitana de Barcelona. A l'aigua de les piscines clorades, en canvi, el cloroform ha estat sempre el THM més concentrat (WHO 2006), ja que l'aportació constant de clor tendeix a desplaçar el brom que hi pogués haver en l'aigua d'origen. Pel que fa a les cloramines, en general, la concentració de monocloramina a l'aigua sol ser superior que la de dicloramina, que al seu torn és superior a la de tricloramina (Weaver et al. 2009).

### Distribució i incorporació

Les característiques químiques dels diferents SPC, com ara la volatilitat o la polaritat, determinen la seva distribució a l'ambient de la piscina i la seva capacitat per ser incorporats a l'organisme a través de la inhalació o l'absorció dèrmica. Els SPC volàtils tendeixen a passar de l'aigua a l'aire de la piscina, on s'acumulen en el cas de les piscines cobertes, depenent del grau de renovació de l'aire del recinte. La incorporació de SPC a les piscines per part dels banyistes té lloc principalment per inhalació de SPC volàtils i per absorció dèrmica de SPC de l'aigua que siguin permeables a la pell (Figura 3), tot i que minoritàriament pot ocórrer per ingestió accidental d'aigua.

Els THM són compostos volàtils que es troben a altes concentracions a l'aire que hi ha just a sobre de la superfície de l'aigua (Aggazzotti et al. 1990). A més, els THM són permeables a la pell, de manera que es poden incorporar per les tres vies d'exposició. Així, el cloroform detectat en sang i en aire exhalat de nedadors, es correlaciona amb la concentració de cloroform de l'aigua i de l'aire de la piscina, però també amb

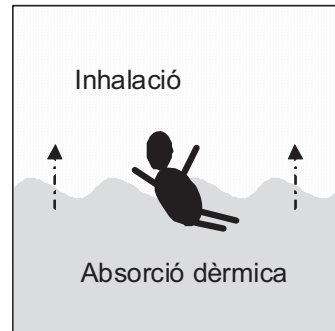


Figura 3. Vies d'incorporació de SPC a la piscina

altres paràmetres com la durada del bany o la intensitat de la natació (Aggazzotti et al. 1990; Aggazzotti et al. 1993; Aggazzotti et al. 1995). Aggazzotti també va comprovar que els THM augmentaven significativament en l'aire exhalat de persones que estaven al recinte d'una piscina coberta, però fora de l'aigua (Aggazzotti et al. 1998). Segons estudis experimentals, la incorporació de THM a les piscines té lloc principalment per via respiratòria (Erdinger et al. 2004). La concentració de cloroform detectada en sang després de nedar es correlaciona millor amb la concentració a l'aire de la piscina, que no amb la concentració a l'aigua (Erdinger et al. 2004). Per tant, la incorporació de THM ha de ser menor en piscines exteriors, on la concentració dels contaminants a l'aire és molt menor. Aiking et al. van mesurar una concentració de cloroform en plasma de 0,89 µg/L



(DE=0,34) després de nedar a una piscina interior, mentre que el cloroform no va ser detectable (<0,5 µg/L) en plasma de nedadors que havien nedat en una piscina exterior (Aiking et al. 1994).

La tricloramina (*trichloramine* o *nitrogen trichloride* en anglès), és una cloramina altament volàtil (Holzwarth G et al. 1984), de manera que a l'aigua de les piscines es troba a concentracions molt baixes (Weaver et al. 2009). A l'aire de les piscines cobertes, en canvi, la tricloramina s'hi troba a concentracions considerables (Massin et al. 1998). Alguns factors com la temperatura elevada de l'aigua o l'aire de la piscina, o l'agitació mecànica de l'aigua, afavoririen l'evaporació de tricloramina a l'atmosfera de la piscina (Hery et al. 1995). La tricloramina té una olor intensa i desagradable, que dóna la característica olor de les piscines cobertes (WHO 2006). L'exposició a la tricloramina per part dels banyistes i dels socorristes o altres persones presents al recinte de les piscines interiors, té lloc per inhalació. L'exposició a tricloramina a les piscines exteriors es considera mínima (Massin et al. 1998).

Taula 1. Resum de les característiques dels SPC que es troben més concentrats a l'aigua clorada.

	Aigua aixeta	Aigua piscina	Aire piscina	Vies exposició	Toxicologia	Epidemiologia
Trihalometans	+	+	+	Ingestió, inhalació, absorció	Carcinogen en animals, possible carcinogen en humans	Càncer bufeta, efectes reproductius?, altres càncers?
Tricloramina	-	+	+	Inhalació	Irritant	Irritació vies aèries, símptomes crònics?
Àcids acètics halogenats	+	+	-	Ingestió	Carcinogen en animals, possible carcinogen en humans	No associat a efectes reproductius

+ : compost present al medi      - : compost no present al medi

Les halocetones més apolars són penetrables a la pell (Xu et al. 2002), de manera que s'incorporen per via dèrmica. Els àcids acètics halogenats més polars, no penetren a la pell (Xu et al. 2002) ni són volàtils, de manera que la

incorporació d'aquests compostos durant l'assistència a les piscines té lloc només en cas d'ingestió accidental d'aigua, el que dona una incorporació molt menor (Taula 1).

Per aquells SPC com els THM, que es troben tant a la piscina com a l'aigua de l'aixeta, l'assistència a les piscines és una de les diferents rutes d'exposició, com ho són la ingestió d'aigua de l'aixeta, la dutxa o el bany (Nieuwenhuijsen et al. 2000) (Figura 4).

La importància relativa de les diferents vies d'incorporació ha estat avaluada per diversos estudis. S'estima que la incorporació dels THM per inhalació i absorció dèrmica és superior a la

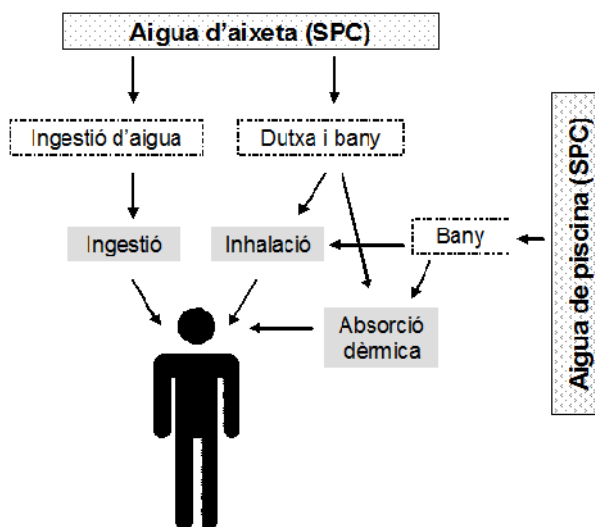


Figura 4. Esquema de les vies d'exposició als subproductes de la cloració.

incorporació per ingestió (Whitaker et al. 2003).

### Toxicologia i estudis epidemiològics

Des que els THM es van identificar a l'aigua potable ara fa més de 35 anys, s'ha desenvolupat una àmplia recerca per entendre la seva toxicitat en estudis *in vitro*, *in vivo* i en relació a possibles efectes sobre la salut humana (Richardson et al. 2007). La majoria dels estudis s'han centrat en l'avaluació toxicològica dels SPC que es troben a concentracions superiors, com és el cas dels THM i els àcids acètics halogenats (Taula 2) (Richardson et al. 2007). Alguns d'aquests compostos són mutagènics i/o genotòxics en estudis *in vitro*. A diferència del

Taula 2. Resum de la presència, genotoxicitat i carcinogenicitat dels subproductes de la cloració que es regulen als EEUU.

DBP	Occurrence <sup>a</sup>		Genotoxicity				Carcinogenicity					
			Gene mutation		Chrom. mutation		DNA damage		Rodent		Human <sup>b</sup>	
			Bacteria	MC <sup>c</sup>	In vitro	In vivo	In vitro	In vivo	Mouse	Rat	IARC	EPA
Bromodichloromethane	****	+	-	+	+	+	-	+	+, -, -	+, +, -	2B	B2
Bromoform	****	+	+	+	+	+	-	-	-	+	3	B2
Chlorodibromomethane	****	+	+	-	-	-	-	+	+	-	3	C
Chloroform	****	-	-	-	-	+	-	+	+, -	+, +, +	2B	
Chloroacetic acid	****	-	+	-	-	-	-	-	-	-, -		
Bromoacetic acid	****	+		+		+						
Dibromoacetic acid	****	+		+		+		+	+	+		
Dichloroacetic acid	****	+	+	+	+	-	-	+	+	+	2B	B2
Trichloroacetic acid	****	-	-	-	-	-	-	+	+	-	3	
Bromate	****	+	+	+	+	+	+	+	+	+	2B	B2
Chlorite	****								-, -	-		

<sup>a</sup> \*Low-ng/L levels; \*\*ng/L to sub-µg/L levels; \*\*\*sub- to low-µg/L levels; \*\*\*\*low-µg/L levels; \*\*\*\*\*low- to mid-µg/L levels; \*\*\*\*\* high µg/L levels.

<sup>b</sup> IARC: 1 2B, possibly carcinogenic to humans; 3, not classifiable as to its carcinogenicity in humans. EPA: B2, probably carcinogenic to humans as evaluated using the U.S. EPA's 1986 *Guidelines for Carcinogen Risk Assessment*; C, possibly carcinogenic to humans as evaluated using the U.S. EPA's 1986 *Guidelines for Carcinogen Risk Assessment*.

<sup>c</sup> MC, mammalian cells.

Font: Occurrence, genotoxicity, and carcinogenicity of regulated and emerging disinfection by-products in drinking water: a review and roadmap for research (Richardson et al. 2007)

cloroform, els THM bromats es consideren mutagènics, després de ser activats per l'enzim GSTT1. La capacitat mutagènica i genotòxica dels SPC és superior en els compostos que contenen iode, seguits dels bromats i finalment dels clorats (Richardson et al. 2007). La majoria dels SPC avaluats són carcinògens en rosegadors. Segons l'Agència Internacional de Recerca en Càncer (IARC) o l'Agència de Protecció Ambiental (EPA) dels EEUU, tres dels quatre trihalometans són probables o possibles carcinògens en humans.

El cloroform, que sol ser el SPC més concentrat en aigua tractada, es considera generalment un carcinogen no-genotòxic, amb un mecanisme d'acció que implica citotoxicitat i proliferació cel·lular regenerativa. Pel que fa a la capacitat citotòxica dels THM en cèl·lules de mamífer, es considera que decreix en el següent ordre: bromoform > bromodicloform > cloroform > dibromocloroform.

El clor és un gas grogós molt utilitzat en la producció de plàstics, paper i dissolvents, així com per la desinfecció d'aigua, que és altament tòxic (Evans 2004). La toxicitat d'un gas irritant depèn de la capacitat de dissoldre's en aigua, de la durada i la intensitat de l'exposició, de la freqüència ventilatòria dels individus exposats i d'algunes característiques individuals. Per la seva capacitat intermitja de dissoldre's en aigua, el clor pot causar dany tant a les vies baixes com a les vies altes del sistema respiratori (Evans 2004). La tricloramina present a l'aire de les piscines cobertes és un irritant de les vies altes de magnitud comparable al clor, segons els estudis en ratolins duts a terme per Gagnaire et al (Gagnaire et al. 1994). Els autors de l'estudi van proposar un valor límit d'exposició curta de 1,5 mg/m<sup>3</sup> i un valor límit d'exposició diària de 0,5 mg/m<sup>3</sup> de NCl<sub>3</sub> (Gagnaire et al. 1994). Estudis en ratolins també apunten que la NCl<sub>3</sub> a concentracions de 10 a 20 vegades les que es troben a les piscines, pot augmentar la permeabilitat de la membrana de l'epitel·li pulmonar (Carbonnelle et al. 2002). Pel que fa les altres cloramines, no s'han trobat efectes adversos sobre la salut per exposició a la monocloramina ni a la dicloramina (Weaver et al. 2009). Els estudis epidemiològics han avaluat l'exposició a SPC a les piscines amb

principalment tres tipus d'efectes sobre la salut: càncer, efectes reproductius i efectes respiratoris. Els efectes respiratoris s'atribueixen a l'exposició a tricloramina que es troba a les piscines però no a l'aigua de l'aixeta, i s'explicaran detalladament més endavant. Els estudis epidemiològics sobre exposició a SPC i càncer o efectes reproductius, atribueixen l'efecte a SPC que es troben tant a l'aigua de la piscina com a l'aigua de l'aixeta, principalment els THM. La majoria d'estudis epidemiològics sobre SPC i risc de càncer o d'efectes reproductius doncs, avaluen l'exposició total a THM independentment de la via d'incorporació (ingestió, dutxa, bany o assistència a piscines). En els estudis epidemiològics, l'exposició a THM s'ha estimat amb múltiples indicadors: l'origen de l'aigua de consum, el tipus de tractament utilitzat, la concentració de THM a l'aigua de l'aixeta del domicili o patrons de consum d'aigua (tipus d'aigua ingerida, freqüència i durada de dutxa o bany, etc).

A mitjans dels anys 70 van aparèixer els primers estudis epidemiològics que suggerien un augment de risc de càncer en relació a l'exposició a SPC, especialment el càncer de bufeta urinària (Cantor et al. 1978). Després de 25 anys d'estudis, un "pooled analysis" va establir que el consum d'aigua clorada a llarg termini i l'exposició a THM als nivells actuals en aigua de consum en molts països desenvolupats s'associen a un augment de risc de càncer de bufeta (Villanueva et al. 2004) (Taula 3).

Taula 3. Odds Ratio (OR) del risc de càncer de bufeta en homes de cinc països, per exposició acumulada a THM.

THM (mg)	Casos / controls	OR (95%CI)
0 - 15	632 / 1233	1,00
> 15 - 50	333 / 532	1,22 (1,01-1,48)
> 50 - 400	500 / 744	1,28 (1,08-1,51)
> 400 - 1000	369 / 609	1,31 (1,09-1,58)
> 1000	301 / 404	1,50 (1,22-1,85)
P valor de tendència		<0,001

Font: *Disinfection by-products and bladder cancer: a pooled analysis*. (Villanueva et al. 2004)

Alguns estudis han suggerit un augment de risc de càncer colorectal per exposició a SPC, però els resultats són encara inconsistents (Nieuwenhuijsen et al. 2009c). Un estudi recent suggereix un augment del risc de càncer de pell per exposició dèrmica a SPC (Karagas et al. 2008). Altres localitzacions de càncer que s'han estudiat en relació als SPC inclouen fetge, ronyó, cervell, pulmó, mama, pàncrees, esòfag o leucèmia, i en general no s'han trobat associacions significatives (Nieuwenhuijsen et al. 2009c). Sembla també que hi hauria una susceptibilitat genètica a patir càncer de bufeta per exposició a THM, a través del grau d'activitat de l'enzim GSTT1, responsable d'activar la mutagenicitat dels THM bromats (Cantor et al. 2006). Un estudi a l'Estat Espanyol ha avaluat l'efecte específic del risc de càncer de bufeta per exposició a THM a través de diferents vies, incloent l'assistència a les piscines (Villanueva et al. 2007a). El risc de càncer associat a activitats que comporten exposició a SPC via inhalació i absorció dèrmica era més gran que el risc per ingestió. Les persones que assistien a les piscines tenien una odds ratio de 1,6 (Intèrval de confiança al 95%: 1,2-2,1) de tenir càncer de bufeta comparat amb els que no hi havien anat mai (Villanueva et al. 2007a).

L'altre grup d'efectes que s'han associat a l'exposició a SPC són els reproductius, per exposició als compostos durant l'embaràs. Després de diversos estudis, les últimes revisions i metanàlisis conclouen que hi ha poca o gens evidència d'un augment de risc de retard en el creixement uterí i de prematuritat (Grellier et al. 2010), de mort neonatal (Savitz et al. 2005; Tardiff et al. 2006) o de malformacions congènites (Nieuwenhuijsen et al. 2009b) per exposició a SPC durant l'embaràs. Els resultats es consideren inconcloents per alguns efectes com la mort fetal tardana o la qualitat del semen Nieuwenhuijsen et al. 2009a).

### **Normatives i nivells detectats**

Els únics SPD que estan regulats a l'Estat Espanyol són els THM en aigua d'aixeta. Des de l'any 2009, la legislació espanyola sobre la qualitat de l'aigua potable, estableix que la suma dels 4 trihalometans no pot superar els 100 µg/L

(Reial decret 140/2003 2003). L'accés a les dades sobre quins són els nivells de THM o altres SPC a l'aigua de consum de Catalunya o de la resta de l'Estat Espanyol és complicat, en excepció de la ciutat de Barcelona, on les concentracions de THM a la ciutat són publicades anualment (Agència de Salut Pública de Barcelona 2009). Estudis científics que han realitzat anàlisis de THM de forma independent, indiquen que a la costa mediterrània de la península es detecten nivells elevats de THM a l'aigua de l'aixeta ( $\geq 60 \mu\text{g/L}$ ), mentre que altres zones de la costa atlàntica tenen concentracions bastant inferiors ( $< 20 \mu\text{g/L}$ ) (Villanueva et al. 2001; Villanueva et al. 2006). Algunes zones de Catalunya, incloent part de la ciutat de Barcelona, tenen nivells de THM a l'aigua de l'aixeta que a vegades superen els  $100 \mu\text{g/L}$  (Villanueva et al. 2006; Agència de Salut Pública de Barcelona 2009), essent els nivells més alts de THM de la Unió Europea (Premazzi 2010). L'alta concentració de THM s'associa a la potabilització d'aigua d'origen superficial, que té un alt contingut en precursors. Tot i que el cloroform sol ser el THM més concentrat en l'aigua de l'aixeta, els THM bromats predominen en algunes zones de l'àrea metropolitana de Barcelona (Villanueva et al. 2006; Agència de Salut Pública de Barcelona 2009), on l'aigua de consum prové majoritàriament del riu Llobregat, que té un alt contingut de sals bromades degut a l'activitat minera a la comarca del Bages.

Les normatives sanitàries de les piscines a nivell local o internacional no contemplen els nivells de cap SPC a l'aigua o a l'aire de la piscina. L'Organització Mundial de la Salut (OMS), basant-se en estudis de Hery et al i Gagnaire et al. (Gagnaire et al. 1994; Hery et al. 1995), recomana no superar els  $500 \mu\text{g/m}^3$  a l'atmosfera de les piscines interiors (WHO 2006). A la guia "Guidelines for safe recreational water environments" però, la OMS considera aquest valor com un referent provisional i reconeix que falten dades per determinar la relació entre els nivells i un possible risc d'exacerbació de l'asma (WHO 2006).

El paràmetre que sí que es regula a les piscines és la concentració de desinfectant a l'aigua, que s'ha de mantenir en un rang que permeti garantir la

capacitat desinfectant, però sense arribar a causar molèsties o toxicitat als banyistes. A Catalunya el clor lliure a l'aigua s'ha de mantenir entre 0,5 i 2 ppm (Generalitat de Catalunya 2000) (Taula 4). La regulació d'aquests nivells varia internacionalment, essent per exemple de 0,3-0,6 mg/L a Alemanya o de 1-3 mg/L a EEUU, Regne Unit o Austràlia (Zwiener et al. 2007).

Taula 4. Alguns dels paràmetres regulats a les piscines d'ús públic de Catalunya.

Aigua					Aire	
Temperatura	pH	Clor lliure	Clor combinat	Brom total	Temperatura	Humitat relativa
24 - 30 °C	7,0 – 7,8	0,5 - 2 mg/L	0,6 mg/L	3 – 6 mg/L	+ 2 - 4 °C respecte l'aigua	60 - 70 %

Font: Normes sanitàries aplicables a les piscines d'ús públic (Generalitat de Catalunya 2000)

El clor combinat es refereix al clor que ha reaccionat amb compostos nitrogenats de l'aigua, la monocloramina i la dicloramina, que també té capacitat desinfectant però d'eficiència menor a la del clor lliure (Weaver et al. 2009).

Els nivells de SPC que es troben a les piscines de Catalunya i de l'Estat Espanyol són àmpliament desconeguts. Abans de la realització d'aquesta tesi, només s'havien publicat dades sobre concentracions de THM a l'aigua d'una piscina de Córdoba (Caro & Gallego 2007) i d'algunes piscines de Guipúscoa (Santa Marina et al. 2009), amb una concentració de cloroform molt diferent (110 i 12,4 µg/L, respectivament). A les piscines de Guipúscoa també van mesurar THM a l'aire, trobant una concentració mitjana de 22 µg/m<sup>3</sup> (Santa Marina et al. 2009). Les concentracions de THM descrites a piscines d'altres països també varien substancialment (WHO 2006).

Els nivells de tricloramina a l'aire són molt més desconeguts i s'han mesurat en moltes menys ocasions que les concentracions de THM en aigua o en aire. Aquest fet es deu probablement a que no hi ha un mètode analític senzill. Hery et al. van descriure un mètode analític per mesurar tricloramina a l'aire (Hery et al.



1995), que consisteix en fer passar aire per un captador amb filtres impregnats de carbonat de sodi i de triòxid de diarsènic, que recullen la fracció de tricloramina. L'anàlisi es du a terme mitjançant electroforesi capil·lar d'alta resolució, però resulta molt difícil (Institut d'Estudis de la Seguretat 2009). Hery et al. van trobar concentracions de tricloramina de 0,84 mg/m<sup>3</sup> a piscines de França, amb nivells superiors en piscines on es duen a terme activitats recreacionals (Hery M et al. 1995). A França es van trobar entre 240 i 679 µg/m<sup>3</sup> (Massin et al. 1998), a Bèlgica 325 µg/m<sup>3</sup> (Bernard et al. 2007) i a Holanda 656 µg/m<sup>3</sup> (Jacobs et al. 2007). Abans de la realització d'aquesta tesi, no s'havien publicat nivells de tricloramina en aire de cap piscina de l'Estat Espanyol.

Els THM, al ser els SPC que es troben a concentracions més altes i al tenir un mètode analític relativament senzill, s'utilitzen sovint com a indicadors de la concentració total de SPC, tant en temes legislatius, com en estudis epidemiològics. Els THM totals a l'aigua sembla que es correlacionen bé amb la suma de tots els SPC, però no tant o gens bé amb grups específics de SPC (Krasner et al. 1989). A l'aigua de les piscines també s'han analitzat les correlacions entre les concentracions dels SPC més concentrats, trobant múltiples correlacions entre SPC que varien en funció de les piscines analitzades (Weaver et al. 2009).

Com que la tricloramina en aire és difícil de mesurar, és important conèixer la seva correlació amb altres SPC a l'aire o a l'aigua de les piscines que es mesurin més fàcilment, per tal que puguin servir d'indicadors indirectes de la concentració de tricloramina a l'aire. Sembla esperable que si la concentració de NCl<sub>3</sub> a l'aigua augmenta, ho faci també la NCl<sub>3</sub> a l'aire, però el problema és que la NCl<sub>3</sub> a l'aigua es troba sovint sota el límit de detecció del mètode analític que se sol utilitzar a les piscines (la detecció colorimètrica per DPD) (Weaver et al. 2009). La concentració de NCl<sub>3</sub> a l'aigua de les piscines, es correlaciona amb la de NH<sub>2</sub>Cl i la de NHCl<sub>2</sub> (Weaver et al. 2009). En conseqüència, el clor combinat a l'aigua

s'apunta com un possible indicador de la presència de tricloramina a l'aire de les piscines (Institut d'Estudis de la Seguretat 2009).

## ***Efectes respiratoris per exposició a les piscines***

### **Evidències prèvies**

Les primeres evidències que les piscines poden causar un efecte nociu al sistema respiratori dels banyistes provenen dels casos d'intoxicació aguda per una exposició accidental a concentracions altes de clor. Són diversos els casos d'intoxicació per accidents en la dosificació del clor a les piscines que hi ha publicats a la literatura (Martinez & Long 1995; Agabiti et al. 2001; Parimon et al. 2004; Bonetto et al. 2006). Els símptomes observats en aquests accidents varien en funció del grau d'exposició, incloent irritació ocular i de la mucosa de les vies respiratòries, tos, falta d'aire i sibil·làncies, i en casos més greus, parada respiratòria amb requeriment de ventilació mecànica i poques vegades la mort de les víctimes (Babu et al. 2008; Bougault et al. 2009).

Per altra banda, alguns estudis indiquen que l'exposició crònica a l'ambient irritant de les piscines s'associa a una prevalença més alta de símptomes respiratoris entre aquells col·lectius més altament exposats, com les persones en les que la piscina és el seu ambient laboral i que hi passen moltes hores al dia durant anys (monitors de natació, socorristes o nedadors d'elit). Massin et al van avaluar a França si la presència de símptomes irritants i respiratoris en socorristes de piscines s'associava a la concentració de tricloramina a l'aire de les piscines on treballaven (Massin et al. 1998). A l'estudi, van trobar una associació positiva entre la concentració de tricloramina a l'aire i la presència de símptomes irritants nasals i oculars, però no van trobar associació amb la prevalença de símptomes respiratoris crònics com la hiperreactivitat bronquial. Gairebé deu anys després, Jacobs et al. van comparar la prevalença de símptomes respiratoris entre treballadors d'una instal·lació esportiva a Holanda (Jacobs et al. 2007). Semblant

als resultats de Massin et al, els treballadors de les piscines (socorristes i monitors de natació) tenien més símptomes nasals, però no més hiperreactivitat bronquial, que els altres treballadors no exposats a l'ambient de la piscina. Al tractar-se de dos estudis transversals, i tal i com remarquen els autors, podria haver-hi un biaix del treballador sa, de manera que els treballadors de les piscines amb problemes respiratoris haurien canviat la feina i per tant els treballadors inclosos a l'estudi fóssin més sans del que seria esperable. Per altra banda, Thicket et al. van descriure 3 casos d'asma ocupacional per sensibilització a tricloramina en socorristes de piscines (Thickett et al. 2002).

Són diversos els estudis que han comparat la prevalença d'asma entre nedadors i altres esportistes d'elit (Bougault et al. 2009). En una metanàlisi recent, Goodman i Hays van mostrar que la prevalença d'asma és superior en nedadors que entre altres esportistes professionals (odds ratio (OR)= 2,57 (Interval de confiança al 95% = 1,87-3,54) (Goodman & Hays 2008). La causa d'aquest augment en la prevalença d'asma entre els nedadors professionals no és clara. Per una banda, l'exposició crònica a l'ambient irritant de la piscina podria haver augmentat el risc de desenvolupar asma entre els nedadors. Per altra banda, però, també s'apunta a que els asmàtics tendeixen a escollir la natació en front d'altres esports i per això es troben més asmàtics entre els nedadors. La natació és un esport menys asmagènic i més segur per als asmàtics que altres esports terrestres (Weisgerber et al. 2008) (1979) i per això es recomana als asmàtics que practiquin aquest esport (1989).

Un altre tipus d'estudi en què s'intenta avaluar la possible toxicitat de l'ambient de les piscines en el tracte respiratori de les persones són els estudis semi experimentals que utilitzen biomarcadors respiratoris (Carbonnelle et al. 2002; Moreira et al. 2008; Carbonnelle et al. 2008; Pedersen et al. 2009). En els últims anys s'han desenvolupat mètodes per analitzar la concentració de proteïnes o altres substàncies a la sang o altres fluids corporals, conegudes com a biomarcadors, que per les seves característiques fisiològiques indiquen el grau de

funcionament de certs mecanismes fisiopatològics. La mesura d'aquests marcadors permet explorar els mecanismes fisiopatològics que comporten les exposicions ambientals agudes o cròniques i permeten detectar petits canvis fisiològics que, al ser asimptomàtics, no es detectarien amb els mètodes diagnòstics clàssics (Bonetto et al. 2006). Alguns dels biomarcadors de dany respiratori que s'han descrit són l'òxid nítric en aire exhalat (Choi et al. 2006), algunes proteïnes del surfactant pulmonar en sang (Broeckeaert et al. 2000) o les citokines en aire exhalat condensat. En aquest tipus d'estudi, es mesuren canvis en biomarcadors respiratoris en persones que s'han exposat a l'ambient de les piscines. Alguns dels mecanismes de dany respiratori que s'han descrit en relació a l'exposició a les piscines són la inflamació de les vies respiratòries (Bonetto et al. 2006; Grasemann et al. 2007; Moreira et al. 2008; Pedersen et al. 2009), l'estrés oxidatiu (Varraso et al. 2002), la hiperpermeabilitat de l'epiteli pulmonar (Carbonnelle et al. 2002; Bonetto et al. 2006; Carbonnelle et al. 2008), o la sensibilització i el desenvolupament de malalties al·lèrgiques (Bernard 2007).

### **Assistència a piscines i asma infantil**

En els últims anys, alguns estudis epidemiològics han investigat si l'exposició a l'ambient irritant de les piscines durant la infància és un factor de risc per desenvolupar asma. Aquesta possible associació, si fos causal, tindria unes implicacions importants per a la salut pública (Weisel et al. 2009). Durant les últimes dècades, la incidència, prevalença, morbiditat i mortalitat de l'asma han augmentat en moltes parts del món (Selgrade et al. 2006). L'etiologia de l'asma és multifactorial i podrien ser molts els factors que expliquin aquest augment, com ara canvis en exposicions ambientals o en l'estil de vida com ara la dieta o el sedentarisme (Lucas & Platts-Mills 2005). L'asma és una malaltia crònica del sistema respiratori que es caracteritza per una obstrucció reversible de les vies aèries, que en molts casos comença durant la infància. Els símptomes habituals són les sibil·làncies, la tos i la dificultat per respirar (Selgrade et al. 2006). Així

doncs, l'asma suposa una càrrega important per la salut pública, tant pel nombre de persones afectades com pel cost econòmic associat (Selgrade et al. 2006). Segons dades del International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC), al voltant del 12% dels infants de Barcelona han tingut asma alguna vegada a la seva vida (Carvajal-Uruena et al. 2005).

L'any 2003, Bernard et al. van publicar un estudi ecològic en que mostraven que les escoles amb un percentatge més elevat de nens amb asma eren també les escoles amb més percentatge de nens que anaven a la piscina (Bernard et al. 2003). Aquest primer estudi ecològic suggeria per primera vegada que l'assistència a les piscines durant els primers anys de vida comportava una exposició als subproductes de la cloració irritants suficient com per deteriorar el sistema respiratori dels infants i desencadenar el desenvolupament d'asma. Des de llavors, alguns estudis a Bèlgica (Bernard et al. 2006; Bernard et al. 2007; Bernard et al. 2008; Bernard et al. 2009), Itàlia (Carraro et al. 2006), Alemanya (Kohlhammer et al. 2006; Schoefer et al. 2008), Canadà (Levesque et al. 1994) i Irlanda (Cotter & Ryan 2009) han intentat avaluar aquesta hipòtesis. Els estudis realitzats a Bèlgica han trobat una associació positiva entre l'assistència a les piscines clorades i la prevalença d'asma en nens, especialment entre els que tenen atòpia. Els altres estudis realitzats a altres països no han trobat aquesta associació. L'any 2008, Goodman i Hays van realitzar una metanàlisis amb els estudis epidemiològics disponibles fins al moment, trobant una falta d'associació entre l'assistència a la piscina i l'asma infantil (Taula 5) (Goodman & Hays 2008). Després d'aquesta revisió, el grup d'investigadors de Bèlgica ha publicat dos estudis més sobre el tema (Bernard et al. 2008; Bernard et al. 2009). En el primer, l'assistència a les piscines descobertes s'associava a un augment de la prevalença d'asma entre els nens amb atòpia (Bernard et al. 2008). En el mateix grup de 847 adolescents, el temps acumulat d'assistència a les piscines clorades s'associava positivament també a símptomes al·lèrgics entre els nens atòpics (Bernard et al. 2009). En un estudi realitzat a 121 nois a Irlanda, alguns

indicadors d'assistència a piscines es van associar positivament a la prevalença d'asma i d'altres no (Cotter & Ryan 2009).

Taula 5. Associació (Odds ratio, OR) entre diagnòstic d'asma i assistència a piscines durant la infància.

Referència	Qualitat metodològica	OR (IC 95%)	N	País
(Bernard et al. 2006)	3	1,63 (0,75-3,55)	341	Bèlgica
(Carraro et al. 2006)	2	0,54 (0,16-1,54)	241	Itàlia
(Kohlhammer et al. 2006)	6	0,89 (0,56-1,41)	2606	Alemanya
(Levesque et al. 2006)	5	1,00 (0,60-1,80)	804	Canadà
(Bernard et al. 2007)	3	2,20 (0,77-6,50)	341	Bèlgica
(Schoefer et al. 2008)	5	0,42 (0,22-0,82)	2192	Alemanya
<b>Total</b> , tots els estudis		0,82 (0,54-1,25)		
<b>Total</b> , estudis amb alta qualitat (>3)		0,63 (0,38-1,06)		

Font: *Asthma and Swimming: a meta-analysis* (Goodman & Hays 2008). IC: interval de confiança.

Així doncs, l'evidència científica dels estudis publicats és inconsistent, especialment entre els resultats positius trobats a Bèlgica i els resultats negatius dels altres països. A més, els estudis epidemiològics publicats fins al moment tenen certes limitacions. Primerament, tots els estudis publicats són de disseny transversal, llevat dels dos d'Alemanya que utilitzen dades de cohorts. Els estudis d'Alemanya, Itàlia i Canadà són de base poblacional, mentre que els altres no ho són. La grandària de la mostra és superior en els estudis alemanys ( $N > 2.000$ ) que en la resta d'estudis, essent la més petita la de l'estudi d'Irlanda ( $N=121$ ). Pel que fa l'avaluació de l'exposició, la informació sobre assistència a piscines és autodeclarada en tots els estudis, a través de qüestionaris. A vegades es pregunta per l'assistència a piscines algun cop a la vida, altres per la freqüència i durada de l'assistència o el tipus de piscina (desinfectant utilitzat, piscines cobertes o descobertes, etc). Aquesta informació s'ha recollit en tots els estudis de forma retrospectiva, el que pot comportar una certa mala classificació i la possibilitat d'un biaix de memòria. Per últim, la possibilitat que l'associació entre

assistència a piscines i asma s'expliqui per una causalitat inversa és la principal preocupació d'aquests estudis (Weisel et al. 2009). La presència de símptomes respiratoris o al·lèrgics podria influir en el fet d'anar o no anar a la piscina de dues maneres. Per una banda, els asmàtics podrien escollir la natació en front d'altres esports. Si aquest fos el cas, els resultats podrien ser esbiaixats en el sentit que l'asma i l'assistència a les piscines podrien estar associats positivament però seria l'asma la causa d'anar a la piscina i no viceversa. Per altra banda, si els nens amb símptomes deixen d'anar a la piscina, els resultats dels estudis poden ser també esbiaixats però amb el sentit contrari. En aquest cas, l'assistència a les piscines s'associaria negativament a l'asma, tot i que seria l'asma que causaria no anar a la piscina i no que la piscina disminuís el risc d'asma.





## **JUSTIFICACIÓ**

Tot i que la recerca epidemiològica dels efectes sobre la salut de l'exposició a trihalometans a l'aigua del domicili s'ha desenvolupat des dels anys 70, no ha estat fins fa pocs anys que s'ha posat de manifest que l'assistència a les piscines clorades és una via d'exposició molt important a aquests compostos. Els possibles efectes de l'exposició als subproductes de la cloració sobre la salut dels banyistes són encara molt incerts.

El grau d'exposició als subproductes de la cloració que té lloc durant l'assistència a les piscines és encara un tema força desconegut a nivell mundial. A l'Estat Espanyol, tot i que s'estima que l'assistència a les piscines és molt freqüent especialment a l'estiu, gairebé no hi ha dades sobre quin és la concentració d'aquests tòxics a les piscines. Tampoc es coneix quin és el grau d'exposició entre aquest sector de la població potencialment més vulnerable.

El possible impacte negatiu de l'ambient irritant de les piscines sobre el sistema respiratori dels banyistes, i especialment sobre el risc d'asma infantil, és un tema encara més rellevant per la salut pública. Per una banda, l'assistència a les piscines pot ser una exposició molt comú, i a més, se li associen beneficis importants per la salut. Per altra banda, l'asma és de les malalties cròniques més comuns en nens, amb un elevat cost econòmic i de morbiditat associat. Són pocs els estudis epidemiològics que han avaluat aquesta associació i alguns tenen limitacions metodològiques importants. Els resultats obtinguts són inconsistents i inconcloents, pel que es fa necessari ampliar la recerca amb nous estudis epidemiològics realitzats a diferents països.

**OBJECTIUS**

## **Objectiu general**

L'objectiu general de la tesi és avaluar si l'exposició a subproductes de la cloració (SPC) a les piscines té un impacte negatiu sobre el sistema respiratori dels banyistes, especialment sobre el risc d'asma infantil.

## **Objectius específics**

1. Explorar efectes aguts de l'exposició a la piscina sobre el sistema respiratori dels banyistes mitjançant l'anàlisi de biomarcadors
2. Avaluar si l'assistència a piscines s'associa a un augment del risc d'asma i altres símptomes respiratoris i al·lèrgics en diferents poblacions infantils
3. Estimar l'exposició a SPC per assistència a piscines en comparació amb d'altres vies d'exposició
4. Analitzar i descriure els nivells de SPC a algunes piscines de Catalunya i de la resta de l'Estat Espanyol

## **MÈTODES I RESULTATS**



## **ARTICLE 1**

### **Short-term changes in respiratory biomarkers after swimming in a chlorinated pool**

Laia Font-Ribera, Manolis Kogevinas, Jan-Paul Zock, Federico P Gómez, Esther Barreiro, Mark J Nieuwenhuijsen, Pilar Fernandez, Carolina Lourencetti, Maitane Pérez-Olabarría, Mariona Bustamante, Ricard Marcos, Joan O Grimalt, Cristina M Villanueva

*Environmental Health Perspective.* 12 de setembre de 2010. [Epub ahead of print]



**ENVIRONMENTAL  
HEALTH  
PERSPECTIVES**

ehponline.org

**Short-Term Changes in Respiratory Biomarkers after  
Swimming in a Chlorinated Pool**

---

**Laia Font-Ribera, Manolis Kogevinas, Jan-Paul Zock,  
Federico P Gómez, Esther Barreiro, Mark J Nieuwenhuijsen,  
Pilar Fernandez, Carolina Lourencetti, Maitane Pérez-Olabarría,  
Mariona Bustamante, Ricard Marcos,  
Joan O Grimalt, Cristina M Villanueva**

**doi: 10.1289/ehp.1001961 (available at <http://dx.doi.org/>)  
Online 12 September 2010**



**NIEHS**  
National Institute of  
Environmental Health Sciences

National Institutes of Health  
U.S. Department of Health and Human Services



## Short-Term Changes in Respiratory Biomarkers after Swimming in a Chlorinated Pool

Laia Font-Ribera<sup>1,2,3</sup>, Manolis Kogevinas<sup>1,2,4,5</sup>, Jan-Paul Zock<sup>1,2,4</sup>, Federico P Gómez<sup>6,7</sup>, Esther Barreiro<sup>2,3,7,8</sup>, Mark J Nieuwenhuijsen<sup>1,2,4</sup>, Pilar Fernandez<sup>9</sup>, Carolina Lourencetti<sup>9</sup>, Maitane Pérez-Olabarría<sup>2,8</sup>, Mariona Bustamante<sup>1,2,3</sup>, Ricard Marcos<sup>10</sup>, Joan O Grimalt<sup>9</sup> and Cristina M Villanueva<sup>1,2,4</sup>

<sup>1</sup> Centre for Research in Environmental Epidemiology (CREAL).  
Barcelona, Spain.

<sup>2</sup> Municipal Institute of Medical Research (IMIM-Hospital del Mar).  
Barcelona, Spain.

<sup>3</sup> CEXS, Universitat Pompeu Fabra. Barcelona, Spain.

<sup>4</sup> CIBER Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Barcelona, Spain.

<sup>5</sup> National School of Public Health. Athens, Greece.

<sup>6</sup> Hospital Clínic-IDIBAPS. Barcelona, Spain.

<sup>7</sup> CIBER de Enfermedades Respiratorias (CIBERES), Bunyola, Mallorca, Spain.

<sup>8</sup> Pulmonology Department-URMAR. IMIM-Hospital del Mar. Barcelona, Spain.

<sup>9</sup> Institute of Environmental Assessment and Water Research (IDAEA), CSIC. Barcelona, Spain.

<sup>10</sup> Department of Genetics and Microbiology. Universitat Autònoma de Barcelona, Spain.

Address correspondence to C.M. Villanueva, Centre for Research in Environmental Epidemiology (CREAL), Doctor Aiguader 88, Barcelona 08003, Spain. Telephone +34-93- 214-73-44. Fax +34-93-214-73-02. E-mail: cvillanueva@creal.cat

## Short running head

Respiratory Biomarkers After Swimming in a Pool

## Key words

Biomarkers, Clara cell secretory protein, disinfection by-products, exhaled breath condensate, fractional exhaled nitric oxide, respiratory health, swimming, swimming pools, trihalomethanes

## List of Abbreviations and Definitions

CC16	16 KD Clara cell secretory protein
DBPs	Disinfection by-products
DPD	N,N-diethyl-p-phenylenediamine, colorimetric method to measure chloramines in water
EBC	Exhaled breath condensate
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
FeNO	Fractional concentration of orally exhaled nitric oxide
FEV1	Forced expiratory volume in 1 second
FVC	Forced vital capacity
IFN- $\gamma$	Interferon gamma
IL-4	Interleukine 4
IL-8	Interleukine 8
IL-10	Interleukine 10
IL12p70	Interleukine 12p70
Ip10	Immune protein 10
IQR	Interquartile range
RANTES	Regulated upon activation, normal T-cell expressed and secreted
SD	Standard deviation
SP-D	Surfactant protein D
THMs	Trihalomethanes
TNF	Tumor necrosis factor
VEGF	Vascular endothelial growth factor

## **Acknowledgments and Grant support**

We are very grateful to all volunteers and the swimming pool facility, L.Arjona and E.Carrasco for fieldwork contribution, E.Marco, C.Ballester and K.Meliefste for chemical analyses and DM.DeMarini and SD.Richardson for English revision. Work funded by the projects SAF2005-07643-C03-01; CP06/00341; CP01/3058; SAF2007-62719, FISCP06/00341 and FI06/00651.

None of the authors has any competing interests with regard to this work.

## **Outline of manuscript section headers**

Abstract

Introduction

Materials and methods

*Design*

*Respiratory biomarkers*

*Biomarkers of exposure*

*Environmental measurements*

*Other information collected*

*Statistical analysis*

Results

Discussion

References

Tables 1-5

Figures 1-3

## **Abstract**

**BACKGROUND:** Swimming in chlorinated pools involves exposure to disinfection by-products (DBPs) and has been associated with impaired respiratory health.

**OBJECTIVES:** We evaluated short-term changes in several respiratory biomarkers to explore mechanisms of potential lung damage related to swimming pool exposure.

**METHODS:** We measured lung function and biomarkers of airway inflammation (fractional exhaled nitric oxide –FeNO- and 8 cytokines and 1 growth factor (VEGF) in exhaled breath condensate), oxidative stress (8-isoprostane in exhaled breath condensate), and lung permeability (surfactant protein D -SPD- and the Clara cell secretory protein -CC16- in serum) in 48 healthy non-smoking adults before and after swimming for 40 min in a chlorinated indoor swimming pool. We measured trihalomethanes in exhaled breath as a marker of individual exposure to DBPs. Energy expenditure during swimming, atopy and CC16 genotype (rs3741240) was also determined.

**RESULTS:** Median serum CC16 levels increased from 6.01 to 6.21 µg/L (average increase 3.3%, paired Wilcoxon test  $p = 0.03$ ), regardless of atopic status and CC16 genotype. This increase was explained both by energy expenditure and different markers of DBP exposure in multivariate models. FeNO was unchanged overall but tended to decrease among atopics. We found no significant changes in lung function, SP-D, 8-isoprostane, 8 cytokines and VEGF.

**CONCLUSIONS:** A slight increase in serum CC16, a marker of lung epithelium permeability, was detected in healthy adults after swimming in an indoor chlorinated pool. Exercise and DBP exposure explained this association, without involving inflammatory mechanisms. Further research is needed to confirm the results, establish the clinical relevance of short-term serum CC16 changes, and evaluate the long-term health impacts.

## Introduction

Swimming is practiced extensively in western countries (Vaz et al. 1999). Despite the benefits of physical activity, health concerns are growing because swimming in pools involves exposure to disinfectants and disinfection by-products (DBPs), such as trihalomethanes, one of the classes of DBPs at highest concentration in swimming pools, and trichloramine, a known irritant (WHO 2006). A range of acute symptoms has been described among bathers after accidental exposure to high levels of chlorine in swimming pools, including mucosal and ocular irritation, cough, rash, dyspnea, and lung-function decline (Bonetto et al. 2006; Grasemann et al. 2007). Subjects exposed chronically to the swimming pool environment, such as pool workers, showed irritant eye, nasal, and throat symptoms (Jacobs et al. 2007; Massin et al. 1998). Cases of occupational asthma and trichloramine sensitization have been described in pool lifeguards (Thickett et al. 2002). Although an increased asthma risk among children attending pools has been suggested but not confirmed (Goodman and Hays 2008; Font-Ribera et al. 2009), respiratory symptoms and asthma among competitive swimmers are consistently more prevalent compared to other athletes (Goodman and Hays 2008). However, one of the unsolved questions is what are the biological mechanisms behind these health effects (Bonetto et al. 2006; Grasemann et al. 2007).

The development of methods to evaluate respiratory and systemic biomarkers in blood, exhaled breath condensate (EBC) and exhaled breath has allowed the assessment of pathobiological mechanisms underlying respiratory disorders (Bonetto et al. 2006) and the detection of early subclinical respiratory effects after acute or chronic environmental exposures, including swimming pool attendance. Lung surfactant proteins, such as Clara cell secretory protein (CC16) or Surfactant protein D (SP-D), are secreted in the lung epithelium and move passively across the epithelial barrier into the serum down a strong gradient (Broeckaert et al. 2000). A change in the concentration of lung surfactant proteins in serum

has been proposed as a marker to detect early permeability changes in the lung epithelium (Broeckaert et al. 2000). Fractional concentrations of orally exhaled nitric oxide (FeNO) is a marker of eosinophilic airway inflammation (Choi et al. 2006) and has been shown to increase after short-term exposure to mould (Stark et al. 2005). Soluble molecules can be detected in EBC, including pro-inflammatory cytokines, growth factors and oxidative stress biomarkers, and have been used to monitor different aspects of diseases such as asthma or chronic obstructive pulmonary disease, as well as the effects of environmental stressors or physical exercise (Bonsignore et al. 2003; Carbonnelle et al. 2002, 2008; Massin et al. 1998; Nanson et al. 2001).

Proposed mechanisms of respiratory damage related to swimming-pool exposure include airway inflammation (Bonetto et al. 2006; Grasemann et al. 2007; Moreira et al. 2008; Pedersen et al. 2009), oxidative stress (Varraso et al. 2002a), and hyperpermeability of the lung epithelium (Bonetto et al. 2006; Carbonnelle et al. 2002, 2008). Increased permeability of the lung epithelium has been evaluated extensively, and some authors suggest that it may result in increased airway inflammation and higher risk of sensitization and allergic diseases (Bernard 2007). The role of previous atopic status is unclear because some studies have found higher asthma risk for swimming pool attendance among atopics (Bernard et al. 2006, 2007, 2008), but another has not (Font-Ribera et al. 2009). Few studies have measured lung function and respiratory biomarkers after swimming in chlorinated pools (Carbonnelle et al. 2002, 2008; Moreira et al. 2008; Pedersen et al. 2009). Lung function and FeNO were consistently unaltered in the studies, but contradictory results were obtained for lung epithelium permeability, estimated with serum levels of surfactant proteins. Consequently, the evidence remains inconclusive and inconsistent for some biomarkers too.

The aim of this study was to explore short-term respiratory changes in healthy adults after swimming in an indoor chlorinated swimming pool by measuring lung function and a wide range of biomarkers that may reflect

different mechanisms of effect, specifically, airway inflammation (FeNO and 8 cytokines and a growth factor in EBC), oxidative stress (8-isoprostane in EBC), and epithelial lung permeability (SP-D and CC16 in serum), taking into account both exposure to DBPs and physical exercise. Associations between swimming and these outcomes may provide clues regarding potential mechanisms through which swimming-related exposures might affect respiratory health.

## **Materials and Methods**

### ***Design***

The study has a cross-over design involving 50 non-smoking adults who were recruited through open advertisements on the Internet and at local universities. A screening questionnaire was used to verify eligibility among subjects (non-smoking adults, 18 to 50 years old, without respiratory diseases such as ever asthma or having had a cold in the last 3 weeks). Participants were requested to avoid swimming pools during the week before the session and taking a shower the day of the swimming experiment. The study was approved by the ethics committee of the research centre following the international regulations, and all volunteers signed an informed consent before participation.

A single, indoor, 25-m long chlorinated swimming pool in Barcelona, Spain, was used for the study. Every day, 1 to 4 participants were evaluated between 9:00 and 14:00 h (before lunch) in May, June, September, or October 2007. Before and after swimming in the chlorinated pool for 40 min, a battery of measurements and biological samples were collected to evaluate respiratory biomarkers according to a strict schedule (Figure 1). Biological samples and measurements before and after swimming were obtained in a room inside the sports center where the swimming pool was located, but separated from the swimming pool area.

### ***Respiratory biomarkers***

*8-isoprostane and cytokines.* Exhaled breath condensate (EBC) was obtained approximately 70 min before swimming began and 35 min after swimming ended using an EcoScreen® condenser (Jaeger GmbH, Wirzburg, Germany) following the ATS/ERS Task Force recommendations (Horvath et al. 2005). Samples were obtained through breathing at normal frequency and tidal volume until a total expiratory volume of 180 L was achieved. After collection, the condensing device was centrifuged at 4°C, and the resultant total EBC volume (approximately 4 mL) was transferred into Eppendorf tubes and rapidly frozen in liquid nitrogen. All samples were lyophilized and stored at –80°C before analysis. 8-Isoprostane was analyzed through an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, USA). The following 8 cytokines and a growth factor were determined: Regulated upon Activation, Normal T-cell Expressed, and Secreted (RANTES), vascular endothelial growth factor (VEGF), tumor necrosis factor (TNF), interleukin (IL)12p70, IL-4, IL-8, IL-10, interferon gamma (IFN-γ) and IFN-γ-induced protein 10 (Ip10) using the BD™ Cytometric Bead Array (CBA), and the BD FACSCalibur™ Flow Cytometer, a particle-based immunoassay. Levels were characterized as pg/mL of EBC.

*Clara cell secretory protein (CC16) and surfactant pneumoprotein D (SP-D).* Two 5-mL vacutainer serum tubes were collected from each participant by venipuncture before swimming and 70 min after swimming. Samples were centrifuged at 2500 rpm for 15 min, and serum was subsequently distributed in 1.8-mL aliquots, and stored at -80 °C. CC16 and SP-D were analyzed with an ELISA, using commercial kits (Biovendor Laboratorní medicína a.s., Modrice, Czech Republic). Intra-assay and inter-assay coefficients of variation ranged from 2.0% to 2.5% in both cases for serum SP-D, and from 4.0% to 5.0% also in both cases for serum CC16. The minimum detectable concentration in serum was set to be 0.2 ng/mL for SP-D and 20 pg/mL for CC16 (Biovendor Laboratorní medicína a.s.). Levels were expressed as µg/L of serum.



*Fractional concentration of orally exhaled nitric oxide (FeNO)* was measured 40 min before and 80 min after swimming with an electrochemical portable device (NIOX-MINO™, Aerocrine, Solna, Sweden), with a constant airflow rate of 50 mL/s. Duplicate measurement was performed in 50% of the participants to evaluate reproducibility, resulting in a coefficient of variation of 9.7% (SD=10.6). Levels were expressed as parts per billion (ppb).

*Lung function.* Forced expiratory volume in 1 second (FEV1) and forced vital capacity (FVC) were measured 30 min before swimming and 60 min after swimming, with an EasyOne® portable spirometer (NDD, Medical Technologies, Zürich, Switzerland) following standard recommendations (Miller et al. 2005). FEV-1 and FVC were expressed as the percentage from the predicted value by age, gender, and height (Roca et al. 1986).

### ***Biomarkers of exposure***

The four trihalomethanes (THMs), chloroform, bromodichloromethane, dibromochloromethane, and bromoform, were measured in exhaled breath before entering the swimming pool (80 min before swimming) and just after swimming (5 min after leaving the pool) (figure 1), as markers of individual exposure to DBPs. Exhaled breath samples were collected using a portable system for end-exhaled breath sampling, which has been described previously (Lourencetti et al. 2010). Briefly, volunteers were required to breathe through the sampling device equipped with an adsorption cartridge packed with Tenax TA. A total volume of 1 L was collected per person. The air passed through a stainless-steel cartridge (0.5-cm diameter and 9-cm long) containing 1.8 g of Tenax TA (60/80 mesh). Chloroform, bromodichloromethane, dibromochloromethane, and bromoform were determined by an Automatic Thermal Desorption System (ATD 400, Perkin-Elmer) coupled to an Autosystem gas chromatograph with electron capture detection (GC-ECD, Perkin-Elmer). Concentrations were expressed as  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ .

### ***Environmental measurements***

Environmental measurements were done to characterize the swimming pool and to complement the exposure assessment to DBP. Free chlorine, THMs and mono-, di-, and trichloramine were measured in pool water. A 1-L composite water sample was collected at four different points of the pool for each participant while he or she was swimming. A single value for free chlorine, monochloramine ( $\text{NH}_2\text{Cl}$ ), dichloramine ( $\text{NHCl}_2$ ), and trichloramine ( $\text{NCl}_3$ ) was obtained for each participant as measured by DPD procedure with a portable photometer (DINKO Inst., Inc). The methods for water and air THM analyses have been described elsewhere (Lourencetti et al., 2010). Briefly, for THM analyses, 5 mg of sodium thiosulfate was added to a 40-mL glass vial with screw-cap and PTFE-lined silicone septa. Water samples were stored at 4 °C until laboratory analysis on the same day. Trihalomethanes in water were determined using a SOLATek 72 multi-matrix vial autosampler coupled to a purge-and-trap concentrator (Tekmar 3100), which transfers the sample directly to a GC coupled to a mass spectrometer (Voyager MS, ThermoQuest Finnigan, USA) and had a coefficients of variation between 0.98% and 5.6%. An indoor air sample for THM measurements was collected for each participant with a pump located 60 cm above the floor and 1.5 m from the pool border, at 7 mL/min flow rate for 20 min through an adsorption cartridge filled Tenax TA. Quality control was assured by daily calibration of the pump. The four THMs were measured as described for exhaled breath samples and were expressed as  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ .

Additional air samples were collected to measure trichloramine in a subset of the days (6 days). Air was collected with a constant flow sampling pump (flow rate of 1.2 L/min for an average of 115 min, standard deviation (SD) = 32), within 1 metre from the water and at a height of 60 cm above the floor level. The instrumental analyses were performed at the Institute for Risk Assessment Sciences at the Utrecht University following the method described by (Hery et al. 1995); further details are available elsewhere (Jacobs et al. 2007). Trichloramine measurements were used

for comparison with other swimming pools, but were not used as personal exposure estimates because only 2 out of the 6 days with trichloramine levels coincided with participants (two subjects).

### ***Other information collected***

Questionnaires were used to collect information on personal and family history of atopic diseases, exposure to environmental tobacco smoke, diet, sociodemographic data, frequency and duration of swimming pool attendance and other physical activity and way of commuting to the swimming pool facility. Weight and height were measured with standard procedures. Exercise intensity during swimming was estimated using the distance swum by each participant during the 40 min. Energy expenditure (Kcal) was estimated using the swimming speed and the weight of the participant, assuming that swimming at 46 m/min equals 11 metabolic equivalent tasks (METs) (Kcal/kg/h):

$$\text{Kcal} = \text{weight (kg)} * \text{speed (m/min)} * 40 \text{ min} * 1 \text{ h}/60 \text{ min} * 11 \text{ (Kcal/kg/h)}/46 \text{ (m/min)}$$

(Ainsworth et al. 2000). Atopic status was measured with the Phadiatop test, a qualitative test for serum-specific IgE to a mixture of common allergens (Vidal et al. 2005). A single nucleotide polymorphism (SNP) in the *CC16* gene (rs3741240), known to modify gene expression, was genotyped using Sequenon (CEGEN-Santiago). DNA was extracted from peripheral blood samples.

### ***Statistical analysis***

The distribution of each biomarker was evaluated with a test for normality evaluating skewness and kurtosis. Mean or median values were reported accordingly to describe central tendencies. We calculated the individual change in the concentration of each biomarker after swimming in the pool (post – pre concentration). Samples with cytokines under the detection limit before (30.1%) or after (27.1%) swimming were imputed half the detection limit. Those with undetectable levels before and after swimming were excluded from the statistical analysis. A non-parametric test was

used to evaluate if there was a significant change in the concentration of each biomarker. Linear regression models were fitted to calculate the association between changes in the concentration of each respiratory biomarker and the personal markers of DBP exposure and exercise intensity. The beta coefficient of a change in a unit in the concentration of each respiratory marker was calculated for an increase from quartile 25 to quartile 75 in the exposure parameters. All covariates were tested in each model, and only those that were statistically significant were retained in the multivariate models. The *p*-value threshold for statistical significance was set up at <0.05. Interactions were tested by introducing the product of the variables in the regression model. All the statistical analyses were performed with the statistical package STATA 8.2.

## Results

Fifty subjects were recruited for the study. Two subjects with history of asthma were excluded for the current analysis, resulting in a sample of 48 subjects. Most participants were women (65%), highly educated (92% with university studies) with an average age of 30 years (SD = 6.1) and 30% were positive to the Phadiatop test. Twenty percent were regular swimmers (at least once per month) and 54% practiced sport at least once a week. Regarding the *CC16* genotype (A38G), frequencies were 39%, 12%, and 49% for AG, AA, and GG, respectively. The genotyping frequency was 91%, and it was in Hardy-Weinberg equilibrium (HWE, *p* = 0.365). Minor allele frequency (MAF) was similar to the ones described in the International HapMap project for European individuals (The International HapMap Consortium 2003). The mean speed during swimming was 22.5 m/min (SD = 9.7), and the mean energy expenditure was 248.5 Kcal (SD = 120.6). We had one missing value for energy expenditure, one for THM in exhaled breath, one for FeNO and 3 for 8-isoprostane in EBC.

Average free chlorine level in the pool water was 1.17 mg/L (SD = 0.4). Average total THM concentrations in water was 45.4 µg/L (SD = 7.3) (Table 1). The average (SD) level of THM in exhaled breath before

swimming in  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  was 1.19 (0.40) for total THMs, 0.72 (0.28) for chloroform, 0.25 (0.09) for bromodichloromethane, 0.13 (0.06) for dibromochloromethane, and 0.10 (0.07) for bromoform. After swimming, THMs in exhaled breath increased on average about 7 times. The increase was similar by age group, sex, or body mass index (results not shown). Chloroform levels in exhaled breath were significantly correlated with levels in the swimming pool's air, but not with levels in water (Table 2). Dichloramine in water was inversely and significantly correlated to brominated THMs but not to chloroform in water, air and exhaled breath. Free chlorine in water was not significantly correlated to total THMs in water, whereas it was significantly correlated to total THMs in air and exhaled breath. The energy expenditure correlated significantly only with bromoform concentration in exhaled breath after swimming. Trichloramine in water was undetectable, and monochloramine correlated with the same DBPs as dichloramine, so only the last is shown in the tables.

The concentration of CC16 in serum was increased significantly after swimming, with an overall median increase of 0.47  $\mu\text{g}/\text{L}$  (3.3% increase) (Table 3). No significant changes were detected in % predicted FEV1, %predicted FVC, FEV1/FVC, FeNO, serum SP-D, 8-isoprostane (Table 3), or cytokines in EBC (Table 4). The increase in serum CC16 concentration was significantly correlated with different indicators of DBP exposure (negatively with dichloramine in water and positively with free chlorine in water and bromodichloromethane, dibromochloromethane and bromoform in exhaled breath) and with energy expenditure (Table 3 and Figure 2). In multivariate models, both energy expenditure and markers of DBP exposure remained significantly associated with the increase in CC16 after mutual adjustment (Table 5). An interquartile range (IQR) increase in energy expenditure was associated with a significant increase in 8-isoprostane in EBC after swimming. An interaction was found with the change in 8-isoprostane and swimming regularly ( $p$ -value = 0.04). 8-Isoprostane decreased among those who swam regularly (median change -1.0  $\text{pg}/\text{mL}$ ; SD = 1.2;  $p$ -value = 0.04), whereas it tended to increase

among those who did not swim regularly (0.62 pg/mL; SD = 2.1;  $p$ -value = 0.09).

When the change in the biomarker concentration was calculated as a relative measure (post-pre/pre levels), the same patterns were found. Bivariate analyses showed that the changes in the levels of these respiratory biomarkers did not differ by sex, age, body mass index or the time spent in active commuting (walking or cycling) to the swimming pool facility. Atopic participants had higher baseline FeNO concentrations than non-atopic participants, and they tended to have a decrease in FeNO after swimming, whereas non-atopic subjects remained stable (Figure 3). The increase in CC16 concentration in serum was not modified significantly by atopic status. Furthermore, CC16 change was not different among CC16 genotypes, modeled as dichotomous (GG vs. AA/AG) ( $p$ -value = 0.507)(results not shown).

## **Discussion**

A slight but significant increase in lung epithelial permeability was detected, as estimated by serum CC16, in healthy adult volunteers after swimming in a chlorinated pool. Energy expenditure during swimming and change in THM concentrations in exhaled breath after swimming (indicating higher DBP exposures) were significant predictors of increases in serum CC16, suggesting that these exposures may have contributed to an increase in lung permeability. Significant changes in lung function tests or markers of inflammation or oxidative stress were not observed in adults after swimming in a chlorinated pool.

The lack of an association between swimming and lung function and FeNO was consistent with previous studies with a comparable design (Carbonnelle et al. 2002, 2008; Moreira et al. 2008; Pedersen et al. 2009). However, evidence on serum CC16 is less consistent. Serum CC16 did not vary significantly in 11 young adults (Carbonnelle et al. 2008) and in 16 children Carbonnelle et al. 2002), whereas it decreased (29% decrease) among 13 adults after swimming in a chlorinated pool, with a

concentration of trichloramine in air between 160 and 280  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  in the first study (Carbonnelle et al. 2008) and of 490  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  in the second (Carbonnelle et al. 2002). The study by Carbonnelle et al. detected an increase in serum CC16 levels among 14 elite swimmers after swimming in a chlorinated pool (44% increase) and a non-chlorinated pool (52% increase) (Carbonnelle et al. 2002), suggesting that the hyperpermeability of the lung epithelium after swimming could be caused by physical activity (Nanson et al. 2001). We showed in the present study that the both exercise intensity during swimming and markers of DBP exposure were associated with the increase in serum CC16 after mutual adjustment, supporting the hypothesis of independent effects of exercise and chemical exposure on the permeability of the lung epithelium.

The unchanged concentration of 8-isoprostane after swimming suggests the lack of association with oxidative stress in the airways. However, 8-isoprostane tended to increase with energy expenditure, in accordance with a previous study showing that oxidative stress increases after physical exercise in healthy subjects (Moller et al. 1996). No changes were detected in the eight cytokines and one growth factor measured in EBC, in accordance with a previous study that did not find changes in other markers of inflammation after swimming in a chlorinated pool in 21 adolescents (Pedersen et al. 2009). Although the concentrations of cytokines in EBC of our healthy study population were relatively low (about 1 pg/mL), they were detectable in the large majority of samples (about 80%). However, partly because of the lack of appropriate reference values, the validity of using these proteins in EBC as markers of acute inflammation in healthy subjects needs to be determined.

The present study has a larger sample size than previous studies with a similar design (N=48, compared to 30 (Moreira et al. 2008) 29 (Carbonnelle et al. 2002), 21 (Pedersen et al. 2009), and 11 (Carbonnelle et al. 2008)). However, statistical power could still be limited for detecting minor changes in some biomarkers with statistical significance. The timing of sample collection was selected to recognize the specific

expression dynamics of the different biomarkers and was highly controlled during fieldwork. However, available data on expression dynamics of some biomarkers were limited or inconsistent. For example, an increase in FENO has been observed right after swimming (Carbonnelle 2002) and also 6 h after mould exposure (Stark 2005). Therefore, undetected changes in some biomarkers due to inappropriate sample timing cannot be ruled out. Although THMs are not irritants and are not likely the putative agents for the respiratory effects associated to the swimming pool environment, their occurrence in exhaled breath was used as a surrogate for DBP dose because THMs are the most prevalent DBPs in swimming pools and are easy to measure in exhaled breath. The observed dichloramine concentrations (0.43 mg/L; Table 1) in water were low in comparison to other swimming pools using chlorine for disinfection (Weaver et al., 2009). Furthermore, the same DPD method was used for all participants; therefore, the influence of the biases should be minimal. The season when the study was conducted (spring-summer) probably represented lower levels of DBP exposures than the rest of the year because the facility was highly ventilated with doors and windows opened. Trichloramine in the air ranged from 0.17 to 0.43 mg/m<sup>3</sup> (mean of 0.29 mg/m<sup>3</sup>), which is below the World Health Organization recommendations of 0.5 mg/m<sup>3</sup> (WHO 2006), but comparable to the study by Carbonnelle et al. 2008.

The measurement of a battery of respiratory biomarkers allowed us to explore short-term respiratory changes that may reflect different mechanisms of respiratory effect in relation to swimming pool exposure. However, there is limited knowledge of the clinical significance to interpret the health impacts of the biomarkers measured. The present study replicates with a higher sample size the methods of previous studies and provides new pieces of evidence on biomarkers not measured previously, including markers in exhaled breath condensate. It suggests for the first time that atopic status and *CC16* genotype do not modify the effect of swimming in a pool on the permeability of the lung epithelium.



Furthermore, we attempted to disentangle the effects of chemical exposure and exercise by measuring individual exposure to DBPs and energy expenditure during swimming.

The increase in serum CC16 after swimming in a well-maintained and highly ventilated indoor swimming pool confirms the high sensitivity of this assay to detect subtle changes in the concentration of this biomarker after environmental exposures. The fact that no differences in serum CC16 levels were detected by the *CC16* genotype further supports the hypothesis that the association is due to an increased permeability of the lung epithelium rather than an increase in CC16 synthesis, which may differ by genotypes (Laing et al. 2000). The higher molecular weight of SP-D (130 KDa) (Kishore et al. 2006) compared to CC16 (16 KDa) (Broeckaert et al. 2000) probably explains the lack of increase in serum concentration of this protein after swimming because its higher molecular weight would not permit the passive diffusion of the molecule through the epithelium barrier. Previous studies that measured other surfactant proteins (SP-A and SP-B) in serum in similar settings found inconsistent results (Carbonnelle et al. 2002, 2008).

We assessed the role of atopy as an effect modifier because some epidemiological studies have reported an increased asthma risk for swimming pool attendance among atopic children (Bernard *et al.* 2006, 2007, 2008, 2009). Baseline serum CC16 levels and the change after swimming were similar among atopics and non-atopics. Atopic status did not modify the effect of swimming pool exposure on the markers studied nor in pulmonary function, in agreement with a previous study (Bonetto et al. 2006). However, atopic participants had higher baseline FeNO levels, and atopy modified the effect of swimming ( $p$ -value = 0.02). FeNO remained unchanged among non-atopics, whereas it tended to decrease among atopics. Moreira et al. found no changes on FeNO that did not vary by atopic status or asthma in 30 competitive swimmers after a training session.

Among the battery of respiratory biomarkers evaluated, only serum CC16 levels changed significantly after swimming. Given the moderate increase detected (3.3%), the high variability in CC16 levels in healthy subjects (Broeckaert et al. 2000), and the lack of reference values of CC16, the clinical relevance of this short-term effect is unclear (Carbonnelle et al. 2008) and further studies are necessary to establish the health impacts of short-term serum CC16 changes (Broeckaert et al. 2000; Lakind et al. 2007). Further, previous studies have shown that this acute increase in serum CC16 is transient and that serum CC16 returns to baseline levels a few hours after exposure ceases (Carbonnelle et al. 2002, 2008). We interpret the increase in lung epithelial permeability after swimming as an acute physiologic reaction of the lung caused by exercise and exposure to some DBPs. Long-term effects cannot be extrapolated from these results until the clinical and physiological relevance of CC16 short-term change is understood further.

In summary, we detected a slight increase in serum CC16, which is a marker of lung epithelium permeability, in healthy adults after 40 min of swimming in an indoor chlorinated pool. Exercise and DBP exposure explained this association, without involving further inflammatory mechanisms. Further research is needed to confirm the results, disentangle the effects of exercise and DBP exposure, establish the clinical relevance of short-term serum CC16 changes, and evaluate the long-term respiratory health impacts of swimming.

## References

- Ainsworth BE, Haskell WL, Whitt MC, Irwin ML, Swartz AM, Strath SJ, et al. 2000. Compendium of physical activities: an update of activity codes and MET intensities. *Med Sci Sports Exerc* 32:S498-S504.
- Bernard A. 2007. Chlorination products: emerging links with allergic diseases. *Curr Med Chem* 14:1771-1782.
- Bernard A, Carbonnelle S, de Burbure C, Michel O, Nickmilder M. 2006. Chlorinated pool attendance, atopy, and the risk of asthma during childhood. *Environ Health Perspect* 114:1567-1573.
- Bernard A, Carbonnelle S, Dumont X, Nickmilder M. 2007. Infant swimming practice, pulmonary epithelium integrity, and the risk of allergic and respiratory diseases later in childhood. *Pediatrics* 119:1095-1103.

- Bernard A, Nickmilder M, Voisin C. 2008. Outdoor swimming pools and the risks of asthma and allergies during adolescence. *Eur Respir J* 32:979-988.
- Bernard A, Nickmilder M, Voisin C, Sardella A. 2009. Impact of chlorinated swimming pool attendance on the respiratory health of adolescents. *Pediatrics* 124:1110-1118.
- Bonetto G, Corradi M, Carraro S, Zanconato S, Alinovi R, Folesani G, et al. 2006. Longitudinal monitoring of lung injury in children after acute chlorine exposure in a swimming pool. *Am J Respir Crit Care Med* 174:545-549.
- Bonsignore MR, Morici G, Riccobono L, Profita M, Bonanno A, Paterno A, et al. 2003. Airway cells after swimming outdoors or in the sea in nonasthmatic athletes. *Med Sci Sports Exerc* 35:1146-1152.
- Broeckaert F, Clippe A, Knoop B, Hermans C, Bernard A. 2000. Clara cell secretory protein (CC16): features as a peripheral lung biomarker. *Ann N Y Acad Sci* 923:68-77.
- Carbannelle S, Bernard A, Doyle IR, Grutters J, Francaux M. 2008. Fractional exhaled NO and serum pneumoproteins after swimming in a chlorinated pool. *Med Sci Sports Exerc* 40:1472-1476.
- Carbannelle S, Francaux M, Doyle I, Dumont X, de Burbure C, Morel G, et al. 2002. Changes in serum pneumoproteins caused by short-term exposures to nitrogen trichloride in indoor chlorinated swimming pools. *Biomarkers* 7:464-478.
- Choi J, Hoffman LA, Rodway GW, Sethi JM. 2006. Markers of lung disease in exhaled breath: nitric oxide. *Biol Res Nurs* 7:241-255.
- Font-Ribera L, Kogevinas M, Zock JP, Nieuwenhuijsen MJ, Heederik D, Villanueva CM. 2009. Swimming pool attendance and risk of asthma and allergic symptoms in children. *Eur Respir J*.
- Goodman M and Hays S. 2008. Asthma and swimming: a meta-analysis. *J Asthma* 45:639-647.
- Grasemann H, Tschiedel E, Groch M, Klepper J, Ratjen F. 2007. Exhaled nitric oxide in children after accidental exposure to chlorine gas. *Inhal Toxicol* 19:895-898.
- Hery M, Hecht G, Gerber JM, Gendre J, Hubert G, Rebuffaud J. 1995. Exposure to chloramines in the atmosphere of indoor swimming pools. *Ann Occup Hyg* 39:427-439.
- Horvath I, Hunt J, Barnes PJ, Alving K, Antczak A, Baraldi E, et al. 2005. Exhaled breath condensate: methodological recommendations and unresolved questions. *Eur Respir J* 26:523-548.
- Jacobs JH, Spaan S, van Rooy GB, Meliefste C, Zaat VA, Rooyackers JM, et al. 2007. Exposure to trichloramine and respiratory symptoms in indoor swimming pool workers. *Eur Respir J* 29:690-698.
- Kishore U, Greenhough TJ, Waters P, Shrive AK, Ghai R, Kamran MF, et al. 2006. Surfactant proteins SP-A and SP-D: structure, function and receptors. *Mol Immunol* 43:1293-1315.
- Laing IA, Hermans C, Bernard A, Burton PR, Goldblatt J, Le Souef PN. 2000. Association between plasma CC16 levels, the A38G polymorphism, and asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 161:124-127.

- Lakind JS, Holgate ST, Ownby DR, Mansur AH, Helms PJ, Pyatt D, et al. 2007. A critical review of the use of Clara cell secretory protein (CC16) as a biomarker of acute or chronic pulmonary effects. *Biomarkers* 12:445-467.
- Lourencetti C, Ballester C, Fernández P, Marco E, Prado C, Periago JF et al. 2010. New method for determination of trihalomethanes in exhaled breath: applications to swimming pool and bath environments. *Anal Chim Acta* 662:23-30.
- Massin N, Bohadana AB, Wild P, Hery M, Toamain JP, Hubert G. 1998. Respiratory symptoms and bronchial responsiveness in lifeguards exposed to nitrogen trichloride in indoor swimming pools. *Occup Environ Med* 55:258-263.
- Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A, et al. J. 2005. Standardisation of spirometry. *Eur Respir J* 26:319-338.
- Moller P, Wallin H, Knudsen LE. 1996. Oxidative stress associated with exercise, psychological stress and life-style factors. *Chem Biol Interact* 102:17-36.
- Moreira A, Delgado L, Haahtela T, Silva JA, Araujo L, Beca F, et al. 2008. Training does not affect exhaled nitric oxide in competitive swimmers. *Allergy* 63:623-624.
- Nanson CJ, Burgess JL, Robin M, Bernard AM. 2001. Exercise alters serum pneumoprotein concentrations. *Respir Physiol* 127:259-265.
- Pedersen L, Lund TK, Molgaard E, Kharitonov SA, Barnes PJ, Backer V. 2009. The acute effect of swimming on airway inflammation in adolescent elite swimmers. *J Allergy Clin Immunol* 123:502-504.
- Stark HJ, Randell JT, Hirvonen MR, Purokivi MK, Roponen MH, Tukiainen HO. 2005. The effects of *Aspergillus fumigatus* challenge on exhaled and nasal NO levels. *Eur Respir J* 26:887-893.
- The International HapMap Consortium. The International HapMap Project. *Nature* 426, 789-796. 2003.
- Thickett KM, McCoach JS, Gerber JM, Sadhra S, Burge PS. 2002. Occupational asthma caused by chloramines in indoor swimming-pool air. *Eur Respir J* 19:827-832.
- Varraso R, Massin N, Hery M, Fradier-Dusch M, Michaely JP, Fournier M, et al. 2002. Not only training but also exposure to chlorinated compounds generates a response to oxidative stimuli in swimmers. *Toxicol Ind Health* 18:269-278.
- Vaz dA, Graca P, Afonso C, D'Amicis A, Lappalainen R, Damkjaer S. 1999. Physical activity levels and body weight in a nationally representative sample in the European Union. *Public Health Nutr* 2:105-113.
- Vidal C, Gude F, Boquete O, Fernández-Merino MC, Meijide LM, Rey J, et al. Evaluation of the phadiatop test in the diagnosis of allergic sensitization in a general adult population. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2005;15(2):124-30.
- Weaver WA, Li J, Wen J, Johnston J, Blatchley MR, Blatchley III ER. 2009. Volatile disinfection by-product analysis from chlorinated indoor swimming pools. *Water Res*. 43: 3308-3318.
- World Health Organization. 2006. Guidelines for Safe Recreational Water Environments, Volume 2: Swimming Pools and Similar Recreational Water-Environments. World Health Organization.  
[http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/bathing/srwe2full.pdf](http://www.who.int/water_sanitation_health/bathing/srwe2full.pdf) [Online 28 October 2009].

Table 1. Physico-chemical parameters in water, air, and exhaled breath and exercise intensity performed by participants (n = 48)

Measurement	Mean (SD)	Median	Min	Max
<b>Water</b>				
Free chlorine (mg/L)	1.17 (0.4)	1.10	0.5	2.17
NHCl <sub>2</sub> (mg/L)	0.43 (0.1)	0.46	0.16	0.65
Temperature (°C)	27.2 (0.4)	27.4	26.5	27.7
pH	7.3 (0.1)	7.3	6.9	7.5
CHCl <sub>3</sub> (µg/L)	16.1 (3.4)	16.7	8.5	20.8
CHCl <sub>2</sub> Br (µg/L)	12.3 (2.3)	11.9	9.3	22.8
CHClBr <sub>2</sub> (µg/L)	10.9 (3.1)	10.5	6.5	22.6
CHBr <sub>3</sub> (µg/L)	6.1 (2.4)	5.7	3.0	16.2
Total THMs (µg/L)	45.4 (7.3)	45.5	35.2	75.2
<b>Air</b>				
CHCl <sub>3</sub> (µg/m <sup>3</sup> )	35.0 (12.3)	31.4	19.5	61.6
CHCl <sub>2</sub> Br (µg/m <sup>3</sup> )	14.6 (5.0)	13.0	7.5	23.4
CHClBr <sub>2</sub> (µg/m <sup>3</sup> )	13.2 (4.3)	12.4	6.0	26.2
CHBr <sub>3</sub> (µg/m <sup>3</sup> )	11.2 (5.2)	8.4	4.4	22.6
Total THMs (µg/m <sup>3</sup> )	74.1 (23.7)	68.9	44.0	124.9
<b>Exhaled breath (after swimming)<sup>a</sup></b>				
CHCl <sub>3</sub> (µg/m <sup>3</sup> )	4.5 (1.7)	4.6	1.1	8.1
CHCl <sub>2</sub> Br (µg/m <sup>3</sup> )	1.8 (0.5)	1.6	0.7	3.2
CHClBr <sub>2</sub> (µg/m <sup>3</sup> )	1.2 (0.5)	1.2	0.3	2.8
CHBr <sub>3</sub> (µg/m <sup>3</sup> )	0.5 (0.2)	0.4	0.1	1.3
Total THMs (µg/m <sup>3</sup> )	7.9 (2.8)	7.7	2.3	14.0
<b>Exercise intensity<sup>a</sup></b>				
Distance swam (km)	0.90 (0.4)	0.95	0.05	1.75
Energy expenditure (Kcal)	248.5 (120.6)	241.9	16.8	603.3

SD: standard deviation. NHCl<sub>2</sub>: dichloramine; CHCl<sub>3</sub>: chloroform;

CHCl<sub>2</sub>Br: bromodichloromethane; CHClBr<sub>2</sub>: dibromochloromethane;

CHBr<sub>3</sub>: bromoform; THMs: trihalomethanes.

<sup>a</sup>n = 47.

Table 2. Spearman correlation coefficients (r) between the different exposure indicators measured (n =47)

Medium (concentration)	Water (µg/L)		Concentration in exhaled breath after swimming (µg/m <sup>3</sup> )				Energy expenditure (Kcal) <sup>a</sup>			
	Free Cl	NHCl <sub>2</sub>	CHCl <sub>3</sub>	CHCl <sub>2</sub> Br	CHClBr <sub>2</sub>	CHBr <sub>3</sub>		TTHMs		
<b>Water</b> (µg/L)	Free Cl		0.24	0.34*	0.48*	0.27	0.35*	0.16		
	NHCl <sub>2</sub>	-0.28		-0.22	-0.44*	-0.44*	-0.50*	-0.37*	-0.26	
	CHCl <sub>3</sub>	-0.24	0.17		0.27	-0.03	0.01	0.07	-0.04	
	CHBr <sub>3</sub>	-0.03	-0.31*	-0.40*		-0.05	0.25	0.24	-0.17	0.08
	TTHMs	-0.04	-0.40*	0.06	0.19	0.18	0.48*	0.14	0.04	
<b>Air</b> (µg/m <sup>3</sup> )	CHCl <sub>3</sub>	0.19	0.04	0.64*	0.40*	0.13	0.29*	0.52*	-0.001	
	CHBr <sub>3</sub>	0.24	-0.29*	0.22	0.35*	0.29	0.55*	0.30*	0.12	
	TTHMs	0.38*	-0.13	0.55*	0.48*	0.34*	0.43*	0.53*	0.03	
	CHCl <sub>3</sub>			0.83*		0.60*	0.55*	0.94*	0.14	
<b>Exhaled breath after</b> (µg/m <sup>3</sup> )	CHCl <sub>2</sub> Br					0.80*	0.72*	0.94*	0.18	
	CHClBr <sub>2</sub>						0.74*	0.79*	0.18	
	CHBr <sub>3</sub>							0.70*	0.32*	
	TTHMs								0.19	

NHCl<sub>2</sub>: dichloramine; CHCl<sub>3</sub>: chloroform; CHCl<sub>2</sub>Br: bromodichloromethane; CHClBr<sub>2</sub>: dibromochloromethane; CHBr<sub>3</sub>: bromoform; TTHMs: total trihalomethanes.

\*p-value < 0.05. <sup>a</sup>Kcal: kilocalories expended during the 40 minutes.

Table 3. Level of respiratory markers before and after swimming. Linear regression coefficients of the change after swimming for the exposure parameters

	N	% predicted FEV1	% predicted FVC	FEV1/ FVC	FeNO (ppb)	8- isoprostane (pg/mL)	SP-D (µg/L)	CC16 (µg/L)
<b>Before. Median</b>	48	48	48	48	47	45	48	48
<b>(IQR)</b>	97.3 (90.1,103.6)	98.1 (90.0,105.4)	0.83 (0.8,0.9)	0.83 (10.5,18.5)	1.6 (1.0,2.0)	54.4 (39.3,68.0)	6.01 (3.9,7.7)	
<b>After. Median</b>	96.3 (90.4,105.1)	95.9 (90.7,104.2)	0.83 (0.8,0.9)	12.5 (10,17.5)	1.3 (0.6,2.5)	55.1 (45.4,85.0)	6.21 (4.6,8.4)	
<b>Change. Median</b>	-0.6 (-2.5,2.4)	-2.0 (-5.1,3.9)	0.0 (-0.02,0.04)	0.0 (-2,2)	-0.03 (-0.8,1.1)	1.0 (-3.7,6.6)	0.47 (-0.3,1.1)	
<b>p-value (change≠ 0)<sup>a</sup></b>	0.83	0.46	0.24	1.00	0.91	0.44	0.03	

Beta coefficient of change in respiratory markers for an increase from quartile 25 to quartile 75 in exposure parameters <sup>b</sup>.

Free chlorine water (mg/L)	0.54	-2.44	0.02*	-1.22	0.61	0.58	1.02**
NHCl <sub>2</sub> water (µg/L)	-0.50	0.12	-0.01	0.92	-0.10	2.86	-0.84**
CHCl <sub>3</sub> exhaled breath (µg/m <sup>3</sup> )	0.48	0.73	0.00	0.14	0.59	0.34	0.24
CHCl <sub>2</sub> Br exhaled breath (µg/m <sup>3</sup> )	0.14	-0.43	0.00	0.22	0.43	0.87	0.55*
CHClBr <sub>2</sub> exhaled breath (µg/m <sup>3</sup> )	-0.05	-1.07	0.01	0.22	0.71	1.06	1.92**
Bromoform exhaled breath (µg/m <sup>3</sup> )	0.35	-0.05	0.00	-0.07	0.32	3.13	1.21**
TTHMs exhaled breath (µg/m <sup>3</sup> )	0.31	0.17	0.00	0.17	0.54	0.76	0.59*
Energy expenditure (Kcal)	0.00	-2.42	0.02	0.20	0.98*	0.85	1.04**

IQR: interquartile range. % pred FEV-1: Percentage of forced expired volume in 1 second from the predicted by age, gender and height. FVC: Forced vital capacity. SP-D: Surfactant protein D. CC16: Clara cell secretory protein. SP-D and CC16 were measured in blood. FeNO: nitric oxide in exhaled breath. 8-isoprostane was measured in exhaled breath condensate. CHCl<sub>3</sub>: chloroform; CHCl<sub>2</sub>Br: bromodichloromethane; CHClBr<sub>2</sub>: dibromochloromethane; CHBr<sub>3</sub>: bromoform; TTHMs: total trihalomethanes.

a. Wilcoxon test. b. Beta coefficients from linear regression models represent a change in the biomarker level for an increase from percentile 25 to percentile 75 of the exposure parameter. FeNO models are adjusted for rhinitis; 8-isoprostane models are adjusted for usual swimming pool attendance. The other models are crude.

\*p-value <0.05    \*\*p-value <0.01



Table 4. Concentration of 8 cytokines and VEGF (pg/mL) in exhaled breath condensate before and after swimming

	<b>RANTES</b>	<b>Ip10</b>	<b>VEGF</b>	<b>TNF</b>	<b>IL12p70</b>	<b>IL-10</b>	<b>IL-8</b>	<b>IFN-γ</b>	<b>IL-4</b>
<b>N<sup>a</sup></b>	31	36	44	39	39	43	40	32	38
<b>Before</b>	0.85	1.18	3.63	0.89	0.66	0.89	1.24	1.29	0.70
<b>Median (IQR)</b>	(0.0,2.0)	(0.1,2.5)	(1.5,8.2)	(0.4,1.7)	(0.0,1.0)	(0.2,1.5)	(0.7,2.2)	(0.0,1.8)	(0.3,2.0)
<b>After</b>	1.17	1.33	4.41	0.71	0.31	0.84	1.42	1.25	0.72
<b>Median (IQR)</b>	(0.4,1.6)	(0.0,2.2)	(2.3,7.1)	(0.4,1.6)	(0.0,0.7)	(0.0,1.5)	(0.4,2.2)	(0.0,2.4)	(0.3,1.1)
<b>Change</b>	-0.20	-0.08	0.11	-0.16	0.00	-0.15	0.00	-0.02	-0.07
<b>Median (IQR)</b>	(-0.8,1.1)	(-1.3,1.3)	(-3.4,4.0)	(-0.7,0.7)	(-0.6,0.0)	(-0.6,0.7)	(-0.7,0.4)	(-1.5,1.5)	(-1.2,0.7)
<b>p-value (change≠ 0)<sup>b</sup></b>	0.631	0.683	0.879	0.477	0.107	0.740	0.898	0.903	0.658

IQR: interquartile range.

a. Samples with undetectable levels were imputed half of the detection limit. Participants with undetectable levels before and after swimming were excluded.

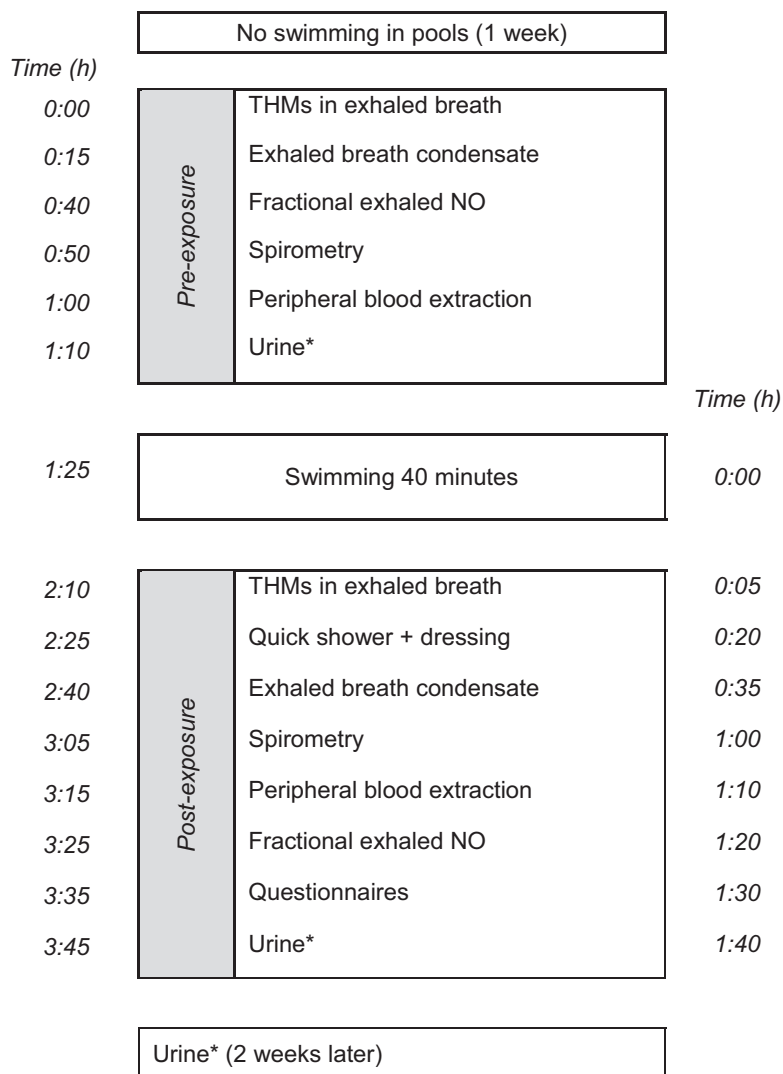
b. Wilcoxon test.

Table 5. Multiple linear regressions between serum CC16 concentration ( $\mu\text{g/L}$ ) in relation to a unit increase in indicators of DBP exposure and energy expenditure

Model	Variables in the model	B (95%CI)	p-value	R <sup>2</sup>	N
1	CHClBr <sub>2</sub> exhaled breath ( $\mu\text{g/m}^3$ )	1.68 (0.93,2.43)	<0.001	0.45	46
	Energy expenditure (Kcal)	0.69 (0.09,1.28)	0.024		
2	CHClBr <sub>2</sub> exhaled breath ( $\mu\text{g/m}^3$ )	1.49 (0.65,2.33)	0.001	0.46	46
	Energy expenditure (Kcal)	0.68 (0.08,1.27)	0.027		
	Free chlorine (mg/L)	0.33 (-0.35,1.01)	0.336		
3	CHCl <sub>2</sub> Br exhaled breath ( $\mu\text{g/m}^3$ )	0.45 (0.01,0.89)	0.047	0.26	46
	Energy expenditure (Kcal)	0.97 (0.30,1.64)	0.005		
4	CHCl <sub>2</sub> Br exhaled breath ( $\mu\text{g/m}^3$ )	0.35 (-0.09,0.78)	0.117	0.34	46
	Energy expenditure (Kcal)	0.87 (0.22,1.51)	0.010		
	Free chlorine (mg/L)	0.77 (0.08,1.46)	0.030		
5	CHBr <sub>3</sub> exhaled breath ( $\mu\text{g/m}^3$ )	0.98 (0.31,1.65)	0.005	0.33	46
	Energy expenditure (Kcal)	0.66 (-0.03,1.35)	0.060		
6	CHBr <sub>3</sub> exhaled breath ( $\mu\text{g/m}^3$ )	0.82 (0.16,1.48)	0.016	0.39	46
	Energy expenditure (Kcal)	0.61 (-0.05,1.28)	0.070		
	Free chlorine (mg/L)	0.69 (0.03,1.36)	0.042		
7	TTHMs exhaled breath ( $\mu\text{g/m}^3$ )	0.46 (-0.10,1.02)	0.105	0.24	46
	Energy expenditure (Kcal)	0.97 (0.29,1.65)	0.006		
8	TTHMs exhaled breath ( $\mu\text{g/m}^3$ )	0.30 (-0.25,0.86)	0.274	0.32	46
	Energy expenditure (Kcal)	0.88 (0.22,1.53)	0.010		
	Free chlorine (mg/L)	0.79 (0.08,1.49)	0.030		
9	Free chlorine (mg/L)	0.85 (0.16,1.54)	0.017	0.28	47
	Energy expenditure (Kcal)	0.90 (0.25,1.56)	0.008		

CHClBr<sub>2</sub>: dibromochloromethane; CHCl<sub>2</sub>Br: bromodichloromethane; CHBr<sub>3</sub>: bromoform; TTHMs: total trihalomethanes. No other variables were included in the models.

Figure 1. Study design and timing of the sample collection and in-situ measurements.



\* Urine was collected for genotoxicity analysis (Kogevinas et al. submitted).

Figure 2. Correlation between the change in serum CC16 concentration and CHClBr<sub>2</sub> in exhaled breath, energy expenditure, free chlorine in water and dichloramine in water during swimming, free chlorine in water and dichloramine in water.

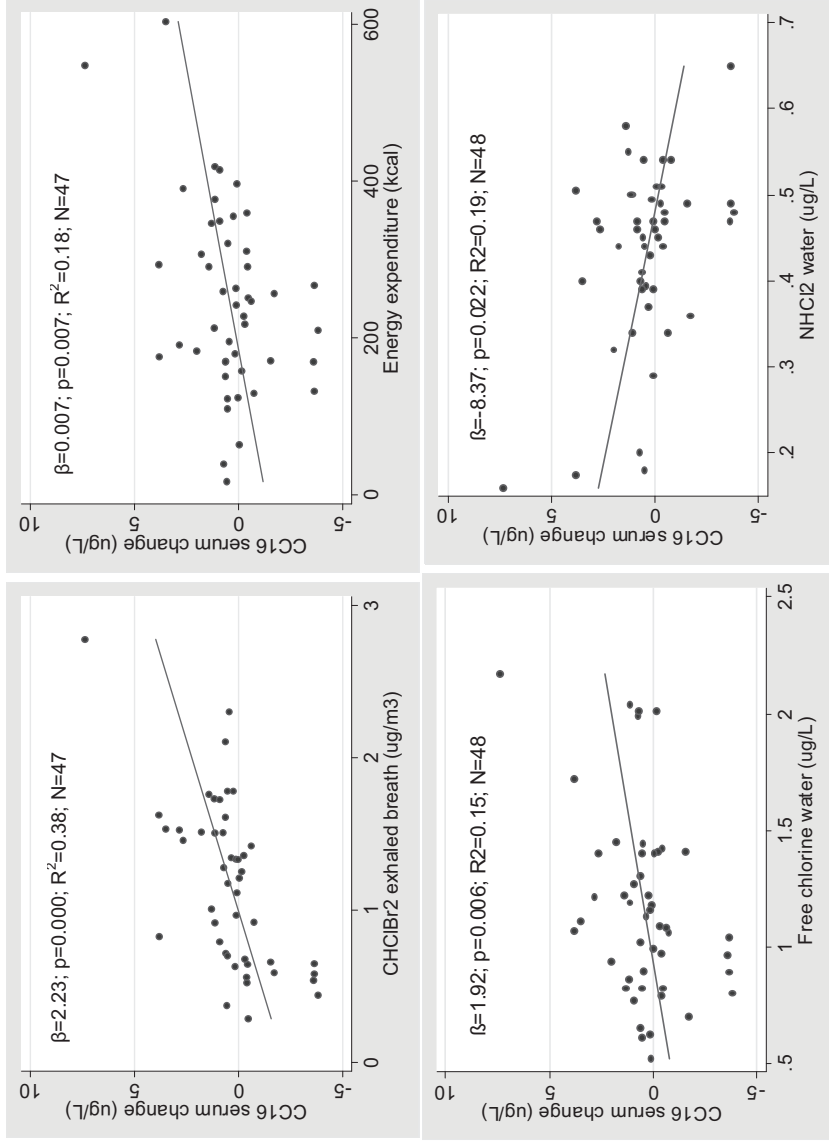
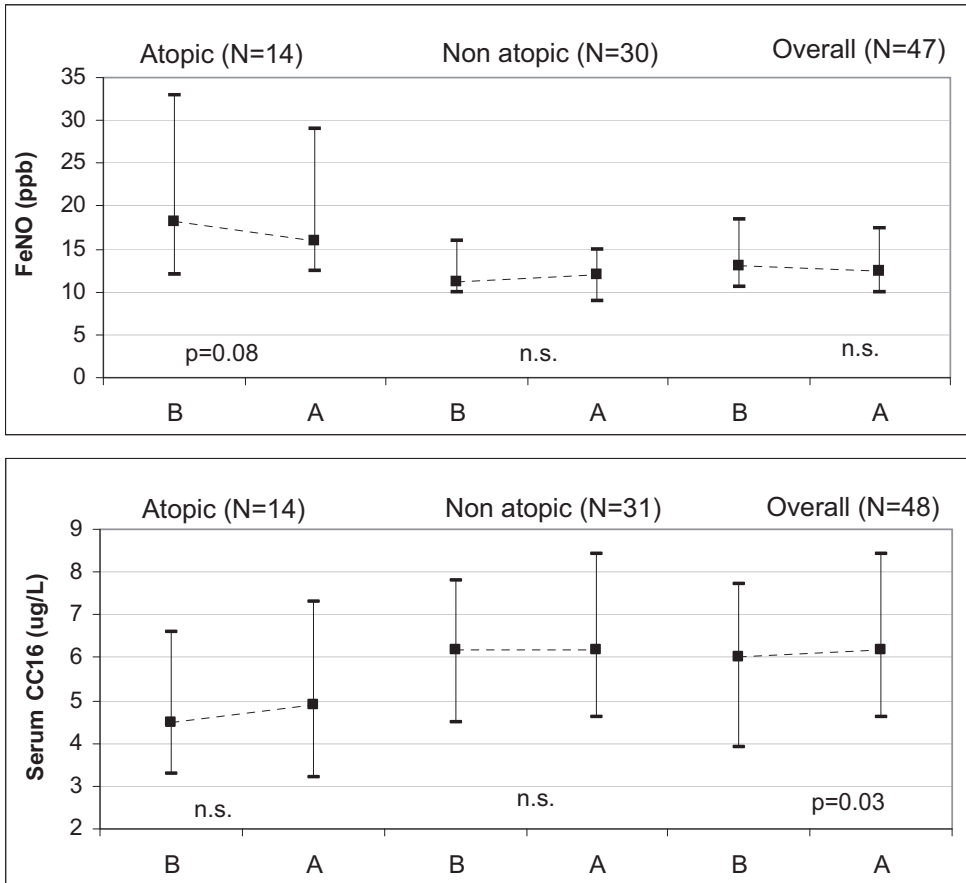


Figure 3. Concentration of FeNO and serum CC16 before (B) and after (A) swimming, stratified by atopic status. Median and interquartile range.



Phadiatop test was used to define atopic status.

p-value from a Mann-Whitney test between atopics and non-atopics: 0.022 for

FeNO and 0.560 for CC16.



## **ARTICLE 2**

### **Swimming pool attendance and risk of asthma and allergic symptoms in children**

Laia Font-Ribera, Manolis Kogevinas, Jan-Paul Zock, Mark J Nieuwenhuijsen, Dick Heederik, Cristina M Villanueva

European Respiratory Journal 2009; 34: 1304–1310

Font-Ribera L, Kogevinas M, Zock JP, Nieuwenhuijsen MJ, Heederik D, Villanueva CM. [Swimming pool attendance and risk of asthma and allergic symptoms in children](#). Eur Respir J. 2009; 34(6): 1304-10.



## **ARTICLE 3**

### **Swimming pool attendance, asthma, allergies and lung function in the ALSPAC child cohort**

Laia Font-Ribera, Cristina M Villanueva, Mark J Nieuwenhuijsen, Jan-Paul Zock, Manolis Kogevinas, John Henderson

Accepted at *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*.  
Setembre de 2010.

## **SWIMMING POOL ATTENDANCE, ASTHMA, ALLERGIES AND LUNG FUNCTION IN THE ALSPAC CHILD COHORT**

Laia Font-Ribera<sup>1,2,3</sup>, Cristina M Villanueva<sup>1,2,4</sup>, Mark J Nieuwenhuijsen<sup>1,2,4</sup>,  
Jan-Paul Zock<sup>1,2,4</sup>, Manolis Kogevinas<sup>1,2,4,5</sup>, John Henderson<sup>6</sup>

1 Centre for Research in Environmental Epidemiology (CREAL), Barcelona  
(Spain)

2 Municipal Institute of Medical Research (IMIM-Hospital del Mar), Barcelona  
(Spain)

3 CEXS, Universitat Pompeu Fabra, Barcelona (Spain)

4 CIBER Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Barcelona (Spain)

5 National School of Public Health, Athens (Greece)

6 Department of Community-Based Medicine, University of Bristol, Bristol  
(UK)

**Correspondence to** C.M. Villanueva, Centre for Research in Environmental  
Epidemiology (CREAL), 88 Doctor Aiguader, Barcelona 08003, Spain.

Telephone +34-93- 214-73-44. Fax +34-93-214-73-02.

E-mail: [cvillanueva@creal.cat](mailto:cvillanueva@creal.cat)

**Financial support:** The UK Medical Research Council (Grant ref: 74882)  
the Wellcome Trust (Grant ref: 076467) and the University of Bristol provide  
core support for ALSPAC. L. Font-Ribera has a predoctoral fellowship from  
the Spanish Health Ministry (FI06/00651). CM Villanueva and JP Zock have  
contracts funded by the Instituto de Salud Carlos III, Spanish Ministry of  
Health and Consumption (CP06/00341 and 01/3058, respectively).

**Running title:** SWIMMING AND ASTHMA IN THE ALSPAC CHILD  
COHORT

Descriptor number: 1.17. Epidemiology (Pediatric): risk factors

Word count Text: 2,649

### **At a Glance commentary:**

Scientific knowledge on the Subject: There is inconsistent evidence from cross-sectional studies for an association between swimming pool attendance and the risk of asthma in childhood.

What This Study Adds to the Field: This is the first prospective longitudinal study on the topic, following 5,738 British children from birth until age 10y. It suggests that swimming does not increase the risk of asthma. On the contrary it appears to be associated with higher lung function and less respiratory symptoms, particularly among asthmatic children.

This article has an online data supplement, which is accessible from this issue's table of content online at [www.atsjournals.org](http://www.atsjournals.org).

### **ABSTRACT**

**RATIONALE:** Cross-sectional studies have reported inconsistent findings for the association between recreational swimming pool attendance and asthma and allergic diseases in childhood.

**OBJECTIVES:** To examine whether swimming in infancy and childhood was associated with asthma and allergic symptoms at age 7 and 10 years in a UK longitudinal population-based birth cohort (ALSPAC).

**METHODS:** Data on swimming were collected by questionnaire at 6, 18, 38, 42, 57, 65 and 81 months. Data on rhinitis, wheezing, asthma, eczema, hay fever, asthma medication and potential confounders were collected through questionnaire at 7 and 10y. Spirometry and skin prick testing were performed at 7-8y. Data for analysis were available for 5,738 children.

**MEASUREMENTS AND MAIN RESULTS:** At age 7y, >50% of the children swam  $\geq$ once/week. Swimming frequency did not increase the risk of any evaluated symptom, either overall or in atopic children. Children with a high versus low cumulative swimming pool attendance from birth to 7y had an odds ratio (OR) of 0.88 (95% confidence interval 0.56-1.38) and 0.50 (0.28-0.87), respectively, for ever and current asthma at 7y, and a 0.20 (0.02-0.39)

standard deviation increase in the mid forced expiratory flow. Asthmatic children with a high versus low cumulative swimming had an OR for current asthma at 10y of 0.34 (0.14-0.80).

**CONCLUSIONS:** This first prospective longitudinal study suggests that swimming did not increase the risk of asthma or allergic symptoms in British children. Swimming was associated with increased lung function and lower risk of asthma symptoms, especially among children with pre-existing respiratory conditions.

Key words: ALSPAC, pediatric, epidemiology, prospective, irritants

Word count Abstract: 261

## **INTRODUCTION**

In recent years, several epidemiological studies have suggested that attending chlorinated swimming pools during childhood is a risk factor for developing asthma and other allergic diseases (1). The underlying hypothesis is that exposure to disinfectants and disinfection by-products in the swimming pool (probably trichloramine, a strong irritant (2)) may cause a detrimental effect in the airways of children with a consequent increased risk of developing asthma (3). It was previously shown that chronic exposure to the irritant environment of indoor swimming pools was associated with higher prevalence of respiratory symptoms among lifeguards (4). The prevalence of asthma among elite swimmers is also higher than among other elite athletes (1,5). However it has been argued that reverse causation may explain these findings since swimming is a well tolerated and recommended sport for asthmatics (1).

Epidemiological studies conducted in Belgium have found an increased risk of childhood asthma related to both indoor and outdoor swimming pool attendance (6-9). A recent study conducted in Ireland among 121 boys (10) found a significant association between asthma and the number of years attending pools, but not with the frequency of attendance. Studies conducted in Germany (11,12), Italy (13) and Spain (14) did not find an increased risk of

asthma among children attending swimming pools. Despite the conflicting results, there is agreement on the complexity of the potential role of swimming in asthma etiology, and the important public health implications (1,15-17). Asthma is among the most common chronic diseases in children (18) and swimming is one of the most practiced sports in western countries (19), where sedentarism and obesity are rising, especially among children (20). In August 2007, a multidisciplinary group of experts evaluated the evidence on childhood asthma and swimming pools to establish future research agenda (17). Several shortcomings in the current literature were identified in the area of exposure assessment and the characterization of asthma (17). Currently available studies used a cross-sectional design with a retrospective assessment of swimming pool attendance, which could have led to recall bias and exposure misclassification. The possibility of reverse causation has been identified as another limitation of previous studies, highlighting the need for longitudinal epidemiological studies (14-17), including the use of data in existing prospective birth cohorts (17).

The Avon Longitudinal Study of Parents and Children (ALSPAC) in the UK has followed from birth more than 5,700 children with prospectively collected data on swimming and respiratory symptoms and measurements. Therefore, this study represents a unique opportunity to assess the risk of childhood asthma associated with swimming pool attendance in childhood. The aim of our study is to examine whether swimming at different periods during early childhood is associated with the prevalence of asthma and allergic symptoms at 7 and 10 years of age.

## **METHODS**

### **Study design and population**

The population-based Avon Longitudinal Study of Parents and Children (ALSPAC) study recruited 14,541 pregnant women resident in Avon, UK, with expected delivery dates between 1 April 1991 and 31 December 1992, resulting in a cohort of 14,062 live births (21). Ethical approval was obtained from the ALSPAC Law and Ethics Committee and the Local Research Ethics

Committees. The study protocol has been previously described (22) and further details are on the ALSPAC website (<http://www.alspac.bris.ac.uk>).

### **Measurements and data collection**

Outcomes. Reported symptoms were ascertained through questions similar to those used by the International Study of Asthma and Allergies in Children (ISAAC). Current symptoms (in the last 12 months) included wheezing, asthma, eczema, hay fever, nasal, nasal and ocular (at 6.7 and 10y) and asthma medication (at 7.6y). Having ever had asthma at 7.6y and having ever had eczema and hay fever at 10y was also collected. Atopy was determined by a skin prick test at age 7–8y. Lung function and bronchial hyper-responsiveness (BHR) was measured at approximately 8y. Forced expiratory volume in 1 second (FEV<sub>1</sub>), forced vital capacity (FVC) and forced mid expiratory flow (FEF<sub>25–75</sub>) were measured by spirometry and converted to sex-, age- and height-adjusted standard deviation units (23). The rapid methacholine challenge test was performed to measure BHR (24).

Swimming. Ever swimming before age 4 years was estimated from questionnaires at 6, 18, 38 and 42 months. Swimming from age 4 to 7 years was summarized in a score based on the swimming frequency during school term periods at 57, 65 and 81 months (4.7, 5.4 and 6.7 years respectively). The answers “rarely or not at all”, “once a month”, “once a week” and “more than once a week” were assigned, respectively, 0, 1, 2 or 3 points. The scores for each period were summed into an overall score: low (0 to 2 points), medium (3 to 4 points) and high (5 to 9 points). A combined score (0 to 7 years) distinguished extreme categories: lowest exposed (never swimming <4y and 4-7y swimming score=0) and highest exposed (ever swimming <4y and 4-7y swimming score>4).

Confounders. Sex, birth weight, number of siblings, atopy, maternal education, maternal and paternal social class, maternal age at delivery, maternal asthma, allergy and hay fever, contact with pets, hours of TV watching and exposure to environmental tobacco smoke (ETS) in several

periods, and body mass index (BMI, at 7 years) were considered. Atopy was also considered as a potential effect modifier.

See online supplement for details on variable definitions and clinical measurements.

### **Statistical analysis**

Of the 14,062 live births, 13,988 were alive at one year. After excluding children in a triplet or quadruplet for confidentiality and missing observations on all swimming variables or outcomes at 7 years, 8,750 children remained. Since atopy was included in the final models, children with missing atopy were further excluded, leaving 5,738 for the final analysis. Missing values in outcomes and covariates (see methods and Table E1 in the online data supplement) led to varying sample sizes in the different models.

## **RESULTS**

Twelve percent of mothers had ever had asthma, and 21.4% of children were positive to the skin prick test (Table 1). Twenty percent of the children had ever had asthma at 7 years of age (Table 2). The prevalence of hay fever and nasal symptoms increased from age 7 to age 10 years. Swimming before 4 years of age was reported in 14.2% of children (Figure 1). Between 4 and 7 years old, around 50% of children had attended pools at least once a week, while around 20% never or very rarely had done so. Forty-seven percent of the children had a high swimming score between age 4 and 7, while only 10% had a high overall swimming score (Figure 1).

Higher social class and maternal education were associated with a higher frequency of swimming (Figure 2). A decreased frequency of swimming was associated with having siblings, exposure to environmental tobacco smoke, high TV watching and low body mass index. A high maternal social class or education was associated with more atopy but with less asthma symptoms (Figure 2). Girls had more eczema and lower prevalence rates of asthma, hay fever and atopy. Hours of TV watching as well as atopy, maternal asthma, maternal hay fever and maternal allergy were also predictors of symptoms.

As crude and adjusted models gave very similar results, only the latter are reported in the tables. After adjusting for confounders, swimming was not associated with ever asthma, but it was associated with a lower prevalence of current asthma and current asthma medication at 7 years of age (table 3). No significant association was observed between swimming and the prevalence of current wheezing, eczema, hay fever (table 3), nasal symptoms and nasal and ocular symptoms at 7 or at 10 years, atopy, having ever had eczema and hay fever at age 10 years (table E2 in the online supplement). In order to detect differences of the effect of swimming on asthma by previous respiratory conditions, we stratified the analysis by ever wheezing before 3.5 years (table 4). The protective effect of swimming on asthma medication and current asthma was only seen among children who wheezed before age of 3.5 years, while it disappeared among never wheezers before age 3.5 years. Swimming was protective for current asthma at 10 years among children ever having had asthma at 7 years of age. Swimming was associated with a higher FVC, FEV<sub>1</sub>, FEV<sub>1</sub>:FVC ratio and FEF<sub>25-75</sub> at age 8 years (Table 5), indicating that children who had swum more frequently tended to have a better lung function. No significant association was seen between swimming pool attendance and bronchial hyper responsiveness. To further control for socioeconomic status, we stratified the main results by maternal education and observed similar risk estimates indicating no effect modification by socioeconomic status (table E3 in online supplement).

Before adjusting the models for atopic status, we performed stratified analyses and confirmed that atopy was not an effect modifier (see table E4 in online supplement). Swimming did not increase the risk of any respiratory symptom among atopic children, as defined by the skin prick test. Among atopic children, those in the highest overall swimming category also had less current asthma at age 7 years compared with those in the lowest swimming category (Odds Ratio (OR) = 0.41; 95% Confidence interval (CI): 0.17-0.99).

Finally, in order to detect possible reverse causation or health-related selection, we analyzed the association between wheezing before 3.5 years



and swimming later on, as well as the association between symptoms at 7 years and the frequency of swimming at 8.6 years. There was no association with any swimming variable (table E5 in the online supplement), indicating that respiratory and allergic symptoms did not affect the probability of attending swimming pools later in life.

## **DISCUSSION**

This large prospective birth cohort study indicated that reported swimming did not increase the risk of asthma, atopy or any respiratory and allergic symptom in British children. On the contrary, swimming was associated with increased lung function and with a decreased prevalence of current asthma among children with previous respiratory conditions. In addition, no evidence of reverse causation was detected.

The results of this study are in accordance with the previous cross-sectional studies performed outside Belgium, where no significant positive association between pool attendance and ever having asthma (11,12,14) or hay fever (11,12) was reported. In Germany, swimming also did not increase the risk of eczema (11,12) although it did in Spain (14). Differences in the results on asthma risk between studies conducted in Belgium or in other countries may reflect true differences or may relate to methodological aspects. There are several possible explanations for real different effects among areas. First, different patterns of swimming pool attendance in children resulting in different cumulative exposures. Second, differences in the level of trichloramine or other irritants in the swimming pools. Third, uncontrolled confounding variables (e.g. physical activity) may be different. Finally, differences in the presence and extent of reverse causation, i.e. children with asthma attending or avoid swimming pools. In this study, the prevalence of swimming was very high and an extreme exposure category was created, and an undetected real effect is unlikely. Regarding methodological differences, the studies with negative results (11,12,14) are based on large and population-based samples, while the studies with positive results do not (6-9).

This is the first longitudinal study with prospectively collected data on the association between swimming pool attendance and childhood asthma. The use of questionnaires not originally designed to answer the specific research question under study led to potential exposure misclassification and absence of data on confounders such as physical activity. The data on swimming during the first years of life were obtained indirectly through open questions and therefore pool attendance before 4 years of age has likely been underestimated. The effect on the results is difficult to foresee since we ignore if the exposure misclassification had been differential or non differential. However, a global interpretation of results shows a consistent pattern for different exposure periods, suggesting that findings for the earliest period are not spurious. The questionnaires referred to swimming instead of swimming pool attendance, but given the weather characteristics in the UK, it is reasonable to assume that answers refer mainly to indoor swimming pool attendance. Although there is no empirical data to confirm this, the majority of swimming pools in the area have probably been chlorinated during the study period, according to local authorities and the world health organization data showing that chlorine is the most common disinfectant used in swimming pools (2). The lack of quantitative data on irritants in the swimming pools is a drawback that prevents the evaluation of dose-responses and difficults the comparison with other study settings. Selection bias in the initial sample may affect the external validity of our findings. There was a considerable loss to follow up that, as in most cohort studies, was greater in children from less advantaged backgrounds, probably leading to an overestimation of the swimming prevalence (see table E6 in online supplement). However, since socioeconomic status was not an effect modifier, the validity of results in the analyzed dataset was not compromised. Data on other environmental exposures that could affect respiratory health, e.g. air pollution, was not available to check for effect modification or confounding. On the other hand, the available information on the health outcomes was very accurate, with clinical measurements and validated questions on asthma and allergic symptoms at 7 and at 10 years. The strengths of using data from a population based and longitudinal study are

very relevant. The prospective nature of the data collection reduced the probability of recall bias. It also allowed us to look for the first time at temporal relationships between swimming and allergic and respiratory symptoms at different points in time during childhood, showing that in this population there was no evidence of reverse causation. Along with the prospective design, the large sample size was an advantage that allowed us to analyze associations in subgroups of children with different previous respiratory conditions.

Similar to a previous study in Spain (14), an inverse association between swimming and asthma symptoms, but not with ever asthma, was found in the overall population of this British cohort. This appeared to be driven by the subgroup of asthmatics or early wheezing children. Since we could only use TV watching as a proxy for sedentarism, we can not disentangle whether this protective effect is caused by swimming per se or by other physical activities related to a more active and healthier life-style. Recent studies are providing evidence that asthmatics may benefit from swimming training as reflected in the clinical measures of disease severity (1,25,26). To our knowledge, this is the first longitudinal and population-based study showing that swimming is associated with less asthma symptoms among children with asthma, after discarding a “healthy-swimmer effect”. Although physical fitness in childhood may prevent asthma development in young adulthood (27), our data do not seem to indicate that swimming can prevent asthma development in children. If our results are further confirmed, swimming would not only be a safe sport for asthmatics (26), but also may help controlling asthma symptoms. These results are not extrapolable to swimming pool workers and elite swimmers, which are populations at risk of developing adverse respiratory outcomes deserving further research.

In conclusion, this first large longitudinal study suggests that swimming was not associated with ever asthma or atopy in British children. Swimming was associated with increased lung function and with lower prevalence of asthma symptoms, especially among children with pre-existing respiratory conditions. Findings indicate no reverse causation, but confounding by

concurrent physical activity or selection bias cannot be ruled out. More large studies with improved exposure assessment specially during the first years of life conducted in different settings are required to confirm these results, since they entail important public health implications.

## **ACKNOWLEDGMENTS**

We are extremely grateful to all the families who took part in this study, the midwives for their help in recruiting them, and the whole ALSPAC team, which includes interviewers, computer and laboratory technicians, clerical workers, research scientists, volunteers, managers, receptionists and nurses.

## **References**

1. Goodman M, Hays S. Asthma and swimming: a meta-analysis. *J Asthma* 2008;45:639-647.
2. World Health Organization. Guidelines for safe recreational water environments. Volume 2. Swimming pools and similar environments. World Health Organization, Geneva, 2006. Available at: [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/bathing/srwe2full.pdf](http://www.who.int/water_sanitation_health/bathing/srwe2full.pdf)
3. Bernard A. Chlorination products: emerging links with allergic diseases. *Curr Med Chem* 2007;14:1771-1782.
4. Massin N, Bohadana AB, Wild P, Hery M, Toamain JP, Hubert G. Respiratory symptoms and bronchial responsiveness in lifeguards exposed to nitrogen trichloride in indoor swimming pools. *Occup Environ Med* 1998;55:258-263.
5. Levesque B, Duchesne JF, Gingras S, Lavoie R, Prud'Homme D, Bernard E, Boulet LP, Ernst P. The determinants of prevalence of health complaints among young competitive swimmers. *Int Arch Occup Environ Health* 2006;80:32-39.
6. Bernard A, Carbonnelle S, de Burbure C, Michel O, Nickmilder M. Chlorinated pool attendance, atopy, and the risk of asthma during childhood. *Environ Health Perspect* 2006;114:1567-1573.
7. Bernard A, Carbonnelle S, Dumont X, Nickmilder M. Infant swimming practice, pulmonary epithelium integrity, and the risk of allergic and respiratory diseases later in childhood. *Pediatrics* 2007;119:1095-1103.
8. Bernard A, Nickmilder M, Voisin C. Outdoor swimming pools and the risks of asthma and allergies during adolescence. *Eur Respir J* 2008;32:979-988.

9. Bernard A, Nickmilder M, Voisin C, Sardella A. Impact of chlorinated swimming pool attendance on the respiratory health of adolescents. *Pediatrics* 2009;124:1110-1118.
10. Cotter A, Ryan CA. The pool chlorine hypothesis and asthma among boys. *Ir Med J* 2009;102:79-82.
11. Kohlhammer Y, Doring A, Schafer T, Wichmann HE, Heinrich J. Swimming pool attendance and hay fever rates later in life. *Allergy* 2006;61:1305-1309.
12. Schoefer Y, Zutavern A, Brockow I, Schafer T, Kramer U, Schaaf B, Herbarth O, von Berg A, Wichmann HE, Heinrich J. Health risks of early swimming pool attendance. *Int J Hyg Environ Health* 2008;211:367-373.
13. Carraro S, Pasquale MF, Da Fre M, Rusconi F, Bonetto G, Zanconato S, Baraldi E. Swimming pool attendance and exhaled nitric oxide in children. *J Allergy Clin Immunol* 2006;118:958-960.
14. Font-Ribera L, Kogevinas M, Zock JP, Nieuwenhuijsen MJ, Heederik D, Villanueva CM. Swimming pool attendance and risk of asthma and allergic symptoms in children. *Eur Respir J* 2009;34:1304-1310.
15. Angela Spivey. Widening the pool of factors. Studies needed to assess asthma-swimming link. *Environmental Health Perspective* 2009;117:A 162.
16. Uyan ZS, Carraro S, Piacentini G, Baraldi E. Swimming pool, respiratory health, and childhood asthma: should we change our beliefs? *Pediatr Pulmonol* 2009;44:31-37.
17. Weisel CP, Richardson SD, Nemery B, Aggazzotti G, Baraldi E, Blatchley ER, III, Blount BC, Carlsen KH, Eggleston PA, Frimmel FH, Goodman M, Gordon G, Grinshpun SA, Heederik D, Kogevinas M, LaKind JS, Nieuwenhuijsen MJ, Piper FC, Sattar SA. Childhood asthma and environmental exposures at swimming pools: state of the science and research recommendations. *Environ Health Perspect* 2009;117:500-507.
18. O'Connell EJ. The burden of atopy and asthma in children. *Allergy* 2004;59 Suppl 78:7-11.
19. Vaz dA, Graca P, Afonso C, D'Amicis A, Lappalainen R, Damkjaer S. Physical activity levels and body weight in a nationally representative sample in the European Union. *Public Health Nutr* 1999;2:105-113.
20. Hardy LR, Harrell JS, Bell RA. Overweight in children: definitions, measurements, confounding factors, and health consequences. *J Pediatr Nurs* 2004;19:376-384.
21. Maitra A, Sherriff A, Northstone K, Strachan D, Henderson AJ. Maternal age of menarche is not associated with asthma or atopy in prepubertal children. *Thorax* 2005;60:810-813.

22. Golding J, Pembrey M, Jones R. ALSPAC--the Avon Longitudinal Study of Parents and Children. I. Study methodology. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2001;15:74-87.
23. Chinn S, Rona RJ. Height and age adjustment for cross sectional studies of lung function in children aged 6-11 years. *Thorax* 1992;47:707-714.
24. Yan K, Salome C, Woolcock AJ. Rapid method for measurement of bronchial responsiveness. *Thorax* 1983;38:760-765.
25. Wang JS, Hung WP. The effects of a swimming intervention for children with asthma. *Respirology* 2009;14:838-842.
26. Weisgerber M, Webber K, Meurer J, Danduran M, Berger S, Flores G. Moderate and vigorous exercise programs in children with asthma: safety, parental satisfaction, and asthma outcomes. *Pediatr Pulmonol* 2008;43:1175-1182.
27. Rasmussen F, Lambrechtsen J, Siersted HC, Hansen HS, Hansen NC. Low physical fitness in childhood is associated with the development of asthma in young adulthood: the Odense schoolchild study. *Eur Respir J* 2000;16:866-870.

Table 1. Characteristics of the study population. N=5,738.

	N		N total
<i>Child characteristics</i>			
Sex, male	2908	50.7%	5738
Birth weight (g). Median, percentiles 25, 75	3450	3120, 3770	5670
Body mass index at 7 years (Kg). Median, percentiles 25, 75	15.8	14.9, 17.0	5693
<i>Environmental exposures</i>			
Any older brothers at age 1.5 years	3197	55.7%	5738
Weekly contact with pets at age 2 or 4.5 years *	4585	82.5%	5555
Exposure to environmental tobacco smoke at 6 months †	1676	29.8%	5620
TV watching at 5.4 years, > 2h during weekdays	506	9.5%	5348
<i>Maternal characteristics</i>			
Age at delivery (years). Median, percentiles 25, 75	29	26, 32	5738
Higher education ‡	2498	44.3%	5638
Social class I, II	2110	42.9%	4923
Asthma	651	11.7%	5564
Allergy	2577	46.4%	5548
Hay fever	1750	31.8%	5498
<i>Clinical evaluation at 7- 8 years</i>			
Positive skin prick test	1226	21.4%	5738
Lung function			
<i>Standard deviation scores adjusted for height, age and gender</i>	Median	Percentiles 25, 75	N
Forced vital capacity (FVC)	-0.01	-0.62, 0.66	4708
Forced expiratory volume at 1 second (FEV1)	0.01	-0.65, 0.66	4636
FEV1:FVC ratio	0.89	0.85, 0.93	4636
Forced mid expiratory flow (FEF 25-75)	-0.04	-0.68, 0.64	4708
Bronchial hyper-responsiveness §	0.10	-1.33, 1.05	3117

\* cat, dog or any furry pet † During the weekend

‡ Maternal higher education: A level or degree (studying at least until age 18)

§ Mean of least squares dose-response slope. Percentage decline in FEV1 per  $\mu\text{mol}$  methacoline

Table 2. Prevalence of reported respiratory symptoms at approximately 7 and 10 years of age. N=5,738.

	7 years			10 years		
	N	%	N total	N	%	N total
Current* asthma	632	11.4	5537	546	11.4	4770
Current wheezing	598	10.8	5545	487	10.2	4778
Current asthma medicine	762	13.8	5526			
Current eczema	956	17.3	5534	754	15.8	4774
Current hay fever	494	8.9	5520	741	15.5	4766
Current nasal problems	708	12.9	5495	868	18.6	4660
Current nasal-ocular problems	285	5.2	5493	516	11.1	4650
Ever asthma †	1109	20.2	5498			
Ever hay fever				990	21.3	4651
Ever eczema				1560	33.7	4626

\* Current: in the last 12 months † Doctor diagnosed



Table 3. Association (odds ratio, OR) between swimming in different age periods and ever asthma, current symptoms (in the last 12 months) and atopic status at approximately 7 and 10 years of age. N=5,738.

Swimming		Age 7 years			Age 10 years			
		OR *	95% CI	N	OR *	95% CI	N	
Ever asthma	Age < 4 y	Never	1				4440	
		Ever	1.01	0.81-1.26				
	Age 4 – 7 y	Low	1				4425	
		Medium	1.09	0.88-1.35				
		High	1.07	0.87-1.32				
	Age 0 – 7 y	Lowest	1				4193	
Highest		0.88	0.56-1.38					
Current asthma	Age < 4 y	Never	1		1		4751	
		Ever	<b>0.73</b>	0.55-0.98		0.90	0.67-1.21	3876
	Age 4 – 7 y	Low	1		1		4481	
		Medium	1.00	0.76-1.31		0.78	0.59-1.05	
		High	0.97	0.75-1.25		0.91	0.69-1.19	4147
	Age 0 – 7 y	Lowest	1		1		4243	
Highest		<b>0.50</b>	0.28-0.87		0.61	0.32-1.15	3497	
Current wheezing	Age < 4 y	Never	1		1		4757	
		Ever	0.83	0.63-1.11		0.95	0.70-1.29	3885
	Age 4 – 7 y	Low	1		1		4488	
		Medium	0.93	0.70-1.24		0.90	0.64-1.26	
		High	1.12	0.86-1.46		1.06	0.77-1.45	3670
	Age 0 – 7 y	Lowest	1		1		4249	
Highest		0.58	0.33-1.02		0.60	0.31-1.14	3504	
Current asthma medication	Age < 4 y	Never	1				4511	
		Ever	<b>0.70</b>	0.53-0.93				
	Age 4 – 7 y	Low	1				4437	
		Medium	0.87	0.68-1.12				
		High	0.97	0.76-1.23				
	Age 0 – 7 y	Lowest	1				4204	
Highest		<b>0.58</b>	0.35-0.98					

\* Adjusting variables per model: Ever asthma) maternal education, maternal asthma, birth weight, maternal age, TV watching, atopy; Current asthma) maternal asthma, education, atopy; Wheezing) maternal asthma, social class, atopy; Asthma medication) maternal asthma, atopy, education, TV watching.

Table 3 (cont.). Association (odds ratio, OR) between swimming in different age periods and ever asthma, current symptoms (in the last 12 months) and atopic status at approximately 7 and 10 years of age. N=5,738.

		Age 7 years			Age 10 years			
Swimming		OR *	95% CI	N	OR *	95% CI	N	
<b>Current eczema</b>	Age < 4 y	Never	1		4784	1		4430
		Ever	0.93	0.75-1.16		1.07	0.85-1.34	
	Age 4 – 7 y	Low	1		4448	1		4181
		Medium	0.95	0.76-1.20		0.88	0.69-1.12	
		High	1.12	0.91-1.38		0.99	0.79-1.23	
	Age 0 – 7 y	Lowest	1		4267	1		3977
Highest		0.66	0.42-1.02		0.86	0.53-1.39		
<b>Current hay fever</b>	Age < 4 y	Never	1		4726	1		3828
		Ever	1.16	0.85-1.56		1.05	0.81-1.36	
	Age 4 – 7 y	Low	1		4451	1		3617
		Medium	1.17	0.84-1.63		0.78	0.58-1.05	
		High	1.17	0.86-1.60		1.00	0.76-1.31	
	Age 0 – 7 y	Lowest	1		4210	1		3454
Highest		1.70	0.82-3.52		0.85	0.46-1.56		

\* Adjusting variables per model: Eczema) maternal allergy, atopy and sex. Hay fever) maternal hay fever, social class, atopy;

Table 4. Association (odds ratio, OR) between asthma and highest vs. lowest swimming score between age 0 – 7 years in the overall population and by previous respiratory conditions. N=5,738.

		<i>Wheezing before 3.5 years</i>			
		<i>All children</i>	<i>Yes (44.3%)</i>	<i>No (55.7%)</i>	<i>interaction p-value</i>
<b>Ever asthma at 7 years</b>					
	OR †	0.88	0.59	1.63	0.061
	95% CI	0.56-1.38	0.33-1.04	0.62-4.26	
	n	4193	1806	2416	
<b>Current asthma medication at 7 y</b>					
	OR *	<b>0.55</b>	<b>0.35</b>	1.88	0.036
	95% CI	0.33-0.92	0.18-0.67	0.51-6.85	
	n	4233	1816	2457	
<b>Current asthma at 7 y</b>					
	OR *	<b>0.50</b>	<b>0.35</b>	1.27	0.157
	95% CI	0.28-0.87	0.18-0.69	0.33-4.91	
	n	4243	1815	2468	
<b>Current asthma at 10y</b>					
	OR *	<b>0.50</b>	<b>0.39</b>	0.57	0.802
	95% CI	0.28-0.87	0.19-0.81	0.21-1.58	
	n	3980	1701	2267	
		<i>Ever asthma at 7 years</i>			
		<i>All children</i>	<i>Yes (20.2%)</i>	<i>No (79.8%)</i>	
<b>Current asthma at 10y</b>	OR *	0.61	<b>0.34</b>	0.94	0.213
	95% CI	0.32-1.15	0.14-0.80	0.32-2.73	
	n	3497	750	3160	

Adjusting variables per stratified models: † atopy, maternal asthma, education and age.

\* atopy, maternal asthma and education

Table 5. Association (adjusted linear regression coefficient) between swimming at different age periods and lung function and airway responsiveness at 8 years, expressed as standard deviation scores adjusted for height, age and gender. N=5,738.

	Swimming		Mean difference	95% CI		N
Forced Vital Capacity (FVC)	Age < 4 y	Never	0 (reference)			4395
		Ever	-0.05	-0.13	0.03	
	Age 4 – 7 y	Low	0 (reference)			4060
		Medium	-0.01	-0.09	0.08	
		High	<b>0.08</b>	0.00	0.16	
	Age 0 – 7 y	Lowest	0 (reference)			3831
Highest		0.05	-0.13	0.23		
Forced expiratory volume in 1 second (FEV <sub>1</sub> )	Age < 4 y	Never	0 (reference)			4318
		Ever	-0.03	-0.11	0.05	
	Age 4 – 7 y	Low	0 (reference)			3997
		Medium	0.05	-0.04	0.13	
		High	<b>0.10</b>	0.02	0.18	
	Age 0 – 7 y	Lowest	0 (reference)			3771
Highest		0.14	-0.05	0.32		
FEV <sub>1</sub> :FVC	Age < 4 y	Never	0 (reference)			4383
		Ever	0.00	-0.00	0.01	
	Age 4 – 7 y	Low	0 (reference)			4050
		Medium	<b>0.01</b>	0.00	0.01	
		High	0.00	-0.00	0.01	
	Age 0 – 7 y	Lowest	0 (reference)			3821
Highest		0.01	-0.00	0.02		
Forced mid expiratory flow (FEF <sub>25-75</sub> )	Age < 4 y	Never	0 (reference)			4419
		Ever	0.04	-0.04	0.12	
	Age 4 – 7 y	Low	0 (reference)			4081
		Medium	<b>0.10</b>	0.02	0.19	
		High	<b>0.09</b>	0.01	0.17	
	Age 0 – 7 y	Lowest	0 (reference)			3851
Highest		<b>0.20</b>	0.02	0.39		
Bronchial hyper-responsiveness <sup>†</sup>	Age < 4 y	Never	0 (reference)			2848
		Ever	0.08	-0.08	0.25	
	Age 4 – 7 y	Low	0 (reference)			2677
		Medium	-0.04	-0.22	0.14	
		High	0.05	-0.12	0.21	
	Age 0 – 7 y	Lowest	0 (reference)			2584
Highest		0.03	-0.33	0.40		

Adjusting variable per model: FVC) body mass index, birth weight; FEV<sub>1</sub>) body mass index, birth weight, environmental tobacco smoke, atopy; Ratio FEV<sub>1</sub>:FVC) body mass index, sex, atopy; FEF 25-75) Older siblings, birth weight, atopy; Bronchial hyper-responsiveness) sex, maternal asthma, maternal hay fever, atopy

† Mean of least squares dose-response slope (% decline in FEV<sub>1</sub> per µmol methacoline)

Figure 1. Percentage of reported swimming at different ages. N=5,738.

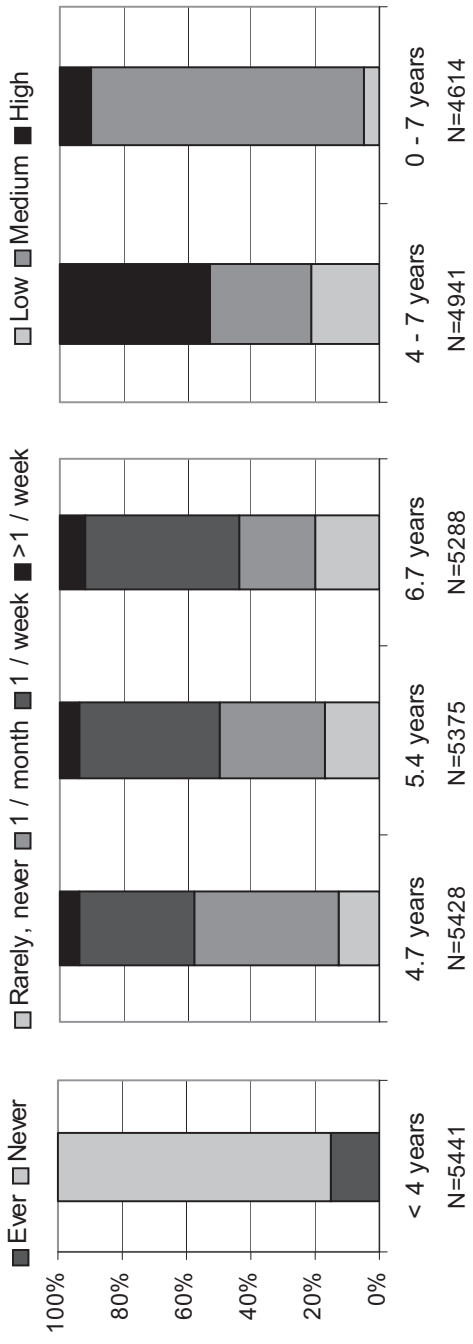
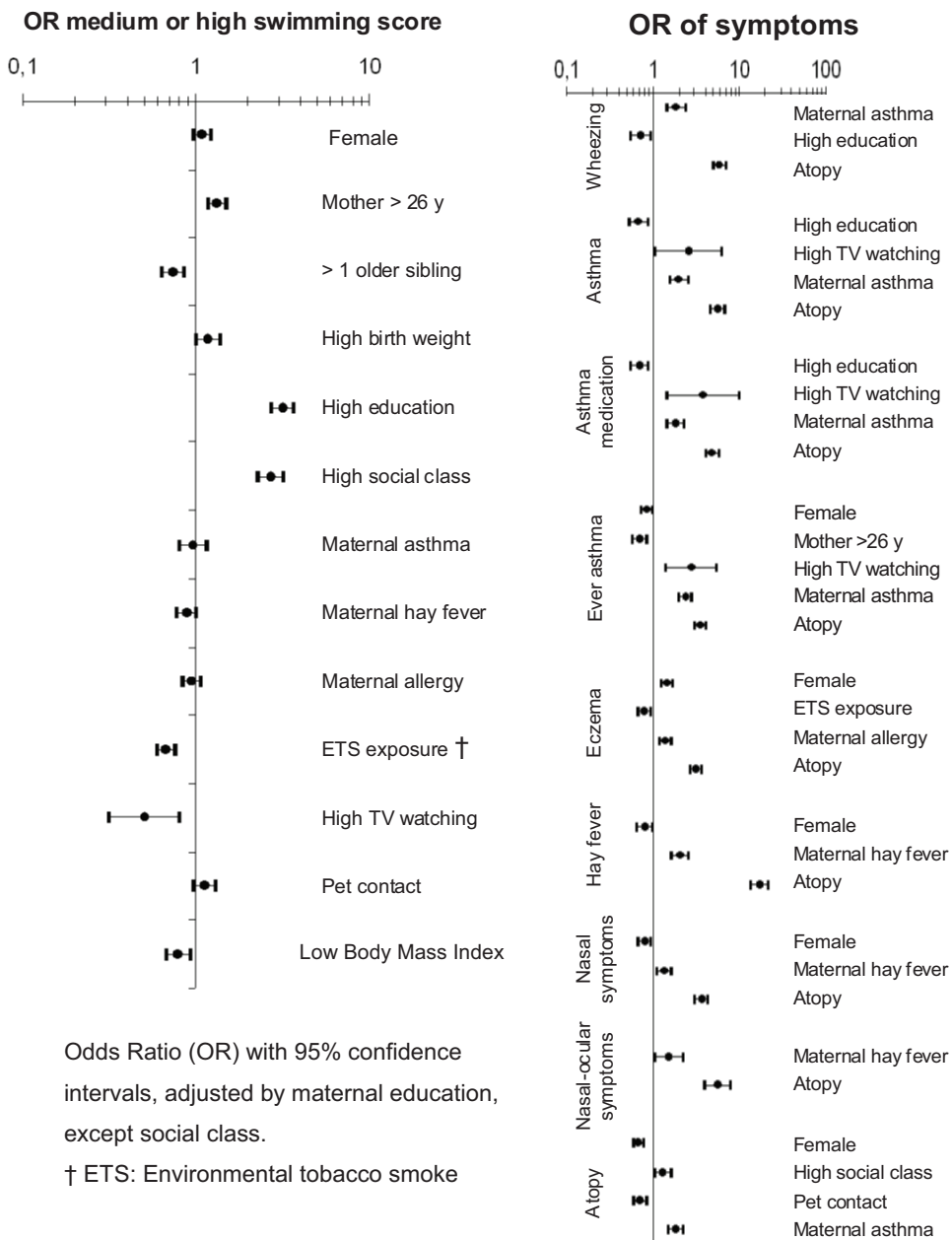


Figure 2. Association between confounders and swimming at age 4 to 7 years, and between confounders and symptoms at 7 or 8 years. N=5,738.



# ONLINE DATA SUPPLEMENT

## METHODS

### **Variable constructions and clinical measurements:**

#### Swimming variables.

- *Swimming before age 4 years.* Information on swimming pool attendance before 4 years was obtained indirectly from questionnaires at 6, 18, 38 and 42 months, where the following question was asked to the mother “How often do you or your partner do these activities with your toddler?” Children were classified as swimming pool attenders if mothers wrote “swimming” in the open answer “other activities (please describe)” option. If there was no textual response regarding swimming, the child was categorized as not taken swimming during that period.

- *Swimming at age 4 to 7 years.* When the child was 57, 65 and 81 months (4.7, 5.4 and 6.7 years respectively), the question “How often does your child go swimming *during term time*?” was asked to the mother. The possible responses were 0) rarely or not at all; 1) once a month; 2) once a week; 3) more than once a week. A score variable was constructed to summarize the frequency during the 3 periods. 0, 1, 2 or 3 points were assigned to each year for the responses “rarely or not at all”, “once a month”, “once a week” and “more than once a week” respectively. The points for each year were added to create a range of values between 0 and 9. Finally, a categorical score was created: low (0 to 2 points), mid (3 to 4 points) or high (5 to 9 points).

- *Combined swimming score (age 0 to 7 years).* A combined score was created in order to distinguish among extreme categories of swimming, considering both early and later attendance. Children who had no swimming reported before 4 years and whose score of swimming between 4 and 7 years was 0, were classified as the lowest exposed. Those children

who ever swam before 4 years and whose score of swimming between 4 and 7 years was higher than 4 points, were considered as the highest exposed. The other children were classified as intermediate exposed.

Reported symptoms. The following questions were asked to the mothers when the child was 6.7 and 10 years: "In the past 12 months, has your child had a problem with sneezing or a running or blocked nose when she did not have a cold or the flu?"; "In the past 12 months, has this nose problem been accompanied by itchy-watery eyes?". At 7.6 and 10 years mothers were asked: "Has he/she had any of the following in the past 12 months: wheezing, asthma, eczema, hayfever?". At 7.6 years of the child, these two questions were also asked: "Has a doctor ever actually said that your child has asthma?" "Has asthma medication been given to your child in the last 12 months?". Finally, at 10 years, these questions were asked: "Has your child ever had eczema?" and "Has your child ever had hay fever?". Symptoms occurring in the last 12 months were considered "current symptoms".

Lung function. Measured by spirometry (Vitalograph 2120, Maids Moreton, UK) according to the American Thoracic Society criteria (1).

Bronchial hyper-responsiveness (BHR). For subjects who exhibited a response in the BHR test ( $\geq 20\%$  fall from baseline FEV<sub>1</sub>), the provoking dose causing a 20% fall from baseline FEV<sub>1</sub> was calculated by linear interpolation between the dose causing a  $\geq 20\%$  fall in FEV<sub>1</sub> and the previous dose. This value was available for 722 (17%) responders, with the non-responders' data being censored at the maximal dose used. Airway responsiveness to methacholine was expressed for each subject as the dose-response slope of FEV<sub>1</sub> (percentage decline from baseline) per  $\mu\text{mol}$  methacholine.

Atopic status. The skin prick test was a panel of up to 12 common allergens including house dust mite (*Dermatophagoides pteronyssinus*), mixed grasses and cat (ALK; Abello', Hoersholm, Denmark). Atopy was defined



as a positive response to one or more of these three allergens, what has been shown to identify 95% of the sensitized children (2).

**Missing data and sample size:**

Of the 13,988 children alive at one year of age, 10 children being a triplet or quadruplet had to be excluded for confidentiality reasons. Acceptable lung function measurements were obtained in 6,997 children (56% of the 12,478 invited). Only those with FEV1  $\geq$ 70% (93,6%) were invited to perform the BHR test and 4,364 (67%) accepted. 12,715 children were invited to perform a skin prick test, and 7,245 (57%) accepted. Children who had missing data in all the swimming pool variables (n=4,438) and children who had missing data in all the outcomes measured at around 7 years (n=3,891) were excluded, leaving a sample of 8,750 children. Since atopy appeared to be included in all the final models, those children with missing data in atopy were further excluded, resulting in a sample of 5,738 children. There was further missing information for almost all variables (table E1).

Table E1. Missing values for each variable in the analyzed sample (N=5,738).

	<b>N</b>	<b>(%)</b>
<b><i>Child characteristics</i></b>		
Sex	0	0
Birth weight	68	1.2
Body mass index at 7 years	45	0.8
<b><i>Environmental exposures</i></b>		
Any older brothers at age 1.5 years	0	0
Weekly contact with pets	183	3.2
Exposure to ETS at 6 months	118	2.1
TV watching at 5.4 years	390	6.8
<b><i>Maternal characteristics</i></b>		
Age at delivery	0	0
Higher education	100	1.7
Social class I, II	815	14.2
Asthma	174	3.0
Allergy	190	3.3
Hay fever	240	4.2
<b><i>Clinical evaluation at 7- 8 years</i></b>		
Skin prick test	0	0
Forced vital capacity (FVC)	1030	18.0
Forced expiratory volume at 1 second (FEV <sub>1</sub> )	1102	19.2
Ratio FEV <sub>1</sub> :FVC	1101	19.2
Forced mid expiratory flow (FEF <sub>25-75</sub> )	1030	18.0
Bronchial hyper-responsiveness	2621	45.7

Table E1. Missing values for each variable in the analyzed sample (N=5,738).

	<b>N</b>	<b>(%)</b>
<b><i>Symptoms at 7 years</i></b>		
Current asthma	552	9.6
Current wheezing	545	9.5
Current asthma medicine	563	9.8
Current eczema	554	9.7
Current hay fever	569	9.9
Current nasal problems	448	7.8
Current nasal-ocular problems	450	7.8
Ever asthma	588	10.2
<b><i>Symptoms at 10 years</i></b>		
Current asthma	968	16.9
Current wheezing	960	16.7
Current eczema	964	16.8
Current hay fever	972	16.9
Current nasal problems	1078	18.8
Current nasal-ocular problems	1088	19.0
Ever hay fever	1087	18.9
Ever eczema	1112	19.4
<b><i>Swimming</i></b>		
Before 4 years of age	327	5.7
Between 4 and 7 years of age	797	13.9
Combined score 0 to 7 years of age	1124	19.6

## RESULTS

Table E2. Association (odds ratio, OR) between swimming at different age periods and current nasal and nasal-ocular symptoms and atopy (N=5,738).

			Age 7 years			Age 10 years		
Swimming			OR *	95CI%	N	OR *	95% CI	N
Current nasal symptoms	Age < 4 y	Never	1		4787	1		4282
		Ever	1.02	0.80-1.30		1.08	0.86-1.35	
	Age 4 – 7 y	Low	1		4721	1		4044
		Medium	0.95	0.74-1.21		1.22	0.96-1.57	
		High	0.95	0.75-1.20		1.18	0.93-1.48	
	Age 0 – 7 y	Lowest	1		4431	1		3848
Highest		0.97	0.59-1.59		1.00	0.61-1.64		
Current nasal –ocular symptoms	Age < 4 y	Never	1		4785	1		4273
		Ever	0.76	0.51-1.14		1.11	0.84-1.46	
	Age 4 – 7 y	Low	1		4719	1		4036
		Medium	0.94	0.64-1.37		1.09	0.80-1.49	
		High	1.05	0.74-1.50		0.99	0.74-1.33	
	Age 0 – 7 y	Lowest	1		4429	1		3840
Highest		0.63	0.31-1.26		1.04	0.55-1.96		
Atopy	Age < 4 y	Never	1		5121			
		Ever	1.10	0.91-1.32				
	Age 4 – 7 y	Low	1		4095			
		Medium	1.07	0.86-1.33				
		High	1.01	0.82-1.24				
	Age 0 – 7 y	Lowest	1		3953			
Highest		1.20	0.77-1.87					

\* Adjusting variables per models at 7 years: Nasal) sex, maternal hay fever, atopy; Nasal-ocular) maternal hay fever, atopy; Atopy) sex, pet contact, maternal asthma, social class. Adjusting variables per models at 10 years: Nasal) maternal hay fever, atopy; Nasal-ocular) maternal hay fever, atopy.

Table E2 (cont.). Association (odds ratio, OR) between swimming at different age periods and having ever had hay fever and eczema (N=5,738).

		Age 10 years			
Swimming		OR *	95% CI	N	
Hay fever ever	Age < 4 y	Never	1		4272
		Ever	1.22	0.97-1.53	
	Age 4 – 7 y	Low	1		4035
		Medium	0.88	0.69-1.13	
		High	1.07	0.85-1.34	
	Age 0 – 7 y	Lowest	1		3837
Highest		1.24	0.75-2.06		
Eczema ever	Age < 4 y	Never	1		3597
		Ever	1.00	0.82-1.22	
	Age 4 – 7 y	Low	1		3476
		Medium	0.94	0.76-1.16	
		High	1.01	0.83-1.24	
	Age 0 – 7 y	Lowest	1		3338
Highest		0.81	0.52-1.27		

\* Adjusting variables per models at 10 years: Hay fever ever) maternal hay fever, atopy; Eczema ever) sex, maternal allergy, atopy, social class, environmental tobacco smoke exposure at 6.5 years.

Table E3. Association (odds ratio, OR) between asthma symptoms at approximately 7 years of age and highest vs. lowest swimming score between age 0 – 7 years in the overall population and by maternal education (N=5,738).

	<i>All children</i>	<i>Maternal education</i>		Interaccion p-value
		<i>Low- medium</i>	<i>High</i>	
<b><i>Ever asthma</i></b>				
OR *	0.88	0.93	0.90	0.071
95% CI	0.56-1.38	0.53-1.62	0.38-2.13	
N	4193	2234	1988	
<b><i>Current asthma</i></b>				
OR *	<b>0.50</b>	0.52	0.50	0.889
95% CI	0.28-0.87	0.25-1.09	0.18-1.41	
N	4243	2242	2001	
<b><i>Current wheezing</i></b>				
OR *	0.58	0.58	0.65	0.538
95% CI	0.33-1.02	0.27-1.24	0.24-1.80	
N	4249	2248	2001	
<b><i>Current asthma medication</i></b>				
OR *	<b>0.55</b>	0.65	<b>0.31</b>	0.836
95% CI	0.33-0.92	0.33-1.28	0.12-0.76	
n	4233	2238	1847	

Adjusting variables per stratified models:

\* maternal asthma, atopy

Table E4. Association (odds ratio, OR) between asthma symptoms at approximately 7 years of age and highest vs. lowest swimming score between age 0 – 7 years in the overall population and by atopic status (N=5,738).

	<i>All children</i>	<i>Atopy</i>		Interaccion p-value
		<i>yes</i>	<i>no</i>	
<b><i>Ever asthma</i></b>				
OR *	0.88	0.78	0.92	0.753
95% CI	0.56-1.38	0.35-1.74	0.54-1.56	
N	4193	907	3318	
<b><i>Current asthma</i></b>				
OR †	<b>0.50</b>	<b>0.41</b>	0.69	0.587
95% CI	0.28-0.87	1.17-0.99	0.35-1.38	
N	4243	917	3336	
<b><i>Current wheezing</i></b>				
OR †	0.58	0.61	0.64	0.944
95% CI	0.33-1.02	0.26-1.40	0.30-1.35	
N	4249	919	3340	
<b><i>Current asthma medication</i></b>				
OR †	<b>0.55</b>	0.51	0.67	0.878
95% CI	0.33-0.92	0.22-1.20	0.36-1.26	
n	4233	914	3329	

Adjusting variables per stratified models:

\* maternal asthma, education, TV watching, maternal age

† maternal asthma, education

Table E5. P- value of the association between symptoms and swimming later in life ( $\chi$ -squared test).

	<b>Swimming at age</b>		
	<i>&lt;4 years</i>	<i>4 – 7 years</i>	<i>8.6 years</i>
<b>Early wheezing</b>			
before 18 months	0.536	0.487	0.394
before 30 months	0.981	0.733	0.738
before 42 months	0.807	0.448	0.414
<b>Symptoms at 7 years</b>			
Ever asthma			0.751
Current asthma			0.900
Asthma medication			0.855
Eczema			0.445
Hay fever			0.423
Wheezing			0.526
Nasal			0.650
Atopy			0.465



Table E6. Differences between the characteristics of the analyzed and the excluded population (N=13,978).

	Analyzed sample N=5,738		Excluded sample N=8,240		p- value
<b><i>Child characteristics</i></b>					
Sex, male	2908	50.7%	7220	51.7%	0.053
Birth weight (g). Median, percentiles 25-75	3450	3120-3770	3420	3090-3740	<0.001
<b><i>Environmental exposures</i></b>					
Any older brothers at age 1.5 years	3197	55.7%	9070	64.8%	<0.001
Weekly contact with pets *	4585	82.5%	8892	85.1%	<0.001
Exposure to environmental tobacco smoke †	1676	29.8%	4018	35.0%	<0.001
TV watching at 5.4 years, > 2h in weekdays	506	9.5%	1015	11.4%	<0.001
<b><i>Maternal characteristics</i></b>					
Age at delivery (years). Median, percentiles 25-75	29	26-32	28	25-31	<0.001
Higher education ‡	2498	44.3%	4394	35.4%	<0.001
Social class I, II	2110	42.9%	3760	37.4%	<0.001
Asthma	651	11.7%	1423	11.6%	0.059
Allergy	2577	46.4%	5254	42.9%	0.168
Hay fever	1750	31.8%	3840	31.6%	<0.001
<b><i>Swimming pool</i></b>					
Ever before 4 years	819	15.1%	468	13.3%	0.013
High score 4-7 years	2323	47.0%	940	38.4%	<0.001
High score 0-7 years	444	9.6%	157	7.2%	<0.001
<b><i>Symptoms at 7 years</i></b>					
Current asthma	589	11.4%	362	12.0%	0.345
Current wheezing	558	10.7%	323	10.7%	0.996
Current hay fever	465	9.0%	251	8.4%	0.339
Current eczema	902	17.4%	347	14.5%	0.001

\* cat, dog or any furry pet at age 2 or 4.5 years. † During the weekend at 6 months

‡ Maternal higher education: A level or degree (studying at least until age 18)

## REFERENCES ONLINE SUPPLEMENT

1. American Thoracic Society. Standardization of Spirometry, 1994 Update. American Thoracic Society. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995;152:1107-1136.
2. Roberts G, Peckitt C, Northstone K, Strachan D, Lack G, Henderson J, Golding J. Relationship between aeroallergen and food allergen sensitization in childhood. *Clin Exp Allergy.* 2005;35:933-940.

## **ARTICLE 4**

### **Patterns of water use and exposure to trihalomethanes among children in Spain**

Laia Font-Ribera, Manolis Kogevinas, Mark J Nieuwenhuijsen, Joan O Grimalt  
Cristina M Villanueva

Acceptat a *Environmental Research*. Juliol de 2010.

Font-Ribera L, Kogevinas M, Nieuwenhuijsen MJ, Grimalt JO, Villanueva CM. [Patterns of water use and exposure to trihalomethanes among children in Spain](#). Environ Res. 2010; 110(6): 571-9.

## **ARTICLE 5**

### **Trihalometanos en agua de piscinas en cuatro zonas de España participantes en el proyecto INMA**

Laia Font-Ribera, Ana Esplugues, Ferran Ballester, Begoña Martínez-Arguelles,  
Adonina Tardon, Carmen Freire, Marina F Fernández, Gloria Carrasco, Amparo  
Cases, Jordi Sunyer, Cristina M Villanueva

Aceptat a *Gaceta Sanitaria*. Juliol de 2010.

Font-Ribera L, Esplugues A, Ballester F, Martínez-Argüelles B, Tardón A, Freire C, et al. [Trihalometanos en el agua de piscinas en cuatro zonas de España participantes en el proyecto INMA](#). Gac Sanit. 2010; 24(6): 483-6.

## **DISCUSSIÓ**

## ***Risc d'efectes respiratoris i asma infantil***

En aquesta tesi s'ha estudiat la relació entre l'exposició a l'ambient de les piscines i un possible efecte respiratori sobre els banyistes de dues maneres: a) efectes a curt termini per exposició puntual i b) efectes crònics, principalment asma, per exposició a llarg termini.

### **Efectes a curt termini: estudi amb biomarcadors**

Per explorar quins mecanismes fisiopatològics del sistema respiratori podien afectar-se per l'exposició a l'ambient irritant de les piscines, es van avaluar efectes respiratoris a curt termini mitjançant una bateria de biomarcadors respiratoris a 48 adults abans i després de nedar 40 minuts en una piscina coberta clorada.

Segons el resultat de l'estudi, l'exposició a una piscina clorada a curt termini no va afectar la funció pulmonar, la inflamació o l'estrès oxidatiu de les vies aèries dels banyistes, mesurada amb la concentració d'òxid nítric en aire exhalat (FeNO) i de 8 citoquines, un factor de creixement i 8-isoprostà al concentrat d'exhalat respiratori. La manca d'afectació d'aquests paràmetres després de nedar en una piscina clorada en condicions habituals, és consistent amb els pocs estudis previs (Carbonnelle et al. 2002; Moreira et al. 2008; Carbonnelle et al. 2008; Pedersen et al. 2009).

El fet de nedar 40 minuts a la piscina clorada, en canvi, va augmentar lleugerament el grau de permeabilitat de l'epitel·li pulmonar, mesurat amb la concentració de la proteïna CC16 a la sang. Els estudis previs amb un disseny similar però amb una mostra més petita, havien detectat resultats contradictoris pel que fa a les variacions de la concentració de la CC16 a la sang després de nedar (Carbonnelle et al. 2002; Carbonnelle et al. 2008). En aquest estudi, s'ha determinat que el petit canvi en la concentració de la CC16 a la sang es correlaciona tant amb el grau d'exposició a alguns SPC presents a la piscina, com també amb el grau d'activitat física realitzada pels banyistes. Degut a l'alta



variabilitat de la concentració de CC16 a la sang d'individus sans (Broeckaert et al. 2000) i a la falta de valors de referència per aquest biomarcador, actualment manca informació per interpretar la rellevància fisiològica d'un petit canvi en la concentració d'aquesta proteïna a la sang (Carbonnelle et al. 2008). Per això, es consideren necessaris els estudis que estableixin quin és l'impacte sobre la salut respiratòria dels petits augments aguts a la concentració de CC16 a la sang (Broeckaert et al. 2000; Lakind et al. 2007).

En aquest estudi també s'ha avaluat el rol de l'atòpia com a modificador de l'efecte, ja que els estudis epidemiològics que troben una associació positiva entre l'assistència a les piscines i el risc d'asma infantil, ho fan específicament o majoritàriament entre aquells nens que tenen atòpia (Bernard et al. 2006; Bernard et al. 2007; Bernard et al. 2008; Bernard et al. 2009). A l'estudi, però, no s'ha trobat diferències entre atòpics ni no atòpics pel que fa als nivells basals de CC16 a la sang, ni en el canvi en la concentració després de nedar.

### **Efectes crònics: assistència a piscines i asma infantil**

A les dues poblacions infantils estudiades, Sabadell (Catalunya) i la cohort d'ALSPAC (*Avon Longitudinal Study of Parents and Children*) a Bristol (Regne Unit), l'assistència a les piscines no s'ha associat a un augment del risc d'asma entre els 7 i els 12 anys d'edat. Aquest resultat ha estat consistent pels diferents indicadors d'assistència a piscina que s'han utilitzat, com ara l'edat d'iniciació a la piscina, la freqüència d'assistència en diferents períodes d'edat durant la infància o els anys acumulats d'assistència a piscines cobertes o descobertes. A més, aquesta associació es mantenia després d'estratificar pel nivell socioeconòmic dels pares, tot descartant que aquest fos un factor confusor dels resultats. L'assistència a les piscines tampoc s'ha associat a un augment de risc d'altres símptomes respiratoris o al·lèrgics com ara utilitzar medicació per l'asma o tenir sibil·làncies, rinitis, rinitis al·lèrgica o atòpia. A Sabadell, l'assistència a les piscines es va associar a un augment de la prevalença de dermatitis atòpica o èczema, que no es va trobar a la cohort d'ALSPAC. A diferència del que descriuen els estudis de

Bernard et al. (Bernard et al. 2006; Bernard et al. 2007; Bernard et al. 2008), a les dues poblacions infantils estudiades, l'atòpia no ha estat un factor modificador de l'efecte de la piscina sobre el risc d'asma. Entre els nens i nenes amb atòpia (classificats segons si havien tingut mai èczema o segons la prova de reactivitat cutània, a Sabadell i a Bristol respectivament), l'assistència a piscines tampoc augmenta la prevalença d'asma.

La manca d'augment del risc d'asma entre la població infantil associat a l'assistència a les piscines és concordant amb els estudis epidemiològics realitzats a Itàlia, Alemanya o Canadà (Levesque et al. 2006; Kohlhammer et al. 2006; Carraro et al. 2006; Schoefer et al. 2008), mentre que discorda dels estudis realitzats a Bèlgica (Bernard et al. 2006; Bernard et al. 2007; Bernard et al. 2008; Bernard et al. 2009). Si existís una associació real entre l'assistència a les piscines i el risc d'asma només en alguns països però no en altres, una possible explicació seria que el grau d'exposició als subproductes de la cloració varia entre països. Aquest seria el cas per exemple, si a Bèlgica els nens anessin més sovint a la piscina o bé que les piscines de Bèlgica tinguessin uns nivells més elevats de tricloramina a l'aire, o l'agent causal que fos. Tant a l'estudi de Sabadell com al de Bristol, es va crear una variable d'exposició molt extrema per avaluar el risc d'asma entre aquells nens que havien anat molt a la piscina comparat amb els que hi havien anat molt poc, però tampoc així es van detectar diferències de risc. La concentració de tricloramina que hi ha a l'aire de les piscines és força desconeguda a nivell internacional, pel que es fa difícil avaluar si hi poden haver diferències rellevants entre països. No es disposa de dades sobre la concentració de tricloramina a les piscines de Bristol, però un estudi realitzat a altres zones del Regne Unit va detectar concentracions de tricloramina a l'aire de 0,23-0,57 mg/m<sup>3</sup> a piscines infantils i de 0,1-0,31 mg/m<sup>3</sup> a les piscines grans (Thickett et al. 2002). La concentració de tricloramina detectada a l'aire de les piscines de Sabadell (mediana de 0,26 mg/m<sup>3</sup>) podria ser lleugerament inferior a la detectada a França (0,24-0,67 mg/m<sup>3</sup>) o als Països Baixos (0,56 mg/m<sup>3</sup>) i similar a la detectada a

Bèlgica (0,32 mg/m<sup>3</sup>), sobretot si es té en compte que les mesures a Sabadell es van realitzar durant l'estiu, quan probablement la ventilació de les piscines és més gran que a l'hivern, pel que la concentració de tricloramina durant la resta de l'any podria ser superior a la detectada a l'estiu. Una altra explicació dels resultats inconsistents entre alguns països seria que aquests es deuen a les diferències metodològiques entre els estudis. En aquest sentit, cal destacar que els dos estudis realitzats en aquesta tesi, així com els estudis realitzats a Alemanya on no es troba una associació entre assistència a piscines i asma infantil (Kohlhammer et al. 2006; Schoefer et al. 2008), han utilitzat una mostra de base poblacional i més gran, que els estudis que han trobat resultats positius i que no tenen una mostra de base poblacional (Bernard et al. 2006; Bernard et al. 2007; Bernard et al. 2008; Bernard et al. 2009) (Taula 5).

Contràriament a la hipòtesis inicial, als dos estudis d'aquesta tesi, l'assistència a les piscines ha tendit a associar-se amb millors paràmetres respiratoris. A Sabadell, els nens que més havien anat a la piscina tendien a tenir menys asma actualment i menys símptomes de rinitis. A la cohort d'ALSPAC, els nens que havien anat més a la piscina tenien menys símptomes d'asma i una funció pulmonar més gran. Aquesta tendència cap a una associació negativa entre l'assistència a piscines i el risc d'asma infantil és concordant amb l'estudi de Shoefer et al. on es trobava que l'assistència a piscines durant els primers anys de vida era un factor protector de tenir asma als 6 anys (Shoefer et al. 2007). A la metanàlisi de Goodman i Hays, tot i que de forma no estadísticament significativa, l'assistència a piscines també s'associava a un risc d'asma menor (OR 0,63 (95% CI 0,38–1,06) (Goodman & Hays 2008).

Aquesta associació protectora de la piscina amb el risc d'asma es podria deure a dos fenòmens diferents. Per una banda, que l'activitat física realitzada durant l'assistència a les piscines fos capaç de disminuir el risc d'asma o de símptomes d'asma, o bé que l'associació detectada fos resultat d'una causalitat inversa, és a dir, que els nens que tenen menys asma o símptomes d'asma tendeixen a anar

més a la piscina. Pel que fa a la primera hipòtesis, alguns estudis recents apunten que l'activitat física durant la infància (Kohlhammer et al. 2006; Rasmussen et al. 2000) o durant l'edat adulta (Shaaban et al. 2007) podrien reduir la prevalença de rinitis al·lèrgica (Kohlhammer et al. 2006) i d'hiperreactivitat bronquial (Shaaban et al. 2007) i el desenvolupament d'asma (Rasmussen et al. 2000). Als dos estudis realitzats en aquesta tesi, la informació sobre l'activitat física dels infants, més enllà de l'assistència a piscines, és escassa. En els dos casos, s'ha utilitzat únicament el temps dedicat a mirar la televisió com a indicador de sedentarisme. Així, és difícil distingir si la potencial funció protectora de l'activitat física vindria per la natació en si, o si bé els infants que van a la piscina són també aquells que són més actius i tenen una activitat física global més elevada i, en aquest cas, seria tota l'activitat física que fan la responsable de la disminució dels símptomes d'asma. Tan a l'estudi de Sabadell com a la cohort d'ALSPAC s'ha intentat descartar que hi hagués una causalitat inversa que expliqués l'associació negativa detectada entre l'assistència a piscines i els símptomes d'asma. A Sabadell, mitjançant unes preguntes al qüestionari, es detectaven aquells nens que anaven a la piscina o que no ho feien per algun motiu de salut, i van ser molt pocs els que ho van declarar. A l'estudi del Regne Unit es va poder avaluar prospectivament si la salut respiratòria influenciava a la probabilitat d'anar a la piscina en un futur pròxim. Als 9 anys d'edat, la freqüència de natació era igual entre els nens que havien tingut símptomes d'asma als 7 anys i els que no n'havien tingut. Aquestes dades doncs, semblen indicar que en aquests dos estudis de la tesi no hi havia causalitat inversa i que per tant, és més probable que l'associació negativa detectada entre l'assistència a piscines i la prevalença d'asma es degui a un efecte real protector de l'activitat física sobre la prevalença de símptomes d'asma.

Als dos estudis s'ha intentat avaluar l'efecte de l'assistència a piscines sobre la prevalença de símptomes d'asma entre aquells nens que ja havien tingut asma alguna vegada. A Sabadell, els nens asmàtics que havien anat més temps a la piscina, tenien menys símptomes de rinitis comparat amb els nens asmàtics que no

havien anat tant a la piscina. A la cohort d'ALSPAC, es va poder determinar aquesta associació de forma prospectiva, classificant els infants en asmàtics i no asmàtics als 7 anys d'edat, i avaluant si l'assistència a la piscina modificava la prevalença de símptomes d'asma als 10 anys d'edat. En aquest cas, es va poder determinar prospectivament que els nens asmàtics que anaven a la piscina tenien menys símptomes d'asma al cap de 3 anys. Alguns estudis recents també han trobat que les persones amb asma podrien beneficiar-se de la natació, pel que fa a la millora de mesures clíniques de gravetat de la malaltia (Goodman & Hays 2008; Wang et al. 2009; Weisgerber et al. 2008). Tot i que un estudi apunta que l'activitat física a la infància podria prevenir el desenvolupament d'asma a l'edat adulta (Rasmussen et al. 2000), les dades de la cohort d'ALSPAC no semblen indicar que la natació pugui prevenir el desenvolupament de nous casos d'asma, sinó que el que fa és millorar els símptomes entre els nens que tenen la malaltia. Aquesta anàlisi de la tesi és la primera en mostrar en un estudi longitudinal de base poblacional que la natació redueix els símptomes d'asma en nens asmàtics. Si es confirmen aquests resultats, la natació no només seria un esport segur pels asmàtics (Weisgerber et al. 2008), si no que també ajudaria a controlar-ne els símptomes.

### ***Exposició a subproductes de la cloració a les piscines***

#### **Concentracions**

Per avaluar l'exposició a Subproductes de la Cloració (SPC) a les piscines, en aquest treball s'han mesurat dues classes de SPC. Per una banda, s'han mesurat els trihalometans (THM), que són els SPC més estudiats, els únics regulats a l'Estat Espanyol i uns dels que es troben a concentracions més elevades a l'aigua i a l'aire de les piscines. Per altra banda, s'han mesurat les cloramines, especialment la tricloramina, un SPC irritant que s'acumula a l'aire de les piscines cobertes i que és potencialment el responsable dels efectes irritants i respiratoris

a les piscines. Les concentracions del SPC detectades als estudis d'aquesta tesi, es mostren a la Taula 6 i la Taula 7.

La concentració de THM a l'aigua de les piscines analitzades és molt variable, també entre les piscines d'una mateixa àrea o municipi. A Sabadell per exemple, la concentració de THM a l'aigua de 8 piscines clorades cobertes del municipi va variar entre 29,0 i 247,3 µg/L. Alguns factors que expliquen la variabilitat de la concentració de THM a l'aigua de les piscines són el tipus de desinfecció de l'aigua, la quantitat de banyistes, la concentració de matèria orgànica a l'aigua, la temperatura o el pH (Chu & Nieuwenhuijsen 2002; Lourencetti et al. 2010a, en revisió). Degut a la variabilitat temporal d'alguns d'aquests factors, la concentració de THM a l'aigua d'una sola piscina també varia temporalment. A l'aigua de la piscina coberta de Barcelona, mesurada en 48 ocasions al llarg de 4 mesos, la concentració de THM va oscil·lar entre 35,2 i 75,2 µg/L. Les piscines exteriors mostrejades van tenir concentracions de THM a l'aigua superiors a les de les piscines interiors, que superaven sovint els 150 µg/L i en alguns casos superaven els 250 µg/L. Una aportació de matèria orgànica o una cloració superior a les piscines exteriors, podria ser la causa d'aquesta concentració més elevada.

La gran majoria de les piscines dels municipis estudiats desinfecten l'aigua amb derivats del clor, tal i com passa a nivell internacional (WHO 2006). Aquest és el cas de totes les piscines municipals incloses a l'estudi i de les piscines no municipals més grans i que reben un número més elevat de banyistes. Només a dues piscines petites de Sabadell, visitades per menys del 5% dels nens del municipi d'entre 9 i 12 anys, desinfecten l'aigua amb brom. A les piscines bromades analitzades, el bromoform ha estat el THM més concentrat i la concentració de THM total a l'aigua ha estat més elevada que a la de les piscines clorades, tal i com s'observa en un altre estudi a Barcelona (Lourencetti et al. 2010a, en revisió). Tal i com s'havia vist en estudis previs (Chu & Nieuwenhuijsen 2002; Villanueva et al. 2007b; Santa Marina et al. 2009; Lourencetti et al. 2010b), el cloroform sempre ha estat el THM més abundant a

Taula 6. Concentracions de subproductes de la cloració detectats a l'aigua de les piscines de diverses poblacions.

	Piscines clorades interiors			Piscines clorades exteriors			Piscines bromades interiors				
	Conc. Mitjana (DE)	Min - Max	N piscines	Conc. Mitjana (DE)	Min - Max	N piscines	Conc. Mitjana (DE)	Min - Max	N piscines		
<b>TTHM aigua ( µg/L)</b>											
Sabadell	92,1 (67,1)	29,0- 247,3	8 (x2 dies)	-	-	-	109,9 (29,4)	81,9-150,0	2	07/06, 02/07	Article 4
Barcelona	45,4 (7,3)	35,2-75,2	1 (48 mostres)	-	-	-	-	-	-	05/07, 6/07, 09/07, 10/07	Article 1
Astúries	36,8 (10,4)	23,7-50,1	5	-	-	-	-	-	-	07/09	Article 5
Granada	20,0 (2,3)	17,5-21,9	3	85,4 (38,0)	58,5-112,2	2	-	-	-	07/09	Article 5
Sabadell	53,9 (21,5)	32,5-83,8	4	165,9 (89,8)	74,8-272,2	5	253,4	201,7-305,1	2	07/09	Article 5
València	53,3 (17,3)	32,9-79,3	5	170,8 (83,5)	117,5-267,1	3	-	-	-	07/09	Article 5

TTHM: trihalometans totals (CHCl<sub>3</sub>, CHBrCl<sub>2</sub>, CHBr<sub>2</sub>Cl, CHBr<sub>3</sub>). DE: desviació estàndard.

Taula 7. Concentracions de subproductes de la cloració detectats a l'aire de les piscines de diverses poblacions.

	Piscines clorades interiors			Piscines clorades exteriors			Piscines bromades interiors				
	Conc. Mitjana (DE)	Min - Max	N piscines	Conc. Mitjana (DE)	Min - Max	N piscines	Conc. Mitjana (DE)	Min - Max	N piscines	Data mostreig	Estudi
<b>TTHM aire (µg/m³)</b>											
Barcelona	74,1 (23,7)	44,0-124,9	1 (48 mostres)	-	-	-	-	-	-	5/07, 6/07, 9/07, 10/07	Article 1
<b>Tricloramina aire (µg/m³)</b>											
Barcelona	290	17 - 430	1 (x 6 dies)	-	-	-	-	-	-	9/07, 10/07	Article 1
Sabadell	160 *	58 - 528	7 (x 3 dies)	2	0,4-3,7	2	26	2,3-84,4	2 (x 3 dies)	07/07	Article 2

TTHM: trihalometans totals (CHCl<sub>3</sub>, CHBrCl<sub>2</sub>, CHBr<sub>2</sub>Cl, CHBr<sub>3</sub>). DE: Desviació estàndar. \* Concentració mediana.



les piscines desinfectades amb clor, també en aquelles zones on el cloroform no és el THM més concentrat a l'aigua de l'aixeta.

La concentració de THM a l'aire es va mesurar repetidament durant quatre mesos (maig, juny, setembre i octubre de 2007) en una piscina clorada coberta de Barcelona. La concentració mitjana va ser de  $74 \mu\text{g}/\text{m}^3$  (rang: 44,0-124,9), un valor superior al detectat a l'aire de piscines de Guipúscoa ( $20 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ) (Santa Marina et al. 2009) i d'Alemanya (de 30 a  $65 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ), però inferior a la concentració detectada als estudis d'Aggazzotti et al. a Itàlia (de 169 a  $214 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ) (WHO 2006). Les característiques de la piscina, com l'alçada del sostre i el grau de renovació de l'aire, però també la concentració de THM a l'aigua (Lourencetti et al. 2010a, en revisió) i la quantitat de banyistes (que augmenta la turbulència de l'aigua), són factors que determinen la concentració de THM a l'aire de les piscines (Aggazzotti et al. 1995).

El grau d'incorporació de THM per banyar-se a una piscina, mesurat amb la concentració de THM a l'aire exhalat dels banyistes, es correlaciona més amb la concentració de THM a l'aire que amb la concentració de THM a l'aigua de la piscina. A més, la correlació de les concentracions de THM a l'aire exhalat i a l'aire o a l'aigua de la piscina és més gran en els THM bromats que no en el cloroform.

La concentració de tricloramina s'ha mesurat a l'aire de diverses piscines de Sabadell i a una piscina de Barcelona (Taula 6). La concentració a les 7 piscines clorades interiors de Sabadell va ser d'entre 58 i  $528 \mu\text{g}/\text{m}^3$ , amb una concentració mediana de  $160 \mu\text{g}/\text{m}^3$ . A la piscina de Barcelona, la concentració mitjana de tricloramina va ser de  $290 \mu\text{g}/\text{m}^3$  (rang: 17 – 430). Tal i com passa amb la concentració de THM a l'aire, la quantitat de banyistes a la piscina, la concentració de clor lliure a l'aigua o l'alçada del sostre de la piscina també són factors que s'han descrit que afecten la concentració de tricloramina a l'aire de les piscines cobertes (Jacobs et al. 2007). Les concentracions de tricloramina detectades a aquesta tesi, són comparables a les detectades en altres països

(Massin et al. 1998; Jacobs et al. 2007; Bernard et al. 2007) i es troben en la majoria de casos sota els límit de 500 µg/m<sup>3</sup> recomanat per la OMS.

El mostreig d'aigua per analitzar la concentració de THM és relativament ràpid i senzill de realitzar. El mostreig d'aire per analitzar-hi els THM o la tricloramina, en canvi, és més complicat. Per mostrejar aire, es necessita unes bombes d'aire, que són cares, i que s'han d'instal·lar a la vora de la piscina durant unes 2 hores. A més, l'anàlisi química de la tricloramina és molt complexa i hi ha pocs laboratoris que la realitzin. Per tot això, la concentració de tricloramina a l'aire de les piscines és molt desconeguda i ho continuarà essent si no s'aconsegueix un mètode analític més senzill i accessible.

### **Assistència a piscines**

L'estudi epidemiològic a Sabadell aporta les primeres dades sobre el grau d'assistència a les piscines en una població infantil de Catalunya. La immensa majoria dels nens d'entre 9 i 12 anys de Sabadell han anat a la piscina alguna vegada a la seva vida i més de la meitat ho ha fet abans dels 5 anys. De forma previsible, l'assistència a les piscines durant el curs escolar es fa majoritàriament en piscines cobertes, mentre que l'assistència a les piscines descobertes predomina a l'estiu. La proporció de nens de Sabadell que van a la piscina al menys 1 vegada al mes durant l'estiu és molt superior a la proporció de nens que ho fa durant el curs escolar (86% i 19%, respectivament). A la població de Bristol (Regne Unit), la prevalença de nens que van a la piscina durant el curs escolar és molt superior a la detectada a Sabadell. El 50% dels infants de la cohort d'ALSPAC anaven almenys 1 vegada a la setmana a la piscina durant el curs quan tenien 5 anys.

A les dues poblacions estudiades, l'assistència a les piscines és més freqüent entre infants amb pares de nivell socioeconòmic més afavorit. La baixa assistència a la piscina s'associa a alguns estils de vida poc saludables com l'exposició al fum ambiental del tabac o el sedentarisme i també a altres característiques sociodemogràfiques, com tenir una mare molt jove o tenir

diversos germans. El fet que els pares siguin asmàtics no s'ha associat al grau d'assistència a la piscina dels fills en cap de les dues poblacions estudiades.

Pel que fa a la importància de l'assistència a les piscines com a via d'exposició a subproductes de la cloració, s'ha estimat que de forma similar als adults, l'assistència a piscines pot ser la via principal d'exposició a THM en nens, entre aquells que van a la piscina. Entre els infants que no van a la piscina, la dutxa és la via principal d'incorporació de THM.

### ***Limitacions***

En els estudis epidemiològics sobre assistència a piscines i risc d'asma infantil (articles 2 i 3) es va utilitzar una mesura de l'exposició limitada. La informació sobre l'assistència a les piscines provenia de qüestionaris amb preguntes que no estan validades, ja que no hi ha cap qüestionari validat sobre aquest tema. No obstant, un estudi de repetibilitat va mostrar que les preguntes utilitzades a l'estudi de Sabadell eren altament reproduïbles. A l'estudi de Sabadell es van poder fer mesures de tricloramina a l'aire de les piscines del municipi, però aquesta informació no es va poder individualitzar per assignar una exposició diferent a cada nen ja que no es coneixia a quina piscina o piscines havia estat anant cada infant al llarg de la vida. A l'estudi d'ALSPAC no es tenia cap informació sobre nivells de tricloramina a l'aire de les piscines i tampoc s'ha pogut distingir entre tipus de piscina, com per exemple el desinfectant utilitzat o si eren cobertes o descobertes. L'avaluació d'alguna altra activitat física realitzada pels infants, més enllà de l'assistència a piscina, es va fer de forma indirecta als dos estudis, mitjançant el temps que dediquen a mirar la televisió, que es considera un indicador de sedentarisme en infants. D'aquesta manera, és probable que hi hagi certa confusió residual que interfereixi lleugerament en els resultats dels estudis.

Pel que fa a l'estudi de biomarcadors, destaquen les següents limitacions. En primer lloc, molts dels biomarcadors utilitzats eren nous i es coneixia poc la seva

aplicabilitat en estudis epidemiològics per avaluar efectes a curt termini. Aquest és el cas especialment de l'ús de la proteïna CC16 en sèrum com a marcador d'hiperpermeabilitat de l'epiteli pulmonar de forma aguda. La falta de valors de referència d'aquest biomarcadors en població sana dificulten la seva interpretació fisiològica i clínica. Una altra limitació és que les dificultats tècniques en l'anàlisi de tricloramina a l'aire no van permetre tenir una mesura individual de cada participant, de manera que es va haver d'utilitzar la concentració de THM a l'aire exhalat com a indicador individual d'exposició a SPC, tot i que no es coneix el grau de correlació entre aquest indicador i la tricloramina a l'aire, que és potencialment el compost responsable dels efectes irritants a les piscines. Finalment, la mida mostral va ser limitada per fer alguns tipus d'anàlisis estratificats, com ara la modificació de l'efecte segons l'estat atòpic o del genotip codificant de la proteïna CC16.

L'estimació dels nivells de SPC que es troben a les piscines de Catalunya i de l'Estat Espanyol s'ha pogut fer només d'una manera molt introductòria. En general, es van mostrejar poques piscines i, en la majoria de casos, no es van fer mostrejos periòdics que poguessin tenir en compte la variabilitat temporal. Tampoc s'ha pogut estudiar els determinants de les concentracions de THM i de cloramina a l'aigua i a l'aire de les piscines, ni el grau de correlació entre aquests diferents SPC.

### ***Fortaleses***

A l'estudi sobre efectes aguts, es va poder avaluar els efectes en situació de condicions reals. A més, es va poder distingir entre l'efecte de l'activitat física i el de l'exposició als subproductes de la cloració.

Per avaluar la hipòtesis que l'assistència a piscines es podia associar a un augment d'asma en la població infantil, s'han realitzat dos estudis epidemiològics en poblacions de característiques diferents. En els dos estudis, la mostra era de base poblacional i la mida mostral molt considerable. A més, s'ha abordat el tema

de la causalitat inversa. L'estudi a Sabadell ha aportat per primera vegada a l'Estat Espanyol dades sobre la prevalença d'assistència a piscines entre la població infantil i sobre les concentracions de tricloramina a l'aire de piscines cobertes. L'estudi a la cohort d'ALSPAC és el primer estudi longitudinal amb dades recollides prospectivament sobre l'assistència a piscines i el risc d'asma infantil. Per tot això, es pot considerar que s'ha fet un pas endavant en aquest tema d'investigació i que s'ha aportat nova evidència científica d'alta qualitat.

Per últim, s'ha aportat dades sobre els nivells de subproductes de la cloració, especialment de THM, a l'aigua de piscines interiors i exteriors del territori.

### ***Futures línies de recerca***

Les línies de recerca que es deriven d'aquesta tesi són les següents.

1. Explorar mètodes directes o indirectes per analitzar o estimar la concentració de tricloramina a l'aire de les piscines, per exemple, avaluant la correlació de la tricloramina a l'aire amb altres SPC més fàcilment mesurables.
2. Augmentar el coneixement de quina és la concentració de tricloramina a l'aire de les piscines públiques a diferents zones i països, per determinar si hi ha diferències importants en els nivells d'exposició. A part de detectar piscines amb risc potencial de causar efectes irritants als banyistes, els resultats d'aquest estudi també ajudarien a avaluar si les inconsistències en l'associació entre assistència a piscines i risc d'asma infantil detectades entre alguns països es poden deure a diferències reals en els nivells de tricloramina a l'aire de les piscines.
3. Realitzar nous estudis epidemiològics sobre el risc d'asma infantil associat a l'assistència a piscines millorant la mesura de l'exposició a SPC irritants, per tal d'avaluar el risc d'asma per assistència a piscines amb diferents concentracions d'aquests compostos. Aquests estudis ajudarien a determinar la relació dosi-resposta i establir un llindar de tricloramina en l'aire segur per no augmentar el risc d'asma dels banyistes, especialment dels infants.

4. Avaluar el paper de l'activitat física sobre el risc de desenvolupar asma i sobre la capacitat de controlar els símptomes d'asma entre els infants asmàtics. Seria interessant avançar en l'avaluació de si la natació ajuda a controlar els símptomes d'asma, en estudis tipus assaigs clínics.
5. Explorar més àmpliament quines són les concentracions de THM i altres subproductes de la desinfecció a l'aigua de les piscines de l'Estat Espanyol. Es podria començar fent un anàlisi de THM de les piscines municipals de les poblacions grans, que reben més banyistes.
6. Els pròxims estudis epidemiològics que avaluin si l'exposició a THM durant la infància augmenta el risc de càncer haurien de tenir en compte les diferents vies d'exposició a THM, especialment l'assistència a les piscines, ja que els nens que van a la piscina són amb diferència els més exposats als THM.

### ***Implicacions per a la salut pública***

Tal com es descrivia a la introducció d'aquesta tesi, l'estudi d'una possible associació entre l'assistència a les piscines i l'asma infantil té unes implicacions clares sobre la salut pública. L'asma és una de les malalties cròniques més prevalents a la infància i l'assistència a les piscines i la natació són activitats comuns i que a més, comporten grans beneficis per la salut.

Si es confirmen els resultats d'aquesta tesi, serà important transmetre el missatge que la natació, i l'assistència a les piscines en general, no augmenten el risc d'asma als infants. Si es confirma també que els infants amb asma podrien beneficiar-se de la natació no només com una forma segura d'activitat física sinó també per ajudar a controlar la malaltia, les implicacions que se'n derivarien també serien rellevants. La natació és un dels esports preferits per adults i petits, tant per homes com per dones i és practicat per persones de diversos nivells socioeconòmics (Observatori Català de l'Esport 2006). En un moment en que el sedentarisme i la obesitat són un dels principals problemes de salut pública dels països occidentals, és rellevant confirmar que l'assistència a les piscines no

suposa un risc per desenvolupar asma als infants. Així, la natació es consideraria un esport segur, que a més té certs avantatges davant d'altres esports, com el fet de ser practicable per persones de casi totes les edats i condicions físiques i que comporta menys risc de lesions que altres esports populars (Pons-Villanueva et al. 2010).

Tot i que sembla que els nivells de tricloramina a l'aire de les piscines de l'àrea d'estudi podrien ser segurs per la salut respiratòria dels banyistes, falta determinar si aquesta situació es confirma a la majoria de piscines dels diferents territoris i si els nivells actuals són també segurs per les persones més exposades a l'ambient de les piscines, com els nedadors professionals o els socorristes.

Cal mencionar també, que a part de la tricloramina a l'aire i el risc d'efectes irritants i respiratoris, la presència d'altres subproductes de la cloració a les piscines, com els THM, també preocupen des del punt de vista de la salut pública per un cert augment del risc de càncer de bufeta urinària. Els nivells de THM que s'han detectat a les piscines són molt variables i, en alguns casos, els valors són elevats i superen els permisos a l'aigua d'aixeta. S'ha vist que l'assistència a les piscines és una via molt important d'incorporació de THM a nivell individual, tot i que a nivell poblacional queda reduït a aquelles persones que hi van. Segons les dades d'aquesta tesi, la proporció d'infants que assisteixen regularment a les piscines varia segons l'edat i l'estació de l'any i és més elevada entre la població de Bristol (Regne Unit) que la de Sabadell. De forma semblant al control dels nivells de THM a l'aigua de l'aixeta, sembla que el control dels nivells de THM a les piscines ajudaria a disminuir l'exposició a aquests compostos i augmentar així els beneficis que la natació aporta a la salut. Mentre no s'estableixin uns nivells de seguretat per la concentració de SPC a les piscines, es recomana que s'adoptin les mesures necessàries per disminuir al màxim la producció d'aquests compostos. D'entre aquestes mesures, destaquen la obligatorietat dels banyistes de dutxar-se abans d'entrar a la piscina i de no orinar-hi, així com mantenir un grau de ventilació adequat a les piscines cobertes.





## **CONCLUSIONS**

1. Després de nedar 40 minuts en una piscina clorada es detecta un lleuger augment de la permeabilitat pulmonar, estimada amb la concentració de CC16 en sèrum, en adults sans, que es correlaciona independentment amb l'exercici i amb l'exposició a SPC. No es detecten altres efectes aguts que impliquin processos inflamatoris.
2. Els resultats de la tesi no donen suport a la hipòtesi que l'assistència a piscines augmenta el risc d'asma infantil. Tant a l'estudi transversal de Sabadell, com a l'estudi longitudinal a la cohort d'ALSPAC, l'assistència a piscines no s'associa amb un augment del risc d'asma, tampoc entre els nens amb atòpia.
3. L'assistència a piscines s'ha associat a una prevalença menor de símptomes d'asma, especialment en els nens amb problemes respiratoris previs, i amb una millor funció pulmonar.
4. L'assistència a les piscines s'associa a més prevalença d'èczema a Sabadell, però no a Bristol.
5. L'assistència a piscines durant el curs escolar és més comú entre els infants de Bristol que els de Sabadell. En els dos casos, l'assistència a piscines s'associa a nivells socioeconòmics més afavorits.
6. A la població infantil de Sabadell, la majoria de nens beuen aigua embotellada i es banyen poc sovint, pel que la dutxa i l'assistència a piscines són les vies principals d'exposició a THM. Aquestes activitats relacionades amb l'aigua difereixen lleugerament segons el nivell socioeconòmic.
7. Els nivells de THM que s'han detectat a les piscines analitzades són molt variables. En algunes piscines exteriors, la concentració de THM a l'aigua és elevada i supera la permesa a l'aigua d'aixeta.

## **BIBLIOGRAFIA**

1979. Wheezing at the swimming pool. *Lancet*, 2, 1342-1343.

1989. American Academy of Pediatrics: Section on Allergy and Immunology; Section on Diseases of the Chest. Exercise and the asthmatic child. *Pediatrics*, 84, 392-393.

Agabiti,N., Ancona,C., Forastiere,F., Di Napoli,A., Lo,P.E., Corbo,G.M., et al. 2001. Short term respiratory effects of acute exposure to chlorine due to a swimming pool accident. *Occup. Environ. Med.*, 58, 399-404.

Agència de Salut Pública de Barcelona. La Salut a Barcelona 2008. Disponible a: [http://www.aspb.es/quefem/docs/Salut\\_bcn\\_2008.pdf](http://www.aspb.es/quefem/docs/Salut_bcn_2008.pdf). 2009.

Aggazzotti,G., Fantuzzi,G., Righi,E. & Predieri,G. 1995. Environmental and biological monitoring of chloroform in indoor swimming pools. *J. Chromatogr. A*, 710, 181-190.

Aggazzotti,G., Fantuzzi,G., Righi,E. & Predieri,G. 1998. Blood and breath analyses as biological indicators of exposure to trihalomethanes in indoor swimming pools. *Sci. Total Environ.*, 217, 155-163.

Aggazzotti,G., Fantuzzi,G., Righi,E., Tartoni,P., Cassinadri,T. & Predieri,G. 1993. Chloroform in alveolar air of individuals attending indoor swimming pools. *Arch. Environ. Health*, 48, 250-254.

Aggazzotti,G., Fantuzzi,G., Tartoni,P.L. & Predieri,G. 1990. Plasma chloroform concentrations in swimmers using indoor swimming pools. *Arch. Environ. Health*, 45, 175-179.

Aiking,H., van Acker,M.B., Scholten,R.J., Feenstra,J.F. & Valkenburg,H.A. 1994. Swimming pool chlorination: a health hazard? *Toxicol. Lett.*, 72, 375-380.

Babu,R.V., Cardenas,V. & Sharma,G. 2008. Acute respiratory distress syndrome from chlorine inhalation during a swimming pool accident: a case report and review of the literature. *J. Intensive Care Med.*, 23, 275-280.

Beech,J.A., Diaz,R., Ordaz,C. & Palomeque,B. 1980. Nitrates, chlorates and trihalomethanes in swimming pool water. *Am. J. Public Health*, 70, 79-82.

Bernard,A. 2007. Chlorination products: emerging links with allergic diseases. *Curr. Med. Chem.*, 14, 1771-1782.

Bernard,A., Carbonnelle,S., Michel,O., Higuete,S., de Burbure,C., Buchet,J.P., et al. 2003. Lung hyperpermeability and asthma prevalence in schoolchildren: unexpected associations with the attendance at indoor chlorinated swimming pools. *Occup. Environ. Med.*, 60, 385-394.

Bernard,A., Carbonnelle,S., de Burbure,C., Michel,O. & Nickmilder,M. 2006. Chlorinated pool attendance, atopy, and the risk of asthma during childhood. *Environ. Health Perspect.*, 114, 1567-1573.

- Bernard,A., Carbonnelle,S., Dumont,X. & Nickmilder,M. 2007. Infant swimming practice, pulmonary epithelium integrity, and the risk of allergic and respiratory diseases later in childhood. *Pediatrics*, 119, 1095-1103.
- Bernard,A., Nickmilder,M. & Voisin,C. 2008. Outdoor swimming pools and the risks of asthma and allergies during adolescence. *Eur. Respir. J.*, 32, 979-988.
- Bernard,A., Nickmilder,M., Voisin,C. & Sardella,A. 2009. Impact of chlorinated swimming pool attendance on the respiratory health of adolescents. *Pediatrics*, 124, 1110-1118.
- Bonetto,G., Corradi,M., Carraro,S., Zanconato,S., Alinovi,R., Folesani, et al. 2006. Longitudinal monitoring of lung injury in children after acute chlorine exposure in a swimming pool. *Am. J. Respir. Crit Care Med.*, 174, 545-549.
- Bougault,V., Turmel,J., Levesque,B. & Boulet,L.P. 2009. The respiratory health of swimmers. *Sports Med.*, 39, 295-312.
- Brenner,R.A. 2003. Prevention of drowning in infants, children, and adolescents. *Pediatrics*, 112, 440-445.
- Broeckert,F., Clippe,A., Knoops,B., Hermans,C. & Bernard,A. 2000. Clara cell secretory protein (CC16): features as a peripheral lung biomarker. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 923, 68-77.
- Cantor,K.P., Hoover,R., Mason,T.J. & McCabe,L.J. 1978. Associations of cancer mortality with halomethanes in drinking water. *J. Natl. Cancer Inst.*, 61, 979-985.
- Cantor,K., Villanueva CM, Garcia-Closas M, Silverman D, Real FX, Dosemeci M, et al. Bladder cancer, disinfection byproducts, and markers of genetic susceptibility in a case-control study from Spain. *Epidemiology* 17, S150. 2006.
- Carbonnelle,S., Francaux,M., Doyle,I., Dumont,X., de Burbure,C., Morel,G., Michel,O. & Bernard,A. 2002. Changes in serum pneumoproteins caused by short-term exposures to nitrogen trichloride in indoor chlorinated swimming pools. *Biomarkers*, 7, 464-478.
- Carbonnelle,S., Bernard,A., Doyle,I.R., Grutters,J. & Francaux,M. 2008. Fractional exhaled NO and serum pneumoproteins after swimming in a chlorinated pool. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 40, 1472-1476.
- Caro,J. & Gallego,M. 2007. Assessment of exposure of workers and swimmers to trihalomethanes in an indoor swimming pool. *Environ. Sci. Technol.*, 41, 4793-4798.
- Carraro,S., Pasquale,M.F., Da Fre,M., Rusconi,F., Bonetto,G., Zanconato,S. & Baraldi,E. 2006. Swimming pool attendance and exhaled nitric oxide in children. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 118, 958-960.
- Carvajal-Uruena,I., Garcia-Marcos,L., Busquets-Monge,R., Morales Suarez-Varela,M., Garcia,d.A., Battles-Garrido,J., et al. 2005. [Geographic variation in the prevalence of

asthma symptoms in Spanish children and adolescents. International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Phase 3, Spain]. Arch. Bronconeumol., 41, 659-666.

Choi,J., Hoffman,L.A., Rodway,G.W. & Sethi,J.M. 2006. Markers of lung disease in exhaled breath: nitric oxide. Biol. Res. Nurs., 7, 241-255.

Chu,H. & Nieuwenhuijsen,M.J. 2002. Distribution and determinants of trihalomethane concentrations in indoor swimming pools. Occup. Environ. Med., 59, 243-247.

Cotter,A. & Ryan,C.A. 2009. The pool chlorine hypothesis and asthma among boys. Ir. Med. J., 102, 79-82.

Cox,K.L., Burke,V., Beilin,L.J. & Puddey,I.B. 2010. A comparison of the effects of swimming and walking on body weight, fat distribution, lipids, glucose, and insulin in older women-the Sedentary Women Exercise Adherence Trial 2. Metabolism.

Departament de Salut.Generalitat de Catalunya. Avaluació dels objectius per a l'any 2000 del Pla de Salut de Catalunya. Avaluació dels objectius sobre els accidents i violències. Disponible a: <http://www.gencat.cat/salut/depsalut/pdf/accidentsviolenciesavapla.pdf>. 2003.

Dundar,U., Solak,O., Yigit,I., Evcik,D. & Kavuncu,V. 2009. Clinical effectiveness of aquatic exercise to treat chronic low back pain: a randomized controlled trial. Spine (Phila Pa 1976. ), 34, 1436-1440.

Erdinger,L., Kuhn,K.P., Kirsch,F., Feldhues,R., Frobel,T., Nohynek,B. & Gabrio,T. 2004. Pathways of trihalomethane uptake in swimming pools. Int. J. Hyg. Environ. Health, 207, 571-575.

Evans,R. Chlorine: State of the Art. Lung 183, 151-167. 2004.

Gagnaire,F., Azim,S., Bonnet,P., Hecht,G. & Hery,M. 1994. Comparison of the sensory irritation response in mice to chlorine and nitrogen trichloride. J. Appl. Toxicol., 14, 405-409.

Generalitat de Catalunya . Decret 95/2000, de 22 de febrer, pel qual s'estableixen les normes sanitàries aplicables a les piscines d'ús públic. Disponible a: <http://www.gencat.cat/salut/depsalut/pdf/decret95.pdf>. 2000.

Goodman,M. & Hays,S. 2008. Asthma and swimming: a meta-analysis. J. Asthma, 45, 639-647.

Grasemann,H., Tschiedel,E., Groch,M., Klepper,J. & Ratjen,F. 2007. Exhaled nitric oxide in children after accidental exposure to chlorine gas. Inhal. Toxicol., 19, 895-898.

Grellier,J., Bennett,J., Patelarou,E., Smith,R.B., Toledano,M.B., Rushton,L., et al. 2010. Exposure to Disinfection By-products, Fetal Growth, and Prematurity: A Systematic Review and Meta-analysis. Epidemiology.

Hery M, Hech G, Gerber JM, Gender JC, Hubert G & Rebuffaud J . Exposure to chloramines in the atmosphere of indoor swimming pools. *Ann.Occup.Hyg.* 39, 427-439. 1995.

Holzwarth G, Balmer RG & Soni L . The fate of chlorine and chloramines in cooling towers. *Water Research* 18, 1421-1427. 1984.

Institut Barcelona Esports-Ajuntament de Barcelona . Estudi dels hàbits esportius de la població en edat escolar a la ciutat de Barcelona. Disponible a: <http://www.observatoridelesport.net/pdf/Habitsbcnibe.pdf>. 2007.

Institut d'Estudis de la Seguretat. Estudi de l'aire de les piscines d'ús públic. Bases teòriques i eines d'actuació. 2009.

Jacobs,J.H., Spaan,S., van Rooy,G.B., Meliefste,C., Zaat,V.A., Rooyackers,J.M. & Heederik,D. 2007. Exposure to trichloramine and respiratory symptoms in indoor swimming pool workers. *Eur. Respir. J.*, 29, 690-698.

Karagas,M.R., Villanueva,C.M., Nieuwenhuijsen,M., Weisel,C.P., Cantor,K.P. & Kogevinas,M. 2008. Disinfection byproducts in drinking water and skin cancer? A hypothesis. *Cancer Causes Control*, 19, 547-548.

Kochen CL & McCabe J . The baby swim book. Champaign, IL: Leisure Press. 1986.

Kohlhammer,Y., Doring,A., Schafer,T., Wichmann,H.E. & Heinrich,J. 2006. Swimming pool attendance and hay fever rates later in life. *Allergy*, 61, 1305-1309.

Krasner SW, McGuire MJ, Jacaugelo JG, Patania NL, Reagen KM & Aieta EM . The occurrence of disinfection by-products in US drinking water. *J Am Water Works Assoc* 81, 41-53. 1989.

Lakind,J.S., Holgate,S.T., Ownby,D.R., Mansur,A.H., Helms,P.J., Pyatt,D. & Hays,S.M. 2007. A critical review of the use of Clara cell secretory protein (CC16) as a biomarker of acute or chronic pulmonary effects. *Biomarkers*, 12, 445-467.

Levesque,B., Ayotte,P., LeBlanc,A., Dewailly,E., Prud'Homme,D., Lavoie,R., et al. 1994. Evaluation of dermal and respiratory chloroform exposure in humans. *Environ. Health Perspect.*, 102, 1082-1087.

Levesque,B., Duchesne,J.F., Gingras,S., Lavoie,R., Prud'Homme,D., Bernard,E., et al. 2006. The determinants of prevalence of health complaints among young competitive swimmers. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 80, 32-39.

Lourencetti, C., Grimalt, J.O., Marco, E., Fernandez, P., Font-Ribera, L., Villanueva, C.M., Kogevinas, M. Trihalomethanes in chlorine and bromine disinfected swimming pools: air-water distributions and human exposure. 2010a. En revisió a *Environmental Research*.

Lourencetti,C., Ballester,C., Fernandez,P., Marco,E., Prado,C., Periago,J.F. & Grimalt,J.O. 2010b. New method for determination of trihalomethanes in exhaled breath: applications to swimming pool and bath environments. *Anal. Chim. Acta*, 662, 23-30.

Lucas,S.R. & Platts-Mills,T.A. 2005. Physical activity and exercise in asthma: relevance to etiology and treatment. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 115, 928-934.

Martinez,T.T. & Long,C. 1995. Explosion risk from swimming pool chlorinators and review of chlorine toxicity. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.*, 33, 349-354.

Massin,N., Bohadana,A.B., Wild,P., Hery,M., Toamain,J.P. & Hubert,G. 1998. Respiratory symptoms and bronchial responsiveness in lifeguards exposed to nitrogen trichloride in indoor swimming pools. *Occup. Environ. Med.*, 55, 258-263.

Moreira,A., Delgado,L., Haahtela,T., Silva,J.A., Araujo,L., Beca,F., et al. 2008. Training does not affect exhaled nitric oxide in competitive swimmers. *Allergy*, 63, 623-624.

Nieuwenhuijsen,M.J., Grellier,J., Smith,R., Iszatt,N., Bennett,J., Best,N. & Toledano,M. 2009a. The epidemiology and possible mechanisms of disinfection by-products in drinking water. *Philos. Transact. A Math. Phys. Eng. Sci.*, 367, 4043-4076.

Nieuwenhuijsen,M.J., Martinez,D., Grellier,J., Bennett,J., Best,N., Iszatt,N., et al. 2009b. Chlorination disinfection by-products in drinking water and congenital anomalies: review and meta-analyses. *Environ. Health Perspect.*, 117, 1486-1493.

Nieuwenhuijsen,M.J., Smith,R., Golfopoulos,S., Best,N., Bennett,J., Aggazzotti,G., Righi,E., Fantuzzi,G., et al. 2009c. Health impacts of long-term exposure to disinfection by-products in drinking water in Europe: HIWATE. *J Water Health*, 7, 185-207.

Nieuwenhuijsen,M.J., Toledano,M.B. & Elliott,P. 2000. Uptake of chlorination disinfection by-products; a review and a discussion of its implications for exposure assessment in epidemiological studies. *J. Expo. Anal. Environ. Epidemiol.*, 10, 586-599.

Observatori Català de l'Esport . Participació esportiva de la població entre 16 i 75 anys de Catalunya, 2005. Disponible a: [http://www.observatoridelesport.net/cat/subdimensio.asp?ID\\_SUBDIMENSIO=1&ID\\_DIMENSIO=1](http://www.observatoridelesport.net/cat/subdimensio.asp?ID_SUBDIMENSIO=1&ID_DIMENSIO=1). 2006.

Parimon,T., Kanne,J.P. & Pierson,D.J. 2004. Acute inhalation injury with evidence of diffuse bronchiolitis following chlorine gas exposure at a swimming pool. *Respir. Care*, 49, 291-294.

Pedersen,L., Lund,T.K., Molgaard,E., Kharitonov,S.A., Barnes,P.J. & Backer,V. 2009. The acute effect of swimming on airway inflammation in adolescent elite swimmers. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 123, 502-504.



Pons-Villanueva,J., Segui-Gomez,M. & Martinez-Gonzalez,M.A. 2010. Risk of injury according to participation in specific physical activities: a 6-year follow-up of 14 356 participants of the SUN cohort. *Int. J. Epidemiol.*, 39, 580-587.

Premazzi G, et al. *Exposure of the european population to trihalomethanes (THMs) in drinking water*. Luxemburg:European Commission, 1997 . 2010.

Real decret 140/2003 . Real decreto 140/2003, por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano. 2003. Disponible a: [http://www.msc.es/ciudadanos/saludAmbLaboral/docs/rd\\_140\\_2003.pdf](http://www.msc.es/ciudadanos/saludAmbLaboral/docs/rd_140_2003.pdf). 2003.

Richardson,S.D., Plewa,M.J., Wagner,E.D., Schoeny,R. & Demarini,D.M. 2007. Occurrence, genotoxicity, and carcinogenicity of regulated and emerging disinfection by-products in drinking water: a review and roadmap for research. *Mutat. Res.*, 636, 178-242.

Rook,J.J. Formation of haloforms during chlorination of natural waters. *Water Treatment Exam* 23, 234-243. 1974.

Santa Marina,L., Ibarluzea,J., Basterrechea,M., Goni,F., Ulibarrena,E., Artieda,J. & Orruno,I. 2009. [Indoor air and bathing water pollution in indoor swimming pools in Guipuzcoa (Spain)]. *Gac. Sanit.*, 23, 115-120.

Savitz,D.A., Songer,P.C., Hartmann,K.E., Herring,A.H., Weinberg,H.S., Makarushka,C., et al. *Drinking Water Disinfection By-Products and Pregnancy Outcome*. AWWA Research Foundation , 1-247. 2005.

Schoefer,Y., Zutavern,A., Brockow,I., Schafer,T., Kramer,U., Schaaf,B. 2008. Health risks of early swimming pool attendance. *Int. J. Hyg. Environ. Health*, 211, 367-373.

Selgrade,M.K., Lemanske,R.F., Jr., Gilmour,M.I., Neas,L.M., Ward,M.D., Henneberger,P.K., et al. 2006. Induction of asthma and the environment: what we know and need to know. *Environ. Health Perspect.*, 114, 615-619.

Tardiff,R.G., Carson,M.L. & Ginevan,M.E. 2006. Updated weight of evidence for an association between adverse reproductive and developmental effects and exposure to disinfection by-products. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, 45, 185-205.

Thickett,K.M., McCoach,J.S., Gerber,J.M., Sadhra,S. & Burge,P.S. 2002. Occupational asthma caused by chloramines in indoor swimming-pool air. *Eur. Respir. J.*, 19, 827-832.

Varraso,R., Massin,N., Hery,M., Fradier-Dusch,M., Michaely,J.P., Fournier,M., et al. 2002. Not only training but also exposure to chlorinated compounds generates a response to oxidative stimuli in swimmers. *Toxicol. Ind. Health*, 18, 269-278.

Vaz,d.A., Graca,P., Afonso,C., D'Amicis,A., Lappalainen,R. & Damkjaer,S. 1999. Physical activity levels and body weight in a nationally representative sample in the European Union. *Public Health Nutr.*, 2, 105-113.

- Villanueva,C., Kogevinas,M. & Grimalt,J. 2001. [Chlorination of drinking water in Spain and bladder cancer]. *Gac. Sanit.*, 15, 48-53.
- Villanueva,C.M., Cantor,K.P., Cordier,S., Jaakkola,J.J., King,W.D., Lynch,C.F., Porru,S. & Kogevinas,M. 2004. Disinfection byproducts and bladder cancer: a pooled analysis. *Epidemiology*, 15, 357-367.
- Villanueva,C.M., Cantor,K.P., Grimalt,J.O., Malats,N., Silverman,D., Tardon,A., et al. 2007a. Bladder cancer and exposure to water disinfection by-products through ingestion, bathing, showering, and swimming in pools. *Am. J. Epidemiol.*, 165, 148-156.
- Villanueva,C.M., Gagniere,B., Monfort,C., Nieuwenhuijsen,M.J. & Cordier,S. 2007b. Sources of variability in levels and exposure to trihalomethanes. *Environ. Res.*, 103, 211-220.
- Villanueva,C.M., Grimalt,J.O., Ballester,F., Ibarluzea,J., Sala,M., Tardon,A., et al. 2006. [Measurement of drinking water contaminants and water use activities during pregnancy in a cohort study in Spain]. *Gac. Sanit.*, 20 Suppl 3, 1-9.
- Weaver,W.A., Li,J., Wen,Y., Johnston,J., Blatchley,M.R. & Blatchley,E.R., III 2009. Volatile disinfection by-product analysis from chlorinated indoor swimming pools. *Water Res.*, 43, 3308-3318.
- Weisel,C.P., Richardson,S.D., Nemery,B., Aggazzotti,G., Baraldi,E., Blatchley,E.R. III, et al. 2009. Childhood asthma and environmental exposures at swimming pools: state of the science and research recommendations. *Environ. Health Perspect.*, 117, 500-507.
- Weisgerber,M., Webber,K., Meurer,J., Danduran,M., Berger,S. & Flores,G. 2008. Moderate and vigorous exercise programs in children with asthma: safety, parental satisfaction, and asthma outcomes. *Pediatr. Pulmonol.*, 43, 1175-1182.
- Whitaker,H.J., Nieuwenhuijsen,M.J. & Best,N.G. 2003. The relationship between water concentrations and individual uptake of chloroform: a simulation study. *Environ. Health Perspect.*, 111, 688-694.
- WHO . Guidelines for safe recreational water environments. Volume 2. Swimming pools and similar environments. 2006.
- Xu,X., Mariano,T.M., Laskin,J.D. & Weisel,C.P. 2002. Percutaneous absorption of trihalomethanes, haloacetic acids, and halo ketones. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 184, 19-26.
- Zwiener,C., Richardson,S.D., Demarini,D.M., Grummt,T., Glauner,T. & Frimmel,F.H. 2007. Drowning in disinfection byproducts? Assessing swimming pool water. *Environ. Sci. Technol.*, 41, 363-372.



