

RIZIKO ALERGICKÝCH ONEMOCNĚNÍ SPOJENÉ S NÁVŠTĚVOU BAZÉNŮ S CHLOROVANOU VODOU

RISKS OF ALLERGIC DISEASES ASSOCIATED WITH CHLORINATED POOL ATTENDANCE

CATHERINE VOISIN, ANTONIA SARDELLA, ALFRED BERNARD

Oddělení hygieny, Toxikologická jednotka, Katolická univerzita v Lovani, Brusel, Belgie

SOUHRN

Expozice člověka produktům chlorace během 20. století značně stoukala, zvláště pak od padesátých let, v souvislosti s rozvojem veřejných a rekreačních koupališť a dalšího rekreačního využití vody. Při návštěvě těchto zařízení byla populace v industrializovaných zemích stále více vystavována působení silných oxidantů na bázi chloru, ať už v důsledku přímého kontaktu s chlorovanou vodou nebo inhalací oxidantů ve formě plynů (trichloraminu a plynného chloru) či aerosolů (chlornan/kyselina chlorná a chloraminy). Výskyt respiračních potíží a alergií u závodních plavců, kteří trénují v prostředí plaveckých bazénů zatíženém chlorem, je rovněž znám už více než dvacet let. Zvýšenou pozornost však tento problém vyvolal teprve nedávno v souvislosti se zjištěním, že oxidanty na bázi chloru mohou poškodit plicní epitelovou bariéru u rekreačních plavců a přispět tak ke zvýšení rizika atopických onemocnění, jako je například astma nebo senná rýma. Ve studiích zabývajících se profesionální expozicí bylo dále prokázáno, že zaměstnanci bazénů jsou vystaveni vyššímu riziku astmatu a respiračních potíží, zatímco v ekologických studiích byla zjištěna spojitost mezi prevalencí astmatu či ekzému u dětí a počtem bazénů nebo množstvím chloru v pitné vodě. I když jde o zjištění nečekaná, nejsou ve skutečnosti nijak překvapivá. V řadě experimentálních studií bylo prokázáno, že kyselina chlorná a chloraminy patří mezi oxidanty, které pronikají biologickými membránami a jsou schopné rychle otevřít těsné spoje mezi epitelovými vrstvami. Vznikla domněnka, kterou podporují některá epidemiologická a experimentální pozorování, že tyto oxidanty, které mají úzkou spojitost s naším západním stylem života, se mohou uplatnit jako adjuvans při vzniku atopických onemocnění, protože usnadňují transepitelové pronikání alergenů.

Klíčová slova: chlor, trichloramin, astma, alergie, bazén, plicní biomarkery

SUMMARY

Human exposure to chlorination products has considerably increased during the 20th century especially after the 1950s with the development of public and leisure pools and other water recreational areas. When attending these aquatic environments, the populations of industrialized countries have been increasingly exposed to powerful chlorine-based oxidants, either through direct contact with chlorinated water or by inhaling them in the form of gases (trichloramine and chlorine gas) or of aerosols (hypochlorite/hypochlorous acid and chloramines). The existence of respiratory and allergic problems in competitive swimmers training in the chlorine-laden atmosphere of swimming pools has also been known for more than two decades. Serious concern about these chemicals arose, however, only recently when it was found that they could affect the lung epithelial barrier of recreational swimmers and increase the risks of atopic diseases such as asthma or hay fever. Furthermore, studies focusing on occupational exposures have demonstrated an increased risk of asthma and respiratory problems among swimming pool workers while ecological studies have brought to light associations between the prevalence of childhood asthma or eczema and the availability of swimming pools or the chlorine level in drinking water. Albeit unexpected, these findings are not really surprising. A variety of experimental studies have shown that hypochlorous acid and chloramines are membrane permeable oxidants capable of rapidly opening the tight junctions of epithelial layers. This led to the suggestion, supported by some epidemiological and experimental observations, that these oxidants closely linked to our Western lifestyle might act as adjuvant in the development of atopic diseases by facilitating the transepithelial penetration of allergens.

Key words: chlorine, trichloramine, asthma, allergy, swimming pool, lung biomarkers

Úvod

Za posledních třicet let došlo ve vyspělých zemích světa k dramatickému nárůstu prevalence alergických onemocnění, jako je atopické astma a atopický ekzém. Ve většině industrializovaných zemí se dnes astma stalo nejčastějším chronickým onemocněním u dětí.

Faktory, které měly příčinný vliv jednak na vzestup

prevalence alergických onemocnění, jednak na vznik rozdílů mezi jednotlivými zeměmi, zdaleka nebyly zjištěny. I když o významu genetických faktorů nikdo nepochybuje, podle všeho jim nelze přičítat rychlý vzestup výskytu všech forem atopických onemocnění v celosvětovém měřítku. To vyvolalo domněnku, že stoupající prevalence těchto onemocnění musí mít souvislost s určitými změnami v našem životním stylu nebo v životním prostředí.

V současné době vzbudila zájem takzvaná hygienická hypotéza, která vidí příčinu stoupajícího výskytu astmatu a alergií ve snížení expozice mikrobiologickým produktům a choroboplodným zárodkům, zejména v raném dětství (58). Některé studie skutečně uvádějí, že ke snížení rizika astmatu, alergické rýmy nebo atopické senzibilizace dochází při vyšší expozici infekčním agens, jako například ve velkých rodinách, při navštěvování zařízení denní péče a při kontaktu s domácími nebo hospodářskými zvířaty (27, 51). Ochranný účinek infekce však v dalších studiích (41, 48) potvrzen nebyl a některé aspekty epidemie astmatu u dětí hygienická hypotéza nevysvětluje. Například k vzestupu výskytu astmatu došlo i u městských dětí žijících v poměrně tvrdých podmínkách, které nejspíš běžně přicházejí do styku i s trochou špíny (61). Hygienická hypotéza se se zvýšením výskytu astmatu u dětí, který se datuje od šedesátých let, rozchází také časově, vzhledem k tomu, že hlavních výdobytků hygieny bylo v industrializovaných zemích dosaženo ještě před nástupem let čtyřicátých (61). Na uvedené rozpory reagují epidemiologové a imunologové přeformulováním hygienické hypotézy. Zatímco dříve se protektivní efekt přisuzoval virovým a bakteriálním infekcím, později začali stoupenci hygienické hypotézy spojovat protektivní efekt s expozicí určitým složkám mikroorganismů nebo uvažovali o možných vlivech v raném dětství. Pro další zastánce této hypotézy je vzniklá situace výsledkem vzájemného působení imunitní odpovědi hostitele, vlastností napadajícího mikroorganismu, úrovně a typu environmentální expozice a interakcí všech těchto faktorů s genetickou výbavou (45, 56).

V rozporu s hygienickou hypotézou prokázaly novější studie protektivní efekt úklidových prostředků s obsahem chloru. V těchto studiích (2, 57) se zjistila nižší prevalence astmatu a alergií u dětí žijících v domácnostech, kde se k úklidu používají prostředky s obsahem chloru.

Nedávno navržená chlorová hypotéza vychází naopak

z předpokladu, že časté návštěvy bazénů by mohly přispívat ke zvýšené prevalenci respiračních onemocnění.

Historie používání chloru

Je dobře známo, že proces chlorování vody má úzkou spojitost s hygienou a je považován za jeden z jejích největších výdobytků ve 20. století. V rozvinutých zemích vedlo chlorování dodávané vody skutečně prakticky k eradikaci nemocí přenášných vodou, jako jsou břišní tyfus, cholera nebo úplavice, což nepochybně přispělo k prodloužení lidského života. Dnes se dezinfekční prostředky na bázi chloru používají v širokém měřítku k dezinfekci pitné a rekreační vody, k dezinfekci v potravinářském průmyslu nebo při úklidu povrchů ve veřejných i soukromých budovách. K přednostem chloru patří nízká nákladovost, snadnost použití, reziduální ochrana, deodorační účinek a silný baktericidní účinek proti širokému spektru mikroorganismů (44).

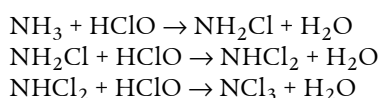
Chemické pochody při chloraci

Chlorování představuje proces, kdy se chlor průběžně přidává po malých množstvích do vody, aby byla nezávadná a tedy vhodná pro lidskou spotřebu nebo ke koupání, plavání či pro jiné účely. Chlor lze přidávat do vody v podobě plynného chloru (Cl_2), který se téměř beze zbytku hydrolyzuje za vzniku kyseliny chlorné, vodíkového iontu a chloridu. Chlor lze do vody přidávat také ve formě chlornanu vápenatého [$\text{Ca}(\text{OCl})_2$, pevná látka], chlornanu lithného (LiOCl , pevná látka) nebo chlornanu sodného (NaOCl , tekutý prostředek). Dále lze k tomuto účelu použít chlor ve formě chlorovaných izokyanurátů, což je stabilizovaná forma chloru v podobě tablet, které našly široké použití při dezinfekci vody v soukromých bazé-

Tab. 1: Aktivní chlor, chloraminy a hlavní vedlejší produkty dezinfekce

Aktivní chlor	kyselina chlorná	Halogenované acetonitrily (HCN)	dichloracetonitril
	chlornan		bromchloracetonitril
Chloraminy	monochloramin	dibromacetonitril	dibromacetonitril
	dichloramin		trichloracetonitril
	trichloramin (chlorid dusitý)	Chlorfenoly	2-chlorfenol
Anorganické vedlejší produkty	chlorečnany		2,4-dichlorfenol
	chloritany		2,4,6-trichlorfenol
	chlor	Chlorpikrin	
Trihalometany (THM)	chloroform	Chloralhydrát	
	bromdichlormetan	Chlorkyan	
	dibromchlormetan	Halogenoctové kyseliny (HAA)	kyselina monochloroctová
	bromoform		kyselina dichloroctová
Halogenketony (HK)	1,1-dichlorpropanon		kyselina trichloroctová
	1,1,1-trichlorpropanon		kyselina monobromoctová
			kyselina dibromoctová

nech. Všechny tyto dezinfekční přípravky na bázi chloru, které se nepřesně označují jako chlor, uvolňují kyselinu chlornou. Kyselina chlorná je slabá kyselina s $pK_a = 7,5$ při $25\text{ }^\circ\text{C}$, která disociuje na chlornan a vodíkový iont. Protože záporný náboj u chlornanového iontu podle všeho brání jeho pronikání přes bakteriální membrány, představuje neaktivnější biocid schopný oxidovat životně důležité buněčné komponenty pravděpodobně kyselina chlorná. Při reakci kyseliny chlorné jak s organickými, tak s anorganickými látkami ve vodě dochází k tvorbě vedlejších produktů chlorace (anglicky chlorination by-products, CBP). Ve skutečnosti existují stovky vedlejších produktů chlorace, přičemž většina z nich dosud není známa. V tabulce 1 uvádíme některé typy CBP, které jsou nejčastěji předmětem zkoumání. Z těchto látek má největší oxidační potenciál plynný chlor, kyselina chlorná a chloraminy. Chloraminy vznikají reakcí chloru s dusíkem, jak dokládají tyto rovnice (26):



K chloraminům, které vznikají při chloraci, patří chloramid (monochloramin, NH_2Cl), chlorimid (dichloramin, NHCl_2) a chlorid dusitý (trichloramin, NCl_3). Chlorid dusitý převažuje v případě $\text{pH} < 8$ a nadbytku chloru v poměru k dusíku. Z Henryho konstanty u různých chloraminů lze usuzovat, že právě trichloramin s nejvyšší pravděpodobností najdeme v ovzduší krytých bazénů, zatímco monochloraminu a dichloraminu se zde mohou vyskytovat pouze v podobě aerosolů (17, 22). Chloraminy ve vodě se označují jako kombinovaný¹ chlor, který v podstatě odpovídá součtu koncentrací monochloraminu a dichloraminu. Monochloramin je dezinfekční prostředek na bázi chloru, který se v některých zemích používá k zabránění tvorby trihalometanů (THM). Další dva chloraminy jsou škodliviny, které dráždí oči, kůže a horní cesty dýchací. Trichloramin je také původcem charakteristického pachu v prostředí krytých bazénů, který lidé mylně přisuzují chloru. Chlor je nespecifický biocid a v případě jeho použití k dezinfekci pitné nebo rekreační vody je nutno pečlivě kontrolovat jeho koncentraci.

I když o riziku profesionální expozice CBP víme už delší dobu, teprve v poslední době se začaly objevovat studie, které se zabývají rizikem expozice u plavců a zaměstnanců bazénů, kde se vedlejší produkty chlorace mohou ve vysokých koncentracích vyskytovat v ovzduší a ve vodě.

Kryté bazény existovaly v největších evropských a amerických městech již na počátku dvacátého století, převážná většina bazénů pro veřejnost však v industrializovaných zemích byla postavena až po roce 1960. Je třeba říci, že rostoucí expozice se týká zejména dětí, které jsou čím dál tím častějšími návštěvníky bazénů, a to jednak v rámci školních osnov a jednak při rekreačním sportování, jak se jim dnes nabízí od nejútlejšího věku. Stoupající dětská návštěvnost bazénů s sebou přinesla podstatné změny v prostředí těchto zařízení, jako je například vyšší teplota vody, zvýšená vytiženost bazénů a pořizování dalšího rekreačního příslušenství. Všechny tyto změny nepochybně přispěly ke zvýšení koncentrace vedlejších produktů chlorace v ovzduší bazénů, stejně jako zavádění energeticky úsporných režimů s omezením větrání,

kteří si vyžádaly rostoucí ceny energií. Navíc s přeměnou tradičních bazénů v rekreační se prodloužily návštěvní hodiny pro veřejnost, tedy pro děti a jejich rodiče, takže si tu mohou zaplavat, hrát si a relaxovat.

Venkovní bazény se v posledních desetiletích těší také velké oblibě, zejména v bohatých zemích s teplým klimatem. Tato zařízení dále přispěla ke zvýšení expozice člověka vedlejšími produkty chlorace, protože nabízejí téměř neomezené možnosti těm, kteří si chtějí v létě zaplavat nebo se osvěžit. Většina soukromých bazénů se dezinfikuje chlorem přidávaným do vody ve formě tablet nebo vyráběným na místě elektrolyzou chloridu sodného. Protože jde většinou o venkovní bazény, u jejich hladiny se zdržuje jen velmi malé množství trichloraminu, a to díky přirozenému větrání. Ve venkovních bazénech jsou však obvykle mnohem vyšší hladiny aktivního chloru ve srovnání s krytými bazény. Část tohoto aktivního chloru (chlornan) se přeměňuje na plynný chlor, který se vzhledem k tomu, že je těžší než vzduch, drží u hladiny vody a plavci pak cítí jeho zápach. Ovzduší těsně nad hladinou venkovních bazénů může být kontaminováno rovněž mikroaerosoly obsahujícími jak aktivní, tak kombinovaný chlor, zejména pokud má bazén vysoké stěny, které brání větrání, nebo večer či ráno, kdy nad hladinou vody leží mlžný opar.

Ekologické studie

V několika ekologických studiích se zkoumala souvislost mezi prevalencí atopických onemocnění u dětí a jejich expozicí chloru v pitné nebo rekreační vodě. Ve studii u 458 284 dětí ve věku 6–12 let v 1016 státních základních školách v Japonsku zjistili Miyake a kol. (31) statisticky významný vztah s tendencí ve tvaru písmene J mezi obsahem chloru v dodávané vodě a prevalencí atopické dermatitidy. S využitím dat ze studie ISAAC zjistili Nickmilder a Bernard (35), že prevalence astmatu u dětí a počet krytých bazénů s chlorovanou vodou v Evropě vykazují asociace, které jsou geograficky konzistentní a nezávislé na klimatu, nadmořské výšce a na socioekonomické situaci v zemi. Nejsilnější asociace byly zjištěny u diagnostikovaného astmatu, které je zároven ukazatelem astmatu s nejvýraznějším východozápadním gradientem napříč Evropou.

Plavčíci a zaměstnanci bazénů

Plavčíci jsou v prostorách bazénů s chlorovanou vodou vystaveni nejvyšší chlorové zátěži. Dlouhodobě vdechují plynný chlor a jsou vystaveni působení aerosolů u vodní hladiny. První studii se specifickým zaměřením na riziko, které představuje pro dýchací cesty profesionální expozice trichloraminu, provedli Massin a kol. (29). Vyšetřili celkem 334 plavčků, zaměstnanců 46 bazénů pro veřejnost ($n=228$) a 17 středisek volného času ($n=106$). Tato studie jako první přinesla rozsáhlý soubor údajů o koncentracích trichloraminu v ovzduší krytých bazénů naměřených celkem v 1262 vzorcích vzduchu. Koncentrace trichloraminu byly v rekreačních zařízeních (průměrná koncentrace $670\text{ }\mu\text{g}/\text{m}^3$, $\text{SD}^2\text{ }170\text{ }\mu\text{g}/\text{m}^3$) vyšší než v bazénech pro veřejnost (střední koncentrace $240\text{ }\mu\text{g}/\text{m}^3$, $\text{SD }370\text{ }\mu\text{g}/\text{m}^3$); zjištěný rozdíl autoři přičítali vyšší tep-

¹V ČR se používá výraz „vázaný chlor“.

²Směrodatná odchylka.

lotě a víření vody v rekreačních zařízeních (tobogány, vlny atd.). Respirační symptomy byly zjišťovány pomocí dotazníku, který si respondent sám vyplnil, a bronchiální hyperreaktivita (BHR) byla vyšetřována pomocí metacholinového testu. Prevalence symptomů podráždění očí, nosu a krku byla zvýšená a korelovala jak s koncentrací trichloraminu v ovzduší bazénu, tak s kumulativní expozicí trichloraminu. Vyšetření na bronchiální hyperreaktivitu vykázalo pozitivitu u 28,2 % (22/78) plavců, což překvapivě představuje dvojnásobně vyšší procento ve srovnání s plavčíky (13,7 %, 35/256). Prevalence BHR nekorelovala s kumulativní expozicí. Je však třeba říci, že při analyzování vztahu mezi dávkou a odpovědí napříč kategoriemi kumulativní expozice nebyla vzata v úvahu možnost interakce s atopickým stavem, která byla zjištěna ve studiích u plavců (5, 20). Později provedli podobnou studii Jacobs *a kol.* (23) v Holandsku s cílem stanovit vztah mezi parametry bazénu a respiračními symptomy u zaměstnanců. Jejich dotazník vyplnili 624 zaměstnanci bazénů z 38 plaveckých zařízení. Celkové respirační symptomy včetně symptomů ukazujících na astma se vyskytovaly významně častěji u zaměstnanců bazénů ve srovnání s normální nizozemskou populací (OR od 1,4 do 7,2). Zajímavé je zjištění, že symptomy postihující horní cesty dýchací významně souvisely s kumulativní koncentrací chloraminu (OR > 1,4 u chrapotu, ztráty hlasu a sinusitidy). Tuto souvislost by bylo možno vysvětlit pravděpodobně zhoršením dosavadních respiračních onemocnění nebo interakcí mezi dráždivými látkami a expozicí alergenům.

Závodní plavci

I když doba expozice je u závodních plavců nižší než u plavčků, mohou tito sportovci trávit v bazénu několik hodin týdně. Výskyt respiračních a alergických potíží u závodních plavců je znám už více než dvě desetiletí. Odborná veřejnost mu však věnovala jen malou pozornost a přisuzovala ho hlavně zkrácení danému výběrem, protože plavání v teplém a vlhkém vzduchu krytých bazénů se tradičně považovalo za sportovní činnost, kterou dobře snášejí astmatci. Jednu z prvních studií dokumentujících vyšší prevalenci alergických onemocnění u závodních plavců provedl Zwick *a kol.* v roce 1990 (62). Porovnávali výskyt atopie a BHR na metacholin u 14 závodních plavců a 14 kontrolních osob odpovídajícího věku a pohlaví. Jak senzibilizace k autoalergenům, tak zvýšená BHR vykazovala vyšší prevalenci u plavců než u kontrolních osob. K podobnému závěru dospěl Potts (40) na základě porovnání skupiny 35 závodních plavců se 17 sportovci, kteří plavání neprovozovali. Více než 60 % závodníků vykazovalo pozitivitu BHR v metacholinovém testu proti pouhému 1,5 % u kontrolních osob. Potts také referoval o výsledcích dotazníkové akce se zaměřením na respirační potíže provedené u 738 závodních plavců. Z respiračních onemocnění byla nejčastěji uváděna bronchitida, senná rýma, astma a pneumonie. Plavci trpěli také alergiemi, které diagnostikoval lékař, z nichž nejčastější byla alergie na roztoče, pyl, zvířecí srst, trávy a plísňe. V jedné studii, které se zúčastnilo 42 vrcholových plavců, zjistili Helenius *a kol.* (18), že 50 % z nich trpí atopií (nejméně jeden pozitivní kožní test), 36 % má zvýšenou BHR na histamin a 29 % trpí sennou rýmou. Astma (pozitivní test na BHR a sym-

ptomu pozátěžové bronchokonstrikce, EIB – exercise-induced bronchoconstriction) bylo zjištěno u 12 plavců (29 %), což představuje šestkrát vyšší výskyt ve srovnání s kontrolní populací. U plavců s atopií bylo riziko astmatu 96krát vyšší než u neatopických osob, které plavání neprovozovaly. Helenius *a kol.* (20) provedli pětiletou studii, kdy sledovali 26 vrcholových plavců, kteří přestali trénovat, a 16 plavců, kteří ve vrcholovém tréninku zůstali. U plavců, kteří přestali vrcholově trénovat, došlo ke snížení BHR a zlepšení astmatu nebo dokonce k vymizení obou potíží, zatímco zánět dýchacích cest (přítomnost eozinofilních granulocytů ve sputu) zůstal bez významných změn. U vrcholových plavců, kteří během sledování zůstali v tréninku, zmíněné tři indikátory přetrvávaly a dokonce vykazovaly tendenci ke zhoršení. Reverzibilita astmatu a zánětu dýchacích cest po přerušení plaveckého tréninku představuje významné zjištění, protože vyvrací domněnku, že vyšší prevalence astmatu u vrcholových plavců vlastně vyplývá ze zkrácení daného výběrem. Pokud jsou příčinou většiny respiračních potíží u plavců dráždivé účinky vedlejších produktů chlorace (CBP), jak se domnívá většina odborníků, pak se při nich určitým způsobem patrně uplatňuje i mechanický stres, kterému je při intenzivním tréninku plicní epitel vystaven (13).

Rekreační plavci

V několika kazuistikách bylo popsáno, že při náhodném uvolnění plynného chloru v krytých bazénech může dojít k poškození plic jak u rekreačních plavců, tak u dalších návštěvníků bazénu (1, 9). Takové poškození je naštěstí většinou přechodné povahy a k obnově plicních funkcí dochází do několika týdnů. Nicméně možnost, že chlorem zatížené ovzduší v krytých bazénech může být příčinou chronických plicních potíží u rekreačních plavců, byla poprvé zmíněna teprve na samém počátku 21. století, kdy byly poprvé použity nové neinvazivní testy pro průkaz poškození plic u dětí. V průřezové studii původně zaměřené na hodnocení chronických účinků znečištění ovzduší na dýchací ústrojí u školních dětí Bernard *a kol.* (3, 4) nečekaně zjistili, že hlavním faktorem, který se uplatňuje při poškození epitelové bariéry v plicích, je pravidelné navštěvování krytých bazénů s chlorovanou vodou. Koncentrace proteinů A a B asociovaných s plicním surfaktantem stoupaly v závislosti na dávce, s kumulovanou dobou, kterou děti strávily se školou v krytém bazénu s chlorovanou vodou.

Při retrospektivní analýze údajů o prevalenci astmatu u 1811 školních dětí v Bruselu zjistili Bernard *a kol.* (3), že prevalence astmatu u těchto dětí je silně asociována s jejich kumulovanou návštěvností bazénu, povinnou v rámci belgických školních osnov. Asociace mezi astmatem u dětí a kumulovanou návštěvností bazénu byly nejsilnější při kumulaci návštěvnosti od narození do první třídy základní školy. Kumulovaná návštěvnost bazénu korigovaná podle výšky bazénu, což je náhradní indikátor kvality ovzduší v bazénu, tyto asociace posílila. Dále je posílila také korekce podle expozice cigaretovému kouři a domácím zvířatům, což jsou dvě proměnné, které působily synergicky s návštěvností bazénu. Tato pozorování byla potvrzena v následující průřezové studii, v níž se zkoumal vztah mezi astmatem u dětí, atopií a kumulovanou návštěvností bazénu pomocí objektivních měřítek výsledku, pakliže to bylo možné (5). Do této

studie, která proběhla rovněž v Bruselu, bylo zařazeno celkem 341 školních dětí ve věku od 10 do 13 let, a to na základě navštěvování téhož bazénu pro veřejnost (obsah trichloraminu v ovzduší činil 300–540 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) v různých časových intervalech.

Výšetření u dětí se skládalo z dotazníku, testu pozátěžové bronchokonstrikce (EIB test), měření vydechovaného NO (eNO) a celkového IgE a alergen specifického IgE v séru. Kumulovaná návštěvnost bazénu u dětí se ukázala jako jeden z nejkonzistentnějších prediktorů astmatu (diagnostikovaného lékařem nebo zjištěného testem EIB) a zvýšeného eNO hned za atopií a výskytem astmatu nebo senné rýmy v rodinné anamnéze. Zatímco riziko zvýšeného eNO rostlo s kumulovanou návštěvností bazénu nezávisle na celkovém nebo specifickém IgE v séru, pravděpodobnost vzniku astmatu stoupla s kumulativní návštěvností pouze u dětí s IgE >100 kIU/l v séru (obr. 1). Tato zjištění ukazují na to, že vedlejší produkty chlorace, které kontaminují ovzduší a vodu v krytých bazénech, mohou působit jako adjuvans přispívající k rozvoji astmatu u atopických dětí, zejména pak u malých návštěvníků silně znečištěných bazénů pro neplavce. Německá studie z poslední doby přináší další důkazy v tom smyslu, že navštěvování bazénu v dětském věku může přispět k rozvoji alergických onemocnění.

V retrospektivní studii vycházející z údajů o navštěvování plaveckého bazénu a anamnézy u kohorty 2606 dospělých ve věku 35–74 let zjistili Kolhammer *a kol.* (24) zvýšené riziko senné rýmy u dospělých, kteří ve školním věku navštěvovali plavecký bazén, kteří byli v posledních 12 měsících častými návštěvníky bazénu nebo kteří vůbec někdy v životě byli v bazénu s chlorovanou vodou.

v útlém věku pro děti bezpečné, zejména pokud uvážíme, že vyšší teplota vody a vyšší organická zátěž v bazénech navštěvovaných malými dětmi vlastně představují příznivé podmínky pro vznik vedlejších produktů chlorace. První studii, která se touto otázkou zabývala, provedli Nystad *a kol.* (38). Zjistili, že plavání u malých dětí bylo asociováno se zvýšeným rizikem opakovaných infekcí respiračního ústrojí a zánětu středního ucha v prvním roce života. Rozdělení dětí podle výskytu atopie u rodičů (astma, senná rýma, ekzém) ukázalo, že ohroženy jsou zejména děti atopických rodičů. V průřezové studii u školních dětí uvádějí Bernard *a kol.* (6, 7) dosti podobná pozorování, když porovnávají stav dýchacího ústrojí, výskyt alergií a neporušenost plicního epitelu u dětí, které se zúčastnily plaveckého programu pro nejmenší, a u kontrolních dětí, které na plavání nechodily. Děti, které na plavání chodily ($n=43$), vykazovaly významné snížení proteinu Clarových buněk CC16 v séru. CC16 představuje marker neporušenosti Clarových buněk u výstelky dýchacích cest. Snížení bylo dokonce ještě významnější, když se počítal poměr CC16/SP-D (protein D asociovaný se surfaktantem v séru, který se používá jako ukazatel poškození Clarových buněk a porušení epitelové bariéry plic). Plavání v útlém věku se ukázalo být jediným statisticky významným prediktorem CC16 v séru a představuje nejsilnější determinantu poměru CC16/SP-D. Tyto účinky byly asociovány s vyšším rizikem výskytu astmatu a opakovaných bronchitid. Samotná pasivní expozice cigaretovému kouři neměla na tyto výsledky žádný vliv, ale spolu s plaváním v útlém věku přispívala ke zvýšenému riziku vzniku astmatu (kouření rodičů doma) nebo opakovaných bronchitid (kouření matky v těhotenství) (4, 24).

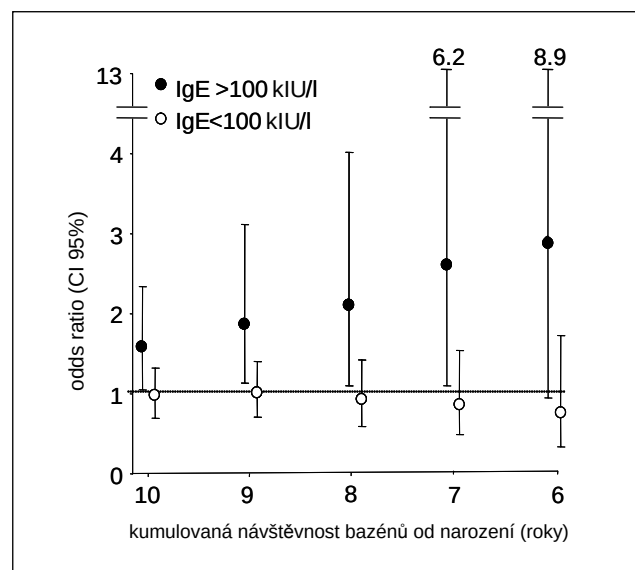
Plavání v útlém věku

Podle některých studií představuje při posuzování rizika, kterému jsou vystaveny děti v souvislosti s vedlejšími produkty chlorace, jeden z nejkritičtějších faktorů doba expozice. Vystává tedy otázka, zda je plavání

Mechanismy, pomocí nichž mohou produkty chlorace přispět ke vzniku alergických onemocnění

Při alergické senzibilizaci musí alergeny překonat epitelové bariéry, aby mohly reagovat s buňkami prezentujícími antigen (dendritickými buňkami). Těsné spoje uzavírající cesty mezi buňkami představují hlavní bariéry, které brání pronikání alergenů do organismu. Způsob, jakým dochází k porušení těchto bariér a k následnému pronikání alergenů, ještě nebyl úplně objasněn. Důkazy z nejnovějších studií *in vitro* svědčí o tom, že vzhledem ke své proteolytické aktivitě si mohou některé alergeny (alergeny rotočů Derp 1 a Derp 2 a alergeny plísní *Penicillium* a *Aspergillum* Pen ch 13) usnadňovat pronikání otevřením těsných spojů mezi buňkami, ale není známo, do jaké míry k tomu skutečně dochází *in vivo* (52, 59). Spekuluje se také o možné roli virových infekcí, které poškozují epitel dýchacích cest. Důkazy ze studií jak *in vitro*, tak *in vivo*, o kterých jsme se zmínili, svědčí o tom, že akutní či chronická hyperpermeabilita navozená působením vedlejších produktů chlorace by mohla představovat další mechanismus, pomocí něhož by alergeny mohly získat přístup k dendritickým buňkám.

Oxidanty na bázi chloru jsou produkovány zánětlivými buňkami, které vykazují myeloperoxidázovou aktivitu a uvolňují oxidanty pro boj s infekcí nebo pro usnadnění přílivu buněk. Studie na buněčných kulturách a izolovaných orgánech prokázaly, že tyto chemické látky jsou silné oxidanty, které pronikají membránou a rychle reagují se sulfhydrylovými skupinami v proteinech



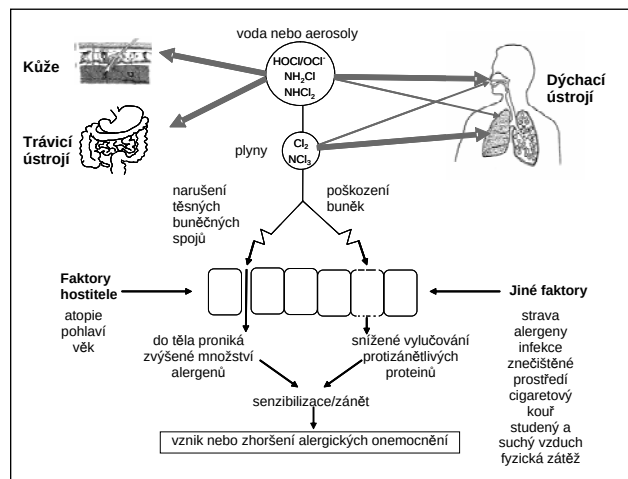
Obr. 1: Vztah mezi pravděpodobností vzniku astmatu a kumulativní návštěvností u dětí s IgE >100 kIU/l v séru.

cytoskeletu a extracelulární matrice, což vede k retrakci buněk, narušení buněčných spojů a téměř okamžitému zvýšení endotelové nebo epitelové permeability (34, 47). Tak například kyselina chlorná může způsobit okamžité zvýšení mikrovaskulární permeability plic u krys (54) a permeability tracheálního epitelu u králíka (32).

Oxidanty na bázi chloru ve vodě a v ovzduší se tedy mohou uplatnit jako adjuvans usnadňující transepitelové pronikání alergenů a přispět tak k senzibilizaci atopických jedinců. Tímto mechanismem lze vysvětlit interakci mezi bazénovým chlorem a atopií při vzniku astmatu u dětí (5) a zvýšené riziko alergických onemocnění, které bylo zjištěno u rekreačních i vrcholových plavců (3, 5, 18, 24). O úloze epitelové hyperpermeability při vzniku senzibilizace svědčí také experimentální studie u opic, v nichž bylo prokázáno, že ozón jakožto oxidant rovněž porušující epitelovou bariéru plic přispívá k atopické senzibilizaci na platinu a alergeny roztočů (8, 46). Bylo rovněž zjištěno, že v případě nadměrné nebo opakované expozice poškozují vedlejší produkty chlorace epitelové buňky. Následky tohoto poškození mohou být nejrůznější, protože je známo, že epitelové buňky syntetizují a vylučují celou řadu molekul regulujících alergické a zánětlivé reakce, jako jsou cytokiny/chemokiny, růstové faktory, lipidové mediátory nebo antioxidační/zánětlivé proteiny (53). Snížené vylučování spolu s únikem proteinů z intravaskulárního prostoru poškozenou epitelovou bariérou přispívá k dalšímu snížení množství těchto sekrečních produktů v plicích. Jako příklad můžeme uvést sníženou sekreci protizánětlivého proteinu CC16, která byla zjištěna u dětí, jež byly v raném dětství pravidelnými návštěvníky krytých bazénů (6, 7, 25).

Ve studiích u sportujících zdravých dobrovolníků krátkodobě exponovaných nízkým koncentracím plynného chloru bylo prokázáno, že od koncentrace 1 ppm plynného chloru dochází k významnému snížení expiračního průtoku a objemové kapacity plic, ke zvýšení odporu dýchacích cest a k zánětlivým změnám v nosní dutině (43). Dráždivé účinky plynného chloru na nosní sliznici jsou také výraznější u jedinců trpících sezónní alergickou rinitidou (senná rýma) než u osob, které jí netrpí (49). Vzhledem k problémům spojeným s prováděním inhalačních studií za dobře kontrolovaných podmínek byly zatím krátkodobé účinky trichloraminu u zdravých dobrovolníků studovány pouze při expozici ovzduší v krytých bazénech s chlorovanou vodou. Pomocí sérových pneumoproteinů jako markerů poškození plicního epitelu prokázali Carbonnelle *a kol.* (13) a Bernard *a kol.* (3), že trichloramin může způsobit přechodné porušení epitelu hluboko v plicích už po hodinové expozici koncentraci 540 $\mu\text{g}/\text{m}^3$. Hladina, při které není pozorován žádný vliv na změny permeability, bude kolem 300 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, protože plavci při intenzivním tréninku při koncentraci 340 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ trichloraminu v ovzduší vykazovali pouze minimální změny v sérových hladinách pneumoproteinů (13). Plavání v krytém bazénu s vysokou teplotou a vlhkostí ovzduší bylo považováno za sport vhodný pro astmatiky. Většina lékařů a lékařských sdružení tedy astmatikům doporučuje plavání v krytých bazénech, ale vzhledem k dobře známé citlivosti dýchacích cest k dráždivým látkám u astmatiků nám takové doporučení může připadat paradoxní. Několik lékařů se snažilo upozornit odbornou veřejnost na možné nepříznivé účinky chloru v krytých bazénech pro astmatiky (33, 42).

Hluboce zakořeněná představa, že prostředí krytých bazénů je pro astmatiky bezpečné, byla v poslední době

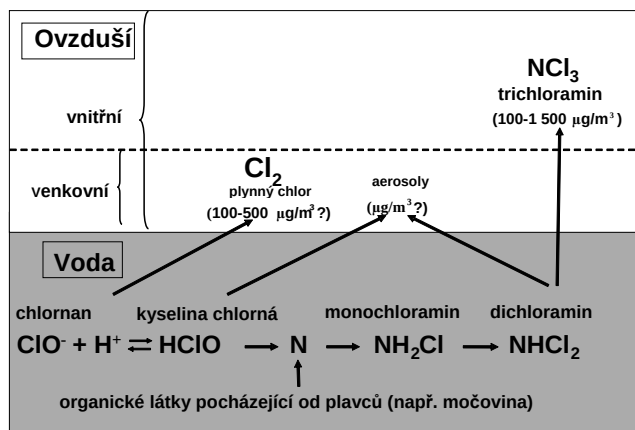


Obr. 2: Mechanismy narušení epitelové bariéry oxidanty na bázi chloru ve vodě nebo v ovzduší.

znovu zpochybněna v jedné studii, která prokázala, že BHR na metacholin u astmatiků významně stoupla po pouze 12minutovém ponoření do vířivé koupele s chlorovanou vodou (50). Třebaže se ve studii neměřil chlor v ovzduší nad vířivkou, téměř není pochyb o tom, že zvýšení BHR je způsobeno dráždivými účinky plynného chloru nebo aerosolů obsahujících chlor. Tento závěr má podporu také ve studii, kterou provedli Boulet *a kol.* (11), kde se porovnávaly záněty dýchacích cest při intenzivním tréninku u plavců a běžců, s hyperreaktivitou nebo normální reaktivitou na metacholin. Zatímco zánět dýchacích cest hodnocený podle neutrofilních granulocytů v indukovaném sputu byl zjištěn u všech skupin, zánětlivá odpověď byla statisticky významná pouze u plavců s BHR, což svědčí o vyšší citlivosti této skupiny.

Kyselina chlorná a chloraminy mohou reagovat také s proteiny a prolomit toleranci k vlastním proteinům nebo zvýšit imunogenitu cizích proteinů vytvářením nových epitopů nebo odhalováním kryptických epitopů po rozvolnění proteinu (39, 60). Za určitých okolností však lze pozorovat i pravý opak. Oxidanty na bázi chloru mohou skutečně dostatečně denaturovat nebo fragmentovat proteiny a tak úplně potlačit jejich imunogenitu. Například alergeny koček (Fed1) a roztočů (Der p1) jsou inaktivovány nízkými koncentracemi chlornanu sodného (14, 30).

Obrázek 2 ukazuje, jak mohou oxidanty na bázi chloru ve vodě nebo v ovzduší narušit epitelové bariéry a tak usnadnit proniknutí alergenů a jejich střet s imunokompetentními buňkami. Postižené orgány se budou lišit v závislosti na rozpustnosti těchto látek ve vodě a na tom, zda se v ovzduší vyskytují ve formě plynů nebo aerosolů. Trichloramin bude zvláště aktivní při spouštění těchto mechanismů hluboko v plicích. Vzhledem k jeho nerozpustnosti ve vodě je plynný trichloramin skutečně toxický pro distální dýchací cesty (3, 13), kde je lokalizován zánět a ztížené dýchání u astmatu (55). A naopak, chlornan, ostatní chloraminy a další netěkavé vedlejší produkty chlorace po vdechnutí ve formě aerosolů nebo při proniknutí do nosní dutiny s vodou naruší epitelovou bariéru horních cest dýchacích, do kterých pak snáze proniknou alergenové. Změny v permeabilitě, k nimž dochází vlivem chloru uvolněného z hladiny bazénu, postihnou hlavně horní cesty dýchací, protože při relativně nízkých koncentracích, v jakých se chlor vyskytuje v ovzduší nad hladinou bazénu (<2,5 ppm), se více než 90 % tohoto plynu rozpustného ve vodě vstřebá nosem při nosním dýchání (37).



Obr. 3: Hlavní oxidanty na bázi chloru ve vodě a v ovzduší rekreačních prostor s chlorovanou vodou.

Třebaže při spouštění uvedených mechanismů se vzhledem ke svému silnému oxidačnímu potenciálu a vysoké koncentraci v prostředí rekreačních zařízení pravděpodobně nejvýrazněji uplatňují vedlejší produkty chlorace, mohou podobné účinky na epitel vyvolávat i další stresory a tak působit buď jako další faktor, nebo synergicky s vedlejšími produkty chlorace. Škodliviny v ovzduší (jako například ozon nebo částice výfukových plynů naftových motorů), cigaretový kouř, endotoxiny, suchý nebo studený vzduch, popřípadě náročné sportovní výkony, to všechno jsou faktory, které se mohou uplatnit při porušení epitelových bariér dýchacího ústrojí a tak usnadnit proniknutí alergenů do organismu a alergickou senzibilizaci (10).

Úroveň expozice

Obrázek 3 ukazuje hlavní oxidanty na bázi chloru ve vodě nebo v ovzduší rekreačních prostor s chlorovanou vodou jako například v okolí bazénů, vířivek nebo masážních bazénků. Koncentrace těchto oxidantů nad vodní hladinou se pohybují v širokém rozmezí v závislosti na celé řadě fyzikálně-chemických proměnných, které souvisí s dávkováním chloru, počtem návštěvníků, stylem plavání, teplotou vzduchu, větráním prostoru nebo tvorbou aerosolů při stříkání vody z různých zařízení (děl, trysek a vodopádů). Nejsilnější a nejkoncentrovanější oxidanty v tomto prostředí představují trichloramin v plynné fázi, kyselina chlorná a monochloramin a dichloramin ve formě aerosolů. S kontrolou kvality ovzduší krytých bazénů se začalo teprve nedávno a pouze v několika evropských zemích (například ve Francii, Belgii, Německu a v Nizozemsku). Bylo zjištěno, že průměrné koncentrace trichloraminu v ovzduší krytých bazénů pro veřejnost se pohybují mezi 300 and 500 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, přičemž nejvyšší hodnoty dosahují až 2000 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (koncentrace zprůměrované pro dvouhodinový interval a naměřené ve výšce 1,5 m) (3, 16, 21, 23, 29). Plynný trichloramin představuje tedy jednu z nejkoncentrovanějších škodlivin v ovzduší, které jsou pravidelně vystavovány děti v industrializovaných zemích (průměrné koncentrace jiných škodlivin ve venkovním nebo vnitřním ovzduší v Evropě zřídka překračují hodnotu 300 $\mu\text{g}/\text{m}^3$). Nicméně ovzduší bezprostředně nad hladinou vody bazénu obsahuje řadu dalších vedlejších produktů chlorace jako například plynného chloru nebo chlorovaných mikroaerosolů, které rovněž přispívají k inhalační zátěži oxidanty u plavců. Drobnic a kol. jsou autory jediné studie, která se pokusila zhodnotit koncentrace dalších oxidantů u hladiny bazénů (15). Na základě

analýzy ovzduší u hladiny různých bazénů dospěli tito autoři u plynného chloru k průměrné koncentraci 420 (± 240) $\mu\text{g}/\text{m}^3$. V jejich studii však není nijak doloženo, že prováděná měření byla specifická pro plynný chlor a že při nich nedocházelo k interferenci s trichloraminem nebo chlorovanými aerosoly.

Plavci a zejména vrcholoví plavci, kteří intenzivně trénují v krytých bazénech s chlorovanou vodou, představují skupinu populace, která je nejvíce exponována vedlejšími produkty chlorace. K expozici plavců dochází hlavně inhalačně při aktivním vdechování vzduchu a aerosolů těsně u hladiny vody. Když plicní ventilace přesáhne hodnotu 30 l/min, přechází dýchání nosem v kombinované dýchání ústy a nosem, při němž plyny a aerosoly rozpustné ve vodě obcházejí nazofaryngeální filtr a pronikají hlouběji do plic. Vrcholový plavec, který absolvuje 30 hodin tréninku týdně, je těmto vedlejšími produkty chlorace vystaven více než dvacetinásobně ve srovnání s plavcem zaměstnaným ve stejném bazénu a více než stonásobně ve srovnání s rekreačním plavcem (19).

U rekreačních plavců dosahuje expozice vedlejšími produkty chlorace vrcholu pravděpodobně v dětském věku, kdy je člověk k těmto chemickým látkám nejcitlivější. Protože většina dětí do 6 nebo 7 let věku vlastně ještě neumí plavat, musí chodit do malého bazénu pro neplavce, který je mělký, teplý a více znečištěný než velký bazén pro plavce. Například koncentrace trichloraminu v ovzduší kolem bazénu pro neplavce jsou v průměru o 50 % vyšší než po stranách velkého bazénu pro plavce. Navíc, když si děti hrají nebo se učí plavat, vdechují a polykají více aerosolů a kapiček vody obsahujících kyselinu chlornou a rozpustné chloraminy. Ty se mohou dostat do větší či menší hloubky v dýchacích cestách v závislosti na velikosti aerosolových částic a na způsobu dýchání (ústí nebo nosem) (19). Vzhledem k většímu poměru vodní plochy k tělesné hmotnosti u dětí vstřebávají děti také více vedlejších produktů chlorace rozpustných ve vodě v poměru ke své hmotnosti kůží.

Závěry

V této etapě výzkumu máme k dispozici omezený počet údajů na to, abychom mohli provést spolehlivý odhad možného dopadu expozice vedlejšími produkty chlorace na epidemií astmatu a alergických onemocnění ve vyspělých zemích světa. Pozorování v průřezových studiích ukazují, že u atopických dětí se riziko astmatu zvyšuje přibližně o 1 % s každou hodinou strávenou v prostorách krytého bazénu s chlorovanou vodou (5), zatímco asociace zjištěné v ekologických studiích svědčí o tom, že navštěvování krytých bazénů s chlorovanou vodou se na prevalenci astmatu u dětí v Západní Evropě může podílet až 40 % nebo 50 % (35). Při interpretaci těchto údajů je však třeba opatrnosti, protože pocházejí z poměrně malého počtu studií a bude třeba je korigovat také s přihlédnutím k návštěvnosti venkovních bazénů s chlorovanou vodou. Nicméně, třebaže mezi návštěvností bazénu s chlorovanou vodou a astmatem existuje pouze slabá příčinná souvislost, bude velký počet dětí, které jsou pravidelnými návštěvníky bazénů v západním světě, znamenat velkou celkovou zátěž nemocemi (36). Vzhledem k rostoucí popularitě bazénů bude nepochybně nutné zhodnotit účinky vedlejších produktů chlorace na návštěvníky bazénů, stanovit kritické cesty a úroveň expozice a nadále zkoumat buněčné a molekulu-

lární mechanismy, pomocí nichž se tyto chemické látky podílejí na alergické senzibilizaci. Dalším krokem vpřed bude samozřejmě minimalizace expozice lidí těmto reaktivním škodlivinám na základě zavedení příslušných norem a posílení kontroly kvality ovzduší a vody v bazénech a dalších rekreačních prostorách, zejména pokud je navštěvují děti.

Poděkování

Alfred Bernard je ředitelem výzkumné činnosti Národního fondu pro vědecký výzkum, Belgie.

LITERATURA

- Agabiti N, Ancona C, Forastiere F, Di Napoli A, Lo Presti E, Corbo GM, et al. Short term respiratory effects of acute exposure to chlorine due to a swimming pool accident. *Occup Environ Med.* 2001 Jun;58(6):399-404.
- Alfvén T, Braun-Fahrlander C, Brunekreef B, von Mutius E, Riedler J, Scheynius A, et al; PARSIFAL study group. Allergic diseases and atopic sensitization in children related to farming and anthroposophic lifestyle--the PARSIFAL study. *Allergy.* 2006 Apr;61(4):414-21.
- Bernard A, Carbonnelle S, Michel O, Higuier S, De Burbure C, Buchet JP, et al. Lung hyperpermeability and asthma prevalence in schoolchildren: unexpected associations with the attendance at indoor chlorinated swimming pools. *Occup Environ Med.* 2003 Jun;60(6):385-94.
- Bernard A, Carbonnelle S, Nickmilder M, de Burbure C. Non-invasive biomarkers of pulmonary damage and inflammation: application to children exposed to ozone and trichloramine. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2005 Aug 7;206(2):185-90.
- 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 Oct;114(10):1567-73.
- Bernard A, Nickmilder M. Respiratory health and baby swimming. *Arch Dis Child.* 2006 Jul;91(7):620-1.
- 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 Jun;119(6):1095-103.
- Biagini RE, Moorman WJ, Lewis TR, Bernstein IL. Ozone enhancement of platinum asthma in a primate model. *Am Rev Respir Dis.* 1986 Oct;134(4):719-25.
- Bonetto G, Corradi M, Carraro S, Zanconato S, Alinovi R, Folesani G, et al. Longitudinal monitoring of lung injury in children after acute chlorine exposure in a swimming pool. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006 Sep 1;174(5):545-9.
- Bonini S, Bonini M, Bousquet J, Brusasco V, Canonica GW, Carlsen KH, et al. Rhinitis and asthma in athletes: an ARIA document in collaboration with GA2LEN. *Allergy.* 2006 Jun;61(6):681-92.
- Boulet LP, Turcotte H, Langdeau JB, Bernier MC. Lower airway inflammatory responses to high-intensity training in athletes. *Clin Invest Med.* 2005 Feb;28(1):15-22.
- Broekaert F, Arsalane K, Hermans C, Bergamaschi E, Brustolin A, Mutti A, et al. Serum clara cell protein: a sensitive biomarker of increased lung epithelium permeability caused by ambient ozone. *Environ Health Perspect.* 2000 Jun;108(6):533-7.
- Carbonnelle S, Francaux M, Doyle I, Dumont X, de Burbure C, Morel G, et al. Changes in serum pneumoproteins caused by short-term exposures to nitrogen trichloride in indoor chlorinated swimming pools. *Biomarkers.* 2002 Nov-Dec;7(6):464-78.
- Chen P, Eggleston PA. Allergenic proteins are fragmented in low concentrations of sodium hypochlorite. *Clin Exp Allergy.* 2001 Jul;31(7):1086-93.
- Drobic F, Freixa A, Casan P, Sanchis J, Guardino X. Assessment of chlorine exposure in swimmers during training. *Med Sci Sports Exerc.* 1996 Feb;28(2):271-4.
- Gunkel K, Jessen HJ. The problem of urea in bathing water. *Z Gesamte Hyg.* 1988 Apr;34(4):248-50. (In German.)
- Hailin Ge, Wallace GG, O'Halloran RAJ. Determination of trace amounts of chloramines by liquid chromatographic separation and amperometric detection. *Anal Chim Acta.* 1990;237:149-53.
- Helenius IJ, Tikkanen HO, Sarna S, Haahtela T. Asthma and increased bronchial responsiveness in elite athletes: atopy and sport event as risk factors. *J Allergy Clin Immunol.* 1998 May;101(5):646-52.
- Helenius I, Haahtela T. Allergy and asthma in elite summer sport athletes. *J Allergy Clin Immunol.* 2000 Sep;106(3):444-52.
- Helenius I, Ryttilä P, Sarna S, Lumme A, Helenius M, Remes V, et al. Effect of continuing or finishing high-level sports on airway inflammation, bronchial hyperresponsiveness, and asthma: a 5-year prospective follow-up study of 42 highly trained swimmers. *J Allergy Clin Immunol.* 2002 Jun;109(6):962-8.
- Hery M, Hecht G, Gerber JM, Gender JC, Hubert G, Rebuffaud J. Exposure to chloramines in the atmosphere of indoor swimming pools. *Ann Occup Hyg.* 1995 Aug;39(4):427-39.
- Holzwarth G, Balmer RG, Soni L. The fate of chlorine and chloramines in cooling towers Henry's law constants for flashoff. *Water Res.* 1984;18(11):1421-7.
- Jacobs JH, Spaan S, van Rooy GB, Meliefste C, Zaat VA, Rooyackers JM, et al. Exposure to trichloramine and respiratory symptoms in indoor swimming pool workers. *Eur Respir J.* 2007 Apr;29(4):690-8.
- Kohlhammer Y, Döring A, Schäfer T, Wichmann HE, Heinrich J; KORA Study Group. Swimming pool attendance and hay fever rates later in life. *Allergy.* 2006 Nov;61(11):1305-9.
- Lagerkvist BJ, Bernard A, Blomberg A, Bergstrom E, Forsberg B, Holmstrom K, et al. Pulmonary epithelial integrity in children: relationship to ambient ozone exposure and swimming pool attendance. *Environ Health Perspect.* 2004 Dec;112(17):1768-71.
- Lahl U, Bätjer K, Düselen JV, Gabel B, Stachel B, Thiemann W. Distribution and balance of volatile halogenated hydrocarbons in the water and air of covered swimming pools using chlorine for water disinfection. *Water Res.* 1981;15(7):803-14.
- Liu AH, Murphy JR. Hygiene hypothesis: fact or fiction? *J Allergy Clin Immunol.* 2003 Mar;111(3):471-8.
- Marcinkiewicz J, Chain BM, Olszowska E, Olszowski S, Zgliczyński JM. Enhancement of immunogenic properties of ovalbumin as a result of its chlorination. *Int J Biochem.* 1991;23(12):1393-5.
- Massin N, Bohadana AB, Wild P, Héry M, Toamain JP, Hubert G. Respiratory symptoms and bronchial responsiveness in lifeguards exposed to nitrogen trichloride in indoor swimming pools. *Occup Environ Med.* 1998 Apr;55(4):258-63.
- Matsui E, Kagey-Sobotka A, Chichester K, Eggleston PA. Allergic potency of recombinant Fel d 1 is reduced by low concentrations of chlorine bleach. *J Allergy Clin Immunol.* 2003 Feb;111(2):396-401.
- Miyake Y, Yokoyama T, Yura A, Iki M, Shimizu T. Ecological association of water hardness with prevalence of childhood atopic dermatitis in a Japanese urban area. *Environ Res.* 2004 Jan;94(1):33-7.
- Musch MW, Walsh-Reitz MM, Chang EB. Roles of ZO-1, occludin, and actin in oxidant-induced barrier disruption. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2006 Feb;290(2):G222-31.
- Mustchin CP, Pickering CA. „Coughing water“: bronchial hyperreactivity induced by swimming in a chlorinated pool. *Thorax.* 1979 Oct;34(5):682-3.
- Nakamura TY, Yamamoto I, Nishitani H, Matozaki T, Suzuki

- T, Wakabayashi S, et al. Detachment of cultured cells from the substratum induced by the neutrophil-derived oxidant NH_2Cl : synergistic role of phosphotyrosine and intracellular Ca^{2+} concentration. *J Cell Biol.* 1995 Oct;131(2):509-24.
35. Nickmilder M, Bernard A. Ecological association between childhood asthma and availability of indoor chlorinated swimming pools in Europe. *Occup Environ Med.* 2007 Jan;64(1):37-46.
 36. Nieuwenhuijsen MJ. The chlorine hypothesis: fact or fiction? *Occup Environ Med.* 2007 Jan;64(1):6-7.
 37. Nodelman V, Ultman JS. Longitudinal distribution of chlorine absorption in human airways: comparison of nasal and oral quiet breathing. *J Appl Physiol.* 1999 Jun;86(6):1984-93.
 38. Nystad W, Njål F, Magnus P, Nafstad P. Baby swimming increases the risk of recurrent respiratory tract infections and otitis media. *Acta Paediatr.* 2003 Aug;92(8):905-9.
 39. Olszowska E, Olszowski S, Zgliczyński JM, Stelmaszyńska T. Enhancement of proteinase-mediated degradation of proteins modified by chlorination. *Int J Biochem.* 1989;21(7):799-805.
 40. Potts J. Factors associated with respiratory problems in swimmers. *Sports Med.* 1996 Apr;21(4):256-61.
 41. Prescott SL. Allergy: the price we pay for cleaner living? *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2003 Jun;90(6 Suppl 3):64-70.
 42. Rothery SP. Hazards of chlorine to asthmatic patients. *Br J Gen Pract.* 1991 Jan;41(342):39.
 43. Rotman HH, Fliegelman MJ, Moore T, Smith RG, Anglen DM, Kowalski CJ, et al. Effects of low concentrations of chlorine on pulmonary function in humans. *J Appl Physiol.* 1983 Apr;54(4):1120-4.
 44. Rutala WA, Weber DJ. Uses of inorganic hypochlorite (bleach) in health-care facilities. *Clin Microbiol Rev.* 1997 Oct;10(4):597-610.
 45. Schaub B, Lauener R, von Mutius E. The many faces of the hygiene hypothesis. *J Allergy Clin Immunol.* 2006 May;117(5):969-77;978.
 46. Schelegle ES, Miller LA, Gershwin LJ, Fanucchi MV, van Winkle LS, Gerriets JE, et al. Repeated episodes of ozone inhalation amplifies the effects of allergen sensitization and inhalation on airway immune and structural development in Rhesus monkeys. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2003 Aug 15;191(1):74-85.
 47. Schraufstatter IU, Browne K, Harris A, Hyslop PA, Jackson JH, Quehenberger O, et al. Mechanisms of hypochlorite injury of target cells. *J Clin Invest.* 1990 Feb;85(2):554-62.
 48. Sheikh A, Smeeth L, Hubbard R. There is no evidence of an inverse relationship between TH2-mediated atopy and TH1-mediated autoimmune disorders: Lack of support for the hygiene hypothesis. *J Allergy Clin Immunol.* 2003 Jan;111(1):131-5.
 49. Shusterman D, Balmes J, Avila PC, Murphy MA, Matovinovic E. Chlorine inhalation produces nasal congestion in allergic rhinitis without mast cell degranulation. *Eur Respir J.* 2003 Apr;21(4):652-7.
 50. Stav D, Stav M. Asthma and whirlpool baths. *N Engl J Med.* 2005 Oct 13;353(15):1635-6.
 51. Strachan DP. Family size, infection and atopy: the first decade of the „hygiene hypothesis“. *Thorax.* 2000 Aug;55 Suppl 1:S2-10.
 52. Tai HY, Tam MF, Chou H, Peng HJ, Su SN, Perng DW, et al. Pen h 13 allergen induces secretion of mediators and degradation of occludin protein of human lung epithelial cells. *Allergy.* 2006 Mar;61(3):382-8.
 53. Takizawa H. Bronchial epithelial cells in allergic reactions. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy.* 2005 Jun;4(3):305-11.
 54. Tatsumi T, Fliss H. Hypochlorous acid and chloramines increase endothelial permeability: possible involvement of cellular zinc. *Am J Physiol.* 1994 Oct;267(4 Pt 2):H1597-607.
 55. Tulić MK, Hamid Q. Contribution of the distal lung to the pathologic and physiologic changes in asthma: potential therapeutic target Roger S. Mitchell lecture. *Chest.* 2003 Mar;123(3 Suppl):348S-55S.
 56. Umetsu DT. Flu strikes the hygiene hypothesis. *Nat Med.* 2004 Mar;10(3):232-4.
 57. Von Mutius E. Is asthma really linked to atopy? *Clin Exp Allergy.* 2001 Nov;31(11):1651-2.
 58. Waltraud E, Markus JE, von Mutius E. The asthma epidemic. *N Engl J Med.* 2006 Nov;355(21):2226-35.
 59. Wan H, Winton HL, Soeller C, Tovey ER, Gruenert DC, Thompson PJ, et al. Der p 1 facilitates transepithelial allergen delivery by disruption of tight junctions. *J Clin Invest.* 1999 Jul;104(1):123-33.
 60. Westman E, Harris HE. Alteration of an autoantigen by chlorination, a process occurring during inflammation, can overcome adaptive immune tolerance. *Scand J Immunol.* 2004 May;59(5):458-63.
 61. Wills-Karp M, Santeliz J, Karp CL. The germless theory of allergic disease: revisiting the hygiene hypothesis. *Nat Rev Immunol.* 2001 Oct;1(1):69-75.
 62. Zwick H, Popp W, Budik G, Wanke T, Rauscher H. Increased sensitization to aeroallergens in competitive swimmers. *Lung.* 1990;168(2):111-5.

Catherine Voisin

Unit of Toxicology, Catholic University of Louvain

Avenue Mounier 53, bte 53-02

B-1200 Brussels

Belgium

E-mail: Catherine.Voisin@uclouvain.be