

ORIGINALES**ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO Y FÍSICOQUÍMICO DEL AGUA DE PISCINAS DE LA ISLA DE TENERIFE****M.M. Martín Delgado, A.M. Hernández García, A.M. Felipe Hormigo, A. Hardisson de la Torre, R. Alvarez Marante**

Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública. Facultad de Medicina. Universidad de La Laguna.

RESUMEN

Fundamento: Se ha realizado el análisis microbiológico y físicoquímico de 60 muestras de agua procedentes de dos Piscinas en Santa Cruz de Tenerife, con el fin de conocer el estado higiénico-sanitario y de establecer los indicadores microbiológicos más adecuados. El agua de las dos piscinas es de diferente origen: mar (Piscina B) y abastecimiento público (Piscina A), siendo también distintos los tratamientos que se aplican.

Métodos: La metodología analítica empleada se ha basado en la actual reglamentación española para el control de las aguas potables de consumo público, así como en los métodos recomendados por la American Public Health Association.

Resultados: Se han encontrado diferencias entre una y otra piscina en función fundamentalmente de las características del agua de llenado y de los tratamientos a los que esta es sometida, existiendo una mayor contaminación microbiológica en las muestras procedentes de la piscina B. Se ha demostrado la superioridad del medio R2A frente al medio P.C.A. para el recuento de Aerobios mesófilos totales en ambas piscinas.

Conclusiones: El aislamiento de la especie *St. aureus* en muestras procedentes de la piscina B lo convierten en un posible indicador microbiológico para el control higiénico-sanitario de aguas de piscina de origen marino. Asimismo, la presencia del género *Mycobacterium* en muestras de la piscina A confirma la resistencia de éste a concentraciones de cloro libre inhibitorias del crecimiento del resto de los indicadores microbiológicos.

Palabras clave: Piscinas. Indicadores microbiológicos y físicoquímicos.

ABSTRACT**Microbiological and Physiochemical Analysis of Swimming pool Waters in the Isle of Tenerife**

Background: A microbiological and physiochemical analysis has been made from 60 samples of water from two swimming pools in Santa Cruz de Tenerife in order to know the hygienic condition and to establish the most adequate microbiological indicators. The water of the two swimming pools has a different origin: sea water (Swimming pool B) and public supply (Swimming pool A), and so, different processings are used.

Methods: The analytical methodology was based on the Spanish current day regulations for the control of drinkable waters for public use, as well as on the methods the American Public Health Association recommends.

Results: There have been found differences between one swimming pool and the other, depending basically on the water characteristics and the processings used to treat it; there exists a greater microbiological contamination in the samples from the swimming pool B. It has been proved that medium R2A is better than medium P.C.A. to recount total mesophilic Acrobies in both swimming pools.

Conclusions: The isolation of *St. aureus* species in samples from the swimming pool B makes of it a possible microbiological indicator for the hygienic control of swimming pool waters of marine origin. Likewise, the presence of *mycobacterium* species in samples of the swimming pool A confirms its resistance to concentrations of growth inhibitors of free chlorine.

Key words: Swimming pools. Microbiological and Physiochemical indicators.

1. INTRODUCCION

Las piscinas constituyen uno de los establecimientos públicos en los que más atención deben poner los servicios de Salud Pública, ya que los elementos que se conju-

Correspondencia:
Roberto Alvarez Marante
Cátedra de Medicina Preventiva y Salud Pública. Facultad de Medicina, Ctra. a La Cuesta s/n.
La Laguna, Santa Cruz de Tenerife.
Telefax (922) 60-34-07

gan suponen un riesgo potencial para la salud de la comunidad, riesgo cada día más acentuado por el uso multitudinario que se hace de este tipo de instalaciones ¹.

Indudablemente el aspecto más importante a controlar dentro de la vigilancia epidemiológica de estas zonas recreativas, es la calidad fisicoquímica y microbiológica de sus aguas, ya que la primera condición que debe cumplir un agua de piscina es la de su pureza bacteriológica, esto es, estar exenta de microorganismos patógenos capaces de alterar la salud de los bañistas. Asimismo, han de controlarse aquellos parámetros fisicoquímicos que puedan dar lugar a cualquier tipo de trastorno o molestia.

Si tenemos en cuenta que su uso está sometido a una demanda incesante y creciente por parte de la población, no sólo como lugares de esparcimiento, sino también para la práctica del deporte e incluso para la recuperación de ciertas patologías, está suficientemente justificada la necesidad de llevar un control riguroso de la calidad de sus aguas. Además dicho control debe ser el adecuado para realizar una evaluación correcta del estado del agua y de los métodos de tratamiento a los que es sometida ².

Debido al clima templado que caracteriza a las islas Canarias, el uso que de las piscinas hacen, tanto nuestra población como la visitante, es constante durante todo el año, tanto con fines recreativos como de práctica del deporte. De ahí que merezcan una atención especial por parte de los profesionales de la salud. El presente trabajo

surgió de la necesidad, por un lado, de conocer el estado higiénico de las aguas de las piscinas de mayor afluencia de Santa Cruz de Tenerife y, por otro, de establecer qué indicadores microbiológicos ³ serían los adecuados para realizar un control de la calidad microbiológica de dichas aguas, pudiendo derivarse modificaciones en las normativas ante la inclusión de nuevos microorganismos indicadores que repercutan en la salud de los usuarios. Asimismo se pretende estudiar las relaciones existentes entre los parámetros microbiológicos y fisicoquímicos estudiados.

2. MATERIAL Y METODOS

2.1. Selección de las piscinas

De entre las piscinas existentes en Santa Cruz de Tenerife, hemos escogido las que registran mayor afluencia de bañistas durante todo el año. En la tabla 1 se resumen las características más importantes de cada uno de los vasos, del agua de llenado, tratamiento de la misma y uso al que se destinan.

El agua de llenado de la piscina A, procedente de la red de abastecimiento público, es sometida a una desinfección por cloración y filtración por arena con una duración por ciclo de 9 horas; sin embargo, en la piscina B el agua, captada del mar, no se somete a tratamiento alguno, simplemente se realiza el vaciado y llenado cada 3 días, respectivamente.

TABLA 1
Características del vaso, agua de llenado, tratamiento y uso de las piscinas estudiadas

<i>Piscina</i>	<i>Forma del Vaso</i>	<i>S* (m²)</i>	<i>Fuente de Agua</i>	<i>Tratamiento del agua</i>	<i>C**</i>	<i>P*** (m)</i>	<i>Uso</i>
A	Olímpico	600	Pública	Cloración Filtración	900	2,60	Deportivo
B	Irregular	3 · 10 ⁴	Mar	—	1 · 10 ³	1,70	Recreativo

* Superficie de lámina de agua.

** Capacidad en número de bañistas.

*** Profundidad.

2.2. Muestreo

Se procesaron un total de 60 muestras, recogidas en botes estériles de boca ancha de 1000 ml de capacidad. Previamente a la esterilización y a aquellos destinados a la toma de muestras de agua clorada, se les añadió una cantidad de tiosulfato sódico ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) de tal manera que la concentración final fuera de 100 mg/l^4 .

Para la piscina B se escogieron 3 puntos de muestreo dentro del vaso, elegidos al azar. En el caso de la piscina A se tomaron 2 puntos de muestreo, localizados entre el centro y la entrada y el centro y la salida de agua, respectivamente, del sistema de filtración-cloración.

Las muestras fueron tomadas a 20 cm de la superficie del agua, introduciendo el recipiente de muestreo en posición invertida, transportadas en nevera ($+4^\circ\text{C}$) y procesadas transcurrida 1 hora de la toma como máximo.

Ambos vasos se muestrearon con una frecuencia semanal entre octubre del 89 y abril del 90; la hora de muestreo osciló entre las 11.00 y las 13.00 horas, coincidiendo con la máxima afluencia de bañistas.

2.3. Procesamiento

2.3.1. Determinaciones fisicoquímicas

Se han estudiado los siguientes parámetros: pH, Ta y cloro residual en el momento de la toma y la concentración de cloruros (valoración de Mohr)⁵ y conductividad a la llegada al laboratorio.

Los aparatos utilizados han sido los siguientes:

pHmetro .. Hanna Instruments HI 8414

Conductímetro Crison CDTM 523

En la piscina B sólo se determinaron pH, T⁶ y conductividad, no se estudió el cloro residual ya que no se empleaba cloración, ni cloruros, debido a la procedencia del agua de llenado.

2.3.2. Determinaciones microbiológicas

Los parámetros microbiológicos controlados en nuestro estudio fueron: Aerobios mesófilos totales, Coliformes totales y fecales, Estreptococos fecales, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Mycobacterias* no tuberculosas.

En la tabla 2 resumimos las determinaciones realizadas, así como la metodología analítica empleada.

TABLA 2

Determinaciones microbiológicas, técnicas analíticas, medios de cultivo y temperaturas y tiempos de incubación

Parámetro	Método	Medio de cultivo	Temperatura (°C)	Tiempo (h)
Aerobios totales	F M*	PCA	37	48
"	"	R2A	37	48
Coliformes totales	"	Tergitol-7 agar	37	24
Coliformes fecales	"	"	44,5	24
Estreptococos fecales	"	KF-Streptococcus a.	37	48
<i>S. aureus</i>	N M P	m-Staphylococcus b.	37	24
<i>Staphylococcus spp.</i>	F M	Baird-Parker medium	37	48
<i>P. aeruginosa</i>	F M	Ps. Isolation agar	42	24
"	"	Agar Cetrimida	42	24
"	N M P	Asparagine broth	42	24,48
Micobacterias NT	F M	Lowenstein-Jensen	37,31	**

* Filtración por membrana.

** durante un máximo de 10 días.

El volumen filtrado para los casos, en los que se utilizó la técnica de filtración por membrana, fue de 100 ml para cada determinación, utilizando membranas filtrantes de 0,45 micras de diámetro de poro, excepto para la búsqueda del género *Mycobacterium* donde el volumen filtrado fue de 200 ml.

Para la determinación de aerobios totales se empleó el recuento en placa, utilizando dos medios de cultivo (tabla 2): PCA (Oxoid CM 463) y el R2A⁴.

Al medio utilizado para el estudio de los coliformes totales y fecales, Tergitol-7 agar (Scott 4900-4510), se le añadió 1 ml de cloruro 2,3,5-trifeniltetrazólico al 1% (Difco 3112-67-9) por litro.

El aislamiento y recuento de estreptococos fecales se realizó sobre KF-Streptococcus agar (Oxoid CM 701).

Para el género *Staphylococcus* se emplearon dos técnicas analíticas:

a) Tubos múltiples (tabla del NMP 3-3-3), usando como medio presuntivo el m-Staphylococcus broth (Difco 0649-01-6) adicionado de 0,049 mg de azida sódica y, como medio de confirmación, el Lipovitellin Salt Mannitol agar⁴.

b) Filtración por membrana, con incubación sobre Baird-Parker medium (Oxoid CM 275) para el recuento de *Staphylococcus spp.*

Para el aislamiento de *P. aeruginosa* se emplearon también dos técnicas analíticas:

a) Filtración por membrana con incubación sobre Pseudomonas Isolation agar (Difco 0927-01-9) y Cetrimide Agar Base (Difco 0854-02-5) y,

b) Tubos múltiples (Tabla del NMP 5-5-5) con caldo de asparragina como medio presuntivo y medio de acetamida inclinado como confirmativo⁴.

En el caso del género *Mycobacterium*, la membrana filtrante se lavó con 10-15 ml de

agua destilada estéril. El agua de lavado se sometió a descontaminación, según la técnica de Tacquet-Tison⁶. El sedimento resultante se transfirió, mediante pipeta Pasteur estéril, al medio de cultivo Lowenstein Jensen (Difco 0444-01-3). Las colonias desarrolladas en este medio que manifestaron ácido alcohol resistencia (Tinción de Zielh-Nielsen)⁷, se incubaron durante 7 días en el medio Dubos Broth Base (Difco 0385-17-6) y durante el tiempo necesario para crecimiento positivo en Dubos Oleic Agar Base (Difco 0373-17). Este último medio nos permite visualizar la morfología y pigmentación de las colonias.

A continuación al crecimiento en Lowenstein Jensen y en Dubos Broth Base, se le realizaron las pruebas bioquímicas específicas para la determinación de la especie micobacteriana⁸.

Para el análisis estadístico de los resultados se utilizó un programa estadístico que permitiera el cálculo de los coeficientes de correlación, el valor de la "t-student" y la significación.

3. RESULTADOS

3.1. Determinaciones fisicoquímicas

En la Tabla 3 se representan las medias aritméticas y el rango de los parámetros fisicoquímicos determinados para las dos piscinas estudiadas.

3.2. Determinaciones microbiológicas

Se han encontrado diferencias significativas entre los recuentos de Aerobios mesófilos totales realizados sobre P.C.A. y R2A en ambas piscinas (Tabla 4). Basándonos en estos resultados los recuentos de Aerobios mesófilos totales estarán referidos a los realizados sobre el medio R2A.

TABLA 3
Media e intervalo de variación de los parámetros fisicoquímicos determinados

PARAMETRO	PISCINA A		PISCINA B	
	Media	Intervalo	Media	Intervalo
pH	6,8	5,5 — 7,7	7,5	6 — 8,1
Temperatura (°C)	22	20 — 26,3	19,6	16 — 22,1
Conductividad ($\mu\text{S}/\text{cm}^2 \cdot 10^3$)	1,24	1,0 — 1,48	59,9	13,2 — 67,2
Cloro libre (mg/l)	1,5	0,5 — 2,5	—	—
Cloruros (mg/l)	46,15	35 — 136,5	—	—

TABLA 4
Comparación de los resultados obtenidos para recuento de Aerobios mesófilos totales sobre P.C.A. y R2A

	PISCINA A		PISCINA B	
	P.C.A.	R2A	P.C.A.	R2A
Medio				
Media	72,47	195,2	149,7	227,0
Desviación estándar	71,10	120,7	128,7	132,7
t*	2,29		4,80	
P	0,02		0,003	

t* t-student
 p significación

En la figura 1 se representa el número de muestras que se encuentran en los distintos intervalos indicados para ambas piscinas. Como puede observarse la mayor parte de las muestras se encuentran por encima de las 200 UFC/ml para las dos piscinas, destacando la piscina B por un mayor número de muestras, con recuentos superiores a las 300 UFC/ml.

Ninguna de las muestras procedentes de la piscina A ofreció recuentos positivos de Coliformes totales o fecales. La distribución de los recuentos encontrados en las muestras correspondientes a la piscina B se presenta en la figura 2.

En la figura 3 se puede observar el número de muestras que presentaron contaminación por *Streptococos* fecales para la piscina B.

En el caso de la piscina A no se encontró presencia de *Streptococos* fecales en ninguna muestra de las analizadas.

La distribución de los recuentos de *Staphylococcus spp.* en la piscina A se presenta en la figura 4. En ningún caso se demostró la presencia de *St. aureus*.

Los recuentos de *Staphylococcus spp.* fueron mayores de 1 UFC/100 ml para 26 de las 30 muestras tomadas de la piscina B. De estas en un 88,5 % se aisló la especie *St. aureus*.

FIGURA 1

Distribución de los recuentos de Aerobios mesófilos totales en las 60 muestras de agua procedentes de las dos piscinas A y B

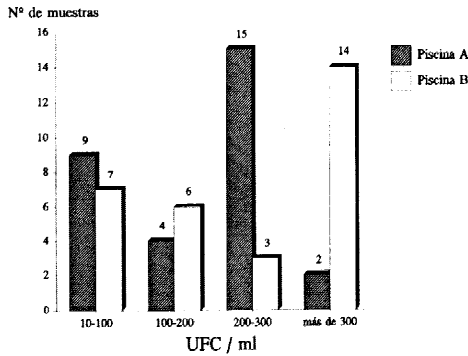


FIGURA 2

Distribución de los recuentos de Coliformes totales y fecales en las 30 muestras de agua procedentes de la piscina B

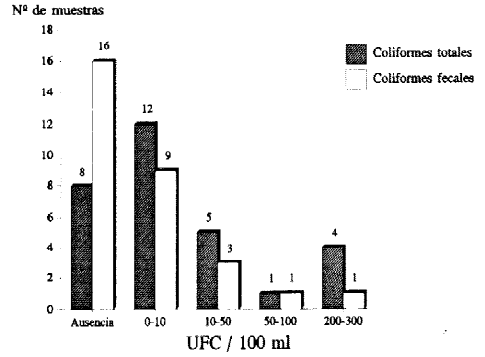


FIGURA 3

Distribución de los recuentos de *Streptococcus* fecales en las 30 muestras de agua procedentes de la piscina B

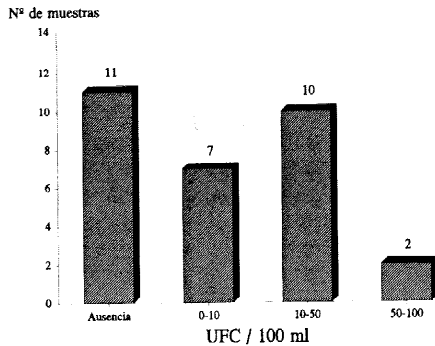


FIGURA 4

Distribución de los recuentos de *Staphylococcus* spp. en las 30 muestras de agua procedentes de la piscina A

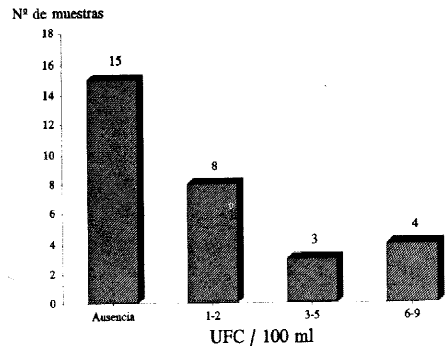
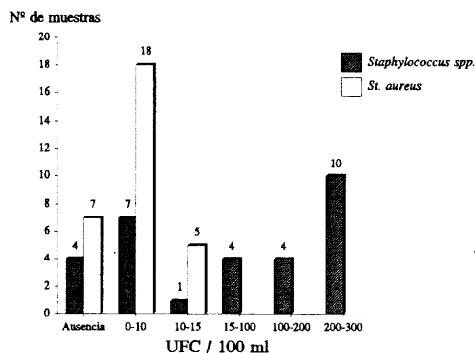


FIGURA 5

Distribución de los recuentos de *Staphylococcus* spp. y *St. aureus* en las 30 muestras de agua procedentes de la piscina B



La distribución de los recuentos para ambas determinaciones se representa en la figura 5.

No se aisló la especie *Pseudomonas aeruginosa* en ninguna de las muestras analizadas y por ninguno de los métodos analíticos empleados.

En 4 de las muestras procedentes de la piscina A se aisló el género *Mycobacterium*, identificándose la especie *M. chelonae subsp chelonae* en dos de las muestras. Las otras dos especies identificadas fueron *M. vaccae* y *M. aurum*.

No se demostró la presencia de este género en las muestras provenientes de la piscina B.

Otro de los objetivos de nuestro trabajo era establecer las relaciones entre los diferentes parámetros físicoquímicos e indicadores microbiológicos estudiados. Para esto fue calculado el coeficiente de correlación de Pearson. Los datos obtenidos se presentan en la Tabla 5 para las piscinas A y B.

TABLA 5

Coefficiente de correlación de Pearson entre los distintos parámetros estudiados para ambas piscinas

PARAMETRO	CORRELACION			
	PISCINA A		PISCINA B	
	p^*	r^{**}	p^*	r^{**}
Bañistas-Concentración de cloruros	0,006	— 0,49	—	—
Bañistas-Cloro libre	—	—	0,03	— 0,38
Bañistas-Aerobios mesófilos totales	0,008	0,47	—	—
pH-Concentración de cloruros	0,003	0,52	—	—
Conductividad-Concentración de cloruros	—	—	0,01	0,45
pH-Aerobios mesófilos totales	0,0001	— 0,64	—	—
pH- <i>Streptococcus</i> fecales	0,008	0,47	—	—
Temperatura- <i>Streptococcus</i> fecales	0,001	0,56	—	—
pH- <i>Staphylococcus</i> spp	—	—	0,007	— 0,47
Cloro libre- <i>Staphylococcus</i> spp	—	—	0,004	— 0,36
Aerobios mesófilos totales- <i>Streptococcus</i> fecales	0,001	— 0,55	—	—
Coliformes totales-Coliformes fecales	0,003	0,61	—	—

* Significación

** Valor del coeficiente de correlación de Pearson.

4. DISCUSION

Con respecto a las determinaciones físico-químicas, los niveles de pH, conductividad y cloruros se encuentran dentro de los intervalos citados como normales en la legislación vigente en nuestra Comunidad Autónoma ⁹ para ambas piscinas, y concuerdan con los publicados por otros autores ¹⁰. La media de los niveles de cloro libre, determinados para la piscina A, coincide con el límite máximo legislado (1,5 mg/l) ⁹, sin embargo se han encontrado muestras que superan dicho límite.

En cuanto a los resultados del análisis microbiológico, la comparación realizada entre los dos métodos utilizados para la determinación de Aerobios mesófilos totales, demuestra que el medio de cultivo R2A supera ampliamente los recuentos obtenidos sobre PCA; por lo que, coincidiendo con otros autores ¹¹, proponemos su uso para la determinación de Aerobios mesófilos totales en aguas de piscinas, tanto dulces como saladas.

El aislamiento de la especie *St. aureus* en muestras analizadas, procedentes de la piscina B, demuestra la resistencia de esta especie a concentraciones salinas altas, por lo que concluimos que es un posible indicador microbiológico a incluir dentro del control de calidad de este tipo de piscinas, ya que esta especie puede causar diversas patologías en el hombre. De igual manera ha sido comprobada la eficacia del método analítico propuesto por la American Public Health Association ⁴ para el análisis de esta especie en aguas de piscinas.

Aunque en la mayor parte de la bibliografía consultada la especie *Ps. aeruginosa* es la más frecuentemente aislada en agua de piscina, presentando un dominio casi total sobre el resto de los indicadores microbiológicos ^{10, 12, 13, 14, 15, 16}, en nuestro caso no se aisló en ninguna muestra y por ninguno de los métodos analíticos empleados. Lo que demuestra que, a niveles de cloro libre como

los encontrados, esta especie no se desarrolla en el medio, eliminando así la principal causa de otitis en los bañistas.

Según nuestros resultados, para la piscina A se encontró que un 80% de las muestras analizadas no cumplía con la normativa vigente en nuestra Comunidad Autónoma. De éste, un 25% superaba el límite máximo fijado para la concentración de cloro libre (1,5 mg/l); un 37,5% el recuento máximo para Aerobios mesófilos totales (200 UFC/ml); y un 37,5% presentaba alterados los parámetros pH, Aerobios mesófilos totales y cloro libre. La ausencia del resto de los indicadores microbiológicos estudiados se debe al mantenimiento de un alto nivel de cloro libre. Sin embargo, la identificación de distintas especies del género *Mycobacterium* en cuatro muestras procedentes de esta piscina A, confirma la capacidad de dichas especies de sobrevivir en presencia de concentraciones de cloro libre a las que no se aíslan los indicadores microbiológicos convencionales. Además hay que tener en cuenta que una de las especies aisladas *M chelonae* spp. *chelonae* esta considerada actualmente como patógena para el hombre, pudiendo producir infecciones localizadas en la piel, fundamentalmente en personas inmunocomprometidas ¹⁷.

Para la piscina B, un 26,92 % de las muestras analizadas superaba el recuento máximo fijado para Aerobios mesófilos totales (200 UFC/ml); un 7,69% sobrepasaba el recuento de Aerobios mesófilos totales y el de Coliformes totales (10 UFC/100 ml); en un 50% se encontró presencia de contaminación fecal con recuentos de Estreptococos fecales y de Coliformes fecales superiores al límite fijado (10 UFC/100 ml y Ausencia/100 ml, respectivamente); y un 15,38% superaba los valores fijados en la normativa para todos los parámetros microbiológicos determinados. Esto supone que un 86,8% del total de las muestras examinadas no cumple con la norma legal ⁹, lo que nos lleva a concluir que la cloración de piscinas de agua salada, es la medida más adecuada para

mantener la óptima calidad de este tipo de aguas.

BIBLIOGRAFIA

1. Seyfried PL, Tobin RS, Brown NE, Ness PF. A prospective study of swimming-related illness. I. Swimming-associated health risk. *Am J Public Health* 1985; 75:1068-70.
2. Seyfried PL, Tobin RS, Brown NE, Ness PF. A prospective study of swimming-related illness. II. Morbidity and the microbiological quality of water. *Am J Public Health* 1985; 75:1071-75.
3. Microbiologic indicators of the health risk associated with swimming [Editorial]. *Am J Public Health* 1985; 75:1051-54.
4. Bacteriological examination of recreational waters. En: *Standard Methods for the examination of water and wastewater*. Franson MAH, editor. 16^a. Washington: APHA, AWWA, WPCF, 1985: 974-80.
5. Boletín Oficial del Estado. Real Decreto 1138, de 14 de septiembre de 1990, por el que se aprueba la Reglamentación Técnico-Sanitaria para el abastecimiento y control de la calidad de las aguas potables de consumo público. *BOE* 1990; 226:27488-97.
6. Casal Roman M. Diagnóstico de las micobacterias a partir de productos patológicos humanos. En: *Bacteriología de la tuberculosis y micobacteriosis*. Madrid: Editorial A C, 1983; 15-6.
7. García Rodríguez JA, Martín Luengo F y Saenz González MC. Los diferentes métodos de tinción en el diagnóstico microscópico de micobacterias. *Laboratorio* 1974; 13: 347-407.
8. Sommers MM, Good RC. Mycobacterium. En: *Manual de Microbiología Clínica*. Lennette EH, director. 4.^a Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 1987: 279-318.
9. Boletín Oficial de Canarias. Orden de 2 de marzo de 1989, por la que se regula el régimen técnico-sanitario de piscinas. *BOC* 1989; 38:532-8.
10. Elorza P, Torres MI, Alonso A, Ortega M, Estibalez JJ. Detección de especies de *Pseudomonas* en piscinas y su relación con los parámetros fisicoquímicos de las mismas. *Técnic Lab* 1987; 8144:293-96.
11. Korsholm E, Sogaard H. Colony counts in drinking water bacteriologic-importance of media and methods. *Zbl Bakt Hyg B* 1987; 185:112-20.
12. Johnson L, Sekla L, Luckhuerst DJ, Sew S, Manfreda J. The impact of filtration on water quality in wading pools. *Can J Public Health* 1985; 76:317-21.
13. Kapadnis BP, Panse MV. Bacteriological analysis of water from swimming pools in Pine City, (Maharashtra). *Indian J Environ HLTH* 1988; 30:176-9.
14. Alicino FA, Volterral, Spinelli P. Aspetti microbiologici delle acque di piscine. *L'Igiene Moderna* 1986; 86:337-49.
15. Sherry JP. Temporal distribution of faecal pollution indicators and opportunistic pathogens at a lake Ontario bathing beach. *J Great Lakes Res* 1986; 12:154-60.
16. Höppner A. Nachweis von *Pseudomonas aeruginosa* im schwimmbekkenwasser. *Öff Gesundheitswes* 1986; 48:39-41.
17. Jenkins PA. Mycobacteria in the environment. *J App Bacteriol Symp Supp* 1991; 70:137s-141s.