

Použití vyšších teplot při stanovení koliformních mikroorganismů v pive

VLADIMÍR BARTL, Státní inspekce jakosti, Praha

663.41 : 576.8.07

Mikrobiologické sledování jakosti piva se v poslední době zaměřuje i na stanovování počtu koliformních mikrobů, popř. přímo zárodků *Escherichia coli*. Tyto nepatogenní mikroorganismy z čeledi *Enterobacteriaceae* se v potravinářské mikrobiologii sledují u mnoha výrobků a využívají se jako indikátory úrovně sanitace provozu, popř. jako indikátory nedodržování určitých fází technologie. U jednotlivých druhů potravin se počet, limitující výskyt koliformních mikroorganismů, značně různí, a počty jsou voleny s ohledem na používanou technologii, na způsob tepelného zpracování surovin tak, aby udržování limitovaných hodnot zaručovalo dobrou úroveň sanitace během výroby. Současně se bere v úvahu, zda koliformní mikroby se ve výrobku pomnožují nebo hynou. Tak např. v mléce a másle se pomnožují pokud se tyto výrobky udržují při vhodných teplotách, zatímco hynou v sirupech. Úhyn koliformních může být vyprovokován např. použitím nízkých teplot, jaké se používají při uchovávání mrazírenských výrobků. V průběhu skladování pod bodem mrazu počet koliformních mikrobů klesá a rychlost úhynu značně závisí na použité teplotě. Co se týče piva, shodují se všechny literární práce na tom, že pivo je prostředí pro růst koliformních mikrobů nepříznivé a jsou-li přítomny v hotovém pivu, postupně odumírají.

Při běžném stanovování koliformních mikrobů nelze blíže určit, jakého původu jsou a tedy nelze ani blíže osvětlit zdroj kontaminace. Proto byla vždy snaha oddělit stanovení vlastních *E. coli* od ostatních koliformních mikrobů a tak umožnit bližší určení zdroje kontaminace. *E. coli* jsou převážně původu humánního, pokud ne přímo fekálního, zatímco ostatní koliformní mikroby mají daleko spíše svůj původ v nedostatečné čistotě potrubi, zařízení nebo strojů, čili v nedostatečné sanitaci.

E. coli se v mikrobiologické praxi stanovují v tak zvaných pestrých řadách, což je řada zkoušek, podchycujících základní biochemické charakteristiky mikroorganismů. Jsou to testy, sledující zkvašování laktózy, popř. glukózy, tvorbu indolu, růst na citrátové půdě, test s metylčervení, zužtkovávání močoviny, barvení podle Grama a další. Těmito testy je možné blíže určit, o který typ koliformních mikrobů jde. Nevýhodou však je, že je nejprve nutno vyrostlé kolonie vyzolovat a teprve po přeočkování možno dělat uvedené testy. Výsledek získá laboratorista až za několik dnů, nehledě na to, že v běžné kontrolní laboratoři na podniku je určování krátkou řadou práce značně náročná na přípravu půd, spotřebu skla i času, neboť je nutné, izolovat veškeré podezřelé kolonie.

Přehled literatury

K rozlišování koliformních mikroorganismů při rozbořech vody se v některých zemích používá

testu kultivace při 43 až 46 °C. Metodu kultivace při zvýšené teplotě první popsal Eijkman [4] již v letech 1904 a 1914. Zjistil, že kmeny *coli*, kultivované na tekuté půdě s glukózou, tvořily při 46 °C plyn, zatímco kmeny aerogenes plyn netvořily. Tento test byl v pozdějších letech podrobně prověřován a glukóza nahrazena laktózou, a to přispělo ke zvýšení specifity testu. V Anglii se nyní používá kultivačních teplot 43 až 44 °C a jako živná půda se doporučuje Mac Conkeyův bujon se žlučí a laktózou (Topley a Wilson [17]). Mackenzie, Taylor a Gilbert [9] poukázali na to, že na základě tvorby plynu na Mac Conkeyově tekuté půdě při 44 °C a schopnosti vytvářet indol při 44 °C, je možné odlišit typické fekální *coli*. Podrobnou studii publikovali Geldreich a kol. [7], kteří izolovali z různých vzorků povrchových vod různého stupně znečištění téměř 6 000 různých kmenů. Všechny izolované kmeny určili pole IMViC testu [krátké řady] a porovnali výsledky s růstem na půdě EC podle Hajna a Perryho [8] při 45 °C. Ze zkoušených kmenů 92,7 % *E. coli* typu I rostlo při této teplotě, z typu *E. coli* II (indolnegativní) rostlo jen 21,8 % izolátů. Nefekální typy koliformních se množily při této teplotě jen v 7,8 % případů. Inkubace na laktózové půdě a tvorbu indolu při 44 °C sledoval Papavassiliou [12], který upozornil na to, že tato metoda je aplikovatelná nejen na vodu, ale i na potraviny. Primární inkubaci vzorku prováděl při 37 °C po dobu 24 hodin. Po této kultivaci přeočkoval kulturu do tekutých půd, které inkuboval při 44 °C. Získané kmeny po přeočkování na Mac Conkeyův agar určoval dále. Fishbein [15] sledoval vliv teploty 44 °C na vývin plynů u různých kmenů *E. coli* a *Aerobacter*. Zjistil, že s dalším zvyšováním teploty se projevuje inhibice tvorby plynu dříve, než nastává vlastní inhibice růstu. Inhibice je závislá nejen na výši použité teploty, ale i na použité půdě. Složení půdy může mít značný vliv na výsledky, jak prozrazuje ve své práci Thomas [15]. Při výběru a skladbě živných půd, používaných ke kultivaci při vyšších teplotách, je nutné pečlivě vybírat pepton, neboť některé druhy peptonů mohou dávat falešný negativní test na tvorbu indolu.

Použití vyšších teplot pro potravinářské rozbořby doporučili pro mlékárenské závody Mundt a Rat [10]. Navrhli používat živné půdy s tryptonem a žlučí, které inkubovali při 44,5 až 45,0 °C a po provedené kultivaci testovali kmeny na tvorbu indolu. Záchytnost této metody předčila používání běžných agarových půd. V rozmezí stejných teplot izolovali *E. coli* ze zmrazených potravin Fishbein a Surkiewicz [6] na půdě s laurylsulfátem v tryptózovém bujonu a paralelně na EC bujonu. Teplota při 45,5 °C byla pro izolaci *E. coli* specifitější, protože dala dva až třikrát méně falešných výsledků. Při

teplotě 44,5 °C byly zachycovány *E. coli* v mírně vyšší koncentraci.

Značně podrobně bylo prostudováno používání vyšších kultivačních teplot při rozbořech vody. Práce z tohoto úseku shrnul *Skalický* [13]. Zdůraznil, že účelem kultivace za vyšších teplot je odlišení kmenů *E. coli* jakožto epidemiologicky významných indikátorů od ostatních, jen hygienicky významných koliformních mikrobů. Jako ostatní charakterizuje všechny, které mají schopnost produkovat plyn z laktózy při 35 až 37 °C za 48 hodin, ale postrádají tuto schopnost při 44 °C. Potvrdil pozorování dřívějších badatelů, že schopnost produkovat plyn z cukrů při 43 až 46 °C patří mezi nejcharakterističtější vlastnosti koliformních mikrobů izolovaných z čerstvé stolice. Zjistil také, že zvýšení kultivační teploty na 43 °C při vyšetřování vzorků výrazně preferuje pomnožení kmenů *E. coli* proti ostatním příslušníkům koliformních mikrobů. Na základě svých studií vypracoval *Skalický* metodu, jak postupovat při rozbořech vod. Zvýšené kultivační teploty, a to na 41,5 °C, s úspěchem použil *Spino* [14] pro izolaci salmonell z povrchových vodotečí. Touto metodou byly zachyceny salmonely tam, kde při běžném postupu, používajícím kultivaci při 37 °C, byly výsledky negativní.

Schopnost produkovat plyn a kyselinu při zvýšených kultivačních teplotách se ztrácí u kmenů *E. coli*, popř. jiných koliformních izolovaných z čerstvé lidské stolice, asi za 1 až 2 měsíce jejich pobytu ve vodě. Asi stejně dlouhou dobu přežívají salmonelly a shigelly. Z toho plyne, že při zjištění koliformních mikrobů, rostoucích při vyšších teplotách, není toto znečištění starší dvou měsíců.

Literární údaje poskytují dostatek podkladů k domněnce, že izolovat *E. coli* i ostatní koliformní mikroby, indukující relativně čerstvé fekální znečištění, bude možné za zvýšených teplot i u piva. Přitom vlastní provedení a technika analýz není nijak komplikovaná. Jiná zkouška, kterou by bylo možno aplikovat, je kultivace na citrátových půdách. Tato metoda se opírá o skutečnost, že kmeny *E. coli* nejsou schopny růstu na půdách, obsahujících jako jediný zdroj uhlíku citrát. Ostatní koliformní aj. hlavně zástupci *Citrobacter* a *Aerobacter*, dovedou citrátů využívat a rostou na půdách, obsahujících tuto látku. Je tedy v principu možné použít citrátového testu, avšak jeho praktické použití naráží na potíže v tom, že je to pro *E. coli* test negativní (nenarostou), zatímco použití inkubačních vyšších teplot je test pozitivní (rostou). Další nevýhodou citrátového testu je, že existují mezi koliformními typy zužitkující citrát (*Citrobacter*), které jsou schopny vyvolávat střevní onemocnění u lidí a mohou být fekálního původu. Z těchto důvodů byla naše práce zaměřena na zkoušení testu růstu při vyšších teplotách, a to zvláště s přihlédnutím k tomu, že v pivovarech se výrobní pochody vedou při relativně velmi nízkých teplotách.

Výskyt koliformních mikroorganismů v pивě byl prokázán již dříve řadou autorů. *Bendová* [1, 2] zdůraznila, že pivo je pro koliformní mikroby nevhodným substrátem, v kterém tato skupina bakterií hyná. *Muzikář* [11] sledoval zdroje koliformních

v pивě. Za původce kontaminace označil násadní kvasnice, v kterých našel vysoká množství koliformních mikrobů dosahujících až miliónových hodnot na gram. Avšak příčiny kontaminace mohou být i jiné.

Přes tyto varovné publikace nebyla věnována otázce výskytu koliformních mikrobů výrobou dostatečná pozornost a většina pracovníků pivovarského průmyslu tuto otázku podceňovala a spoléhala na to, že koliformní mikroorganismy v pивě rychle hynou, a proto je jejich výskyt málo pravděpodobný. Ovšem, skutečnost je poněkud jiná, výskyt koliformních mikroorganismů v pивě je značný a není bez zajímavosti, že otázce výskytu koliformních mikrobů v pивě se věnuje pozornost i v zahraničí (*Thorwest* [16], *Brzozowska* [3]).

Metodika

V naší práci jsme se zaměřili na stanovování koliformních mikroorganismů při teplotě 43 °C a srovnávání s výsledky kultivace při teplotě 37 °C a 24 °C. Jako živné půdy jsme používali Endovu půdu a půdu BTM (agar s laktózou, bromtymolovou modří a trypaflavinem), tak jak jsou popsány např. v ČSN 56 6505 — *Metody zkoušení piva* a v ČSN 57 0101 — *Mikrobiologické zkoušení mléka a mléčných výrobků*. Endova půda byla po předsušení inokulována 0,5 ml vzorku na povrch. Pro kultivaci v půdě BTM byly naočkovány sterilní prázdné Petriho misky 1 ml vzorku a přelity tekutou půdou BTM, zchlazenou asi na 40 °C. Jako vzorku bylo použito buď přímo neředěného piva nebo se nasazoval vzorek, příslušně ředěný, a to 1 : 10 a 1 : 100. Vzorky piva se odebíraly na lahvací lince dvou pivovarů, B a K a ihned doručovaly do laboratoře ke zpracování. Nasazeny byly nejpozději do 5 hodin po odběru. Úmyslně byly vybrány dva pivovary, o kterých je známo, že jsou značně zamořeny koliformními mikroorganismy, proto výsledky je možno hodnotit pouze po stránce průzkumu metodiky. Dále uváděné výsledky nelze v žádném případě považovat za reprezentující stav výroby v podniku nebo za průměrné hodnoty, získané u nás.

Po inkubaci byly na plotnách odečteny počty koliformních mikrobů, a jednotlivé typy kolonií se dále izolovaly a blíže specifikovaly krátkou řadou, tj. testem na zkvašování laktózy a glukózy, tvorbu indolu, methylred testem, Voges — Proskauerovým testem a růstem na citrátové půdě. Kolonie se ještě barvily podle Grama. Na základě výsledků těchto testů bylo možno roztrždit koliformní mikroby do několika skupin, z nichž jsme v této řadě pokusů sledovali hlavně výskyt typických *E. coli*. Výsledky udávají aritmetické průměry nejméně z 20 vzorků, přitom každý vzorek byl zpracováván dvojmo.

Výsledky a diskuse

Účelem našeho průzkumu bylo zjistit, zda lze kultivaci za vyšších teplot roztrždit koliformní mikroby na dvě skupiny: hygienicky významné a sanitálně významné. U koliformních mikrobů hygienicky významných, které lze vykultivovat při vyšší teplotě, předpokládáme, že na základě jejich výskytu lze dedukovat kontaminaci humánního původu. Tím ukazují i na možné riziko epidemiologické, a

Tabulka 1

Průměrný počet koliformních mikrobů v ml piva

Pivovar	Živná půda	24°	37°	43°
B	BTM	90,1	46,3	24,9
	Endo	98,3	56,4	28,2
K	BTM	1 198,0	492,9	115,4
	Endo	1 303,0	583,8	137,7

jako takové jejich výskyt zajímá hlavně orgány zdravotnické. Na druhé straně koliformní mikroby nerostoucí při vyšších teplotách, považujeme za indikátory nedostatečné sanitace. Tyto koliformní mikroby se pomnožují v některých fázích výroby piva a jejich zdrojem jsou nečistoty, ulpělé na výrobním zařízení. Kontaminace není humánního původu a postrádá i jakýkoli význam epidemiologický.

Pokusy, sledující počet koliformních mikrobů, vyrostlých při různých teplotách, ukázaly velmi zajímavé výsledky, které jsou sumarizovány v tabulce 1. Jasně se ukazuje, že s klesající teplotou vyrůstá na stejných půdách podstatně vyšší počet koliformních mikrobů. V pivovaru B, kde kontaminace koliformními mikroby byla relativně menší, se dosahuje při teplotě 37 °C asi dvojnásobku počtu koliformních než při teplotě 43 °C a při teplotě 24 °C dokonce asi čtyřnásobného množství narostlých koliformních mikrobů. Výsledky z pivovaru K ukazují poněkud jiné poměry. Při teplotě 37 °C vyrůstá asi čtyřnásobný počet než při teplotě 43 °C a při kultivační teplotě 24 °C vyrůstá v průměru asi desetinásobné množství. Je pravděpodobné, že u obou pivovarů běží o odlišný charakter kontaminace, jak tomu napovídá i rozdíl v kvantitě koliformních mikrobů. Množství, zjištěné v pivovaru K, je velmi vysoké a s tak silnou kontaminací se setkáváme zřídka.

Zastoupení *E. coli* při různých teplotách též kolísá, a relativní četnost ukazuje tabulka 2.

V pivovaru B byl při všech třech studovaných teplotách, tj. při 24, 37 i 43 °C zjištěn stejný počet zárodků *E. coli* na ml. Znamená to, že teplota 43 °C se ukázala jako dostatečně selektivní faktor a umožnila kvantitativní stanovení *E. coli*. Jiný obraz však ukázaly výsledky z pivovaru K. Počet *E. coli*, zachycený při 43 °C, byl menší než počet *E. coli*, zjištěný při teplotě 37 °C. A opět při teplotě 24 °C byl počet *E. coli* vyšší než při 37 °C, a pochopitelně než při 43 °C. V tomto případě se ukázalo, že na zachycení všech *E. coli* působí teploty 43 °C a kupo-

Tabulka 2

Relativní četnost výskytu *E. coli* z celkového počtu koliformních mikrobů při různých teplotách

Pivovar	24 °C	37 °C	43 °C
B	24,5 %	40,8 %	98,3 %
K	26,0 %	43,1 %	85,0 %

divu i 37 °C, příliš selektivně, neboť neumožňují nárůst všech zjištěných *E. coli*.

Uvedené výsledky prokazují, že zárodky *E. coli* tvoří pouze část z celkového množství přítomných koliformních mikrobů, což znamená, že v pivovarech běží o kontaminaci, které může mít pouze částečně primární původ fekální, humánní nebo analogický. Daleko silnější je kontaminace, způsobovaná kmeny koliformních mikroorganismů, které takový primární původ nemají nebo pokud jej měly, je tomu již příliš dlouho, aby připadal v úvahu. Jak se tyto koliformní mikroby do pivovarských provozů dostávají, nemohou zatím naše pokusy objasnit.

Koliformní mikroby, izolované při zvýšené teplotě, nebyly pouze zástupci *E. coli*, ale i jiné typy, jak ukazuje tabulka 3.

Tabulka 3

Typy koliformních mikrobů, izolované při 43 °C

	Pivovar B	Pivovar K
<i>Escherichia coli</i> typ I	98,3 %	85,0 %
typ II	—	2,4 %
<i>Aerobacter cloacae</i>	—	0,6 %
Nepravidelné typy	1,7 %	12,0 %

Při této teplotě se izoluje převážně typ *E. coli* I (indolpozitivní), který se běžně považuje za fekální typ. V menší míře jsou již izolovány nepravidelné typy, u kterých se předpokládá, že některé z nich jsou také fekálního původu. Výskyt typu *E. coli* II (indolnegativní), podobně jako *Aerobacter cloacae*, při teplotě 43 °C je nezvyklý a souvisí zřejmě s masovostí kontaminace, která umožnila patrně i nárůst při této teplotě. V literatuře je rovněž popsán růst těchto mikroorganismů při vyšších teplotách [Hajna a Perry [8]]. Na druhé straně v pivovaru K se setkáváme s fenomenem, že řada kmenů *E. coli* I ztratila schopnost růstu při 43 °C. Tento jev lze vysvětlit jedině tím, že běží o kmeny, které již ztratily svůj charakter indikátorů humánního původu a jsou ve stavu přechodu k ostatním koliformním mikrobům.

Metoda kultivace koliformních mikrobů z piva za použití vyšší teploty dává dobré a cenné výsledky. Před zavedením do praxe však je nutné, metodu ještě dále prozkoušet a prověřit, jak dalece se osvědčí i u výrobků jiných pivovarů. Velkou výhodou by bylo, kdyby se tato metoda mohla prozkoušet také v jiných laboratořích. Teprve na základě hlubšího rozboru a zkušeností většího počtu pracovníků bude možné rozhodnout, zda tato metoda má být pojata jako součást metod na mikrobiologické zkoušení piva a zavedena do denní praxe mikrobiologických kontrolních laboratoří.

Souhrn

Pro odlišení koliformních mikrobů humánního původu, hygienicky, popř. epidemiologicky významných, od ostatních, které mají význam indikátoru nedostatečné sanitace, byla vyzkoušena metoda

kultivace při 43 °C. Při této teplotě byla izolována většinou *E. coli* typ I a menší množství nepravidelných kmenů. U vzorků z jednoho pivovaru se zachytila při této teplotě veškerá *E. coli*, přítomná ve vzorcích. Rozbory vzorků z druhého pivovaru, silně kontaminovaného koliformními mikroorganismy, ukázaly, že počet zachycených *E. coli* stoupá s klesající kultivační teplotou. Metodu kultivace koliformních mikrobů při 43 °C je nutno ještě dále prozkoušet před zavedením v praxi.

Bylo prokázáno, že celkový počet koliformních mikrobů v pивu značně stoupá s klesající kultivační teplotou.

Literatura

- [1] BENDOŤÁ, O.: O životaschopnosti *E. coli* v pивě. = Sborník O úkolech potravinářské mikrobiologie, ČSVTS, 1957: 110—111.
- [2] BENDOŤÁ, O.: Vliv mikroflory na jakost pивa. = „Průmysl potravin“, 13, 1964: 580—582.
- [3] BRZOZOWSKA, H.: Charakterystyka szkodliwej mikroflory występującej w przemyśle piwowarskim. = Prace Inst. i Lab. Bad. Przemysl. spozyw., 14, 1964: 41—59.
- [4] EIJKMAN, C.: Die Gärungsprobe bei 46° als Hilfsmittel bei der Trinkwasseruntersuchung. = „Zblt. f. Bakter.“, Parasit. Abt. I., 37, 1904: 742—752.

- [5] FISHBEIN, M.: The Aerogenic Response of *Escherichia coli* and Strains of *Aerobacter* in EC Broth and Selected Sugar Broths at Elevated Temperatures. = „Appl. Microbiol.“, 10, 1962: 79—85.
- [6] FISHBEIN, M. - SURKIEWICZ, B. F.: Comparison of the Recovery of *Escherichia coli* from Frozen Foods and Nutmeats by Confirmatory Incubation in EC Medium at 44,5 and 45,5 C. = „Appl. Microbiol.“, 12, 1964: 127—131.
- [7] GELDREICH, E. E. - CLARK, H. F. - KABLER, P. W.: The coliform Group II. Reaction in EC Medium at 45 C. = „Appl. Microbiol.“, 6, 1958: 347—348.
- [8] HAJNA, A. A. - PERRY, C. A.: Comparative Study of Presumptive and Confirmatory Media for Bacteria of the Coliform Group and for Fecal Streptococci. = „Am. J. Public Health“, 33, 1943: 550—556.
- [9] MACKENZIE, E. F. - TAYLOR, E. W. - GILBERT, W. E.: The Use of Indol Test at Elevated Temperatures. = „J. gen. Microbiol.“, 2, 1948: 197.
- [10] MUNDT, J. O. - RAI, B. N.: Rapid Detection of Faecal Coliform Bacteria in the Food Processing Plant. = „Milk Food Technol.“, 28, 1963: 46—49.
- [11] MUZIKAR, V.: Příčiny mikrobiologického znečištění pив. = „Čs. hygiena“, X, 1962: 622—626.
- [12] PAPAVALASSILOU, J.: The Rapid Identification of *Escherichia coli* I by the Production at 44 of Both Indol and Gas from Lactose. = „J. Appl. Bacter.“, 21, 1958: 104—108.
- [13] SKALICKÝ, J.: Příspěvek k metodice průzkumu koliformních mikrobů ve vodách. = „Čs. hygiena“, IX, 1964: 809—818.
- [14] SPINO, D. F.: Elevated-temperature Technique for the Isolation of *Salmonella* from Streams. = „Appl. Microb.“, 14, 1963: 591—596.
- [15] THOMAS, S. B. et al.: „J. appl. Bact.“, 18, 1955: s. 9.
- [16] THORWEST, A.: Über coli und coliforme Keime. — „Brauwelt B“, 105, 1965: 845—851.
- [17] WILSON, G. S. - MILES, A. A.: Principles of Bacteriology and Immunity, 5th Ed., London, 1954.

Došlo do redakce 25. 5. 1967.

ПРИМЕНЕНИЕ ПОВЫШЕННЫХ ТЕМПЕРАТУР ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ БАКТЕРИЙ ГРУППЫ КИШЕЧНОЙ ПАЛОЧКИ

Для того, чтобы в группе кишечной палочки отличить бактерии человеческого происхождения, имеющие важное значение с гигиеническо-эпидемиологической точки зрения, от других бактерий той-же группы, являющихся доказательством неудовлетворительных санитарных условий на заводах, был разработан новый метод, основанный на культивировании организмов при температуре 43 °C. Повышенная температура дала возможность изолировать преимущественно бактерии *E. coli* типа I и малое количество бактерий смешанных штаммов. Общее количество бактерий группы кишечной палочки в пиве резко увеличивается с падающей температурой культивирования.

APLIKATION HÖHERER TEMPERATUREN BEI DER BESTIMMUNG DER COLIFORMEN MIKROORGANISMEN IN BIER

Es wurde eine Kultivationsmethode bei 43 °C für die Unterscheidung zwischen coliformen Mikroben humaner Herkunft, die hygienisch bzw. epidemiologisch bedeutend sind, von den übrigen, die als Indikatoren der ungenügenden Sanitation gelten, erprobt. Bei der angeführten Temperatur wurden meistens *E. coli* Typ I sowie einige unregelmässige Stämme isoliert. Es wurde bewiesen, dass die Gesamtzahl der coliformen Mikroben im Bier mit der sinkenden Kultivationsstemperatur beträchtlich ansteigt.

HIGHER TEMPERATURES APPLIED FOR THE DETERMINATION OF COLIFORM BACTERIA IN BEER

To separate coliform bacteria of human origin, which are important from hygienic and epidemiological point of view, from other coliform bacteria, which only indicate poor sanitary conditions at the plants in question, a new method has been developed and its principal feature is a higher cultivation temperature, viz. 43 °C. The method permits to separate the majority of *E. coli* of the I type and some irregular strains. It has been found, that the lower is the temperature of cultivation, the higher is the number of coliform bacteria in beer.

