

## FRECVENȚA COLIBACILILOR CLORO-REZISTENȚI ÎN APA DE CONDUCTĂ

*Steinmetz József*

Determinările paralele ale clorului rezidual și al indicelui coli în apă au dus la constatarea că în apa de conductă a orașului se pot pune în evidență bacili coli cu toată concentrația relativ ridicată a clorului rezidual. Cazurile nu au arătat nici o regularitate căci s-au observat în condiții diferite de pH, temperatură și anotimp.

*Rasciuc și Jaroșenko* (1) au observat incidența bacilului coli în apa potabilă pe lângă o concentrație de 0,3—0,5 mg/l. clor rezidual, dacă apa brută inițial a avut o turbiditate ridicată. Posibilitatea apariției bacililor coli rezistenți față de clor în cursul procesului de dezinfecție, se mai poate explica și prin aplicarea dozelor infrabactericide. Bacili coli se pot infiltra în apa de conductă din solul adiacent când concentrațiile reduse de clor rezidual (0,1—0,2 mg/l) nu mai pot distruge bacili astfel infiltrați. Experiențele lui *Moiseev* (2) atrag atenția asupra acțiunii inhibitoare a substanțelor superficial active asupra dezinfecției, când aceste substanțe „îmbracă” corpul bacilului protejindu-l astfel de acțiunea clorului. Printre aceste substanțe se numără acizii humici, humații și substanțele organice macromoleculare, care ajung în apele de suprafață odată cu deversarea apelor reziduale industriale.

De la introducerea clorinării apei s-a stabilit că *B. coli* este mai rezistent decât grupul patogen al enterobacteriaceelor. Cercetările comparative au arătat că distrugerea imediată a bacilului coli necesită 1,5—3 mg/l clor, pe când distrugerea bacilului tific se realizează cu 1—2 mg/l clor. Pe baza acestor considerente s-a acceptat principiul conform căruia distrugerea totală a grupului coli este un criteriu sigur al dezinfecției apei. Mai recent *Bedulevici* (3) a dovedit că în prezența unui indice coli 0—33/l în apa clorinată nu se poate pune în evidență nici salmonella paratyphi, nici salmonella typhi. Este justă deci prescripția standardului sovietic care stabilește indicele coli al apei potabile la 3/l, aceasta dând o siguranță încetă.

După *Kabler* (4) concentrația obișnuită de clor rezidual (0,2—0,3 mg) indică sigur distrugerea a peste 99% din grupul coli, pe când 0,5 mg/l asigură o eficacitate totală. *Marzeev* (5) menționează că clorul rezidual nu este totdeauna garanția dezinfecției perfecte și nu trebuie supraapreciat rolul clorului rezidual în apa de conductă, căci la infectarea secundară a apei, clorul rezidual în concentrație redusă (0,1—0,3 mg/l), are o acțiune bactericidă cu mult mai slabă asupra bacilului coli decât la doza inițială, ceea ce a fost confirmat și de experiențele lui *Strahova* (5).

Scopul lucrării de față este de a stabili dacă tulpinile de bacili coli izolate în prezența unei concentrații de clor rezidual 0,1—0,6 mg/l, sînt într-adevăr rezistente față de clor. În cazul unei rezistențe urmează a se stabili gradul ei, raportîndu-o la o tulpină de *B. coli* standard. Totodată

am dori să stabilim dacă rezistența poate fi provocată in vitro, pe cale artificială și care este stabilitatea ei.

#### *Izolarea tulpinilor.*

În scopul izolării tulpinilor de *B. coli* rezistenți față de clor s-au desemnat 8 puncte de recoltare a probelor de apă pe traseul rețelei de apă. Din probele de apă s-au determinat: temperatura, pH, oxidabilitatea, acizii humici, clorul rezidual total, indicele coli și numărul de germeni.

Determinarea pH s-a făcut după metoda lui *Aliamovsky*, substanțele organice s-au determinat pe cale oxidimetrică, iar acizii humici pe cale alcalimetrică după *Spitta*. Concentrația clorului rezidual total s-a determinat la fața locului cu ajutorul orto-tolidinei. Indicele coli s-a stabilit după metoda standard din 55,5 ml apă, însămânțările făcându-se pe bulionul lactozat cu bilă și verde brillant al lui Birzu (7). Numărul de germeni s-a stabilit pe geloză după o incubare de 24 de ore la 37°C. Din toate probele coli pozitive s-au izolat 2—3 tulpini identificându-se pe cale biochimică. S-a cercetat: producerea indolului, reacția roșu de metil, creșterea pe mediu citratat și în bulion lactozat la 43°C. De asemenea s-a cercetat creșterea tulpinilor și pe mediu de acid rozolic după metoda *Chicenco*. (8).

În lunile iunie-decembrie 1954 s-au recoltat în 20 de ocazii 160 de probe. Din aceste 160 de probe s-au făcut 1.020 determinări. În cursul cercetărilor am putut izola bacili coli în 12 cazuri, pe lângă o concentrație de 0,1—0,6 mg/l. clor rezidual.

TABELUL Nr. 1.

Nr. Caz	Data	Nr. locului de recoltat	Temp. apei C°	pH	Oxidab. KMnO <sub>4</sub> mg/l	Acizi humici gr. dur. germ.	Clor rezid. tot.	Indice coli, l	Germen/ ml.
1.	IX.14.	3	22,4	7,2	14,22	1,54	0,2	45	19
2.	IX.14.	4	22,2	7,2	15,48	1,40	0,1	490	18
3.	A IX.21.	4	21,	7,2	11,69	0,77	0,5	700	10
4.	B X.5.	3	11,	7,	11,69	0,49	0,6	170	280
5.	C X.5.	4	10,6	7,	11,06	0,70	0,5	130	80
6.	X.19.	3	13,	7,2	10,74	0,35	0,1	40	19
7.	XI.16.	3	9,8	7,2	9,16	0,42	0,2	270	86
8.	XI.16.	4	9,6	7,2	9,79	0,42	0,1	170	100
9.	D XI.30.	4	2,4	7,	7,27	0,42	0,3	18	600
10.	XII.7.	3	3,	7,	8,21	0,42	0,2	45	20
11.	XII.7.	4	2,8	7,	9,16	0,28	0,15	20	9
12.	XII.14.	3	4,	7,	8,84	0,56	0,2	45	8

Din tabelul Nr. 1 reiese că fenomenul cercetat de noi s-a observat numai în probele Nr. 3 și 4, căci în celelalte probe ori s-a găsit clor rezidual în cantitate mai mică de 0,1 mg/l, ori nici nu s-a putut pune în evidență. Acolo unde s-au putut pune în evidență colibacili pe lângă o concentrație mai mică de clor (0,1—0,2 mg/l) atât în probele Nr. 3 cit și în probele Nr. 4 (cazurile 1, 2 : 7, 8 : 10, 11 :) acolo rezultatul pozitiv se datorește dozei insuficiente de clor. În schimb trebuie să presupunem că tulpinile de colibacili izolate pe lângă o concentrație de 0,3—0,6 mg clor rezidual trebuie să fie mai rezistente față de clor, fapt pentru care s-a făcut determinarea rezistenței de clor, și în cazurile 3 (A), 4 (B), 5 (C) și

9 (D). Avînd în vedere că în cazul tulpinilor 3 și 9 s-au izolat colibacili numai din probele Nr. 4, în aceste zile proba Nr. 3 fiind coli-negativă, s-a putea presupune că bacilii coli izolați ar fi ajuns în apă pe calea infiltrării din exterior. Aceasta este însă puțin probabil căci în aceste zile oxidabilitatea apei nu era mai ridicată în probele Nr. 4 decît în probele Nr. 3.

IX. 21. oxidabilitatea probei Nr. 3. 11,69 mg/KMnO<sub>4</sub>/l.

oxidabilitatea probei Nr. 4. 11,69 mg/KMnO<sub>4</sub>/l.

XI. 30. oxidabilitatea probei Nr. 3. 8,53 mg/KMnO<sub>4</sub>/l.

oxidabilitatea probei Nr. 4. 7,26 mg/KMnO<sub>4</sub>/l.

#### *Determinarea rezistenței față de clor.*

500 ml. apă de conductă sterilă (filtrată prin filtru Seitz) s-a infectat cu o picătura din suspensia diluată de *B. coli* cercetat și s-a determinat indicele coli după metoda standard. Apoi s-a clorinat apa în concentrație de 0,2—1,5 mg/l. cu o soluție de clorură de var de o concentrație cunoscută. Controlul clorinării s-a făcut cu ortotolidină. După un contact de 30 minute am făcut prima însămînțare, iar la 1, 2, 4 și 24 de ore următoarele, după prescripția reglementară a colimetriei. Paralel s-a controlat și scăderea concentrației de clor cu orto-tolidină.

Pe lingă determinarea rezistenței tulpinilor A. B. C. și D. s-a făcut și determinarea rezistenței față de clor a tulpinii standard, bacilul coli Bruxelles. Rezultatele obținute sînt următoarele:

*Tulpina A.* Izolată pe lingă o concentrație de clor rezidual de 0,5 mg. este compusă din bacili gram-negativi, care fermentează lactoza cu acidifiere și producere de gaz, cresc bine la 43 C°, produc indol, nu cresc pe mediul citratat. Îngălbenesc mediul cu acid rozolic cu formare de gaz, reacția roșu de metil fiind pozitivă.

Pe lingă o concentrație identică de clor bacilul este mai viabil decît bacilul coli Bruxelles. Concentrația de 1 mg/l. îl distruge numai după 4 ore, pe cînd bacilul coli Bruxelles este distrus după 1 oră. Doza inițială de clor de 1,5 mg/l. îl distruge sigur în 30 minute rămînînd 0,6 mg/l. clor rezidual.

*Tulpina B.* Izolată pe lingă o concentrație de 0,6 mg/l. clor rezidual. Este compusă din bacili gram-negativi fermentează lactoza cu acidifiere și producere de gaz. Cresc la 43 grade, produc indol, nu cresc pe mediul citratat, reacția roșu de metil fiind pozitivă. Îngălbenesc mediul cu acid rozolic cu formare de gaz. Pe lingă o concentrație identică sînt mai viabili, decît bacilul coli Bruxelles. Concentrația de 0,6 mg/l clor îi distruge în 2 ore pe cînd *B. coli* Bruxelles la aceeași concentrație nu se mai poate izola după 30 de minute. Doza inițială de 1 mg clor/l. îi distruge sigur în 30 de minute, rămînînd 0,5 mg/l clor rezidual.

*Tulpina C.* Izolată pe lingă o concentrație de 0,5 mg/l. Este compusă din bacili gram-negativi, fermentează lactoza cu producere de gaz și acidifiere, nu cresc pe mediul citratat, reacția roșu de metil pozitivă, îngălbenesc mediul cu acid rozolic cu formare de gaz. Pe lingă o concentrație identică sînt mai viabili decît *B. coli* Bruxelles. Concentrația de 0,75 mg/l, clor îl distruge în 4 ore, pe cînd bacilul coli Bruxelles este distrus după o oră. Concentrația de 1,5 mg/l clor îi distruge sigur în 4 ore rămînînd 0,3 mg/l clor rezidual. În concentrație mai mică de clor se poate observa un fenomen paradox, căci la 0,2 mg/l bacilul coli Bruxelles pare a fi mai rezistent. Aceasta ar corespunde variației relative de rezistență observată și de Kabler (4).

*Tulpina D.* Izolată pe lingă o concentrație de 0,3 mg/l clor rezidual. Este compusă din bacili gram-negativi, fermentează lactoza cu acidifiere și producere de gaz, reacția roșu de metil fiind pozitivă. Nu cresc pe mediul citratat. În concentrație identică sînt mai viabili decît bacilul coli Bruxelles, 0,75 mg. clor îi distruge în 4 ore, pe cînd bacilul coli Bruxelles este distrus după 30 minute Doza inițială de 1 mg clor/l îl distruge în 30 minute rămînînd 0,3 mg/l clor rezidual.

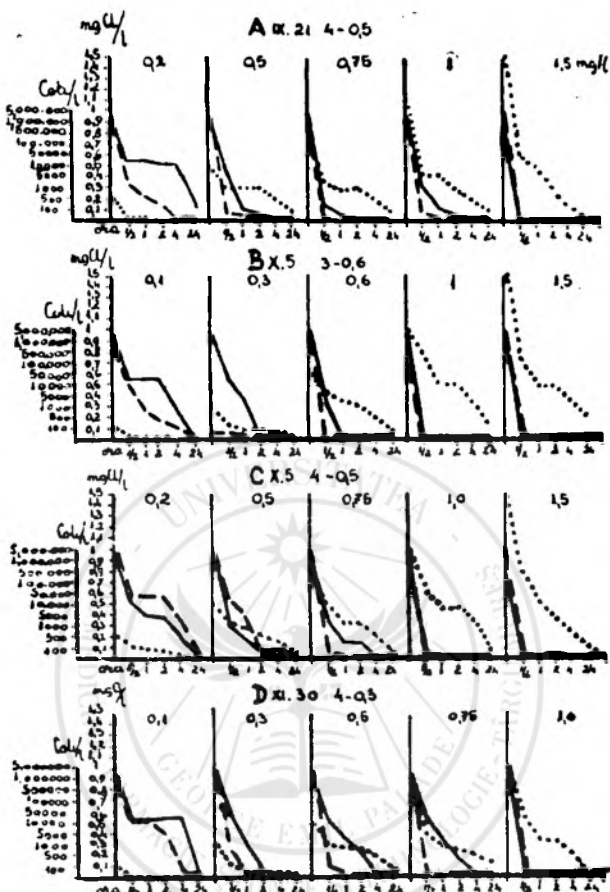


Fig. Nr. 1.

Legenda: ——— B. coli; - - - B. coli Bruxelles; . . . . . clor mg/l.

În cadrul acestor experiențe s-au mai putut stabili următoarele:  
 1. Curbele de rezistență (vezi graficul) nu sînt identice la determinările efectuate cu aceeași tulpină în diferite ocazii. De aceea am determinat rezistența B. coli Bruxelles paralel cu fiecare tulpină în parte, ca să creăm condiții experimentale identice pentru ambele tulpini.

2. Concentrația de 1 mg clor/l în general este suficientă pentru distrugerea în 30 minute a B. coli Bruxelles cu toate că într-un caz am găsit un indice coli 40/l și la această concentrație.

3. Pentru distrugerea în 30 de minute a tulpinilor izolate de noi a fost necesar 1,5 mg clor în cazul tulpinilor A și C, iar tulpinile B și D au putut fi distruse în același timp numai cu 1 mg clor/l. Distrugerea totală a tulpinii C a fost asigurată de o concentrație de 1,5 mg clor/l, numai după 4 ore de contact.

4. După un timp de contact de 30 minute am obținut rezultate negative în acele ape în care clorul rezidual a fost între 0,5—0,8 mg/l independent de doza inițială de clor și de gradul de contaminare. Pe baza acestora considerăm că este just punctul de vedere al igieniștilor sovietici și al standardului de stat sovietic (9) care stabilește o concentrație de clor rezidual între 0,3—0,5 mg/l.

5. Timpul de contact de 1 oră dă o garanție cu mult mai mare decât timpul de contact de 30 minute, de aceea este recomandabilă asigurarea unui timp de contact de 1 oră, după clorinare.

6. În cursul experiențelor noastre am întâlnit numai într-un singur caz la tulpina B. fenomenul înmulțirii bacililor coli după pierderea clorului rezidual, fenomen observat de *Rasciuk* și *Jaroscenco* (1) și de *Voitevici* și colab. (10).

TULPINA B. indice coli/l.

Clor mg./l.	Înainte de clorinare	după 30'	1 h	2 h	4 h	21 ore
0,2 mg./l.	3.200.000	32.000	700	18.400	3.200	32.000
0,6	3.200.000	32.000	36	460	7.900	18.400

La celelalte cazuri nu s-a observat înmulțirea colibacililor după timpul de contact.

#### Apariția formelor rezistente.

În 1887 *Kosiakov* (11) a descris pentru prima dată adaptarea bacteriilor la substanțe dezinfectante. Cu 20 de ani mai târziu *Erlich* (11) a observat un fenomen asemănător când a descris apariția tulpinilor de tripanosom și spirochete rezistente față de arsenic *Troițki*, *Persina* și *Soloviov* (12) au observat că sub acțiunea dozelor infrabactericide de formol apar tulpini de coli și proteus care sînt de 4 ori mai rezistente decât tulpinile inițiale, procesul desfășurîndu-se în cursul a 18—20 de treceri. Rezistența față de urotropină se formează și mai ușor. Experimental s-au format tulpini de colibacili rezistente față de fenol. Iar mai târziu numeroase lucrări au descris apariția tulpinilor rezistente față de sulfamide și antibiotice sub acțiunea dozelor infrabactericide. Deci apariția formelor rezistente este un fenomen biologic general.

Microorganismele ca organisme independente încearcă să se apere prin adaptare contra acțiunii substanțelor dezinfectante. În cursul procesului de apărare se formează astfel de variante asupra cărora concentrația de substanță dezinfectantă eficientă inițial, pierde efectul dezinfectant, deci în prezența acestei concentrații specia trăiește, crește și se înmulțește.

În ceea ce privește formarea rezistenței cunoaștem două păreri contradictorii. Microbiologii sovietici (*Troițki* și colab., *Siniușina Artenova* (12) și unii microbiologi din occident (*Hinshelwood*, *Kaplan* (13), susțin că formarea rezistenței este un fenomen de adaptare care are o bază biologică bine definită. Această capacitate de adaptare este ereditară (*Troițki Persina* (12).

Celălalt punct de vedere reprezentat de unii microbiologi germani (*Anhagen*, *Dittrich*, *Höhne* (13) și englezi (*Newcombe*, *Ryan* și alții) recunoaște că variantele rezistente apar prin adaptare, dar totodată acceptă și posibilitatea mutației spontane. Sînt autori (*Luria*, *Delbrück*, *Demerrec* (13) care în apariția variantelor rezistente recunosc numai mutația

spontană. Acest ultim punct de vedere se sprijină pe următoarele fenomene : dacă se supune pentru prima dată un mare număr de bacterii (1--10 miliarde) acțiunii unei substanțe antibacteriene, de cele mai multe ori se vor găsi una sau mai multe colonii rezistente față de substanța respectivă. *Siniuşina* a arătat că dintr-o suspensie de *B. coli* în sămînțată pe un mediu cu geloză conținînd 100 u. i. streptomycină/ml. va crește o colonie la 12 miliarde germeni în sămînțată. *Artenova* a dovedit că dintr-o suspensie de stafilococi în sămînțată pe mediu cu geloză conținînd 1000 u. i. streptomycină/ml. va crește o singură colonie la fiecare 1 miliard de germeni. Din date asemănătoare se trage concluzia că formele rezistente sînt „pre-existente” sau mutații spontane, iar substanța antibacteriană are numai rolul unui agent de selecționare (*Demerec* (13)). Fenomenul observat este adevărat, dar nu este motivată explicarea acestui fenomen prin mutații spontane sau prin variante rezistente „preexistente”, căci nu se ia în considerare faptul că formele rezistente au crescut pe medii care conțin și ele acea substanță antibacteriană, față de care au devenit rezistente tulpinile studiate. Deci apariția variantelor rezistente s-a făcut în prezența substanței antibacteriene, strîns legată de ea și în cel mai bun caz poate fi vorba doar de mutație inductivă (*Kaplan* (13)) care în definitiv este tot un rezultat al acțiunii mediului exterior. *Artenova* a dovedit că se pot obține tulpini de *B. coli* rezistente față de penicilină dintr-o populație (100 milioane corpuri bacteriene) în care nu s-a putut pune în evidență în mod cert nici o formă rezistentă, deci după părerea ei posibilitatea mutației spontane se poate respinge.

Cercetările noastre se rezumă la găsirea posibilității de obținere a unor tulpini de *B. coli* rezistente față de clor.

*Metoda* : Am ales în acest scop 7 tulpini de *B. coli*, dintre care 4 au fost izolate din apă brută în acele zile cînd în apa dezinfectată s-au putut pune în evidență *B. coli* pe lîngă o concentrație mai ridicată de clor rezidual. Am mai ales două tulpini dintre cele izolate la determinarea rezistenței spre a vedea pînă la ce grad se poate mări rezistența lor. Tulpina a 7-a a fost chiar *B. coli* Bruxelles luată ca martor.

Coloniile crescute din aceste tulpini pe agar înclinat, în 24 de ore, au fost spălate cu ser fiziologic steril, iar o picătură din această suspensie a fost diluată în 10 ml. de ser fiziologic steril. Din suspensia bacteriană diluată s-a în sămînțat o picătură în 500 ml. apă de conductă sterilă (filtrată prin filtru Seitz), iar apoi această apă a fost clorinată cu o soluție de clorură de var de o concentrație cunoscută. Clorinarea s-a controlat prin orto-tolidină, iar concentrațiile mai mari de 1 mg/l, s-au determinat pe cale iodometrică. Apa de conductă sterilă a avut temperatura de 20--22 C° și nu a conținut coli-bacili. Menționăm că în cursul filtrării, oxidabilitatea apei crește cam de două ori, căci în cursul procesului de filtrare apa se îmbogățește cu substanțe oxidabile din filtru.

Apă în sămînțată a fost supusă unui contact de 30 minute cu substanță clorigenă, apoi s-au în sămînțat 5×10 ml. apă pe bulionul lactozat Birzu, și s-a incubat timp de 48 de ore. Din tuburile pozitive s-au izolat coloniile care au supraviețuit acțiunea de 30 minute a clorului, pe mediu cu verde-brillant.

Adaptarea tulpinilor s-a început pe lîngă o concentrație de 0,25 mg/l. clor și după 17 treceri am obținut că toate cele 7 tulpini au supraviețuit

unei acțiuni de clorinare la o concentrație de 3 mg/l și această proprietate s-a menținut și în urma a 3 treceri în continuare. Tulpinile rezistente au fost conservate 2 săptămâni pe agar înclinat iar apoi supunând din nou aceste tulpini acțiunii de 3 mg/l clor, am constatat că din 7 tulpini au rezistat acestei concentrații timp de 30 minute numai 3 tulpini, iar 4 au fost distruse. Deci variantele rezistente obținute de noi, nu au fost stabilite în toate cazurile.

Pe baza celor de mai sus putem afirma că se poate forma in vitro o tulpină *B. coli* care devine rezistentă față de concentrațiile de clor folosite de obicei în dezinfecția apei. Modificarea caracterelor morfologice-biochimice ale tulpinilor rezistente formate in vitro, va fi expusă într-o lucrare viitoare.

Din rezultatele de până acum putem trage următoarele

### Concluzii

1. Se pot pune în evidență *B. coli* în apa de conductă dezinfectată pe lângă concentrații ridicate de clor rezidual (0,1—0,6 mg/l).
2. Clorul rezidual în concentrație ridicată (0,3—0,6 mg/l) nu dovedește potabilitatea apei, căci nu arată eficiența dezinfecției ci numai efectuarea acesteia.
3. Prolungirea timpului de contact de la 30 minute la 1 oră ar mari siguranța dezinfecției.
4. Colibacilii izolați pe lângă o concentrație de clor rezidual de 0,3—0,6 mg/l. s-au dovedit a fi mai rezistenți decât bacilul *coli* Bruxelles, față de concentrațiile identice de clor.
5. Se pot forma in vitro pe cale artificială tulpini de *B. coli* rezistente față de clor după relativ puține treceri (17). Din aceste tulpini unele și-au păstrat rezistența câteva săptămâni și după terminarea trecerilor.

Primită la redacție în ziua de 9 decembrie 1955.

### Bibliografie

1. *Rasciuk-Jaroșenko*: Rezistența la clor a colibacililor din riul Miass — Ghighiena i Sanitaria 6/1952; 2. *Moiseev S. V.*: Factori care împiedică dezinfecția apei cu clor. Ghighiena i Sanitaria 10/1949; 3. *Bedulevici*: Indicele coli ca indicatorul eficienței dezinfecției apei. Ghighiena i Sanitaria 8/1953; 4. *Kabler*: — Relative Resistance of Coliform Organism and Enteric Pathogens in the Desinfection of Water with Chlorine. Jour A.W.W.A. 1950, pag. 553; 5. *Marzeev*: Kommunalnaia Ghighiena 1951; 6. *Strahova* — Cit. Marzeev; 7. *Birzu, Schertzer*: Metodă nouă de colimetrie. Rev. de Ig. și Microbiologie 2/1953; 8. *Chicenco, Corș*: In legătură cu depistarea colibacilului în apă. Ghighiena i Sanitaria 12/1952; 9. *S. N. Cerkinski*: Referitor la problema bazelor noului proiect de GOST pentru calitatea apei de băut. Ghighiena i Sanitaria 5/1954; 10. *Voitevici* și colab. Cit. Marzeev; 11. *Kosiakow* — Cit. Troițki; 12. *Troițki, Persina* și *Soloviov*: Cu privire la mecanismul formelor de bacterii rezistente față de agenții chimoterapeutici. Voprosi himioterapii bakteriálních infekcii red. V. h. Troitzki 1950. Moskva; 13. *Anhagen, Dittrich, Höhne*: Untersuchungen über die Entstehung chemoresistenter varianten bei Escherichia Coli. Zeitschrift für Hygiene 1955 Bd. 140. pag. 511—20.

## ХЛОРОУПОРНЫЕ КОЛИБАЦИЛЛЫ В ВОДОПРОВОДНОЙ ВОДЕ

И. Штейнмец

В четырех случаях автор выявил наличие колибацилл в водопроводной воде при концентрации 0,3—0,6 мг/л общего остаточного хлора. При определении сопроти-

вляемости по отношению к хлору установлено, что эти штаммы обладают большей сопротивляемостью, чем *B. coli* Bruxelles, использованный для контроля.

Четыре штамма колибацилл выделенных из речной воды подвергались действию повышенной дозы хлора от 0,25—3 мг/л, причем после 17 обработок колибациллы выжили после 30 минутного контакта с 3 мг/л хлора.

## COLIBACILLES CHLORORÉSISTANTS DANS L'EAU D'AQUÉDUCS

*J. Steinmetz*

L'auteur a isolé en 4 cas des colibacilles dans l'eau d'aqueduc ayant une concentration de 0,3—0,6 mg/l chlore résiduel total. En déterminant la résistance au chlore, on a constaté que ces souches sont plus résistantes que *B. coli* Bruxelles, employé comme témoin.

4 souches de colibacilles, isolées de l'eau de rivière ont été soumises à l'action d'une dose croissante de chlore à partir de 0,25—3 mg/l et après 17 passages, les colibacilles ont survécu à un contact avec 3 mg/l chlore pendant 30 minutes.