

# CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LAS AGUAS DE BAÑO DEL EMBALSE CONDE DEL GUADALHORCE, DE MÁLAGA (ESPAÑA), 2000-2005

## *MICROBIOLOGICAL QUALITY FOR BATHING WATER IN THE "CONDE DEL GUADALHORCE" RESERVOIR OF MÁLAGA CITY, SPAIN, 2000-2005*

Joaquín Jesús Gámez de la Hoz<sup>a</sup> y Ana Padilla Fortes<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Servicio de Salud Pública. Distrito Sanitario Costa del Sol. Servicio Andaluz de Salud. <sup>b</sup>Unidad de Prevención. Distrito Sanitario Málaga. Servicio Andaluz de Salud

### RESUMEN

**Introducción.** Determinar la presencia y evolución de microorganismos indicadores de contaminación en las aguas del embalse Conde del Guadalhorce, Málaga (España). Un segundo objetivo fue analizar el grado de contaminación y evaluar la calidad sanitaria del agua de baño según la Directiva 76/160/CE.

**Método.** Se tomaron 120 muestras de aguas en 2 lugares de baño durante la temporada de mayo a septiembre en el período 2000 a 2005, y se enumeraron las bacterias coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF) y estreptococos fecales (EF) por el método de filtración de membrana. Se utilizó el método estadístico de distribución log-normal y se calcularon medias logarítmicas, puntos percentiles, ratios CF:EF, Anova y coeficientes de correlación de Pearson.

**Resultados.** Sólo dos muestras superaron los valores límites de CF en la estación del camping. Las ratios CF:EF fueron superiores ( $> 4$ ) durante 2000-2002, e inferiores ( $< 0,7$ ) durante 2003-2005. Sólo se observaron diferencias significativas ( $F = 3,41$ ,  $\alpha < 0,01$ ) para EF en el período 2000-2005. No se encontraron diferencias significativas ( $F = 3,395$ ,  $\alpha < 0,01$ ) en las concentraciones medias de los indicadores en ambos lugares de baño. Los recuentos CT y CF presentaron correlación significativa en El Kiosko, mientras que sólo se observó correlación significativa ( $t = 0,632$ ,  $p < 0,05$ ) para EF durante los años 2000, 2003 y 2005 en el camping.

**Conclusiones.** El embalse Conde del Guadalhorce presenta condiciones higiénicas seguras para el baño. Globalmente, la calidad sanitaria del agua de baño es buena. Los indicadores CT, CF y EF cumplieron con la directiva durante 2000-2005, salvo CF en la estación del camping el año 2000. Las concentraciones CT y CF fueron frecuentemente mayores en el camping que en El Kiosko, lo que puede ser debido a la mayor influencia de bañistas y actividades recreativas. Hay una tendencia en el aumento de los niveles de EF, lo que apunta a una fuente de contaminación fecal de origen animal que requiere ser investigada.

### ABSTRACT

**Background.** Determine the presence and evolution of indicators microorganisms of water pollution in "Conde del Guadalhorce" reservoir, Málaga city, Spain. A second objective was to analyze pollution degree and evaluate the sanitary quality of bathing water and compliance with European Directive 76/160/CE.

**Method.** A total of 120 water samples were collected in two bathing freshwater sites during May to September sampling period between 2000 to 2005, and the numbers of total coliforms (CT), faecal coliforms (CF) and faecal streptococci (EF) were enumerated using the membrane filtration method. We used the log-normal distribution method and calculate the logarithmic means, percentile points, ratios CF:EF, ANOVA and Pearson correlations.

**Results.** Only two samples overcome CF limit values at Camping sampling station during 2000 year. Ratios CF:EF values were higher ( $> 4$ ) during 2000 to 2002, and lower ( $< 0,7$ ) during 2003 to 2005. Significant differences (ANOVA  $F = 3,41$ ,  $\alpha < 0,01$ ) was only observed with EF during evaluated period. There was no significant difference between concentration means at bathing water sites (ANOVA,  $F = 3,395$ ,  $\alpha < 0,01$ ). The counts of CT and CF were significantly correlated in Kiosko water samples, while in Camping water, significant correlation ( $t = 0,632$ ,  $p < 0,05$ ) was only observed with EF at the Camping station during 2000, 2003 and 2005 years.

**Conclusions.** "Conde del Guadalhorce" reservoir showed hygienic conditions for safety bathing. Globally, water bathing quality is good. CT, CF y EF indicators were agreed with UE Directive during 2000-2005, with exception CF at Camping station in 2000 year. CT y CF concentrations at Camping were frequently higher than Kiosko, it could be caused to swimmers abundance and recreational activities. There was a trend towards rising EF, it could be caused to faecal pollution source of animal origin, needed to research it.

**PALABRAS CLAVE:** agua de baño; calidad del agua; contaminación del agua; microbiología de agua dulce; organismos indicadores; natación; salud ambiental.

**KEY WORDS:** bathing water; water quality; water pollution; fresh water microbiology; indicator organisms; swimming; environmental health.

## INTRODUCCIÓN

El mantenimiento de la calidad microbiológica del agua de baño ha sido utilizado ampliamente como una medida razonable de prevención de enfermedades transmitidas por el agua. De hecho, la contaminación microbiológica es, en la mayoría de los casos, el factor que limita la consecución de una buena calidad de las aguas de baño.

Las aguas superficiales son utilizadas para una gran variedad de actividades recreativas (natación, pesca, vela, piragüismo, etc.) y el comportamiento de los bañistas (inmersión de cabeza, ingestión accidental o tiempo de permanencia, entre otras variables) en aguas contaminadas microbiológicamente puede presentar un riesgo potencial para la salud<sup>23</sup> de naturaleza y origen diverso.

Los aspectos legales del riesgo sanitario asociado al baño se basan en la calidad del agua de baño fijada en la Directiva 76/160/CE<sup>5</sup> y el Real Decreto 734/1988<sup>13</sup>, resultado de su transposición a la legislación española. Dichas regulaciones establecen la autorización para el baño de determinados tipos de aguas y definen los límites de contaminación microbiana permitidos. En Andalucía, la responsabilidad para asegurar el cumplimiento de esta directiva es la Dirección General de

Salud Pública y Participación, de la Consejería de Salud, de la Junta de Andalucía.

El embalse Conde del Guadalhorce (1921) se localiza en el término municipal de Ardales, de 2.556 habitantes (Instituto Nacional de Estadística, 2006), situado a 52 Km al noroeste de la ciudad de Málaga (España), tiene dos zonas autorizadas para el baño por la Comisión Europea<sup>8</sup>. La superficie regular de su lámina de agua es de 546 ha y tiene una capacidad máxima de 84 hm<sup>3</sup>. El embalse fue concebido para la regulación de las aguas de la cuenca alta del río Guadalhorce, con la finalidad de mejorar los regadíos de la comarca, el aprovechamiento hidroeléctrico y el abastecimiento al municipio de Málaga de 560.631 habitantes (INE, 2006) de aguas de consumo humano (1,5 m<sup>3</sup>/s). La presa del embalse regula las aguas del río Turón, afluente del río Guadalhorce por su margen derecha (figura 1). El área de ubicación de la presa se caracteriza por cultivos agrícolas (cítricos, olivar) y por la presencia de repoblaciones de coníferas en la zona de riberas.

El uso recreativo de las aguas del embalse Conde del Guadalhorce para el baño, actividades deportivas (pesca, vela, piragüismo) y turísticas (hotel, camping, acampadas, restaurantes), principalmente, tiene lugar durante los fines de semana del período estival. En

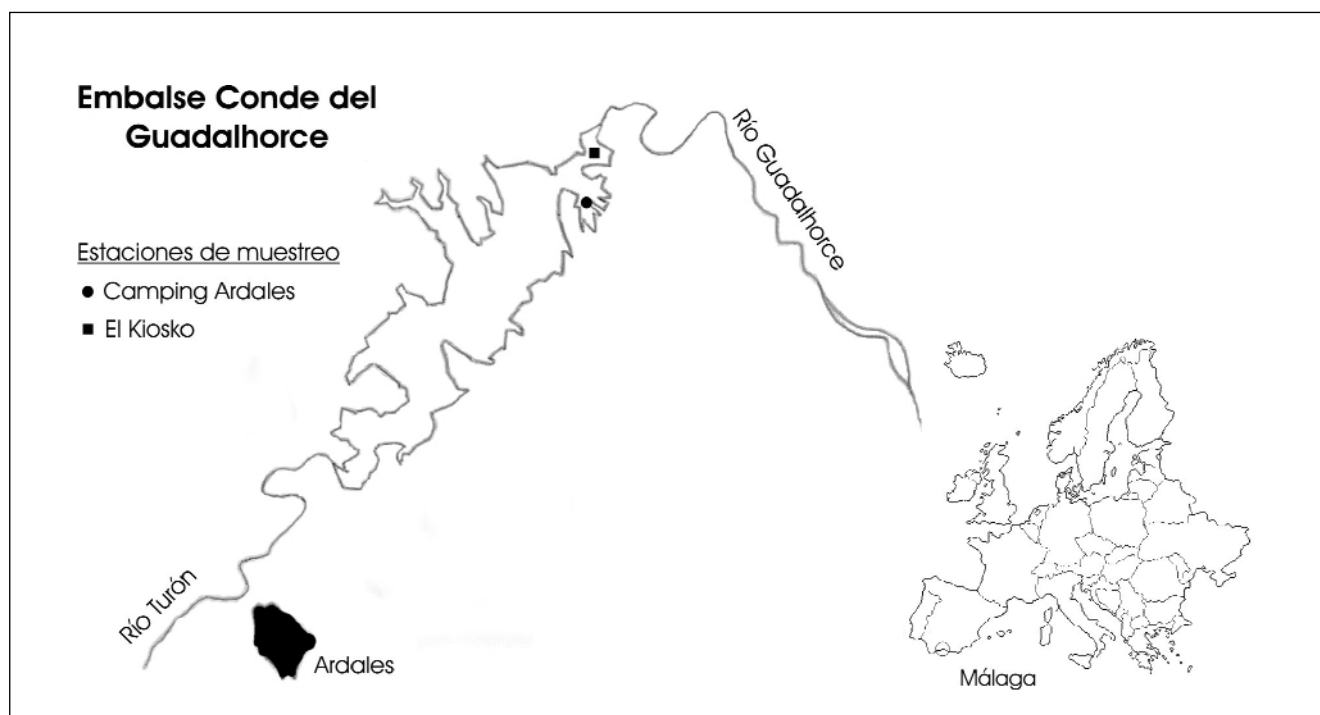


FIGURA 1. Mapa del embalse Conde del Guadalhorce y estaciones de muestreo.

este sentido, los problemas de contaminación de las aguas se consideran de un interés fundamental debido a su impacto, no sólo en la salud pública, sino también en las condiciones medioambientales y socioeconómicas locales, motivado por el deterioro de los recursos naturales y por su influencia en los ingresos procedentes del turismo.

Los estudios epidemiológicos que han intentado correlacionar la calidad microbiológica del agua con los efectos en la salud pública han producido diferentes resultados, conduciendo a una amplia variación en los criterios de calidad del agua recreativa y estándares aplicados, y a una considerable controversia en cuanto a su puesta en práctica.

Los microorganismos indicadores de la calidad bacteriológica del agua de baño elegidos en este estudio fueron el grupo de bacterias: coliformes totales, coliformes fecales y estreptococos fecales (en adelante CT, CF y EF, respectivamente) coincidentes con los utilizados por la directiva para evaluar el cumplimiento de la calidad microbiológica del agua para el baño. En la tabla 1 se muestran los valores guía y límites máximos admisibles en la normativa española relativa a dichos indicadores. Estos grupos de indicadores no son los agentes que ocasionan las enfermedades en los bañistas, sino que la presencia de microorganismos patógenos, entre otros agentes contaminantes, son los responsables de la transmisión de enfermedades y de atribuir mayor riesgo de infección a la población más vulnerable (niños, ancianos y personas inmunocomprometidas). Ahora bien, el comportamiento similar entre los microorganismos indicadores seleccionados y patógenos de origen fecal ha conducido a que algunos autores<sup>19</sup> mantengan que los grupos de bacterias CF y EF deberían ser usados como criterio para la gestión del riesgo de infección asociado con aguas continentales recreativas, como resultado de la definición de un modelo de regresión lineal múltiple basado en un metanálisis tipo II de 18 estudios epidemiológicos<sup>25</sup>.

El grupo CT funciona como un dispositivo que alerta de que ocurrió un episodio de contaminación, sin identificar el origen de la misma. A pesar de sus limitaciones, la gran mayoría de los criterios de calidad del agua de baño utilizan el grupo de microorganismos CF para evaluar la calidad microbiológica del agua<sup>4</sup>. En cuanto al parámetro EF, aunque no hay definido nivel imperativo, su presencia se ha relacionado con el grado de calidad del agua. Los EF proporcionan una indicación del

origen y localización de fuentes de contaminación fecal, lo que aporta una valiosa información para las autoridades sanitarias en la gestión de la salud ambiental. En este sentido, la utilización de la ratio CF:EF indica el probable origen fecal humano o animal (> 4 en las heces humanas, < 0,7 en las heces animales) de la contaminación microbiológica en muestras que proceden de vertidos.

A pesar de que no tienen una base epidemiológica clara que los relacione con los efectos sanitarios entre la población expuesta, los microorganismos indicadores CT, CF y EF son una herramienta útil con base científica para la gestión del riesgo en salud pública<sup>16</sup> y su utilización en el marco de la Directiva 76/160/CE ha protegido de manera aceptable la salud pública; y ha supuesto una importante contribución a la mejora de la calidad de las aguas en Europa .

La correlación entre las condiciones de uso de los microorganismos indicadores y la presencia de patógenos en el agua ha sido ampliamente discutida<sup>12,21</sup>, ya que si se atiende a las características de supervivencia ambiental de las bacterias, ningún grupo de indicadores puede predecir la presencia de todos los patógenos<sup>9</sup>. Nuevas enfermedades tales como la criptosporidiosis o giardiasis han sido señaladas como las causantes de brotes epidémicos asociadas al agua cuando los niveles de los parámetros microbiológicos convencionales son satisfactorios<sup>2,20</sup>.

Asimismo, estudios epidemiológicos recientes<sup>3</sup> han demostrado que elevadas densidades del grupo de microorganismos enterococos y la bacteria *Escherichia coli*, presentes en aguas recreativas, tienen más fuerte correlación con las enfermedades gastrointestinales asociadas a nadadores que las producidas por las densidades de bacterias CF.

En este contexto, y transcurridos 30 años desde la publicación de la Directiva 76/160/CE sobre calidad de las aguas de baño, las nuevas demandas sociales, la evolución en las condiciones de vida y el estado actual del conocimiento científico han propiciado la creación de la nueva Directiva 2006/7/CE<sup>15</sup> que deroga a la anterior, introduciendo innovaciones positivas que mejoran la protección de la salud pública y el medio ambiente: (1) nuevos parámetros microbiológicos; (2) estándares más estrictos; (3) métodos de detección normalizados; (4) gestión integrada de las aguas de baño, y (5) participación e información pública.

**TABLA 1. Requisitos de la calidad del agua de baño. Microorganismos indicadores**

Parámetro (ufc/100 ml)	Valor límite	Valor guía
Coliformes totales	10.000	500
Coliformes fecales	2.000	100
Estreptococos fecales	—	100

Uno de los objetivos fue investigar la presencia y evolución de diferentes microorganismos indicadores de contaminación en las aguas del embalse Conde del Guadalhorce utilizadas para actividades recreativas en la temporada de baño (mayo a septiembre) del período 2000-2005. Nuestro segundo objetivo fue analizar el grado de contaminación y evaluar la calidad sanitaria del agua para el baño de acuerdo a los estándares fijados por la Directiva 76/160/CE, traspuesta al ordenamiento jurídico español mediante el Real Decreto 734/1988, de 1 de julio, sobre normas de calidad para las aguas de baño. Además se analiza la correlación entre los diferentes grupos de bacterias indicadoras y se discuten aspectos microbiológicos de la salud relacionados con la gestión de las aguas de baño en el ámbito de la información científica disponible procedente de estudios epidemiológicos y microbiológicos.

## MATERIAL Y MÉTODOS

**Estaciones de muestreo.** Para la recolección de muestras se seleccionaron dos lugares del embalse Conde del Guadalhorce representativos por su afluencia humana para el uso como actividades recreativas, principalmente durante los meses de verano, así como por su importancia en la economía local. Tales lugares están libres de vertidos de aguas residuales urbanas y comprenden una zona de camping dotado con equipamientos sanitarios; y otra zona de menor concurrencia humana y actividad recreativa dispersa. La primera estación de muestreo se localiza en la ribera del camping Ardales, siendo utilizado ampliamente para el baño y otras actividades recreativas (pesca, piragüismo, hidropedal, vela); la segunda está situada frente al restaurante denominado El Kiosko, donde la afluencia de bañistas y actividad recreativa es escasa.

**Protocolo de muestreo.** Consistió en la recolección con frecuencia quincenal desde mayo a septiembre, durante el período del año 2000 a 2005, de dos litros de agua utilizando envases estériles de polietileno. Se tomaron 10 muestras de aguas continentales por cada estación de muestreo, resultando un total de 120 muestras (durante el año 2003, 2 muestras en cada estación se perdieron accidentalmente, por lo que el total de muestras procesadas ascendió a 116). Las muestras se tomaron por la mañana, a 20-30 cm por debajo de la superficie del agua, se almacenaron en frío-oscuridad y fueron transportadas al laboratorio de salud pública (acreditado por ENAC, AC.355/II) de la Consejería de Salud, en la provincia de Málaga. Las muestras fueron procesadas dentro del período entre una a cuatro horas desde su toma.

Durante los muestreos de las aguas superficiales del embalse se utilizó un protocolo básico de inspección sobre aspectos generales que pueden afectar a la contaminación microbiológica del agua. El protocolo incluye 10 grupos de preguntas:

- Parámetros macroscópicos del agua (color, aceites minerales, sustancias tensioactivas, fenoles y transparencia).
- Presencia de residuos de origen natural o de la actividad humana.
- Identificación de vertidos de aguas residuales.
- Tipos de bañistas según grupos de edad y sexo.
- Grado de afluencia de bañistas.
- Tipos de actividades recreativas.
- Equipamientos sanitarios en la zona recreativa.
- Limpieza y mantenimiento del área recreativa.
- Señalizaciones.
- Responsabilidad en la gestión del área recreativa.

**Recuento de microorganismos indicadores.** Como indicadores de la calidad bacteriológica del agua de baño se utilizaron los recuentos de CT, CF y EF, con el propósito de evaluar las condiciones higiénico-sanitarias del agua de baño, correlaciones entre microorganismos indicadores e identificar posibles fuentes de contaminación. Se empleó el método de filtración de membrana para el recuento y aislamiento de los microorganismos indicadores. Los recuentos de CT fueron obtenidos de 100 ml de la muestra a través de una membrana de celulosa con un diámetro de poro de 0,45  $\mu\text{m}$  (Millipore Corporation, Bedford, Mass.) de 47 a 50 mm de diámetro, incubada con medio de cultivo Endo Broth a  $37\text{ }^\circ\text{C} \pm 1\text{ }^\circ\text{C}$  durante 24 horas. Los CF se enumeraron mediante la filtración de 100 ml de la muestra a través de una membrana de celulosa con un diámetro de poro de 0,45  $\mu\text{m}$ , incubada con medio de cultivo m FC Broth a  $44\text{ }^\circ\text{C} \pm 0,5\text{ }^\circ\text{C}$  durante 24 horas. Los EF se enumeraron mediante la filtración de 100 ml de la muestra a través de una membrana de celulosa con un diámetro de poro de 0,45  $\mu\text{m}$ , incubada con medio de cultivo m *Enterococcus* Agar a  $37\text{ }^\circ\text{C} \pm 1\text{ }^\circ\text{C}$  durante 48 horas.

**Análisis estadístico.** La evaluación e interpretación del grado de contaminación microbiológica del agua de baño en ambas estaciones de muestreo del embalse Conde del Guadalhorce, conforme a los tres grupos de microorganismos indicadores seleccionados y su comparación con los estándares de calidad fijados en la Directiva 76/160/CE, se realizó por el método estadístico de distribución log-normal, normalizando las series de datos mediante la transformación de las concentraciones de los microorganismos a logaritmos decimales. La hoja de cálculo Microsoft Excel 2000 v.9.0.2812 fue utilizada para el cálculo de las medias logarítmicas, ratio CF:EF, análisis de la varianza (Anova), coeficientes de correlación de Pearson y presentaciones gráficas.

## RESULTADOS

Se tomaron un total de 120 muestras de aguas de baño del embalse Conde del Guadalhorce para su evaluación microbiológica en 2 lugares de baño selecciona-

dos de acuerdo con los criterios de calidad de la Directiva 76/160/CE, durante la temporada oficial de baño comprendida entre los meses de mayo a septiembre del período 2000-2005.

Durante el período evaluado un total de 114 muestras (98,3%) resultaron positivas a algún microorganismo indicador de contaminación. En el 95,7% de los casos presentaban bacterias coliformes, el 94% del total de las muestras resultaron positivas a bacterias CF, mientras que el 82,6% fueron positivas a EF. El porcentaje de muestras positivas para cada microorganismo indicador de contaminación bacteriana se muestra en la tabla 2.

El mayor número de recuentos de colonias de microorganismos se obtuvo en el mes de junio del año 2000 para el indicador CF (9.200 ufc/100 ml), en la estación de muestreo del camping Ardales. En el caso de CT la mayor densidad microbiana se detectó en el mes de junio del año 2003 (3.600 ufc/100 ml) en la estación de muestreo de El Kiosko, mientras que el mayor valor de EF (1.200 ufc/100 ml) se aisló en julio de 2005 en la estación de El Kiosko.

La población total de bacterias coliformes totales en el agua superficial osciló entre 35 ufc/100 ml en el mes de junio de 2000 hasta 3.300 ufc/100 ml en el mes de mayo de 2005, en la zona de baño del camping Ardales. Se encontraron incrementos superiores a 1.000 ufc/100 ml en todas las temporadas de baño en el camping, mientras que estos picos aislados sólo se detectaron en los años 2000, 2003 y 2005 en El Kiosko. En el caso de los indicadores de CF, la población evolucionó desde los 30 ufc/100 ml en el mes de agosto de 2000 hasta los 500 ufc/100 ml en el mes septiembre de 2005, en la zona de baño de El Kiosko. Sólo se observaron valores superiores a 500 ufc/100 ml de CF en el año 2000 en los dos lugares de baño, y un valor esporádico de 950 ufc/100 ml en el mes de septiembre de 2004. La contaminación por EF varió entre 4 ufc/100 ml, en el mes de septiembre de 2000 en el camping, hasta los 1.200 ufc/100 ml, en el mes de julio de 2005 en la zona de baño de El

Kiosko. Durante el período 2001-2005 se hallaron valores superiores a 100 ufc/100 ml de EF en la zona del camping, mientras que en El Kiosko tales índices se encontraron durante los años 2000, 2002, 2004 y 2005.

La evolución de las densidades medias de los indicadores microbiológicos (expresados en  $\log_{10}$  ufc/100 ml) que se muestran en las figuras 2 y 3 permite observar que la presencia de poblaciones de CT es superior al resto de indicadores y que se aprecia una tendencia de aumento de los EF, mientras que se aprecia cierta constancia en las poblaciones de CF.

Las medias logarítmicas de los grupos indicadores no superan los valores imperativos de la calidad del agua de la Directiva 76/160/CE. En el caso de los valores guía, sólo en el año 2000 las medias logarítmicas del grupo CF superan los niveles guía, el resto de grupos indicadores cumplen los valores guía de la directiva cuando se consideran las medias logarítmicas. No se observa que las densidades medias de un grupo de microorganismos sea más frecuente que otra en alguno de los lugares de baño. No obstante, cuando se comparan los valores obtenidos en cada muestreo para cada indicador en ambos lugares de baño, se obtiene que las densidades de las poblaciones de CT y CF fueron consistentemente superiores en la estación del camping, mientras que no hay diferencias sustanciales entre ambos lugares de baño con respecto a las oscilaciones de los niveles de EF. No obstante, las densidades de poblaciones de cada indicador tienden a aumentar con el paso de los años, principalmente las poblaciones de EF.

Los resultados de los análisis microbiológicos en el agua de baño también han sido expresados como los puntos percentiles P80, P90 y P95 de las muestras que están por debajo de un valor límite determinado. Por ejemplo, P90 = 10.000 significa que el 90% de las concentraciones del microorganismo están por debajo o son iguales a 10.000 ufc/100 ml. Los objetivos de calidad microbiológica del agua de baño para los microorganismos estudiados se presentan en la tabla 3.

**TABLA 2. Proporción de muestras de aguas positivas para microorganismos indicadores a diferentes densidades en el período 2000-2005**

Recuento Ufc/100 ml	Nº de muestras (%)	% DE MUESTRAS POSITIVAS					
		Camping			El Kiosko		
		CT	CF	EF	CT	CF	EF
< 10	48 (15,43)	1	10	9	2	15	11
10-100	140 (45,02)	13	23	29	19	27	29
100-1.000	100 (32,15)	31	17	10	23	10	9
> 1.000	23 (7,40)	11	3	0	6	2	1
<b>Total</b>	<b>311 (100)</b>	<b>56</b>	<b>53</b>	<b>48</b>	<b>50</b>	<b>54</b>	<b>50</b>

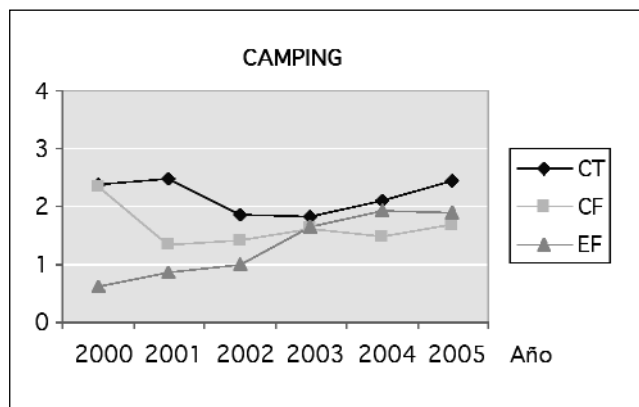


FIGURA 2. Perfil bacteriológico durante el período 2000-2005 en el camping Ardales, mostrando la densidad media de los microorganismos indicadores.

**Cumplimiento como lugares aptos para el baño.** A la vista de los resultados, sólo en la temporada de baño de 2000, y en un único lugar de baño, el camping Ardales, los análisis microbiológicos indicaron que los niveles de calidad del agua no son aceptables para el baño según los estándares de calidad de la Directiva 76/160/CE. Destaca el hecho de que sólo 2 muestras (sobre un total de 116 muestreos en los seis años comprendidos en el período 2000-2005), superaron los valores límite para el grupo de indicadores CF y determinaron que la calificación sanitaria del agua como “no apta para el baño” en la temporada de baño de 2000. Durante la inspección del lugar de baño camping Ardales, en la temporada 2000, no se evidenció ninguna fuente de contaminación fecal, como vertidos de aguas residuales o cambios en los aspectos macroscópicos del agua que pudieran estar relacionados con la superación de los valores imperativos del grupo CF analizados.

El resto de temporadas, en ambos lugares de baño, se obtuvieron niveles de buena calidad en el agua superficial del embalse, como consecuencia de que los microorganismos indicadores analizados no superaron los valores imperativos fijados en la citada normativa europea. En la zona de baño de El Kiosko resaltó que, durante los años 2001 y 2002, todos los parámetros microbiológicos cumplieron con los niveles guía de la directiva, obteniendo niveles de muy buena calidad para

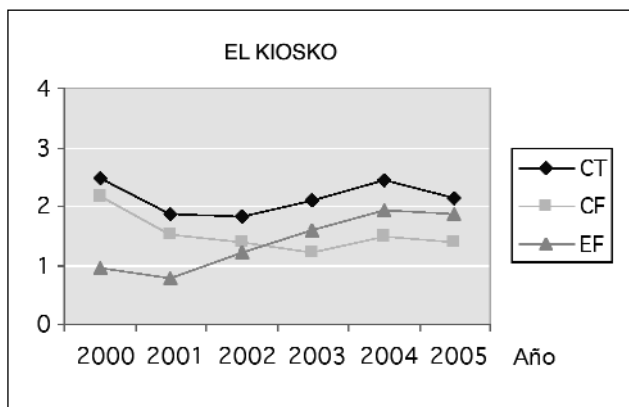


FIGURA 3. Perfil bacteriológico durante el período 2000-2005 en El Kiosko, mostrando la densidad media de los microorganismos indicadores.

el agua de baño. En la tabla 4 se presentan los resultados de los análisis microbiológicos expresados como puntos percentiles P80, P90 y P95 de acuerdo a los estándares de calidad referidos en la tabla 3. Los resultados porcentuales de muestras que cumplen con los valores guía y niveles imperativos establecidos por la Directiva 76/160/CE durante la temporada de baño del período 2000-2005 se muestran en la tabla 5. Los resultados de la calificación sanitaria de las aguas de los lugares de baño, camping y El Kiosko, para cada temporada de baño del período 2000-2005 se presentan en la tabla 6.

Es importante señalar que la calificación sanitaria de la calidad del agua de baño establecida en el Directiva 76/160/CE es de carácter retrospectivo, lo que significa que la idoneidad de un lugar para el baño se deriva del resultado de los controles realizados el año precedente. Esto significa que la superación de los valores imperativos para el grupo CF obtenidos durante el año 2000 en el camping Ardales determinaron en el año 2001 una calificación del agua como “no apta para el baño” con los datos del año anterior.

La ratio CF:EF tiene un importante valor predictivo para la calidad microbiológica del agua. Los valores CF:EF calculados en cada muestreo revelaron que la mayoría de las muestras superaron el valor 4 en ambos

TABLA 3. Criterios de calidad microbiológica del agua de baño para el grupo de microorganismos indicadores CT, CF y EF expresados en puntos percentiles

Criterio	Aguas tipo	Microorganismo indicador (ufc/100 ml)		
		CT	CF	EF
No apta para el baño	0	P95 ≤ 10.000	P95 ≤ 2.000	—
Calidad buena	1	P95 ≤ 10.000 P80 > 500	P95 ≤ 2.000 P80 > 100	P90 > 100
Calidad muy buena	2	P95 ≤ 10.000 P80 ≤ 500	P95 ≤ 2.000 P80 ≤ 100	P90 ≤ 100

**TABLA 4. Puntos percentiles de las concentraciones de microorganismos indicadores analizados en los lugares de baño camping y El Kiosko**

Lugar de baño	Año	Microorganismos indicadores (puntos percentiles)					
		CT		CF		EF	
		P80	P95	P80	P95	P90	
CAMPING	2000	1819,1	12505,6	1766,9	12985,2	26,2	
	2001	959,1	5414,3	117,9	596,0	75,3	
	2002	739,1	1808,5	52,7	106,7	58,4	
	2003	417,0	1372,3	138,3	436,7	122,4	
	2004	866,6	2284,5	110,0	376,5	249,8	
	2005	620,3	2328,1	170,9	560,8	335,5	
EL KIOSKO	2000	1918,6	11370,6	880,2	4877,8	82,7	
	2001	308,9	1203,4	121,3	401,4	46,8	
	2002	324,2	1424,2	83,2	258,1	70,5	
	2003	617,1	2727,8	37,7	80,8	77,9	
	2004	543,2	1028,7	110,9	362,1	256,1	
	2005	658,1	3008,8	147,4	845,1	323,9	

\*Puntos percentiles calculados mediante la expresión  $P = (X + zS)$ , donde X = media logarítmica, S = desviación estándar logarítmica y z = valor percentil obtenido de las tablas de la distribución normal estándar.

**TABLA 5. Porcentaje de cumplimiento de los lugares de baño camping y El Kiosko con la Directiva 76/160/CE sobre calidad del agua de baño durante el período 2000-2005**

Microorganismo	Directiva UE	Camping						El Kiosko					
		Cumplimiento (%)						Cumplimiento (%)					
		2000	2001	2002	2003	2004	2005	2000	2001	2002	2003	2004	2005
Coliformes totales	Guía	50	70	60	87,5	70	80	60	100	90	75	80	70
	Imperativo	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Coliformes fecales	Guía	20	70	100	50	80	70	40	90	90	100	80	70
	Imperativo	80	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Estreptococos fecales	Guía	100	90	90	75	60	80	90	100	90	100	40	80
	Imperativo	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

lugares de baño durante el período comprendido entre 2000-2002, lo que indica el probable origen humano de la contaminación fecal, mientras que desde el año 2003 hasta el 2005 la mayoría de las muestras de ambos lugares de baño presentaron valores inferiores a 0,7, lo que indica que probablemente el origen de la contaminación microbiológica hallada en las muestras analizadas sea de procedencia animal (ver tabla 7).

Para comprobar si las concentraciones de indicadores microbiológicos permanecen igual todos los años en cada lugar de baño se utilizó el análisis de la varianza (Anova) de un factor. Los resultados que se presentan en la tabla 8 indican que tanto en la estación de muestreo del camping Ardales como en El Kiosko existen diferencias estadísticamente significativas para el grupo microorganismos EF, es decir, los resultados obtenidos entre los indicadores de EF difieren, y tales diferencias son mayores de lo que cabría suponer en función de la casualidad.

Para comprobar si los valores medios de los microorganismos indicadores son significativos en la estación de muestreo del camping y en la de El Kiosko, se utilizó un Anova de una sola vía, pero no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en ambos lugares de baño, lo que quiere decir que nada se opone a pensar que la hipótesis nula  $H_0$  pueda ser cierta (las valores medios son iguales). En las tablas Anova 9, 10 y 11, se muestran las fuentes de variación y reglas de decisión para cada microorganismo indicador.

Los parámetros indicadores utilizados mostraron correlaciones cruzadas significativas en un contraste unidireccional. En concreto hay una correlación positiva estadísticamente significativa ( $p > 0,05$  para coeficiente de Pearson) entre los indicadores CT y CF en ambos lugares de baño. Esto significa que los cambios en uno de esos parámetros son un fiel reflejo de los cambios producidos en el otro, sin que ello implique una relación causa-efecto entre ambos grupos de

TABLA 6. Calificación anual de la calidad del agua en los lugares de baño

Año	Calificación de calidad del agua de baño	
	Camping	El Kiosko
2000	No apta	Buena
2001	Buena	Muy buena
2002	Buena	Muy buena
2003	Buena	Buena
2004	Buena	Buena
2005	Buena	Buena

TABLA 7. Porcentaje de muestras que cumplen un estándar de la ratio de coliformes fecales y estreptococos fecales (CF:EF) calculada en cada muestreo de aguas del embalse Conde del Guadalhorce durante el periodo 2000-2005

Lugar de baño	Estándar	Ratio CF:EF (% muestras)					
		2000	2001	2002	2003	2004	2005
Camping	< 0,7	0	30	30	37,5	60	70
	>4	90	50	40	0	0	10
El Kiosko	< 0,7	0	20	40	75	60	70
	>4	90	50	30	0	10	10

TABLA 8. Análisis de la varianza entre los grupos de microorganismos indicadores de cada estación de muestreo teniendo como efecto principal el año de muestreo

	Camping			El Kiosko		
	CT	CF	EF	CT	CF	EF
SCE	1,333	6,686	15,990	3,681	5,147	11,583
GL	5	5	5	5	5	5
alfa	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
f	0,466	2,391	<b>10,15</b>	1,25	1,93	<b>7,569</b>
F	3,41	3,41	3,41	3,41	3,41	3,41

bacterias, y que la probabilidad de haber obtenido esa relación al azar sería del 5%. Por otra parte, la presencia de CF no se correlacionó significativamente con la presencia de EF para el conjunto de muestras del período evaluado. El coeficiente de correlación de Pearson calculado para el período global 2000-2005 de los microorganismos indicadores se muestran en la tabla 12.

También se obtuvieron los coeficientes de correlación de Pearson ( $t = 0,632$  para  $n = 10$ ,  $p < 0,05$ ) individualizados para cada temporada de baño. Se hallaron correlaciones estadísticas negativas entre los grupos de indicadores, pero ninguna resultó ser significativa. La mayor parte de las correlaciones positivas estadísticamente significativas se encontraron entre los grupos CT y CF en la zona de baño de El Kiosko. Sin embargo, en la zona de baño del camping se obtuvieron correla-

ciones estadísticamente significativas entre los grupos CT y EF, en los años 2000 y 2005, y en una ocasión los CF y EF en el año 2003, presentaron una correlación positiva muy buena ( $0,7 < r < 1,0$ ). Anualmente no se encontró correlación estadísticamente significativa con el grupo de EF en la zona de baño de El Kiosko, y tampoco con el grupo de CF en la zona de baño del camping para el período 2000-2004.

Con la entrada en vigor de la nueva Directiva 2006/7/CE de Aguas de Baño se introduce un nuevo método de evaluación de la calidad del agua de baño, que tiene en cuenta las series de datos sobre calidad de las aguas de baño recopilados en relación con la temporada de baño considerada y las tres anteriores. Además los dos parámetros de indicadores de contaminación fecal que utiliza la nueva directiva son los enterococos intestinales y *Escherichia coli*, porque



TABLA 9. Anova para el grupo de coliformes totales teniendo como efecto principal el lugar de baño

Fuentes de variación	Tabla del análisis de la varianza			Regla de decisión	
	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	Estadístico de prueba (f)	Valor crítico F
Entre grupos	0,767	1	0,767	1,337	3,935
Dentro grupos	65,389	114	0,574		
Total	66,156	115			

TABLA 10. Anova para el grupo de coliformes fecales teniendo como efecto principal el lugar de baño

Fuentes de variación	Tabla del análisis de la varianza			Regla de decisión	
	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	Estadístico de prueba (f)	Valor crítico F
Entre grupos	0,277	1	0,277	0,460	3,935
Dentro grupos	68,656	114	0,602		
Total	68,933	115			

TABLA 11. Anova para el grupo de estreptococos fecales teniendo como efecto principal el lugar de baño

Fuentes de variación	Tabla del análisis de la varianza			Regla de decisión	
	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	Estadístico de prueba (f)	Valor crítico F
Entre grupos	0,089	1	0,089	0,169	3,935
Dentro grupos	59,884	114	0,525		
Total	59,973	115			

proporcionan una mejor correlación entre la contaminación del agua<sup>3</sup> y las implicaciones sanitarias en las aguas recreativas. Además, *E. coli* está considerado un buen indicador ambiental del desarrollo sostenible<sup>22</sup>.

Aunque la nueva directiva introduce estándares de calidad y criterios de idoneidad para el baño más restrictivos que la anterior Directiva 76/160/CE, aún es prematuro evaluar el impacto de la aplicación de la nueva directiva en la calificación de las aguas de baño del embalse Conde del Guadalhorce, si bien no se prevén perjuicios relativos a la calificación de la calidad del agua cuando se consideran las series temporales de datos de tres temporadas de baño para los grupos de indicadores CF y EF (con muy buena correlación con los microorganismos *E. coli* y enterococos intestinales, respectivamente), al contrario, la superación de los valores imperativos del grupo CF en las dos muestras de la temporada 2000 no determina la pérdida de la idoneidad para el baño de la zona camping Ardales en temporadas posteriores.

## DISCUSIÓN

El presente estudio recoge un amplio conjunto de datos sobre la calidad higiénica de las aguas superficiales del embalse Conde del Guadalhorce, en la provincia de Málaga, basada en los recuentos de microorganismos indicadores de contaminación bacteriológica: CT, CF y EF.

La vigilancia sanitaria realizada por las unidades de sanidad ambiental del Servicio Andaluz de Salud en el embalse Conde del Guadalhorce (Málaga) durante el período 2000-2005 ha mostrado que sus aguas presentan condiciones higiénicas seguras para la actividad del baño. Nuestros resultados muestran que los grupos de microorganismos indicadores de contaminación bacteriológica pueden ser detectados en el embalse Conde del Guadalhorce, durante el período evaluado, sin observar cambios significativos en las concentraciones medias de las poblaciones bacterianas analizadas en los dos lugares de baño seleccionados (camping Ardales y El Kiosko), manteniéndose por debajo de los valores límites fijados por la Directiva 76/160/CE. Sólo

**TABLA 12. Coeficientes de correlación de Pearson de microorganismos indicadores en muestras tomadas en el embalse Conde del Guadalhorce para el período 2000-2005**

Lugar de baño	Indicador	Coeficientes de correlación de Pearson (r)		
		CT	CF	Ef
Camping	CT	1	0,434	0,174
	CF		1	0,060
	EF			1
El Kiosko	CT	1	0,617	0,172
	CF		1	0,025
	EF			1

Valores superiores a 0,259 son significativos a  $p = 0,05$

**TABLA 13. Coeficientes de correlación de Pearson de microorganismos indicadores para cada temporada de baño del período 2000-2005 en el embalse Conde del Guadalhorce**

Año	Indicador	Coeficientes de correlación de Pearson (r)			
		Camping		El Kiosko	
		C. fecales	E. fecales	C. fecales	E. fecales
2000	C. totales	0,612	<b>0,748</b>	<b>0,852</b>	0,528
	C. fecales		0,332		0,560
2001	C. totales	0,525	-0,150	<b>0,794</b>	-0,352
	C. fecales		-0,095		-0,220
2002	C. totales	-0,358	0,103	<b>0,896</b>	0,211
	C. fecales		0,212		0,140
2003	C. totales	0,113	-0,149	-0,199	-0,276
	C. fecales		<b>0,773</b>		0,445
2004	C. totales	0,348	0,262	<b>0,679</b>	-0,096
	C. fecales		0,370		0,068
2005	C. totales	<b>0,822</b>	<b>0,784</b>	0,458	0,222
	C. fecales		0,574		0,346

Valores superiores a 0,632 son significativos a  $p = 0,05$

dos muestras tomadas en el camping Ardales durante la temporada de baño del año 2000 superaron los imperativos legales para el grupo de los CF, lo cual sugiere que pueden detectarse situaciones ocasionales donde la calidad microbiológica del agua es deficiente en un lugar de baño. Para los demás años, el agua de ambos lugares de baño presentaba una calidad buena, e incluso resultó de muy buena calidad en la zona de El Kiosko, para los años 2001 y 2002.

Las muestras que presentaban contaminación por CT y CF fueron más habituales en la estación del camping con respecto a El Kiosko, lo que puede ser explicado por el aporte de los propios bañistas y mayor uso recreativo en dicha zona.

Es importante destacar que la vigilancia microbiológica del agua utilizando únicamente microorganismos indicadores fecales no es suficiente para evaluar la presencia de un enteropatógeno particular. Ari Hörman et al.<sup>9</sup> han revelado que la ocurrencia de varios pa-

tógenos no se correlaciona significativamente con el parámetro CF.

Los elevados recuentos de indicadores CF en la estación del camping durante el año 2000 podrían ser debidos a una mayor afluencia de bañistas y concentración de actividades recreativas, sin descartar deficiencias en el tratamiento y evacuación de las aguas residuales de las instalaciones del camping. Es decir, la aparición repentina de un incremento de las poblaciones de bacterias CF podría proceder de focos puntuales de contaminación derivados de las instalaciones sanitarias del camping o de los propios bañistas, e incluso estar motivados por fenómenos de resuspensión de microorganismos del sedimento ocasionados por los bañistas, lo que se traduce en un aumento del número de indicadores fecales en las capas de aguas superficiales.

Se han descrito otros factores ambientales, tales como las precipitaciones, nivel hidrométrico, insolación, sequía, velocidad y dirección del viento, escorrentías o

características hidrogeológicas<sup>1,6,7</sup> que también pueden tener efectos sobre el aumento y supervivencia de las poblaciones bacterianas. No obstante, aunque parece improbable que tales condiciones hubieran afectado de manera desigual a dos lugares de baño de características comunes, la comprensión de las relaciones entre los factores ambientales del embalse y la calidad bacteriológica del agua puede contribuir a optimizar estrategias preventivas en salud pública. En este sentido, hay evidencias que sugieren una relación entre anomalías hidroclimáticas con enfermedades y el incremento y dispersión de microorganismos patógenos<sup>17</sup>.

Durante el período evaluado 2000-2005, las aguas de baño del embalse Conde del Guadalhorce en la estación de El Kiosko, los tres grupos de microorganismos indicadores analizados, CT, CF y EF no superaron los valores imperativos de calidad de las aguas de baño recomendados por las autoridades sanitarias europeas, cumpliendo con los requerimientos de idoneidad para el baño fijados en la Directiva 76/160/CE. Además, en dos temporadas de baño (2000-2001), los tres indicadores cumplieron los niveles guía en las aguas de baño El Kiosko, quedando clasificadas como de muy buena calidad. En el caso de la estación del camping Ardales, los microorganismos indicadores también cumplieron con los niveles imperativos, excepto el grupo CF durante la temporada del año 2000, lo que provocó la prohibición del baño el año siguiente en ese lugar.

Una de las características de los estudios microbiológicos de la calidad del agua en áreas recreativas es la amplia variación en los resultados, temporal y espacialmente. Algún episodio puntual de contaminación ocurrido en el año 2000 determinó la prohibición del baño de la zona camping del Ardales para la temporada de baño 2001, cuando en realidad, ese mismo año se comprobó que la calidad del agua para el baño no superaba los valores límites fijados en la Directiva 76/160/CE. Este hecho puso de manifiesto que dos casos aislados de contaminación fecal, de procedencia incierta, ha supuesto un importante problema en la autorización del uso del embalse Conde del Guadalhorce, así como en la gestión del riesgo a corto plazo. El impacto de la prohibición del baño, medida de carácter legal más que científica, en la salud pública y en las condiciones socioeconómicas locales no debe ser despreciado en el proceso de toma de decisiones sobre el riesgo admisible, puesto que la población bañista quedó expuesta al peligro microbiológico durante el año 2000 pero no el año siguiente, ni tampoco obviarse cuando se elaboran los programas de vigilancia sanitaria del agua para el baño que definen la idoneidad para el baño y calidad del agua, puesto que son factores de inciden en el fomento del sector turístico y en la economía local. En efecto, algunos autores consideran que el uso de indicadores para la calificación de la aptitud para el baño sin tener en cuenta las condiciones climáticas o la ausencia de exposición a patógenos puede tener un im-

pacto negativo sobre la percepción pública y la economía local<sup>10</sup>.

Globalmente, los resultados de este estudio indicaron que las concentraciones de los indicadores del grupo CT tienen una correlación positiva muy buena con el grupo CF en la estación de muestreo de El Kiosko, pero no ocurre lo mismo en el camping, lugar donde se encuentran correlaciones positivas muy buenas entre los grupos CT y EF sólo en las temporadas 2000 y 2005.

No se encontraron evidencias de que la concentración de microorganismos de los grupos CT y CF sean diferentes con el paso de los años, tanto en el camping como en El Kiosko; sin embargo, se encontraron diferencias significativas para el grupo de indicadores de EF en ambos lugares de baño. En efecto, la ratio CF:EF decrece con el paso de los años, de manera que hace verosímil la existencia de fuentes de contaminación de origen animal. Es decir, se observa una tendencia en el aumento de recuentos de EF con el paso de los años, pero sin que estas fluctuaciones tengan incidencia en el cumplimiento de la Directiva 76/160/CE. A este respecto hay que señalar que la explotación ganadera porcina de la comarca son las más importantes de la provincia de Málaga y que aún no han resuelto plenamente el tratamiento de sus aguas residuales industriales.

Con la entrada en vigor de la Directiva 2006/7/CE se espera que la gestión integral de la zona de baño y los nuevos métodos de evaluación minimicen el impacto de casos aislados de contaminación fecal en la idoneidad del agua para el baño durante toda una temporada anual.

La evolución del conocimiento científico ha puesto en duda la representatividad de los CT como índice de contaminación<sup>24</sup>, ya que su amplia distribución en el ambiente le resta valor a su función como indicador. Otros autores<sup>18</sup> consideran que los CT no deberían ser suprimidos en la nueva directiva. Incluso hay trabajos<sup>14</sup> donde se estima que la supresión del grupo CT y la introducción de los enterococos intestinales (EC) aumentará en cinco veces el incumplimiento de los valores imperativos de zonas de baño en estaciones secas y el doble en temporadas húmedas.

En cualquier caso, la nueva directiva ha seleccionado *Escherichia coli* y enterococos intestinales como las bacterias más representativas para estimar el riesgo para la salud, si bien conviene recordar que la mayor parte de los estudios epidemiológicos tienden a poner en evidencia una eventual correlación entre la calidad higiénica del agua de baño y las patologías más frecuentes (dermatosis, micosis, conjuntivitis, vulvo-vaginitis, infecciones del conducto auditivo, etc.) de las poblaciones expuestas<sup>11</sup>. Es decir, no existe un criterio claro que relacione la concentración en el agua de un indicador dado y la incidencia de una determinada sintomatología, por lo tanto, para un gran grupo de sinto-

matologías, el riesgo sanitario de contraer una enfermedad es independiente de la calidad microbiológica del agua. De hecho, el riesgo real que tiene un bañista en agua contaminada de contraer una enfermedad también depende de la patogenicidad del microorganismo y de factores individuales como la predisposición del hospedador o comportamiento del bañista (tiempo y tipo de inmersión, modalidad de baño, distancia recorrida, edad, sexo, etc).

Por ello hay que tener presente que un sistema de evaluación del riesgo, fundamental para el desarrollo de políticas sanitarias, basado en aspectos más restrictivos puede resultar inadecuado en el ámbito de la prevención e información del riesgo para la población.

El presente estudio aporta valiosa información cualitativa para la evaluación del riesgo microbiológico en aguas embalsadas en la provincia de Málaga, así como para investigar la procedencia de este tipo de contaminación de origen animal.

Por su parte, la Administración sanitaria debe continuar ofreciendo información de los potenciales peligros para la salud que conllevan el uso recreativo de las aguas de baño continentales y los tipos de situaciones que pueden ocasionar las mismas.

## BIBLIOGRAFÍA

- Ackerman D, Weisberg SB. Relationship between rainfall and beach bacterial concentrations on Santa Monica bay beaches. *Journal Water Health*, 2003; 1(2):85-9.
- Barrell RA, Hunter PR, Nichols G. Microbiological standards for water and their relationship to health risk. *Commun. Dis. Public Health*. 2000; 3(1):8-13.
- Bartram J, Rees G. *Monitoring bathing waters: practical guide of the design and implementation of assessments and monitoring programmes*. Routledge, N.Y.; 2000: p. 113-167.
- Clesceri LS, Greenberg AE, Eaton AD. *Standard methods for the examination of water and wastewater*, 20th ed. American Public Health Association, Washington, D.C. 1998
- Directiva 76/160/CEE, de 8 de diciembre de 1975 relativa a la calidad de las aguas de baño. *Diario Oficial de la Unión Europea L31/1-7 de 5.2.1976*.
- Crowther J, Kay D, Wyer MD. Relationships between microbial water quality and environmental conditions in coastal recreational waters: the Fylde coast, UK. *Water Research*, 2001;35(17):4029-38.
- Emiliani F. Effects of hydroclimatic anomalies on bacteriological quality of the middle Paraná river (Santa Fé, Argentina). *Rev. Arg. Microbiol* 2004; 36: 193-201.
- European Commission. *Water quality in the European Union*. Brussels; 2006. Available in Atlas. [http://ec.europa.eu/water/water-bathing/index\\_en.html](http://ec.europa.eu/water/water-bathing/index_en.html).
- Hörman A, Rimhanen-Finne R, Maunula L, Von Bonsdorff CH, Torvela N, Heikinheimo A, Hänninen M L. *Campylobacter spp., Giardia spp., Cryptosporidium spp., Noroviruses and indicator organisms in surface water in southwestern Finland, 2000-2001*. *Applied and Environmental Microbiology* 2004; 70(1): 87-95
- Kinzelman J, Clement Ng, Jackson E, Gradus S, Bagley R. Enterococci as indicators of lake Michigan recreational water quality: Comparison of two methodologies and their impacts on public health regulatory events. *Applied and Environmental Microbiology* 2003; 69 (1):92-96.
- La Torre G. *Studi epidemiologici sugli effetti sulla salute umana delle acque di balneazione: revisione della letteratura internazionale*. Roma: Ministero della Sanità, Commissione Balneazione, 2000.
- Leclerc H, Mossel DA, Edberg SC, Struijk CB. Advances in the bacteriology of the coliform group: their suitability as markers of microbial water safety. *Annual Review Microbiology* 2001; 55:201-234.
- Real Decreto 734/1988, de 1 de julio, por el que se establecen normas de calidad de las aguas de baño. *BOE* núm. 167, de 13 de julio.
- Noble RT, Moore DF, Leecaster MK, McGee CD, Weisberg SB. Comparison of total coliform, fecal coliform, and enterococcus bacterial indicator response for ocean recreational water quality testing. *Water Research* 2003; 37(7):1637-43.
- Directiva 2006/7/CE de 15 de febrero de 2006 relativa a la gestión de la calidad de las aguas de baño. *Diario Oficial de la Unión Europea L64/37-51 de 4.3.2006*.
- Pond K. *Water recreation and disease. Plausibility of associated infections: acute effects, sequelae and mortality*. London (UK): World Health Organization; 2005.
- Rose, JB, Daeschner S, Easterling DR, Curriero FC, Lele S, Patz JA. Climate and waterborne disease outbreaks. *Journal Water Working Assoc*. 2000; 92:77-85.
- Schindler PR. *Hygiene of bathing waters*. *Gesundheitswesen* 2001;63 Suppl 2:S142-50.
- Scott TM, Rose JB, Jenkins TM, Farrah SR, Lukasik J. Microbial source tracking: current methodology and future directions. *Applied Environmental Microbiology* 2002; 68:5796-5803.
- Stuart JM, Orr HJ, Warburton FG, Jeyakanth S, Pugh C, Morris I, Sarangi J, Nichols G. Risk factors for sporadic giardiasis: a case-control study in southwestern England. *Emerg Infect Dis*. 2003;9(2):229-33.
- Tillet HE, Sellwood J, Lightfoot NF, Boyd P, Eaton S. Correlations between microbial parameters from water samples: expectations and reality. *Water Science Technology* 2001; 43:19-22.
- United Nations Division for Sustainable Development Agenda 21: Ch.18. *Protection of the quality an supply of freshwater resources. Application of integrated approaches to the development, management and use of water resources*. New York, (USA): Department of Economic and Social Affairs, UN; 1999.
- US Environmental Protection Agency. *Ambient water quality criteria for bacteria*. EPA/440/5-84/002. Washington, D.C.: Office of water, USEPA; 1986.
- WHO. *Guidelines for safe recreational-water environments: Vol 1. Coastal and freshwaters*. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2003.
- Zmirou D, Pena L, Ledrans M, Letertre A. Risks associated with the microbiological quality of bodies of fresh and marine water used for recreational purposes: summary estimates based on published epidemiological studies. *Arch. Environmental Health* 2003; 58(11):703-11.