

Subproductes de la Desinfecció de l'Aigua Potable i Càncer de Bufeta Urinària

Cristina Villanueva Belmonte

Tesi doctoral
Setembre 2003

Acrònims	1
Índex de taules	3
Índex de figures	5
Resum (català)	7
Resumen (castellano)	13
Abstract (English)	15
1. INTRODUCCIÓ	25
1.1. Els subproductes de la cloració	28
Formació	28
Desinfectants alternatius i els seus subproductes	31
1.2. Característiques químiques	32
Trihalometans	32
Àcids acètics halogenats	34
MX	34
Acetonitrils halogenats	35
Hidrat de cloral	35
Haloacetones	35
Cloropicrina	35
Clorur i bromur de cianogen	36
1.3. Efectes en animals d'experimentació i metabolisme	36
Trihalometans	36
Àcids acètics halogenats	40
MX	42
Acetonitrils halogenats	44
Hidrat de cloral	44
Haloacetones	44
Cloropicrina	44
Clorur i bromur de cianogen	44
Altres	45
1.4. Efectes sobre la salut. Antecedents epidemiològics	46
1.4.1. Càncer	46
Càncer de bufeta	46
Càncer de còlon i recte	47
Altres càncers	48
1.4.2. Defectes reproductius	49
1.4.3. Efectes respiratoris	51
1.4.3. Consideracions metodològiques	52
Efectes de la mala classificació de l'exposició	52
1.5. El càncer de bufeta urinària	54
1.5.1. Aspectes clínics	54
Tipus histològics	54
Presentació clínica	54
Diagnòstic	54
Tractament	54
Evolució i història natural	54
1.5.2. Epidemiologia descriptiva. Incidència i mortalitat	55
1.5.3. Factors de risc	56
Tabac	56
Exposicions laborals	56
Dieta i consum de líquids	57
Alteracions urinàries	58
Antecedents mèdics i tractaments	59
Exposicions ambientals	60

2. JUSTIFICACIÓ	63
3. OBJECTIUS I HIPÒTESIS	67
4. METODOLOGIA	71
<i>PART I. Meta-anàlisi d'estudis sobre consum individual d'aigua clorada i càncer de bufeta</i>	
Cerca bibliogràfica	73
Dades	74
Anàlisi estadística	76
<i>PART II. Anàlisi de dades combinades (pooled analysis) d'estudis cas-control de càncer de bufeta i subproductes de la cloració</i>	
Selecció dels estudis	79
Dades disponibles	79
Informació d'exposició	80
Anàlisi estadística	82
<i>PART III: Estudi multicèntric espanyol cas-control de càncer de bufeta</i>	
4.1. Disseny i població d'estudi	85
4.2. Taxes de resposta	88
4.3. Avaluació de l'exposició	90
4.3.1. Nivells actuals de trihalometans i àcids acètics halogenats	90
<i>Mostreig</i>	90
<i>Anàlisi experimental</i>	90
<i>Correlació trihalometans/àcids acètics halogenats</i>	92
4.3.2. Dades retrospectives d'exposició	93
<i>Qüestionari a empreses d'aigua i ajuntaments</i>	93
<i>Procediment per seleccionar empreses i ajuntaments</i>	94
4.3.3. Estimació de nivells històrics de trihalometans	95
4.3.4. Informació individuals de casos i controls	97
4.3.5. Combinació de dades individuals amb dades municipals	98
4.3.6. Índexs d'exposició individuals	99
4.3. Anàlisi estadística	101
5. RESULTATS	103
<i>PART I. Meta-anàlisi d'estudis sobre consum individual d'aigua clorada i càncer de bufeta</i>	
.....	105
<i>PART II. Anàlisi de dades combinades (pooled analysis) d'estudis cas-control de càncer de bufeta i subproductes de la cloració</i>	
.....	113
<i>PART III: Estudi multicèntric espanyol cas-control de càncer de bufeta</i>	
5.1. Avaluació de l'exposició	121
5.1.1. Nivells actuals de trihalometans i àcids acètics halogenats. Anàlisis d'aigua	121
<i>THM a l'aigua potable tractada</i>	121
<i>HAA a l'aigua potable tractada</i>	122
<i>Correlació trihalometans/àcids acètics halogenats</i>	124
5.1.2. Informació històrica	126
<i>Informació d'origen de l'aigua i any inici cloració</i>	126
<i>Dades de THM</i>	128
5.1.3. Estimació de nivells històrics de trihalometans	130
5.2. Risc de càncer de bufeta per exposició a subproductes de la cloració	132

6. DISCUSSIÓ GENERAL	139
<i>Exposició a subproductes de la cloració a Espanya</i>	141
<i>Avaluació de l'exposició a l'estudi cas-control espanyol</i>	142
<i>Aspectes metodològics</i>	145
<i>Resultats globals</i>	147
<i>Diferència del risc entre homes i dones</i>	149
<i>Implicacions en salut pública</i>	151
<i>Recerca futura</i>	153
7. CONCLUSIONS	157
Referències	161
Annexes	
Article 1 CM Villanueva, F Fernandez, N Malats, JO Grimalt, and M Kogevinas. A meta-analysis of studies on individual consumption of chlorinated drinking water and bladder cancer. <i>Journal of Epidemiology and Community Health</i> 2003; 57(3):166-173	181
Article 2 CM Villanueva, KP Cantor, S Cordier, JJK Jaakkola, WD King, CF Lynch, S Porru, and M Kogevinas. Pooled analysis of case-control studies of bladder cancer and disinfection by-products. <i>Submitted</i>	191
Article 3 CM Villanueva, JO Grimalt, and M Kogevinas. Haloacetic acids and trihalomethane concentrations in finished drinking waters from different sources. <i>Water Research</i> 2003; 37(4):954-959	227
Article 4 CM Villanueva, KP Cantor, JO Grimalt, ..., and M Kogevinas. Retrospective exposure assessment to disinfection by-products in a multicentre case-control study of bladder cancer. <i>In preparation</i>	235
Article 5 CM Villanueva, KP Cantor, JO Grimalt (...), and M Kogevinas. Disinfection by-products and bladder cancer risk: a multicentre case-control study conducted in Spain <i>In preparation</i>	261
Article 6 CM Villanueva, M Kogevinas, JO Grimalt. Cloración del agua potable y efectos sobre la salud: revisión de estudios epidemiológicos. <i>Medicina Clínica</i> 2001; 117(1):27-35	273
Article 7 CM Villanueva, M Kogevinas, JO Grimalt. Cloración del agua potable en España y cáncer de vejiga. <i>Gaceta Sanitaria</i> 2001; 13(1):48-53 [abstract in English]	285
Llistat de patologies dels controls seleccionats per l'estudi cas-control espanyol	293
Imprès de consentiment pels pacients participants a l'estudi cas-control espanyol	297
<i>Consent form to the participants in the Spanish case-control study [English version]</i>	303
Esquema del procediment analític per a la determinació d'àcids acètics halogenats en mostres d'aigua	309
Qüestionari a empreses d'aigua	313
<i>Questionnaire to water companies [English version]</i>	333
Qüestionari a ajuntaments	353
Entrevista a casos i controls. Preguntes relacionades amb exposicions a través de l'aigua ...	363
<i>Interview to cases and controls. Questions related to exposures through water [English version]</i>	375

Sempre m'he emocionat quan veia o tocava la tesi doctoral d'un/a col·lega, per l'esforç i el temps invertit que representava. Ara em toca a mi. Aquest document és el fruit de la meva feina durant uns quants anys. Però també ha sigut possible gràcies a la col·laboració de moltes persones, que d'alguna manera o una altra han contribuït i han fet possible aquest treball.

Des del principi i en tot moment, en Manolis. Gràcies per dirigir la meva tesi doctoral, confiar en mi des del principi i transmetre'm el teu rigor científic. És tot un privilegi haver sigut doctoranda teva. He treballat amb una gran persona a més d'un molt bon director de tesi.

A en Joan Grimalt, gràcies per co-dirigir la tesi i acollir-me al teu laboratori. Pel teu caràcter càlid i pròxim, però a la vegada crític i rigorós. Ha sigut molt enriquidor treballar amb tu.

Thanks to Ken Cantor. It's been a pleasure working with you and learning from you. Thanks for sharing your knowledge with me.

Agraeixo a en Ricard Marcos que accedís a ser tutor de la meva tesi doctoral des de la UAB.

Una part gens menyspreable d'aquesta tesi la dec a tots els pacients que van acceptar participar a l'estudi. Gràcies a totes aquestes persones anònimes per la seva contribució.

Gràcies a la Núria Malats, per coordinar una de les parts principals de l'estudi i ser una persona tan accessible.

Els coordinadors d'àrea i tot l'equip que forma part de l'estudi multicèntric cas-control de bufeta heu fet possible tirar endavant el projecte. I com a una petita part d'aquest projecte, la meva tesi doctoral. Gràcies Consol Serra, Adonina Tardón, Reina García-Closas, Alfredo Carrato, i a tots a qui representeu en cada una de les àrees. Són molts noms per posar-los aquí, però us dono les gràcies a cada un de vosaltres. També agraeixo al Paco Real i en general a tots els investigadors principals de l'estudi per tirar endavant el projecte amb un esperit crític i constructiu.

Per la proximitat, agraeixo a l'Ana Alfaro la seva tasca en el treball de camp a l'àrea de Barcelona i al Paco Fernández pel suport estadístic i informàtic.

Gràcies a la Gemma Castaño per la coordinació de l'estudi a Barcelona i col·laborar en la recollida de dades dels ajuntaments i empreses d'aigua.

També ha sigut de gran ajuda la feina realitzada per la Marta Huguet a Barcelona, i la Natàlia des d'Astúries en la recollida de dades dels ajuntaments. Heu fet una mica més lleuger el treball de camp.

I've learned a lot from working in this big project coordinated also from the NCI. I'm grateful to Mustafa, Debra, and the rest of coordinators of the Spanish case-control study of bladder cancer from the NCI.

Agraeixo la col·laboració de les empreses d'aigua i ajuntaments que ens han proporcionat dades. M'agradaria destacar la col·laboració d'Aigües de Barcelona, i en especial les persones amb qui he tractat directament. Voldria que aquest treball no fos interpretat per part de les empreses d'aigua com una agressió a la seva funció. Sinó al contrari, un complement per millorar el seu servei.

Thanks to all the participants of the pooled analysis: Sylvaine Cordier, Jouni Jaakkola, Will King, Chuck Lynch, Ken Cantor and Stefano Porru to share your data with us and believe from the beginning in the project.

Dels meus inicis em venen al cap d'una manera especialment entranyable la Maria Sala a l'IMIM i l'Esther Marco al CSIC. Moltes gràcies a les dues per la vostra ajuda desinteressada.

No em vull deixar el Dave. El bomber i mag dels ordinadors. Ha sigut un gran suport tenir-te per qualsevol emergència.

També valoro molt i agraeixo l'ajuda desinteressada del Xavier Basagaña en respondre les meves qüestions estadístiques al llarg del temps que hem compartit sala. I l'ajut de la Laura Muñoz en alguna de les etapes de la meva feina.

Gràcies Josep M. Antó per acollir-me a la Unitat de Recerca Respiratòria i Ambiental, i gràcies Jordi Sunyer per dedicar-me alguns moments del teu temps. És un honor tenir a prop científics com vosaltres.

He tingut molt bons companys d'unitat. Ha sigut agradable compartir el meu temps amb els membres de la URRA, els que són i els que ja no hi són. També guardo un record entranyable de la meva curta etapa al CSIC, gràcies a la gent del Departament de Química Ambiental. Són molts noms i no em voldria deixar a ningú. Gràcies a tots.

Gràcies Gemma Perelló i Gemma Punyet pel vostre suport logístic. També s'agraeixen els esmorzars i altres activitats lúdiques promogudes per la comissió de festes de la URRA. Han amenitzat molts moments de treball a la sala.

També han amenitzat l'etapa pre-doctoral les sortides nocturnes amb gent d'epi: Merx, Núria, Laura, Diana, Marta, Marco, Miguel, Joan Vila, i a vegades el Sergi, l'Andy, el Leo, el Joan Fortuny... i altres

Els *coffee breaks* de mitja tarda i les converses amb l'Eli han ajudat a fer moltes jornades menys llargues.

Agraeixo la generositat del Joan Alguacil durant la meva estada pre-doc a Washington.

Les meves amistats també han aportat el seu granet de sorra extra laboral a aquest treball. Gràcies Martes, Silvia, Irma, Laia, Tresa, i encara que en la distància, també l'Anneta, la Mònica i la Trini. El vostre suport i incondicional en els moments menys fàcils ha sigut de gran ajuda.

I a la meva família. Sense ells no seria qui sóc.

Aquesta tesi s'emmarca en els següents projectes finançats per diferents organismes:

➤ Unió Europea.

- EPICURO. Environment and genetic factors in bladder cancer: a multicentric case-control study in Europe. EPICURO (EPIde miology of Cancer of the UROthelium). BIOMED. 1998-2001
- A quantitative international analysis of bladder cancer risk and drinking water. SANCO/G2. 2001-2002

➤ Fondo de Investigación Sanitaria (Ministerio de Sanidad y Consumo)

- Estudio caso-control sobre exposiciones ambientales asociadas al cáncer de vejiga (Estudio Epicuro). 2001-2002

➤ WESTAT INC

- Interdisciplinary bladder cancer case-control study in Spain. 1998-2000

Així com una beca predoctoral de formació d'investigadors (FI) concedida pel DURSI (Departament d'Universitats, Recerca i Societat de la Informació), Generalitat de Catalunya. 1999-2001.

ACRÒNIMS

CAPI	<i>Computer assisted personal interview</i> /Entrevista personal assistida per ordinador
CI	<i>Confidence interval</i> /Interval de confiança
CBP	<i>Chlorination By-Products</i> / Subproductes de la cloració
DBP	<i>Disinfection By-Products</i> / Subproductes de la desinfecció
DCAA	<i>Dichloroacetic acid</i> / Àcid dicloroacètic
EPICURO	<i>Epidemiology of Cancer of the Urothelium</i> / Epidemiologia del càncer de l'Uroteli
HAA	<i>Haloacetic acids</i> /Àcids acètics halogenats
IARC	<i>International Agency for Research on Cancer</i> / Agència Internacional per la recerca del càncer
MCAA	<i>Monochloroacetic acid</i> /àcid monocloroacètic
OMS	Organització Mundial de la Salut
OR	<i>Odds Ratio</i> /Raó d'odds
TCAA	<i>Trichloroacetic acid</i> / Àcid tricloroacètic
THM	<i>Trihalomethanes</i> / Tihalometans

ÍNDEX DE TAULES

1.1. Avaluacions de la IARC del potencial carcinogen en humans i nivells recomanats per la OMS pels diferents subproductes de la cloració	29
1.2. Nivells de THM ($\mu\text{g}/\text{l}$) a l'aigua potable de diversos països de la UE	33
1.3. Nivells màxims admissibles dels THM per diferents organismes legisladors	33
1.4. Nivells d'àcids acètics halogenats d'algunes mostres d'aigua potable	34
1.5. Resum de les avaluacions de la IARC del potencial carcinogen a humans i en animals pels subproductes de la cloració més importants	43
1.6. Estudis epidemiològics amb informació individual, que han avaluat el risc de càncer de bufeta per exposició a subproductes de la cloració	47
1.7. Estudis epidemiològics amb informació individual que avaluen l'associació entre exposició a aigua clorada i càncer de còlon i recte	48
1.8. Resum dels estudis epidemiològics sobre subproductes de la cloració i efectes reproductius adversos més estudiats	50
1.9. Comparació de riscos per a diferents mètodes de classificació de l'exposició, de més incompleta (mètode 1) a més completa (mètode 4)	53
4.1. Descripció dels estudis inclosos a la meta-anàlisi	75
4.2. Descripció dels estudis inclosos a l'anàlisi de dades combinades	80
4.3. Nivells mitjans i rang d'exposició a THM estimats ($\mu\text{g}/\text{L}$) pels casos i controls (exposats i no exposats) per estudi. Limitat als individus amb informació disponible d'exposició de $\geq 70\%$ de la finestra exposició.....	82
4.4. Hospitals participants a l'estudi	87
4.5. Taxes de resposta dels casos i controls	88
4.6. Distribució de les malalties del controls	89
4.7. Límits de detecció dels quatre trihalometans	92
4.8. Distribució del 50% de les persones-any de l'estudi	94
4.9. Percentatge de població amb informació coneguda d'exposició a THM de ≥ 70 , 80, 90 i 100% de les diferents finestres d'exposició.....	99
5.1. <i>Odds ratios</i> i intervals de confiança al 95% pels estudis inclosos a la meta-anàlisi, segons la duració de l'exposició a aigua potable clorada	105
5.2. Estimadors de risc combinats d'estudis que associen càncer de bufeta amb consum d'aigua potable clorada, estratificats per sexe i categoria d'exposició ...	107

5.3. Pendent de regressió dosi-resposta obtinguts per mínims quadrats no ponderats intra-estudi, i <i>odds ratios</i> combinades amb interval de confiança al 95% obtingudes per meta-anàlisi dels 5 pendents i els seus errors estàndard. Ambdós sexes.....	111
5.4. Característiques dels casos i controls de la població d'estudi conjunta	113
5.5. <i>Odds ratios</i> i intervals de confiança al 95% de càncer de bufeta per sexe i exposició mitja a THM durant una finestra d'exposició de 40 anys	114
5.6. <i>Odds ratios</i> i intervals de confiança al 95% de càncer de bufeta per gènere i exposició acumulada a THM	116
5.7. <i>Odds Ratios</i> i intervals de confiança al 95% pel càncer de bufeta i exposició mitjana a THM >1 µg/L en relació a individus exposats a ≤1 µg/L, per finestres d'exposició específiques. Homes i dones junts	119
5.8. <i>Odds ratios</i> i intervals de confiança al 95% de càncer de bufeta per sexe i duració d'exposició a aigua superficial clorada i aigua no clorada	120
5.9. Concentracions de trihalometans (µg/l) en les àrees d'estudi	121
5.10. Concentració d'àcids acètics halogenats (µg/l) a les àrees d'estudi	123
5.11. Coeficients de correlació de Spearman (r_p) entre THM i HAA específics	125
5.12. Origen de l'aigua subministrada actualment en les àrees de l'estudi. (dades provinents del qüestionari a les empreses)	126
5.13. Freqüència de municipis i persones-any segons els tipus d'informació disponible	127
5.14. Nivells de trihalometans (µg/l) a les zones d'estudi obtinguts per les empreses d'aigua i any que es comencen a analitzar	128
5.15. Dades de THM disponibles, obtingudes a partir dels qüestionaris a les companyies d'aigua	129
5.16. Comparació entre els nivells de THM determinats, els recollits per les empreses i els atribuïts retrospectivament a les principals ciutats de les àrees d'estudi	130
5.17. Descripció població de l'estudi multicèntric cas-control de càncer de bufeta	132
5.18. Distribució de la qualitat global de l'entrevista entre casos i controls	133
5.19. <i>Odds ratios</i> (OR) i intervals de confiança al 95% (95% CI) pel càncer de bufeta per gènere i diferents índexs d'exposició	134
5.20. <i>Odds ratios</i> (OR) i intervals de confiança al 95% (95% CI) pel càncer de bufeta per gènere i duració de la dutxa o el bany al mes	135

5.21. <i>Odds ratios</i> (OR) i intervals de confiança al 95% (95% CI) pel càncer de bufeta per gènere i assistència a piscines	136
5.22. <i>Odds ratios</i> (OR) i intervals de confiança al 95% (95% CI) pel càncer de bufeta per gènere i duració del temps a l'aigua de la piscina	137
5.23. <i>Odds ratios</i> i intervals de confiança al 95% pel càncer de bufeta per gènere i duració del temps equivalent a la dutxa, el bany o la piscina (total inhalació i absorció dèrmica)	137

ÍNDIX DE FIGURES

1.1. Fórmula química del MX	35
1.2. Distribucions internes de cloroform per incorporacions mitjanes diàries simulades ($\mu\text{g}/\text{l}$) per mares exposades a un nivell a l'aigua baix, mitjà i elevat	38
1.3. Concentració de cloroform en aigua vs. Concentració en aire exhalat després d'una dutxa (Jo <i>et al.</i> 1990)	39
1.4. Taxes anuals d'incidència estandarditzades en relació a la incidència mundial als nou registres de càncer d'Espanya (taxes per 100 000)	55
4.1. Àrees d'estudi	85
4.2. Esquema del sistema de purga i trampa	91
4.3. Exemple de situació de partida abans de fer l'avaluació retrospectiva de l'exposició a THM	95
5.1. <i>Odds ratios</i> , intervals de confiança al 95%, pes de l'estudi a la meta-anàlisi i estimador de risc combinat obtingut per meta-anàlisi de les OR dels estudis associant càncer de bufeta amb haver consumit alguna vegada aigua potable clorada. Homes i dones junts	106
5.2. <i>Odds ratios</i> , intervals de confiança al 95%, pes de l'estudi a la meta-anàlisi i estimador de risc combinat obtingut per meta-anàlisi de les OR dels estudis cas-control associant càncer de bufeta amb exposició de mig termini a aigua potable clorada. Homes i dones junts	108
5.3. <i>Odds ratios</i> , intervals de confiança al 95%, pes de l'estudi a la meta-anàlisi i estimador de risc combinat obtingut per meta-anàlisi de les OR dels estudis cas-control associant càncer de bufeta amb exposició de llarg termini a aigua potable clorada. Homes i dones junts	108
5.4. Gràfic de Galbraith per exposició a mig termini, ambdós sexes	109
5.5. Gràfic de Galbraith per exposició a llarg termini, ambdós sexes	109

5.6. Log (odds) i intervals de confiança al 95% pel càncer de bufeta i nivell mitjà d'exposició a THM ($\mu\text{g}/\text{L}$) utilitzant <i>natural spline</i> amb 3 graus de llibertat. Homes i dones junts	115
5.7. <i>Odds ratios</i> i intervals de confiança al 95% pel càncer de bufeta i exposició mitjana a THM per tots els estudis (esquerra), i subseqüentment exclouent cada estudi. Homes i dones junts	117
5.8. Meta-anàlisi d'OR estudi-específiques ajustades, per exposició mitjana a THM $>1 \mu\text{g}/\text{l}$ en la finestra d'exposició de 40 anys. 5.8.A. Homes i dones junts; 5.8.B. Homes; 5.8.C. Dones	117 118
5.9. Especiació dels trihalometans a les diferents zones d'estudi	122
5.10. Distribució proporcional dels àcids acètics halogenats per àrea	124
5.11. Diagrama de punts mostrant la correlació entre nivell total de THM i HAA ...	125
5.12. Log de la odds per exposició mitjana a THM. Ambdós sexes	135

RESUM

Antecedents: La cloració de l'aigua genera trihalometans (THM) i altres subproductes de la desinfecció (DBP) amb propietats mutàgenes i carcinògenes. L'exposició a llarg termini a aquests compostos s'ha associat amb un increment del risc de càncer de bufeta, però les evidències encara no són concloents. A part de la ingestió, la inhalació i l'absorció dèrmica són vies importants d'exposició que no han estat considerades en estudis epidemiològics sobre càncer de bufeta. A Espanya hi ha poca informació sistemàtica i disponible sobre els nivells d'aquests contaminants a l'aigua potable, i no s'han valorat els possibles efectes d'aquests compostos sobre la salut humana.

Objectius principals: (1) Determinar l'exposició a THM com a indicadors del total de subproductes de la cloració en la població d'estudi. (2) Estimar el risc de càncer de bufeta associat a l'exposició a THM.

Per assolir aquests objectius es van dur a terme una sèrie d'estudis, incloent una meta-anàlisi d'estudis publicats sobre exposició a DBP i càncer de bufeta; una anàlisi de dades combinades (*pooled analysis*) d'estudis amb informació quantitativa d'exposició a THM i càncer de bufeta; i finalment un estudi nou cas-control sobre exposició a DBP i càncer de bufeta a 4 àrees espanyoles, que inclou la determinació de THM en mostres actuals d'aigua potable, una recollida extensa d'informació sobre origen i tractament d'aigua, i nivells de THM històrics en diferents municipis i plantes potabilitzadores.

Metodologia:

(1) Meta-anàlisi d'estudis sobre consum individual d'aigua clorada i càncer de bufeta. Es va fer una cerca bibliogràfica a les bases de dades Medline, Cancerlit i Embase. Es van seleccionar estudis que avaluaven càncer de bufeta i pautes a llarg termini de consum individual d'aigua clorada. Vam incloure sis estudis cas-control (6084 casos incidents de càncer de bufeta, 10816 controls), i dos estudis cohort (121 casos incidents de càncer de bufeta) que complien els criteris d'inclusió. De cada estudi es van extreure les *odds ratios* (OR) o els riscos relatius (RR), més els intervals de confiança al 95% (95% CI) per sexe i categoria d'exposició. L'exposició es va definir com el consum d'aigua clorada i es va avaluar la duració del consum en anys. Quan no hi havia OR o RR pels dos sexes junts, aquest es calculava amb una meta-anàlisi dels riscos d'homes i dones. Els individus es van classificar segons si havien consumit alguna vegada aigua clorada o no. Pels articles sense OR o RR pels alguna vegada exposats, vam estimar el risc combinat per aquesta categoria d'exposició a través d'una meta-anàlisi dels estimadors de risc de les sub-categories exposades. Posteriorment es van utilitzar tres categories d'exposició que corresponien a un grup de no exposició o exposició baixa, i a grups de consum d'aigua clorada durant mig (1-40 anys) i llarg (>40 anys) termini, estratificat per sexe. Es va realitzar una meta-anàlisi per les diferents categories d'exposició. En una anàlisi alternativa vam estimar els pendents de regressió dosi-resposta per a cada estudi i pels dos sexes junts. Després es va fer una meta-anàlisi dels pendents i els seus errors estàndard per obtenir un pendent dosi-resposta combinat per a tots els estudis. Es va examinar la presència potencial de biaix de publicació a través de mètodes gràfics (Egger i Begg).

(2) Anàlisi de dades combinades (*pooled analysis*) de sis estudis cas-control de càncer de bufeta, que proporcionaven dades quantitatives sobre nivells d'exposició a THM i consum individual d'aigua. S'han inclòs dos estudis dels EEUU, i un de Canadà, França, Itàlia, i Finlàndia respectivament. Les dades dels 3 últims estudis no havien estat publicades prèviament. Es van extreure de les bases de dades originals variables sobre exposició i covariables que podien actuar com a confusores o modificadores d'efecte potencials: edat, sexe, hàbit tabàquic, haver treballat en ocupacions de risc, consum

elevat de cafè, educació i consum total de fluids. Les dades primàries s'han combinat tot seguint definicions i codificacions comunes. L'anàlisi inclou 2806 casos i 5254 controls amb exposició coneguda al menys del 70% de la finestra d'exposició definida de 5 a 45 anys abans de l'entrevista. Es van generar dos índexs d'exposició a THM: exposició mitjana ($\mu\text{g/l}$), calculada com la suma del nivell mitjà anual de THM any per any dividit entre els anys amb THM disponible; i un índex d'exposició acumulada a THM (mg), calculat com el producte de l'exposició mitjana amb el consum diari mitjà d'aigua (litres/dia). L'índex d'exposició mitjana reflexa l'exposició per totes les vies mentre que l'índex d'exposició acumulada és una millor aproximació de l'exposició a través de la ingestió. Les variables d'exposició es van tractar inicialment com a variables categòriques. S'estimà el risc pels mai exposats respecte els alguna vegada exposats. Posteriorment es van examinar diferents punts de tall i es va seleccionar el corresponent al percentil 15 dels individus exposats: 1 $\mu\text{g/l}$ d'exposició mitjana i 15 mg d'exposició acumulada a THM. Per examinar la tendència dosi-resposta els individus es van agrupar utilitzant quartils com els límits de les categories. Les OR i 95% CI es van calcular a través de regressió logística ajustant per estudi, sexe, àrea, edat, hàbit tabàquic, haver treballat en ocupacions de risc, educació i consum elevat de cafè (>5 tasses/dia), i addicionalment per consum total de fluids a l'anàlisi per exposició mitjana a THM. El patró dosi-resposta també es va examinar a través d'un model additiu generalitzat amb un "*natural spline*" per la variable contínua d'exposició a THM, ajustant per les covariables. Les anàlisis es van fer amb STATA v.7 i Splus 2000.

(3) Estudi multicèntric cas-control de càncer de bufeta.

3.1. Població d'estudi. Aquesta prové dels 18 hospitals participants a Astúries, Alacant, Barcelona i Tenerife. Els casos eren pacients diagnosticats per primera vegada d'un càncer de bufeta confirmat histològicament. Els controls eren d'origen hospitalari i s'aparellaven amb els casos per edat (període de 5 anys), sexe i zona de residència. Les patologies dels controls s'havien d'ajustar a un llistat establert prèviament, que exclouïa malalties relacionades amb els factors de risc pel càncer de bufeta. S'administrava una entrevista personal assistida per ordinador (CAPI) als casos i controls durant la seva estada a l'hospital. Es recollia informació sobre dades socio-demogràfiques, hàbit tabàquic, consum de cafè, exposicions ocupacionals, historial residencial (origen de l'aigua consumida a cada residència: municipal/embotellada/pou/altres), freqüència i duració de la dutxa, el bany i l'assistència a piscines, historial mèdic, antecedents familiars, dades de qualitat de vida, etc. També es realitzava una extracció de sang i de mostra d'ungla del peu, es lliurava un qüestionari alimentari i un diari de freqüència i pH urinaris. La taxa de resposta de l'entrevista respecte els individus identificats i elegibles va ser del 86% (84% casos, 88% controls). Dels individus amb entrevista, s'extreu mostra de sang, o rentat bucal si eren reticents a donar sang. S'obtenen mostres per analitzar DNA d'un 95.5% (98% casos, 93% controls). S'obté mostra d'ungla del 77% (79% casos, 75% controls), diari de pH i freqüència urinària del 72.5% (76% casos, 69% controls). La població final amb informació de l'entrevista és de 1226 casos i 1271 controls (87% homes, 13% dones), amb mitjana d'edat de 66 anys.

3.2. Avaluació de l'exposició. S'han fet determinacions de THM (cloroform, bromodiolometà, dibromoclorometà i bromoform) a 105 mostres d'aigua potable de les àrees d'estudi, a través de cromatografia de gasos. Es van analitzar 9 àcids acètics halogenats a una subconjunt de 18 mostres. Es va elaborar un qüestionari adreçat a empreses i un altre adreçat a ajuntaments per recollir dades retrospectives de THM, origen de l'aigua i any inici de la cloració dels municipis inclosos a l'estudi. Es va recollir informació d'origen de l'aigua i any d'inici de la cloració de 129 municipis, corresponent al 79% de persones-any de l'estudi. Es van estimar nivells de THM en el passat a nivell municipal. Abans de la cloració s'atribueix un nivell de 0 THM, després de l'any en que es comença a clorar s'atribueix el nivell mitjà de THM d'anys recents disponibles. Si l'origen de l'aigua canvia al llarg dels anys, el percentatge d'aigua superficial es fa servir com a ponderació. Si l'origen passa a 100% subterrani es fan servir nivells mitjans de municipis geogràficament propers amb aigua subterrània i dades de

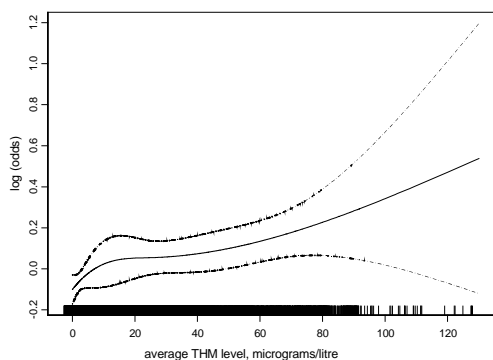
THM. La base de dades individual es combina amb la base de dades que conté THM municipals a través de les variables municipi i any. S'obté una base de dades amb nivells mitjans de THM per cada individu y any.

3.3. Anàlisi estadística. Hem seleccionat la finestra d'exposició definida des dels 15 anys fins a la data de l'entrevista. Es genera un índex d'exposició mitjana a THM sumant els nivells mitjans anuals de THM de la finestra d'exposició i dividint pels anys amb THM disponible. Aquest índex reflectiria una exposició a THM per totes les vies (ingestió, inhalació i absorció dèrmica). També es genera un índex d'exposició a THM per ingestió, multiplicant el nivell mitjà de THM per la mitjana de litres/dia d'aigua consumits, quan l'origen de l'aigua consumida era municipal. Quan l'origen de l'aigua consumida és d'ampolla, pou o altres orígens no municipals, l'índex d'exposició atribuït és zero. Es generen les variables de duració total a dutxa (hores/mes), bany (hores/mes) i piscines (hores/vida). Les variables contínues s'agrupen utilitzant quartils com a límits de les categories. Es calculen les *odds ratio* (OR) i intervals de confiança al 95% (95% CI) a través de regressió logística per categories d'exposició tot ajustant per àrea, gènere, edat, hàbit tabàquic, educació, consum de fruites i verdures, grau d'urbanicitat de la residència més llarga i qualitat global de l'entrevista. Per l'anàlisi de duració de dutxa i bany s'ajusta addicionalment pel nivell mitjà de THM. El patró dosi-resposta també es va examinar a través d'un model additiu generalitzat amb un "natural spline" per la variable contínua d'exposició mitjana a THM, ajustant per les covariables. Les anàlisis es limiten als individus amb informació d'exposició del 70% o més de la finestra d'exposició. S'exclouen de l'anàlisi els individus amb qualitat global de l'entrevista qüestionable o insatisfactòria. Les anàlisis es van fer amb STATA v.7 i Splus 2000.

Resultats:

(1) Meta-anàlisi d'estudis sobre consum individual d'aigua clorada i càncer de bufeta. Haver consumit alguna vegada aigua clorada s'associa amb un increment del risc de càncer de bufeta en homes (OR combinada=1.4, 95%CI=1.1-1.9) i dones (OR combinada=1.2, 95%CI=0.7-1.8). La OR combinada per exposició a mig termini era 1.3 (95% CI=1.0-1.7) en homes i 1.0 (95% CI=0.7-1.6) en dones. Per llarg termini era de 1.6 (95% CI=1.2-2.2) en homes i 1.4 (95% CI=0.6-3.6) en dones. L'estimador combinat del pendent dosi-resposta per un increment lineal del risc era 1.13 (95% CI=1.08-1.20) per 20 anys i 1.27 (95% CI=1.17-1.43) per 40 anys d'exposició en ambdós gèneres. No es va trobar evidència de biaix de publicació. No hi havia heterogeneïtat estadística en les anàlisis de la població conjunta, però existia heterogeneïtat estadística en les anàlisis estratificades per sexe. Les diferències en l'avaluació de l'exposició i els baixos nombres (especialment per dones), són probablement les principals fonts d'heterogeneïtat dels resultats entre estudis.

(2) Anàlisi de dades combinades (*pooled analysis*) de sis estudis cas-control de càncer de bufeta. Les *odds ratios* (OR) ajustades en homes exposats a més de 1 µg/l de THM comparats amb els no exposats o exposats a menys de 1 µg/l de THM, era de 1.24 (95% CI=1.09-1.41). S'observa un increment del risc amb exposició creixent, amb una OR de 1.44 (95%CI=1.20-1.73) per exposicions superiors a 50 µg/l (valor p de tendència lineal <0.001). En les dones, l'exposició a THM no s'associa amb un increment del càncer de bufeta, amb una interacció estadísticament significativa entre exposició i gènere (valor p d'interacció entre exposició i sexe=0.002). Els resultats per exposició acumulada a THM va ser similars. No es va observar heterogeneïtat d'efectes entre estudis, per l'anàlisi global i per sexes. Es van realitzar meta-anàlisis de les OR ajustades estudi-específiques per exposició mitjana i acumulada a THM, i les OR obtingudes eren molt similars a les que donava la regressió logística ajustant per estudi. El valor p d'heterogeneïtat de l'estadístic Q era de 0.164 per exposició mitjana i de 0.329 per exposició acumulada a THM, homes i dones junts. El model additiu generalitzat amb



el *spline* natural per exposició mitjana a THM mostra una tendència dosi-resposta positiva (veure figura), incrementant-se el log(odds) -eix Y- amb increment de l'exposició mitjana a THM -eix X- (homes i dones junts). La gràfica està ajustada per estudi, sexe, edat, hàbit tabàquic, educació, haver treballat en ocupacions de risc, consum elevat de cafè (>5 tasses/dia) i consum total de fluids.

Es va calcular la OR combinada excloent un estudi cada vegada. Els resultats mostren que la OR global no depenia d'un sol estudi. Vam examinar si el risc de càncer de bufeta s'associava amb finestres d'exposició específiques. Es van avaluar quatre períodes d'exposició dintre de la finestra de 40 anys considerada: de 5 a 14 anys abans de l'entrevista, de 15 a 24 anys, de 25 a 34 anys, i de 35 a 45 anys. Tots els períodes s'associaven amb un increment del risc. L'anàlisi es va repetir ajustant per la resta de períodes, mostrant que l'excés de risc s'associava amb exposicions primerenques, 25 anys abans de l'entrevista. Es van calcular OR per exposició a THM estratificant per hàbit tabàquic, mostrant que el risc era similar entre els mai fumadors i els actuals.

(3) Estudi multicèntric cas-control de càncer de bufeta.

Hi ha diferències regionals en els nivells totals i la composició dels THM. Les àrees d'estudi amb major exposició són Alacant i Barcelona amb nivells mitjans de THM al 1999 de 85.9 i 63.5 µg/l respectivament. Tenerife presenta els nivells més baixos (8.0 µg/l) i Astúries presenta nivells intermedis/baixos (22.3 µg/l). Alacant i Barcelona també tenen una elevada proporció de THM bromats o cloro-bromats (>50%). Tenerife té la proporció de THM bromats més elevada (>95%). Astúries presenta una elevada proporció de cloroform (>50%). Trobem un increment monòton del risc en homes per exposició mitjana a THM (valor p de tendència lineal=0.006), i exposició a THM per ingestió (valor p de tendència lineal=0.030). La *odds ratio* en homes per exposició mitjana a THM per ingestió superior a 35 µg/dia en relació a 0 µg/dia era de 1.55 (95% CI=1.02-2.35) (veure taula). No es va trobar associació amb duració acumulada de bany o dutxa. L'assistència a piscines es va associar amb un increment del risc estadísticament significatiu en homes. Aquells que han estat a la piscina més de 630 hores durant la vida tenen una OR de 2.08 (95% CI=1.06-4.09) respecte els que mai havien nedat (valor p de tendència lineal=0.007).

	Homes		Dones		Tots
	OR (95% CI)	Cas./Con.	OR (95% CI)	Cas./Con.	OR (95% CI)
<i>Exposició mitjana a THM. Nivell mitjà de THM a la finestra d'exposició (µg/l)</i>					
≤8.0	1.00	137/171	1.00	24/25	1.00
>8.0, ≤26.0	1.45 (0.89-2.36)	141/158	0.39 (0.12-1.28)	19/33	1.18 (0.76-1.85)
>26.0, ≤49.0	2.16 (1.25-3.74)	184/160	1.04 (0.28-3.88)	23/22	1.84 (1.12-3.02)
>49.0	2.41 (1.16-4.99)	158/180	1.48 (0.24-9.28)	25/22	1.99 (1.03-3.86)
<i>p-trend</i>	0.006		0.693		0.012
<i>Exposició a THM per ingestió. Nivell mitjà de THM a la finestra d'exposició (µg/dia)</i>					
0	1.00	119/140	1.00	28/19	1.00
>0, ≤10	0.99 (0.67-1.48)	119/124	0.58 (0.17-2.03)	17/18	0.92 (0.63-1.33)
>10, ≤35	1.28 (0.85-1.92)	132/119	0.61 (0.18-2.03)	14/16	1.15 (0.78-1.67)
>35	1.55 (1.02-2.35)	131/114	0.63 (0.19-2.04)	17/18	1.35 (0.92-1.98)
<i>p-trend</i>	0.030		0.403		0.110

Conclusions principals:

Sobre l'exposició:

1. Algunes poblacions espanyoles estan altament exposades als subproductes de la cloració, tant en l'actualitat com en el passat
2. Les àrees mediterrànies tenen els majors nivells THM de l'estudi. Tenerife té els nivells més baixos, i Astúries presenta nivells de THM intermedis/baixos.
3. A nivell municipal i generalitzant, existeix bastant desconeixement i poc control sobre nivells de THM. Les grans ciutats són les que porten un control més estricte dels nivells d'aquests compostos.

Sobre el risc de càncer de bufeta:

4. Els resultats conjunts de l'estudi multicèntric cas-control, l'anàlisi de dades combinades i la meta-anàlisi reforcen la hipòtesi que l'exposició a aigua clorada i/o a THM a llarg termini, a nivells que s'observen en molts països industrialitzats s'associa amb un increment del risc de càncer de bufeta.
5. El gènere és un modificador de l'efecte important, amb una associació positiva i estadísticament significativa observada només en homes.
6. Els riscos observats són moderadament elevats, però donat que la major part de la població està exposada, el risc atribuïble associat podria ser important.
7. Trobem una associació entre assistència a piscines i risc de càncer de bufeta. Aquests resultats s'han d'interpretar amb precaució donat que és el primer estudi que avalua aquestes vies d'exposició i calen estudis específics per confirmar aquesta troballa.

RESUMEN

Antecedentes: La cloración del agua genera trihalometanos (THM) y otros subproductos de la desinfección (DBP) mutágenos y carcinógenos. La exposición a largo plazo a estos compuestos se ha asociado a un incremento del riesgo de cáncer de vejiga, pero las evidencias no son concluyentes. A parte de la ingestión, la inhalación y la absorción dérmica son vías importantes de exposición que no han sido consideradas en estudios epidemiológicos sobre cáncer de vejiga. En España hay poca información sistemática y disponible sobre niveles de estos contaminantes en el agua potable, y no se han valorado los posibles efectos de estos compuestos sobre la salud humana.

Objetivos principales: (1) Determinar la exposición a THM como indicador del total de subproductos de la cloración en la población de estudio. (2) Estimar el riesgo de cáncer de vejiga asociado a la exposición a THM.

Para alcanzar estos objetivos se llevaron a cabo una serie de estudios, incluyendo un meta-análisis de estudios publicados sobre exposición a DBP y cáncer de vejiga; un análisis de datos combinados (*pooled analysis*) de estudios con información cuantitativa de exposición a THM y cáncer de vejiga; y finalmente un estudio nuevo caso-control sobre exposición a DBP y cáncer de vejiga en 4 áreas españolas, que incluye la determinación de THM en muestras actuales de agua potable, una recogida extensa de información sobre origen y tratamiento de agua, y niveles de THM históricos en diferentes municipios y plantas potabilizadoras.

Metodología:

(1) Meta-análisis de estudios sobre consumo individual de agua clorada y cáncer de vejiga. Se realizó una búsqueda bibliográfica en las bases de datos Medline, Cancerlit y Embase. Seleccionamos estudios que evaluaban cáncer de vejiga y pautas a largo plazo de consumo individual de agua clorada. Incluimos seis estudios caso-control (6084 casos incidentes de cáncer de vejiga, 10816 controles), y dos estudios cohorte (121 casos incidentes de cáncer de vejiga) que cumplían los criterios de inclusión. De cada estudio se extrajeron las odds ratio (OR) o riesgos relativos (RR), más los intervalos de confianza al 95% (95% CI) por sexo y categoría de exposición. La exposición se definió como el consumo de agua clorada y se evaluó la duración del consumo en años. Cuando no había OR o RR para los dos sexos juntos, éste se calculaba con un meta-análisis de los riesgos de hombres y mujeres. Los individuos se clasificaron según si habían consumido alguna vez agua clorada o no. Para los artículos sin OR o RR para los expuestos alguna vez, se estimó el riesgo combinado para esta categoría de exposición a través de un meta-análisis de los estimadores de riesgo de las sub-categorías expuestas. Posteriormente se usaron tres categorías de exposición: grupos de no exposición o exposición baja y consumo de agua clorada durante medio (1-40 años) y largo (>40 años) plazo, estratificado por sexo. Se realizó un meta-análisis para las diferentes categorías de exposición. En un análisis alternativo se estimaron las pendientes de regresión dosis-respuesta para cada estudio y para los dos sexos juntos. Después se hizo un meta-análisis de las pendientes de regresión y sus errores estándar para obtener una pendiente dosis-respuesta combinada para todos los estudios. Se examinó la presencia potencial de sesgo de publicación a través de métodos gráficos (Egger y Begg.)

(2) Análisis de datos combinados (*pooled analysis*) de seis estudios caso-control de cáncer de vejiga, que proporcionaban datos cuantitativos sobre niveles de exposición a THM y consumo individual de agua. Incluimos dos estudios de EEUU y uno de Canadá, Francia, Italia y Finlandia respectivamente. Los datos de los 3 últimos estudios no habían sido publicados anteriormente. Se extrajeron de las bases de datos originales variables de exposición y covariables que podían actuar como confusoras o

modificadoras de efecto potenciales: edad, sexo, estatus tabáquico, haber trabajado en ocupaciones de riesgo, consumo elevado de café, educación y consumo total de fluidos. Los datos primarios se combinaron siguiendo definiciones y codificaciones comunes. El análisis incluye 2806 casos y 5254 controles con exposición conocida al menos del 70% de la ventana de exposición definida de 5 a 45 años antes de la entrevista. Se generaron dos índices de exposición a THM: exposición media ($\mu\text{g/l}$), calculada como la suma año por año del nivel medio anual de THM dividido entre los años con THM disponibles; y un índice de exposición acumulada a THM (mg), calculado como el producto de la exposición media con el consumo diario medio de agua (litros/día). El índice de exposición media refleja la exposición por todas las vías mientras que el índice de exposición acumulada es una mejor aproximación de la exposición por ingestión. Las variables de exposición se trataron inicialmente como variables categóricas. Se estimó el riesgo para los nunca expuestos respecto los alguna vez expuestos. Posteriormente se examinaron diferentes puntos de corte y se seleccionó el correspondiente al percentil 15 de los individuos expuestos: 1 $\mu\text{g/l}$ de exposición media y 15 mg de exposición acumulada a THM. Para examinar la tendencia dosis-respuesta los individuos se agruparon utilizando cuartiles como límites de las categorías. Las OR y 95% CI se calcularon por regresión logística ajustando por estudio, género, área, edad, estatus tabáquico, haber trabajado en ocupaciones de riesgo, educación y consumo elevado de café (>5 tazas/día), y adicionalmente por consumo total de fluidos en el análisis de exposición media a THM. El patrón dosis-respuesta también se examinó a través de un modelo aditivo generalizado con un "natural spline" para la variable continua de exposición a THM, ajustando por las covariables. Los análisis se realizaron con STATA v.7. y Splus 2000.

(3) Estudio multicéntrico caso-control de cáncer de vejiga.

3.1. Población de estudio. Ésta proviene de los 18 hospitales participantes en Asturias, Alicante, Barcelona y Tenerife. Los casos eran pacientes diagnosticados por primera vez de un cáncer de vejiga confirmado histológicamente. Los controles eran de origen hospitalario y se apareaban con los casos por edad (periodo de 5 años), sexo y zona de residencia. Las patologías de los controles se ajustaban a una lista establecida previamente, excluyendo enfermedades relacionadas con los factores de riesgo para el cáncer de vejiga. Se administraba una entrevista personal asistida por ordenador (CAPI) a casos y controles durante su estancia en el hospital. Se recogía información sobre datos socio-demográficos, hábito tabáquico, consumo de café, exposiciones laborales, historial residencial (y origen del agua consumida en cada residencia: municipal/embotellada/pozo/otras), frecuencia y duración de la ducha, baño y asistencia a piscinas, historial médico, antecedentes familiares, datos de calidad de vida, etc. También se realizaba una extracción de sangre y muestra de uña de pie, se entregaba un cuestionario alimentario y un diario de frecuencia y pH urinarios. La tasa de respuesta de la entrevista respecto los individuos identificados elegibles fue del 86% (84% casos, 88% controles). De los individuos con entrevista, se extrae muestra de sangre, o lavado bucal si eran reticentes a donar muestra de sangre. Se obtienen muestras para analizar DNA de un 95.5% (98% casos, 93% controles). Se obtiene muestra de uña del 77% (79% casos, 75% controles), diario de pH y frecuencia urinaria del 60.5% (65% casos, 56% controles) y cuestionario alimentario del 72.5% (76% casos, 69% controles). La población final con entrevista es de 1226 casos y 1271 controles (87% hombres, 13% mujeres), con media de edad de 66 años.

3.2. Evaluación de la exposición. Se han hecho determinaciones de THM (cloroformo, bromodiclorometano, dibromoclorometano y bromoformo) a 105 muestras de agua potable de las áreas de estudio, a través de cromatografía de gases. Se analizaron 9 ácidos acéticos halogenados a un subconjunto de 18 muestras. Se elaboró un cuestionario dirigido a empresas de agua y otro dirigido a ayuntamientos para recoger datos retrospectivos sobre THM, origen del agua y año de inicio de la cloración de los municipios incluidos en el estudio. Se recogió información de 129 municipios,

correspondiente al 79% de las personas-año del estudio. Se estimaron niveles de THM en el pasado a nivel municipal. Antes de la cloración se atribuye un nivel de 0 THM, después del año que se empieza a clorar se atribuye el nivel medio de THM de años recientes disponibles. Si el origen cambia, el porcentaje de agua superficial se usa como ponderación. Si el origen pasa a 100% subterránea se aplican los niveles medios de municipios geográficamente cercanos con agua subterránea y datos de THM. La base de datos individual se combina con la base de datos que contiene THM municipales a través de las variables municipio y año. Se obtiene una base de datos con niveles medios de THM para cada individuo y año.

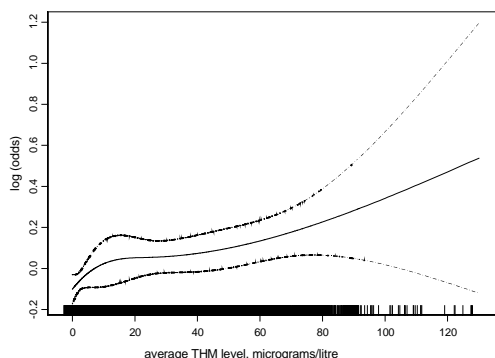
3.3. Análisis estadístico. Hemos seleccionado la ventana de exposición definida desde los 15 años hasta la fecha de la entrevista. Se genera un índice de exposición media a THM sumando los niveles medios anuales de THM de la ventana de exposición y dividiendo por los años con THM disponible. Es índice reflejaría una exposición a THM por todas las vías (ingestión, inhalación y absorción dérmica). También se genera un índice de exposición a THM por ingestión, multiplicando el nivel medio de THM por la media de litros/día de agua consumidos, cuando el origen del agua consumida era municipal. Si el origen del agua consumida era de botella, pozo o otros orígenes no municipales, el índice atribuido es cero. Se generan las variables de duración total a ducha (horas/mes), baño (horas/mes) y piscinas (horas/vida). Las variables continuas se agrupan utilizando cuartiles como límites de las categorías. Se calculan las *odds ratio* (OR) e intervalos de confianza al 95% (95% CI) por categorías de exposición a través de regresión logística ajustando por área, sexo, edad, estatus tabáquico, educación, consumo de frutas y verduras y grado de urbanicidad de la residencia más larga. Para el análisis de duración de ducha y baño se ajusta adicionalmente por el nivel medio de THM. El patrón dosis-respuesta también se examinó a través de un modelo aditivo generalizado con un "*natural spline*" para la variable continua de exposición media a THM, ajustando por las covariables. Los análisis se limitan a los individuos con información de exposición $\geq 70\%$ de la ventana de exposición. Se excluyen del análisis los individuos con calidad global de la entrevista cuestionable o insatisfactoria. Los análisis se realizaron con STATA v.7 y Splus 2000.

Resultados:

(1) Meta-análisis de estudios sobre consumo individual de agua clorada y cáncer de vejiga. Haber consumido alguna vez agua clorada se asocia con un incremento del riesgo de cáncer de vejiga en hombres (OR combinada=1.4, 95%CI=1.1-1.9) y mujeres (OR combinada=1.2, 95%CI=0.7-1.8). La OR combinada por exposición a medio plazo era 1.3 (95%CI=1.0-1.7) en hombres y 1.0 (95%CI=0.7-1.6) en mujeres. Para largo plazo era de 1.6 (95%=1.2-2.2) en hombres y 1.4 (95%CI=0.6-3.6) en mujeres. El estimador combinado de la pendiente dosis-respuesta por incremento lineal del riesgo era 1.13 (95%CI=1.08-1.20) para 20 años y 1.27 (95%CI=1.17-1.43) para 40 años de exposición en ambos géneros. No se detectó sesgo de publicación. No había heterogeneidad estadística en los análisis de la población conjunta, pero existía heterogeneidad estadística en análisis estratificados por sexo. Las diferencias en la evaluación de la exposición y los pocos números (en mujeres especialmente), son probablemente las principales fuentes de heterogeneidad de los resultados.

(2) Análisis de datos combinados (*pooled analysis*) de seis estudios caso-control de cáncer de vejiga. Las OR ajustadas en hombres expuestos a más de 1 $\mu\text{g/l}$ de THM, comparados con los no expuestos o expuestos a menos de 1 $\mu\text{g/l}$, era de 1.24 (95% CI=1.09-1.41). Se observa un incremento del riesgo con exposición creciente, con una OR de 1.44 (95%CI=1.20-1.73) por exposiciones superiores a 50 $\mu\text{g/l}$ (valor p de tendencia lineal<0.001). En mujeres, la exposición a THM no se asocia con un incremento del cáncer de vejiga, con una interacción estadísticamente significativa entre exposición y género (valor p de interacción entre exposición y sexo=0.002). Los resultados por exposición acumulada a THM fueron similares. No se observó

heterogeneidad de efectos entre estudios, para el análisis global y por sexos. Se hizo un meta-análisis de las OR ajustadas estudio-específicas por exposición media y acumulada a THM, y las OR obtenidas eran muy similares a las que resultaban de la regresión logística ajustando por estudio. El valor p de heterogeneidad del estadístico Q era de 0.164 por exposición media a THM y de 0.329 para exposición acumulada a THM, hombres y mujeres juntos.



El modelo aditivo generalizado con *natural spline* para exposición media a THM muestra una tendencia dosis-respuesta positiva (ver figura), aumentando el log(odds) -eje Y- con el incremento de la exposición media a THM -eje X- (hombres y mujeres juntos). La gráfica está ajustada por estudio, sexo, edad, estatus tabáquico, educación, haber trabajado en ocupaciones de riesgo, consumo elevado de café (>5 tazas/día) y consumo total de fluidos.

Se calculó la OR combinada excluyendo un estudio cada vez. Los resultados muestran que la OR global no dependía de un solo estudio. Examinamos si el riesgo de cáncer de vejiga se asociaba con ventanas de exposición específicas. Se evaluaron cuatro periodos de exposición dentro de la ventana de exposición de 40 años considerada: de 50 a 14 años antes de la entrevista, de 15 a 24 años, de 25 a 34 años, y de 35 a 45 años. Todos los periodos se asociaban con un incremento del riesgo. El análisis se repitió ajustando por el resto de periodos, mostrando que el exceso de riesgo se asociaba con exposiciones tempranas, 25 años antes de la entrevista. Se calcularon OR por exposición a THM estratificando por estatus tabáquico, mostrando que el riesgo era similar entre los nunca fumadores y los fumadores actuales.

(3) Estudio multicéntrico caso-control de cáncer de vejiga.

Hay diferencias regionales en los niveles totales y la composición de los THM. Las áreas de estudio con mayor exposición son Alicante y Barcelona con niveles medios de THM en 1999 de 85.9 y 63.5 µg/l respectivamente. Tenerife muestra los niveles más bajos (8.0 µg/l). Asturias tiene niveles intermedios/bajos (22.3 µg/l). Alicante y Barcelona también muestran una elevada proporción de THM bromados o clorobromados (>50%). Tenerife tiene la proporción de THM bromados más elevada (>95%). Asturias presenta una elevada proporción de cloroformo (>50%). Encontramos un incremento del riesgo monótono en hombres por exposición media a THM (valor p de tendencia lineal=0.006), y exposición a THM por ingestión (valor p de tendencia lineal=0.030). La OR en hombres por exposición media a THM por ingestión superior a 35 µg/l en relación a 0 µg/l era de 1.55 (95% CI=1.02-2.35) (ver tabla). No se encontró asociación con duración acumulada de baño o ducha. La asistencia a piscinas se asoció con un incremento del riesgo en hombres. Aquellos que han estado en la piscina más de 630 horas durante la vida tienen una OR de 2.08 (95% CI=1.06-4.09) respecto los que nunca habían ido a la piscina (p valor de tendencia lineal=0.007).

	Hombres		Mujeres		Todos
	OR (95% CI)	Cas./Con.	OR (95% CI)	Cas./Con.	OR (95% CI)
<i>Exposición media a THM. Nivel medio de THM en la ventana de exposición (µg/l)</i>					
≤8.0	1.00	137/171	1.00	24/25	1.00
>8.0, ≤26.0	1.45 (0.89-2.36)	141/158	0.39 (0.12-1.28)	19/33	1.18 (0.76-1.85)
>26.0, ≤49.0	2.16 (1.25-3.74)	184/160	1.04 (0.28-3.88)	23/22	1.84 (1.12-3.02)
>49.0	2.41 (1.16-4.99)	158/180	1.48 (0.24-9.28)	25/22	1.99 (1.03-3.86)
<i>p-trend</i>	0.006		0.693		0.012

Exposición a THM por ingestión. Nivel medio de THM en la ventana de exposición (µg/día)

0	1.00	119/140	1.00	28/19	1.00
>0, ≤10	0.99 (0.67-1.48)	119/124	0.58 (0.17-2.03)	17/18	0.92 (0.63-1.33)
>10, ≤35	1.28 (0.85-1.92)	132/119	0.61 (0.18-2.03)	14/16	1.15 (0.78-1.67)
>35	1.55 (1.02-2.35)	131/114	0.63 (0.19-2.04)	17/18	1.35 (0.92-1.98)
<i>p-trend</i>	0.030		0.403		0.110

Conclusiones principales:

Sobre la exposición:

1. Algunas poblaciones españolas están altamente expuestas a los subproductos de la cloración, tanto en la actualidad como en el pasado.
2. Las áreas mediterráneas tienen los mayores niveles de THM del estudio. Tenerife tiene los niveles más bajos, y Asturias presenta niveles intermedios/bajos.
3. A nivel municipal y generalizando, existe bastante desconocimiento y poco control sobre los niveles de THM. Las ciudades grandes son las que llevan un control más estricto de los niveles de estos compuestos.

Sobre el riesgo de cáncer de vejiga:

4. En conjunto, los resultados del estudio multicéntrico caso-control, el análisis de datos combinados y el meta-análisis refuerzan la hipótesis que la exposición a agua clorada y/o a THM a largo plazo, a niveles que se observan en muchos países industrializados se asocia con un incremento del riesgo de cáncer de vejiga.
5. El género es un modificador del efecto importante, con una asociación positiva y estadísticamente significativa observada sólo en hombres.
6. Los riesgos observados son moderadamente elevados, pero dado que la mayor parte de la población está expuesta, el riesgo atribuible podría ser importante.
7. Encontramos incremento de riesgo de cáncer de vejiga por asistencia a piscinas. Estos resultados deben interpretarse con precaución ya que es el primer estudio que evalúa estas vías de exposición y se necesitan estudios específicos que los confirmen.

ABSTRACT

Background: Chlorination of drinking water generates trihalomethanes (THM) and other disinfection by-products (DBP) with mutagenic and carcinogenic properties. Long-term exposure to these compounds has been associated with an increased bladder cancer risk, but evidence is not conclusive yet. Apart from ingestion, inhalation and dermal absorption are important exposure pathways not previously considered in epidemiological studies of bladder cancer. There is little systematic and available information in Spain about the level of these pollutants in drinking water, and the potential effects on human health have not been assessed.

Main objectives: (1) Assess the THM exposure in the study population, as a marker of total chlorination by-product level. (2) Estimate the bladder cancer risk associated to THM exposure, as a marker of chlorination by-product exposure.

To reach these objectives we conducted a series of studies, including a meta-analysis of published studies about DBP exposure and bladder cancer; a pooled analysis of studies with quantitative information on THM exposure and bladder cancer; and finally, a new case-control study on DBP exposure and bladder cancer conducted in 4 Spanish areas. This study included the measurement of DBP levels in current drinking water samples, an extensive collection of information on water source and treatment, and historical THM levels in the municipalities and water treatment plants from the study areas.

Methodology:

(1) Meta-analysis of studies about chlorinated drinking water consumption and bladder cancer. We did a bibliographic search in the Medline, Cancerlit and Embase databases. We selected studies evaluating individual long-term patterns of chlorinated drinking water consumption and bladder cancer. Six case-control studies were included (6.084 incident bladder cancer cases, 10.816 controls) and two cohort studies (124 incident bladder cancer cases) fulfilling the inclusion criteria. For each study, odds ratios (OR) or relative risks (RR) plus 95% confidence intervals (95% CI) by sex and exposure category were extracted. Exposure was defined as chlorinated drinking water consumption, and duration of consumption in years was assessed. When overall risk was not reported, it was calculated by us through a meta-analysis of male and female risks. Subjects were classified as whether they ever consumed or not chlorinated drinking water. When not presented in the original papers, combined risk estimates for ever-consumers were estimated through a meta-analysis of published risk estimates for exposed subcategories. Those exposed were further grouped in three categories: no/low exposure, mid-term (1-40 years) and long-term (>40 years) exposure consumption of chlorinated water, stratified by sex when possible. We performed meta-analysis for the different exposure categories. In an alternative analysis we estimated the dose-response regression slopes of each study for both sexes. We then performed a meta-analysis of the slopes and their standard errors to get a combined dose-response slope for all the studies. We checked for publication bias through graphical methods (Egger and Begg).

(2) Pooled analysis of six case-control studies on bladder cancer and chlorination by-products, providing quantitative data about THM exposure levels and individual water consumption. Two studies were included from the USA, and one each from Canada, France, Italy and Finland. The data of the last 3 studies was not previously published. We extracted from the original databases exposure information and covariates that might act as potential confounders or effect modifiers: age, sex, smoking status, ever worked in high-risk occupations, coffee consumption and total fluid intake. Primary data were combined using common definitions and coding. The analysis included 2806 cases and 5254 controls with known exposure for at least 70% of an exposure window of

40 years prior to interview. We created two THM exposure indices: average exposure ($\mu\text{g}/\text{l}$), calculated as the sum of the year-by-year annual mean THM, divided by the number of years with non-missing THM data; and a cumulative THM exposure index (mg), calculated as the product of average THM exposure and average total tap water consumption (litres/day). Average exposure reflects uptake through all exposure routes, while cumulative exposure is a better proxy for uptake through ingestion. Exposure variables were initially treated as categorical variables. We estimated the risk for those ever exposed. We further examined different cut off points and selected the one that corresponded to the percentile 15 of the exposed subjects: 1 $\mu\text{g}/\text{l}$ of average exposure and 15 mg of cumulative THM exposure. To examine dose-response, exposed subjects were grouped using quartiles as category boundaries. OR and 95% CI were calculated using logistical regression adjusting by study, age, gender, smoking status, ever worked in high-risk occupations, education and high coffee consumption (>5 cups/day), and additionally by total fluid consumption for the analysis of average THM exposure. The pattern of the exposure-response relationship was also evaluated through a generalized additive model, using a natural spline for the continuous average THM exposure variable, adjusting by covariates. Analyses were performed using STATA v.7. and Splus 2000.

(3) Spanish case-control study of bladder cancer.

3.1. Study population. Study subjects come from the 18 participating hospitals in Asturias, Alacant, Barcelona and Tenerife. Cases were patients firstly diagnosed of a bladder cancer, histologically confirmed. Controls were hospital-based and were matched to the cases by age (5 years period), sex and residence area. The diseases of the controls had to be included in a previously established list, excluding diseases related to the known risk factors for the bladder cancer. A computer assisted personal interview was administered to the cases and controls during their stay in the hospital. Information on socio-demographics, smoking habit, coffee consumption, occupational exposures, residential history (drinking water source in each residence: municipal/bottled/private well/others), frequency and duration of shower, bath and swimming pool attendance, medical history, family history, quality of life, etc. were collected. A blood sample was also obtained, as well as a toenail sample. A diet questionnaire and a diary of urinary pH and frequency were provided. Response rate of the interview in relation to the eligible identified subjects was 86% (84% cases, 88% controls). From the subjects with interview, a blood sample was obtained, or a mouth wash to get saliva cells if they were reluctant to donate blood. We obtained samples to analyse DNA from 95.5% (98% cases, 93% controls). Toenail sample is obtained from 77% (79% cases, 75% controls), urinary pH and frequency is obtained from 72.5% (76% cases, 69% controls). The final population with interview information is 1226 cases and 1271 controls (87% men, 13% women), with an average age of 66 years.

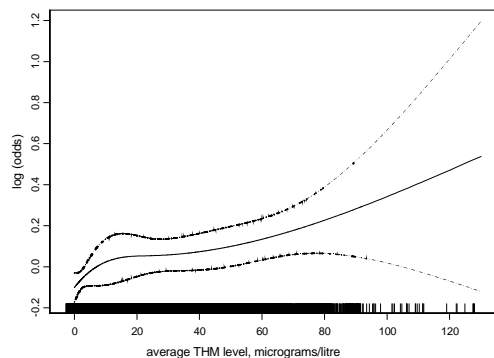
3.2. Exposure assessment. THM (chloroform, bromodichloromethane, dibromochloromethane and bromoform) measurements were performed in 105 drinking water samples from the study areas, through gas chromatography. Nine haloacetic acids were measured in a subset of 18 samples. A questionnaire addressed to water companies and a questionnaire addressed to municipalities were designed, to collect historical data about THM levels, water source and year start chlorination from the study municipalities. Information on water source and year of start chlorination was collected from 129 municipalities, corresponding to 79% of the study person-years. Past THM levels were estimated at municipal level. Before chlorination started, a null THM level was attributed. After chlorination started, average THM levels of recent years were attributed. If water source changed along the years, the percentage of surface water was used as a weight to calculate THM level. If water source changes to 100% ground, average THM levels of geographically close municipalities with ground water were applied. Individual database was merged with the municipal THM level database, using municipality and year as merging variables. We thus obtained a database with average THM levels by subject and year.

3.3. Statistical analysis. We selected the exposure window defined from age 15 until the date of interview. We created an individual THM exposure index by adding the yearly average THM levels from the exposure window and dividing by the number of years with non-missing THM data. This index reflects a THM exposure through all the routes (ingestion, inhalation, and dermal absorption). A THM exposure index by ingestion was also created, multiplying the average THM level by the average water consumption (litres/day) when water source in the home was municipal. If drinking water source was bottle, private well or other different from municipal, the exposure THM index by ingestion was zero. The variables of total duration to shower (hours/month), bath (hours/month) and swimming pool (hours/life) were generated. Continuous variables were grouped using quartiles as category boundaries. Odds ratios (OR) and 95% confidence intervals (95% CI) were calculated using logistic regression adjusting by area, gender, age, smoking status, fruit and vegetable consumption, level of urbanicity of the longest residence and overall quality of interview. For the analysis of duration of shower and bath, we adjusted additionally by average THM level. Dose-response trend was also examined through a generalised additive model with a natural spline for the continuous average THM exposure, adjusting by the covariates. Analysis was limited to those subjects with at least 70% of exposure information from the exposure window. We excluded from the analysis subjects with overall quality of interview unsatisfactory or questionable. Analysis were performed using STATA v.7 and Splus 2000.

Results:

(3) Meta-analysis of studies about chlorinated drinking water consumption and bladder cancer. Ever consumption of chlorinated drinking water was associated with an increased risk of bladder cancer in men (combined OR=1.4, 95%CI=1.1-1.9) and women (combined OR=1.2, 95%CI=0.7-1.8). The combined OR for mid-term exposure was 1.3 (95% CI=1.0-1.7) in men and 1.0 (95% CI=0.7-1.6) in women. For long-term exposure was 1.6 (95% CI=1.2-2.2) in men and 1.4 (95% CI=0.6-3.6) in women. The combined estimate of the slope for a linear increase in risk was 1.13 (95% CI=1.08-1.20) for 20 years and 1.27 (95% CI=1.17-1.43) for 40 years of exposure in both sexes. We found no evidence of publication bias. We found no statistical heterogeneity in the overall analysis, but statistical heterogeneity was present in the analyses stratified by sex. Differences in the exposure assessment and small numbers (especially in women) are probably the most important sources of heterogeneity of results between studies.

(2) Pooled analysis of six case-control studies on bladder cancer and chlorination by-products. The adjusted odds ratio (OR) in men exposed to more than 1 mg/l of trihalomethanes, compared to those with lower or no exposure, was 1.24 (95% CI =1.09-1.41). A monotonic increase in risk with increasing exposure was observed with an OR of 1.44 (95%CI 1.20-1.73) for exposure higher than 50 mg/l (p-value for linear trend<0.001). Among women, THM exposure was not associated with bladder cancer risk, with a statistically significant interaction observed between exposure and gender (p-value = 0.002). Similar results were found for cumulative THM exposure. No heterogeneity of effects was observed among studies, overall and by sex. A meta-analysis of the adjusted study-specific OR for average and cumulative THM exposure were performed. The combined OR were very similar to those obtained through logistic regression adjustment by study. P-value for heterogeneity of the Q statistic was 0.164 for average exposure, and 0.329 for cumulative exposure to THM, both sexes. The generalised additive model with a natural spline for average THM exposure show a positive dose-response trend (see figure), increasing log (odds) -Y axis- with increasing average THM exposure -X axis- (both sexes). The graph is adjusted by study, sex, age, education, smoking status, ever worked in high-risk occupations, high coffee consumption (>5 cups/day) and total fluid consumption.



The pooled OR was calculated by excluding each study in turn. Results show that OR do not depend on a single study. We examined if bladder cancer risk was associated with specific time windows of exposure. We evaluated four ten-year periods, within the 40 year exposure period evaluated: from 5 to 14 years prior interview, from 15 to 24 years, from 25 to 34 years, and from 35 to 45 years. All periods were associated with an increased risk. The analysis was repeated adjusting by exposure in all other periods, showing that excess risk was associated with early exposures, prior to 25 years since interview. We calculated OR for THM exposure and smoking status, showing that risk was similar between never and current smokers.

(1) Spanish case-control study of bladder cancer.

There are regional differences in the total level and composition of THM. The study areas with highest exposure were Alacant and Barcelona, with average THM levels in 1999 of 85.9 and 63.5 µg/l respectively. Tenerife shows the lowest levels (8.0 µg/l) and Asturias shows intermediate-low levels (22.3 µg/l). Alacant and Barcelona also show a high proportion of brominated or chloro-brominated THM (>50%). Tenerife present the highest proportion of brominated THM (>95%). Asturias has a high proportion of chloroform (>50%). We find a statistically significant dose-response trend in men for average THM exposure (p value for linear trend=0.006), and THM exposure through ingestion (p value for linear trend=0.030). The OR among men for an average THM ingestion exposure above 35 µg/day in relation to 0 µg/day was 1.55, (95% CI= 1.02-2.35) (see table). We didn't find association with duration of showering or bathing. Swimming pool attendance was associated among men with a statistically significant increased risk of bladder cancer. Those swimming in the pool for more than 630 hours in their lifetime had an OR of 2.08 (95% CI=1.06-4.09) in relation to those who had never swam in the pool (p value for linear trend=0.007).

	Men		Women		All
	OR (95% CI)	Cas./Con.	OR (95% CI)	Cas./Con.	OR (95% CI)
<i>Average THM exposure. Average THM level in the exposure window (µg/l)</i>					
≤8.0	1.00	137/171	1.00	24/25	1.00
>8.0, ≤26.0	1.45 (0.89-2.36)	141/158	0.39 (0.12-1.28)	19/33	1.18 (0.76-1.85)
>26.0, ≤49.0	2.16 (1.25-3.74)	184/160	1.04 (0.28-3.88)	23/22	1.84 (1.12-3.02)
>49.0	2.41 (1.16-4.99)	158/180	1.48 (0.24-9.28)	25/22	1.99 (1.03-3.86)
<i>p-trend</i>	0.006		0.693		0.012
<i>THM exposure through ingestion. Average THM level in the exposure window (µg/day)</i>					
0	1.00	119/140	1.00	28/19	1.00
>0, ≤10	0.99 (0.67-1.48)	119/124	0.58 (0.17-2.03)	17/18	0.92 (0.63-1.33)
>10, ≤35	1.28 (0.85-1.92)	132/119	0.61 (0.18-2.03)	14/16	1.15 (0.78-1.67)
>35	1.55 (1.02-2.35)	131/114	0.63 (0.19-2.04)	17/18	1.35 (0.92-1.98)
<i>p-trend</i>	0.030		0.403		0.110

Main Conclusions:

About the exposure:

1. Some Spanish areas are highly exposed to chlorination by-products, both currently and in the past.
2. Mediterranean areas show the highest THM levels from the study areas. Tenerife show the lowest levels, and Asturias show medium-low levels.
3. At municipal level there is generally ignorance about THM levels, and they are not usually controlled. Big cities keep the stricter control of THM levels.

About the bladder cancer risk:

4. The combined results from the multicentre case-control study, the pooled and the meta analyses strengthen the hypothesis that long-term exposure to chlorinated drinking water and/or THM at levels currently observed in many industrialized countries are associated with an increased bladder cancer risk.
5. Gender is an important effect modifier, with a positive association observed only among men
6. The observed risks are moderately high, but since most of the population is exposed, the attributable risk could be important.
7. We find an association between duration of certain situations of acute DBP exposure (swimming pools) and an increased bladder cancer risk. These results should be interpreted with caution, since it's the first study assessing these exposure routes and there's a need for specific studies to confirm these results.

1. INTRODUCCIÓ

1. INTRODUCCIÓ. L'aigua potable com a mitjà d'exposició a contaminants.

La disponibilitat d'aigua potable és una necessitat en totes les comunitats humanes. A més de la quantitat suficient per a cobrir les necessitats bàsiques cal que l'aigua tingui una qualitat que garanteixi la innocuïtat per a la salut humana. En el món desenvolupat en general s'aconsegueix cobrir el requeriment de la quantitat gràcies als processos de depuració i potabilització, però sovint la qualitat de les aigües és insuficient degut a la contaminació.

La contaminació de l'aigua potable es pot dividir en dos grups: microbiològica i química. La contaminació microbiològica provoca efectes aguts (malalties infeccioses com el còlera, tifus, malària, febre groga, etc.) i és encara un repte per als països en vies de desenvolupament. La contaminació química s'associa en general a efectes crònics a mig-llarg termini (càncer, efectes neurològics, efectes reproductius, etc.) que requereixen més temps d'exposició i que són més difícils d'avaluar. Els contaminants químics es poden classificar en grups com metalls, nitrats, pesticides i herbicides, isòtops radioactius, fluor, asbest, i els subproductes de la desinfecció.

En el nostre entorn econòmic-social la contaminació microbiològica està generalment controlada gràcies als processos de potabilització i desinfecció de l'aigua. La contaminació química en canvi, genera preocupació en salut pública, tot i que la legislació espanyola contempli el control de la qualitat de les aigües de consum al *Real Decreto 140/2003, de 7 de Febrer*.

Aquesta tesi doctoral investiga l'exposició i els efectes sobre la salut d'un dels contaminants químics de l'aigua més estesos al nostre territori, els subproductes de la desinfecció.

1.1. Els subproductes de la cloració

El terme genèric “subproductes de la desinfecció” engloba els compostos formats en desinfectar l'aigua potable, donat que els desinfectants són per defecte compostos altament reactius. Aquesta tesi se centra en els subproductes formats com a resultat de l'ús de clor, que és el desinfectant més estès a l'Estat espanyol. En endavant s'utilitzarà el terme “subproductes de la cloració” per diferenciar-lo del més general que l'engloba. El clor s'aplica en forma de gas o sals d'hipoclorit. En contacte amb l'aigua, el clor es dissocia en àcid hipoclorós, que posteriorment passa a hipoclorit. El *clor lliure actiu* el formen les espècies de clor gas (Cl_2) i l'hipoclorit (OCl), que són les més reactives. A més de desinfectar, el clor elimina ferro, manganès, matèria orgànica, i evita el creixement d'algues i bacteris a les plantes de tractament i canonades. Un dels primers escrits sobre l'ús de clor com a desinfectant data de l'any 1897, quan es va fer servir una dissolució de lleixiu per desinfectar una canonada d'aigua a Maidston (Kent, UK) després d'una epidèmia de tifus. L'ús regular de clor comença amb l'inici de segle.

La cloració de l'aigua implica uns beneficis inqüestionables que van suposar un avenç clau en salut pública reduint la incidència de malalties infeccioses. Tanmateix, els subproductes de la cloració formats han estat associats a diversos efectes crònics adversos sobre la salut humana, per les seves propietats mutàgenes i carcinògenes (Boorman 1999; Komulainen 1997; Stocker 1997).

Formació

En el procés de cloració de l'aigua, en reaccionar el clor amb la matèria orgànica, que es troba a l'aigua per causes naturals i antropogèniques es forma un barreja complexa de compostos clorats i bromats amb diferents propietats químiques, mutàgenes i carcinògenes: trihalometans, àcids acètics halogenats, acetonitrils halogenats, haloacetones, clorur de cianogen, etc. (taula 1.1.). A mesura que es van desenvolupant les tècniques analítiques es van identificant nous subproductes de la cloració (Huixian 2002; Richardson 2002a). S'estima que es desconeix més del 60% dels subproductes formats (Richardson 2002b). Els trihalometans són els que es formen en major quantitat i són els que s'analitzen habitualment. Sovint quan es parla de subproductes de la cloració s'anomenen els trihalometans perquè reflecteixen indirectament el nivell total de subproductes de la cloració d'una aigua. Aquests són els únics subproductes

de la cloració contemplats en la llei d'aigües potables (Real Decreto 140/2003). La taula 1.1. resumeix les avaluacions de la IARC sobre el potencial carcinogen dels diferents subproductes de la cloració i els nivells recomanats per la Organització Mundial de la Salut.

Taula 1.1. Avaluacions de la IARC del potencial carcinogen en humans i nivells recomanats per la OMS pels diferents subproductes de la cloració.

		classificació IARC*	Nivell recomanat per la OMS ($\mu\text{g}/\text{l}$) (WHO 1996b)
TRIHALOMETANS	Cloroform (CHCl_3)	2b (1999a Vol. 73)	200
	Bromodiclorometà (CHBrCl_2)	2b (1999c Vol. 71)	60
	Clorodibromometà (CHBr_2Cl)	3 (1999c Vol. 71)	100
	Bromoform (CHBr_3)	3 (1999c Vol. 71)	100
ÀCIDS ACÈTICS	Monocloroacètic	-	NAD
HALOGENATS ($\text{C}_2\text{O}_2\text{HX}_3$)	Dicloroacètic	2b (2002 Vol. 84)	50
	Tricloroacètic	3 (2002 Vol. 84)	100
	Cloroacetnitril	3 (1999c Vol. 71)	-
ACETONITRILS HALOGENATS (C_2NX_3)	Dicloroacetnitril	3 (1999c Vol. 71)	90
	Dibromoacetnitril	3 (1999c Vol. 71)	100
	Bromocloroacetnitril	3 (1999c Vol. 71)	NAD
	Tricloroacetnitril	3 (1999c Vol. 71)	1
	Bromoacetnitril	-	-
HIDRAT DE CLORAL (tricloroacetoaldehyd, $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2\text{Cl}_3$)		3 (2002 Vol. 84)	10
HALOACETONES ($\text{C}_3\text{H}_3\text{OX}_3$)	Cloroacetona	-	NAD
CLOROPICRINA (CON_2Cl_3)		-	NAD
CLOPUR DE CIANOGEN (CNCl)		-	70
MX (3-cloro-4-(diclorometil)-5-hidroxi-2(5H)-furanona)		2b (2002 Vol. 84)	NAD
Aigua clorada		3 (1991 Vol. 52)	

NAD: No hi ha dades adequades que permetin una recomanació de nivell guia basat en criteris de salut. *International Agency for Research on Cancer (IARC), organisme de la OMS encarregat d'avaluar el potencial carcinogen dels humans de diversos compostos. Defineix diferents categories segons el grau de potencial carcinogen dels compostos: grup 1 (carcinògens a humans demostrats), grup 2A (probables carcinògens), grup 2B (possibles carcinògens), grup 3 (tot i els indicis de potencial carcinogen no són classificables com a tals per tenir informació no conclouent) i grup 4 (no carcinògens a humans).

Diversos factors influeixen en la formació dels subproductes de la cloració: origen de l'aigua (superficial/subterrània), concentració de matèria orgànica de l'aigua crua, quantitat de clor afegit, pH, temperatura, tipus de desinfectant utilitzat, etc. (Garcia-Villanova 1997a; Garcia-Villanova 1997b). Sovint s'han de conèixer aquests paràmetres per saber indirecta i aproximadament el nivell de subproductes de la cloració formats quan aquests no s'han analitzat directament. L'aigua superficial té més matèria orgànica (precursors dels subproductes de la cloració) i requereix més dosi de clor que

la subterrània, de manera que generarà concentracions més altes de subproductes clorats. Les reaccions de formació són dependents del pH del medi i la temperatura: pHs lleugerament alcalins afavoreixen la formació de trihalometans mentre que pHs lleugerament àcids afavoreixen la formació d'àcids acètics halogenats (Heller-Grossman 1993); les temperatures elevades afavoreixen les reaccions químiques de formació de subproductes de la cloració. Això i els nivells més alts de matèria orgànica que hi ha generalment en les estacions càlides (creixement d'algues, estiatge) fa que els nivells siguin generalment més elevats a l'estiu (El Shahat 2001). Existeixen desinfectants alternatius al clor: cloramines (Kool 1999; Nissinen 2002), ozó (Beltran 1997a; Camel 1998), permanganat potàssic (KMnO_4) (Aguirre Pascual 1996; Marín 1996), diòxid de clor (Chang 2000; Wondergem 1991), processos d'oxidació avançada com peròxid d'hidrogen (Beltran 1997b) o radiació ultraviolada (Beltran 1997a), etc.) que comporten menor generació de subproductes halogenats sense reduir el poder desinfectant (Kool 1999). La línia de tractament de la planta potabilitzadora també influeix en el nivell final de subproductes de la cloració. L'ús de filtres de carbó actiu (Amirsardari 2001; Nakamura 2001), ozonització (Chang 2002), radiació ultraviolada (Amirsardari 2001; Kusakabe 1991) i altres tractaments (Kimbrough 2002) eliminen els subproductes de la cloració formats (Kusakabe 1991) o bé els seus precursors (Sketchell 1995), tot reduint la seva formació posterior.

La presència de bromurs en l'aigua crua (sense tractar, a l'entrada de planta) determina l'especiació dels subproductes de la cloració (proporció de les diferents espècies). L'ió bromur en presència de clor s'oxida a àcid hipobromós (HOBr), que es comporta de manera anàloga a l'àcid hipoclorós (HOCl). Quan el HOBr i HOCl es troben a l'aigua en concentracions similars, la formació d'espècies organobromades s'afavoreix en front de les organoclorades (Chang 2001; Heller-Grossman 1993; Pourmoghaddas 1993; Pourmoghaddas 1995). Aquest fenomen es dona a Barcelona perquè els residus de les mines de sal de Balsareny, Sallent, Súria i Cardona (amb contingut elevat en bromurs) arriben al Llobregat, principal font d'aigua potable a la província de Barcelona. El contingut en bromurs determina algunes propietats mutàgenes i carcinògenes dels subproductes de la cloració, per tant és important conèixer l'especiació a més del nivell total.

Desinfectants alternatius i els seus subproductes

Agents oxidants

Ozó. És un gas molt inestable que s'ha de generar al mateix lloc on s'utilitza. És un oxidant molt fort, hi ha dades que indiquen que pot ser més eficaç que el clor a l'hora d'eliminar virus i microorganismes. L'acció de l'ozó es dona per dany al DNA (Kim 2002). També pot eliminar compostos que donen mala olor i gust a l'aigua, oxidar ferro, manganès, i matèria orgànica. És un oxidant àmpliament utilitzat a Europa, i cada cop més als EEUU. Tot i que l'ozó és més efectiu que el clor i genera pocs trihalometans, el principal inconvenient és que desapareix de l'aigua molt més ràpidament. Per tant s'ha d'usar un desinfectant addicional per mantenir una desinfecció residual de l'aigua. Els subproductes de l'ozonització inclouen aldehids, i subproductes bromats com bromat, bromoform, àcids acètics bromats i bromopicrina, si l'aigua en origen té bromurs (Boorman 1999).

Diòxid de clor. És un gas verd-grogós que s'ha de manufacturar (a partir de clorit sòdic i un àcid fort) *in situ* perquè es descomposa ràpidament i presenta toxicitat quan s'emmagatzema. S'ha utilitzat més àmpliament a Europa que als EEUU (Kim 2002). És un oxidant molt fort que serveix per mantenir un control de la olor i gust de l'aigua, i per reduir ferro i manganès. Genera menys trihalometans que el clor, i és més persistent a la xarxa de distribució. Els subproductes de la desinfecció per diòxid de clor són el clorit, clorat, i subproductes similars als obtinguts amb la cloració però en menor concentració (Boorman 1999).

Cloramines. Especialment la monocloramina, espècie predominant a pH neutres i lleugerament alcalins. S'ha suggerit que la monocloramina penetra millor al biofilm que el clor lliure, tot resultant en una millor inactivació dels bacteris (Kim 2002). Un estudi va mostrar que la desinfecció amb monocloramina era més efectiva que la cloració per combatre la legionel·losi d'origen hospitalari (Kool 1999). És un desinfectant menys fort que el clor, l'ozó o el diòxid de clor, però és més persistent a l'aigua. Produeix nivells baixos de trihalometans. En canvi, pot generar subproductes orgànics clorats de major pes molecular (cloropicrina, clorur de cianogen, 1,1-dicloropropanona i cloramines) (Boorman 1999).

Peròxid d'hidrogen i permanganat potàssic. Són desinfectants més febles que el clor i l'ozó, i no han sigut acceptats àmpliament com a desinfectants de l'aigua potable (Kim 2002).

Altres. El brom s'ha utilitzat com a desinfectant a piscines i torres de refrigeració, però no per a aigua potable. Existeix alguna referència sobre l'ús d'iode com a desinfectant d'aigua potable i piscines, però és una pràctica anecdòtica (Kim 2002).

Radiació ultraviolada

La llum ultraviolada té efectes biocides, tot produint dímers de timina al DNA afectant la replicació. No s'ha generalitzat l'ús de la radiació ultraviolada com a desinfectant de l'aigua perquè, entre d'altres motius, no deixa desinfecció residual (Kim 2002).

1.2. Característiques químiques

Trihalometans

Els trihalometans (THM) són els subproductes de la cloració que es formen major concentració (Golfinopoulos 2001) i s'han utilitzat tradicionalment com a indicadors dels nivells de la barreja de subproductes de la cloració. Són compostos amb un àtom de carboni i tres substituents halogenats amb fórmula general CHX_3 , (on X pot ser clor o brom). Els trihalometans que majoritàriament es troben a les aigües potables són el cloroform, bromodiclorometà, dibromoclorometà i bromoform. Existeixen altres trihalometans, essent minoritaris i no analitzats habitualment, com per exemple trihalometans iodats (Cancho 2001). Els nivells de THM en aigua poden variar notablement segons l'origen de l'aigua: poden anar de menys de 10 $\mu\text{g}/\text{l}$ en aigües subterrànies clorades fins a més de 200 $\mu\text{g}/\text{l}$ en aigües superficials clorades. Els quatre THM es formen en diferent proporció segons les característiques de l'aigua en origen. El contingut en bromurs determina algunes propietats físico-químiques i mutàgenes dels THM. Tots els THM són volàtils però la volatilitat disminueix amb el contingut en bromurs. La substitució per bromurs també reforça la liposolubilitat dels trihalometans (i conseqüentment la incorporació als teixits), generalment augmenta la reactivitat química i la probabilitat de ser biotransformats a compostos intermedis reactius. El

nivell de THM a l'aigua pot variar al llarg del dia (Smith 1980) i de les estacions de l'any (El-Shahat 1998; Kinae 1992). Segons un informe de la Unió Europea, els nivells màxims de trihalometans observats a Espanya són els segons més elevats després de Portugal (taula 1.2.).

Taula 1.2. Nivells de THM ($\mu\text{g/l}$) a l'aigua potable de diversos països de la Unió Europea.

Portugal	[<1 – 230]
Espanya	[<1 – 210]
Bèlgica	[22 – 157]
França	[6 – 135]
Irlanda	[<100]
Finlàndia	[<1 – 84]
Regne Unit	[2 – 73]
Itàlia	[<1 – 60]
Holanda	[34]
Àustria	[10 – 20]
Alemanya	[1 – 20]
Suècia	[12]
Luxembur	[3.5 – 11.5]

Adaptat de *Exposure of the European Population to Trihalomethanes (THMs) in drinking water. Vol 2. European Commission 1997. (Premazzi, G 1997)*

S'ha investigat la influència de bullir l'aigua sobre la formació o eliminació posterior de THM. Un estudi experimental mostra que pot haver una formació de THM durant l'ebullició, però també es produeix volatilització. La variació total de THM depèn de la taxa de formació i d'eliminació. Es va concloure que els THM poden ser eliminats fins a nivells baixos si l'aigua bullint es manté descoberta durant uns minuts després de l'ebullició (Li 2001).

La taula 1.3. mostra els nivells màxims en aigua potable de diferents organismes legisladors.

Taula 1.3. Nivells màxims admissibles dels THM per diferents organismes legisladors.

<i>Total THM</i>	Nivell màxim
Legislació Espanyola (<i>Real Decreto 140/2003</i>)	100 $\mu\text{g/l}$ *
Unió Europea (<i>Directiva 98/83/CE</i>)	100 $\mu\text{g/l}$
EPA (<i>Environmental Protection Agency, EEUU</i>)	100 $\mu\text{g/l}$

* A partir de 01/01//2009. De 01/01/2004 fins a 31/12/2008 el límit és 150 $\mu\text{g/l}$. Fins el 31/12/2003 no hi ha límit màxim

Àcids acètics halogenats (haloacetats)

Els àcids acètics halogenats (HAA) són un conjunt de compostos amb fórmula general C_2OX_3OH (on X és clor o brom). El grup està format pels àcids cloroacètic (MCAA), dicloroacètic (DCAA), tricloroacètic (TCAA), bromoacètic, dibromoacètic, tribromoacètic, clorodibromoacètic, bromocloroacètic i bromodicloroacètic. Habitualment es troben a l'aigua en forma iònica (haloacetats), i generalment es formen en menor quantitat que els THM. La seva formació està afavorida per pHs baixos, al contrari que la formació de THM. Els haloacetats amb dos o tres substituents halogenats es troben en concentracions més elevades que els monohalogenats. A la taula 1.4. es mostren els nivells orientatius trobats a algunes mostres d'aigua.

Taula 1.4. Nivells d'àcids acètics halogenats d'algunes mostres d'aigua potable.

<i>REFERÈNCIA</i>	Jacangelo et al. (1989)	Krasner et al. (1989)	Uden & Miller (1983)	Lahl et al. (1984)	Norwood et al. (1984)
<i>Origen de l'aigua</i>	Aigua superficial clorada (USA)	Aigües superficials de llac, subterrànies, i de reservori (USA)	Aigua de l'aixeta (reservori) (USA)	Aigua de l'aixeta (Alemanya)	Aigües superficials (USA)
	<i>Rang de concentracions ($\mu g/l$)</i>				
Àcid cloroacètic	1 - 4	<1 - 1,2			
Àcid dicloroacètic	9,4 - 23	5,0 - 7,3	63,1 - 133		
Àcid tricloroacètic	7,4 - 22	4,0 - 6,0	33,6 - 161	No detectat - 3	4,23 - 53,8
Àc. bromoacètic	<0,5 - 3,8	<0,5 - 1,6			
Àc. dibromoacètic	0,7 - 11	0,9 - 19			

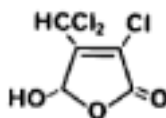
Font: IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Chlorinated drinking water; Chlorination by products; some other halogenated compounds; cobalt and cobalt compounds. Volum 52. IARC. Lyon 1991.

MX (mutagen X)

Nom amb què es coneix la 3-cloro-4-diclorometil-5-hidroxi-2(5H)-furanona (figura 1.1.), acrònim del terme Mutagen X. Després dels THM és un dels subproductes de la cloració més investigats. Es va detectar per primer cop a principis dels anys 80 en efluent de fàbriques de polpa de fusta blanquejada amb clor a Finlàndia (Holmbom 1984). Poc després es va detectar a les aigües potables (Hemming 1986). Generalment es troba a concentracions molt baixes a les aigües de consum (en l'ordre de ng/l a les

aigües de Barcelona (Romero 1997)), però té una elevada activitat mutàgena al test d'Ames (Langvik 1991).

Figura 1.1. Fórmula química del MX.



Acetonitrils halogenats

Són subproductes de la cloració minoritaris formats bàsicament per tres compostos: dicloroacetonitril, dibromoacetonitril i bromocloroacetonitril. S'ha trobat a les aigües de Barcelona a sortida de planta en una concentració de 15.6 µg/l (Cancho 1997). La fórmula general és C_2X_3N (X=clor o brom).

Hidrat de cloral (tricloroacetoaldehyd)

Subproducte de la cloració minoritari amb fórmula $C_2Cl_3H(OH)_2$, que es pot trobar en concentracions al voltant de 1 µg/l (Cancho 1997).

Haloacetones

Grup de subproductes de la cloració minoritaris. S'han trobat a les aigües de Barcelona amb una concentració de 2.8 µg/l, i la seva fórmula general és $C_3H_3OX_3$ (X=clor o brom)

Cloropicrina

També es troba a les aigües clorades en concentracions de pocs µg/l, amb fórmula CCl_3NO_2 . Un estudi fet a la potabilitzadora de Sant Joan Despí mostra que és un dels compostos menys abundants i es genera en condicions excepcionals (Cancho 1997).

Clorur i bromur de cianogen

De fórmula general CNX (on X és clor o brom), es troba generalment a les aigües potables a nivells de menys de 10 µg/l. El bromur de cianogen s'ha trobat a les aigües de Barcelona amb una concentració de 25 µg/l (Cancho 1997).

1.3. Efectes en animals d'experimentació i metabolisme

Trihalometans

Activitat mutàgena i cancerígena.

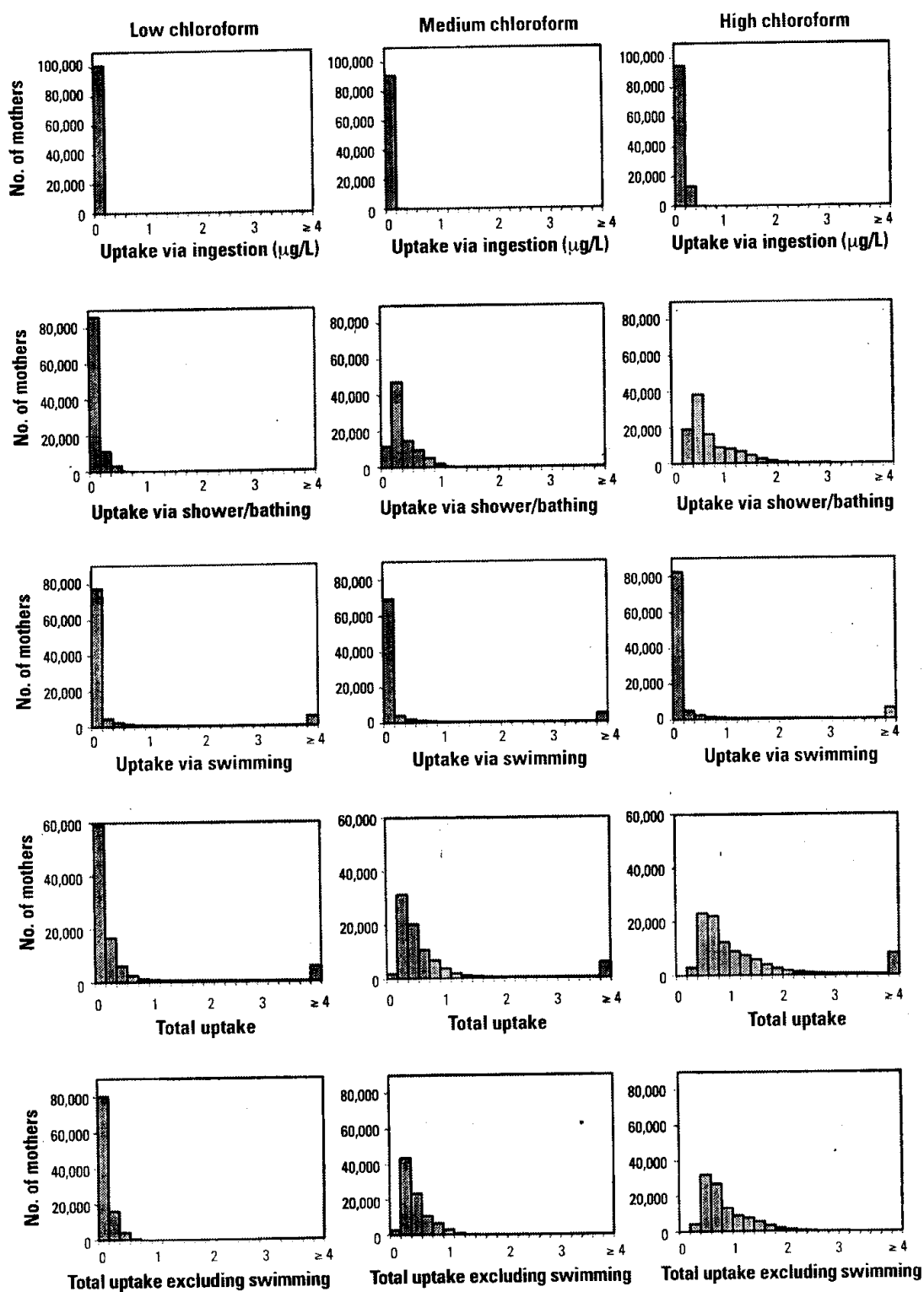
Els THM bromats són mutàgens (provoquen alteracions heretables al material genètic). En canvi, el mecanisme d'acció del cloroform es creu que és per citotoxicitat (IARC 1999a), donat que l'activitat genotòxica no s'ha pogut demostrar inequívocament i consistentment, donant negatiu o amb baixa activitat a diversos tests de mutagenicitat i genotoxicitat (Bull 1995; IPCS 2000). El potencial mutagen augmenta amb el grau de substitució de brom. El mecanisme d'acció és diferent per a cada THM però la via comú passa per la metabolització dels THM i l'acció genotòxica dels metabolits. Tots els THM indueixen tumors (són carcinògens) en rosegadors en experimentació exposats a dosis elevades a llarg termini (Dunnick 1993). El bromodiclorometà és el trihalometà amb més potencial carcinogen en rosegadors. Experiments de laboratori amb ratolins exposats a bromodiclorometà per via inhalada mostren que en concentracions atmosfèriques elevades indueixen micronuclis en el seu DNA (Torti 2002). També s'ha observat espermatotoxicitat en rosegadors de laboratori exposats a bromodiclorometà (Klinefelter 1995). Altres estudis de toxicitat reproductiva i desenvolupament a rosegadors, però, mostren que el bromodiclorometà no representa un risc reproductiu o pel desenvolupament (Christian 2001; Christian 2002a). La classificació de la IARC pel cloroform (IARC 1999a) i bromodiclorometà (IARC 1999c) és de possible carcinogen a humans (grup 2b). El dibromoclorometà i bromoform estan classificats dintre del grup 3, és a dir, no hi ha evidències suficients per classificar-los com a carcinògens o no carcinògens (IARC 1999c).

Incorporació.

Donat que els trihalometans són compostos altament volàtils, a més de la ingestió, la inhalació i l'absorció dèrmica (Brown 1984; Levesque 1994) són vies d'incorporació importants en determinades situacions com a natació en piscines (Aiking 1994; Beech 1980) i durant la dutxa (Jo 1990b) o el bany (Jo 1990a; Lin 2000; Weisel 1996). Diversos estudis han avaluat el paper relatiu de les diverses vies d'exposició en la incorporació total de cloroform. Els missatges són diversos. Mentre uns estudis conclouen que el paper de les diverses vies és equivalent (Weisel 1996), altres apunten que el paper de la inhalació i l'absorció dèrmica seria més important (Backer 2000), donant lloc a majors nivells de THM en sang per la dutxa i el bany (Jo 1990a) (16 pg/l i 15 pg/l respectivament) que per la ingestió (1.2 pg/l). Tot i les possibles variacions interpersonals i les diferències entre compostos, hi ha dades recents que mostren que a nivell poblacional i pel cloroform, la inhalació i l'absorció dèrmica dóna una incorporació major que la ingestió d'aigua (figura 1.2.).

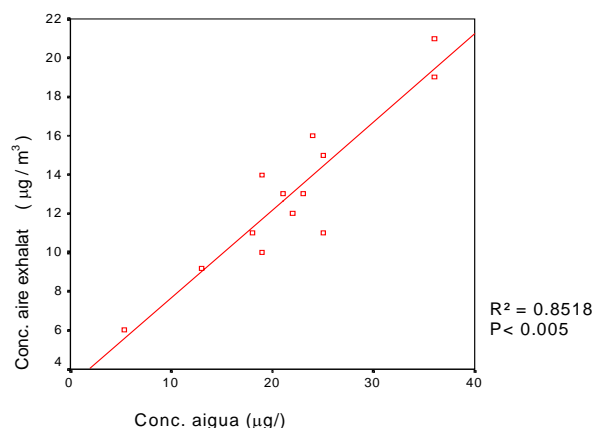
La distribució en els teixits és diferent segons la via d'incorporació. La inhalació o absorció dèrmica resulta en una distribució més directa a la sang i amb majors nivells. Segons Jo i cols. (1990) (Jo 1990b), s'observen increments estadísticament significatius en la concentració de cloroform en aire exhalat a major concentració de cloroform en aigua (Figura 1.3.).

Figura 1.2. Distribucions internes de cloroform per incorporacions mitjanes diàries simulades ($\mu\text{g}/\text{l}$) per mares exposades a un nivell a l'aigua baix, mitjà i elevat.



Font: Whitaker *et al.* Environ Health Perspect 2003; 111(5)688-694

Figura 1.3. Concentració de cloroform en aigua vs. concentració en aire exhalat després d'una dutxa (Jo et al. 1990b)(^{*}).



(^{*}) condicions fixades: duració dutxa (10 min.), temperatura aigua (40°C), flux aigua (8.7 l/min).

Dades recents mostren que el bromoform és el THM amb major permeabilitat a la pell. Les estimacions de dosi suggereixen que la dosi diària mitjana de THM absorbida per la pell és del 40-70% respecte la dosi ingerida (Xu 2002).

Distribució interna.

Els THM s'absorbeixen extensament en el tracte gastrointestinal. El cloroform també s'absorbeix extensament en els pulmons (Mink 1986). L'excreció dels compostos no metabolitzats té lloc principalment per l'aire exhalat i una petita quantitat s'excreta per l'orina (Mink 1986). La vida mitja dels compostos volàtils al cos és petita, des de mitja hora (Ashley 1997) fins a 5 o 8 hores (Pellizzari 1992) segons el compost. Pel seu caràcter lipofílic, l'acumulació dels THM és major en teixits d'alt contingut lipídic com el greix corporal, però també a fetge i ronyons (Mink 1986).

Metabolisme a nivell enzimàtic.

La toxicitat associada als THM es deu a l'activitat dels seus metabolits (Constan 1999). El citocrom P450 (CYP) 2E1 ha mostrat ser un enzim important en l'oxidació del cloroform als microsomes del fetge humà (Guengerich 1991). Tal i com s'observa en rosegadors experimentals i humans, a concentracions/exposicions baixes, el metabolisme del bromodiclorometà (CHCl₂Br) ve dominat per l'enzim CYP2E1 (Allis, JW 2002b). Donats els baixos nivells de CHCl₂Br en aigua clorada, sembla

probable que el CYP2E1 domini el metabolisme del CHCl_2Br en humans (Zhao 2002). Altres estudis mostren que el CYP1A2 està implicat en el metabolisme del bromodiclorometà en el fetge de rata, tot contribuint a l'hepatotoxicitat sota determinades condicions (Allis 2002a).

El metabolisme dels THM bromats implica una reacció de conjugació amb glutatió (GSH) tot generant formaldehid o intermediaris reactius amb el DNA via glutatió S-transferasa-theta (GSTT1-1), que és polimòrfic en humans (Landi 1999). El metabolit del cloroform, fosc, pot reaccionar amb molècules GSH per formar compostos intermedis reactius que es poden unir covalentment a macromolècules formant adductes (Fabrizi 2001).

Biomarcadors d'exposició.

Els THM són eliminats ràpidament a través de l'aire exhalat. El cloroform tendeix a acumular-se al teixit adipós (Mink 1986). El nivell de cloroform en aire exhalat seria un bon indicador d'exposició recent (piscina, bany, dutxa) però no seria un bon marcador d'exposició acumulada perquè la vida mitja a l'organisme dels compostos volàtils és molt curta (Aggazzotti 1990; Aggazzotti 1998; Cammann 1995; Levesque 1994). S'ha detectat cloroform en teixit adipós d'humans (Alles 1988) però no s'ha relacionat amb el nivell d'exposició ambiental. Els estudis que analitzen cloroform en sang a persones plantegen la presència d'aquest compost en relació a exposicions agudes (dutxa, bany, piscina) (Backer 2000), essent un bon indicador d'exposició en aquesta situació. No s'han identificat estudis que avaluessin els nivells de cloroform en sang com a indicador d'exposició crònica.

Àcids acètics halogenats (haloacetats)

Activitat mutàgena i cancerígena.

El DCAA, TCAA i els haloacetats bromats són inductors de tumors a rosegadors en el laboratori (Bull 1990; Mills 1998), en canvi no s'ha pogut demostrar la capacitat de l'àcid MCAA per induir tumors en animals de laboratori. El mecanisme d'acció difereix entre compostos i només es coneix el d'alguns compostos clorats. Les evidències d'activitat mutàgena dels àcids MCAA, DCAA i TCAA no són clares. Diversos estudis han avaluat la capacitat genotòxica d'aquests compostos mitjançant diferents

metodologies però no es pot concloure inequívocament que siguin mutàgens (WHO 1996a): (Fusco 1996). El mecanisme pel qual els compostos bromats indueixen tumors es desconeix en detall. Hi ha evidències de que els àcids acètics bromats són més citotòxics i mutagèns que els seus anàlegs clorats i que el potencial mutagen dels àcids haloacètics és inversament proporcional al nombre d'halògens a la molècula (Kargalioglu 2002). S'ha descrit activitat espermatotòxica entre els àcids DCAA, dibromoacètic (Linder 1997) i bromocloroacètic (Klinefelter 2002). Estudis de toxicitat reproductiva i de desenvolupament en rosegadors exposats a àcid dibromoacètic no trobaven afectació d'aquests paràmetres (Christian 2001; Christian 2002b). La IARC ha avaluat el potencial carcinogen en humans dels àcids dicloroacètic i tricloroacètic, tot classificant el primer en la categoria 2b (possible carcinogen en humans) (IARC 2002) i el segon en la categoria 3 (IARC 1995) (no hi ha evidències definitives per classificar-los com a carcinògens a humans).

Incorporació.

Un estudi que avalua l'absorció cutània comparada dels THM, àcids haloacètics (HAA) i halocetones mostra que la permeabilitat dels HAA és molt petita, essent insignificant la fracció d'HAA que s'incorpora per absorció dèrmica (Xu 2002). El paper de la inhalació dels HAA durant la dutxa també és molt petita (menys del 0.5% de la dosi mitjana ingerida diàriament) (Xu 2003). Així doncs, es pot assumir que la incorporació dels HAA continguts a l'aigua clorada es produeix bàsicament a través de la ingestió.

Distribució interna.

És diferent per a cada HAA. L'àcid dicloroacètic s'absorbeix ràpidament a l'intestí i és metabolitzat ràpidament (Crabb 1981). En canvi, l'àcid tricloroacètic es metabolitza en petita proporció, i la majoria del compost no reaccionat s'excreta per l'orina (Hobara 1987). Un 50% de la dosi d'àcid cloroacètic s'excreta per l'orina (Bhat 1990).

Biomarcadors d'exposició.

Alguns autors han investigat la possibilitat d'utilitzar biomarcadors d'exposició a àcids acètics halogenats (Froese 2002; Kim 1999; Weisel 1999). Malgrat la manca general de correlació entre concentració total d'àcids acètics halogenats en orina i aigua ingerida, l'àcid tricloroacètic (TCAA) mostra una elevada correlació en aigua i orina (Weisel

1999). El TCAA apareix per tant com a un biomarcador potencialment vàlid d'exposició crònica a TCAA donat que la seva vida mitja a l'organisme és superior als intervals d'exposició successius, tot acumulant-se fins a una dosi estacionària (Kim 1999). Aquesta troballa és consistent amb la vida mitja relativament llarga del TCAA en plasma. En humans, l'àcid tricloroacètic té una vida mitjana de 50 hores. Aquesta vida mitja llarga s'explica per la unió del compost amb proteïnes plasmàtiques (IARC 1995). El TCAA seria un dels subproductes de la cloració que està en contacte amb l'organisme durant més temps, tot indicant una exposició acumulada.

El principal inconvenient del TCAA com a marcador d'exposició a subproductes de la cloració és que també és un metabolit d'altres exposicions ambientals. Aquest àcid s'ha descrit com a metabolit del tricloroetilè i tetracloroetilè (Volkel 1998), que poden estar presents a l'aigua potable com a contaminants (WHO 1996a). Aquests compostos s'utilitzen com a dissolvents industrials (rentat en sec i desengreixant industrial del metall), en la manufactura de fluorohidrocarbons, etc. El TCAA també s'ha descrit com a metabolit de l'hidrat de cloral, un subproducte minoritari de la cloració.

MX (mutagen X)

Activitat mutàgena i carcinògena.

S'ha estimat que representa un terç del potencial mutagen total a les aigües clorades de Finlàndia (Kronberg 1989). S'ha observat que aquesta activitat mutàgena desapareix quan prèviament la solució de MX es barreja amb sèrum humà (Kinae 1992). Existeixen formes bromades del MX amb mutagenicitat semblant. També s'han estudiat furanones clorades amb estructura similar al MX, tot mostrant un potencial mutagen considerablement menor (Smeds 1997). S'han descrit exemples d'inducció de tumors en animals de laboratori exposats a dosis baixes de MX que no provoquen toxicitat general (Komulainen 1997), però les dades de potencial carcinogen no són concloents (Steffensen 1999). Resultats d'estudis *in vitro* indiquen que el MX pot ser un teratogen d'acció directa (Teramoto 1998). Hi ha informació limitada sobre el seu mecanisme d'acció. El MX és extensament detoxificat en experiments *in vivo* i és improbable que provoqui dany genètic als teixits excepte a dosis relativament elevades en què les vies de detoxificació se saturen (Meier 1996). La IARC va avaluar el potencial carcinogen del MX l'any 2002. Tot i que les dades de carcinogenicitat en animals eren limitades i no hi

ha dades en humans, per la seva elevada activitat mutàgena es va classificar com a possible carcinogen a humans (2b) (IARC 2002).

Distribució interna.

Estudis farmacocinètics de MX marcat radioactivament mostren que s'absorbeix en el tracte intestinal en un grau considerable i s'excreta per l'orina ràpidament. La vida mitja d'eliminació en sang és de 3.8 hores i la via principal d'eliminació és l'orina (Komulainen 1992).

Biomarcadors d'exposició.

El MX es troba en concentracions de ng/l a l'aigua. En ser un compost no bioacumulable els nivells en què es podria trobar a teixits humans seria molt baix, probablement no detectables.

La taula 1.5. resumeix les avaluacions de potencial carcinogen en humans i en animals en experimentació per els subproductes de la cloració més importants.

Taula 1.5. Resum de les avaluacions de la IARC del potencial carcinogen a humans i en animals pels subproductes de la cloració més importants.

	Avaluació de les dades de cacinogenicitat en animals	Avaluació de les dades de carcinogenicitat en humans	Avaluació global	Any i monografia (ref.)
<i>Cloroform</i>	Evidència suficient	Evidència inadequada	Possiblement carcinogen humà (grup 2B)	1999a, vol 73
<i>Bromodiclorometà</i>	Evidència suficient	No hi ha dades rellevants	Possiblement carcinogen humà (grup 2B)	1999c, vol 71
<i>Dibromoclorometà</i>	Evidència limitada	No hi ha dades rellevants	No classificable com a carcinogen humà (gr. 3)	1999c, vol 71
<i>Bromoform</i>	Evidència limitada	No hi ha dades rellevants	No classificable com a carcinogen humà (gr. 3)	1999c, vol 71
<i>Àc. Dicloroacètic</i>	Evidència suficient	Evidències inadequades	Possiblement carcinogen humà (grup 2B)	2002, vol 84
<i>Àc. Tricloroacètic</i>	Evidència limitada	Evidències inadequades	No classificable com a carcinogen humà (gr. 3)	2002, vol 84
<i>MX</i>	Evidència limitada	No hi ha dades rellevants	Possiblement carcinogen humà (grup 2B)	2002, vol 84

Acetonitrils halogenats

Alguns d'aquests compostos han demostrat tenir propietats mutàgenes i carcinògenes al laboratori. El mecanisme pel qual indueixen tumors està relacionat amb el potencial alquilant d'aquests subproductes de la cloració. La IARC va avaluar el 1999 el potencial carcinogen per humans d'aquests compostos, tot classificant-los dins de la categoria 3 (IARC 1999c).

Hidrat de cloral

Alguns estudis han mostrat la capacitat genotòxica i carcinògena d'aquests compostos. El mecanisme d'acció es desconeix amb exactitud però implica la conversió a metabolits carcinògens. A altes dosis pot ser clastogènic (trenca el DNA). Es troba dins el grup 3 de la IARC (IARC 2002).

Haloacetones

Un conjunt d'acetones clorades, incloses la 1,1-dicloro, 1,3-dicloro, 1,1,1-tricloro, 1,1,3,3-tetracloro i pentacloroacetona han mostrat ser mutàgens directes al test d'Ames. L'activitat mutàgena disminueix en augmentar els àtoms de clor a les posicions C-1 i C-3, tot i que la 1,1,1-tricloroacetona ha mostrat ser 25 cops més potent que la 1,1-dicloroacetona. Algunes haloacetones han mostrat ser carcinògenes en assaigs de laboratori amb animals (WHO 1996b).

Cloropicrina

S'ha estudiat la seva capacitat mutàgena i carcinògena tot mostrant que és mutagen i carcinogen feble. A dosis elevades resulta tòxic i pot arribar a produir la mort. En rosegadors de laboratori s'ha observat que l'exposició a cloropicrina afectava la mobilitat dels espermatozous (espermatotòxic) (Klinefelter 1995).

Clorur i bromur de cianogen

Han estat poc estudiats i hi ha molt poca informació sobre el seu potencial mutagen, carcinogen i mecanisme d'acció.

Altres

L'anàlisi de compostos halogenats de l'aigua clorada mostra que es desconeix més de la meitat de subproductes formats per la cloració. A mesura que es desenvolupen les tècniques analítiques es van identificant nous compostos. Els compostos minoritaris anomenats halonitrometans han mostrat ser altament citotòxics i genotòxics (Plewa 2000).

Les cloramines (també utilitzades com a desinfectant) es poden formar en reaccionar el clor amb compostos nitrogenats presents a l'aigua, especialment a piscines. En vista d'absència de dades sobre carcinogenicitat a humans, i dades inadequades de carcinogenicitat en animals la IARC va avaluar les cloramines com a no classificables com a carcinògens a humans (grup 3) (IARC 2002).

La carcinogenicitat de barreges de subproductes de la cloració escassament s'ha investigat. Un primer estudi que va avaluar la carcinogenicitat d'una barreja de subproductes de la cloració, trobant que el tractament amb una barreja no provocava de mitjana major activitat carcinògena que l'activitat del compost individual amb major efecte. Conclouen que l'assumpció d'additivitat d'efectes pot sobreestimar l'efecte carcinogen de les barreges de subproductes de la cloració (Hooth 2002). Un segon treball que estudia el potencial carcinogen en rosegadors exposats a una barreja de subproductes de la cloració troba un efecte menor que additiu a les bufetes urinàries de les rates exposades a la dosi més alta (McDorman 2003).

1.4. Efectes sobre la salut humana. Antecedents epidemiològics

La investigació epidemiològica dels efectes sobre la salut associats a l'exposició als subproductes de la cloració es va iniciar poc després de què els trihalometans fossin detectats a l'aigua potable per primera vegada l'any 1974 (Bellar 1974; Rook 1974). Bàsicament hi ha dos grups d'efectes associats a aquesta exposició ambiental (Villanueva 2001a): **efectes reproductius adversos** per exposició de dones embarassades (Nieuwenhuijsen 2000) i diversos tipus de **càncer** (Cantor 1997). Entre els efectes reproductius adversos associats a l'exposició a subproductes de la cloració s'han descrit avortaments espontanis, malformacions congènites, pes baix en néixer i naixements prematurs.

1.4.1. Càncer

Tot i que l'avaluació de la IARC sobre el potencial carcinogen de l'aigua clorada de l'any 1991 (IARC 1991a) no va trobar evidències suficients en humans i en animals per classificar la cloració com a cancerígena, gran part dels estudis epidemiològics posteriors han estat positius.

Càncer de bufeta

És el tumor més consistentment associat a aquesta exposició, tot i que les evidències encara no són concloents (Cantor 1997). El present treball se centra en estudiar l'associació entre els subproductes de la cloració i el càncer de bufeta, un dels més freqüents a l'Estat espanyol. Poc després que es detectaren compostos mutàgens a l'aigua potable (Bellar 1974; Rook 1974), es van realitzar estudis ecològics per avaluar l'associació entre aquesta exposició i diversos tipus de càncer (Bean 1982; Cantor 1978; Kuzma 1977; Page 1976). Aquests estudis mostraren que el càncer de bufeta era un dels més associats a l'exposició a aigua clorada o subproductes de la cloració. Després es van realitzar estudis cas-control de mortalitat per càncer de bufeta trobant generalment associacions positives (Alavanja 1979; Gottlieb 1982a; Zierler 1988). Posteriorment, es van realitzar diversos estudis de disseny cas-control o cohort amb casos incidents de càncer de bufeta (taula 1.6.). En general tots aquests estudis obtenen una mesura del risc (risc relatiu -RR- o *odds ratio* -OR-) superior a 1, que indiquen una associació

positiva entre exposició i efecte. El problema de la majoria d'aquests estudis (tot exceptuant els més recents) és que presenten limitacions importants en la metodologia, fent que els resultats siguin qüestionables.

Taula 1.6. Estudis epidemiològics amb informació individual, que han avaluat el risc de càncer de bufeta per exposició a subproductes de la cloració.

<i>Lloc d'estudi</i>	<i>Autors i any</i>	<i>Disseny de l'estudi</i>	<i>Núm. cas/control</i>	<i>OR o RR [IC 95%]^(*)</i>
Iowa, USA	Cantor KP <i>et al.</i> 1998	Cas-control	732/914	OR = 1.3 [0.9 – 2.0]
Finlàndia	Koivusalo M <i>et al.</i> 1998	Cas-control	1123/1983	OR = 1.22 [0.92 – 1.62]
Finlàndia	Koivusalo M <i>et al.</i> 1997	Cohort	836 casos càncer bufeta	RR = 1.12 [0.93-1.36]
Ontario, Canadà	King WD <i>et al.</i> 1996	Cas-control	696/1545	OR = 2.14 [1.22-3.74]
New York Oest , USA	Vena JE <i>et al.</i> 1993	Cas-control	351/855	OR = 3.4 [1.8-6.2]
Colorado, USA	McGeehin MA <i>et al.</i> 1993	Cas-control	327/261	OR = 1.8 [1.1-2.9]
Iowa, USA	Lynch CF <i>et al.</i> 1989	Cas-control	286/658	OR = 2.14 [1.22-3.74]
Massachusetts, USA	Zierler <i>et al.</i> 1988	Cas-control	614/1074	MOR (OR mortalitat) = 1.6 [1.2-2.1]
USA	Cantor KP <i>et al.</i> 1987	Cas-control	2805/5258	OR = 1.43 [1.23-1.67]
Washington County, Maryland (EEUU)	Wilkins and Comstock, 1981	Cohort	81 casos càncer bufeta	RR en homes = 1.80 [0.80-4.75]

(*) *odds ratio* (OR) o risc relatiu (RR) amb l'interval de confiança al 95%.

Càncer de còlon i recte

Després del càncer de bufeta, els càncers de còlon i recte són els segons més consistentment associats a l'exposició a subproductes de la cloració. En el context de la present memòria de tesi s'han identificat estudis epidemiològics previs que avaluen individualment l'associació entre l'exposició i el càncer de còlon i recte (taula 1.7.). La majoria dels estudis mostra uns resultats que no són estadísticament significatius, però els que presenten significació estadística corresponen a una associació positiva entre exposició i efecte.

Taula 1.7. Estudis epidemiològics amb informació individual que avaluen l'associació entre exposició a aigua clorada i càncer de còlon i recte.

Autor i any	Lloc d'estudi	Avaluació de l'exposició	Tipus de càncer	OR (95% CI)
Craggle <i>et al.</i> 1981	N. Carolina (EEUU)	Anys d'exposició a aigua clorada (historial residencial i informació de companyies d'aigua)	Còlon	0.10 (0.01-0.79)
Young <i>et al.</i> 1987	Wisconsin (EEUU)	Consum d'aigua (entrevista) i nivell de cloroform (registres històrics i anàlisis)	Colo-rectal	0.90 (0.60-1.35)
Marrett <i>et al.</i> 1996	Canadà	Estimació de l'exposició mitjana a THM de 1950 a 1990	Còlon i recte	no disponible (OR no significativa)
Hildesheim <i>et al.</i> 1997	Iowa (EEUU)	Estimació de l'exposició mitjana a THM durant la vida	Còlon Recte	1.06 (0.7-1.6) 1.66 (1.1-2.6)
Doyle <i>et al.</i> 1997	Iowa (EEUU)	Exposició a subproductes de la cloració a partir d'informació de registres històrics	Còlon Recte i anus	1.67 (1.07-2.63) 0.88 (0.38-2.06)
Koivusalo <i>et al.</i> 1997	Finlàndia	Informació històrica de potencial mutagen a partir d'una equació empírica	Recte Còlon	1.04 (0.86-1.26) 0.90 (0.77-1.04)

Altres càncers

S'ha investigat l'associació entre exposició a subproductes de la cloració i altres tipus de càncer, però en general les evidències són poc clares. L'associació entre exposició a aigua clorada i càncer de **pàncrees** s'ha avaluat en diversos estudis amb resultats no consistents. Kukkula *et al.* 1997 i IJsselmuiden *et al.* 1992 van publicar dos estudis que avaluaven l'associació entre l'exposició a aigua clorada i càncer de pàncreas. El primer declara una associació negativa i estadísticament significativa (OR=0.2, 95% CI=0.04-0.94), mentre que el segon conclou una associació positiva i estadísticament significativa entre risc de càncer de pàncreas i exposició a aigua clorada (OR=2.18, 95%CI=1.20-3.95).

La majoria d'estudis de càncer d'**esòfag** troben una associació positiva però no estadísticament significativa (Gottlieb 1982b; Wilkins 1981; Young 1981). Un estudi cas-control de 1999 (Tao 1999) troba una associació positiva i estadísticament significativa (OR=2.77, 95% CI=1.52-5.03). També s'ha estudiat el càncer de **mama** en relació a l'exposició a l'aigua clorada, però els resultats dels estudis no són consistents entre ells (Gottlieb 1982b; Marcus 1998; Wilkins 1981; Young 1981; Zierler 1986). Tres d'aquests estudis mostren resultats estadísticament significatius, dos amb associació positiva (Gottlieb 1982b; Wilkins 1981) i un amb associació inversa (Zierler 1986) entre exposició i efecte. Els altres dos estudis mostren una associació positiva no estadísticament significativa (Marcus 1998; Young 1981). Un estudi sobre el risc de càncer de **cervell**

troba una associació positiva i estadísticament significativa (Young 1981), mentre dos més identificats no troben resultats estadísticament significatius (Cantor 1999; Gottlieb 1982b). També s'ha avaluat l'associació entre càncer de **ronyó**, **fetge** i **pulmó** amb l'exposició a aigua clorada (Gottlieb 1982b; Wilkins 1981; Young 1981), però els resultats no són estadísticament significatius i no mostren una associació clara entre exposició i efecte.

1.4.2. Defectes reproductius

Els efectes adversos en fetus o nounats de mares exposades representa un altre grup d'efectes associats a l'exposició a subproductes de la cloració. Durant els anys 90 i posteriorment s'han publicat nombrosos estudis que avaluen l'associació entre efectes reproductius adversos associats a l'exposició a subproductes de la cloració durant l'embaràs. Els principals efectes estudiats són pes baix en néixer, talla petita per edat gestacional, defectes del tub neural i avortament espontani (taula 1.8.).

L'associació entre l'exposició materna amb mort fetal tardana (Aschengrau 1993; Dodds 1999; King 2000), mort neonatal (Aschengrau 1993), part prematur (Dodds 1999; Jaakkola 2001; Kallen 2000) i determinades malformacions congènites (Shaw 2003) com defectes respiratoris (Aschengrau 1993; Hwang 2002; Magnus 1999), defectes cardíacs o cardiovasculars (Bove 1995; Cedergren 2002; Dodds 2001; Hwang 2002; Magnus 1999), defectes del tracte urinari (Aschengrau 1993; Hwang 2002; Magnus 1999), malformacions congènites majors (Magnus 1999), defectes del sistema nerviós central (Bove 1995), llavi leporí o fisura palatina (Bove 1995; Dodds 2001; Hwang 2002), icterícia al néixer (Kanitz 1996) i anomalies cromosòmiques (Dodds 1999; Dodds 2001) també s'han estudiat. La majoria d'estudis troba una associació positiva entre aquests efectes i l'exposició de la mare embarassada a aigua clorada o els subproductes de la cloració. L'efecte més freqüentment avaluat ha estat el pes baix en néixer. Dels 8 estudis identificats, sis han trobat una associació positiva amb consum d'aigua clorada per part de la mare durant l'embaràs.

Taula 1.8. Resum dels estudis epidemiològics sobre subproductes de la cloració i efectes reproductius adversos més estudiats.

Efecte avaluat		<i>Estudi i any</i>	OR (95% CI)	
Pes baix en néixer		Kramer <i>et al.</i> 1992	1.3 (0.8-2.2)	
		Bove <i>et al.</i> 1995	1.4 (50% CI 1.2-1.7)	
		Savitz <i>et al.</i> 1995	1.3 (0.8-2.1)	
		Kanitz <i>et al.</i> 1996	6.0 (0.6-12.6)	
		Gallagher <i>et al.</i> 1998	2.1 (1.0-4.8)	
		Yang <i>et al.</i> 2000	0.90 (0.75-1.09)	
		Kallen <i>et al.</i> 2000	1.15 (1.05-1.26)	
		Jaakkola <i>et al.</i> 2001	0.97 (0.89-1.06)	
	Talla petita per edat gestacional	Creixement intrauterí retardat	Kramer <i>et al.</i> 1992	1.3 (0.8-2.2)
Bove <i>et al.</i> 1995			1.5 (90% CI 1.2-1.9)	
Talla petita en néixer		Kanitz <i>et al.</i> 1996	2.3 (1.3-4.2)	
		Dodds <i>et al.</i> 1999	1.08 (0.99-1.18)	
		Kallen <i>et al.</i> 2000	1.25 (1.10-1.43)	
		Jaakkola <i>et al.</i> 2001	1.00 (0.91-1.10)	
		Defectes del tub neural	Bove <i>et al.</i> 1995	3.0 (90% CI 1.3-6.6)
			Dodds <i>et al.</i> 1999	1.18 (0.67-2.10)
Klotz <i>et al.</i> 1999	2.1 (1.1-4.0)			
Magnus <i>et al.</i> 1999	1.26 (0.61-2.62)			
Dodds & King 2001	2.5 (1.2-5.1) per CHCl ₂ Br 1.2 (0.7-2.3) per CHCl ₃			
Hwang <i>et al.</i> 2002	0.68 (0.24-1.95)			
Shaw <i>et al.</i> 2003	0.62 (0.26-1.5) Estudy 1. 1.8 (0.85-3.71) Estudy 2.			
Avortament espontani	Savitz <i>et al.</i> 1995	1.2 (0.6-2.4)		
	Waller <i>et al.</i> 1998	1.18 (1.1-3.0)		
	Swan <i>et al.</i> 1998	2.17 (1.22-3.87)		

Existeixen molts d'estudis, però amb metodologies i avaluacions de l'exposició molt diferents. Hi ha molta heterogeneïtat per treure conclusions definitives. A més, les avaluacions de l'exposició a la majoria d'estudis publicats no han estat adequades per tal de demostrar de forma concloent una associació que en principi seria de baixa magnitud (Graves 2001). El biaix més important en aquests estudis és degut a la mala classificació de l'exposició, que donaria lloc a un risc infraestimat (Bove 2002). D'acord amb l'anàlisi de la metodologia i els resultats dels estudis existents, no hi ha evidències que demostrin una associació entre l'exposició a subproductes de la cloració i defectes

reproductius com per exemple molt baix pes en néixer, part prematur, anomalies congènites específiques i mort neonatal. Tampoc hi ha evidències consistents en relació al conjunt totes les anomalies congènites/defectes del naixement, anomalies del sistema nerviós central totals, defectes del tub neural, avortament espontani i mort fetal. Malgrat això, les evidències suggereixen una associació positiva entre l'exposició a subproductes de la cloració amb determinades mesures de creixement retardat (com creixement intrauterí retardat o talla petita per edat gestacional), i anomalies del tracte urinari (Graves 2001).

Les piscines són ambients on els nivells ambientals de subproductes de la cloració són considerables. Un estudi va avaluar l'efecte sobre el pes en néixer de fills de dones embarassades que nedaven a la piscina. Van concloure que no hi havia associació entre duració d'assistència a la piscina i baix pes en néixer (Nieuwenhuijsen 2002).

1.4.3. Efectes respiratoris

L'ús de clor i altres desinfectants químics a les piscines provoca la formació de subproductes clorats. Els THM es troben en concentracions elevades a l'aigua i l'aire de les piscines. Els nivells mitjans en aigua oscil·len entre 125 µg/l (Aggazzotti 1986; Beech 1980) i 223 µg/l (Tumasonis 1987; Lahl 1981). En aire els nivells mitjans de THM són de l'ordre de 117 mg/m³ (Lahl 1981). No existeixen estudis publicats sobre els nivells de THM en aigua o aire de piscines. S'ha descrit una relació lineal entre el nombre de persones a la piscina i els nivells de THM en aigua ($r=0.7$, $p<0.01$) (Tumasonis 1987). La reacció del clor amb matèria orgànica d'origen humà (cabells, suor, orina, saliva, loció) produeix també subproductes nitrogenats (cloramines, dicloroacetonitrils) (Kim 2002).

Un estudi de cas va descriure 3 casos d'asma en treballadors de piscines, que han sigut atribuïts a l'exposició laboral a compostos nitrògeno-clorats (Thickett 2002). La prevalença d'asma a nedadors de competició a nivell internacional és elevada (21%), i d'un 36% a un 79% de nedadors de competició tenen hiperreactivitat bronquial a metacolina o histamina (Helenius 2000). Els efectes irritants de l'ambient de piscines cobertes ha sigut atribuït a la presència de cloramines (Potts 1996). Un estudi fet amb 29 nedadors recreacionals i 14 nedadors professionals per mirar el dany a l'epiteli pulmonar degut al gas triclorur de nitrogen (NCl₃) que hi ha a les piscines, mostra un increment significatiu de proteïnes pulmonars en sang en nedadors recreacionals i

professionals de piscines clorades. Aquests resultats indiquen un dany a l'epiteli pulmonar (sense associar-se a una disminució de la funció pulmonar) degut a l'exposició al NCl_3 de les piscines (Carbonnelle 2002).

1.4.4. Consideracions metodològiques

Molts dels estudis epidemiològics sobre subproductes de la cloració tenen limitacions metodològiques que poden qüestionar la validesa dels resultats. Avaluar l'exposició a contaminants de l'aigua potable per estudiar l'associació amb efectes crònics és complex. Molts dels estudis són ecològics (i transversals), i alguns dels estudis cas-control estan basats en certificats de defunció. Només existeixen 2 estudis prospectius (Koivusalo 1997; Wilkins 1981), i aquests tenen informació limitada sobre l'aigua consumida i no tenen informació sobre nivells de subproductes de cloració. Així, la principal limitació dels estudis fa referència a la mala avaluació de l'exposició, ja que molts estudis consideren només variables qualitatives associades indirectament a l'exposició estudiada (origen de l'aigua, desinfectant utilitzat, etc.) Tot i que aquests paràmetres són importants a l'hora de definir poblacions exposades i no exposades, no permeten realitzar una avaluació quantitativa de l'exposició d'estudi amb dades sobre els nivells ambientals d'exposició. La no consideració de nivells d'exposició retrospectiva porta a assumir que l'exposició en el moment de l'estudi és la mateixa que en el passat, i això també limita les possibilitats de classificació de l'exposició. Alguns estudis tampoc tenen en compte la quantitat d'aigua ingerida diàriament, i cap estudi considera l'origen de l'aigua consumida fora de casa. Cap d'aquests estudis ha considerat altres vies d'exposició diferents de la ingestió d'aigua.

Efectes de la mala classificació de l'exposició

En aquests casos la mala classificació de l'exposició seria no diferencial, és a dir, no depèn de l'estat de cas o control de l'individu i es dona amb la mateixa proporció entre els casos (els que pateixen la malaltia d'estudi) i els controls (els qui no presenten la malaltia). Els errors no diferencials afecten els resultats atenuant la magnitud de l'associació (fan tendir els resultats cap a la hipòtesi nul·la). Aquest fenomen es veu molt clarament en l'estudi de Lynch *et al.* (1989). Per a la mateixa població d'estudi, els

autors avaluen l'exposició amb quatre metodologies diferents, de menys acurada (metodologia 1) a més acurada (metodologia 4), i s'observa un gradient que incrementa la magnitud de l'associació (*odds ratio*) a mesura que millora la classificació de l'exposició (taula 1.9.).

Taula 1.9. Comparació de riscos per a diferents mètodes de classificació de l'exposició, de més incompleta (mètode 1) a més completa (mètode 4).

Temps d'exposició a la cloració	OR [95% CI] [†] relativa a 0 anys d'exposició			
	MÈTODE 1	MÈTODE 2	MÈTODE 3	MÈTODE 4
1-25 anys	0.68 [0.43-1.10]	0.82 [0.49-1.38]	1.02 [0.72-1.44]	1.42 [0.98-2.05]
26-50 anys	0.97 [0.67-1.39]	1.21 [0.84-1.73]	1.37 [0.97-1.93]	1.70 [1.18-2.45]
> 50 anys	1.22 [0.85-1.75]	1.42 [1.01-2.01]	1.81 [0.88-3.71]	2.14 [1.22-3.74]

† *Odds ratio* (OR) no ajustades, pels anys d'exposició a aigua potable clorada i el seu percentatge de canvi en quatre mètodes de quantificar l'exposició a la cloració.

Font: Adaptat de Lynch CF; Woolson RF; O'Gorman T; Cantor KP. Chlorinated drinking water and bladder cancer: effect of misclassification on risk estimates. *Arch Environ Health* 1989; 44(4):252-259

1.5. EL CÀNCER DE BUFETA

1.5.1. Aspectes clínics

Tipus histològics

Un 95% dels càncers de bufeta són carcinomes de cèl·lules transicionals. Al voltant d'un 3% són carcinomes de cèl·lules escamoses i la resta són adenocarcinomes, carcinomes no diferenciats i altres tipus histològics menors (Kantor 1988; Kiemeney 1994).

Presentació clínica

El símptoma més freqüent (70-80%) és hematúria indolora, tant en homes com en dones. La irritació és un altre símptoma, que es dona en un 30% dels casos i s'associa típicament al carcinoma *in situ* multifocal (Mommsen 1983; Mungan 2000).

Diagnòstic

La confirmació diagnòstica es realitza mitjançant una inspecció visual a través d'una cistoscòpia, seguit d'un examen histopatològic de teixit sospitós (biòpsia). Després de la confirmació histològica, l'estudi d'extensió (habitualment pels tumors infiltrants) consisteix en un TAC (tomografia axial computeritzada) pèlvic per determinar l'extensió del tumor i l'afectació de ganglis.

Tractament

El tractament estàndard en els tumors superficials és la ressecció transuretral (RTU). En pacients amb major risc de recidiva es fa un tractament de quimioteràpia intravesical. Als tumors infiltrants, el tractament estàndard és la cistectomia radical, seguit de procediments per restaurar el conducte urinari.

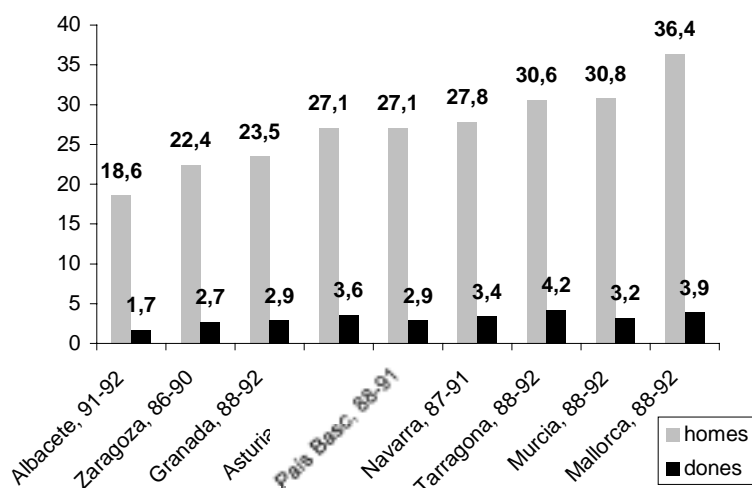
Evolució i història natural

Un 75% de pacients presenta un tumor superficial. Als dos anys de la intervenció, entre un 30 i 85% d'aquests pacients desenvolupa una recidiva. Després de 10 anys, un 10-15% de tumors s'estenen al múscul. Un 20% de pacients presenta inicialment un tumor infiltrant o invasiu (infiltra el múscul). Un 5% de pacients en el moment de diagnòstic presenten metàstasi a distància.

1.5.2. Epidemiologia descriptiva. Incidència i mortalitat

Segons dades del registre de càncer de Tarragona, el de bufeta és el tercer tipus de càncer més freqüent en homes, després del càncer de pulmó i colorectal, tot representant un 12.6% del total de càncers diagnosticats en homes en el període 1988-1992. En dones i en el mateix període, representa el 3.0% de tots els càncers, és a dir, el vuitè més freqüent (Borràs 1997). Als EEUU Representa un 6% de tots els tumors diagnosticats *de novo* en homes i un 2% en dones (Schottenfeld 1996). A nivell mundial, un 4.7% dels càncers entre els homes són de bufeta urinària (estimació de 1985) (Borràs 1997). Globalment, la taxa mundial d'incidència estandarditzada és de 10.0 en homes i 2.4 en dones (taxes crues: 8.5 en homes i 2.5 en dones). Al sud d'Europa s'observa una major incidència: 24.6 en homes i 4.1 en dones (taxes crues: 41.6 en homes, 8.8 en dones). A Espanya i pel període 1993-1996, les taxes d'incidència ajustades a la població mundial són 30.85 (per 100 000 habitants) en homes i 4.07 (per 100 000 habitants) en dones (Moreno 2001), essent 7:1 la raó d'incidències home:dona. La figura 1.4. mostra les taxes anuals d'incidència als diferents registres poblacionals de càncer a Espanya. L'excés de risc en homes s'observa també a nivell internacional. Als EEUU la relació home:dona és de 3:1 (Hartge 1990). En els homes, la corba d'edat mostra un augment ininterromput dels casos a partir dels 40 anys, que es fa més pronunciat a partir dels 55. En les dones, l'increment es posa de manifest a partir dels 65 anys per establitzar-se als 80. L'edat mitja de diagnòstic és de 68 anys pels homes i 72 en les dones (Borràs 1997).

Figura 1.4. Taxes anuals d'incidència estandarditzades en relació a la incidència mundial als nou registres de càncer d'Espanya (per 100 000) (IARC 1997).



La taxa de mortalitat mundial estandarditzada és de 3.8 en homes i 1.0 en dones (taxes crues: 3.2 en homes i 1.1 en dones). A Espanya és de 8.8 en homes i 1.3 en dones (taxes crues: 16.4 en homes i 3.3 en dones) (Ferlay 1998). En el període 91-92, la mortalitat per càncer de bufeta representava un 5.6% de totes les morts per càncer entre els homes (Borràs 1997). Les taxes de mortalitat a Espanya han augmentat linealment des del 1960 en homes i dones, l'augment en homes essent més gran que en dones (Ruiz Cerda 2002). La taxa d'incidència al Vallès Occidental està entre les majors d'Europa (Urrútia 2000).

1.5.3. Factors de risc

Tabac

És el factor de risc principal del càncer de bufeta. En poblacions occidentals el tabac s'estima com la causa del 50% de casos. El risc augmenta amb la duració del temps que es fuma i la quantitat de cigarretes fumades (Brennan 2000; Doll 1994). Deixar de fumar redueix el risc respecte els fumadors actuals. Després de 5 anys de no fumar, el risc es redueix en un 20-30%, però en ex fumadors de llarg termini (20 anys sense fumar) el risc roman més elevat que entre els que no han estat fumadors mai (Brennan 2000). El tipus de tabac també s'associa amb un risc diferent de càncer de bufeta. El tabac negre s'associa amb el doble de risc que el tabac ros (Vineis 1984). Fumar tabac negre té més amines aromàtiques que fumar tabac ros (Vineis 1988). També s'ha observat que els nivells d'adductes d'hemoglobina amb amines aromàtiques són majors en fumadors de tabac negre (Bryant 1988). L'orina dels fumadors de tabac negre és més mutàgena que l'orina dels fumadors de tabac ros (Malaveille 1989).

Exposicions laborals

Certes exposicions laborals són el segon factor de risc del càncer de bufeta més important, després del tabac. Les amines aromàtiques són els compostos que estan associats de forma més consistent amb un increment del risc. Els treballadors que tenen un risc incrementat inclou els treballadors que manipulen tints, cautxú, pell, pintors, conductors de camions i altres vehicles de motor, treballadors de l'alumini i treballadors que manipulen compostos amb amines aromàtiques. Altres ocupacions

també s'han associat a un increment del risc de càncer de bufeta però els resultats són poc consistents.

Altres exposicions laborals específiques que també s'ha suggerit que poden estar associades a un augment del risc són fums de combustió de motors dièsel, pesticides, hidrocarburs policíclics aromàtics (PAH), cromat de plom, carbonat càlcic, cadmi, fibres sintètiques (com fibres acríliques, fibres de nylon i fibres de polièster), asfalt, etc. No obstant, només hi ha evidències suficients d'una associació causal per les amines aromàtiques (1988): (IARC 1994; Kogevinas 1998).

Dieta

Fruïtes i verdures

Les fruites i verdures han mostrat ser protectores del càncer de bufeta en diversos estudis (La Vecchia 1996). Les verdures de la família de les crucíferes han mostrat un dels efectes més protectors per aquest tipus de càncer (Michaud 1999b). Hi ha indicis que el consum elevat de carn s'associa a un increment del risc, però les evidències són inconsistentes.

La forma de cuinar pot alterar l'efecte d'alguns aliments. Les amines aromàtiques, conegudes carcinògenes, es formen en les carns a la brasa i fregides.

Cafè

Hi han evidències d'associació entre consum de cafè i càncer de bufeta, però els resultats no són consistents. En conjunt, la debilitat i la inconsistència de les associacions observades indiquen que el cafè seria un carcinogen feble pel càncer de bufeta. La IARC va avaluar el 1991 el potencial carcinogen del cafè en humans, conclouent que era un possible carcinogen de la bufeta urinària en humans (IARC 1991b).

L'efecte confusor del tabac és el principal problema en l'avaluació del consum de cafè independentment del consum de tabac. Pot haver confusió residual que esbiaixi els resultats, fins i tot havent ajustat per tabac. L'avaluació del risc entre els no fumadors mostra que hi ha un increment de risc entre els consumidors de grans quantitats de cafè (Sala 2000).

Consum de líquids

Els estudis que avaluen consum de líquids en relació al càncer de bufeta no troben resultats consistents. Alguns estudis, generalment cas-control, troben un increment del risc amb el consum total de líquids (Slattery 1988; Vena 1993). Un estudi cohort amb una gran població d'estudi va trobar una associació protectora amb el consum de fluids (Michaud 1999a).

La hipòtesi que hi ha associada a un consum elevat de líquids i aquest tipus de càncer es refereix a la reducció del contacte dels carcinògens amb l'uroteli, degut a la dilució de l'orina o bé per la major freqüència de les miccions. L'associació positiva entre càncer de bufeta i consum de líquids es podria explicar pel consum de certs líquids que continguin constituents carcinogènics.

Edulcorants artificials

Estudis experimentals han mostrat que l'exposició a altes dosis de sacarina és inductora de tumors de bufeta en animals de laboratori (Schoenig 1985). Però els estudis epidemiològics no troben una associació consistent entre consum d'edulcorants artificials i càncer de bufeta en humans (Elcock 1993).

Alcohol

Les evidències epidemiològiques mostren, en conjunt que l'alcohol no representa un factor de risc pel càncer de bufeta (IARC 1988).

Alteracions urinàries

Infeccions urinàries

Alguns estudis han observat una associació positiva entre cistitis i infeccions del tracte urinari amb un increment del risc de càncer de bufeta (La Vecchia 1991), però altres estudis mostren resultats discrepants (Gonzalez 1991). També s'ha hipotetitzat que les infeccions podrien ser conseqüència d'un càncer de bufeta primerenc més que no la causa.

Retenció urinària

Tot i que la retenció urinària no s'ha investigat directament com a factor de risc, diverses troballes són consistents amb la hipòtesi que la retenció urinària està associada amb un increment del risc. El mecanisme d'acció podria estar relacionat amb el major temps de contacte dels carcinògens en l'orina amb la mucosa de la bufeta, que facilitaria l'acció d'aquests compostos.

Antecedents mèdics i tractaments

Pedres al tracte urinari

Els resultats d'un estudi cohort mostren una forta associació entre càncer de bufeta i pedres renals o a l'uretra (Chow 1997). Els resultats de diversos estudis cas-control són inconsistents. Les pedres del tracte urinari poden causar irritació i infecció, o bé ser indicadores d'una infecció crònica.

Càncer de pelvis renal

Alguns estudis de pacients amb càncer de pelvis renal mostren que aquests tenen un risc incrementat de càncer de bufeta (McCredie 1996).

Medicaments

L'ús d'analgèsics amb fenacetina s'ha associat amb un increment del risc pels tumors de bufeta (Piper 1985). Aquests medicaments s'han anat substituint per analgèsics basats en paracetamol. Els estudis realitzats no mostren un increment del risc de càncer de bufeta per l'ús elevat de paracetamol (Piper 1985). Però donat que l'ús estès del paracetamol és recent, el risc d'efectes crònics encara no es pot avaluar.

La ciclofosfamida és un medicament utilitzat per a tractar neoplàsies, com el limfoma no Hodgkin, i altres malalties. La ciclofosfamida ha mostrat ésser carcinògena de la bufeta en animals de laboratori. Estudis clínics han mostrat que l'ús d'aquest medicament s'associa amb un increment del risc de càncer de bufeta (Travis 1995).

Dos estudis mostren que l'ús de barbitúrics per tractar l'epilèpsia (anticonvulsius com el fenobarbital) tindrien un efecte protector per al càncer de bufeta (El Shahat 2001; Habel 1998).

Exposicions ambientals

Subproductes de la cloració

El clor és el desinfectant més estès per a potabilitzar l'aigua. En reaccionar amb la matèria orgànica, es produeix una barreja complexa de subproductes clorats amb propietats mutàgenes i cancerígenes. En diversos estudis el consum durant llargs períodes d'aigua que conté subproductes de la cloració s'ha associat a un increment del risc de càncer de bufeta (Villanueva 2001). El 1991 un grup de treball de la IARC va avaluar el potencial carcinogen de l'aigua clorada. Van concloure que tot i les evidències en animals d'experimentació, les evidències en humans eren limitades i l'aigua clorada no es podia classificar com a cancerígena a humans (IARC 1991a). Els estudis existents tenien limitacions metodològiques que dificultaven la interpretació dels resultats. Posteriorment es van publicar estudis amb una metodologia millorada, i es van trobar associacions positives (Cantor 1998; Freedman 1997; King 1996; Koivusalo 1998). La present tesi doctoral se centra en aquest tipus de contaminants de l'aigua com a factors de risc del càncer de bufeta.

Arsènic

L'arsènic és un dels metalls de les aigües potables més estudiat. L'origen pot ser natural: aqüífers amb materials rics en arsènic; o antròpic: contaminació de reserves d'aigua per activitat industrial o minera.

Hi ha suficients dades en humans per concloure que l'arsènic en aigua és un carcinogen a humans (grup 1 IARC) (IARC 2002), tot i que les evidències proporcionades per animals de laboratori siguin limitades. L'arsènic inorgànic ingerit és una causa establerta de càncer de pell i altres lesions cutànies (Smith 1992). També s'associa amb un increment del risc de càncers interns: (Haque 2003; Smith 2000; Tondel 1999) bufeta i pulmó especialment. Nombrosos estudis epidemiològics han investigat l'associació entre l'exposició a arsènic contingut a l'aigua potable amb càncer de bufeta (Bates 1992; Bates 1995; Guo 1997; Hopenhayn-Rich 1996), de ronyó i de pulmó (Chiou 1995; Ferreccio 2000; Kurttio 1999; Marienfeld 1986). Pel del càncer de bufeta s'han trobat increments del risc amb exposició durant llargs períodes a aigua que contenia nivells elevats d'arsènic (Bates 1995; Chiou 2001; Kurttio 1999; Morales 2000). Determinades regions com la Xina, Amèrica Llatina, Bangladesh i Bengala Occidental tenen nivells elevats a l'aigua potable, normalment d'origen natural.

Aquesta exposició també s'ha associat a altres efectes, com mortalitat fetal, neonatal i postnatal (Hopenhayn-Rich 2000), així com sobre el desenvolupament neuroconductual en nens (Calderon 2001).

2. JUSTIFICACIÓ

2. JUSTIFICACIÓ DE LA TESI DOCTORAL

Es desconeix l'exposició de la població espanyola als trihalometans o altres subproductes de la cloració perquè no existeixen estudis sistemàtics sobre els nivells d'aquests compostos. A més, les evidències dels efectes sobre la salut per l'exposició als subproductes de la cloració no són concloents encara.

Fa 13 anys que la IARC va avaluar el potencial carcinogen de l'aigua clorada (IARC 1991a) i va concloure que tot i els estudis fets, les evidències eren insuficients per classificar-la com a cancerígena. Això fa que l'aigua clorada s'inclogui dins la categoria 3 de carcinògens ("evidències insuficients per classificar-la com a cancerígena a humans"). Els estudis en que es basava aquesta avaluació tenien limitacions metodològiques que qüestionaven la validesa dels resultats. Durant els últims anys s'han publicat estudis epidemiològics amb una metodologia millorada i acurada. També s'han fet estudis experimentals amb animals, sobre el mecanisme d'acció d'aquests compostos, i també es coneixen millor els aspectes químics i l'exposició de les persones. Els estudis epidemiològics recents mostren una associació positiva entre l'exposició a subproductes de la cloració i un increment del risc de càncer de bufeta (Cantor 1998; King 1996; Koivusalo 1998). Les associacions són generalment baixes, i alguns d'aquests resultats no són estadísticament significatius. També hi ha la necessitat de reproduir els estudis a d'altres poblacions, donat que la majoria d'estudis s'han realitzat a Nord Amèrica. Així doncs, el tema de l'aigua clorada i els seus possibles riscos sobre la salut és un tema que roman obert.

Tot i que l'associació pugui ser petita, el nombre de persones potencialment exposades és elevat, i el temps d'exposició abasta tota la vida. Això converteix aquest tema en una qüestió important en salut pública, ja que l'aigua de proveïment públic ha de garantir la innocuïtat per la salut de les persones. La identificació de l'existència d'un increment del risc (en el cas que ens ocupa és relacionat amb el càncer de bufeta) per consumir aigua clorada, i el coneixement de la magnitud d'aquest risc serà un element important a l'hora de proposar mesures que minimitzin aquest impacte sobre la salut humana.

La tesi doctoral que es presenta s'emmarca en aquest context. Es desenvolupa abordant tres tipus d'estudis principals:

1. **Meta-anàlisi d'estudis amb informació individual de consum d'aigua associat amb càncer de bufeta.** Aquest tipus d'anàlisi permet obtenir un valor de risc resum amb dades publicades sobre consum d'aigua clorada i càncer de bufeta, sense haver de recórrer a les bases de dades dels estudis. També permet conèixer les fonts d'heterogeneïtat entre els estudis publicats. Així doncs, els avantatges de la meta-anàlisi respecte el *pooled analysis* és la rapidesa i l'obtenció d'estimadors d'heterogeneïtat.
2. **Anàlisi de dades combinades (*pooled analysis*) tot reagrupant les bases de dades de sis estudis cas-control de càncer de bufeta i subproductes de la cloració.** El criteri de selecció dels estudis es basa en la realització d'una metodologia acurada, amb avaluació de l'exposició individual a THM. La base de dades conjunta inclou estudis de cinc països. Això, juntament amb l'elevat poder estadístic que s'obté permet extreure resultats amb elevada significació estadística que difícilment s'assoliria amb estudis individuals.
3. **Estudi multicèntric espanyol de disseny cas-control de càncer de bufeta.** És el primer estudi d'aquestes característiques que es planteja a l'Estat espanyol. L'aportació respecte a estudis anteriors consisteix en la millora en l'avaluació de l'exposició, tot incloent rutes d'exposició no avaluades fins ara (inhalació i absorció dèrmica). Per tant, una part principal d'aquesta tesi consisteix en l'avaluació de l'exposició a trihalometans (THM) com a indicadors del conjunt de subproductes de la cloració. Aquesta avaluació de l'exposició s'aplica a la població d'estudi per a determinar el risc de càncer de bufeta per exposició a THM.

3. OBJECTIUS i HIPÒTESIS

OBJECTIUS GENERALS

1. Avaluar l'exposició a subproductes de la cloració de la població d'estudi, tant en l'actualitat com en el passat
2. Estimar el risc de càncer de bufeta per exposició a subproductes de la cloració

OBJECTIUS CONCRETS

- 1.1. Determinar els nivells actuals de THM en l'aigua potable de les àrees d'estudi mitjançant anàlisis en mostres d'aigua potable
 - 1.2. Recollir informació sobre els nivells de THM en el passat, any d'inici de la cloració i origen de l'aigua potable en els municipis principals de l'estudi
 - 1.3. Elaborar un model d'exposició a THM, estimant nivells en el passat quan aquests no són disponibles
 - 1.4. Recollir informació individual sobre l'aigua consumida al llarg de la vida i hàbits relacionats amb l'ús d'aigua en la població d'estudi.
 - 1.5. Relacionar les dades ecològiques d'exposició amb les dades individuals de consum d'aigua per a obtenir un perfil d'exposició a THM individual durant tota la vida
-
- 2.1. Estimar el risc de càncer de bufeta per exposició a THM en la població de l'estudi cas-control multicèntric espanyol, tot avaluant diferents vies d'exposició
 - 2.2. Estimar el risc de càncer de bufeta per exposició a THM tot agrupant les bases de dades dels estudis amb millor metodologia i fent una anàlisi conjunta de les dades (*pooled analysis*)
 - 2.3. Realitzar una meta-anàlisi per a estimar un risc resum de càncer de bufeta per exposició a aigua clorada a partir dels estudis publicats, i avaluar l'heterogeneïtat entre estudis

HIPÒTESIS

- La població de l'estudi espanyol cas-control pot estar o haver estat exposada a nivells elevats de subproductes de la cloració
- Es poden construir models adequats d'exposició passada a THM, com a marcador d'exposició a subproductes de la cloració
- Aquesta exposició s'associa amb un increment del risc de càncer de bufeta

4 . METODOLOGIA

PART I. Meta-anàlisi d'estudis sobre consum individual d'aigua clorada i càncer de bufeta

Cerca bibliogràfica

Es va realitzar una cerca bibliogràfica sistemàtica d'estudis sobre càncer de bufeta i aigua potable clorada. Ens vam centrar en els estudis epidemiològics amb avaluació de l'exposició acurada. És a dir, amb informació individual sobre pautes de consum d'aigua a llarg termini. La disponibilitat de l'historial residencial obtingut a través d'entrevistes individuals relacionat amb origen de l'aigua es va definir com a criteri d'inclusió per a la meta-anàlisi. Es va establir aquest criteri d'inclusió perquè en avaluacions prèvies de l'OMS (IPCS 2000), l'absència d'informació individual es va trobar que era un element essencial per a l'avaluació del risc de càncer en humans. D'acord amb aquest criteri es van excloure estudis ecològics i estudis de mortalitat per càncer. Primer es van cercar a la base de dades MEDLINE tots els articles publicats, sense límit en la data de publicació. Els termes de cerca van incloure *bladder cancer*, *chlorine*, *chlorination*, *trihalomethanes (THM)*, *mx*, *disinfectant agent* i *tap water*. La cerca es va realitzar mitjançant entrada consecutiva dels termes de cerca o les seves combinacions. L'estratègia de cerca es resumeix com: $[(\textit{chlorine} \ \& \ \textit{bladder} \ \textit{cancer}) \ \textit{or} \ ((\textit{bladder} \ \textit{cancer}) \ \& \ (\textit{disinfectant} \ \textit{agent} \ \textit{or} \ \textit{chlorination} \ \textit{or} \ \textit{mx} \ \textit{or} \ \textit{thm}))]$. Entre els 46 articles identificats, 14 eren articles de revisió, 7 de disseny ecològic, 3 estudis de mortalitat, 1 discussió, 1 editorial, 1 article en rus sense resum en anglès disponible, 12 no eren estudis epidemiològics sobre càncer de bufeta i cloració (eren metodològics, experimentals o clínics), i 7 complien *a priori* el criteri d'inclusió establert (Cantor 1987; Cantor 1998; King 1996; Koivusalo 1998; Lynch 1989; McGeehin 1993; Wilkins 1981). Es va fer una segona cerca utilitzant *bladder cancer and tap water* com a termes de cerca. Dels 25 articles trobats, només un complia els criteris d'inclusió (Vena 1993). Les cerques es van replicar a les bases de dades CANCERLIT i EMBASE. Totes les referències obtingudes per CANCERLIT estaven incloses al MEDLINE. Es va trobar una referència a EMBASE no inclosa al MEDLINE (Hsu 1999) corresponent a un article de revisió en xinès. Es van examinar les referències dels articles seleccionats i dels articles de revisió més recents per tal de localitzar articles no detectats. Es van identificar una sèrie d'estudis, essent els de Doyle 1997 i Freedman 1997 els únics que complien total o parcialment el criteri d'inclusió.

Dades

Finalment vam incloure a la meta-anàlisi sis estudis cas control (Koivusalo 1998; Cantor 1998; Cantor 1987; King 1996; McGeehin 1993; Vena 1993) i dos estudis cohort (Doyle 1997; Wilkins 1981) que avaluaven consum individual d'aigua a través d'entrevistes personals (Vena 1993). Els sis estudis cas-control incloïen 6.084 casos incidents de càncer de bufeta i 10.816 controls. Els estudis de cohort sumaven 124 casos incidents de càncer de bufeta (taula 4.1.).

L'estudi de Lynch (Lynch 1989) es va excloure de l'anàlisi perquè tot i que complia els criteris d'inclusió la seva població d'estudi estava inclosa a l'estudi de Cantor 1987 (Cantor 1987). L'estudi de Freedman (Freedman 1997) és un estudi cas-control niuat a la cohort de l'estudi de Wilkins i Comstock (Wilkins 1981). L'estudi de Freedman avaluava pautes de consum d'aigua de la població d'estudi només per un període de temps limitat, precisament el mateix temps en què es va fer el cens privat per a l'estudi cohort. Finalment es va incloure l'estudi de cohort (Wilkins 1981) a la meta anàlisi principal. Tot i que el nombre de casos de càncer era menor en l'estudi de cohort, l'avaluació de l'exposició era més acurada i més propera a les dates de realització de l'estudi. L'estudi de Freedman es va considerar en anàlisis alternatives. Els estudis cas-control de mortalitat (Gottlieb 1982; Zierler 1986; Zierler 1988), tot i que han estat referenciats en nombroses ocasions, no es van incloure en aquesta meta-anàlisi perquè la informació era ecològica o obtinguda mitjançant entrevistes a familiars (Zierler 1988).

Taula 4.1. Descripció dels estudis inclosos a la meta-anàlisi.

	Localització	Població d'estudi	Mesura de l'exposició seleccionada per la meta-anàlisi	Categories d'exposició			Confusors considerats a l'anàlisi estadística o el disseny de l'estudi
				Categoria de referència	Exposició a mig termini	Exposició a llarg termini	
ESTUDIS CAS-CONTROL							
Duració de l'exposició a:							
Cantor <i>et al.</i> 1998	Iowa (USA)	732 casos 914 controls poblacionals	Aigua superficial clorada	0 anys	1-39 anys	≥ 40 anys	Edat, sexe, període d'estudi, ocupacions d'alt risc i tabac
Koivusalo <i>et al.</i> 1998	Finlàndia	1,123 casos 1,983 controls poblacionals	Aigua potable substancialment mutagènica	< 15 anys	15-44 anys	≥ 45 anys	Edat, socio-econòmic status i tabac. Resultats estratificats per sexe
King <i>et al.</i> 1996	Ontario (Canadà)	696 casos 1,545 controls poblacionals	Aigua superficial clorada	≤ 9 anys	10-34 anys	≥ 35 anys	Edat, sexe, log paquets-any de cigarretes, fumar actualment, educació, i consum calòric.
McGeehin <i>et al.</i> 1993	Colorado (USA)	327 casos 261 controls amb altres càncers	Aigua clorada	0 anys	1-30 anys	> 30 anys	Consum de cafè, tabac, consum d'aigua d'aixeta, història familiar de càncer de bufeta, sexe i història mèdica d'infeccions de bufeta o pedres al ronyó
Vena <i>et al.</i> 1993	Estat de Nova York (USA)	351 casos 855 controls poblacionals	Aigua d'aixeta	0-49 anys consumint 0-5 gots/dia	0-49 anys consumint >10gots/dia	≥ 50 anys consumint >10 gots/dia	Edat, educació, paquets-any de cigarretes, sodi, carotè i aigua no d'aixeta. Només homes
Cantor <i>et al.</i> 1987	USA	2,855 casos 5,258 controls poblacionals	Aigua superficial clorada	0 anys	1-39 anys	≥ 40 anys	Edat, sexe, hàbit tabàquic, ocupacions d'alt risc, mida de la població on la residència habitual i centre
ESTUDIS COHORT							
Doyle <i>et al.</i> 1997	Iowa (USA)	28,237 individus, 43 casos de càncer de bufeta	Origen de l'aigua potable	100% aigua subterrània		100% aigua superficial	Edat, educació, estat tabàquic, paquets-any de cigarretes, activitat física, consum de fruites i verdures, consum energètic total, índex de massa corporal, raó cintura/cadera
Wilkins and Comstock 1981	Washington County (USA)	31,000 individus, 81 casos de càncer de bufeta	Origen de l'aigua potable	Usuaris d'aigua de pou profund		Usuaris d'aigua superficial clorada	Edat, estat civil, educació, història tabàquica, freqüència d'assistència a l'església, adequació de la residència i persones per habitació

Anàlisi estadística

Per a cada estudi es van extreure les *odds ratios* (OR) o els riscos relatius (RR), més els intervals de confiança al 95% (95% CI) per sexe i categoria d'exposició. Dos estudis disposaven només de riscos estratificats per gènere (Koivusalo 1998), i es van calcular estimadors de risc totals a través d'una meta-anàlisi del risc d'homes i dones. Un estudi només incloïa homes (Vena 1993), i un altre estudi només dones (Doyle 1997). Vam utilitzar el mètode de Wolf per combinar els estimadors de risc a totes les meta-anàlisis. Aquest mètode es basa en els estimadors de risc i intervals de confiança específics de cada estudi, i aplica l'invers de la variància com a factor de ponderació (Sharp 1997). L'índex d'exposició analitzat pels estudis cas-control va ser el de duració de consum d'aigua potable clorada, mentre que en els estudis de cohort l'índex va ser origen de l'aigua. Els individus es van classificar segons si havien consumit alguna vegada aigua potable clorada o no. Pels articles sense estimadors de risc pels alguna vegada exposats, vam estimar el risc combinat per aquesta categoria d'exposició a través d'una meta-anàlisi dels estimadors de risc de les sub-categorïes exposades. Els consumidors d'aigua clorada es van agrupar posteriorment segons la duració de l'exposició. Es van utilitzar tres categories d'exposició definides *a priori*: grup de no exposició o baixa exposició (categoria de referència), que incloïa individus que no havien consumit aigua clorada o que havien consumit aigua clorada durant un període curt; categoria d'exposició a mig termini, que corresponia en la majoria dels estudis a un consum d'aigua clorada de 1 a 40 anys; i categoria d'exposició a llarg termini, que corresponia en la majoria d'estudis a un consum d'aigua clorada durant més de 40 anys. Els estudis de cohort proporcionaven estimadors de risc per origen d'aigua, i per tant aquests estudis no estan inclosos a l'anàlisi per duració. Quan els estimadors de risc de les categories d'exposició a mig i llarg termini que havíem definit no coincidien amb les dades publicades per algun estudi, es realitzava una meta-anàlisi dels estimadors de risc col·lapsant categories d'exposició. Els punts de tall utilitzats per definir els grups d'exposició eren estudi-específics i no coincidien d'un treball a l'altre (taula 4.1.). La influència dels punts de tall per a determinar els resultats es va examinar en anàlisis alternatives. Es van examinar fonts potencials d'heterogeneïtat a través de mètodes gràfics (*Galbraith plot* (Galbraith 1988)). Es va realitzar un test d'heterogeneïtat en totes les meta-anàlisis, basat en l'estadístic Q, que segueix una distribució chi-quadrada. Es va considerar que hi havia heterogeneïtat estadísticament significativa quan el p valor

estava per sota de 0.10 (DerSimonian 1986). En els casos amb heterogeneïtat substancial s'aplicava un model d'efectes aleatoris (DerSimonian 1986).

Es va examinar la influència de cada estudi sobre l'estimador de risc combinat a través d'ometre consecutivament cada estudi de la meta-anàlisi (Sterne 1998). Es va aplicar meta-regressió per explicar l'heterogeneïtat potencial deguda al disseny de l'estudi i a l'any de publicació (Sharp 1998), tot ajustant models d'efectes aleatoris amb dos components additius de variància (intra i inter estudis) (Lau 1998).

Sota l'assumpció de dosi-resposta lineal i independència de les OR dosi-específiques, vam estimar els pendents de regressió dosi-resposta per a cada estudi i pels dos sexes, utilitzant la OR, 95% CI i el punt mig de l'interval (Berlin 1993). Per a intervals amb límit superior obert, es va utilitzar un punt que era 20% major que el límit superior de l'interval (Berlin 1993). Després vam realitzar una meta-anàlisi dels pendents i els seus errors estàndard per a obtenir un pendent dosi-resposta combinat per a tots els estudis. L'exponenciació del pendent donava la OR per unitat d'increment de l'índex d'exposició (1 any d'exposició). Per a superar el problema d'assumir independència de les OR dosi-específiques (que és incorrecte perquè tenen un grup de referència comú), vam ajustar l'error estàndard de les pendents intra-estudi tot estimant la covariància. Es va aplicar el mètode descrit prèviament per Greenland i Longnecker (Greenland 1992) per als tres estudis que informen del nombre de casos i controls per cada categoria d'exposició. Es va comprovar la presència potencial de biaix de publicació a través dels mètodes gràfics d'Egger i Begg (Egger 1997). Les anàlisis es van fer mitjançant el paquet estadístic Stata v6.0.

PART II. Anàlisi de dades combinades (pooled analysis) d'estudis cas-control de càncer de bufeta i subproductes de la cloració

Selecció dels estudis

Vam obtenir les dades primàries de sis estudis epidemiològics (taula 4.2.) que complien els següents criteris d'inclusió:

- (1) estudis cas-control amb casos incidents de càncer de bufeta,
- (2) existència d'avaluació detallada d'exposició a THM a llarg termini, i
- (3) accés a les dades primàries

Els estudis publicats s'identificaren a través de cerques al MEDLINE. Els estudis no publicats es s'identificaren a través de contactes personals amb grups de recerca que anteriorment havien col·laborat amb una altra anàlisi combinada de dades d'estudis de càncer de bufeta (Mannetje 1999a; Mannetje 1999b; Sala 2000). La base de dades agregada inclou dos estudis dels EEUU (Cantor 1998; Lynch 1989), i un respectivament de Canadà (King 1996), Finlàndia (Koivusalo 1998), França (Cordier 1993) i Itàlia (Porru, no publicat), realitzats entre 1978 i 2000. Les dades d'un estudi addicional dels EEUU (McGeehin 1993) no foren accessibles i no s'inclogueren a l'anàlisi. Els resultats d'aquest estudi són similars als dels estudis inclosos al *pooled analysis*, trobant el doble de risc per homes i dones junts per consum d'aigua clorada durant més de 34 anys en relació als no exposats. Els investigadors principals del projecte i dels estudis individuals es reuniren per discutir el protocol, prendre decisions operacionals per analitzar les dades i comentar resultats.

Dades disponibles

De les bases de dades originals es van extreure les covariables que podien actuar com a confusores potencials o modificadors de l'efecte: edat, sexe, hàbit tabàquic (mai fumadors; ex fumadors, tabac deixat dos anys abans de l'entrevista; fumadors actuals), duració de l'hàbit tabàquic, nombre de cigarretes fumades al dia, haver treballat alguna vegada en una ocupació de risc elevat *a priori* (Kogevinas 2002), consum de cafè, estatus socio-econòmic (com anys d'educació) i consum total de fluids. Es van establir definicions i esquemes de codificació comuns per a totes les variables per tal de fer-les comparables entre els estudis. Els individus menors de 30 anys i majors de 80 (n=774) van ser exclosos de la base de dades conjunta, així com els pacients amb més de dos

anys entre el diagnòstic i l'entrevista (n=166). La base de dades conjunta comprèn finalment 3419 casos i 6077 controls (Taula 4.2.). Tots els casos inclosos es van confirmar histològicament. Quatre dels estudis inclouen controls poblacionals. Els altres dos tenien controls hospitalaris, un utilitzant controls urològics (Porru, no publicat) i el segon, pacients de malalties osteoarticulars, digestives i malalties de cor (Cordier 1993). Els controls es van aparellar amb els casos per edat i àrea geogràfica, individualment o per freqüències.

Taula 4.2. Descripció dels estudis inclosos a l'anàlisi de dades combinades.

Estudi	País	Casos		Controls		Origen controls	Període de reclutament
		N	%	N	%		
Porru S (no publicat)	Itàlia	123	3.6	150	2.5	Hospital	1997- 2000
King 1996	Canadà	696	20.4	1545	25.4	Població	1992- 1994
Koivusalo 1998	Finlàndia	759	22.2	1292	21.3	Població	1991-1992
Cantor 1998	EEUU	959	28.0	1768	29.1	Població	1986-1992
Cordier 1993	França	567	16.6	666	10.9	Hospital	1984-1987
Lynch 1989	EEUU	315	9.2	656	10.8	Població	1977- 1978
Total		3419		6077			

Informació d'exposició

L'aproximació seguida als diferents estudis per estimar l'exposició passada era bastant similar, tot i que només hi havia informació disponible per a cada estudi i els models específics aplicats per l'extrapolació diferien. Als dos estudis dels EEUU (Cantor 98, Lynch 89), es va estimar la mitjana geomètrica de nivells de THM contemporanis agrupats per tractament i origen de l'aigua. Aquestes mitjanes geomètriques les van aplicar a anys passats equivalents en termes d'origen i tractament. A l'estudi Francès (Cordier 93), es va recollir retrospectivament informació sobre origen i tractament de l'aigua. Es van assignar nivells de THM mitjans a les diferents combinacions d'origen i tractament d'aigua, calculats a través d'un model experimental que utilitzava els mateixos paràmetres. A l'estudi canadenc (King 96), van estimar nivells retrospectius

de THM a través d'un model predictiu basat en característiques de l'aigua crua, tractament, i nivells de THM actuals. A l'estudi italià (Porru, no publicat), van aplicar retrospectivament a anys passats nivells mitjans de THM d'anys actuals. L'estudi finlandès (Koivusalo 98) va seguir una aproximació diferent. Van estimar nivells de mutagenicitat a l'aigua potable a través d'una equació que calculava el nivell de mutagenicitat en base a informació sobre qualitat de l'aigua crua (consum de permanganat, pH, i color) i pràctiques de tractament de l'aigua. Es va estimar un índex de mutagenicitat per cada persona tot calculant un estimador individual d'exposició històrica a mutagenicitat de l'aigua potable (Koivusalo 1994). Els nivells individuals de THM es van derivar aplicant una correlació ecològica entre mutagenicitat i nivell de THM.

Les variables relacionades amb l'exposició que es van extreure de les sis bases de dades van ser: consum diari d'aigua de l'aixeta (litres/dia, tot incloent aigua *per se*, cafè, te i altres begudes preparades amb aigua de l'aixeta) i el nivell mitjà anual de THM ($\mu\text{g}/\text{l}$). Es van crear dos índexs d'exposició a partir d'aquestes dues variables:

- (1) exposició mitjana a THM ($\mu\text{g}/\text{l}$, suma del nivell mitjà anual de THM dividit entre el nombre d'anys amb dades de THM disponibles) i
- (2) exposició acumulada de THM (mg), calculada com el producte de la suma del nivell mitjà anual de THM amb el consum total d'aigua de l'aixeta. (Un individu que hagi begut només aigua embotellada o de pou tindria un nivell d'exposició acumulada zero, independentment de l'exposició mitjana).

L'exposició mitjana informaria sobre l'exposició a través de totes les rutes d'exposició (ingestió, inhalació i absorció dèrmica), mentre que el l'exposició acumulada és una millor aproximació de l'exposició per ingestió. Tot i això, cap dels estudis inclou informació sobre les vies d'exposició, i que els dos índexs d'exposició presenten una elevada correlació (coeficient de correlació de Pearson=0.74). Els nivells d'exposició per estudi variaven entre 10 i 30 $\mu\text{g}/\text{l}$, amb l'excepció de l'estudi més petit (Porru, no publicat), on els nivells d'exposició eren molt baixos (Taula 4.3.). A partir dels quatre estudis dels que es disposava informació sobre origen de l'aigua i estatus de cloració (King 1996)(cloració/no cloració) (Cantor 1998; Cordier 1993; Lynch 1989), es van crear variables per a la duració de l'exposició a aigua superficial clorada, aigua subterrània clorada i aigua no clorada. Per a tots els índexs d'exposició es va definir una finestra d'exposició comuna de 40 anys, que comprenia des de 45 anys fins a 5 anys abans de

l'entrevista. La finestra d'exposició de l'estudi francès era una mica més curta perquè les dades disponibles més antigues eren de 37 anys abans de l'entrevista.

Taula 4.3. Nivells mitjans d'exposició a THM estimats ($\mu\text{g/L}$) i rang d'exposicions pels casos i controls (exposats i no exposats) per estudi. Els nivells es mostren pels individus amb informació disponible d'exposició de $\geq 70\%$ de la finestra d'exposició.

Autor	Nivell mitjà THM ($\mu\text{g/l}$)					
	Casos			Controls		
	Mitjana (Desv. Est.)	Rang	Individus exposats a $\leq 1 \mu\text{g/l}$	Mitjana (Desv. Est.)	Rang	Individus exposats a $\leq 1 \mu\text{g/l}$
Cantor	11.6 (19.7)	0.5-73.9	38%	10.0 (18.3)	0.5-73.9	42%
Cordier	18.4 (21.9)	0-78.3	15%	17.2 (21.2)	0-78.3	16%
King	32.2 (23.3)	0-124.7	13%	29.7 (23.0)	0-124.7	16%
Koivusalo	23.5 (30.8)	0-130.0	49%	21.5 (29.4)	0-130.0	52%
Lynch	14.8 (21.5)	0.5-73.9	40%	10.3 (17.7)	0.5-73.9	51%
Porru	0.6 (0.8)	0-2.2	72%	0.4 (0.7)	0-2.2	84%

Anàlisi estadística

Es va utilitzar regressió logística incondicional per a calcular les *odds ratios* (OR) i els intervals de confiança al 95% (95% CI) pels diferents índexs d'exposició. Totes les OR estan ajustades per estudi, edat (contínua), sexe (per anàlisis no estratificades), hàbit tabàquic, haver treballat en una ocupació que sigui *a priori* d'alt risc (Kogevinas 2002), i consum elevat de cafè (>5 tasses cafè/dia). Els models per exposició mitjana es van ajustar addicionalment per consum total de fluids. Es disposava informació pels sis estudis sobre hàbit tabàquic, però només hi havia informació detallada i comparable de duració i intensitat disponible per cinc dels sis estudis (Cantor 1998; Cordier 1993; King 1996; Lynch 1989 i Porru, no publicat). L'anàlisi estadística d'exposició a THM per aquests cinc estudis ajustant per hàbit tabàquic i alternativament per paquets-any de fumadors actuals només indicava diferències en el segon decimal de la OR. Les variables d'exposició es van tractar inicialment com a variables categòriques. En anàlisis inicials es va estimar el risc dels que havien estat exposats alguna vegada respecte als que mai havien estat exposats (exposició mitjana igual a zero). Els mai exposats eren un grup més petit que els exposats, i es podria tractar d'un grup seleccionat no representatiu de la població restant. Es van examinar tres punts de tall alternatius: 0.5, 1.0 i 1.5 $\mu\text{g/l}$. Es va seleccionar el nivell mitjà de 1 $\mu\text{g/l}$, que

corresponia aproximadament al percentil 15 dels individus exposats. Es va seguir una aproximació similar per l'exposició acumulada, amb el punt de tall de 15 mg corresponent al percentil 15. Utilitzant aquests punts de tall es garantia que l'exposició del grup de referència fos suficientment baixa, a la vegada que permetia incloure un nombre d'individus suficient de tots els estudis al grup de referència per a les anàlisis globals i estratificades per sexe. Els individus exposats es van agrupar utilitzant quartils com a límits de les categories per a examinar la tendència dosi-resposta. La pauta de relació dosi-resposta es va avaluar addicionalment amb un model additiu generalitzant, introduint el terme d'exposició coma un *spline* natural amb tres graus de llibertat, i ajustant per estudi, edat, sexe, hàbit tabàquic, haver treballat en ocupacions de risc, educació, consum elevat de cafè (>5 tasses/dia), i consum total de fluids.

Totes les anàlisis que avaluen THM es limitaven als 8060 individus amb exposició coneguda per al menys el 70% de la finestra d'exposició (2806 casos i 5254 controls). Les anàlisis es van realitzar amb el paquet estadístic STATA v.7.0. i S-Plus 2000. Es van calcular les OR ajustades pels efectes principals de cada estudi, i es avaluar l'heterogeneïtat d'efectes entre estudis a través d'una meta-anàlisi (DerSimonian 1986).

PART III. Estudi multicèntric espanyol cas-control de càncer de bufeta

4.1. Disseny i població d'estudi

Disseny

Aquesta tesi doctoral s'emmarca en un estudi epidemiològic multicèntric espanyol de disseny cas-control hospitalari on participen centres de quatre províncies espanyoles: Alacant, Astúries, Barcelona i Tenerife (figura 4.1.). Per raons administratives, l'estudi en la zona de Barcelona es va dividir en tres àrees: àrea metropolitana, Sabadell i Manresa. Per simplificar, aquestes zones es tractaran a la present tesi com una sola àrea. L'estudi espanyol forma part a la vegada d'un projecte europeu anomenat EPICURO (EPIde miology of the Cancer of UROthelium).

Figura 4.1. Àrees d'estudi.



Definició de cas i control

El cas es defineix com a pacient diagnosticat per primera vegada de càncer de bufeta i resident a l'àrea d'influència de l'hospital participant a l'estudi. Els controls són pacients hospitalaris aparellats amb els casos per sexe, edat (períodes de 5 anys) i zona de residència. Els casos són captats durant el seu ingrés als hospitals participants a través dels uròlegs, que informen al centre coordinador d'àrea. Els criteris d'inclusió dels casos són que tinguin entre 20 i 80 anys, i resideixin a l'àrea d'influència de l'hospital participant. Els casos són confirmats posteriorment a través d'una histologia de la biòpsia. Per cada cas se selecciona un control del mateix sexe, que resideixi a l'àrea d'influència de l'hospital, i amb no més o menys 5 anys de diferència amb l'edat del cas amb qui s'aparella. El motiu d'ingrés dels controls ha de d'estar dintre de les patologies establertes prèviament (malalties no relacionades amb els factors de risc coneguts del càncer de bufeta): malalties del sistema circulatori i del sistema digestiu, malalties de la pell i teixits subcutanis, lesions, estats urològics benignes i del sistema gènito-urinari, deformitats músculo-esquelètiques, malalties del sistema nerviós i òrgans dels sentits i operacions de nas, boca i faringe. Per més detall veure l'annex ("Llistat de patologies dels controls"). Tots els casos i controls que accepten participar a l'estudi donen el seu consentiment per escrit (veure l'annex "Imprès de consentiment pels casos i pels controls", per més detalls).

Població d'estudi

La població inclosa a l'estudi és d'origen hospitalari i està formada per 1226 casos de càncer de bufeta i 1271 controls, reclutats entre maig de 1998 i octubre de 2001 i distribuïts entre les zones d'estudi (figura 3.1.). La zona geogràfica d'estudi ve delimitada pels 18 hospitals que participen amb aportació de casos i controls (taula 4.4.). Dintre d'Alacant, l'àrea d'influència de l'estudi es concentra a la ciutat d'Elx i rodalies; a Barcelona es distingeixen tres àrees d'influència diferenciades: àrea metropolitana de Barcelona, Sabadell, Manresa i les respectives rodalies. L'àrea d'estudi d'Astúries inclou tot el principat i a Tenerife tota l'illa.

Taula 4.4. Hospitals participants a l'estudi.

Hospital d'estudi	Àrea d'influència
Província de Barcelona	
Hospital del Mar	Barcelona
Hospital Germans Trias i Pujol	Badalona, Barcelonès Nord, Maresme Sud
Hospital de Sant Boi	Sant Boi Llobregat, Baix Llobregat
Consorci Hospitalari Parc Taulí	Sabadell, Cerdanyola, Barberà, Ripollet, Sta. Perpètua, Castellar
Consorci Hospitalari i Cardiològic de Manresa	Manresa i poblacions del Bages
Província d'Alacant	
Hospital General d'Elx	Elx, Crevillent, Santa Pola
Tenerife	
Hospital Universitario de Canarias	Totes les poblacions de Tenerife
Residencia la Candelaria	
Astúries	
Hospital Comarcal San Agustín (Avilés)	Totes les poblacions d'Astúries
Hospital Central Residencia de Covadonga (Oviedo)	
Hospital Central General (Oviedo)	
Hospital Monte Naranco (Oviedo)	
Hospital de Jove (Gijón)	
Hospital de Cabueñes (Gijón)	
Cruz Roja Española (Gijón)	
Hospital de Jarrio (Coaña)	
Hospital Carmen y Severo Ochoa (Cangas Narcea)	
Hospital Álvarez-Buylla (Mieres)	

Informació de casos i controls

Mostres biològiques

Durant la seva estada a l'hospital, una infermera realitza una extracció de sang als casos i als controls que prèviament han donat el seu consentiment per participar a l'estudi. Aquells individus reticents a donar sang se'ls proposava realitzar un rentat bucal, amb la finalitat de recollir cèl·lules de la boca. Les mostres de sang i cèl·lules bucals s'obtenen per extreure DNA i realitzar anàlisis genètics de diferents tipus. També es pren una mostra d'ungla del dit gros del peu, per tal d'analitzar metalls que s'hi acumulen (arsènic, seleni).

Qüestionaris

Diverses entrevistadores entrenades van administrar una entrevista individual assistida per ordinador (CAPI) als casos i controls durant la seva estada a l'hospital. L'entrevista estava estructurada en diferents seccions en les que es preguntava sobre

dades socio-demogràfiques, hàbits de consum de tabac i cafè, historial laboral, historial residencial, historial mèdic, antecedents familiars, qualitat de vida i informació personal (<http://www.imim.es/epicuro/epicuro%20questionnaires.htm>). Aquells individus no disposats a respondre l'entrevista completa se'ls administrava una entrevista d'articles crítics que consistia en una versió reduïda de l'entrevista completa. Es lliurava un qüestionari alimentari per obtenir informació sobre hàbits dietètics. Aquest qüestionari era administrat per l'entrevistadora o bé autoadministrat. També es proporcionava un diari de pH i freqüència urinària perquè el pacient el completés 10 dies després de l'alta hospitalària, tot retornant-lo per correu.

4.2. Taxes de resposta

Es van contactar 1460 casos i 1465 controls elegibles. D'aquests, el 86% va acceptar participar a l'estudi responent l'entrevista personal (84% casos, 88% controls). Un 20% dels responents va contestar l'entrevista d'articles crítics (21% casos, 19% controls). La població d'estudi finalment està formada per 1226 casos i 1271 controls. Respecte els individus amb entrevista personal, es té mostra de sang d'un 88.5% (94% casos, 83% controls); rentat bucal del 7% (4% casos, 10% controls); mostra d'ungla d'un 77% (79% casos, 75% controls); qüestionari alimentari d'un 72.5% (76% casos, 69% controls); i diari de pH i freqüència urinària d'un 60.5% (65% casos, 56% controls). Les taxes de resposta s'especifiquen a la taula 4.5.

Taula 4.5. Taxes de resposta dels casos i controls (respecte individus amb entrevista, si no s'especifica el contrari).

	Casos	Controls
Entrevista (<i>Computer Assisted Personal Interview</i>)	84%†	88%†
Cèl·lules per anàlisi de DNA		
Mostra sang	94%	83%
Mostra sang o rentat bucal	98%	93%
Qüestionari alimentari	76%	69%
Diari pH orina	65%	56%
Mostra ungla	79%	75%

† Respecte individus elegibles

La distribució de malalties a la població de controls es mostra a la taula 4.6. Les malalties més freqüents entre els controls homes són les hèrnies inguinals (32%), les fractures (22%), i malalties benignes del sistema gènito-urinari, concretament hidrocele (13%). Entre les dones controls predominen les fractures (40%), i en menor mesura altres hèrnies abdominals (15%).

Taula 4.6. Distribució de les malalties del controls

Malalties	Codi ICD† 9	Homes Controls (%)	Dones Controls (%)
Malalties del sistema circulatori			
Varius	454, 456	13 (1)	10 (6)
Hemorroides	455	23 (2)	1 (1)
Malalties del sistema digestiu			
Apendicitis	540-543	32 (3)	4 (2)
Hèrnia inguinal	550	352 (32)	10 (6)
Altres hèrnies abdominals	551-553	74 (7)	25 (15)
Obstrucció intestinal	560	88 (8)	15 (9)
Altres malalties intestinals: prolapse rectal	569	9 (1)	1 (1)
Malalties de la pell i teixits subcutanis			
Varis	680-709 excepte 692, 693, 694, 696, 707. També exclou malaltia de Bowens i Hiperqueratosis	19 (2)	8 (5)
Malalties urològiques benignes i del sistema gènito-urinari			
Hidrocele	603 excepte 603.1	146 (13)	
Espermatocèle	608.1	2 (0.2)	
Espermatocèle congènit	752.8	1 (0.1)	
Accidents i Ortopèdies			
Deformatats adquirides del dit del peu Excloure congènites, p.e. Halux valgus	735	7 (1)	6 (4)
Fractures	800-829	241 (22)	67 (40)
Dislocacions	830-839	11 (1)	3 (2)
Torçades	840-849	12 (1)	1 (1)
Lesions internes de tòrax, abdomen i pelvis	860-869	5 (0.5)	
Ferides a les extremitats superiors i inferiors	880-897	27 (2.4)	7 (4)
Altres malalties d'origen extern	990-995	28 (2.5)	7 (4)
Cirurgia plàstica (v50, v51)			
Oftalmologia			
Desprendiment de retina, etc.	361, 365, 366, 385.3	15 (1)	1 (1)
Total		1105 (100)	166 (100)

† International Classification of Diseases. Classificació internacional de les malalties

4.3. Avaluació de l'exposició a subproductes de la cloració

Vam utilitzar els trihalometans (THM) com a marcadors d'exposició a subproductes de la cloració. La informació sobre exposició a THM s'ha obtingut a través de diverses fonts d'informació: (1) determinacions pròpies de THM i HAA en mostres d'aigua de les zones d'estudi, (2) qüestionaris a empreses d'aigua i qüestionaris a ajuntaments per recollir nivells retrospectius de THM, informació sobre l'origen de l'aigua i any d'inici de la cloració, i (5) entrevistes individuals a la població d'estudi. A continuació es detalla la metodologia d'aquests punts separatament.

4.3.1. Nivells actuals de trihalometans i àcids acètics halogenats

Mostreig

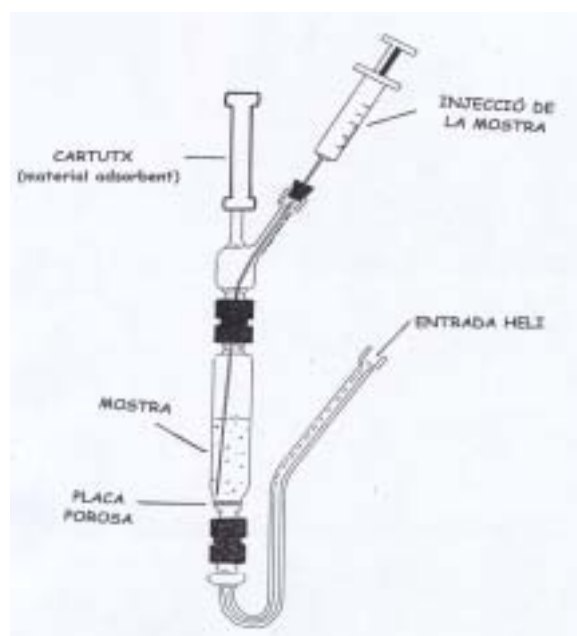
Durant els mesos de setembre a desembre de 1999 es van prendre 105 mostres d'aigua d'aixeta per determinar el nivell de THM a les zones d'estudi. Es van prendre 34 mostres a Astúries, 24 a Barcelona, 9 a Sabadell, 9 a Manresa, 19 a Alacant i 10 a Tenerife. Els àcids acètics halogenats es van analitzar en un subconjunt de 18 mostres: 5 a Barcelona, 5 a Astúries, 5 a Alacant i 3 a Tenerife. Les mostres es prenen al punt de consum (aixeta) i a temperatura ambient, ja fos a cases particulars, centres públics o fonts municipals. Per cada punt es van prendre dos mostres separades en el temps, que s'enviaven per missatger al laboratori d'anàlisi a Barcelona (Departament de Química Ambiental, IIQA, CSIC).

Per a la determinació de THM, es van prendre mostres d'aigua per duplicat tot evitant la formació de bombolles en vials de vidre de 40 ml. S'afegien tres mg de tiosulfat sòdic a cada vial per tal d'evitar la posterior formació de THM deguda a la reacció del clor remanent. Els vials eren segellats amb tacs de rosca i sèptums de tefló, tot evitant deixar cambra d'aire entre l'aigua i el tac del vial. Per a la determinació dels àcids acètics halogenats les mostres es prenen en ampolles de 250 ml que també se segellaven amb tac de rosca i sèptum de tefló. Totes les mostres es conservaven a 4°C fins a la data d'anàlisi, que es realitzava dintre dels 14 dies des del mostreig.

Anàlisi experimental

Primerament es va validar la tècnica analítica utilitzada, tot comparant els nostres resultats amb els d'un laboratori de referència. Es van prendre 20 mostres per duplicat distribuïdes entre les quatre províncies d'estudi. Una s'enviava al laboratori de referència (Aigües de Barcelona) i una altra s'analitzava als laboratoris propis (Dept. Química Ambiental, IIQA, CSIC) seguint la metodologia descrita anteriorment. La validació va mostrar resultats comparables entre el nostre laboratori i el de referència. Es van determinar quatre THM (cloroform, bromodiclorometà, dibromoclorometà i bromoform) tot seguint un procediment optimitzat anteriorment (Amaral 1994). S'injectaven 5 ml de mostra d'aigua amb una xeringa en un mecanisme de purga i trampa (figura 4.2.), mentre una corrent d'heli amb un flux de 40 ml/min la travessava durant 11 minuts. Els compostos volàtils s'arrossegaven des de la matriu aquosa i quedaven retinguts en un cartutx amb material adsorbent (Tènax TA), que es tancava hermèticament. Aquests compostos s'analitzaven amb desorció tèrmica automatitzada (ATD model Perkin Elmer 400) acoblada a un cromatògraf de gasos amb detector de captura electrònica (Perkin Elmer Autosystem).

Figura 4.2. Esquema del sistema de purga i trampa



La quantificació dels nivells de THM a les mostres es fa interpolant les àrees dels pics corresponents als quatre THM a través de la recta de calibrat obtinguda amb les solucions patró. Pràcticament totes les mostres estaven per sobre dels límits de detecció (taula 4.7.).

Taula 4.7. Límits de detecció dels quatre trihalometans.

	Límit de detecció ($\mu\text{g/l}$)
Cloroform	0.08
Bromodiclorometà	0.05
Dibromoclorometà	0.05
Bromoform	0.1

Font: Amaral 1994⁹².

Es van determinar nou àcids acètics halogenats (àcids cloro-, dicloro-, tricloro-, bromo-, dibromo-, tribromo-, bromocloro-, dibromocloro- i diclorobromoacètic). El procediment analític ha estat prèviament descrit en detall (Cancho 1999). Breument, es fa una microextracció (separació de la fase aquosa i orgànica) seguida d'una derivatització (segona separació de la fase orgànica de l'aquosa). La determinació d'HAA es va realitzar als laboratoris d'Aigües de Barcelona, utilitzant un cromatògraf de casos amb detector de captura electrònica (veure l'annex "esquema del procediment analític per la determinació d'HAA en mostres d'aigua", on s'esquematitza el procés amb més detall).

Correlació trihalometans/àcids acètics halogenats

Per tal d'examinar la relació quantitativa entre els THM i els HAA, es van calcular els coeficients de correlació entre els nivells d'ambdós compostos en el subconjunt de mostres de les que es disposa de nivells de THM i HAA (18 mostres). Es va analitzar la relació entre nivell total de THM i HAA a través d'anàlisi de regressió lineal simple utilitzant el paquet estadístic SPSS 9.0. El nivell total de THM s'introduí com a variable independent i el nivell total d'HAA com a variable dependent.

També es van estudiar les correlacions entre THM i HAA específics, per tal d'examinar quins THM podrien ser millors predictors d'HAA específics. Es van calcular els coeficients de correlació entre THM i HAA específics tot considerant només les mostres que estaven per sobre del límit de detecció.

4.3.2. Dades retrospectives d'exposició

Qüestionari a empreses d'aigua i ajuntaments

Es van elaborar dos qüestionaris específics adreçats a empreses i a ajuntaments respectivament per a recollir informació sobre l'aigua subministrada a les àrees d'estudi. La informació que recull el *qüestionari a les empreses*, en forma resumida és:

Informació general de la companyia: nom de l'empresa, informació de contacte (adreça, nom i càrrec de la persona que respon el qüestionari), data de resposta, temps que porta funcionant l'empresa, municipis coberts per l'empresa (amb els anys que porta cobrint-los) i el nombre de persones que rep aigua de l'empresa.

Informació sobre l'origen de l'aigua: origen de l'aigua (l'actual i els anteriors en cas que hagués canviat), empreses a qui venen i/o compren aigua.

Informació sobre el procés de potabilització: línia de potabilització actual i anteriors, desinfectants utilitzats actualment i en el passat (clor, ozó, peròxid d'hidrogen -H₂O₂-, permanganat potàssic -KMnO₄-, altres), si mantenen controls del clor afegit i utilització d'altres oxidants en altres etapes de la potabilització.

Nivells de: trihalometans i clor lliure residual a sortida de planta; demanda de clor, matèria orgànica, pH, temperatura, cabal, bromurs, arsènic i amoníac de l'aigua a entrada de planta. Es demanen mitjanes anuals des de l'any 1950, excepte per als trihalometans (que es demanaren des de 1970). Aquest qüestionari es troba annexat al final del document "Qüestionari a empreses d'aigua".

En determinades àrees de l'estudi, la gestió de l'aigua potable es fa des dels ajuntaments. Per aquests casos es va elaborar un *qüestionari* específic adreçat a *ajuntaments* que bàsicament consistia en una versió reduïda del qüestionari per les empreses. Aquest qüestionari recollia la informació següent:

Informació general: nom de l'ajuntament, persona i dades de contacte, data de resposta i municipis o nuclis subministrats.

Informació sobre l'origen de l'aigua: % aigua superficial i % aigua subterrània subministrat al/s municipi en l'actualitat i en el passat.

Any inici cloració, Tractament de l'aigua

Nivells mitjans anuals de: THM, demanda de clor, matèria orgànica, etc.

(veure aquest qüestionari a l'annex "Qüestionari a ajuntaments").

Procediment per seleccionar empreses i ajuntaments

Primerament es van seleccionar les principals ciutats de cada àrea d'estudi per enviar el qüestionari a les empreses d'aigua. D'aquesta manera es van obtenir dades d'Oviedo, Gijón, Avilés, Barcelona, Sabadell, Manresa, Elx, Crevillent, Santa Pola, Santa Cruz de Tenerife, Santa Cruz de la Palma, La Laguna, etc. Es van enviar qüestionaris a unes 151 empreses d'aigua distribuïdes entre les quatre províncies d'estudi, amb una taxa de resposta global del 18.5% (per àrees: 100% a Barcelona, 75% a Sabadell i Manresa, 36% a Astúries, 16.3% a Alacant i 6.7% a Tenerife).

Quan la fase de les entrevistes a casos i controls estava molt avançada es van analitzar les dades de l'historial residencial per esbrinar els municipis més importants representats a l'estudi, calculant els anys que contribuïen a l'estudi. Es va calcular el nombre total d'anys que els individus havien viscut a cada municipi (persones-any per municipi). Es va col·lapsar la base de dades per municipi, per obtenir un llistat de municipis amb tots els anys que cada un contribuïa a l'estudi. Ordenant aquest llistat de més a menys anys, s'obtingué una dada objectiva que ens informà de quins municipis són més importants per a l'estudi en termes d'anys viscuts per la població. A la taula 4.8. s'indica el llistat dels municipis que proporcionen el 50% de persones-any a l'estudi. Com s'observa, amb 13 municipis es cobreix la meitat de les persones-any de l'estudi. Gijón és el municipi que aporta més anys a l'estudi, amb 11751 persones-any (un 8.3% del total d'anys).

Un cop es va elaborar aquesta llista, es va recollir informació dels municipis tot seguint l'ordre de la llista. Així s'obtenia informació dels municipis que aportaven més població a l'estudi.

Taula 4.8. Distribució del 50% de les persones-any de l'estudi

	<u>municipi</u>	<u>persones-any</u>	<u>% p-a</u>	<u>% p-a acumulat</u>
1.	Gijón	11751	8.33	8.33
2.	Barcelona	9857	6.99	15.32
3.	Santa Cruz de Tenerife	7525	5.34	20.66
4.	Oviedo	6469	4.59	25.24
5.	Sabadell	6081	4.31	29.55
6.	Elx	6026	4.27	33.83
7.	Avilés	5392	3.82	37.65
8.	Badalona	5019	3.56	41.21
9.	La Laguna	3558	2.52	43.73
10.	Mieres	2961	2.10	45.83
11.	Santa Coloma de Gramenet	2510	1.78	47.61
12.	Manresa	2010	1.43	49.04
13.	Valdés	1568	1.11	50.15

4.3.3. Estimació de nivells històrics de trihalometans

L'avaluació retrospectiva de l'exposició s'ha realitzat a nivell de municipi, i només s'ha realitzat en aquells municipis amb informació disponible sobre l'origen d'aigua en el passat i l'any d'inici de la cloració. Aquells municipis sense aquesta informació bàsica han estat exclosos de l'avaluació de l'exposició. La situació de partida per a molts municipis és la que s'il·lustra a la figura 4.3. És a dir, es coneix l'any en què es comença a clorar, també es coneix l'origen de l'aigua al llarg dels anys, i es disposa d'alguna determinació de THM d'anys recents.

Figura 4.3. Exemple de situació de partida abans de fer l'avaluació retrospectiva de l'exposició a THM.

Any	THM
1920	0
1921	0
	0
	0
	0
	0
	0
	0
	0
	?
	?
	?
	?
	?
	?
	?
1995	THM ₁
1996	THM ₂
1997	THM ₃
1998	THM ₄
1999	THM ₅
2000	THM ₆

any inici cloració →

L'estimació de nivells històrics de THM s'ha realitzat mitjançant tota la informació disponible de THM (l'obtinguda per qüestionaris i l'obtinguda per determinacions pròpies), origen, tractament i any inici cloració disponibles. Per als anys anteriors a la cloració s'atribueix un nivell zero de trihalometans. Per als anys que es coneix que es clorà l'aigua però no existeixen dades de THM s'ha atribuït el nivell de mitjà de THM d'anys recents, sempre i quan l'origen de l'aigua sigui el mateix. Aquesta metodologia assumeix que dins un mateix municipi, per a un mateix origen d'aigua i tractament, el

nivell de THM seria constant al llarg del temps. La proporció d'aigua superficial s'ha utilitzat com a ponderació en el càlcul de THM quan l'origen de l'aigua canviava al llarg dels anys. Si l'origen canviava a 100% subterrània, s'aplicaven nivells mitjans de THM de municipis geogràficament propers amb origen subterrani.

Per a que l'avaluació retrospectiva de l'exposició fos sistemàtica, s'han establert normes a seguir segons el tipus d'informació disponible a nivell municipal. Els municipis s'han agrupat de la següent manera:

- *Municipis A*. Es disposa d'història de l'origen de l'aigua i any d'inici de la cloració.
- *Municipis B*. Com els A, més disponibilitat del nivell de THM d'un any.
- *Municipis C*. Com els A, més nivell anual de THM de ≥ 2 anys.
- *Municipis D*. Com C, més dades de tractament i altres paràmetres en el passat
- *Municipis E*. Disponibilitat del nivell de THM (de >1 any), però no història d'origen ni any d'inici de la cloració.
- *Municipis F*. Només història d'origen d'aigua. No es disposa d'any inici cloració

Per als *municipis A*, s'han extrapolat les dades de THM a partir de nivells de THM de municipis geogràficament propers amb el mateix origen. Quan no hi havia informació de municipis homòlegs i propers, no es feia avaluació retrospectiva de l'exposició. Per als *municipis B*, el nivell de THM disponible s'atribuïa a anys anteriors si l'origen de l'aigua era el mateix. Per als *municipis C*, s'atribueixen nivells de THM a anys passats utilitzant el nivell mitjà de THM calculat per un període recent amb el mateix origen d'aigua. Els *municipis D* són els que disposen d'informació de millor qualitat i normalment corresponen a ciutats. En aquests, els nivells de THM atribuïts a anys anteriors s'estimen a partir de la mitjana de THM calculada per a un període recent amb el mateix origen. No s'ha fet avaluació retrospectiva de l'exposició pels *municipis E*. Els tres *municipis F* no pertanyen a les àrees d'estudi principals, per tant no hi ha informació disponible de municipis geogràficament propers. En aquests l'avaluació de l'exposició retrospectiva només es fa si hi ha informació disponible de municipis geogràficament propers i amb el mateix origen d'aigua i els prenen els nivells d'aquests municipis propers.

Barcelona és un cas especial perquè el mateix municipi rep aigua de dos orígens diferents amb característiques químiques diferents tot donant lloc a nivells totals i específics de THM molt diferents. Per una banda rep aigua del Llobregat, amb un

contingut en bromurs alt, que generen una gran proporció de THM bromats i cloro-bromats. Per l'altra banda rep aigua del Ter, amb contingut de THM menor, i predomini del cloroform sobre els THM bromats i cloro-bromats (Calderon 2002). En el cas de Barcelona es realitza l'avaluació retrospectiva de l'exposició per a cada codi postal. Es disposa de la proporció de cada origen d'aigua per codi postal al llarg dels anys, i s'ha tingut en compte aquesta proporció per a atribuir nivells de THM retrospectivament. En el cas dels codis postals dels quals no es disposava aquesta informació, o bé l'origen variava dintre del mateix codi, no es realitzava l'avaluació retrospectiva de l'exposició. Aquests quedaven exclosos de l'anàlisi posterior.

4.3.4. Informació individuals de casos i controls sobre exposició

La informació individual sobre hàbits relacionats amb l'aigua es va recollir a través de l'*entrevista personal* als casos i controls (CAPI, descrit anteriorment amb més detall). També es va administrar un *qüestionari alimentari* que recollia hàbits alimentaris del pacient. La informació rellevant per a l'avaluació de l'exposició a THM és:

- ◆ Historial residencial: carrer, ciutat, província, autonomia i país de totes les residències on han viscut els casos i els controls des del naixement, amb any d'entrada i de sortida a cada residència on s'ha viscut durant un any o més.
- ◆ Historial laboral: ciutat, província, autonomia i país de tots els treballs on han estat ocupats els casos i els controls des dels 16 anys, amb any d'entrada i de sortida a cada feina que hagi durat al menys 6 mesos consecutius.
- ◆ Origen de l'aigua (municipal/ampolla/pou privat/altres) a cada residència on s'ha viscut, des del naixement
- ◆ Origen de l'aigua (municipal/ampolla/pou privat/altres) a cada lloc de treball on el pacient ha estat ocupat des dels 16 anys.
- ◆ Freqüència i duració del bany o la dutxa, temperatura de l'aigua (calenta/freda/ambdues), etc.
- ◆ Freqüència i duració d'assistència a piscines, piscina coberta/descoberta, any inici d'anar a la piscina, etc.

També s'obté el consum diari mitjà d'aigua (litres/dia), a través de l'entrevista i del qüestionari alimentari. A l'annex "Entrevista a casos i controls" s'especifiquen les preguntes que fan referència a l'avaluació de contaminants via aigua.

4.3.5. Combinació de dades individuals amb dades municipals

La base de dades individual amb l'historial residencial i l'origen de l'aigua a cada residència contenia tants registres per individu com residències. Aquesta base de dades va ser expandida per obtenir la informació any per any de cada individu. La base de dades individual expandida es va combinar (*merged*) amb la base de dades que contenia nivells mitjans anuals de THM a nivell municipal. Les variables per les quals es van relacionar les dues bases de dades van ser municipi i any. D'aquesta manera, vam obtenir una base de dades amb dades individuals any per any de nivells mitjans anuals de THM, origen de l'aigua i estat de cloració de l'aigua potable municipal.

Per tal d'obtenir una variable d'exposició per individu, es van sumar els nivells mitjans anuals de THM. La xifra obtinguda es va dividir pel nombre d'anys amb nivells disponibles de THM, obtenint un nivell mitjà d'exposició a THM. També es va calcular la proporció d'anys amb dades no disponibles de THM de la finestra d'exposició (degut a dades no disponibles d'origen de l'aigua a la residència o dades no disponibles de THM municipals). Es va seguir el mateix procediment per calcular exposició mitjana a CHCl_3 , CHCl_2Br , CHClBr_2 i CHBr_3 .

Es realitzarà el mateix procediment per l'historial laboral i l'origen de l'aigua a les diferents feines.

Per tal de seleccionar la finestra d'exposició a analitzar, es van crear diferents bases de dades amb diferents finestres d'exposició: tota la vida (des del naixement fins l'entrevista); des de l'edat de 10; des de l'edat de 15; des del naixement fins a 5 anys abans de l'entrevista; dels del naixement i fins a 10 anys abans de l'entrevista; des de l'edat de 10 i fins a 5 anys abans de l'entrevista; des de l'edat de 15 i fins a 5 anys abans de l'entrevista; des de l'edat de 10 i fins a 10 abans de l'entrevista. Es va explorar la distribució del percentatge d'exposició a THM conegut a la població per a cada finestra d'exposició, i es va seleccionar la finestra d'exposició que maximitzava el percentatge d'exposició coneguda (taula 4.9.).

A l'anàlisi estadística multivariant associant càncer de bufeta amb exposició a THM, determinats individus amb un cert grau de mala classificació de l'exposició hauran de ser exclosos. Si s'inclouen tota la població d'estudi, estarem incloent individus amb mala classificació de l'exposició. Si per altra banda incloem els individus amb 100%

d'informació de la finestra d'exposició, tindrem una població reduïda per analitzar. Per tant, la selecció del punt de tall és un compromís entre el nombre d'individus que excloem i la qualitat de la informació dels individus que s'inclouen. Finalment vam seleccionar el punt de tall de 70%. Així quedaven exclosos de l'anàlisi aquells individus amb menys del 70% d'informació de l'exposició de la finestra d'exposició. Això permetia a la vegada que els resultats fossin comparables amb altres estudis que han fet servir el mateix punt de tall (Cantor 1998).

Taula 4.9. Percentatge de població amb informació coneguda d'exposició a THM de ≥ 70 , 80, 90 i 100% de les diferents finestres d'exposició.

Informació exposició (% de la finestra d'exposició)	Finestres d'exposició							
	Tota la vida	Fins a 5 anys abans entrevista	Fins a 10 anys abans entrevista	Des dels 10 anys i fins a 5 anys abans entrevista	Des dels 15 anys i fins a 5 anys abans entrevista	Des dels 10 anys i fins a 10 anys abans entrevista	Des dels 10 anys	Des dels 15 anys
$\geq 70\%$	64.5	63.5	62.8	67.8	69.3	66.2	69.2	71.1
$\geq 80\%$	59.3	58.9	58.6	62.0	64.6	61.0	62.9	65.8
$\geq 90\%$	53.1	53.2	52.8	56.1	58.3	55.7	56.7	59.0
100%	44.2	44.9	45.2	49.4	51.3	49.5	48.9	51.0

3.3.6. Índexs d'exposició individuals

Es van crear dos índexs individuals d'exposició a THM.

Per l'índex d'exposició mitjana a THM, els nivells municipals de THM es van atribuir a l'individu independentment de l'origen d'aigua a casa que declarava a l'entrevista. Vam calcular la suma dels nivells de THM d'any per any i després vam dividir pel nombre d'anys amb dades disponibles de THM. Així obteníem una variable d'exposició mitjana a THM amb unitats de $\mu\text{g}/\text{l}$. Aquest índex d'exposició reflectiria una exposició global (inhalació, absorció dèrmica i ingestió). Es basa en el fet que una persona que declara consumir aigua embotellada no estarà exposada a través de la ingestió però sí que estarà exposada als nivells de THM municipals a través de la inhalació i l'absorció dèrmica mentre es dutxi, es banyi, renti els plats, o qualsevol altre activitat relacionada amb l'aigua. A més, si l'individu treballa al mateix municipi, aquest índex d'exposició global també implicaria l'exposició a la feina.

Per l'índex d'ingestió de THM, es van atribuir nivells municipals de THM a l'individu quan aquest declarava consumir aigua municipal. Si l'individu declarava consumir aigua de pou, embotellada o d'altres fonts, s'atribuïa un nivell de THM igual a zero.

Vam obtenir un nivell mitjà d'exposició a THM sumant els nivells de THM any per any i després dividint pel nombre d'anys amb informació disponible de THM. Vam multiplicar aquest nivell pel consum diari d'aigua de l'aixeta (litres/dia, incloent aigua *per se*, més cafè i te). Conseqüentment, vam obtenir un nivell mitjà d'exposició a THM a través de la ingestió, amb unitats de $\mu\text{g}/\text{dia}$. El mateix procediment se seguirà amb el nivell de THM ingerit a la feina, i es combinarà amb l'exposició a la casa (ingestió a la feina amb un pes relatiu de 1/3 respecte la ingestió a casa, d'acord a la comunicació personal de Lynch). Així s'obtindrà un índex d'exposició total a THM per ingestió a casa i a la feina. Les dades que es presenten en aquest document fan referència a l'exposició a THM per ingestió a les residències.

Es van generar les següents variables a través de sumar el nombre d'anys amb aigua no clorada, subterrània clorada i superficial clorada: duració d'origen d'aigua no clorada, clorada subterrània i clorada superficial a la residència. També es va calcular la proporció d'anys amb dades no disponibles d'origen d'aigua i estatus de cloració a la finestra d'exposició (degut a valors no disponibles d'origen de l'aigua a l'històric residencial o origen de l'aigua o estat de cloració a nivell municipal).

Les variables de dutxa i bany s'analitzaren per duració d'aquestes activitats, ja que tota la població està exposada. Es va calcular els minuts totals al mes dutxant-se i banyant-se, separatament, combinant la freqüència i la duració habitual de cada bany o dutxa.

Nedar a la piscina es va analitzar per mai/alguna vegada assistència a la piscina, duració, i tipus de piscina (coberta/descoberta). Es van calcular els minuts al llarg de la vida nedant a la piscina combinant la freqüència de l'assistència i el temps habitual que a dins de l'aigua.

Es va combinar les hores totals durant la vida dutxant-se, banyant-se i nedant a la piscina per generar un índex d'exposició no ingerida global. La ponderació utilitzada per combinar aquestes tres activitats es basen en la bibliografia sobre incorporació de cloroform. Segons la referència que vam seguir, 3 minuts de bany o dutxa equivalent aproximadament a 2 minuts de piscina i a un litre l'aigua ingerida (si tots els altres paràmetres, com temperatura, pH, nivells de cloroform, etc., son iguals) (Whitaker

2003). L'equació que vam utilitzar va ser: $[2/3(\text{minuts a la dutxa durant la vida})+2/3(\text{minuts al bany durant la vida})+\text{minuts nedant a la piscina}]$.

4.4. Anàlisi estadística

Vam utilitzar regressió logística incondicional per calcular les *odds ratios* (OR) i els intervals de confiança al 95% (95% CI) pels diferents índexs d'exposició. Totes les OR es van ajustar per àrea, edat (contínua), sexe (quan no s'estratificava), estat tabàquic (mai/ex/actual fumador), grau urbà de la residència més llarga, consum de fruites i verdures, qualitat global de l'entrevista i educació. L'anàlisi es va limitar als individus amb exposició coneguda al menys del 70% de la finestra d'exposició. Els individus amb qualitat global de l'entrevista qüestionable o insatisfactòria (110 casos, 93 controls) van ser exclosos de l'anàlisi. Les variables contínues es van agrupar utilitzant quartils com a límits de les categories, i es van calcular OR i 95% CI per les diferents categories d'exposició, així com el valor p del test de tendència lineal. La tendència dosi-resposta es va examinar addicionalment a través d'un model additiu generalitzat utilitzant la variable contínua d'exposició mitjana com un *natural spline* (3 graus de llibertat), ajustant per la resta de covariables.

5. RESULTATS

PART I. Meta-anàlisi d'estudis sobre consum individual d'aigua clorada i càncer de bufeta

Tots els estudis seleccionats troben un excés de risc de càncer de bufeta, anant des de 1.4 fins 2.2 per les categories de màxima exposició i els dos sexes combinats (taula 5.1). Però només en quatre estudis els resultats són estadísticament significatius. A tots els estudis cas-control, les OR tendeixen a incrementar amb la duració de l'exposició.

Taula 5.1. Odds ratios i intervals de confiança al 95% pels estudis inclosos a la meta-anàlisi, segons la duració de l'exposició a aigua potable clorada

ESTUDIS CAS-CONTROL

Cantor		<i>Mai exposats</i>	<i>1-19 anys</i>	<i>20-39 anys</i>	<i>40-59 anys</i>	<i>≥ 60 anys</i>
1998	Homes	1.0	1.1 (0.8-1.3)	1.3 (0.9-1.8)	1.5 (0.95-2.3)	1.9 (1.1-3.6)
	Dones	1.0	0.9 (0.6-1.4)	0.7 (0.3-1.3)	0.7 (0.3-1.4)	0.7 (0.2-2.4)
	Tots	1.0	1.0 (0.8-1.2)	1.1 (0.8-1.4)	1.2 (0.8-1.7)	1.5 (0.9-2.6)
Koivusalo		<i>< 15 anys</i>	<i>15-29 anys</i>	<i>30-44 anys</i>	<i>≥ 45 anys</i>	
1998	Homes	1.0	1.07 (0.73-1.55)	1.67 (1.01-2.78)	2.32 (0.99-5.45)	
	Dones	1.0	0.92 (0.49-1.72)	1.19 (0.53-2.64)	1.88 (0.54-6.57)	
	Tots ^a		1.03 (0.74-1.42)	1.52 (1.0-2.33)	2.2 (1.1-4.4)	
King		<i>≤ 9 anys</i>	<i>10-19 anys</i>	<i>20-34 anys</i>	<i>≥ 35 anys</i>	
1996	Homes	-	-	-	-	
	Dones	-	-	-	-	
	Tots	1.0	1.04 (0.71-1.53)	1.15 (0.86-1.51)	1.41 (1.09-1.81)	
McGeehin		<i>0 anys</i>	<i>1-10 anys</i>	<i>11-20 anys</i>	<i>21-30 anys</i>	<i>> 30 anys</i>
1993	Homes	-	-	-	-	-
	Dones	-	-	-	-	-
	Tots	1.0	0.7 (0.4-1.3)	1.4 (0.8-2.5)	1.5 (0.8-2.9)	1.8 (1.1-2.9)
Vena		<i>0-49 anys</i>	<i>50-59 anys</i>	<i>60-67 anys</i>	<i>68-86 anys</i>	
1993^b	Homes	2.89 (1.47-5.67)	1.85 (0.96-3.57)	2.27 (1.14-4.50)	2.24 (1.05-4.74)	
	Dones	-	-	-	-	
	Tots	-	-	-	-	
Cantor		<i>0 anys</i>	<i>1-19 anys</i>	<i>20-39 anys</i>	<i>40-59 anys</i>	<i>≥ 60 anys</i>
1987^c	Homes	1.0	1.1 (0.7-1.6)	1.1 (0.7-1.5)	1.2 (0.8-1.7)	1.2 (0.7-2.1)
	Dones	1.0	1.8 (0.8-3.7)	1.5 (0.7-3.1)	2.2 (1.0-4.8)	3.2 (1.2-8.7)
	Tots	1.0	1.2 (0.9-1.7)	1.1 (0.8-1.6)	1.3 (0.9-1.9)	1.4 (0.9-2.3)

ESTUDIS COHORT

Doyle 1997		<i>100% aigua subterrània</i>	<i>Barreja aigua superficial-subterrània</i>	<i>100% aigua superficial</i>
	Dones	1.0	2.27 (1.2-4.31)	0.62 (0.15-2.63)
Wilkins & Comstock 1981		<i>Usuaris d'aigua de pous profunds</i>	<i>Usuaris d'aigua superficial clorada</i>	
	Homes	1.0	1.80 (0.8-4.75)	
	Dones	1.0	1.60 (0.54-6.32)	
	Tots ^a		1.7 (0.8-3.5)	

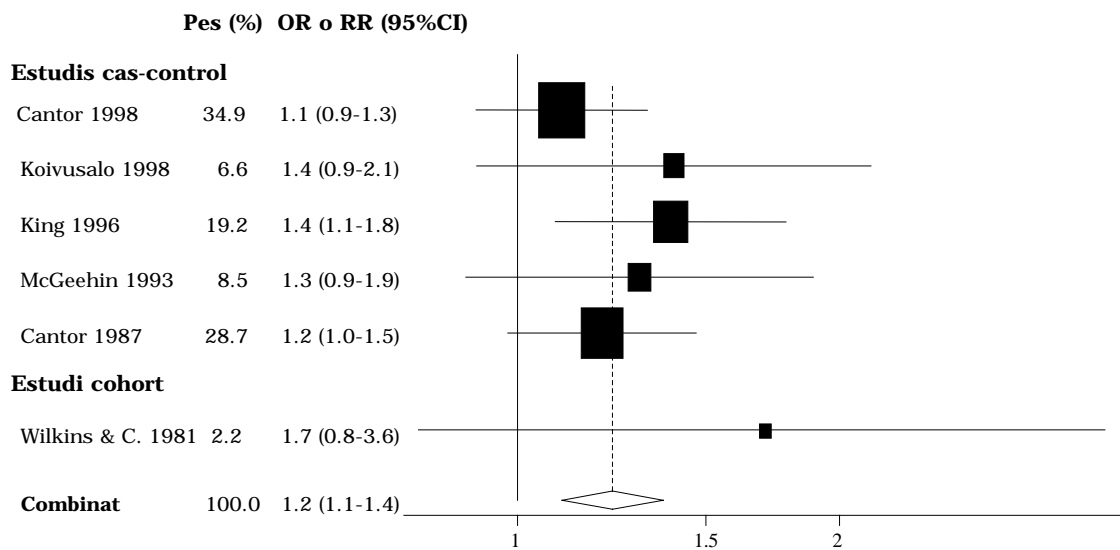
^a risc pels dos sexes obtingut d'una meta-anàlisi del risc en homes i dones

^b OR pel quartil de consum diari d'aigua d'aixeta ≥10 gots

^c OR per l'estrat de consum d'aigua superior a la mediana de la població (1.4 litres).

Haver consumit alguna vegada aigua potable clorada s'associava amb el càncer de bufeta amb un estimador de risc combinat de 1.2 (interval de confiança al 95%, (95% CI)=1.1-1.4) pels dos sexes, en base a 6 estudis (figura 5.1.). Els estimadors de risc combinats per sexe eren 1.4 (95%CI=1.1-1.9) per homes, en base a 5 estudis i 1.2 (95%CI=0.7-1.8) per dones, en base a 5 estudis (taula 5.2.).

Figura 5.1. Odds ratios (OR), intervals de confiança al 95% (95% CI), pes de l'estudi a la meta-anàlisi i estimador de risc combinat obtingut per meta-anàlisi de les OR dels estudis que associen càncer de bufeta amb consum d' aigua potable clorada alguna vegada. Homes i dones junts.



Test d'heterogeneïtat $p=0.610$
 τ^2 (variança deguda a la variació inter-estudi) <0.001

Els resultats de la meta-anàlisi mostren un increment del risc estadísticament significatiu del càncer de bufeta per exposicions a llarg termini a aigua potable clorada (taula 5.2.). L'estimador de risc combinat pels dos sexes junts i una exposició a mig termini era de 1.1 (95% CI=1.0-1.2) en base a 5 estudis. L'estimador de risc combinat per l'exposició a llarg termini era de 1.4 (95%CI=1.2-1.7) en base a 5 estudis. En aquesta categoria d'exposició els estimadors de risc eren lleugerament menors en dones (OR combinada=1.4) que en homes (OR combinada=1.6) (taula 5.2.). La inclusió de l'estudi de cohort, o alternativament l'estudi cas-control niuat de Freedman *et al.* modificaven mínimament els resultats. La OR combinada pels dos gèneres i exposició a llarg termini

era de 1.5 (95% CI=1.3-1.7) en el cas d'inclusió de l'estudi cohort de Wilkins and Comstock, i de 1.4 (95% CI 1.2-1.6) en el cas d'inclusió de l'estudi cas-control niuat.

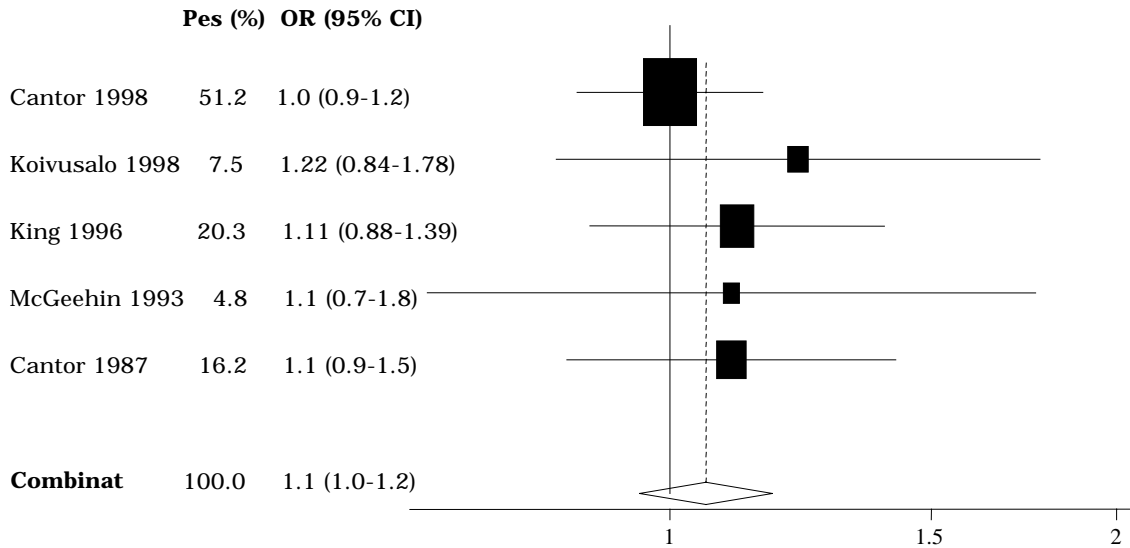
Taula 5.2. Estimadors de risc combinats d'estudis que associen càncer de bufeta i consum d'aigua potable clorada, estratificats per gènere i categoria d'exposició

	Categoria d'exposició	OR combinada (95% CI)	Nombre d'estudis	valor p del test d'heterogeneïtat	Mètode seleccionat
Tots	Mig termini	1.1 (1.0-1.2)	5	0.84	Efectes fixes
	Llarg termini	1.4 (1.2-1.7)	5	0.55	Efectes fixes
	Alguna vegada	1.2 (1.1-1.4)	6 *	0.61	Efectes fixes
Homes	Mig termini	1.3 (1.0-1.7)	4	0.08	Efectes aleatoris
	Llarg termini	1.6 (1.2-2.2)	4	0.11	Efectes aleatoris
	Alguna vegada	1.4 (1.1-1.9)	5 *	0.01	Efectes aleatoris
Dones	Mig termini	1.0 (0.7-1.6)	3	0.09	Efectes aleatoris
	Llarg termini	1.4 (0.6-3.6)	3	0.01	Efectes aleatoris
	Alguna vegada	1.2 (0.7-1.8)	5 *	0.01	Efectes aleatoris

* Inclou els estudis de cohort, que no proporcionen estimadors de risc per duració del consum

Les OR específiques pels dos sexes junts i exposició a mig i llarg termini es mostren a les figures 5.2. i 5.3. respectivament. Les OR per la categoria d'exposició a llarg termini són comparables entre els estudis, i tant el test d'heterogeneïtat com el gràfic de Galbraith (que és un mètode més sensible que l'estadístic chi-quadrat) no indiquen diferències substancials entre estudis (figures 5.4. i 5.5). Tot i això, l'heterogeneïtat dels resultats entre estudis és particularment evident als resultats en dones, basats en 3 estudis i en nombres relativament petits (taula 5.2.). En homes, la font principal d'heterogeneïtat era deguda a la inclusió de l'estudi de Vena (Vena 1993), particularment per l'exposició a mig termini. L'exclusió d'aquest estudi va donar una OR combinada per homes amb exposició a mig termini de 1.2 (95%CI=1.0-1.4), i un valor p d'heterogeneïtat de 0.82. Es va explorar amb meta-regressió si l'any de publicació s'associava amb la magnitud de la OR, però no es van trobar cap efecte estadísticament significatiu degut a l'any de publicació per cap de les dues categories d'exposició.

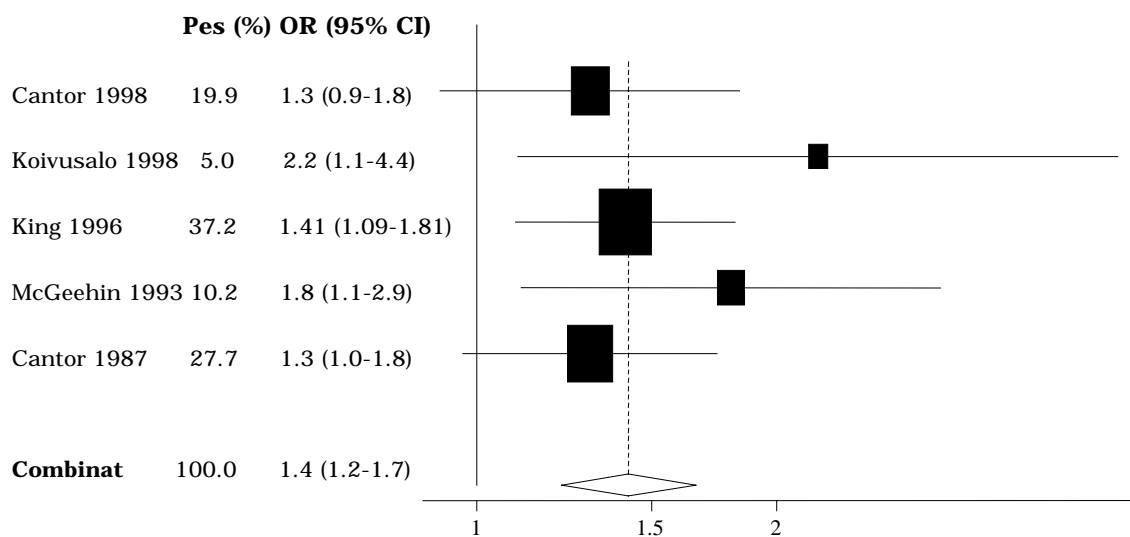
Figura 5.2. Odds ratios (OR), intervals de confiança al 95% (95% CI), pes de l'estudi a la meta-anàlisi i estimador de risc combinat obtingut per meta-anàlisi de les OR dels estudis cas-control associant càncer de bufeta amb exposició de mig termini a aigua potable clorada. Homes i dones junts.



Test d'heterogeneïtat $p=0.839$

τ (variança deguda a la variació inter-estudi) <0.001

Figura 5.3. Odds ratios (OR), intervals de confiança al 95% (95% CI), pes de l'estudi a la meta-anàlisi i estimador de risc combinat obtingut per meta-anàlisi de les OR dels estudis cas-control associant càncer de bufeta amb exposició de llarg termini a aigua potable clorada. Homes i dones junts.



Test d'heterogeneïtat $p=0.549$

τ (variança deguda a la variació inter-estudi) <0.001

Figura 5.4. Gràfic de Galbraith† per exposició a mig termini, ambdós sexes

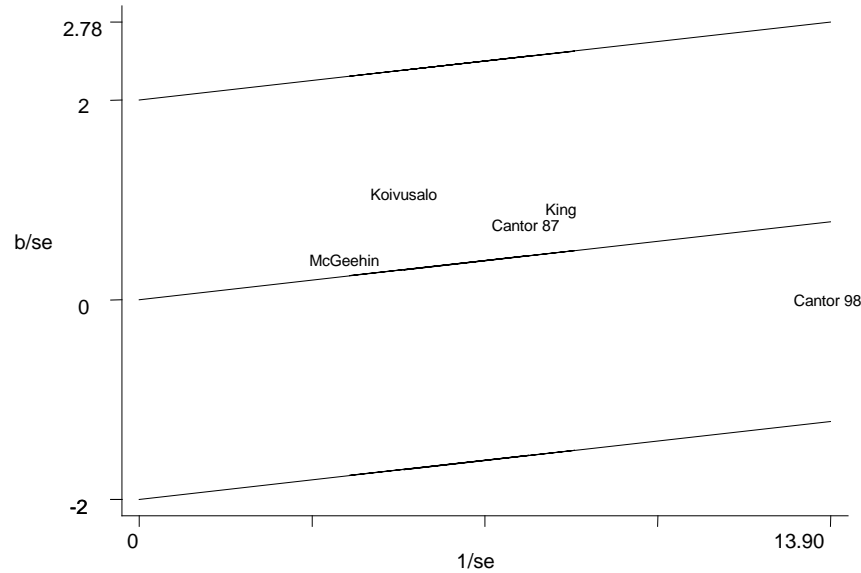
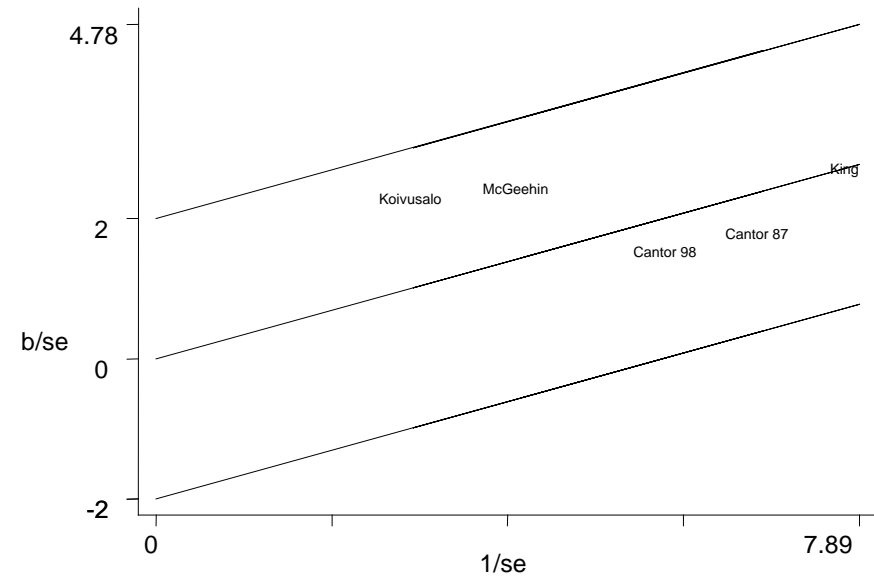


Figura 5.5. Gràfic de Galbraith† per exposició a llarg termini, ambdós sexes



†: El gràfic de Galbraith proporciona una visualització gràfica de la quantitat d'heterogeneïtat d'una meta-anàlisi. Per cada estudi, l'estadístic z ($\beta/s.e. \beta$) es representa contra l'error estàndard recíproc $1/s.e. \beta$. La línia de regressió (no ponderada), amb el seu interval de confiança al 95% té un pendent igual que el $\log(OR)$ total en una meta-anàlisi d'efectes fixes. La posició de cada estudi a l'eix horitzontal dona una indicació del pes atribuït a aquest a la meta-anàlisi. La posició sobre l'eix vertical mostra la contribució de cada estudi a l'estadístic Q d'heterogeneïtat. En absència d'heterogeneïtat esperaríem tots els punts dintre dels límits de confiança (situats 2 unitats sobre i sota la línia de regressió)

Es va avaluar si els punts de tall seleccionats podien tenir alguna influència sobre els resultats, i es van estimar OR combinades per categories “alternatives” d'exposició intermèdia i baixa. Com a grup d'exposició intermedi “alternatiu” es va definir la categoria d'exposició més comparable entre els estudis, que corresponia a l'estrat que inclou 25-26 anys de consum d'aigua potable clorada (taula 5.1.). La OR combinada per aquest grup va ser de 1.2 (95% CI 1.0-1.4), amb un valor p del test d'heterogeneïtat de 0.36. El grup d'alta exposició “alternatiu” incloïa l'estrat de màxima exposició per a cada estudi. La OR combinada per aquesta categoria va ser de 1.6 (95% CI 1.3-1.8), amb un valor p del test d'heterogeneïtat de 0.79. De manera similar a la OR combinada total, les OR combinades estratificades per sexe en base a aquestes categories d'exposició “alternatives” eren lleugerament majors que les de la taula 5.2., i els resultats eren menys heterogenis.

L'estudi de Cantor *et al.* 1987 (Cantor 1987) declara OR per consum d'aigua de l'aixeta estratificant per sota i per sobre de la mediana del consum diari poblacional (1.4 litres). Vam seleccionar les OR de consum d'aigua de l'aixeta per sobre de la mediana (estrat de major exposició), que són les que es van incloure al model. Es va explorar l'efecte sobre l'estimador de risc combinat considerant la OR de l'estrat de consum d'aigua de l'aixeta per sota la mediana. L'estimador del risc pràcticament no variava pel risc combinat d'homes i dones junts (OR=1.4, 95%CI=1.2-1.7); valor p del test d'heterogeneïtat = 0.528.

L'estudi de Doyle declara resultats per tres tipus d'origen d'aigua: 100% superficial (major exposició), barreja superficial-subterrània, i 100% subterrània (no exposició). Vam incloure al model la categoria de màxima exposició (100% superficial), tot i que incloïa pocs nombres. Vam comprovar l'efecte sobre els resultats d'usar la categoria d'exposició intermèdia (barreja superficial-subterrània), que contenia la major part dels individus. La OR combinada va augmentar: OR=1.4 (95%CI=0.9-2.2), valor p de test d'heterogeneïtat = 0.02.

Quatre estudis van aplicar models d'exposició elaborats, estimant exposició a trihalometans a llarg termini (Cantor 1998; Doyle 1997; King 1996) o mutagenicitat de l'aigua deguda a la presència de subproductes de la cloració (Koivusalo 1998). Els estimadors de risc pels dos sexes i exposició de llarg termini eren de 1.4 (King 1996), 1.5 (Cantor 1998) i 2.2 (Koivusalo 1998). L'estimador de risc combinat per aquests tres estudis era de 1.5 (95% CI= 1.2-1.8) amb un valor p pel test d'heterogeneïtat de 0.61.

Els resultats de les anàlisis dosi-resposta es mostren a la taula 5.3. La OR combinada per unitat d'increment en la duració de l'exposició és 1.006 (95%CI=1.004-1.009). Per 20, 40 i 60 anys d'exposició, les OR combinades són respectivament 1.13 (95%CI=1.08-1.20), 1.27(95%CI=1.17-1.43) i 1.43 (95%CI=1.27-1.72). La comparació de OR combinades "cues" i "ajustades" pels tres estudis que permetien el càlcul de la matriu de covariància, mostrava que mitjançant ajustament per la covariància s'obtenia a un estimador del risc 20% menor. La OR combinada per pendents sense ajustar d'aquests tres estudis era 1.005 per any d'exposició (95%CI=1.003-1.008), error estàndard (SE)= 0.00128. Després d'ajustar per la covariància, la OR combinada era 1.004 (95%CI=1.001-1.007), SE=0.00153.

Taula 5.3. Pendents de regressió dosi-resposta obtinguts per mínims quadrats no ponderats intra-estudi, i *odds ratios* (OR) combinades amb interval de confiança al 95% (95% CI) obtingudes per meta-anàlisi dels 5 pendents i els seus errors estàndard. Ambdós sexes.

Estudi	Pendent	Error estàndard	OR	(95% CI)
Cantor 1998	0.0039614	0.0021449		
Koivusalo 1998	0.0098449	0.003775		
King 1996	0.0072381	0.0025664		
McGeehin 1993	0.0159266	0.0057087		
Cantor 1987	0.0049595	0.0024032		
Combinat				
unitat d'increment	0.006	0.000128	1.006	1.004-1.009
20 anys			1.13	1.08-1.20
40 anys			1.27	1.17-1.43
60 anys			1.43	1.27-1.72

No es va trobar evidència de biaix de publicació. El gràfic d'Egger mostrava un lleuger pendent negatiu tot indicant que els estudis més petits i menys precisos tendien a declarar majors estimadors de risc, mentre que els estudis majors i més precisos tendien a declarar estimadors de risc més baixos. Tot i això, l'evidència d'aquesta tendència no va ser estadísticament significativa. També es van aplicar els tests de Begg i Egger per a comprovar l'existència de biaix de publicació en els models estratificats

per sexe. Degut al petit nombre d'estudis, el test no era fiable perquè els intervals de confiança eren molt amples.

PART II. Anàlisi de dades combinades (pooled analysis) d'estudis cas-control de càncer de bufeta i subproductes de la cloració

La taula 5.4. mostra les característiques de la població d'estudi conjunta. Un 80% dels casos i 70% de controls són homes, i la mediana d'edat a l'entrevista era de 67 anys.

Taula 5.4. Característiques dels casos i controls de la població d'estudi conjunta*.

	Casos (%)	Controls (%)	OR (95%)†
	3419	6077	
<i>Gènere</i>			
Homes	2727 (79.8)	4227 (69.6)	
Dones	692 (20.2)	1850 (30.4)	
<i>Edat</i>			
Sota la mediana (≤67 anys)	1766 (51.6)	3415 (56.2)	
Sobre la mediana (>67 anys)	1633 (48.4)	2662 (43.8)	
<i>Tabac</i>			
Mai fumador	642 (18.9)	2379 (39.4)	1.00
Ex fumador	1334 (39.3)	2140 (35.4)	2.13 (1.89-2.40)
Fumador actual	1422 (41.8)	1526 (25.2)	3.55 (3.14-4.00)
<i>Treballs en ocupacions d'alt risc</i>			
Mai	2303 (67.4)	4276 (70.4)	1.00
Alguna vegada	653 (19.1)	851 (14.0)	1.30 (1.15-1.47)
Inclassificable	463 (13.5)	950 (15.6)	1.45 (1.19-1.76)
<i>Educació</i>			
≤ Primària	699 (20.4)	1160 (19.1)	1.00
Part de secundària	994 (29.1)	1405 (23.1)	1.15 (1.00-1.31)
Secundària completa	773 (22.6)	1546 (25.4)	0.95 (0.83-1.08)
> Secundària	657 (19.2)	1458 (24.0)	0.86 (0.75-1.00)
Altres	296 (8.7)	508 (8.4)	0.85 (0.70-1.04)
<i>Cafè</i>			
0-5 tasses/dia	2832 (83.3)	5234 (86.8)	1.00
>5 tasses/dia	567 (16.7)	795 (13.2)	1.58 (1.39-1.79)
<i>Consum total de fluids</i>			
Per sota la mediana (2.4 l/dia)	1650 (49.3)	3019 (50.5)	1.00
Per sobre la mediana (≥2.4 l/dia)	1694 (50.7)	2960 (49.5)	1.21 (1.11-1.33)
<i>Consum d'aigua d'aixeta</i>			
Per sota la mediana (1.4 l/dia)	1756 (52.3)	3014 (50.3)	1.00
Per sobre la mediana (≥2.4 l/dia)	1605 (47.7)	2983 (49.7)	1.20 (1.07-1.34)
<i>Consum de fluids excloent aigua d'aixeta</i>			
Per sota la mediana (0.9 l/dia)	1547 (46.3)	2978 (49.8)	1.00
Per sobre la mediana (≥0.9 l/dia)	1797 (53.7)	3001 (50.2)	1.17 (1.06-1.30)

* Els nombres no sempre sumen un total de 9496 per informació que falta d'algunes variables

† OR obtinguda per regressió logística mitjançant ajustament per estudi, sexe i edat

Després d'ajustar per estudi, edat i sexe, es troba un excés de risc estadísticament significatiu entre els ex-fumadors i fumadors actuals, els que van treballar alguna

vegada en una ocupació de risc definides *a priori*, els grans consumidors de cafè (>5 tasses/dia), i els consumidors per sobre de la mitjana de fluids totals, aigua de l'aixeta i begudes preparades sense aigua d'aixeta. Les OR per aquestes covariables eren similars entre homes i dones excepte per ocupació, on la OR era major en homes.

L'exposició a THM s'associa amb un excés de risc relatiu entre homes exposats alguna vegada (OR=1.32, 95% CI=1.10-1.59). S'obtenen OR lleugerament menors quan el punt de tall per definir els no exposats era 0.5 µg/l (OR=1.23, 95%CI=1.09-1.39), 1 µg/l (OR=1.24, 95%CI=1.09-1.41) o 1.5 µg/l (OR=1.15, 95% CI=1.03-1.28). La OR tendia a incrementar-se amb exposicions creixents (Taula 5.5). La pauta d'exposició-resposta es va avaluar addicionalment utilitzant tècniques de *natural spline* (figura 5.6.), que també mostra un increment del risc amb exposicions creixents. No es troba associació entre les dones (OR per dones exposades a una nivell mitjà de THM >1 µg/l =0.95, 95% CI=0.76-1.20). El sexe era un modificador de l'efecte sobre l'associació entre THM i càncer de bufeta (valor p de l'interacció multiplicativa entre exposició in gènere=0.002).

Taula 5.5. Odds ratios (OR) i intervals de confiança al 95% (95% CI) de càncer de bufeta per gènere i exposició mitjana a THM durant una finestra d'exposició de 40 anys.

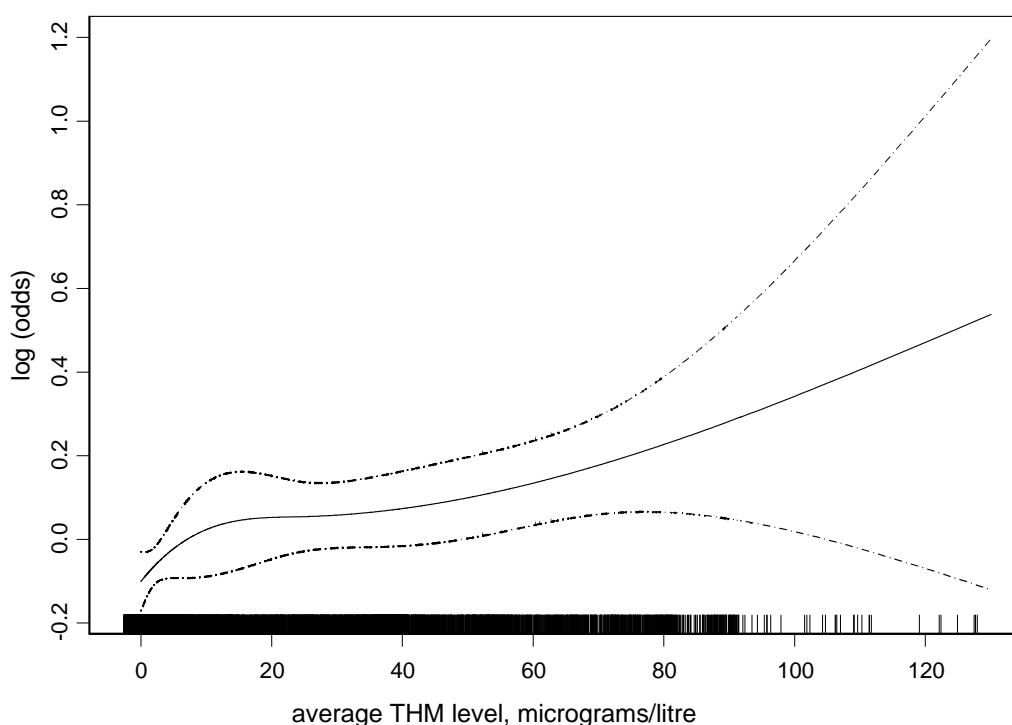
Mitjana THM	Homes		Dones		Tots
	OR (95% CI)*	Casos/controlst	OR (95% CI)*	Casos/controlst	OR (95% CI)*
Mai (0 µg/l)	1.00	328/605	1.00	94/221	1.00
Alguna vegada (> 0 µg/l)	1.32 (1.09-1.59)	1798/2909	0.85 (0.60-1.19)	509/1415	1.18 (1.00-1.39)
0-1 µg/l	1.00	711/1365	1.00	189/506	1.00
> 1 µg/l	1.24 (1.09-1.41)	1415/2149	0.95 (0.76-1.20)	414/1130	1.18 (1.06-1.32)
0-1 µg/l	1.00	711/1365	1.00	189/506	1.00
>1-5 µg/l	1.10 (0.92-1.31)	366/574	0.99 (0.72-1.36)	96/231	1.08 (0.93-1.26)
>5-25 µg/l	1.26 (1.05-1.51)	314/499	0.86 (0.63-1.18)	97/309	1.15 (0.98-1.35)
>25-50 µg/l	1.25 (1.04-1.50)	399/647	1.04 (0.76-1.43)	128/356	1.22 (1.04-1.42)
>50 µg/l	1.44 (1.20-1.73)	336/429	0.93 (0.67-1.28)	93/234	1.31 (1.12-1.54)
<i>p-trend</i> ‡	<0.001		0.753		<0.001

*OR i 95% CI obtinguts per regressió logística mitjançant ajustament per (sexe), estudi, edat, hàbit tabàquic, haver treballat en ocupacions d'alt risc, consum total de fluids, educació i consum elevat de cafè (>5 tasses/dia).

† Els nombres no sempre sumen un total de 8060 per informació que falta per algunes variables.

‡ valor p de tendència lineal

Figura 5.6. Log(odds) i intervals de confiança al 95% pel càncer de bufeta i nivell mitjà d'exposició a THM ($\mu\text{g/L}$) utilitzant *natural spline* (3 graus de llibertat). Homes i dones junts.



Les línies verticals en l'eix de les x indiquen el nombre d'individus per nivell d'exposició. El log(OR) està ajustat per edat, sexe, estudi, hàbit tabàquic, haver treballat en ocupacions de risc, educació, consum total de fluids i consum elevat de cafè. Les anàlisis estan limitades als individus amb informació d'exposició $\geq 70\%$ de la finestra d'exposició.

L'exposició a THM acumulada s'associa amb un excés de risc de càncer de bufeta entre els homes (taula 5.6.). La OR en homes exposats alguna vegada a THM comparada amb els mai exposats era de 1.30 (95% CI=1.10-1.53). El risc és similar quan al grup de referència s'inclouen homes poc exposats (0-15 mg THM), OR=1.30, 95% CI=1.14-1.50. La OR en dones exposades alguna vegada a THM era de 1.06 (95% CI=0.77-1.45). S'observa una tendència dosi-resposta lineal en homes, amb una OR de 1.50 pel quintil superior corresponent a més de 1000 mg de THM durant la finestra d'exposició de 40 anys examinada. No s'observa una tendència dosi-resposta en dones (taula 5.6.). De manera similar que amb els resultats per exposició mitjana, el sexe és un modificador de l'efecte de l'associació entre exposició acumulada i risc de càncer de bufeta (valor p de l'interacció multiplicativa entre exposició i sexe < 0.001).

Taula 5.6. Odds ratios (OR) i intervals de confiança al 95% (95% CI) de càncer de bufeta per gènere i exposició acumulada a THM, durant una finestra d'exposició de 40 anys.

THM acumulats per ingestió	Homes		Dones		Tots
	OR (95% CI)*	Casos/controls†	OR (95% CI)*	Casos/controls†	OR (95% CI)*
Mai (0 mg)	1.00	415/783	1.00	104/270	1.00
Alguna vegada (> 0 mg)	1.30 (1.10-1.53)	1720/2739	1.06 (0.77-1.45)	502/1371	1.24 (1.07-1.44)
0-15 mg	1.00	632/1233	1.00	159/406	1.00
> 15 mg	1.30 (1.14-1.50)	1503/2289	0.95 (0.74-1.23)	447/1235	1.22 (1.08-1.38)
0-15 mg	1.00	632/1233	1.00	159/406	1.00
>15-50 mg	1.22 (1.01-1.48)	333/532	0.92 (0.65-1.32)	87/243	1.14 (0.96-1.35)
>50-400 mg	1.28 (1.08-1.51)	500/744	0.94 (0.70-1.27)	147/386	1.21 (1.04-1.39)
>400-1000 mg	1.31 (1.09-1.57)	369/609	1.02 (0.74-1.41)	119/337	1.25 (1.07-1.47)
>1000 mg	1.50 (1.22-1.85)	301/404	0.92 (0.65-1.30)	94/269	1.34 (1.12-1.59)
<i>p-trend‡</i>	<0.001		0.818		<0.001

*OR i 95%CI obtinguts per regressió logística mitjançant ajustament per (sexe), estudi, edat, hàbit tabàquic, haver treballat en ocupacions d'alt risc, educació i consum elevat de cafè (>5 tasses/dia).

†Els nombres no sempre sumen un total de 8060 per informació que falta per algunes variables.

‡ valor p de tendència lineal

La OR global no depèn d'un estudi aïlladament, com mostra la figura 5.7., on cada estudi era exclòs cada vegada per calcular l'estimador de risc combinat. A la mateixa figura s'observa com les OR no depenen de si els controls són hospitalaris o poblacionals. No es va observar heterogeneïtat d'efectes entre estudis per exposició mitjana a THM (test Q de Cochran d'heterogeneïtat=6.511, 4 graus de llibertat, p=0.164), i la meta anàlisi de estimadors estudi-específics va donar la mateixa OR que l'obtinguda per regressió logística ajustant per estudi (figura 5.8.A.). Aquesta avaluació també es va fer separatament per sexe, i no va indicar presència de d'heterogeneïtat en homes (test Q de Cochran d'heterogeneïtat=6.556, valor p=0.256) (figura 5.8.B.) ni en dones (test Q de Cochran d'heterogeneïtat=5.113, valor p=0.276) (figura 5.8.C.). S'obtenen resultats similars per exposició acumulada a THM, amb un test Q de Cochran de 4.616, p=0.329. Es va fer una avaluació similar separatament per homes i

dones, sense indicar presència d'heterogeneïtat ni en homes (test Q de Cochran de 6.556, $p=0.256$) ni en dones (test Q de Cochran de 5.113, $p=0.276$).

Figura 5.7. Odds ratios i intervals de confiança al 95% pel càncer de bufeta i exposició mitjana a THM per tots els estudis (esquerra), i subseqüentment exclouent cada estudi. Homes i dones junts.

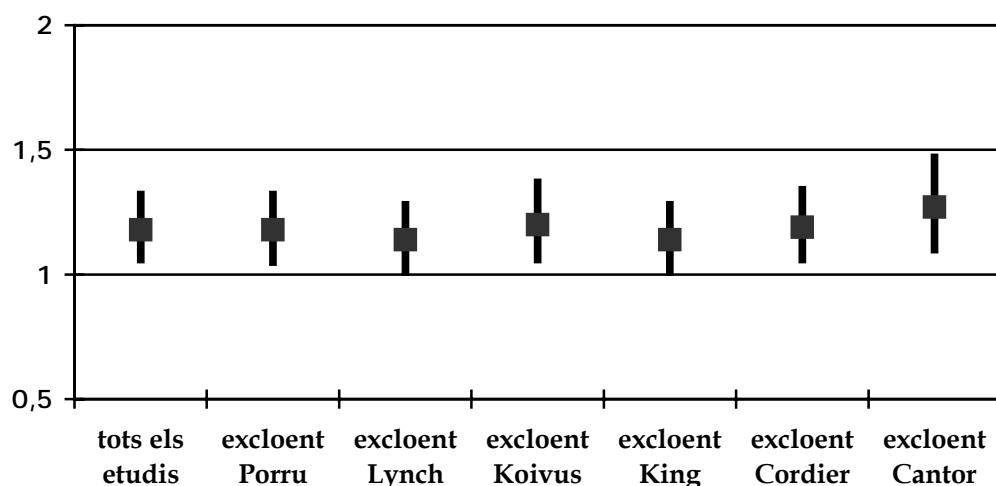
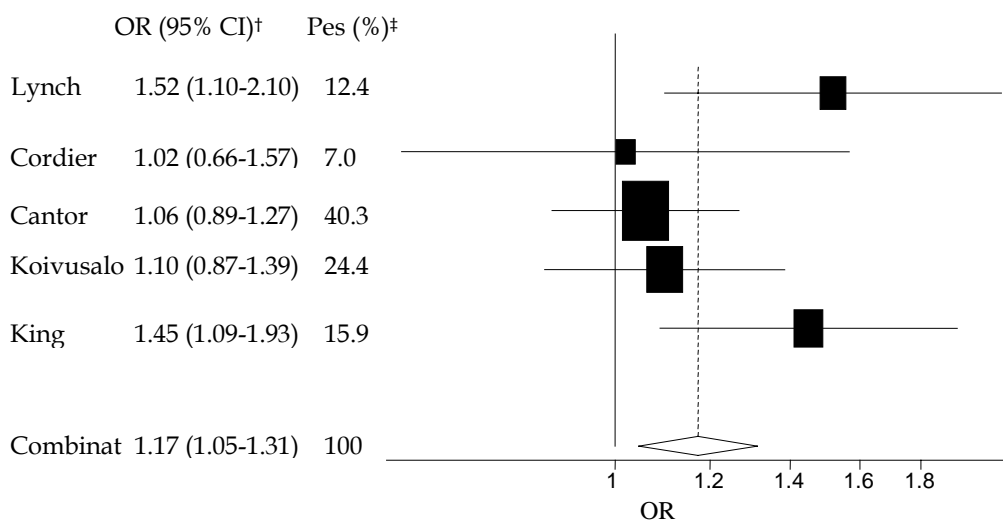


Figura 5.8. Meta-anàlisi d'OR estudi-específiques ajustades, per exposició mitjana a THM >1 µg/l en la finestra d'exposició de 40 anys.

5.8.A. Homes i dones junts

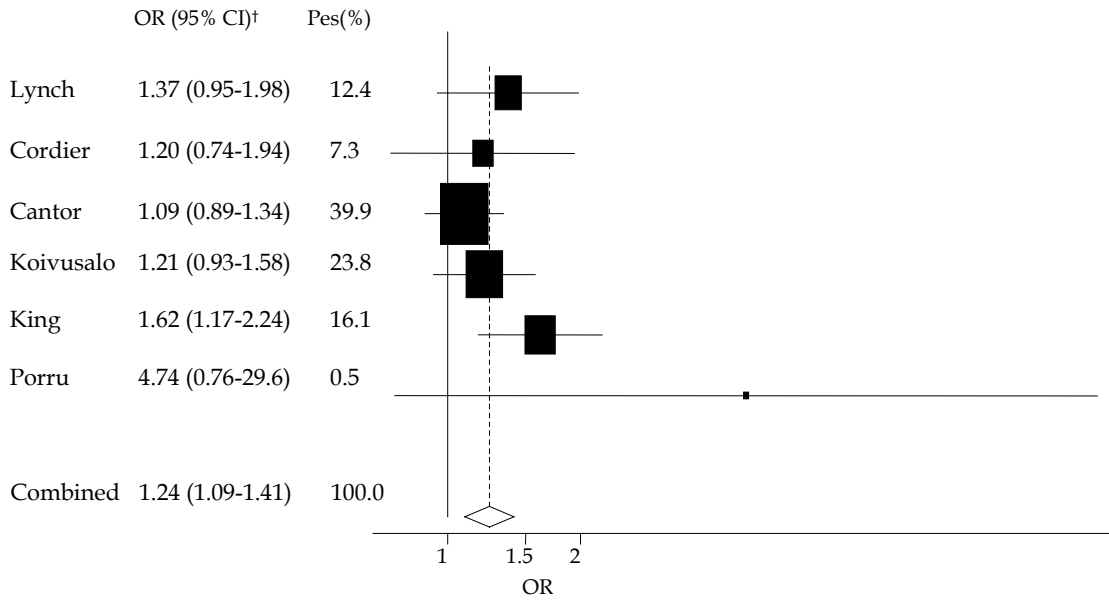


Valor p de l'estadístic Q d'heterogeneïtat = 0.164
 τ^2 (variància deguda a la variació inter-estudi) = 0.012

[†] Odds ratios (OR) i intervals de confiança al 95% (95% CI) obtinguts per regressió logística ajustant per sexe, edat, estatus tabàquic, haver treballat en ocupacions de risc, consum elevat de cafè (>5 tasses/dia), educació i conum total de fluids. Anàlisi limitada als individus amb informació d'exposició de >=70% de la finestra d'exposició.

[‡] les OR de l'estudi de Porru no es mostren perquè tots els individus són homes.

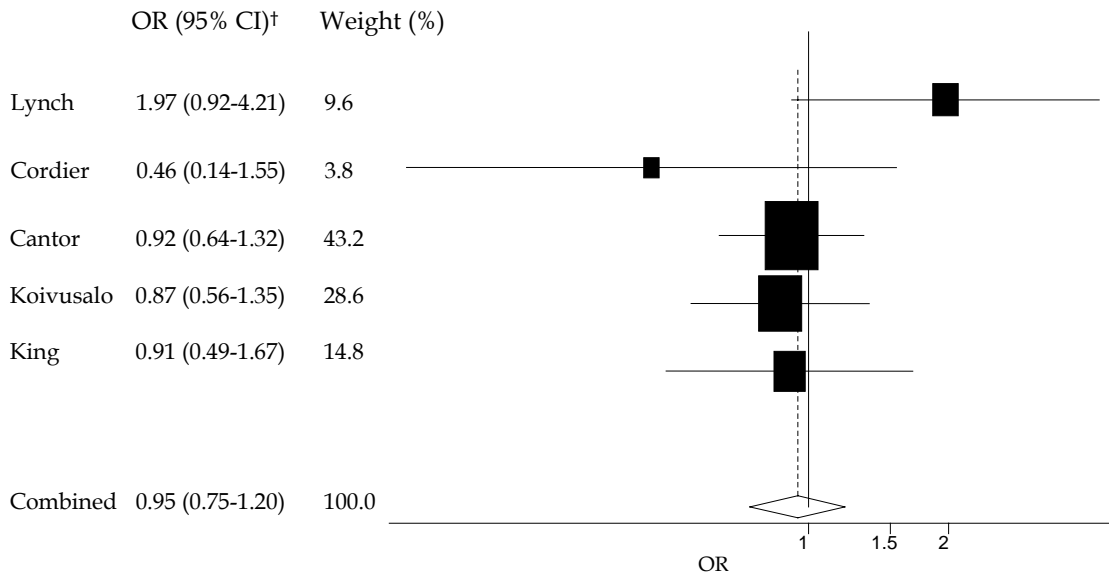
5.8.B. Homes



Valor p de l'estadístic Q d'heterogeneïtat =0.256
 τ^2 (variància deguda a la variació inter-estudi)=0.009

[†] Odds ratios (OR) i intervals de confiança al 95% (95% CI) obtinguts per regressió logística ajustant per sexe, edat, estatus tabàquic, haver treballat en ocupacions de risc, consum elevat de cafè (>5 tasses/dia), educació i conum total de fluids. Anàlisi limitada als individus amb informació d'exposició de >=70% de la finestra d'exposició.

5.8.C. Dones



Valor p de l'estadístic Q d'heterogeneïtat =0.276
 τ^2 (variància deguda a la variació inter-estudi)=0.023

[†] Odds ratios (OR) i intervals de confiança al 95% (95% CI) obtinguts per regressió logística ajustant per sexe, edat, estatus tabàquic, haver treballat en ocupacions de risc, consum elevat de cafè (>5 tasses/dia), educació i conum total de fluids. Anàlisi limitada als individus amb informació d'exposició de >=70% de la finestra d'exposició.

Vam avaluar si el risc de càncer de bufeta s'associava amb alguna finestra d'exposició específica. Vam avaluar quatre finestres d'exposició, dintre els 40 anys d'exposició avaluats, específicament de 5 a 14 anys abans de l'entrevista, de 25 a 34 anys i de 35 a 45 anys abans de l'entrevista. Tots els períodes d'exposició es van associar amb un increment del risc (Taula 5.7.). Donat que l'exposició entre períodes podria estar correlacionada, es va repetir la mateixa anàlisi ajustant per l'exposició als altres períodes. Aquesta anàlisi va indicar que l'excés de risc està associat amb exposicions primerenques, anteriors a 25 anys abans de l'entrevista.

Taula 5.7. Odds Ratios (OR) i intervals de confiança al 95% (95% CI) pel càncer de bufeta i exposició mitjana a THM > 1 µg/L en relació a individus no exposats o exposats a <=1 µg/L, per finestres d'exposició específiques. Homes i dones junts.

Finestra d'exposició abans de l'entrevista	OR (95% CI) *	OR (95% CI) * Ajustant per la resta de períodes
5-14 anys	1.12 (0.99-1.26)	0.99 (0.82-1.20)
15-24 anys	1.15 (1.02-1.30)	0.92 (0.73-1.15)
25-34 anys	1.25 (1.11-1.41)	1.20 (0.97-1.49)
35-45 anys	1.28 (1.12-1.45)	1.19 (1.01-1.41)

* Les OR i 95% CI estan ajustats per sexe, edat, estudi, hàbit tabàquic, haver treballat en ocupacions de risc, consum elevat de cafè (>5 tasses/dia), i consum total de fluids. Les anàlisis es limiten als individus amb informació de l'exposició ≥70% de la finestra d'exposició.

La duració de l'exposició a aigua superficial clorada es troba associada amb un increment del risc de càncer de bufeta entre els homes. Pel grup amb l'exposició més llarga a aigua superficial clorada (30-40 anys), la OR era de 1.62 (95% CI=1.21-2.16) en relació als mai exposats. També es va trobar un risc incrementat entre els individus exposats a aigua subterrània clorada. Entre les dones no es va trobar cap associació per duració d'exposició a aigua superficial clorada (taula 5.8.).

Taula 5.8. Odds ratios (OR) i intervals de confiança al 95% (95% CI) de càncer de bufeta per gènere i duració d'exposició a aigua superficial clorada i aigua no clorada.

	Homes		Dones		Tots
	OR(95% CI)*	Casos/controls	OR(95% CI)*	Casos/controls	OR (95% CI)*
<i>Anys exposats a aigua superficial clorada</i>					
0 (i mai a aigua subterrània clorada)†	1.00	252/537	1.00	58/163	1.00
>0-7	1.40 (1.02-1.94)	94/132	0.83 (0.47-1.47)	27/83	1.25 (0.95-1.64)
>7-15	1.01 (0.74-1.37)	96/173	1.24 (0.72-2.15)	36/68	1.09 (0.84-1.42)
>15-30	1.67 (1.22-2.29)	104/127	0.60 (0.32-1.12)	22/64	1.36 (1.03-1.79)
>30-40	1.62 (1.21-2.16)	146/158	1.08 (0.62-1.88)	32/67	1.50 (1.16-1.93)
<i>p-trend</i> §	<0.001		0.725		0.002
Només exposats a aigua subterrània clorada	1.23 (1.01-1.50)	470/717	1.04 (0.71-1.53)	131/316	1.20 (1.00-1.43)

* OR i 95% CI obtinguts per regressió logística mitjançant ajustament per (sexe), estudi, edat, hàbit tabàquic, haver treballat en ocupacions d'alt risc, educació i consum elevat de cafè (>5 tasses/dia).

† Aquest grup de referència inclou individus mai exposats a aigua superficial clorada i mai exposats a aigua subterrània clorada

‡ Aquest grup de referència inclou individus sempre exposats a aigua clorada, ja sigui superficial o subterrània

§ valor p de tendència lineal

Ajustar per hàbit tabàquic modificava la OR dels homes alguna vegada exposats a ≥ 1 $\mu\text{g}/\text{l}$ de 1.30, 95% CI=1.15-1.47 fins a 1.24, 95% CI=1.09-1.41. La OR entre els homes mai fumadors era de 1.25 (95% CI=0.92-1.69), tot indicant que la confusió residual per tabac no ha produït l'excés de risc observat. Tampoc s'ha observat modificació d'efecte del risc associat a THM per tabac, amb una OR per fumadors actuals de 1.23 (95% CI=0.989-1.52). Similarment, en dones no es va observar associació amb exposició a THM independentment de l'hàbit tabàquic (OR per dones mai fumadores=0.94, 95% CI=0.69-1.27, OR per fumadores actuals=0.99, 95% CI=0.63-1.57). No es van observar diferències després d'estratificar els individus per haver treballat mai o no a ocupacions d'alt risc.

PART III. Estudi multicèntric espanyol cas-control de càncer de bufeta

5.1. Avaluació de l'exposició

5.1.1. Nivells actuals de trihalometans i àcids acètics halogenats. Anàlisi d'aigua

THM a l'aigua potable tractada

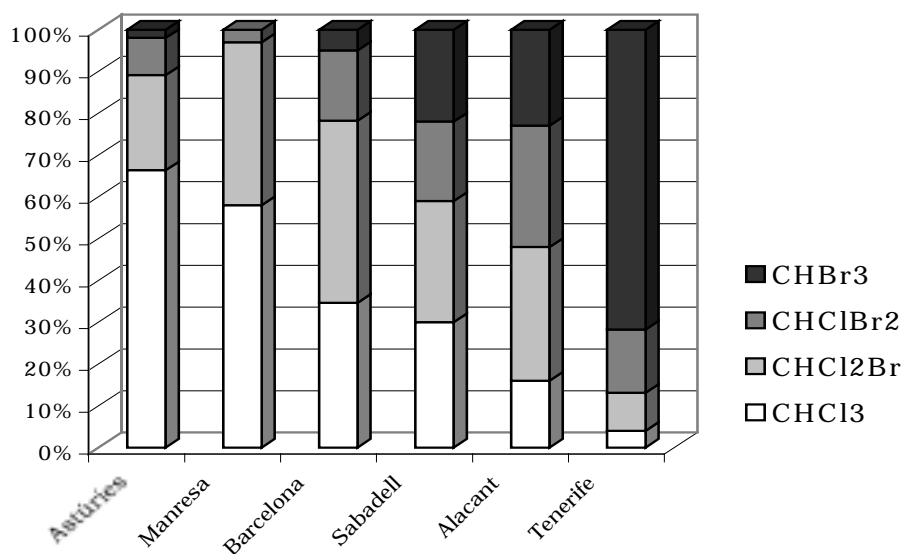
Els nivells totals i específics de THM de les anàlisis a mostres d'aigua potable de les zones d'estudi s'indiquen a la taula 5.9. L'àrea mediterrània (Alacant i Barcelona) mostra els majors nivells (85.9 i 63.6 µg/l respectivament), amb nivells màxims superiors als 100 µg/l, que és el màxim admissible en la legislació espanyola (2003). Tenerife mostra els nivells més baixos (8 µg/l).

Taula 5.9. Concentracions de trihalometans (µg/l) en les àrees d'estudi

	Alacant	Sabadell	Barcelona	Manresa	Astúries	Tenerife
<i>Cloroform (CHCl₃)</i>						
Mitj. (Desv. Est.)	13.6 (5.3)	28.4 (18.4)	20.0 (10.6)	34.0 (19.0)	14.6 (7.1)	0.4 (0.2)
Mínim	4.9	8.3	8.3	11.5	2.6	< 0.1
Màxim	24	46.7	35.3	74.0	29.5	0.7
Mediana	17.6	37.3	19.2	38.5	12.9	0.4
<i>Bromodiorometà (CHCl₂Br)</i>						
Mitj. (Desv. Est.)	24.7 (5.1)	21.3 (2.5)	22.7 (5.5)	20.0 (3.0)	5.0 (2.6)	0.9 (0.7)
Mínim	11.2	17.2	7.0	15.7	1.1	< 0.5
Màxim	30.8	26.8	31.5	25.1	12.4	2.0
Mediana	21.1	21.1	22.2	20.0	5.1	0.7
<i>Dibromoclorometà (CHBr₂Cl)</i>						
Mitj. (Desv. Est.)	25.7 (11.4)	15.5 (7.1)	10.8 (8.3)	1.6 (0.8)	2.2 (1.6)	1.2 (0.8)
Mínim	6.6	8.0	2.6	1.0	0.1	0.5
Màxim	41.0	22.9	36.1	3.1	6.7	3.2
Mediana	30.4	16.6	8.1	1.2	1.7	0.9
<i>Bromoform (CHBr₃)</i>						
Mitj. (Desv. Est.)	21.9 (13.0)	17.3 (7.7)	10.3 (12.2)	0.6 (1.3)	0.6 (0.5)	5.6 (3.2)
Mínim	4.5	7.840	0.02	< 0.1	0.1	2.8
Màxim	44.3	25.83	40.1	3.8	1.8	11.8
Mediana	11.5	12.340	2.3	< 0.1	0.5	4.0
<i>Total trihalometans</i>						
Mitj. (Desv. Est.)	85.9 (30.6)	82.5 (16.5)	63.6 (20.6)	56.1 (22.2)	22.3 (5.5)	8.0 (3.4)
Mínim	35.2	64.1	34.6	28.3	6.4	5.1
Màxim	125.3	100.9	121.7	101.8	44.5	16.3
Mediana	69.2	86.6	55.6	59.4	22.3	7.1
<i>n</i>	19	9	24	9	34	10

L'especiació de THM varia significativament entre àrees (figura 5.9). La província d'Astúries presenta la major proporció de cloroform (60%) mentre que les dues àrees mediterrànies incloses a l'estudi (Barcelona i Alacant) mostren una major proporció d'espècies bromades i cloro-bromades (70-80%). L'illa de Tenerife presenta la major proporció de THM bromats i cloro-bromats (>90%).

Figura 5.9. Especiació dels trihalometans a les diferents zones d'estudi.



HAA a l'aigua potable tractada

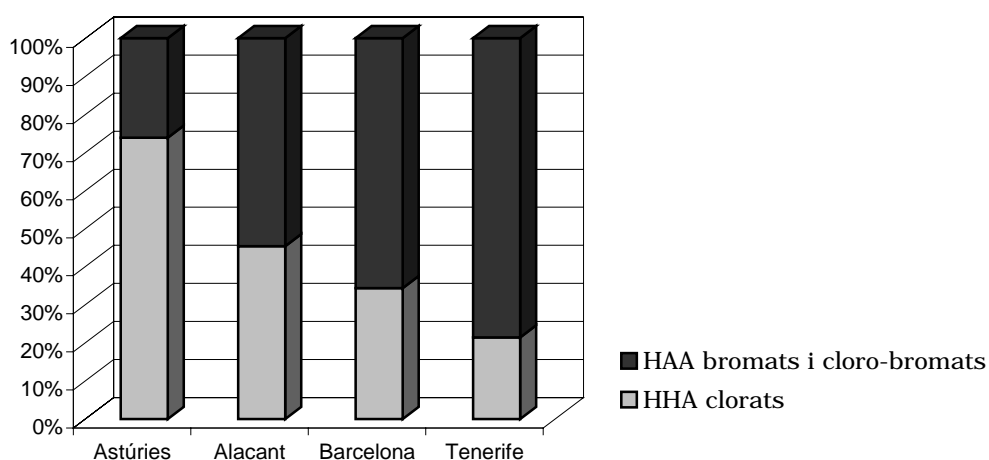
Els nivells totals i específics dels àcids haloacètics s'indiquen a la taula 5.10. De manera similar als THM, les aigües mediterrànies costaneres (Alacant i Barcelona) mostren els majors nivells d'HAA (50.4 i 35.8 µg/l respectivament) i Tenerife els menors (3.1 µg/l). L'àcid dicloroacètic és el compost més abundant a les àrees mediterrànies. Els àcids tricloro i dibromoacètic són els segons més abundants a Alacant i Barcelona respectivament. Les aigües d'Astúries contenen àcid tricloroacètic en gran quantitat i l'àcid dicloroacètic és el segon més abundant. A les aigües de Tenerife els compostos més abundants són les espècies bromades. Amb el àcids dibromoacètic i bromoacètic el primer i segon més abundants respectivament. L'àcid cloroacètic és el menys freqüent a totes les àrees, de forma similar a d'altres àrees (Pourmoghaddas 1993). L'àcid tribromoacètic és el segon més infreqüent.

Taula 5.10. Concentració d'àcids acètics halogenats ($\mu\text{g/l}$) a les àrees d'estudi

	Alacant	Barcelona	Astúries	Tenerife
<i>Àcid Cloroacètic ($\text{ClCH}_2\text{CO}_2\text{H}$)</i>				
Mitjana (Desviació estàndard)	< 0.3 (0)	0.87 (1.61)	< 0.3 (0)	< 0.3 (0)
Mínim	< 0.3	< 0.3	< 0.3	< 0.3
Màxim	< 0.3	3.75	< 0.3	< 0.3
Mediana	< 0.3	0.15	< 0.3	< 0.3
<i>Àcid Dicloroacètic ($\text{Cl}_2\text{CHCO}_2\text{H}$)</i>				
Mitjana (Desviació estàndard)	12.03 (5.79)	7.10 (6.84)	4.29 (1.94)	0.25 (0.02)
Mínim	6.75	0.62	1.74	0.24
Màxim	21.45	15.44	6.24	0.27
Mediana	11.85	5.30	4.93	0.24
<i>Àcid Tricloroacètic ($\text{Cl}_3\text{CCO}_2\text{H}$)</i>				
Mitjana (Desviació estàndard)	10.61 (8.39)	5.90 (4.82)	6.65 (1.64)	0.13 (0.03)
Mínim	5.70	0.42	4.87	0.10
Màxim	25.49	10.22	8.60	0.16
Mediana	7.25	8.52	7.26	0.13
<i>Àcid Bromoacètic ($\text{BrCH}_2\text{CO}_2\text{H}$)</i>				
Mitjana (Desviació estàndard)	0.44 (0.56)	1.53 (1.31)	0.69 (0.36)	0.62 (0.14)
Mínim	< 0.1	0.51	< 0.1	0.48
Màxim	1.27	3.51	0.93	0.75
Mediana	0.05	0.82	0.83	0.62
<i>Àcid Dibromoacètic ($\text{Br}_2\text{CHCO}_2\text{H}$)</i>				
Mitjana (Desviació estàndard)	5.16 (1.86)	6.49 (6.88)	0.40 (0.22)	1.31 (1.11)
Mínim	2.40	0.39	< 0.1	0.14
Màxim	7.38	17.00	0.59	2.36
Mediana	5.72	5.22	0.50	1.42
<i>Àcid Tribromoacètic ($\text{Br}_3\text{CCO}_2\text{H}$)</i>				
Mitjana (Desviació estàndard)	0.62 (0.70)	1.67 (1.93)	< 0.1 (0)	0.35 (0.27)
Mínim	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1
Màxim	1.74	3.812	< 0.1	0.58
Mediana	0.45	0.72	< 0.1	0.50
<i>Àcid Bromocloroacètic ($\text{BrClCHCO}_2\text{H}$)</i>				
Mitjana (Desviació estàndard)	9.26 (5.33)	5.08 (3.80)	1.08 (0.41)	0.20 (0.04)
Mínim	2.84	1.35	0.70	0.15
Màxim	17.22	11.09	1.72	0.22
Mediana	9.38	5.12	1.03	0.22
<i>Àcid Dibromocloroacètic ($\text{Br}_2\text{ClCCO}_2\text{H}$)</i>				
Mitjana (Desviació estàndard)	4.10 (1.61)	2.57 (2.04)	0.24 (0.27)	< 0.1 (0)
Mínim	2.01	0.90	< 0.1	< 0.1
Màxim	6.00	5.77	0.54	< 0.1
Mediana	4.47	1.72	0.05	< 0.1
<i>Àcid Bromodicloroacètic ($\text{BrCl}_2\text{CCO}_2\text{H}$)</i>				
Mitjana (Desviació estàndard)	8.04 (4.00)	4.60 (3.65)	1.74 (0.16)	0.09 (0.04)
Mínim	3.06	0.90	1.52	< 0.1
Màxim	14.06	9.45	1.94	0.12
Mediana	8.32	5.09	1.78	0.10
<i>Total àcids haloacètics (HAA)</i>				
Mitjana (Desviació estàndard)	50.4 (22.4)	35.8 (19.4)	15.3 (1.3)	3.1 (1.4)
Mínim	31.2	12.8	13.8	1.7
Màxim	87.0	65.4	16.9	4.5
Mediana	46.0	34.6	14.9	3.7
	<i>n</i>	5	5	5
		5	5	3

La major proporció d'àcids acètics halogenats clorats es troba a les aigües d'Astúries (àcids cloroacètic, dicloroacètic i tricloroacètic >60%), mentre que les regions mediterrànies (Barcelona i Alacant) mostren una major proporció d'espècies bromades i cloro-bromades (50-60%). Les aigües de Tenerife presenten la major proporció d'HAA bromats i cloro-bromats (>80%), figura 5.10.

Figura 5.10. Distribució proporcional dels àcids acètics halogenats per àrea

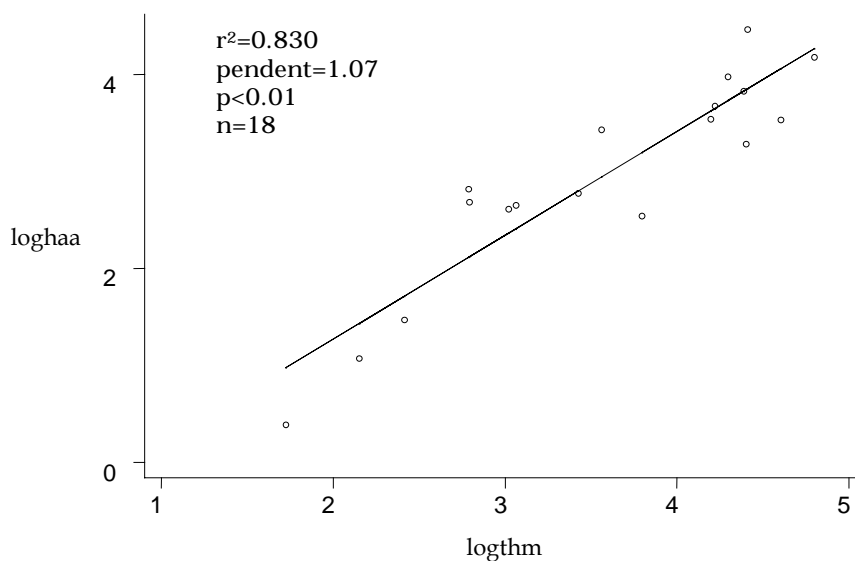


Correlació trihalometans/àcids acètics halogenats

La correlació entre THM i HAA es basa en les mostres per a les quals hi ha dades disponibles de THM i HAA. La representativitat d'aquest subconjunt respecte el total de les mostres es va comprovar per comparació de la mitjana dels nivells de THM en els dos grups, i no es van trobar diferències significatives entre tots dos ($p < 0.05$).

L'anàlisi de regressió lineal revela una correlació elevada i estadísticament significativa entre el nivell total de THM i nivell total d'HAA (figura 5.11.).

Figura 5.11. Diagrama de punts que mostra la correlació entre nivell total de THM i HAA



L'estudi de correlació entre THM i HAA específics mostra que alguns HAA estan altament correlacionats amb determinats THM. Els coeficients de correlació són especialment elevats entre HAA i THM amb similar proporció de broms i clors (taula 5.11.).

Taula 5.11. Coeficients de correlació de Spearman (r_p) entre THM i HAA específics[†].

	CHCl ₃	CHBrCl ₂	CHBr ₂ Cl	CHBr ₃
Àcid Dicloroacètic	0.65	0.76	0.44	-0.25
Àcid Tricloroacètic	0.58	0.58	0.39	-0.13
Àcid Diclorobromoacètic	0.49	0.89	0.76	0.18
Àcid Clorobromoacètic	0.36	0.79	0.75	0.16
Àcid Clorodibromoacètic	-0.15	0.63	0.95	0.60
Àcid Bromoacètic	0.03	0.37	0.72	0.86
Àcid Dibromoacètic	-0.01	0.43	0.77	0.82
Àcid Tribromoacètic	0.25	0.18	0.48	0.88

[†] Correlacions amb les mostres per sobre del límit de detecció. Les correlacions per a l'àcid cloroacètic no s'indiquen perquè estan per sota del límit de detecció en la majoria de mostres

5.1.2. Informació retrospectiva

Informació d'origen de l'aigua i any d'inici de la cloració

Empreses d'aigua

Les empreses de la zona de Barcelona, Sabadell i Manresa que han contestat el qüestionari capten les seves aigües dels rius Llobregat i Ter. Són empreses importants que subministren aigua a grans poblacions, per tant han de tenir una aportació important d'aigua. Excepcionalment, Barcelona pot rebre una aportació subterrània, provinent dels aquífers del Delta del Llobregat. Això es dona en situacions puntuals i anecdòtiques com en èpoques estivals de sequera en què l'aigua captada del riu Llobregat no és suficient per cobrir la demanda, o quan les pertorbacions de les aigües superficials per tempestes dificulta molt el seu tractament. Barcelona també explota aigües subterrànies del Delta del Besòs, per a subministrar sectors molt concrets i en general no es destinen al consum. Pel que fa a Alacant, moltes de les empreses que han respost el qüestionari són companyies de poblacions petites en les quals predominen les explotacions d'aigües subterrànies (72%) respecte a les superficials (14%). Gran part de les empreses d'Astúries que han contestat el qüestionari són empreses grans, potabilitzant i subministrant aigua d'origen superficial (67% de les empreses). Tot i això, hi ha una part que subministra aigua subterrània (33%). A Tenerife l'origen principal de les aigües subministrades és subterrani, principalment galeries. Alguna empresa subministra barreja d'aigua subterrània i aigua dessalada. No s'ha trobat cap empresa de Tenerife que exploti aigües superficials (taula 5.12.).

Taula 5.12. Origen de l'aigua subministrada actualment en les àrees de l'estudi. (dades provinents del qüestionari a les empreses).

	<i>Superficial</i>	<i>Subterrani</i>	<i>Superficial +subterrani</i>	<i>Altres</i>
<i>Barcelona</i>	~100%	-	-	-
<i>Sabadell i Manresa</i>	100%	-	-	-
<i>Astúries</i>	67%	-	33%	-
<i>Alacant</i>	14%	72%	14%	-
<i>Tenerife</i>	-	80%	-	20%

Ajuntaments

S'ha recollit informació sobre l'origen de l'aigua al llarg dels anys i any en que es va iniciar la cloració per a uns 129 municipis, que cobreixen un 79% del total de les persones-any de l'estudi. La quantitat i qualitat de la informació recollida és molt diversa. S'han agrupat els municipis en diferents grups segons el tipus d'informació disponible:

- *Municipis A.* Es disposa d'història de l'origen de l'aigua i any d'inici de la cloració.
- *Municipis B.* Com els A, més disponibilitat del nivell de THM d'un any.
- *Municipis C.* Com els A, més nivell anual de THM de ≥ 2 anys.
- *Municipis D.* Com els C, més dades de tractament i altres paràmetres en el passat
- *Municipis E.* Disponibilitat del nivell de THM (de >1 any), però no història d'origen ni any inici de la cloració.
- *Municipis F.* Només història d'origen d'aigua. Any inici de la cloració no disponible

La distribució d'aquests municipis s'il·lustra a la taula 5.13. Es disposa d'informació d'un 17% dels municipis que apareixen a l'estudi, que traduït a persones-any representa un 79%. Això reflexa el fet que ens vam concentrar en els municipis més importants per l'estudi, que aportaven més persones-any. Els municipis amb informació de major qualitat (municipis D) representen un 41% de persones-any de l'estudi.

Taula 5.13. Freqüència de municipis i persones-any segons els tipus d'informació disponible

<i>Tipus d'informació</i>	<i>Nombre municipis (%)</i>	<i>Persones-any (%)</i>
<i>A</i>	75 (58%)	28 654 (25.6%)
<i>B</i>	9 (7%)	6 522 (5.8%)
<i>C</i>	14 (11%)	30 169 (27.0%)
<i>D</i>	25 (20%)	45 614 (40.7%)
<i>E</i>	3 (2%)	432 (0.4%)
<i>F</i>	3 (2%)	558 (0.5%)
<i>Municipis amb informació disponible</i>	129 (17%)	111 949 (79.4%)
<i>Total municipis</i>	757 (100.0%)	141 036 (100%)

Dades de THM

Barcelona és la província on primer es comencen a realitzar anàlisis de trihalometans a les aigües potables, a l'any 1979. Les altres províncies mantenen un control de trihalometans bastant recent, tot començant a la dècada dels 90. A la taula 5.14. es presenten els valors mitjans de totes les determinacions analítiques disponibles de cada zona d'estudi. Els nivells més alts els presenta Barcelona amb 164 ppb ($\mu\text{g/l}$), i a continuació Sabadell, Alacant i Manresa amb 77, i 72 i 58 ppb respectivament. Tenerife i Astúries presenten els nivells més baixos (34 i 11 ppb respectivament).

Taula 5.14. Nivells mitjans de trihalometans ($\mu\text{g/l}$) a les zones d'estudi obtinguts per les empreses d'aigua, i any que es comencen a analitzar.

	Mitjana [†] (Desv. Estand.)	mediana	mínim	màxim	n	Any incisi mesures THM
Barcelona [†]	164,4 (73.5)	157,3	53,2	380,1	28	1979
Sabadell	77.6 (10.2)	82.5	65.9	84.5	16	1996
Alacant [¥]	72.3 (18.9)	76.8	28.4	94.1	16	1983
Manresa	57.6 (15.7)	61.0	32.3	73.6	17	1980
Astúries [‡]	34.1 (15.2)	30.0	14.3	63.9	16	1995
Tenerife [§]	11.1 (15.8)	5.3	2.0	58.6	13	1992

[†] Nivell mitjà obtingut en promitjar totes les mitjanes anuals de THM subministrades per les empreses de cada àrea (n)

[†] Inclou dades de les tres plantes que subministren aigua a la ciutat de Barcelona

[¥] Inclou dades de Crevillent, Santa Pola i Orihola

[‡] Inclou dades de les tres ciutats principals: Gijón, Oviedo i Avilés

[§] Inclou dades de Sta. Cruz de Tenerife, La Laguna, Arona i Sta. Cruz de la Palma

La taula 5.15. resumeix les dades disponibles de THM de les ciutats més importats de cada àrea d'estudi. La ciutat de Barcelona disposa del registre més antic de trihalometans. Manresa, i de manera similar les ciutats d'Alacant, van fer alguna determinació aïllada a principis dels 80, però no és fins finals dels 90 que analitzen sistemàticament aquests compostos. A Sabadell les dades de THM comencen a ser disponibles també a partir de finals dels 90. Astúries comença a analitzar sistemàticament els THM a mitjans dels anys 90. A Tenerife hi ha poques dades disponibles, tot començant a finals dels 90.

Taula 5.15. Dades de THM disponibles, obtingudes a partir dels qüestionaris a les companyies d'aigua

	Barcelona	Sabadell	Manresa	Gijón	Oviedo	Avilés	Elx	Crevillent	Santa Pola	Sta. Cruz Tenerife	La Laguna	La Orotava
1977												
1978												
1979	X†											
1980	X†		X									
1981	X†											
1982	X†											
1983								X	X			
1984	X†											
1985	X†											
1986	X†											
1987	X†											
1988	X†											
1989	X†											
1990	X†											
1991	X†											
1992	X†											
1993	X†											
1994	X†							X	X			
1995	X†				X	X		X	X			
1996	X†	X†	X		X	X		X	X			
1997		X†		X	X	X		X	X	X		
1998				X	X	X					X	
1999			X	X	X	X					X	
2000			X	X	X	X						
<i>Determinacions pròpies 1999</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

† només nivells totals de THM.

5.1.3. Estimació de nivells històrics de trihalometans

La taula 5.16. mostra els nivells de THM atribuïts a anys passats tot comparant els nivells de les nostres mesures de THM amb les proporcionades per les empreses en anys recents, tots els anys, més els nivells atribuïts retrospectivament.

Taula 5.16. Comparació entre els nivells de THM determinats, els recollits per les empreses i els atribuïts retrospectivament a les principals ciutats de l'estudi

	CHCl3	BDCM	DBCm	CHBr3	THM	
ASTURIAS						
Gijón						
Anàlisis pròpies (1999) mitjana (Desviació Estàndard, DE)	12,6 (4,7) n=12	4,6 (1,5) n=12	3,4 (1,0) n=12	0,9 (0,5) n=12	21,4 (4,8) n=12	
Dades de companyia	34,4	9,5	0,8	0,7	45,4	
d'aigua	Mitjana 98,99,00 (DE)	39,2 (4,8)	8,8 (1,2)	0,9 (0,1)	0,6 (0,1)	49,6 (5,0)
	Mitjana tots anys (97-00)	34,7 (9,9)	7,4 (3,0)	1,0 (0,1)	0,5 (0,3)	43,5 (12,8)
Nivells atribuïts a anys anteriors	34,7	7,4	1,0	0,5	43,5	
Oviedo						
Anàlisis pròpies (1999) mitjana (Desviació Estàndard)	13,6 (8,5) n=11	5,3 (3,8) n=11	2,1 (1,8) n=11	0,5 (0,5) n=11	21,4 (12,7) n=11	
Dades de companyia	45,0	12,2	1,2	5,5	63,9	
d'aigua	Mitjana 98,99,00 (DE)	16,3 (1,8)	3,9 (2,3)	0,4 (0,2)	0,2 (0,2)	20,8 (2,4)
	Mitjana tots anys (95-00)	24,3(11,6)	5,9 (3,7)	0,7 (0,4)	1,2 (2,1)	32,0 (17,1)
Nivells atribuïts a anys anteriors	19,75	4,78	0,40	0,24	25,16	
Avilés						
Anàlisis pròpies (1999) mitjana (Desviació Estàndard)	21,7 (2,5) n=5	5,2 (1,9) n=5	1,5 (1,3) n=5	0,4 (0,1) n=5	28,6 (3,0) n=5	
Dades de companyia	40,2	12,1	0,8	1,9	55,0	
d'aigua	Mitjana 98,99,00 (DE)	31,0 (8,0)	7,1 (4,4)	0,8 (0,3)	1,4 (0,8)	40,4 (12,7)
	Mitjana tots anys (95-00)	23,0(10,4)	5,5 (3,6)	0,6 (0,2)	0,8 (0,9)	30,0 (14,2)
Nivells atribuïts a anys anteriors	23,00	5,52	0,62	0,82	29,96	
ALACANT						
Elx						
Anàlisis pròpies (1999) mitjana (Desviació Estàndard)	16,1 (11,9) n=9	29,8(15,7) n=9	23,3 (14,6) n=9	22,9 (12,7) n=9	92,1 (29,3) n=9	
Dades de companyia	-	-	-	-	-	
d'aigua	Mitjana 98,99,00(DE)	-	-	-	-	
	Mitjana tots anys	-	-	-	-	
Nivells atribuïts a anys anteriors	16,1	29,8	23,3	22,9	92,1	
Crevillent						
Anàlisis pròpies (1999) mitjana (Desviació Estàndard)	13,3 (4,5) n=3	25,0 (4,8) n=3	29,3 (5,2) n=3	18,0 (10,5) n=3	85,6 (20,0) n=3	
Dades de companyia	-	-	-	-	-	
d'aigua	Nivell 97	14,0	23,5	34,2	14,4	86,2
	Mitjana tots anys (83,94-7)(DE)	17,5 (6,0)	21,53 (7,3)	24,26 (9,8)	7,43 (4,6)	70,8 (24,3)
Nivells atribuïts a anys anteriors	16,8	22,1	25,1	9,2	73,2	
Nivells atribuïts a 1998, 2000	20,15	24,61	27,85	8,44	81,05	
Santa Pola						
Anàlisis pròpies (1999) mitjana (Desviació Estàndard)	11,3 (5,2) n=2	22,3 (3,0) n=2	18,3 (15,6) n=2	21,6 (13,4) n=2	73,4 (37,2) n=2	
Dades de companyia	-	-	-	-	-	
d'aigua	Nivell 97	30,80	26,90	23,60	7,25	88,60
	Mitjana tots anys (83,94-97)	20,8 (7,9)	21,2 (6,8)	21,0 (7,3)	5,9 (2,5)	69,0 (23,4)
Nivells atribuïts a anys anteriors	20,8	21,2	21,0	5,9	69,0	
Nivells atribuïts a 1998, 2000	23,8	24,2	24,2	6,9	79,1	

TENERIFE**Santa Cruz de Tenerife**

Anàlisis pròpies (1999)		0,5 (0,1)	0,7 (0,5)	0,9 (0,1)	4,9 (1,8)	6,9 (1,4)
mitjana (Desviació Estàndard)		n=4	n=4	n=4	n=4	n=4
Dades de companyia	Nivell 1999	-	-	-	-	-
	Nivell 97	3,6	2,2	3,1	7,7	16,6
d'aigua		-	-	-	-	-
Mitjana tots anys		-	-	-	-	-
Nivells atribuïts a anys anteriors		2,1	1,4	2,0	6,3	11,7

La Laguna

Anàlisis pròpies (1999)		0,4 (0,3)	0,7 (0,7)	1,1 (1,2)	6,2 (4,6)	8,5 (5,5)
mitjana (Desviació Estàndard)		n=5	n=5	n=5	n=5	n=5
Dades de companyia	Nivell 1999	1,2	1,4	1,9	2,7	7,2
	Mitjana 98,99 (DE)	2,1 (1,3)	1,4 (0,1)	2,2 (0,4)	5,7 (4,2)	11,4 (5,9)
d'aigua		-	-	-	-	-
Mitjana tots anys		1,5 (1,0)	1,1 (0,4)	1,7 (0,6)	4,2 (3,0)	8,5 (4,8)
Nivells atribuïts a anys anteriors		1,5	1,1	1,7	4,2	8,5

La Orotava

Anàlisis pròpies (1999)		0,2 (0,2)	1,1 (1,2)	1,4 (0,0)	3,2 (0,6)	6,0 (0,6)
mitjana (Desviació Estàndard)		n=2	n=2	n=2	n=2	n=2
Dades de companyia	Nivell 1999	-	-	-	-	-
	Mitjana 98,99,00 (DE)	-	-	-	-	-
d'aigua		-	-	-	-	-
Mitjana tots anys		-	-	-	-	-
Nivells atribuïts a anys anteriors		0,2	1,1	1,4	3,2	6,0

BARCELONA**Sabadell**

Anàlisis pròpies (1999)		28,4 (18,4)	21,3 (2,5)	15,5 (7,1)	17,3 (7,7)	82,5 (16,5)
mitjana (Desviació Estàndard)		n=9	n=9	n=9	n=9	n=9
Dades de companyia	Nivell 1999	-	-	-	-	-
	Mitjana 98,99,00 (DE)	-	-	-	-	-
d'aigua		-	-	-	-	-
Mitjana tots anys(96,97)		-	-	-	-	75,2 (13,1)
Nivells atribuïts a anys anteriors		26,5	20,1	14,7	16,3	77,6

Manresa

Anàlisis pròpies (1999)		39,1 (24,2)	19,8 (2,9)	1,7 (0,8)	0,6 (1,2)	61,2 (26,4)
mitjana (Desviació Estàndard)		n=10	n=10	n=10	n=10	n=10
Dades de companyia	Nivell 1999	61,6	8,8	1,6	1,7	73,6
	Mitjana 99,00 (DE)	49,2 (17,5)	9,1 (0,4)	2,5 (1,3)	3,6 (2,7)	64,3 (13,1)
d'aigua		-	-	-	-	-
Mitjana tots anys (80,96,99-00) (DE)		45,6 (16,4)	5,8 (3,8)	1,8 (1,2)	2,3 (2,2)	55,5 (17,3)
Nivells atribuïts a anys anteriors		44,6	9,4	1,7	2,0	57,7

Barcelona Llobregat 100% (sud-oest)

Anàlisis pròpies (1999)		11,6 (4,6)	24,9 (11,4)	24,7 (21,8)	35,0 (25,1)	96,3 (60,9)
mitjana (Desviació Estàndard)		n=6	n=6	n=6	n=6	n=6
Dades de companyia	Nivell 1999	-	-	-	-	-
	Mitjana 98,00 (DE)	-	-	-	-	-
d'aigua		-	-	-	-	-
Mitjana tots anys (79-82,84-96)		-	-	-	-	148,2 (41,8)
Nivells atribuïts a anys anteriors		La mitjana de tots els anys és ponderada a la proporció d'aigua subterrània. THM específics calculats en base a la proporció de les anàlisis de 1999 (estimació feta any per any).				

Barcelona Ter-Besós 100% (nord-est)

Anàlisis pròpies (1999)		30,9 (8,7)	27,5 (5,3)	10,6 (5,9)	0,8 (0,5)	69,8 (19,6)
mitjana (Desviació Estàndard)		n=10	n=10	n=10	n=10	n=10
Dades de companyia	Nivell 1999	25,1	22,13	10,73	0,05	57,95
	Nivell 97	-	-	-	-	77,5
d'aigua		-	-	-	-	64,0 (12,2)
Mitjana tots anys (95-97,99)		-	-	-	-	-
Nivells atribuïts a anys anteriors		28,4	25,2	9,7	0,7	64,0

Barcelona, zona de barreja

Anàlisis pròpies (1999)		21,5 (11,3)	24,7 (7,2)	14,9 (13,8)	15,4 (18,5)	77,0 (38,8)
mitjana (Desviació Estàndard)		n=16	n=16	n=16	n=16	n=16
Nivells atribuïts a anys anteriors		Donat que l'exposició pot variar considerablement dintre de Barcelona, no s'han atribuït nivells de THM si no es disposa d'informació sobre l'adreça exacta. Els nivells de THM s'han atribuït a cada codi postal				

5.2. Risc de càncer de bufeta per exposició a subproductes de la cloració

La taula 5.17. mostra les característiques de la població d'estudi. Un 87% són homes, i la mediana d'edat era de 67 anys. Un 41% de la població prové d'Astúries, 19% de Barcelona, 18% de Tenerife, 9% de Sabadell, 7% d'Alacant i 6% de Manresa.

Taula 5.17. Descripció població de l'estudi multicèntric cas-control.

	Casos (%)	Controls (%)	OR (95% CI)†
	1226	1271	
<i>Gènere</i>			
Homes	1072 (87.4)	1105 (86.9)	
Dones	154 (12.6)	166 (13.1)	
<i>Edat</i>			
mitjana (SD)	66 (9.9)	65 (9.9)	
mínim-màxim	22-81	19-88	
percentils 25, 50, 75	61, 68, 74	59, 67, 72	
<i>Àrea</i>			
Barcelona	229 (18.7)	247 (19.4)	
Sabadell	119 (9.7)	111 (8.7)	
Manresa	69 (5.6)	79 (6.2)	
Alacant	89 (7.3)	84 (6.6)	
Tenerife	220 (17.9)	226 (17.8)	
Astúries	500 (40.8)	524 (41.3)	
<i>Hàbit tabàquic</i>			
Mai fumador	221 (18.0)	464 (36.5)	1.00
Ex fumador	502 (40.9)	510 (40.1)	2.99 (2.33-3.85)
Fumador actual	496 (40.5)	286 (22.5)	6.27 (4.79-8.20)
NS/no disponible	7 (0.6)	11 (0.9)	
<i>Educació</i>			
< Primària	565 (46.1)	592 (46.6)	1.00
≥ Primària, < Institut	474 (38.7)	491 (38.6)	1.08 (0.91-1.29)
≥ Institut	167 (13.6)	164 (12.9)	1.17 (0.91-1.51)
Altres	15 (1.2)	15 (1.2)	1.15 (0.55-2.39)
Rebuig/NS/no disponible	5 (0.4)	9 (0.7)	
<i>Consum de fruita i vegetals (grams, en quartils)</i>			
0-421.8	258 (21.0)	216 (17.0)	1.00
>421.8-671	229 (18.7)	216 (17.0)	0.87 (0.67-1.13)
>671-1000.6	236 (19.3)	216 (17.0)	0.88 (0.67-1.14)
>1000.6	194 (15.8)	215 (16.9)	0.72 (0.55-0.94)
no disponible	309 (25.2)	408 (32.1)	
<i>Mida del municipi de la residència més llarga fins els 18 anys</i>			
Àrea metropolitana/ciutat	389 (31.7)	366 (28.8)	1.00
Ciutat petita	157 (12.8)	156 (12.3)	0.93 (0.71-1.21)
Poble	455 (37.1)	543 (42.7)	0.77 (0.63-0.93)
Granja	4 (0.3)	2 (0.2)	1.99 (0.36-10.93)
Rebuig/NS/no disponible	221 (18.0)	204 (16.0)	

† Odds ratios (OR) i intervals de confiança al 95% (95% CI) calculats per regressió logística mitjançant ajustament per edat, gènere i àrea ‡ NS. No sap.

Després d'ajustar per edat, gènere i àrea, es troba un excés de risc estadísticament significatiu entre els ex fumadors i els fumadors actuals. Els grans consumidors de fruita i verdura estaven protegits respecte els que consumien poca fruita i verdura (darrer quartil referit al primer). La mida de la localitat de la residència més llarga fins els 18 anys també s'associava amb el risc de càncer de bufeta. Els individus que havien viscut a un poble estaven protegits respecte els que havien viscut a una gran ciutat o àrea metropolitana. Els casos i controls tenien similar nivell educatiu (taula 5.17.).

La qualitat global de l'entrevista tenia una distribució diferent entre casos i controls. Més casos que controls tenien una entrevista globalment fiable, i aquesta diferència era estadísticament significativa (taula 5.18.).

Taula 5.18. Distribució de la qualitat global de l'entrevista entre casos i controls

	Casos (%)	Controls (%)	OR (95% CI)†
<i>Qualitat global de l'entrevista</i>			
Insatisfactòria	18 (1.5)	8 (0.6)	1.00
Qüestionable	92 (7.5)	85 (6.7)	0.49 (0.20-1.19)
Fiable	857 (69.9)	970 (76.3)	0.42 (0.18-0.98)
Elevada	213 (17.4)	179 (14.1)	0.61 (0.26-1.44)
Rebuig/NS/no disponible	46 (3.7)	29 (2.3)	

† Odds ratios (OR) i intervals de confiança al 95% (95% CI) calculats per regressió logística mitjançant ajustament per edat, gènere i àrea

Les persones exposades a un nivell mitjà de THM >49 µg/l a la residència tenen un increment del risc del 100% respecte els exposats a un nivell mitjà inferior a 8 µg/l (OR=1.99, 95%CI=1.03-3.86). Per gènere i les mateixes categories, l'increment del risc és del 48% entre les dones (no estadísticament significatiu), i >100% entre els homes (estadísticament significatiu). S'observa una dosi-resposta entre els homes (valor p de tendència lineal, *p trend*=0.006), i a la població conjunta d'homes i dones (*p trend*=0.012). Pel que fa a l'exposició a THM per ingestió, s'observa un increment del risc del 55% entre els homes exposats a més de 35 µg THM/dia respecte els no exposats, així com una dosi-resposta estadísticament significativa (*p trend*=0.030). En dones s'observa un increment del risc del 63% per la mateixa categoria d'exposició, però la dosi-resposta no és estadísticament significativa (*p trend*=0.403). Haver tingut un origen de l'aigua a la residència predominantment clorat (≥70% del temps amb aigua superficial clorada) respecte no clorat o aigua subterrània clorada (≥70% del

temps) representa un increment del risc >100% entre els homes, mentre que entre les dones no s'associa amb un increment del risc (OR=0.86, 95% CI=0.13-5.57). (Taula 5.19).

Taula 5.19. Odds ratios (OR) i intervals de confiança al 95% (95% CI) pel càncer de bufeta per gènere i diferents índexs d'exposició.

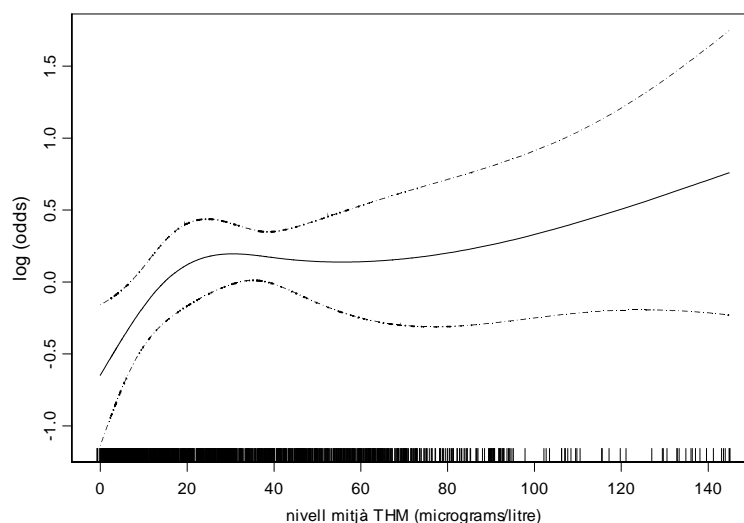
	Homes		Dones		Tots
	OR (95% CI)†	casos/controls	OR (95% CI)†	casos/controls	OR (95% CI)†
<i>Exposició global a THM. Nivell mitjà de THM a la finestra d'exposició (µg/l)</i>					
≤8.0	1.00	137/171	1.00	24/25	1.00
>8.0, ≤26.0	1.45 (0.89-2.36)	141/158	0.39 (0.12-1.28)	19/33	1.18 (0.76-1.85)
>26.0, ≤49.0	2.16 (1.25-3.74)	184/160	1.04 (0.28-3.88)	23/22	1.84 (1.12-3.02)
>49.0	2.41 (1.16-4.99)	158/180	1.48 (0.24-9.28)	25/22	1.99 (1.03-3.86)
<i>p-trend‡</i>	0.006		0.693		0.012
<i>Exposició a THM per ingestió. Nivell mitjà de THM a la finestra d'exposició (µg/ dia)</i>					
0	1.00	119/140	1.00	28/19	1.00
>0, ≤10	0.99 (0.67-1.48)	119/124	0.58 (0.17-2.03)	17/18	0.92 (0.63-1.33)
>10, ≤35	1.28 (0.85-1.92)	132/119	0.61 (0.18-2.03)	14/16	1.15 (0.78-1.67)
>35	1.55 (1.02-2.35)	131/114	0.63 (0.19-2.04)	17/18	1.35 (0.92-1.98)
<i>p-trend‡</i>	0.030		0.403		0.110
<i>Origen d'aigua predominant a les residències de la finestra d'exposició</i>					
≥70% temps no clorada o subterrània clorada	1.00	151/200	1.00	25/27	1.00
≥70% temps superficial clorada	2.13 (1.19-3.83)	153/182	0.86 (0.13-5.57)	20/18	1.78 (1.04-3.04)

† Les OR i 95% CI s'han obtingut per regressió logística mitjançant ajustament per àrea, estat tabàquic, edat, gènere, educació, grau d'urbanicitat de la residència més llarga fins els 18, consum de fruites i verdures, qualitat global de l'entrevista. L'anàlisi exclou els individus amb qualitat global de l'entrevista insatisfactòria i qüestionable, i es limita als individus amb percentatge d'exposició coneguda ≥70% de la finestra d'exposició

‡ valor p de tendència lineal

La pauta dosi-resposta es va avaluar addicionalment a través d'un model additiu generalitzat amb un *natural spline* per la variable contínua d'exposició mitjana a THM, ajustant per àrea, estat tabàquic, edat, gènere, educació, grau d'urbanicitat de la residència més llarga fins els 18, consum de fruites i verdures, qualitat global de l'entrevista. Aquesta anàlisi va mostrar un increment del risc amb l'exposició (figura 5.12.).

Figura 5.12. Log de la odds per exposició mitjana a THM .Ambdós sexes.



La gràfica està ajustada per àrea, estat tabàquic, edat, gènere, educació, grau d'urbanicitat de la residència més llarga fins als 18, consum de fruites i verdures, qualitat global de l'entrevista. L'anàlisi es limita als individus amb percentatge d'exposició coneguda $\geq 70\%$ de la finestra d'exposició

Els individus que passen més temps a la dutxa o el bany (> 6 hores/mes) mostren un risc relatiu de càncer de bufeta incrementat respecte aquells que hi passen menys hores (≤ 2 hores/mes). Aquest increment del risc no és estadísticament significatiu per cap de les categories d'exposició, i la dosi resposta no és estadísticament significativa (valor p de tendència lineal, $p\text{-trend}=0.064$). Entre les dones no s'observa un increment del risc per duració total de la dutxa o bany (taula 5.20).

Taula 5.20. Odds ratios (OR) i intervals de confiança al 95% (95% CI) pel càncer de bufeta per gènere i duració de la dutxa o el bany al mes.

Bany+dutxa, hores mensuals	Homes		Dones		Tots
	OR (95% CI)†	casos/controls	OR (95% CI)†	casos/controls	OR (95% CI)†
≤ 2 hores/mes	1.00	129/171	1.00	28/32	1.00
>2, ≤ 3.5 hor./mes	0.78 (0.52-1.16)	84/120	0.25 (0.06-1.02)	4/17	0.71 (0.49-1.03)
>3.5, ≤ 6 hor./mes	1.11 (0.77-1.59)	131/156	0.87 (0.33-2.28)	17/18	1.09 (0.78-1.52)
>6 hores/mes	1.30 (0.89-1.91)	133/121	1.00 (0.35-2.87)	19/19	1.28 (0.90-1.82)
<i>p-trend</i> ‡	0.081		0.833		0.064

† Les OR i 95% CI s'han obtingut per regressió logística mitjançant ajustament per àrea, edat, gènere, estat tabàquic, educació, grau d'urbanicitat de la residència més llarga, consum de fruites i verdures, qualitat global de l'entrevista, nivell de THM de la residència. L'anàlisi exclou els individus amb qualitat global de l'entrevista insatisfactòria i qüestionable, i es limita als individus amb percentatge d'exposició coneguda $\geq 70\%$ de la finestra d'exposició

‡ valor p de tendència lineal

Per les mateixes categories d'exposició que la taula 5.20., a Barcelona, una de les àrees de major exposició a THM de l'estudi, les OR per homes i dones junts són 0.83 (95% CI=0.43-1.57), 1.10 (95%CI=0.60-2.03) i 1.47 (95%CI=0.72-3.00), p -trend=0.321; a Astúries, zona d'exposició intermèdia baixa, les OR per ambdós sexes i les mateixes categories de duració de bany i dutxa són: 0.70 (95%CI=0.38-1.29), 1.06 (95%CI=0.63-1.79) i 1.38 (95%CI=0.80-2.40), p -trend=0.1472.

Haver assistit alguna vegada a la piscina s'associa amb un increment del risc de càncer de bufeta en relació als que no hi ha anat mai, amb una OR=1.58 (95% CI=1.18-2.10). Per sexe, la OR és 1.60 (95% CI=1.18-2.16) pels homes i 1.58 (0.59-4.25) per les dones (taula 5.21.). Estratificant per àrea trobem que per l'àrea Barcelona (àrea metropolitana més Sabadell i Manresa, una de les àrees d'estudi de major exposició a THM, la OR per ambdós sexes és 1.56 (0.97-2.48). Per Astúries (àrea d'exposició intermèdia-baixa), la OR és 1.25 (0.77-2.01).

Taula 5.21. Odds ratios (OR) i intervals de confiança al 95% (95% CI) pel càncer de bufeta per gènere i assistència a piscines.

Assistència a piscines	Homes		Dones		Tots
	OR (95% CI)†	casos/controls	OR (95% CI)†	casos/controls	OR (95% CI)†
Mai	1.00	540/680	1.00	96/128	1.00
Alguna vegada	1.60 (1.18-2.16)	137/111	1.58 (0.59-4.25)	12/10	1.58 (1.18-2.10)
No disponible	2.73 (1.85-4.04)	259/207	6.20 (1.80-21.29)	28/14	2.90 (2.00-4.20)

Les OR i 95% CI s'han obtingut per regressió logística mitjançant ajustament per àrea, edat, gènere, estat tabàquic, educació, grau d'urbanicitat de la residència més prolongada, consum de fruites i verdures i qualitat global de l'entrevista. L'anàlisi exclou els individus amb qualitat global de l'entrevista insatisfactòria i qüestionable.

Troblem una dosi resposta estadísticament significativa per la duració del temps en què s'ha nedat al llarg de la vida entre els homes (p -trend=0.007). Aquells que han nedat més de 630 hores tenen un excés de risc del 100% respecte els que mai han nedat. Entre les dones no s'observa un increment del risc per temps nedant a la piscina (taula 5.22.).

Taula 5.22. Odds ratios (OR) i intervals de confiança al 95% (95% CI) pel càncer de bufeta per gènere i duració del temps a l'aigua de la piscina.

<i>Piscines. Hores nedant a la vida</i>	Homes		Dones		Tots
	OR (95% CI)†	casos/controls	OR (95% CI)†	casos/controls	OR (95% CI)†
Mai ha nedat	1.00	539/679	1.00	96/128	1.00
>0, ≤36 hores	1.43 (0.77-2.65)	24/25	0.41 (0.04-4.63)	1/3	1.30 (0.72-2.35)
>36, ≤165 hores	1.86 (0.99-3.49)	29/21	1.61 (0.20-12.94)	2/2	1.77 (0.97-3.21)
>165, ≤630 hores	1.29 (0.70-2.39)	25/27	2.04 (0.27-15.50)	3/2	1.30 (0.73-2.33)
>630 hores	2.08 (1.06-4.09)	26/18	0.68 (0.09-5.22)	2/3	1.84 (0.98-3.44)
<i>p-trend</i> ‡	0.007		0.895		0.012

† Les OR i 95% CI s'han obtingut per regressió logística mitjançant ajustament per hàbit tabàquic, edat, gènere, educació, grau d'urbanicitat de la residència habitual més prolongada, consum de fruites i verdures, qualitat global de l'entrevista i àrea. L'anàlisi exclou els individus amb qualitat global de l'entrevista insatisfactòria i qüestionable.

‡ valor p de tendència lineal

L'exposició combinada a la piscina, la dutxa o el bany s'associa amb un increment del risc de càncer amb la duració, tot i que les OR la dosi resposta no són estadísticament significatives (taula 5.23.).

Taula 5.23. Odds ratios (OR) i intervals de confiança al 95% (95% CI) pel càncer de bufeta per gènere i duració del temps equivalent a la dutxa, el bany o la piscina (inhalació i absorció dèrmica total).

<i>Inhalació i absorció dèrmica total (hores a la vida)</i>	Homes		Dones		Tots
	OR (95% CI)†	casos/controls	OR (95% CI)†	casos/controls	OR (95% CI)†
≤297.3 hores	1.00	132/188	1.00	28/36	1.00
>297.3, ≤573.3 h.	1.06 (0.76-1.48)	153/195	0.68 (0.30-1.52)	19/39	0.96 (0.71-1.30)
>573.3, ≤1000 h.	1.15 (0.82-1.61)	155/188	1.39 (0.59-3.28)	24/22	1.17 (0.86-1.59)
>1000 hores	1.29 (0.91-1.82)	171/165	1.73 (0.71-4.22)	25/24	1.30 (0.94-1.78)
<i>p-trend</i> ‡	0.127		0.129		0.056

† Les OR i 95% CI s'han obtingut per regressió logística mitjançant ajustament per estat tabàquic, edat, gènere, educació, grau d'urbanicitat de la residència habitual més prolongada, consum de fruites i verdures, qualitat global de l'entrevista i àrea. L'anàlisi exclou els individus amb qualitat global de l'entrevista insatisfactòria i qüestionable.

‡ valor p de tendència lineal

6 . DISCUSSIÓ GENERAL

Exposició a subproductes de la cloració a Espanya

Aquest treball és un dels pocs estudis sistemàtics que proporcionen dades de nivells de THM i HAA a diverses àrees espanyoles. S'han trobat diferències importants a les quatre províncies estudiades (Barcelona, Alacant, Astúries i Tenerife), tant pel que fa al nivell total de THM i àcids acètics halogenats com per la seva composició. Les àrees mediterrànies presenten els nivells més elevats (nivells mitjans entre 56 i 86 µg/l de THM i entre 36 i 50 µg/l d'HAA). Tenerife, l'única àrea amb aigua 100% subterrània, té uns nivells molt baixos (nivell mitjà de THM=8.0 µg/l i 3.1 µg/l d'HAA). Astúries presenta nivells intermedis-baixos (nivells mitjans de 22.3 i 15.3 µg/l de THM i HAA, respectivament). Els nivells trobats són consistents i comparables respecte a altres treballs publicats. Un estudi europeu publicava un nivell mitjà de THM per aigües superficials de 78 µg/l (desviació estàndard, DS=100, n=19), i 7.6 µg/l (DS=6.7, n=3) per a aigües subterrànies. Els nivells mitjans d'HAA eren de 9.3 µg/l (DS=7.7) i 0.8 µg/l (DS=0.8) per aigües superficials i subterrànies respectivament (Palacios 2000). Cancho *et al.* (Cancho 1999) van descriure nivells a Barcelona d'HAA de l'ordre de 21.6 µg/l.

Les característiques de l'aigua en origen seria el principal determinant de la quantitat de subproductes de la cloració generats i explica les diferències observades entre les zones d'estudi. En menor mesura, el tractament de l'aigua podria explicar una part de les diferències. El nivell de subproductes de la cloració està relacionat amb la quantitat de matèria orgànica de l'aigua crua (Sketchell 1995). Les aigües subterrànies, amb menor quantitat de precursors orgànics i menor clor requerit per a la potabilització respecte les superficials donen nivells baixos de subproductes de la cloració. Això es reflexa en els resultats trobats. Els nivells més baixos de THM i àcids HAA es troben a Tenerife, on l'aigua potable és d'origen subterrani. La resta de zones té aigua bàsicament d'origen superficial, però s'observa una diferència significativa entre els nivells d'Astúries i els de la franja mediterrània (Sabadell, Alacant, Barcelona i Manresa) on la formació de THM i HAA és major degut a la pitjor qualitat de les aigües crues (abans de la potabilització).

La comparació entre nivells històrics i actuals de THM mostra que en algunes zones (especialment Barcelona) els nivells actuals són menors, tot suggerint que la població

ha estat més exposada en el passat. Les plantes potabilitzadores d'aigua han canviat de línia de tractament al llarg del temps que porten funcionant. Han anat sofisticant el tractament amb filtres de carbó actiu, ozonització, i altres etapes. Les regulacions sobre emissions d'aigües residuals a rius s'han fet més estrictes amb els anys, juntament amb la depuració creixent d'aigües residuals fa que l'aigua arribi a les plantes potabilitzadores amb millor qualitat. En conjunt, tots aquests factors podrien explicar en part el fet que els nivells en el passat hagin sigut majors que en l'actualitat en algunes zones, bàsicament la ciutat de Barcelona.

L'anàlisi de correlació entre THM i HAA, tot i el petit nombre de mostres, suggereix una correlació significativa entre THM i HAA totals. També suggereix una correlació entre espècies de THM i HAA amb contingut similar de brom. L'estratificació per àrea mostra una elevada heterogeneïtat entre àrees. Pocs estudis han avaluat la relació quantitativa entre diversos subproductes de la desinfecció. Es va identificar un estudi canadenc que va examinar la correlació entre HAA i THM a 259 mostres d'aigua, trobant correlacions baixes entre nivells totals de THM i HAA (King 2002). L'heterogeneïtat dels resultats entre estudis reflexa la complexa naturalesa dels subproductes de la cloració, fent difícil l'establiment de pautes i correlacions vàlides universals, per a tot tipus d'aigua. Els nivells i l'especiació dels DBP depèn de molts factors (quantitat i característiques dels precursors orgànics, desinfectant utilitzat i dosi aplicada, pH, temperatura, línia de tractament en la depuració, distància entre sortida de planta i punt de mostreig, etc.), que poden variar al llarg del temps tant en un mateix punt com entre punts diferents. Per tant, es deriva que l'establiment de correlacions entre DBP probablement hauria de tenir una aplicació local i concreta, amb coneixement de les característiques de l'aigua i el tractament que puguin afectar aquestes correlacions.

Avaluació de l'exposició a l'estudi cas-control espanyol

A l'estudi multicèntric cas-control de càncer de bufeta es va utilitzar cloroform, bromodiclorometà, dibromoclorometà, bromoform i nivell total de THM per a caracteritzar l'exposició a subproductes de la cloració de la població de l'estudi multicèntric cas-control de càncer de bufeta. L'avaluació retrospectiva de l'exposició

als quatre THM amb una recollida de dades exhaustiva a les àrees d'estudi constitueix un dels punts forts de l'estudi. L'entrevista personal estructurada als casos i controls també proporciona un perfil al llarg de la vida de l'origen de l'aigua consumida a casa i al treball, el consum diari mitjà d'aigua, així com la informació sobre activitats relacionades amb l'aigua on té lloc la inhalació i l'absorció dèrmica dels subproductes de la desinfecció (DBP). Tot això implica una millora en l'avaluació de l'exposició a DBP respecte estudis epidemiològics anteriors. Per contra, tot i que el nivell de THM es correlaciona bé amb el total de compostos halogenats i és probablement el millor marcador d'exposició a DBP, no deixa de ser un sucedani de l'exposició real, i això comporta certes limitacions. El nivell de THM no necessàriament es correlaciona amb altres DBP, i consegüentment no necessàriament es correlaciona amb el factor de risc real. A més, donat que es tracta d'un estudi multicèntric, el mateix nivell de THM es pot associar a diferents barreges de DBP a les diverses àrees, i això comporta una certa mala classificació. Aquest biaix, no obstant, es pot controlar en cert grau a l'anàlisi estadística mitjançant ajustament per àrea.

El clor és el desinfectant de l'aigua potable més extensament utilitzat. Però gradualment als països industrialitzats es va substituint per desinfectants com el diòxid de clor, ozó, cloramines, etc. Aquests desinfectants alternatius produeixen menys THM i generen DBP diferents dels de la cloració. Conseqüentment, a mesura que el clor es vagi substituint per altres desinfectants, altres subproductes diferents dels THM seran més prevalents. A Espanya, el clor ha sigut i és encara el desinfectant més utilitzat per a tractar l'aigua potable. Per tant, els THM probablement han estat els DBP més prevalents, i constitueixen indicadors vàlids de la barreja de DBP.

És la primera vegada en un estudi epidemiològic sobre càncer que es recull informació sobre vies d'exposició diferent de la ingestió. La inclusió de preguntes a l'entrevista personal sobre activitats on es dona inhalació i absorció dèrmica de subproductes de la cloració ha permès fer una primera aproximació al paper d'aquestes vies d'incorporació.

Una font potencial d'error en l'estimació històrica de THM podria deure's a la variació dels nivells de THM des de sortida de planta fins el punt de consum (aixeta). Segons la literatura, la concentració de DBP format al sistema de distribució s'incrementa

respecte els nivells detectats a l'efluent de la planta de tractament (Shin 1999), i aquest increment depèn de la distància (temps de contacte entre el clor i la matèria orgànica), la quantitat de clor residual i la quantitat de matèria orgànica residual. En aquest treball d'investigació doctoral no s'ha modelat l'efecte del temps de residència a l'aigua, des de sortida de planta fins l'aixeta, a partir de les dades provinents de les companyies d'aigua. Els nivells de THM proporcionats per les companyies d'aigua probablement subestimin l'exposició real. A més, s'ha combinat indistintament nivells de THM provenint de les companyies d'aigua (mesurat en mostres d'aigua a sortida de planta) i les determinacions nostres de THM (mesurades a aigua de l'aixeta). Això probablement ha produït certa mala classificació de l'exposició, amb un possible efecte d'atenuar la magnitud de l'estimador del risc.

Una segona font potencial d'error en l'estimació de nivells de THM històrics podria sorgir de la combinació de nivells de THM mesurats per nosaltres (i determinats en un laboratori centralitzat), i els nivells de THM proporcionats per les companyies d'aigua (i per tant, determinats en diferents laboratoris). Els procediments analítics per a determinar THM probablement han sigut diferents, així com el procediment de presa de mostres, condicions d'emmagatzematge, retard entre el mostreig i la determinació, i l'ús de compost per aturar la formació posterior de THM. Degut a aquestes diferències, els nivells de THM obtinguts a través de les companyies d'aigua i els ajuntaments són menys comparables. No obstant, encara trobem pautes comparables i consistents entre els nivells històrics de THM i els resultats de les nostres determinacions (que van seguir un procés estàndard des del mostreig fins la determinació analítica).

L'assumpció que els nivells de THM a llarg dels anys romanen constants en un municipi, sempre que l'origen es mantingui constant, podria representar també una font d'error en l'estimació de nivells històrics de THM. Nosaltres vam ignorar l'efecte sobre els nivells de THM deguts a canvis en el tractament de l'aigua, donat que aquesta informació no era disponible per la majoria de municipis. Aquestes són simplificacions que no reflecteixen la realitat. Però les assumpcions són necessàries per tal de realitzar l'avaluació retrospectiva de l'exposició, donat que els nivells històrics de THM no existeixen (l'avaluació retrospectiva de l'exposició va enrera fins i tot abans que els THM fossin detectats per primera vegada).

La recerca a nivell experimental sobre els subproductes de la desinfecció no ha trobat biomarcadors d'exposició crònica vàlids. Els THM són eliminats ràpidament a través de l'aire exhalat. El nivell de cloroform a l'aire o la sang pot ser un bon marcador d'exposició recent (després de nedar a la piscina, una dutxa o un bany) (Backer 2000), però no és útil com a marcador d'exposició acumulada durant dècades, donat que la vida mitjana a l'organisme dels compostos volàtils és massa curta (Aggazzotti 1990). Els àcids acètics halogenats a mostres de teixit humà s'han investigat com a marcadors biològics d'exposició (Weisel 1999). Els nivells d'àcid tricloroacètic (TCAA) en orina es correlacionen amb nivells en aigua (Weisel 1999). Per tant, els nivells de TCAA en orina apareixen com a marcadors potencials vàlids d'exposició crònica, donat que la vida mitja a l'organisme és major que intervals successius d'exposició. No obstant, el TCAA és el metabolit d'altres contaminants com tricloroetilè i tetracloroetilè (Volkel 1998), i aquests poden estar presents a l'aigua potable o a l'ambient general. En conclusió, fins ara els nivells ambientals de DBP apareixen com els millors marcadors d'exposició, i milloren si es mesuren al punt més pròxim al consum (l'aixeta).

Aspectes metodològics

Un dels aspectes metodològics més destacable sorgit de l'anàlisi de les dades de l'estudi cas-control és la polaritat d'exposicions per àrea. La població de Tenerife està concentrada al grup de referència. La població de Barcelona, Sabadell i Alacant es concentra a les categories d'alta exposició. Tot i això, es produeixen solapaments que permeten fer una anàlisi global de totes les àrees, mitjançant ajustament per àrea i altres variables com grau urbà de la residència més llarga i educació, que ajudarien a reduir confusió residual per àrea.

Pel que fa l'anàlisi de dades agregades (*pooled analysis*), l'ús de THM com a estimador d'exposició comú entre tots els estudis constitueix una limitació metodològica, donades les diferències conegudes i sospitades entre estudis. L'exposició a THM s'ha utilitzat com a marcador d'exposició a subproductes de la cloració, que és una barreja complexa de compostos amb varietat de propietats químiques i toxicològiques. Els THM són els subproductes de la cloració més prevalents, però la proporció de THM comparada amb altres subproductes pot variar, en funció de factors com les característiques de l'aigua en origen, la temperatura, i les pràctiques de tractament. Per tant, el mateix nivell de

THM no representa necessàriament la mateixa barreja en tots els estudis. Fins i tot dintre d'un mateix estudi, el mateix nivell de THM pot ser un indicador de barreges que canvien en l'espai i el temps. Una altra font d'heterogeneïtat en l'avaluació de l'exposició prové dels diferents models d'exposició utilitzats. Tres estudis (Cantor 1998; Lynch 1989) i Porru (no publicat), estimen nivells passats de THM mitjançant extrapolació de nivells recents o contemporanis a anys anteriors aparentment equivalents, mentre que els altres tres estudis (Cordier 1993; King 1996; Koivusalo 1998) apliquen models per a estimar nivells passats de THM en base a paràmetres històrics de l'aigua en origen i tractament. Aquestes diferències en l'avaluació de l'exposició probablement comporten l'atenuació en la *odds ratio* de la base de dades conjunta.

La valoració de l'exposició s'ha identificat com un dels principals problemes a l'hora d'avaluar resultats d'estudis epidemiològics sobre subproductes de la cloració (IARC 1999a), i estudis recents han fet esforços considerables per a caracteritzar l'exposició durant tota la vida. Tots els estudis inclosos en la meta-anàlisi havien enregistrat informació individual sobre consum d'aigua. Tot i això, l'heterogeneïtat dels mètodes utilitzats en els diferents estudis i els diferents nivells basals de subproductes de la cloració roman com a font principal d'incertesa. L'heterogeneïtat estadística dels resultats era més important en el cas de la categoria intermèdia d'exposició, i particularment dels resultats estratificats per gènere. Els nombres petits, especialment en dones, i les diferències en l'avaluació de l'exposició són probablement les fonts d'heterogeneïtat més importants dels resultats. L'estudi de Vena *et al.* (Vena 1993) va constituir la font principal d'heterogeneïtat estadística observada entre els homes, particularment a la categoria d'exposició a mig termini. En aquest estudi, la OR era generalment major que als altres estudis, i era la menys comparable amb els altres estudis degut a diversos aspectes de l'avaluació de l'exposició, tot incloent les categories d'exposició utilitzades.

Els mètodes dosi-resposta alternatius es van utilitzar a la meta-anàlisi per a confirmar l'existència d'un excés de risc, tot i que conduïen a estimadors de risc combinats de magnitud lleugerament diferent. Segons les anàlisis dosi-resposta descrites per Berlin (Berlin 1993) i Greenland (Greenland 1992), vam arribar a un estimador de risc combinat lleugerament menor que amb la nostra aproximació d'exposició a mig i llarg termini. Els estimadors de risc combinat obtinguts pels dos mètodes són comparables

en el cas de la duració intermèdia de l'exposició (aproximadament 20 anys), i la diferència es fa major per a exposicions a llarg termini. Les dues metodologies tenen les seves limitacions. L'aproximació del pendent dosi-resposta es basa en l'assumpció d'una dosi-resposta lineal, que pot constituir una simplificació de la tendència dosi-resposta real. L'aproximació mig-llarg termini implica la combinació d'estimadors de risc de categories d'exposició que no són completament comparables entre estudis. Els resultats obtinguts a través de diferents metodologies indiquen la presència d'un excés de risc de càncer de bufeta associat amb l'exposició a aigua clorada, i també indiquen que les limitacions de cada mètode probablement no produeixen una associació espúria.

El biaix de publicació constitueix una preocupació principal en totes les meta-anàlisis i *pooled analysis*. Pel que fa a la meta-anàlisi, la cerca bibliogràfica es limitava a bases de dades que incloïen estudis publicats. Hi pot haver altres estudis no publicats, per exemple tesis doctorals i comunicacions en congressos. És extremadament difícil identificar-los. A més, la seva inclusió es podria qüestionar perquè els criteris de qualitat són difícils d'aplicar. També es va examinar addicionalment el biaix de publicació a través de mètodes gràfics i estadístics, amb resultats negatius que indicaven la inexistència d'aquest biaix. En el *pooled analysis*, vam incloure un estudi no publicat, i dos més publicats però sense la part de THM publicada. Mitjançant la inclusió d'articles publicats i no publicats es minimitza el biaix potencial de publicació.

Resultats globals

En conjunt, els resultats de l'estudi cas-control i el *pooled analysis* mostren un increment del risc de càncer de bufeta en homes per exposició a THM i a aigua superficial clorada. També trobem una tendència dosi-resposta en homes, que reforçaria la hipòtesi de causalitat. En dones, el *pooled analysis* no troba associació amb cap dels índexs d'exposició estudiats. A l'estudi cas-control, les *odds ratios* en dones són generalment baixes (menors que en homes) i estadísticament no significatives. Aquests resultats estan en la línia d'estudis publicats anteriorment.

Els resultats de la meta-anàlisi són consistents amb els del cas-control i el *pooled analysis*, tot indicant la presència d'un excés de risc moderat i estadísticament

significatiu pel càncer de bufeta degut al consum d'aigua potable clorada (alguna vegada, a mig termini i a llarg termini). Similarment, els resultats en dones no són estadísticament significatius.

La dosi resposta global que trobem en l'estudi cas-control associa un risc major a un mateix nivell d'exposició respecte a altres articles publicats (Cantor 1998; King 1996). Per tant, els valors de risc atribuïble calculats per la població espanyola a partir d'estudis publicats (Villanueva 2001b) serien majors si el risc atribuïble es calcula amb els estimadors de risc trobats per la població espanyola.

Les majors OR per índex d'exposició global que per ingestió a l'estudi cas-control suggereixen diverses coses. Per una banda, es pot especular si els compostos volàtils de baix pes molecular poden tenir un paper més important que els compostos no volàtils que només s'incorporen a través de la ingestió. Per altra banda, també es pot qüestionar si la inhalació o absorció dèrmica juguen un paper més important que la ingestió. El que inhem i absorbim per la pell passa directament a la sang sense passar pel tracte intestinal. Aquest pas més directe podria ser més efectiu que la ingestió. Però no hem de perdre de vista que els resultats per ingestió es refereixen a l'exposició a casa. L'exposició total comprèn el que consumim a casa i fora de casa, per tant estaríem infravalorant l'exposició real. Per tant, això podria justificar, potser de forma menys especulativa, perquè es troben associacions majors amb l'índex d'exposició que amb el d'ingestió.

Una de les troballes més novedoses consisteix en l'associació entre assistència a piscines i increment del risc de càncer de bufeta. Aquest és el primer estudi que troba aquest tipus de resultat, per tant aquesta troballa s'ha d'interpretar amb molta precaució i evidentment calen més estudis per a confirmar o descartar aquesta associació. No hem trobat que l'exposició a la dutxa o al bany s'associï consistentment amb un increment del risc de càncer de bufeta (tot i que la gent a la categoria més alta d'exposició mostri un major risc). Aquests resultats poden semblar d'alguna manera contradictoris, donat que la dutxa és una situació d'exposició més freqüent que l'assistència a piscines, i on igualment hi ha inhalació i absorció per la pell dels DBP. No obstant, l'activitat física realitzada a la piscina és major a la realitzada durant el bany, i això probablement comporta una major taxa respiratòria amb una major

incorporació de DBP per inhalació. També els nivells de DBP són majors a les piscines donat que cal una intensa desinfecció per al manteniment de condicions higièniques. Aquests fenòmens podrien explicar en part el fet que trobem associació amb piscines però no amb dutxa i bany. En resum, existeix un gran desconeixement sobre el paper de l'exposició a DBP per vies diferents de la ingestió que s'haurien d'investigar amb més detall.

Les preguntes d'hàbits relacionats amb l'aigua (freqüència de dutxa/bany/piscines) és la primera vegada que s'incorporen a un qüestionari individual d'un estudi epidemiològic per tal d'avaluar l'exposició a subproductes de la cloració via inhalada i absorbida dèrmicament en aquestes situacions. No existeixen encara estudis avaluant la fiabilitat de les respostes a aquestes preguntes. És a dir, no hi ha hagut una validació prèvia. La inclusió d'aquestes preguntes va tenir caràcter exploratori, i no van ser validades. És possible que s'hagi produït una certa mala classificació de l'exposició. Calen, doncs, estudis confirmatoris futurs que avaluin específicament l'exposició i els efectes via inhalada i absorbida dèrmicament en aquestes situacions quotidianes, validant l'eina de mesura per tal confirmar que mesuren el que pretenen mesurar.

Diferència de risc entre homes i dones

Hem trobat una diferència del risc per gènere tant en l'anàlisi de dades combinades com en els resultats de l'estudi multicèntric cas-control de càncer de bufeta. La diferència en el risc per gènere és generalment consistent entre els sis estudis inclosos a l'anàlisi combinada i amb altres estudis no inclosos (Freedman 1997; Wilkins 1981). Només un estudi troba una diferència inversa (Cantor 1987), i un altre estudi no té resultats estratificats per gènere (McGeehin 1993). Degut a la gran mida de la base de dades conjunta i les dosi-resposta observades, l'atzar apareix com a una explicació improbable per a les observacions de major risc entre els homes. Una mala classificació no diferencial que atenuï el risc només en dones i no homes també sembla improbable, tot i que no tenim medis per avaluar això. El tabac i les exposicions laborals, que són els factors de risc més importants pel càncer de bufeta, no confonen substancialment l'associació entre exposició a THM i càncer de bufeta. El coneixement de factors de risc ocupacionals és, però, més limitat en dones que en homes i es podria produir confusió

residual per ocupació particularment en dones. No hi ha dades publicades sobre la importància de l'exposició a subproductes de la desinfecció a la feina, i per tant es desconeix fins a quin punt la diferent mobilitat entre sexes podria afectar els resultats. A més, el *pooled analysis* inclou dades internacionals i el flux de població entre la casa i la feina pot variar entre països. Dades no publicades d'Iowa (comunicació personal de Lynch) indiquen que el consum d'aigua a la feina és al voltant d'un terç que a casa i que els individus tendeixen a estar exposats a nivells similars de THM a casa i a la feina. A més, l'exposició als compostos volàtils té lloc principalment a casa, donat que la inhalació i l'absorció dèrmica té lloc durant el bany, la dutxa, rentant plats, etc. (Whitaker 2003). Hi ha una literatura considerable sobre càncer de bufeta i fums d'escapament dièsel i altres partícules, però es refereix a treballadors exposats a nivells elevats d'aquests compostos (Kogevinas 2002). Si la contaminació ambiental fos un confusor, aquest seria probablement un confusor feble donat que és esperable que qualsevol efecte de la contaminació ambiental sobre el càncer de bufeta sigui petit. Les comparacions entre individus no exposats i individus amb exposicions elevades a THM en part també es corresponen a comparacions entre individus que viuen en àrees geogràfiques diferents. L'anàlisi principal d'aquest estudi, però, no es basa en comparacions amb els mai exposats, sinó més aviat en anàlisis dosi-resposta, i aquests no són comparacions purament entre individus amb residència rural versus urbana. L'ajustament per educació com a mesura de nivell socio-econòmic no implica una gran diferència en cap dels dos gèneres, però aquest ajustament pot no haver capturat adequadament altres factors socio-econòmics correlacionats amb l'exposició. A la base de dades conjunta nosaltres no disposàvem d'informació sobre altres factors de risc potencials pel càncer de bufeta que probablement tenen una distribució diferencial per gènere, com l'ús de tints de cabell, infeccions urinàries, analgèsics i dieta. Per altra banda, aquests factors de risc no apareixen com a importants a nivell poblacional (Kogevinas 2002), i el seu paper com a confusors significatius de l'associació entre THM i càncer de bufeta sembla improbable en qualsevol dels gèneres.

S'haurien de considerar doncs explicacions biològiques per a les diferències de gènere observades, particularment donat que aquestes diferències han estat observades en animals d'experimentació en relació a una varietat d'efectes (IARC 1999b). Diversos autors han discutit les diferències en el risc de càncer de bufeta entre homes i dones i s'han proposat diversos mecanismes (Hartge 1990). Aquests mecanismes podrien

involucrar el paper de les hormones sexuals en la modulació dels enzims que metabolitzen els subproductes de la cloració en compostos intermedis reactius, i possiblement altres factors tals com la freqüència urinària i diferències anatòmiques entre gèneres, o l'acció dels subproductes de la cloració com a disruptors hormonals (Balchak 2000; Nieuwenhuijsen 2000). El citocrom P4502E1 (CYP2E1) és un enzim important en la transformació del cloroform i bromodiclorometà a metabolits actius en humans (Raucy 1993; Guengerich 1998), i en animals de laboratori apareix estar regulat per hormones sexuals (Pan 1992). Estudis farmacocinètics en humans mostren que l'activitat del CYP2E1 pot ser major en homes que en dones (Tanaka 1999; Meibohm 2002). Es creu que el metabolisme dels THM bromats involucra una reacció de conjugació amb glutatió que dóna lloc a la producció de formaldehid o compostos intermedis reactius amb el DNA via glutatió transferasa-theta (Landi 1999). Existeixen diverses línies d'evidència que mostren que els compostos de glutatió transferasa estan subjectes a una regulació per hormones tiroidees i sexuals (Coecke 2000; Igarashi 1984; Catania 2000). En absència de més dades experimentals completes, el possible paper de les hormones sexuals per a explicar les diferències de gènere en els efectes dels THM cal mantenir-la com a hipòtesi. Existeixen pocs estudis que proporcionin dades sobre la freqüència urinària a nivell poblacional, la majoria indicant que aquesta seria major en dones que en homes (Frimodt-Moller 1974 ; Larsson 1988; Kondo 1994; Beier-Holgersen 1990), i un estudi mostrant que homes i dones tenen la mateixa freqüència urinària (Braver 1987). Aquests estudis, però, no són comparables en relació a al disseny o les edats considerades. A més, tot i que biològicament plausible, la importància de la freqüència urinària en afectar el risc de càncer de bufeta no ha estat avaluat a estudis epidemiològics.

Importància dels resultats en salut pública

La relació causal entre exposició a DBP i risc de càncer de bufeta és difícil de demostrar. No obstant, la consideració global de les dades aquí presentades juntament amb les dades d'estudis publicats anteriorment, mostra prou evidència com per a considerar que la cloració de determinades aigües generi nivells de subproductes de la desinfecció que suposin un risc potencial per la salut de les persones. Per tant, el principi de precaució aconsella prendre mesures per a minimitzar aquest risc, potencial

o no. La solució final és molt més complexa que canviar el clor per altres desinfectants, o beure aigua embotellada enlloc d'aigua municipal. Un desinfectant per definició és un compost altament reactiu, per tant sempre reaccionarà generant subcompostos no desitjats. La substitució del clor per altres desinfectants menys agressius reduirà la formació de THM, però en generarà d'altres menys coneguts i estudiats. Per tant, la solució real passa per tenir una aigua a entrada de planta de bona qualitat. Això en darrer terme implica una gestió integrada del cicle de l'aigua que garanteixi la reducció de la contaminació dels rius i que els sistemes de depuració funcionin, de manera que l'aigua que portin els rius que després captaran les potabilitzadores que subministren la població sigui de qualitat. Alguns països europeus com Alemanya o Holanda tenen una major tradició de gestionar integralment el cicle de l'aigua. També apliquen línies de desinfecció menys agressives, utilitzant desinfectants alternatius al clor, tot obtenint una aigua desinfectada sense minvar la desinfecció microbiològica i alhora reduint la formació de subproductes de la desinfecció.

Com s'ha vist a partir de les dades de l'estudi multicèntric cas-control de càncer de bufeta, el nivell de THM en les aigües potables de la residència està relacionat amb un increment del risc, independentment del tipus d'aigua que es consumeixi. Per tant, consumir aigua embotellada és només una solució parcial, perquè les persones estan exposades igualment a DBP a la dutxa, el bany, rentant plats, o amb qualsevol altra activitat relacionada amb l'aigua.

Crida l'atenció que es trobin increments de risc estadísticament significatius amb nivells de THM per sota del nivell màxim admissible de la llei d'aigües potables (Real Decreto 140/2003). Segons l'estudi cas-control, una exposició mitjana entre més de 26 i menys de 49 µg/l comporta un increment del risc global del 84% (estadísticament significatiu) respecte els exposats a menys de 8 µg/l. Segons l'anàlisi de dades combinades, l'increment global del risc entre persones exposades a un nivell mitjà de THM superior a 25 i inferior de 50 µg/l és del 22% (estadísticament significatiu) respecte els exposats a menys de 1 µg/l. Aquests són nivells als quals hi està exposada la major part de la població. Així doncs, trobem increments del risc per sota del nivell de 100 µg/l que imposa la llei d'aigües potables com a màxim admissible a partir de 2009 (entre 2004 i 2008 el nivell màxim admissible és de 150 µg/l) (Real Decreto

140/2003). Per tant, aquests resultats suggerrien que els nivells màxims imposat previstos per la llei no assegurarien una protecció suficient a les persones.

La reducció de THM en l'aigua potable que exigeix la llei, en bona part s'explica per la substitució del clor per altres desinfectants, que generen menys THM però generen altres DBP nous. Així, els THM deixarien de ser els DBP més prevalents, tot deixant de ser un bon indicador de la barreja de DBP. Per tant, a mesura que la desinfecció per clor deixi de ser la més freqüent, el control dels nivells de DBP hauria d'incloure altres compostos a més dels THM.

Recerca futura

-
1. Millor caracterització dels nivells de subproductes de la desinfecció a Espanya.
 2. Polimorfismes genètics amb susceptibilitat de desenvolupar càncer de bufeta
 3. Efectes de l'exposició a DBP per vies d'incorporació diferents de la inhalació
 4. Piscines i subproductes de la cloració
 5. Desinfectants alternatius. Possibles efectes sobre la salut
 6. Avaluar l'efecte de les barreges de subproductes de la cloració
 7. Millor coneixement d'efectes de subproductes de la desinfecció específics
 8. Efectes reproductius per exposició en dones embarassades
 9. Avaluar efectes diferents del càncer i efectes reproductius
-

Portar a terme l'estudi cas-control de càncer de bufeta ha fet palesa la manca de dades existent sobre concentracions de DBP, i per tant el desconeixement dels nivells als quals està exposada la població espanyola. A la resta d'Europa també hi ha un profund desconeixement dels nivells als que les persones estan exposades. Per tant es fa necessària una millor caracterització dels nivells de DBP a Espanya i a Europa.

En el marc de l'estudi cas-control, una línia de recerca futura serà analitzar la relació entre determinats polimorfismes genètics amb la susceptibilitat de desenvolupar càncer de bufeta. Les mostres de material biològic recollit en la població d'estudi (sang i biòpsia), permetran determinar polimorfismes en certs gens com per exemple el CYP2E1 o els GSTs, implicats en el desenvolupament del càncer de bufeta.

Al marge de l'estudi cas-control, un aspecte per explorar de l'exposició a DBP són les vies d'incorporació diferents de la ingestió. A part de les dades proporcionades pel present treball, es desconeix del paper de la inhalació i l'absorció dèrmica de subproductes de la cloració. A través d'estudis experimentals se sap que es produeix una incorporació d'alguns DBP durant la dutxa, el bany i l'assistència a piscines. Però es desconeix quins efectes pot tenir això sobre la salut. Aquests compostos van directament a la sang sense passar pel sistema digestiu, per tant seria plausible pensar que l'actuació d'aquests compostos inhalats o absorbits per la pell fos diferent, i fins i tot més directa, que la ingestió.

Les piscines són ambients on la concentració de DBP és elevada, tant a l'aigua com a l'aire. Les persones incorporen aquests DBP per absorció dèrmica (mentre estan a l'aigua), i per inhalació (tant a dins com a fora de l'aigua). Per tant, les piscines ofereixen un ambient interessant per investigar l'efecte d'exposicions a DBP per inhalació i absorció dèrmica. L'estudi de determinades poblacions exposades a les piscines, tot incloent personal laboral i persones que assisteixen periòdicament a les piscines, donaria informació sobre aquestes vies d'exposició tan poc estudiades. Els nens serien una població especialment sensible, que caldria ser considerada.

El clor gradualment es va substituint per desinfectants alternatius (diòxid de clor, ozó, cloramines, etc.). Aquests produeixen subproductes diferents dels de la cloració. Els THM deixen de ser els majoritaris i se'n generen de nous. Els subproductes de la cloració han sigut els més investigats fins ara però com que cada cop prenen més importància altres desinfectants caldria investigar els efectes associats als subproductes dels desinfectants alternatius.

Un camp per a explorar comprèn l'estudi de les barreges de DBP. Cada DBP té unes propietats químiques, mutàgenes i carcinògenes diferents. Els DBP es produeixen en barreges, i la composició difereix segons les característiques de l'aigua en origen (pH, precursors orgànics...), el tractament, etc. Les barreges poden produir efectes sinèrgics (efecte global major que la suma dels efectes per separat), efectes additius (l'efecte global seria la suma d'efectes separatament), o fins i tot efectes globals menors que la suma dels efectes per separat. Per tant, l'ús d'un compost indicador de la barreja (com s'ha fet fins ara amb els THM) no reflexa l'exposició real. S'haurien de desenvolupar

línies de recerca, tant a nivell experimental com epidemiològic per avaluar l'efecte de les barreges.

Per altra banda, s'hauria de seguir investigant el metabolisme i els efectes sobre la salut dels diferents subproductes de la desinfecció, per una millor comprensió de tot el procés des de la incorporació, distribució a l'organisme, òrgans diana i efectes clínics.

Des de principis dels 90 s'han investigat efectes reproductius associats a l'exposició a DBP en dones embarassades. S'ha publicat un nombre considerable d'estudis sobre diferents efectes, tot incloent avortaments espontanis, part preterme, baix pes en néixer, talla petita per edat gestacional, diverses malformacions congènites, etc. Molts d'aquests estudis tenen limitacions metodològiques en l'avaluació de l'exposició. Per tant no hi ha evidències concloents que demostrin causalitat entre exposició a DBP de la mare embarassada i efectes reproductius.

A part del càncer de bufeta i els efectes reproductius, s'han associat altres efectes a l'exposició a DBP. Hi ha indicis que mostren un increment del risc de càncer de colon i recte, però les dades no són concloents. Estudis en nedadors de competició mostren que la prevalença d'asma és molt elevada en aquesta població, i això s'ha explicat de vegades per l'exposició a DBP. Per tant la magnitud del risc degut a aquesta exposició ambiental podria ser major que l'avaluada en aquest treball. A més a més, cal tenir present que hi ha altres efectes que no han estat considerats específicament en relació a aquesta exposició. En aquest sentit es podria plantejar l'associació amb el càncer de pulmó perquè molts DBP són inhalats. Així doncs, caldria engegar línies d'investigació en el futur per a avaluar el risc de diversos efectes associats a aquesta exposició.

7 . CONCLUSIONS

EXPOSICIÓ

1. Algunes poblacions espanyoles han estat i segueixen estant altament exposades als subproductes de la cloració
2. Entre les zones d'estudi, les àrees mediterrànies són les de major exposició a trihalometans (THM) i àcids acètics halogenats (HAA). Entre les zones estudiades, Tenerife té els nivells més baixos perquè utilitza aigua subterrània com a font d'aigua potable. Astúries presenta nivells intermedis-baixos de THM i HAA que s'expliquen per a l'abundància i qualitat d'aigua en aquesta regió.
3. Hi ha diferències en la composició dels THM i HAA entre regions. Tenerife té una elevada proporció de THM i HAA bromats (>95% i 85% respectivament). Astúries i Manresa tenen una elevada proporció de cloroform (>50%) i HAA clorats. Barcelona i Alacant tenen més del 50% de compostos bromats o cloro-bromats.
4. Les dades retrospectives indiquen que els nivells de THM en el passat eren majors que els actuals en algunes regions, i suggereixen que l'exposició en el passat ha estat major que l'actual.

RISC DE CÀNCER DE BUFETA I SUBPRODUCTES DE LA CLORACIÓ

1. Els resultats combinats de la meta-anàlisi, el *pooled analysis* l'estudi multicèntric cas-control de càncer de bufeta i reforcen la hipòtesi que l'exposició a THM a llarg termini, a nivells com els que es troben en molts de països industrialitzats s'associa amb un increment del risc de càncer de bufeta.

2. El gènere és un modificador de l'efecte important, amb una associació més gran observada en homes.
3. Els resultats de l'estudi cas-control suggereixen que la inhalació i absorció dèrmica de DBP en determinades situacions d'exposició aguda (piscines) s'associa amb un excés de risc de càncer de bufeta. Aquests resultats s'han d'interpretar amb cautela i calen nous estudis específics per a confirmar/refutar aquestes troballes.
4. Els riscos observats són moderadament elevats, però com que la major part de la població està exposada, el risc atribuïble associat podria ser important.
5. En vista de la creixent evidència que l'exposició a subproductes de la cloració s'associa amb risc de càncer, s'hauria de donar més importància a un control més estricte d'aquests compostos a l'aigua potable, sense comprometre el control de la contaminació microbiològica.

REFERÈNCIES

[] Occupational bladder cancer: a guide for clinicians. The BAUS Subcommittee on Industrial Bladder Cancer. *British Journal of Urology*. 1988; 61(3):183-191.

[] Real Decreto 140/2003, de 7 de febrero, por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano. 2003.

Aggazzotti,G., Fantuzzi,G., Righi,E., and Predieri,G. Blood and breath analyses as biological indicators of exposure to trihalomethanes in indoor swimming pools. *The Science of the Total Environment*. 1998; 217(1-2):155-163.

Aggazzotti,G., Fantuzzi,G., Tartoni,P.L., and Predieri,G. Plasma chloroform concentrations in swimmers using indoor swimming pools. *Archives of Environmental Health*. 1990; 45(3):175-179.

Aggazzotti,G. and Predieri,G. Survey of volatile halogenated organics (VHO) in Italy. Levels of VHO in drinking waters, surface waters and swimming pools. *Water Research*. 1986; 20(8):959-963.

Aguirre Pascual,G., Monforte de Monleon,L., and Tos Box,S. Efecto de la utilización de permanganato potásico sobre la formación de trihalometanos (THM) en la potabilización de agua. *Química Industrial*. 1996; 43(6):13-18.

Aiking,H., van Acker,M.B., Scholten,R.J., Feenstra,J.F., and Valkenburg,H.A. Swimming pool chlorination: a health hazard? *Toxicology Letters*. 1994; 72(1-3):375-380.

Alavanja,M., Goldstein,I., and Susser,M. (1979) A case control study of gastrointestinal and urinary tract cancer mortality and drinking water chlorination. In: Jolley,R.L., Gorchev,H., and Hamilton,D.H., Jr. (eds), pp. 395-409, Ann Arbor Scientific Publishers.

Alles,G., Bauer,U., and Selenka,F. [Volatile organochlorine compounds in human tissue]. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg [B]*. 1988; 186(3):233-246.

Allis,J.W., Anderson,B.P., Zhao,G., Ross,T.M., and Pegram,R.A. Evidence for the involvement of CYP1A2 in the metabolism of bromodichloromethane in rat liver. *Toxicology*. 2002a; 176(1-2):25-37.

Allis,J.W. and Zhao,G. Quantitative evaluation of bromodichloromethane metabolism by recombinant rat and human cytochrome P450s. *Chemico-Biological Interactions*. 2002b; 140(2):137-153.

Amaral, O. C. Análisis y comportamiento de compuestos orgánicos halogenados volátiles en agua, aire y sedimentos de zonas rurales, urbanas e industriales. [Tesi Doctoral]. 1994. Universitat de Barcelona.

Amirsardari,Y., Yu,Q., and Willams,P. Effect of ozonation and UV irradiation with direct filtration on disinfection and disinfection by-product precursors in drinking water treatment. *Environmental Technology*. 2001; 22(9):1015-1023.

Aschengrau,A., Zierler,S., and Cohen,A. Quality of community drinking water and the occurrence of late adverse pregnancy outcomes. *Archives of Environmental Health*. 1993; 48(2):105-113.

Ashley,D.L. and Prah,J.D. Time dependence of blood concentrations during and after exposure to a mixture of volatile organic compounds. *Archives of Environmental Health*. 1997; 52(1):26-33.

Backer,L.C., Ashley,D.L., Bonin,M.A., Cardinali,F.L., Kieszak,S.M., and Wooten,J.V. Household exposures to drinking water disinfection by-products: whole blood trihalomethane levels. *Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology*. 2000; 10(4):321-326.

Balchak,S.K., Hedge,J.M., Murr,A.S., Mole,M.L., and Goldman,J.M. Influence of the drinking water disinfection by-product dibromoacetic acid on rat estrous cyclicity and ovarian follicular steroid release in vitro. *Reproductive Toxicology*. 2000; 14(6):533-539.

Bates,M.N., Smith,A.H., and Cantor,K.P. Case-control study of bladder cancer and arsenic in drinking water. *American Journal of Epidemiology*. 1995; 141(6):523-530.

- Bates,M.N., Smith,A.H., and Hopenhayn-Rich,C. Arsenic ingestion and internal cancers: a review. *American Journal of Epidemiology*. 1992; 135(5):462-476.
- Bean,J.A., Isacson,P., Hausler,W.J., Jr., and Kohler,J. Drinking water and cancer incidence in Iowa. I. Trends and incidence by source of drinking water and size of municipality. *American Journal of Epidemiology*. 1982; 116(6):912-923.
- Beech,J.A., Díaz,R., Ordaz,C., and Palomeque,B. Nitrates, chlorates and trihalomethanes in swimming pool water. *American Journal of Public Health*. 1980; 70(1):79-82.
- Beier-Holgersen,R. and Bruun,J. Voiding pattern of men 60 to 70 years old: population study in an urban population. *The Journal of Urology*. 1990; 143(3):531-532.
- Bellar,T.A., Lichtenberg,J.J., and Kroner,R.C. The occurrence of organohalides in chlorinated drinking waters. *Journal of the American Water Works Association*. 1974; 66703-706.
- Beltran,F.J., González,M., and Álvarez,P. Tratamiento de aguas mediante oxidación avanzada. (I) Procesos con ozono, radiación ultravioleta y combinación ozono/radiación ultravioleta. *Ingeniería Química*. 1997a; January161-168.
- Beltran,F.J., González,M., and Álvarez,P. Tratamiento de aguas mediante oxidación avanzada. (yII) Procesos con peróxido de hidrógeno. *Ingeniería Química*. 1997b; February165-169.
- Berlin,J.A., Longnecker,M.P., and Greenland,S. Meta-analysis of epidemiologic dose-response data. *Epidemiology*. 1993; 4(3):218-228.
- Bhat,H.K., Ahmed,A.E., and Ansari,G.A. Toxicokinetics of monochloroacetic acid: a whole-body autoradiography study. *Toxicology*. 1990; 63(1):35-43.
- Boorman,G.A., Dellarco,V., Dunnick,J.K., Chapin,R.E., Hunter,S., Hauchman,F., Gardner,H., Cox,M., and Sills,R.C. Drinking Water Disinfection Byproducts: Review and Approach to Toxicity Evaluation. *Environ Health Perspect*. 1999; 107(supplement 1):207-217.
- Borràs,J.M., Borràs,J., Viladiu,F., and Bosch,F.X. (1997) *Epidemiología y prevención del cáncer en Catalunya 1975-1992.*, Institut Català d'Oncologia, Barcelona.
- Bove,F., Shim,Y., and Zeitz,P. Drinking water contaminants and adverse pregnancy outcomes: a review. *Environ Health Perspect*. 2002; 110 Suppl 161-74.
- Bove,F.J., Fulcomer,M.C., Klotz,J.B., Esmart,J., Dufficy,E.M., and Savrin,J.E. Public drinking water contamination and birth outcomes. *American Journal of Epidemiology*. 1995; 141(9):850-862.
- Braver,D.J., Modan,M., Chetrit,A., Lusky,A., and Braf,Z. Drinking, micturition habits, and urine concentration as potential risk factors in urinary bladder cancer. *Journal of the National Cancer Institute*. 1987; 78(3):437-440.
- Brennan,P., Bogillot,O., Cordier,S., Greiser,E., Schill,W., Vineis,P., Lopez-Abente,G., Tzonou,A., Chang-Claude,J., Bolm-Audorff,U., Jockel,K.H., Donato,F., Serra,C., Wahrendorf,J., Hours,M., Mannetje,A., Kogevinas,M., and Boffetta,P. Cigarette smoking and bladder cancer in men: a pooled analysis of 11 case-control studies. *International Journal of Cancer*. 2000; 86(2):289-294.
- Brown,H.S., Bishop,D.R., and Rowan,C.A. The role of skin absorption as a route of exposure for volatile organic compounds (VOCs) in drinking water. *American Journal of Public Health*. 1984; 74(5):479-484.
- Bryant,M.S., Vineis,P., Skipper,P.L., and et al Haemoglobin adducts of aromatic amines: associations with smoking status and type of tobacco. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1988; 109788-9791.
- Bull,R.J., Birnbaum,L.S., Cantor,K.P., Rose,J.B., Butterworth,B.E., Pegram,R., and Tuomisto,J. Symposium Overview. Water chlorination:essential process or cancer hazard? *Fundamental and Applied Toxicology*. 1995; 28(2):155-166.

- Bull,R.J., Sanchez,I.M., Nelson,M.A., Larson,J.L., and Lansing,A.J. Liver tumor induction in B6C3F1 mice by dichloroacetate and trichloroacetate. *Toxicology*. 1990; 63(3):341-359.
- Calderon,J., Capell,C., Centrich,F., Artazcoz,L., Gonzalez-Cabre,M., and Villalbi,J.R. [Halogenated by-products of chlorination in tap water]. *Gaceta Sanitaria*. 2002; 16(3):241-243.
- Calderon,J., Navarro,M.E., Jimenez-Capdeville,M.E., Santos-Diaz,M.A., Golden,A., Rodriguez-Leyva,I., Borja-Aburto,V., and Diaz-Barriga,F. Exposure to Arsenic and Lead and Neuropsychological Development in Mexican Children. *Environmental Research*. 2001; 85(2):69-76.
- Camel,V. and Bermond,A. The use of ozone and associated oxidation process in drinking water treatment. *Water Research*. 1998; 32(11):3208-3222.
- Cammann,K. and Hubner,K. Trihalomethane concentrations in swimmers' and bath attendants' blood and urine after swimming or working in indoor swimming pools. *Archives of Environmental Health*. 1995; 50(1):61-65.
- Cancho,B., Fabrellas,C., Diaz,A., Ventura,F., and Galceran,M.T. Determination of the odor threshold concentrations of iodinated trihalomethanes in drinking water. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2001; 49(4):1881-1884.
- Cancho,B., Ventura,F., and Galceran,M.T. Behavior of halogenated disinfection by-products in the water treatment plant of Barcelona, Spain. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 1999; 63(5):610-617.
- Cancho,B., Galceran,M.T., and Ventura,F. Determinación de los subproductos de desinfección minoritarios formados en la planta de Sant Joan Despí (Barcelona). *Tecnología del Agua*. 1997; May(164):43-52.
- Cantor,K.P., Lynch,C.F., Hildesheim,M.E., Dosemeci,M., Lubin,J., Alavanja,M., and Craun,G. Drinking water source and chlorination byproducts in Iowa. III. Risk of brain cancer. *American Journal of Epidemiology*. 1999; 150(6):552-560.
- Cantor,K.P., Lynch,C.F., Hildesheim,M.E., Dosemeci,M., Lubin,J., Alavanja,M., and Craun,G. Drinking water source and chlorination byproducts. I. Risk of bladder cancer. *Epidemiology*. 1998; 9(1):21-28.
- Cantor,K.P. Drinking water and cancer. *Cancer Causes and Control*. 1997; 8(3):292-308.
- Cantor,K.P., Hoover,R., Hartge,P., Mason,T.J., Silverman,D.T., Altman,R., Austin,D.F., Child,M.A., Key,C.R., Marrett,L.D., and et al Bladder cancer, drinking water source, and tap water consumption: a case-control study. *Journal of the National Cancer Institute*. 1987; 79(6):1269-1279.
- Cantor,K.P., Hoover,R., Mason,T.J., and McCabe,L.J. Associations of cancer mortality with halomethanes in drinking water. *Journal of the National Cancer Institute*. 1978; 61(4):979-985.
- Carbonnelle,S., Francaux,M., Doyle,I., Dumont,X., de Burbure,C., Morel,G., Michel,O., and Bernard,A. Changes in serum pneumoproteins caused by short-term exposures to nitrogen trichloride in indoor chlorinated swimming pools. *Biomarkers*. 2002; 7(6):464-478.
- Catania VA, Luquita MG, Sanchez Pozzi EJ, Mottino AD. Quantitative and qualitative gender-related differences in jejunal glutathione S-transferase in the rat effect of testosterone administration. *Life Sci* 2000; 68:467-474.
- Cedergren,M.I., Selbing,A.J., Lofman,O., and Kallen,B.A. Chlorination byproducts and nitrate in drinking water and risk for congenital cardiac defects. *Environmental Research*. 2002; 89(2):124-130.
- Chang,C.N., Ma,Y.S., and Zing,F.F. Reducing the formation of disinfection by-products by pre-ozonation. *Chemosphere*. 2002; 46(1):21-30.
- Chang,E.E., Lin,Y.P., and Chiang,P.C. Effects of bromide on the formation of THMs and HAAs. *Chemosphere*. 2001; 43(8):1029-1034.

- Chang,C.Y., Hsieh,Y.H., Shih,I.C., Hsu,S.S., and Wang,K.H. The formation and control of disinfection by-products using chlorine dioxide. *Chemosphere*. 2000; 41(8):1181-1186.
- Chiou,H.Y., Chiou,S.T., Hsu,Y.H., Chou,Y.L., Tseng,C.H., Wei,M.L., and Chen,C.J. Incidence of transitional cell carcinoma and arsenic in drinking water: a follow-up study of 8,102 residents in an arseniasis-endemic area in northeastern Taiwan. *American Journal of Epidemiology*. 2001; 153(5):411-418.
- Chiou,H.Y., Hsueh,Y.M., Liaw,K.F., Horng,S.F., Chiang,M.H., Pu,Y.S., Lin,J.S., Huang,C.H., and Chen,C.J. Incidence of internal cancers and ingested inorganic arsenic: a seven-year follow- up study in Taiwan. *Cancer Research*. 1995; 55(6):1296-1300.
- Chow,W.H., Lindblad,P., Gridley,G., Nyren,O., McLaughlin,J.K., Linet,M.S., Pennello,G.A., Adami,H.O., and Fraumeni,J.F., Jr. Risk of urinary tract cancers following kidney or ureter stones. *Journal of the National Cancer Institute*. 1997; 89(19):1453-1457.
- Christian,M.S., York,R.G., Hoberman,A.M., Fisher,L.C., and Brown,W.R. Oral (drinking water) two-generation reproductive toxicity study of bromodichloromethane (BDCM) in rats. *International journal of toxicology*. 2002a; 21(2):115-146.
- Christian,M.S., York,R.G., Hoberman,A.M., Frazee,J., Fisher,L.C., Brown,W.R., and Creasy,D.M. Oral (drinking water) two-generation reproductive toxicity study of dibromoacetic acid (DBA) in rats. *International journal of toxicology*. 2002b; 21(4):237-276.
- Christian,M.S., York,R.G., Hoberman,A.M., Diener,R.M., Fisher,L.C., and Gates,G.A. Biodisposition of dibromoacetic acid (DBA) and bromodichloromethane (BDCM) administered to rats and rabbits in drinking water during range- finding reproduction and developmental toxicity studies. *International journal of toxicology*. 2001; 20(4):239-253.
- Coecke,S., Vanhaecke,T., Foriers,A., Phillips,I.R., Vercruysse,A., Shephard,E.A., and Rogiers,V. Hormonal regulation of glutathione S-transferase expression in co- cultured adult rat hepatocytes. *Journal of Endocrinology*. 2000; 166(2):363-371.
- Constan,A.A., Sprankle,C.S., Peters,J.M., Kedderis,G.L., Everitt,J.I., Wong,B.A., Gonzalez,F.L., and Butterworth,B.E. Metabolism of chloroform by cytochrome P450 2E1 is required for induction of toxicity in the liver, kidney, and nose of male mice. *Toxicology and applied pharmacology*. 1999; 160(2):120-126.
- Cordier,S., Clavel,J., Limasset,J.C., Boccon-Gibod,L., Le Moual,N., Mandereau,L., and Hemon,D. Occupational risks of bladder cancer in France: a multicentre case- control study. *International Journal of Epidemiology*. 1993; 22(3):403-411.
- Crabb,D.W., Yount,E.A., and Harris,R.A. The metabolic effects of dichloroacetate. *Metabolism*. 1981; 30(10):1024-1039.
- Cragle D.L., Shy,C.M., Struba R.J., and Siff E.J. (1985) A case-control study of colon cancer and water chlorination in North Carolina. In: Jolley R.L., Bull,R.J., Davis W.P., Katz S., Roberts M.H.Jr., and Jakobs V.A. (eds), pp. 153-160, Lewis Publishers, Inc., Chelsea, MI (USA).
- DerSimonian,R. and Laird,N.M. Meta-analysis in clinical trials. *Controlled Clinical Trials*. 1986; 7:177-188.
- Dodds,L. and King,W.D. Relation between trihalomethane compounds and birth defects. *Occupational and Environmental Medicine*. 2001; 58(7):443-446.
- Dodds,L., King,W., Woolcott,C., and Pole,J. Trihalomethanes in public water supplies and adverse birth outcomes. *Epidemiology*. 1999; 10(3):233-237.
- Doll,R., Peto,R., Wheatley,K., Gray,R., and Sutherland,I. Mortality in relation to smoking: 40 years' observations on male British doctors. *The British Medical Journal*. 1994; 309(6959):901-911.
- Doyle,T.J., Zheng,W., Cerhan,J.R., Hong,C.P., Sellers,T.A., Kushi,L.H., and Folsom,A.R. The association of drinking water source and chlorination by- products with cancer incidence among postmenopausal women in Iowa: a prospective cohort study. *American Journal of Public Health*. 1997; 87(7):1168-1176.

- Dunnick,J.K. and Melnick,R.L. Assessment of the carcinogenic potential of chlorinated water: experimental studies of chlorine, chloramine, and trihalomethanes. *Journal of the National Cancer Institute*. 1993; 85(10):817-822.
- Egger,M., Davey,S.G., Schneider,M., and Minder,C. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. *The British Medical Journal*. 1997; 315(7109):629-634.
- El Shahat,M.F., Abdel-Halim,S.H., and Hassan,G.A. Factors influencing the formation of trihalomethanes in drinking water treatment plants. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 2001; 67(4):549-553.
- El-Shahat,M.F., Abdel-Halim,S.H., and Hassan,G.A. Evaluation of trihalomethanes in water treatment plants' outputs in Cairo, Egypt during 1991 to 1993. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 1998; 60(3):502-506.
- Elcock,M. and Morgan,R.W. Update on artificial sweeteners and bladder cancer. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 1993; 17(1):35-43.
- Fabrizi,L., Taylor,G.W., Edwards,R.J., and Boobis,A.R. Adducts of the chloroform metabolite phosgene. *Advances in experimental medicine and biology*. 2001; 500:129-132.
- Ferlay,J., Parkin,D., and et al (1998) *Globocan 1: Cancer Incidence and Mortality*, IARC, Lyon.
- Ferreccio,C., Gonzalez,C., Milosavjlevic,V., Marshall,G., Sancha,A.M., and Smith,A.H. Lung cancer and arsenic concentrations in drinking water in Chile. *Epidemiology*. 2000; 11(6):673-679.
- Freedman,D.M., Cantor,K.P., Lee,N.L., Chen,L.S., Lei,H.H., Ruhl,C.E., and Wang,S.S. Bladder cancer and drinking water: a population-based case- control study in Washington County, Maryland (United States). *Cancer Causes and Control*. 1997; 8(5):738-744.
- Frimodt-Moller,C. A urodynamic study of micturition in healthy men and women. *Danish Medical Bulletin*. 1974; 21(2):41-48.
- Froese,K.L., Sinclair,M.I., and Hrudey,S.E. Trichloroacetic acid as a biomarker of exposure to disinfection by- products in drinking water: a human exposure trial in Adelaide, Australia. *Environ Health Perspect*. 2002; 110(7):679-687.
- Fuscoe,J.C., Afshari,A.J., George,M.H., DeAngelo,A.B., Tice,R.R., Salman,T., and Allen,J.W. In vivo genotoxicity of dichloroacetic acid: evaluation with the mouse peripheral blood micronucleus assay and the single cell gel assay. *Environmental and molecular mutagenesis*. 1996; 27(1):1-9.
- Galbraith,R.F. A note on graphical presentation estimated odds ratios from several clinical trials. *Statistics in Medicine*. 1988; 7:889-894.
- Gallagher,M.D., Nuckols,J.R., Stallones,L., and Savitz,D.A. Exposure to trihalomethanes and adverse pregnancy outcomes [see comments]. *Epidemiology*. 1998; 9(5):484-489.
- Garcia-Villanova,R.J., Garcia,C., Gomez,J.A., Garcia,M.P., and Ardanuy,R. Formation, evolution and modeling of trihalomethanes in the drinking water of a town: I. At the municipal treatment utilities. *Water Research*. 1997a; 31(6):1298-1308.
- Garcia-Villanova,R.J., Garcia,C., Gomez,J.A., Garcia,M.P., and Ardanuy,R. Formation, evolution and modeling of trihalomethanes in the drinking water of a town: II. In the distribution system. *Water Research*. 1997b; 31(6):1405-1413.
- Golfinopoulos,S.K. and Nikolaou,A.D. Disinfection by-products and volatile organic compounds in the water supply system in Athens, Greece. *Journal of environmental science and health.Part A, Toxic/hazardous substances & environmental engineering*. 2001; 36(4):483-499.
- Gonzalez,C.A., Errezola,M., Izarzugaza,I., Lopez-Abente,G., Escolar,A., Nebot,M., and Riboli,E. Urinary infection, renal lithiasis and bladder cancer in Spain. *European Journal of Cancer*. 1991; 27(4):498-500.

- Gottlieb,M.S. and Carr,J.K. Case-control cancer mortality study and chlorination of drinking water in Louisiana. *Environ Health Perspect.* 1982a; 46:169-177.
- Gottlieb,M.S., Carr,J.K., and Clarkson,J.R. Drinking water and cancer in Louisiana. A retrospective mortality study. *American Journal of Epidemiology.* 1982b; 116 (4):652-667.
- Graves,C.G., Matanoski,G.M., and Tardiff,R.G. Weight of Evidence for an Association between Adverse Reproductive and Developmental Effects and Exposure to Disinfection By-products: A Critical Review. *Regulatory Toxicology and Pharmacology.* 2001; 34(2):103-124.
- Greenland,S. and Longnecker,M.P. Methods for trend estimation from summarized dose-response data, with applications to meta-analysis. *American Journal of Epidemiology.* 1992; 135(11):1301-1309.
- Guengerich,F.P., Shimada,T. Activation of procarcinogens by human cytochrome P450 enzymes. *Mutat Res* 1998; 400:201-213.
- Guengerich,F.P., Kim,D.H., and Iwasaki,M. Role of human cytochrome P-450 IIE1 in the oxidation of many low molecular weight cancer suspects. *Chemical Research in Toxicology.* 1991; 4(2):168-179.
- Guo,H.R., Chiang,H.S., Hu,H., Lipsitz,S.R., and Monson,R.R. Arsenic in drinking water and incidence of urinary cancers. *Epidemiology.* 1997; 8(5):545-550.
- Habel,L.A., Bull,S.A., and Friedman,G.D. Barbiturates, smoking, and bladder cancer risk. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention.* 1998; 7(11):1049-1050.
- Haque,R., Mazumder,D.N.G., Samanta,S., Ghosh,N., Kalman,D., Smith,M.M., Mitra,S., Santra,A., Lahiri,S., Das,S., De,B.K., and Smith,A.H. Arsenic in drinking water and skin lesions: dose-response data from West Bengal, India. *Epidemiology.* 2003; 14 (2):174-182.
- Hartge,P., Harvey,E.B., Linehan,W.M., Silverman,D.T., Sullivan,J.W., Hoover,R.N., and Fraumeni,J.F., Jr. Unexplained excess risk of bladder cancer in men. *Journal of the National Cancer Institute.* 1990; 82(20):1636-1640.
- Helenius,I. and Haahtela,T. Allergy and asthma in elite summer sport athletes. *Journal of allergy and clinical immunology.* 2000; 106(3):444-452.
- Heller-Grossman,L., Manka,J., Limoni-Relis,B., and Rebhun,M. Formation and distribution of haloacetic acids, THM and TOX in chlorination of bromide-rich lake water. *Water Research.* 1993; 27(8):1323-1331.
- Hemming,J., Holmbom,B., Reunanen,M., and Kronberg,L. Determination of the strong mutagen 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone in chlorinated drinking and humic water. *Chemosphere.* 1986; 15:549-556.
- Hildesheim,M.E., Cantor,K.P., Lynch,C.F., Dosemeci,M., Lubin,J., Alavanja,M., and Craun,G. Drinking water source and chlorination byproducts. II. Risk of colon and rectal cancers. *Epidemiology.* 1998; 9(1):29-35.
- Hobara,T., Kobayashi,H., Kawamoto,T., Iwamoto,S., and Sakai,T. Extrahepatic metabolism of chloral hydrate, trichloroethanol and trichloroacetic acid in dogs. *Pharmacology and Toxicology.* 1987; 61(1):58-62.
- Holmbom,B., Voss,R.H., Mortimer,R.D., and Wong,A. Fractionation, isolation, and characterization of Ames mutagenic compounds in kraft chlorination effluents. *Environmental Science and Technology.* 1984; 18:333-337.
- Hooth,M.J., McDorman,K.S., Hester,S.D., George,M.H., Brooks,L.R., Swank,A.E., and Wolf,D.C. The Carcinogenic Response of Tsc2 Mutant Long-Evans (Eker) Rats to a Mixture of Drinking Water Disinfection By-Products Was Less Than Additive. *Toxicological Sciences.* 2002; 69(2):322-331.
- Hopenhayn-Rich,C., Browning,S.R., Hertz-Picciotto,I., Ferreccio,C., Peralta,C., and Gibb,H. Chronic arsenic exposure and risk of infant mortality in two areas of Chile. *Environ Health Perspect.* 2000; 108(7):667-673.

Hopenhayn-Rich,C., Biggs,M.L., Fuchs,A., Bergoglio,R., Tello,E.E., Nicolli,H., and Smith,A.H. Bladder cancer mortality associated with arsenic in drinking water in Argentina. *Epidemiology*. 1996; 7(2):117-124.

Hsu,L.I. and Chen,C.J. Descriptive epidemiology, risk factors and genetic susceptibility of urinary bladder cancer. *Chinese Journal of Public Health*. 1999; 18(6):387-412.

Huixian,Z., Zirui,Y., Junhe,L., Xu,X., and Jinqi,Z. A possible new disinfection by-product--2-chloro-5-oxo-3-hexene diacyl chloride (COHC)--in formation of MX by chlorinating model compounds. *Water Research*. 2002; 36(18):4535-4542.

Hwang,B.F., Magnus,P., and Jaakkola,J.J. Risk of specific birth defects in relation to chlorination and the amount of natural organic matter in the water supply. *American Journal of Epidemiology*. 2002; 156(4):374-382.

Igarashi T, Satoh T, Ono S, Iwashita K, Hosokawa M, Ueno K et al. Effect of steroidal sex hormones on the sex-related differences in the hepatic activities of gamma-glutamyltranspeptidase, glutathione S-transferase and glutathione peroxidase in rats. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1984; 45:225-232.

IARC (International Agency for Research on Cancer) (2002) *Some drinking water disinfectants and contaminants, including arsenic*. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, Vol 84. IARC scientific publications, Lyon.

IARC (International Agency for Research on Cancer) (1999a) Chloroform. In: *Some chemicals that cause tumors of the kidney or urinary bladder in rodents and some other substances*. pp. 131-182. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, Vol 73. IARC scientific publications, Lyon.

IARC (International Agency for Research on Cancer) (1999b) *Some chemicals that cause tumors of the kidney or urinary bladder in rodents and some other substances*. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Vol 73., IARC scientific publications, Lyon.

IARC (International Agency for Research on Cancer) (1999c) *Re-evaluation of some organic chemicals, hydrazine and hydrogen peroxide*. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, Vol 71. IARC scientific publications, Lyon.

IARC (International Agency for Research on Cancer) (1997) *Cancer Incidence in five continents*., IARC, Lyon

IARC (International Agency for Research on Cancer) (1995) *Dry cleaning, some chlorinated solvents and other industrial chemicals*. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans Vol 63. IARC scientific publications, Lyon.

IARC (International Agency for Research on Cancer) (1994) *Occupational Exposures of Hairdressers and Barbers and Personal Use of Hair Colourants; Some Hair Dyes, Cosmetic Colourants, Industrial Dyestuffs and Aromatic Amines*. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Vol 57. IARC scientific publications, Lyon.

IARC (International Agency for Research on Cancer) (1991a) *Chlorinated drinking water; chlorination by products; some other halogenated compounds; cobalt and cobalt compounds*. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Vol 52. IARC scientific publications, Lyon.

IARC (International Agency for Research on Cancer) (1991b) *Coffee, tea mate, methylxanthines and methylglyoxal*. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Vol. 51. IARC scientific publications, Lyon.

IARC (International Agency for Research on Cancer) (1988) *Alcohol drinking*. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Vol 44. IARC scientific publications, Lyon.

IJsselmuide,C.B., Gaydos,C., Feighner,B., Novakoski,W.L., Serwadda,D., Caris,L.H., Vlahov,D., and Comstock,G.W. Cancer of the pancreas and drinking water: a population-based case-control study in Washington County, Maryland. *American Journal of Epidemiology*. 1992; 136(7):836-842.

IPCS (International Programme on chemical safety) (2000) *Disinfectant and disinfectant by-products. Environmental Health Criteria 216.*, United Nations Environment Programme (UNEP); International Labour Organization (ILO); World Health Organization (WHO), Geneva.

Jaakkola,J.J., Magnus,P., Skrondal,A., Hwang,B.F., Becher,G., and Dybing,E. Foetal growth and duration of gestation relative to water chlorination. *Occupational and Environmental Medicine.* 2001; 58(7):437-442.

Jo,W.K., Weisel,C.P., and Lioy,P.J. Chloroform exposure and the health risk associated with multiple uses of chlorinated tap water. *Risk Analysis.* 1990a; 10(4):581-585.

Jo,W.K., Weisel,C.P., and Lioy,P.J. Routes of chloroform exposure and body burden from showering with chlorinated tap water. *Risk Analysis.* 1990b; 10(4):575-580.

Kallen,B.A. and Robert,E. Drinking water chlorination and delivery outcome-a registry-based study in Sweden. *Reproductive Toxicology.* 2000; 14(4):303-309.

Kanitz,S., Franco,Y., Patrone,V., Caltabellotta,M., Raffo,E., Riggi,C., Timitilli,D., and Ravera,G. Association between drinking water disinfection and somatic parameters at birth. *Environ Health Perspect.* 1996; 104(5):516-520.

Kantor,A.F., Hartge,P., Hoover,R.N., and Fraumeni,J.F., Jr. Epidemiological characteristics of squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the bladder. *Cancer Research.* 1988; 48(13):3853-3855.

Kargalioglu,Y., McMillan,B.J., Minear,R.A., and Plewa,M.J. Analysis of the cytotoxicity and mutagenicity of drinking water disinfection by-products in Salmonella typhimurium. *Teratog Carcinog Mutagen.* 2002; 22(2):113-128.

Kiemeney,L.A., Coebergh,J.W., Koper,N.P., van der Heijden,C.A., Pauwels,R.P., Schapers,R.F., and Verbeek,A.L. Bladder cancer incidence and survival in the south-eastern part of The Netherlands, 1975-1989. *European Journal of Cancer.* 1994; 30A(8):1134-1137.

Kim,H., Shim,J., and Lee,S. Formation of disinfection by-products in chlorinated swimming pool water. *Chemosphere.* 2002a; 46(1):123-130.

Kim,B.R., Anderson,J.E., Mueller,S.A., Gaines,W.A., and Kendall,A.M. Literature review--efficacy of various disinfectants against Legionella in water systems. *Water Research.* 2002b; 36(18):4433-4444.

Kim,H., Haltmeier,P., Klotz,J.B., and Weisel,C.P. Evaluation of biomarkers of environmental exposures: urinary haloacetic acids associated with ingestion of chlorinated drinking water. *Environmental Research.* 1999; 80 187-195.

Kimbrough,D.E. and Suffet,I.H. Electrochemical removal of bromide and reduction of THM formation potential in drinking water. *Water Research.* 2002; 36(19):4902-4906.

Kinae,N., Sugiyama,C., Nasuda,M.Y., Goto,K., Tokumoto,K., Furugori,M., and Shimoi,K. Seasonal variation and stability of chlorinated organic mutagens in drinking water. *Water Science and Technology.* 1992; 25(11):333-340.

King, W. D. and Dodds, L. Distribution and correlation among specific disinfection by-products: epidemiologic issues. In: 14th Conference of the International Society for Environmental Epidemiology. International Society for Environmental Epidemiology. 139. 2002. Vancouver.

King,W.D., Dodds,L., and Allen,A.C. Relation between stillbirth and specific chlorination By-products in public water supplies. *Environ Health Perspect.* 2000; 108(9):883-886.

King,W.D. and Marrett,L.D. Case-control study of bladder cancer and chlorination by- products in treated water (Ontario, Canada). *Cancer Causes and Control.* 1996; 7(6):596-604.

Klinefelter,G.R., Strader,L.F., Suarez,J.D., and Roberts,N.L. Bromochloroacetic acid exerts qualitative effects on rat sperm: implications for a novel biomarker. *Toxicological Sciences.* 2002; 68(1):164-173.

- Klinefelter,G.R., Suarez,J.D., Roberts,N.L., and DeAngelo,A.B. Preliminary screening for the potential of drinking water disinfection byproducts to alter male reproduction. *Reproductive Toxicology*. 1995; 9(6):571-578.
- Klotz,J.B. and Pynch,L.A. Neural tube defects and drinking water disinfection by-products . *Epidemiology*. 1999; 10(4):383-390.
- Kogevinas,M. and Trichopoulos,D. (2002) Urinary bladder cancer. In: Adami,H.O., Hunter,D., and Trichopoulos,D. (eds) *Textbook of Cancer Epidemiology*. Oxford University Press, Oxford University Press.
- Kogevinas, M., Kauppinen, T., Boffetta, P., and Saracci, R. Estimation of the burden of occupational cancer in Europe. Final report to the European Commission of a project funded by the programme "Europe Against Cancer". (Contract SOC 96-200742 05F02). 1998. Barcelona, IMIM.
- Koivusalo,M., Hakulinen,T., Vartiainen,T., Pukkala,E., Jaakkola,J.J., and Tuomisto,J. Drinking water mutagenicity and urinary tract cancers: a population-based case-control study in Finland. *American Journal of Epidemiology*. 1998; 148(7):704-712.
- Koivusalo,M., Pukkala,E., Vartiainen,T., Jaakkola,J.J., and Hakulinen,T. Drinking water chlorination and cancer-a historical cohort study in Finland. *Cancer Causes and Control*. 1997; 8(2):192-200.
- Koivusalo,M.T., Jaakkola,J.J., and Vartiainen,T. Drinking water mutagenicity in past exposure assessment of the studies on drinking water and cancer: application and evaluation in Finland. *Environmental Research*. 1994; 64(1):90-101.
- Komulainen,H., Kosma,V.M., Vaittinen,S.L., Vartiainen,T., Kaliste-Korhonen,E., Lotjonen,S., Tuominen,R.K., and Tuomisto,J. Carcinogenicity of the drinking water mutagen 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone in the rat. *Journal of the National Cancer Institute*. 1997; 89(12):848-856.
- Komulainen,H., Vaittinen,S.L., Vartiainen,T., Lotjonen,S., Paronen,P., and Tuomisto,J. Pharmacokinetics in rat of 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone (MX), a drinking water mutagen, after a single dose. *Pharmacology and Toxicology*. 1992; 70(6 Pt 1):424-428.
- Kondo,A. Frequency-volume chart pattern in a healthy female population. *British Journal of Urology*. 1994; 74(2):264-265.
- Kool,J.L., Carpenter,J.C., and Fields,B.S. Effect of monochloramine disinfection of municipal drinking water on risk of nosocomial Legionnaires' disease. *The Lancet*. 1999; 353(9149):272-277.
- Kramer,M.D., Lynch,C.F., Isacson,P., and Hanson,J.W. The association of waterborne chloroform with intrauterine growth retardation. *Epidemiology*. 1992; 3(5):407-413.
- Kronberg,L. and Christman,R.F. Chemistry of mutagenic by-products of water chlorination. *The Science of the Total Environment*. 1989; (81/82):219-230.
- Kukkula,M. and Lofroth,G. Chlorinated drinking water and pancreatic cancer. *European Journal of Public Health*. 1997; 7(3):297-301.
- Kurtio,P., Pukkala,E., Kahelin,H., Auvinen,A., and Pekkanen,J. Arsenic concentrations in well water and risk of bladder and kidney cancer in Finland. *Environ Health Perspect*. 1999; 107(9):705-710.
- Kusakabe,K., Aso,S., Wada,T., Hayashi,J.I., Morooka,S., and Isomura,K. Destruction rate of volatile organochlorine compounds in water by ozonation with ultraviolet radiation. *Water Research*. 1991; 25(10):1199-1203.
- Kuzma,R.J., Kuzma,C.M., and Buncher,C.R. Ohio drinking water source and cancer rates. *American Journal of Public Health*. 1977; 67(8):725-729.
- La Vecchia,C. and Negri,E. Nutrition and bladder cancer. *Cancer Causes and Control*. 1996; 7(1):95-100.

- La Vecchia,C., Negri,E., D'Avanzo,B., Savoldelli,R., and Franceschi,S. Genital and urinary tract diseases and bladder cancer. *Cancer Research*. 1991; 51(2):629-631.
- Lahl,U., Bätjer,K., Düszieln,J.V., Gabel,B., Stachel,B., and Thiemann,W. Distribution and balance of volatile halogenated hydrocarbons in the water and air of covered swimming pools using chlorine for water disinfection. *Water Research*. 1981; 15:803-814.
- Landi,S., Hanley,N.M., Kligerman,A.D., and DeMarini,D.M. Induction of sister chromatid exchanges in human peripheral blood lymphocytes by bromoform: investigation of the role of GSTT1-1 polymorphism. *Mutation Research*. 1999; 429(2):261-267.
- Langvik,V.A., Hormi,O., Tikkanen,L., and Holmbom,B. Formation of the mutagen 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone and related compounds of phenolic compounds. *Chemosphere*. 1991; 22(5-6):547-555.
- Larsson,G. and Victor,A. Micturition patterns in a healthy female population, studied with a frequency/volume chart. *Scandinavian Journal of Urology and Nephrology*. 1988; 11:453-57.
- Lau,J., Ioannidis,J.P., and Schmid,C.H. Summing up evidence: one answer is not always enough. *The Lancet*. 1998; 351(9096):123-127.
- Levesque,B., Ayotte,P., LeBlanc,A., Dewailly,E., Prud'Homme,D., Lavoie,R., Allaire,S., and Levallois,P. Evaluation of dermal and respiratory chloroform exposure in humans. *Environ Health Perspect*. 1994; 102(12):1082-1087.
- Li,X.Z. and Sun,J.M. Further formation of trihalomethanes in drinking water during heating. *International Journal of Environmental Health Research*. 2001; 11(4):343-348.
- Lin,F.L. and Hoang,S.W. Inhalation exposure to THMs from drinking water in south Taiwan. *The Science of the Total Environment*. 2000; 246(1):41-49.
- Linder,R.E., Klinefelter,G.R., Strader,L.F., Suarez,J.D., and Roberts,N.L. Spermatotoxicity of dichloroacetic acid. *Reproductive Toxicology*. 1997; 11(5):681-688.
- Lynch,C.F., Woolson,R.F., O'Gorman,T., and Cantor,K.P. Chlorinated drinking water and bladder cancer: effect of misclassification on risk estimates. *Archives of Environmental Health*. 1989; 44(4):252-259.
- Magnus,P., Jaakkola,J.J., Skrondal,A., Alexander,J., Becher,G., Krogh,T., and Dybing,E. Water chlorination and birth defects. *Epidemiology*. 1999; 10(5):513-517.
- Malaveille,C., Vineis,P., Esteve,J., Ohshima,H., Brun,G., Hautefeuille,A., Gallet,P., Ronco,G., Terracini,B., and Bartsch,H. Levels of mutagens in the urine of smokers of black and blond tobacco correlate with their risk of bladder cancer. *Carcinogenesis*. 1989; 10(3):577-586.
- Mannetje,A., Kogevinas,M., Chang-Claude,J., Cordier,S., Gonzalez,C.A., Hours,M., Jockel,K.H., Bolm-Audorff,U., Lyngge,E., Porru,S., Donato,F., Ranft,U., Serra,C., Tzonou,A., Vineis,P., Wahrendorf,J., and Boffetta,P. Occupation and bladder cancer in European women. *Cancer Causes and Control*. 1999a; 10(3):209-217.
- Mannetje,A., Kogevinas,M., Chang-Claude,J., Cordier,S., Gonzalez,C.A., Hours,M., Jockel,K.H., Bolm-Audorff,U., Lyngge,E., Porru,S., Donato,F., Ranft,U., Serra,C., Tzonou,A., Vineis,P., Wahrendorf,J., and Boffetta,P. Smoking as a confounder in case-control studies of occupational bladder cancer in women. *American Journal of Industrial Medicine*. 1999b; 36(1):75-82.
- Marcus,P.M., Savitz,D.A., Millikan,R.C., and Morgenstern,H. Female breast cancer and trihalomethane levels in drinking water in North Carolina. *Epidemiology*. 1998; 9(2):156-160.
- Marienfild,C.J., Collins,M., Wright,H., Reddy,R., Shoop,G., and Rust,P. Cancer mortality and the method of chlorination of public drinking water: St. Louis City and St. Louis County, Missouri. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*. 1986; 7(1-2):141-157.

- Marín,R. and Rodríguez,J.M. Potabilización de aguas con permanganato potásico . *Ingeniería Química*. 1996; June75-82.
- Marrett, L. D. and King, W. Great lakes basin cancer risk assessment: a case-control study of cancers of the bladder, colon, and rectum. 1995. Ottawa, Canada: Bureau of chronic disease epidemiology, Health Canada.
- McCredie,M., Macfarlane,G.J., Stewart,J., and Coates,M. Second primary cancers following cancers of the kidney and prostate in New South Wales (Australia), 1972-91. *Cancer Causes and Control*. 1996; 7(3):337-344.
- McDorman,K.S., Chandra,S., Hooth,M.J., Hester,S.D., Schoonhoven,R., and Wolf,D.C. Induction of transitional cell hyperplasia in the urinary bladder and aberrant crypt foci in the colon of rats treated with individual and a mixture of drinking water disinfection by-products. *Toxicol Pathol*. 2003; 31(2):235-242.
- McGeehin,M.A., Reif,J.S., Becher,J.C., and Mangione,E.J. Case-control study of bladder cancer and water disinfection methods in Colorado. *American Journal of Epidemiology*. 1993; 138(7):492-501.
- Meibohm B, Beierle I, Derendorf H. How important are gender differences in pharmacokinetics? *Clin Pharmacokinet* 2002; 41:329-342.
- Meier,J.R., Monarca,S., Patterson,K.S., Villarini,M., Daniel,F.B., Moretti,M., and Pasquini,R. Urine mutagenicity and biochemical effects of the drinking water mutagen, 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2[5H]-furanone (MX), following repeated oral administration to mice and rats. *Toxicology*. 1996; 110(1-3):59-70.
- Michaud,D.S., Spiegelman,D., Clinton,S.K., Rimm,E.B., Curhan,G.C., Willett,W.C., and Giovannucci,E.L. Fluid intake and the risk of bladder cancer in men. *The New England Journal of Medicine*. 1999a; 340(18):1390-1397.
- Michaud,D.S., Spiegelman,D., Clinton,S.K., Rimm,E.B., Willett,W.C., and Giovannucci,E.L. Fruit and vegetable intake and incidence of bladder cancer in a male prospective cohort. *Journal of the National Cancer Institute*. 1999b; 91(7):605-613.
- Mills,C.J., Bull,R.J., Cantor,K.P., Reif,J., Hrudey,S.E., and Huston,P. Workshop report. Health risks of drinking water chlorination by-products: report of an expert working group. *Chronic Diseases in Canada*. 1998; 19(3):91-102.
- Mink,F.L., Brown,T.J., and Rickabaugh,J. Absorption, distribution, and excretion of 14C-trihalomethanes in mice and rats. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 1986; 37(5):752-758.
- Mommsen,S., Aagaard,J., and Sell,A. Presenting symptoms, treatment delay and survival in bladder cancer. *Scandinavian Journal of Urology and Nephrology*. 1983; 17(2):163-167.
- Morales,K.H., Ryan,L., Kuo,T.L., Wu,M.M., and Chen,C.J. Risk of internal cancers from arsenic in drinking water. *Environ Health Perspect*. 2000; 108(7):655-661.
- Moreno,V., Gonzalez,J., Soler,M., Bosch,F., Kogevinas,M., and Borrás,J. Cancer incidence estimation in Spain: period 1993-1996. *Gac.Sanit*. 2001; 15(5):380-388.
- Mungan,N.A., Kiemeny,L.A., van Dijck,J.A., van der Poel,H.G., and Witjes,J.A. Gender differences in stage distribution of bladder cancer. *Urology*. 2000; 55(3):368-371.
- Nakamura,T., Kawasaki,N., Araki,M., Yoshimura,K., and Tanada,S. Trihalomethane removal by activated carbon fiber. *Journal of environmental science and health.Part A, Toxic/hazardous substances & environmental engineering*. 2001; 36(7):1303-1310.
- Nieuwenhuijsen,M.J., Northstone,K. , and Golding,J. Swimming and birth weight. *Epidemiology*. 2002; 13(6):725-728.

- Nieuwenhuijsen,M.J., Toledano,M.B. , Eaton,N., Fawell,J., and Elliott,P. Chlorination disinfection byproducts in water and their association with adverse reproductive outcomes: a review. *Occupational and Environmental Medicine*. 2000; 57(2):73-85.
- Nissinen,T.K., Miettinen,I.T., Martikainen,P.J., and Vartiainen,T. Disinfection by-products in Finnish drinking waters. *Chemosphere*. 2002; 48(1):9-20.
- Page,T., Harris,R.H., and Epstein,S.S. Drinking water and cancer mortality in Louisiana. *Science*. 1976; 193(4247):55-57.
- Palacios,M., Pampillón,J.F., and Rodríguez,M.E. Organohalogenated compounds levels in chlorinated drinking waters and current compliance with quality standards throughout the european union. *Water Research*. 2000; 34(3):1002-1016.
- Pan,J., Hong,J.Y., and Yang,C.S. Post-transcriptional regulation of mouse renal cytochrome P450 2E1 by testosterone. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1992; 299(1):110-115.
- Pellizzari,E.D., Wallace,L.A., and Gordon,S.M. Elimination kinetics of volatile organics in humans using breath measurements. *Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology*. 1992; 2(3):341-355.
- Piper,J.M., Tonascia,J., and Matanoski,G.M. Heavy phenacetin use and bladder cancer in women aged 20 to 49 years. *The New England Journal of Medicine*. 1985; 313(5):292-295.
- Plewa,M.J., Kargalioglu,Y., Vanker,D., Minear,R.A., and Wagner,E.D. Development of quantitative comparative cytotoxicity and genotoxicity assays for environmental hazardous chemicals. *Water Science and Technology*. 2000; 42(7-8):109-116.
- Potts,J. Factors associated with respiratory problems in swimmers. *Sports Med*. 1996; 21(4):256-261.
- Pourmoghaddas,H. and Stevens,A.A. Relationship between trihalomethanes and haloacetic acids with total organic halogen during chlorination. *Water Research*. 1995; 29(9):2059-2062.
- Pourmoghaddas,H., Stevens,A.A., Kinman,R.N., Dressman,R.C., Moore,L.A., and Ireland,J.C. Effect of bromide ion on formation of HAAs during chlorination. *Journal of the American Water Works Association*. 1993; 85(1):82-87.
- Premazzi,G., Cardoso,C., Conio,O., Palumbo,F., Ziglio,G., Borgioli,A., Griffini,O., and Meucci,L. (1997) *Exposure of the european population to trihalomethanes (THMs) in drinking water*, European Commission, Luxemburg.
- Raucy,J.L., Kraner,J.C., and Lasker,J.M. Bioactivation of halogenated hydrocarbons by cytochrome P4502E1. *Crit Rev Toxicol*. 1993; 23(1):1-20.
- Richardson,S.D. The role of GC-mS and LC-MS in the discovery of drinking water disinfection by-products. *Journal of Environmental Monitoring*. 2002; 4(1):1-9.
- Richardson,S.D., Simmons,J.E., and Rice,G. Disinfection byproducts: the next generation. *Environmental Science and Technology*. 2002; 36(9):198A-205A.
- Romero,J., Ventura,F., Caixac,J., Rivera,J., and Guerrero,R. Identification and quantification of the mutagenic compound 3-chloro-4-(dichloromethyl)-2(5H)-furanone (MX) in chlorine-treated water. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 1997; (59):715-722.
- Rook,J.J. Formation of haloforms during chlorination of natural waters. *Water Treat Exam*. 1974; 23(2):234-243.
- Ruiz Cerda,J.L., Gil,A., and et al Evolución temporal (1960-1990) de la mortalidad y la razón de masculinidad en España del cáncer vesical. *Actas Urológicas Españolas*. 2002; 19(3):196-202.
- Sala,M., Cordier,S., Chang-Claude,J., Donato,F., Escolar-Pujolar,A., Fernandez,F., Gonzalez,C.A., Greiser,E., Jockel,K.H., Lynge,E., Mannetje,A., Pohlabein,H., Porru,S., Serra,C., Tzonou,A., Vineis,P.,

- Wahrendorf,J., Boffetta,P., and Kogevinas,M. Coffee consumption and bladder cancer in nonsmokers: a pooled analysis of case-control studies in European countries. *Cancer Causes and Control*. 2000; 11(10):925-931.
- Savitz,D.A., Andrews,K.W., and Pastore,L.M. Drinking water and pregnancy outcome in central North Carolina: source, amount, and trihalomethane levels. *Environ Health Perspect*. 1995; 103(6):592-596.
- Schoenig,G.P., Goldenthal,E.I., Geil,R.G., Frith,C.H., Richter,W.R., and Carlborg,F.W. Evaluation of the dose response and in utero exposure to saccharin in the rat. *Food and chemical toxicology*. 1985; 23(4-5):475-490.
- Schottenfeld,D. and Fraumeni,J. (1996) *Cancer epidemiology and prevention*., Oxford University Press, New York.
- Sharp,S. sbe23: Meta-analysis regression. *Stata Technical Bulletin*. 1998; 4216-22.
- Sharp,S. and Sterne,J. sbe16: Meta-analysis. *Stata Technical Bulletin*. 1997; 389-14.
- Shaw,G.M., Ranatunga,D., Quach,T., Neri,E., Correa,A., and Neutra,R.R. Trihalomethane exposures from municipal water supplies and selected congenital malformations. *Epidemiology*. 2003; 14(2):191-199.
- Shin,D., Chung,Y., Choi,Y., Kim,J., Park,Y., and Kum,H. Assessment of disinfection by-products in drinking water in Korea. *Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology*. 1999; 9(3):192-199.
- Sketchell,J., Peterson,H.G., and Christofi,N. Disinfection by-product formation after biologically assisted GAC treatment of water supplies with different bromide and DOC content. *Water Research*. 1995; 29(12):2635-2642.
- Slattery,M.L., West,D.W., and Robison,L.M. Fluid intake and bladder cancer in Utah. *International Journal of Cancer*. 1988; 42(1):17-22.
- Smeds,A., Vatiainen,T., Mäki-Paakkanen,J., and Kronberg,L. Concentrations of ames mutagenic chlorohydroxyfuranones and related compounds in drinking water. *Environmental Science and Technology*. 1997; 31(4):1033-1039.
- Smith,A.H., Arroyo,A.P., Mazumder,D.N., Kosnett,M.J., Hernandez,A.L., Beeris,M., Smith,M.M., and Moore,L.E. Arsenic-induced skin lesions among Atacameño people in northern Chile despite good nutrition and centuries of exposure. *Environ Health Perspect*. 2000; 108(7):617-620.
- Smith,A.H., Hopenhayn-Rich,C., Bates,M.N., Goeden,H.M., Hertz-Picciotto,I., Duggan,H.M., Wood,R., Kosnett,M.J., and Smith,M.T. Cancer risks from arsenic in drinking water. *Environ Health Perspect*. 1992; 97:259-267.
- Smith,V.L., Cech,I., Brown,J.H., and Bodgan,G.F. Temporal variations in trihalomethane content of drinking water. *Environmental Science and Technology*. 1980; 14(2):190-196.
- Steffensen,I.L., Paulsen,J.E., Engeset,D., Kronberg,L., and Alexander,J. The drinking water chlorination by-products 3,4-dichloro-5-hydroxy-2[5H]-furanone(mucochloric acid) and 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2[5H]-furanone do not induce preneoplastic or neoplastic intestinal lesions in F344 rats, balb/ca mice or C57bl/6J-min mice. *Pharmacology and Toxicology*. 1999; 85(2):56-64.
- Sterne,J. sbe22: Cumulative meta-analysis. *Stata Technical Bulletin*. 1998; 4213-16.
- Stocker,K.J., Statham,J., Howard,W.R., and Proudlock,R.J. Assessment of the potential in vivo genotoxicity of three trihalomethanes: chlorodibromomethane, bromodichloromethane and bromoform. *Mutagenesis*. 1997; 12(3):169-173.
- Swan,S.H., Waller,K., Hopkins,B., Windham,G., Fenster,L., Schaefer,C., and Neutra,R.R. A prospective study of spontaneous abortion: relation to amount and source of drinking water consumed in early pregnancy. *Epidemiology*. 1998; 9(2):126-133.

- Tanaka,E. Gender-related differences in pharmacokinetics and their clinical significance. *Journal of clinical pharmacy and therapeutics*. 1999; 24(5):339-346.
- Tao,X., Zhu,H., and Matanoski,G.M. Mutagenic drinking water and risk of male esophageal cancer: a population-based case-control study. *American Journal of Epidemiology*. 1999; 150(5):443-452.
- Teramoto,S., Takahashi,K., Kikuta,M., and Kobayashi,H. Potential teratogenicity of 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone (MX) in micromass in vitro test. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. 1998; 53(8):607-614.
- Thickett,K.M., McCoach,J.S., Gerber,J.M., Sadhra,S., and Burge,P.S. Occupational asthma caused by chloramines in indoor swimming-pool air. *European Respiratory Journal*. 2002; 19(5):827-832.
- Tondel,M., Rahman,M., Magnuson,A., Chowdhury,I.A., Faruquee,M.H., and Ahmad,S.A. The relationship of arsenic levels in drinking water and the prevalence rate of skin lesions in Bangladesh. *Environ Health Perspect*. 1999; 107(9):727-729.
- Torti,V.R., Cobb,A.J., Wong,V.A., and Butterworth,B.E. Induction of micronuclei in wild-type and p53(+/-) transgenic mice by inhaled bromodichloromethane. *Mutation Research*. 2002; 520(1-2):171-178.
- Travis,L.B., Curtis,R.E., Glimelius,B., Holowaty,E.J., Van Leeuwen,F.E., Lynch,C.F., Hagenbeek,A., Stovall,M., Banks,P.M., Adami,J., and . Bladder and kidney cancer following cyclophosphamide therapy for non- Hodgkin's lymphoma. *Journal of the National Cancer Institute*. 1995; 87(7):524-530.
- Tumasonis,C.F., McMartin,D.N., and Bush,B. Toxicity of chloroform and bromodichloromethane when administered over a lifetime in rats. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology* . 1987; 7(4):55-63.
- Urrútia,G., Serra,C., Bonfill,X., and Bastús,M.D. Incidence of bladder cancer in an industrialized area of catalonia (Spain) compared to several spanish and european areas. *Enviat per publicació*. 2000.
- Vena,J.E., Graham,S., Freudenheim,J., Marshall,J., Zielezny,M., Swanson,M., and Sufrin,G. Drinking water, fluid intake, and bladder cancer in western New York. *Archives of Environmental Health*. 1993; 48(3):191-198.
- Villanueva,C.M., Kogevinas,M., and Grimalt,J.O. Cloración del agua potable y efectos sobre la salud: revisión de estudios epidemiológicos. *Medicina Clínica*. 2001a; 117(1):27-35.
- Villanueva,C.M., Kogevinas,M., and Grimalt,J.O. Cloración del agua potable en España y cáncer de vejiga. *Gaceta Sanitaria*. 2001b; 13(1):48-53.
- Vineis,P., Esteve,J., Hartge,P., Hoover,R., Silverman,D.T., and Terracini,B. Effects of timing and type of tobacco in cigarette-induced bladder cancer. *Cancer Research*. 1988; 48(13):3849-3852.
- Vineis,P., Esteve,J., and Terracini,B. Bladder cancer and smoking in males: types of cigarettes, age at start, effect of stopping and interaction with occupation. *International Journal of Cancer*. 1984; 34(2):165-170.
- Volkel,W., Friedewald,M., Lederer,E., Pahler,A., Parker,J., and Dekant,W. Biotransformation of perchloroethene: dose-dependent excretion of trichloroacetic acid, dichloroacetic acid, and N-acetyl-S-(trichlorovinyl)-L-cysteine in rats and humans after inhalation. *Toxicology and applied pharmacology*. 1998; 153(1):20-27.
- Waller,K., Swan,S.H., DeLorenze,G., and Hopkins,B. Trihalomethanes in drinking water and spontaneous abortion. *Epidemiology*. 1998; 9(2):134-140.
- Weisel,C.P., Kim,H., Haltmeier,P., and Klotz,J.B. Exposure estimates to disinfection by-products of chlorinated drinking water. *Environ Health Perspect*. 1999; 107(2):103-110.
- Weisel,C.P. and Jo,W.K. Ingestion, inhalation, and dermal exposures to chloroform and trichloroethene from tap water. *Environ Health Perspect*. 1996; 104(1):48-51.

- Whitaker,H., Nieuwenhuijsen M.J., and Best,N. The relationship between water concentrations and individual uptake of chloroform: a simulation study. *Environ Health Perspect.* 2003; 111(5):688-694.
- WHO (World Health Organisation) (1996a) *Guidelines for drinking-water quality. Health criteria and other supporting information.*, World Health Organisation, Geneva.
- WHO (World Health Organisation) (1996b) *Guidelines for drinking-water quality. Recommendations.*, World Health Organisation, Geneva.
- Wilkins,J.R. and Comstock,G.W. Source of drinking water at home and site-specific cancer incidence in Washington County, Maryland. *American Journal of Epidemiology.* 1981; 114(2):178-190.
- Wongergem,E. and Dijk-Looijaard,A.M. Chlorine dioxide as a post-disinfectant for Dutch drinking water. *The Science of the Total Environment.* 1991.
- Xu,X. and Weisel,C.P. Inhalation exposure to haloacetic acids and haloketones during showering. *Environmental Science and Technology.* 2003; 37(3):569-576.
- Xu,X., Mariano,T.M., Laskin,J.D., and Weisel,C.P. Percutaneous absorption of trihalomethanes, haloacetic acids, and haloketones. *Toxicology and applied pharmacology.* 2002; 184(1):19-26.
- Yang,C.Y., Cheng,B.H., Tsai,S.S., Wu,T.N., Lin,M.C., and Lin,K.C. Association between Chlorination of Drinking Water and Adverse Pregnancy Outcome in Taiwan. *Environ Health Perspect.* 2000; 108(8):765-768.
- Young,T.B., Wolf,D.A., and Kanarek,M.S. Case-control study of colon cancer and drinking water trihalomethanes in Wisconsin. *International Journal of Epidemiology.* 1987; 16(2):190-197.
- Young T.B., Kanarek,M.S., and Tsiatis,A.A. Epidemiologic study of drinking water chlorination and Wisconsin female cancer mortality. *Journal of the National Cancer Institute.* 1981; 67(6):1191-1198.
- Zhao,G. and Allis,J.W. Kinetics of bromodichloromethane metabolism by cytochrome P450 isoenzymes in human liver microsomes. *Chemico-Biological Interactions.* 2002; 140(2):155-168.
- Zierler,S., Feingold,L., Danley,R.A., and Craun,G. Bladder cancer in Massachusetts related to chlorinated and chloraminated drinking water: a case-control study. *Archives of Environmental Health.* 1988; 43(2):195-200.
- Zierler,S., Danley,R.A., and Feingold,L. Type of disinfectant in drinking water and patterns of mortality in Massachusetts. *Environ Health Perspect.* 1986; 69:275-279.

