

Product Instructions

 **(EN)** Select *E. coli* Count Plate

 **(FR)** Test pour la numération sélective des *E. coli*

Product Instructions

Select *E. coli* Count Plate

Product Description And Intended Use

The Neogen® Petrifilm® Select *E. coli* Count (SEC) Plate is a sample-ready-culture medium system which contains selective agents, nutrients, a cold-water-soluble gelling agent, and an indicator of glucuronidase activity, 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-D-glucuronide (BCIG), which facilitates colony enumeration. Neogen Petrifilm SEC Plates are used for the enumeration of *Escherichia coli* (*E. coli*) in the food and beverage industries. Most *E. coli* strains are thermotolerant and produce beta-glucuronidase, an enzyme that reacts with BCIG indicator in Neogen Petrifilm SEC Plates to produce dark green to blue-green colonies. Neogen Petrifilm SEC Plate components are decontaminated though not sterilized. Neogen Food Safety is certified to International Organization for Standardization (ISO) 9001 for design and manufacturing. Neogen Petrifilm SEC Plates have not been tested with all possible food products, food processes, testing protocols or with all possible strains of *E. coli* or other bacteria.

Safety

The user should read, understand, and follow all safety information in the instructions for the Neogen Petrifilm SEC Plate. Retain the safety instructions for future reference.

⚠ **WARNING:** Indicates a hazardous situation, which, if not avoided, could result in death or serious injury and/or property damage.

⚠ **CAUTION:** Indicates a hazardous situation, which, if not avoided, could result in minor or moderate injury and/or property damage.

⚠ WARNING

Do not use Neogen Petrifilm SEC Plate for the detection of *E. coli* O157. Like most other *E. coli* media, the Neogen Petrifilm SEC Plate will not specifically indicate whether any O157 strain is present. Because most O157 strains are atypical *E. coli*, for example they are glucuronidase negative and they will not produce a blue-green color, they will not be detected on Neogen Petrifilm SEC Plate.

To reduce the risks associated with release of contaminated product:

- Follow all product storage instruction contained in the instructions for use.
- Do not use beyond expiration date.

To reduce the risk associated with bacterial infection and workplace contamination:

- Perform Neogen Petrifilm SEC Plate testing in a properly equipped laboratory under the control of a skilled microbiologist.
- The user must train its personnel in current proper testing techniques: for example, Good Laboratory Practices¹, ISO 17025², or ISO 7218³.

To reduce the risks associated with misinterpretation of results:

- Neogen has not documented Neogen Petrifilm SEC Plates for use in industries other than food and beverage. For example, Neogen has not documented Neogen Petrifilm SEC Plates for testing water, pharmaceuticals, or cosmetics.
- Do not use Neogen Petrifilm SEC Plates in the diagnosis of conditions in humans or animals.
- Neogen Petrifilm SEC Plates do not differentiate any one *E. coli* strain from another.
- High sugar content foods may decrease the color reaction of the glucuronidase and produce pale green to colorless colonies.

To reduce the risks associated with environmental contamination:

- Follow current industry standards and local regulations for disposal of contaminated waste.

⚠ CAUTION

A few strains of bacteria other than *E. coli*, such as some *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter* and *Klebsiella*, can produce beta-glucuronidase and will produce dark green to blue-green colonies on the Neogen Petrifilm SEC Plate, especially when incubated at lower than recommended temperatures⁴.

If you have questions about specific applications or procedures, please visit our website at www.neogen.com or contact your Neogen representative or authorized distributor.

User Responsibility

Users are responsible for familiarizing themselves with product instructions and information. Visit our website at www.neogen.com, or contact your Neogen representative or authorized distributor for more information.

When selecting a test method, it is important to recognize that external factors such as sampling methods, testing protocols, sample preparation, handling, and laboratory technique may influence results.

It is the user's responsibility in selecting any test method or product to evaluate a sufficient number of samples with the appropriate matrices and microbial challenges to satisfy the user that the chosen test method meets the user's criteria.

It is also the user's responsibility to determine that any test methods and results meet its customers' and suppliers' requirements.

As with any test method, results obtained from use of any Neogen Food Safety product do not constitute a guarantee of the quality of the matrices or processes tested.

Limitation of Warranties / Limited Remedy

EXCEPT AS EXPRESSLY STATED IN A LIMITED WARRANTY SECTION OF INDIVIDUAL PRODUCT PACKAGING, NEOGEN DISCLAIMS ALL EXPRESS AND IMPLIED WARRANTIES, INCLUDING BUT NOT LIMITED TO, ANY WARRANTIES OF MERCHANTABILITY OR FITNESS FOR A PARTICULAR USE. If any Neogen Food Safety Product is defective, Neogen or its authorized distributor will, at its option, replace or refund the purchase price of the product. These are your exclusive remedies. You must promptly notify Neogen within sixty days of discovery of any suspected defects in a product and return it to Neogen. Please contact your Neogen representative or authorized Neogen distributor for any further questions.

Limitation of Neogen Liability

NEOGEN WILL NOT BE LIABLE FOR ANY LOSS OR DAMAGES, WHETHER DIRECT, INDIRECT, SPECIAL, INCIDENTAL OR CONSEQUENTIAL DAMAGES, INCLUDING BUT NOT LIMITED TO LOST PROFITS. In no event shall Neogen's liability under any legal theory exceed the purchase price of the product alleged to be defective.

Storage

Store unopened Neogen Petrifilm SEC Plate pouches refrigerated or frozen at temperatures lower than or equal to 8°C (46°F). Just prior to use, allow unopened pouches to come to room temperature before opening. Return unused Neogen Petrifilm SEC Plates to pouch. Seal by folding the end of the pouch over and applying adhesive tape. **To prevent exposure to moisture, do not refrigerate opened pouches.** Store resealed pouches in a cool dry place for no longer than four weeks. It is recommended that resealed pouches of Neogen Petrifilm SEC Plates be stored in a freezer (see below) if the laboratory temperature exceeds 25°C (77°F) and/or the laboratory is located in a region where the relative humidity exceeds 50% (with the exception of air-conditioned premises).

To store opened pouches in a freezer, place Neogen Petrifilm SEC Plates in a sealable container. To remove frozen Neogen Petrifilm SEC Plates for use, open the container, remove the plates that are needed and immediately return remaining plates to the freezer in the sealed container. Neogen Petrifilm SEC Plates should not be used past their expiration date. The freezer that is used for open pouch storage must not have an automatic defrost cycle as this would repeatedly expose the Neogen Petrifilm SEC Plates to moisture which can damage the plates.

Do not use Neogen Petrifilm SEC Plates that show discoloration. Expiration date and lot number are noted on each package of Neogen Petrifilm SEC Plates. The lot number is also noted on individual Neogen Petrifilm SEC Plates.

⚠ Disposal

After use, Neogen Petrifilm SEC Plates may contain microorganisms that may be a potential biohazard. Follow local, regional, and national regulations for disposal requirements.

Instructions for Use

Follow all instructions carefully. Failure to do so may lead to inaccurate results.

Sample Preparation

1. Use appropriate sterile diluents: Butterfield's phosphate buffered dilution water⁵, 0.1% peptone water⁵, peptone salt diluent⁶, buffered peptone water⁶, quarter-strength Ringer's solution, dipotassium hydrogen phosphate⁶, saline solution (0.85-0.90%), Neogen® Wide-Spectrum Neutralizer⁶, bisulfite-free letheen broth⁶, or distilled water.

See section "Specific Instructions for Validated Methods" for specific requirements.



Do not use diluents containing citrate, bisulfite or thiosulfate with Neogen Petrifilm SEC Plates; they can inhibit growth. If citrate buffer is indicated in the standard procedure, substitute with one of the buffers listed above, warmed to 40–45°C (104–113°F).

2. Blend or homogenize sample.
3. For optimal growth and recovery of microorganisms, adjust the pH of the sample suspension to 6.5 - 7.5. For acidic products, adjust the pH with 1N NaOH. For alkaline products, adjust the pH with 1N HCl.

Plating

1. Place the Neogen Petrifilm SEC Plate on a flat, level surface.
2. Lift the top film and with the pipette perpendicular to the inoculation area dispense 1 mL of sample suspension onto the center of bottom film.
3. Roll the top film down onto the sample to prevent trapping air bubbles.
4. Place the Neogen® Petrifilm® Spreader with the flat side down on the center of the Neogen Petrifilm SEC Plate. Press gently on the center of the Neogen Petrifilm Spreader to distribute the sample evenly. Spread the inoculum over the entire Neogen Petrifilm SEC Plate growth area before the gel is formed. Do not slide the Neogen Petrifilm Spreader across the film.
5. Remove the Neogen Petrifilm Spreader and leave the Neogen Petrifilm SEC Plate undisturbed for at least one minute to permit the gel to form.

Incubation

Incubate Neogen Petrifilm SEC Plates in a horizontal position with the clear side up in stacks of no more than 20 plates. Incubate Neogen Petrifilm SEC Plates 24 hours ± 2 hours at 42°C ± 1°C. Several incubation times and temperatures can be used depending on current local reference methods, some of which are listed in the section below titled “**Specific Instructions for Validated Methods**”.

Interpretation

1. Neogen Petrifilm SEC Plates can be counted using a standard colony counter or other illuminated magnifier. Do not count colonies on the foam dam since they are removed from the selective influence of the medium. Do not count artifact bubbles that may be present. *E. coli* produce dark green to light-green colonies. Colonies may have gas bubbles associated with them. Count all green to blue-green colonies as *E. coli* whether there are gas bubbles present or not.

⚠ WARNING

Do not use the Neogen Petrifilm SEC Plate for the detection of *E. coli* O157. Because most *E. coli* O157 strains are atypical, for example, they are glucuronidase negative, they will not produce a blue-green color, and will not be interpreted as *E. coli* on the Neogen Petrifilm SEC Plates.

2. The circular growth area is approximately 20 cm². Estimates can be made on Neogen Petrifilm SEC Plates containing greater than 150 colonies by counting the number of colonies in two or more representative squares and determining the average number per square. Multiply the average number by 20 to determine the estimated count per Neogen Petrifilm SEC Plate.
3. When colonies are present in large numbers, Neogen Petrifilm SEC Plates will cause the entire growth area to become gray or blue and either or both of the following characteristics: many small, indistinct colonies and/or many gas bubbles. When this occurs, record results as too numerous to count (TNTC). When an actual count is required, plate at a higher dilution.
4. Where necessary, colonies may be isolated for further identification. Lift the top film using proper testing technique and pick the colony from the gel. Test using standard procedures.
5. If the Neogen Petrifilm SEC Plates cannot be counted within 1 hour of removal from the incubator, they may be stored for later enumeration by freezing in a sealable container at temperatures lower than or equal to negative 15°C (5°F) for no longer than one week*.

For further information refer to the “Neogen® Petrifilm® Select *E. coli* Count Plate Interpretation Guide.” If you have questions about specific applications or procedures, please visit our website at www.neogen.com or contact your Neogen representative or authorized distributor.

Specific Instructions for Validated Methods

NF Validation by AFNOR Certification:

NF Validation certified method 3M 01/08–06/01 is in compliance with ISO 16140-2⁷ in comparison to ISO 16649-2⁸

Use the following details when implementing the above Instructions for Use:

Scope of the validation:

For testing all human food products, pet food and industrial environmental samples.

Sample preparation:

Use only ISO listed diluents.

Incubation:

Incubate Neogen Petrifilm SEC Plates 24 hours ± 2 hours at 42°C ± 1°C.

Interpretation:

The Petrifilm SEC Plate has been validated for enumeration using the Petrifilm Plate Reader Advanced (PPRA) and visual interpretation per the general method instructions. Refer to the NF Validation Certificate below for the PPRA software version used in the context of the NF Validation. For instructions on using the PPRA and software, please refer to the user manual. For the latest version visit neogen.com.

*Freezing Petrifilm SEC Plates prior to enumeration is not included in the scope of the NF Validation.

Precautions:

Use good microbiology laboratory practices, such as ISO 7218. Enumeration using a single plate and a single dilution is an option certified in the NF Validation by AFNOR Certification. In this context, the requirements of ISO 7218 concerning the use of two successive dilutions or two plates of the same dilution cannot be applied (see paragraphs “Inoculation” and “Calculation and expression of results”). For sample preparation, refer to ISO 6887 series as specified in the standards. Matrices with a high level of particulate may influence Petrifilm Plate Reader Advanced (PPRA) enumeration and should be reviewed by the user.

For more information about end of validity, please refer to NF Validation certificate available on the website mentioned below.



3M 01/08 –06/01

ALTERNATIVE ANALYTICAL METHODS FOR AGRIBUSINESS

<http://nf-validation.afnor.org/en>

References

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
2. ISO/IEC 17025:2017 General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
3. ISO 7218. Microbiology of the food chain - General requirements and guidance for microbiological examinations.
4. Frampton, E.W. and L. Restaino, 1993. Methods for *Escherichia coli* identification in food, water and clinical samples based on beta-glucuronidase detection. *Journal of Applied Bacteriology* 74, 223-233.
5. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), 8th Edition, Revision A, 1998. Reagents Index for BAM found at: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
6. ISO 6887 (all parts) Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
7. ISO 16140-2:2016 Microbiology of the food chain – Method validation – Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
8. ISO 16649-2:2001 Microbiology of food and animal feeding stuffs- Horizontal method for the enumeration of β-glucuronidase-positive *Escherichia coli* - Part 2: Colony- count technique at 44°C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl βD-glucuronide.

Refer to the current versions of the standard methods listed above.

Explanation Of Symbols

info.neogen.com/symbols

Neogen Food Safety

Neogen Corporation

620 Leshar Place
Lansing, MI 48912 USA
Neogen.com

Neogen Europe Ltd.

The Dairy School
Auchincruive
Ayr, KA6 5HU
Scotland, UK

Neogen Ireland, Ltd.

Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland



Neogen Corporation

620 Leshar Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2025. All rights reserved.
Neogen and Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00840C-1

Instructions relatives au produit

Test pour la numération sélective des *E. coli*

Description du Produit et Utilisation Prévue

Le Test Neogen® Petrifilm® pour la numération sélective des *E. coli* (SEC) est un milieu de culture prêt à l'emploi contenant des agents sélectifs, des éléments nutritifs, un agent gélifiant soluble dans l'eau froide et un indicateur d'activité glucuronidase, 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-D-glucuronide (BCIG), qui facilite le dénombrement des colonies. Les Tests Neogen Petrifilm SEC sont utilisés pour la numération des *Escherichia coli* (*E. coli*) dans les secteurs de l'alimentation et des boissons. La plupart des souches d'*E. coli* sont thermotolérantes et produisent de la bêta-glucuronidase, une enzyme qui réagit avec l'indicateur BCIG présent dans les Tests Neogen Petrifilm SEC pour produire des colonies allant du vert foncé au bleu-vert. Les composants du Test Neogen Petrifilm SEC sont décontaminés, mais pas stérilisés. La conception et la fabrication Neogen Sécurité Alimentaire sont certifiées ISO (International Organization for Standardization) 9001. Les Tests Neogen Petrifilm SEC n'ont pas été testés avec la totalité des produits alimentaires, des processus de transformation des aliments, des protocoles d'analyses, des souches possibles d'*E. coli* ou encore d'autres bactéries.

Consignes de Sécurité

L'utilisateur doit lire attentivement, comprendre et respecter toutes les consignes de sécurité fournies dans le mode d'emploi du Test Neogen Petrifilm SEC. Conserver ces consignes de sécurité pour référence ultérieure.

⚠ **AVERTISSEMENT** : Indique une situation dangereuse qui, si elle n'est pas évitée, pourrait entraîner un décès, des blessures graves et/ou des dommages matériels.

⚠ **MISE EN GARDE** : Indique une situation dangereuse qui, si elle n'est pas évitée, pourrait entraîner des blessures mineures à modérées et/ou des dommages matériels.

⚠ AVERTISSEMENT

Ne pas utiliser le Test Neogen Petrifilm SEC pour la détection d'*E. coli* O157. Comme la plupart des autres milieux pour *E. coli*, le Test Neogen Petrifilm SEC n'indiquera pas spécifiquement la présence d'une souche O157. Étant donné que la plupart des souches d'*E. coli* O157 sont atypiques, elles sont par exemple glucuronidase négatives, elles ne produisent pas de couleur bleu-vert et ne seront pas détectées par le Test Neogen Petrifilm SEC.

Afin de réduire les risques associés à la diffusion de produits contaminés :

- Suivre toutes les instructions relatives à la conservation du produit mentionnées dans les instructions d'utilisation.
- Ne pas l'utiliser au-delà de la date de péremption.

Afin de réduire les risques associés à l'infection bactérienne et à la contamination du lieu de travail :

- Effectuer les analyses au moyen du Test Neogen Petrifilm SEC dans un laboratoire correctement équipé, sous la surveillance d'un microbiologiste compétent.
- L'utilisateur doit former son personnel de manière appropriée aux techniques d'analyses actuelles : par exemple, les bonnes pratiques de laboratoire¹, les normes ISO 17025² ou ISO 7218³.

Afin de réduire les risques associés à une mauvaise interprétation des résultats :

- Neogen n'a pas documenté l'utilisation de ses Tests Neogen Petrifilm SEC dans des secteurs autres que l'industrie alimentaire et les boissons. Neogen n'a, par exemple, pas documenté l'utilisation de ses Tests Neogen Petrifilm SEC pour l'analyse de l'eau, des produits pharmaceutiques ou des cosmétiques.
- Ne pas utiliser les Tests Neogen Petrifilm SEC pour réaliser des diagnostics sur l'homme ou l'animal.
- Les Tests Neogen Petrifilm SEC ne font pas de distinction entre différentes souches d'*E. coli*.
- Les aliments à teneur élevée en sucre risquent d'atténuer la réaction colorée de la glucuronidase et former des colonies de couleur vert pâle, voire incolores.

Pour réduire les risques liés à une contamination environnementale :

- Suivre les normes industrielles actuelles ainsi que la réglementation locale pour le traitement des déchets contaminés.



△ MISE EN GARDE

Certaines souches bactériennes autres que l'*E. coli*, telles que certaines *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter* et *Klebsiella*, peuvent produire de la bêta-glucuronidase et formeront des colonies allant du vert foncé au bleu-vert sur le Test Neogen Petrifilm SEC, en particulier si elles sont incubées à des températures inférieures à celles recommandées⁴.

Consulter la fiche de données de sécurité du produit pour plus de renseignements.

Si vous avez des questions au sujet d'applications ou de procédures spécifiques, veuillez visiter notre site Web à l'adresse www.neogen.com ou contacter votre représentant Neogen ou votre distributeur Neogen agréé.

Responsabilité de L'utilisateur

Les utilisateurs sont tenus de se familiariser avec les instructions et les informations sur les produits. Visitez notre site Web à l'adresse www.neogen.com, ou contactez votre représentant Neogen ou votre distributeur Neogen agréé pour plus d'informations.

Lors du choix d'une méthode de test, il est important d'admettre que des facteurs externes comme les méthodes d'échantillonnage, les protocoles de test, la préparation des échantillons, la manipulation et les techniques de laboratoires peuvent influencer les résultats.

Il incombe à l'utilisateur de sélectionner une méthode d'analyse pour évaluer un nombre suffisant d'échantillons avec les matrices et les épreuves microbiennes appropriées afin de garantir que la méthode d'analyse réponde aux critères de l'utilisateur.

Il incombe également à l'utilisateur de déterminer si une méthode d'analyse et ses résultats répondent aux exigences de ses clients ou fournisseurs.

Comme avec n'importe quelle méthode de test, les résultats obtenus avec ce produit ne constituent pas une garantie de la qualité des matrices ou des processus testés.

Limitation de Garantie/Limites de Recours

SAUF SI EXPRESSÉMENT ÉTABLI DANS LA SECTION DE GARANTIE LIMITÉE D'UN EMBALLAGE DE PRODUIT INDIVIDUEL, NEOGEN RENONCE À TOUTE GARANTIE EXPLICITE ET IMPLICITE, Y COMPRIS, MAIS SANS S'Y LIMITER, TOUTE GARANTIE DE COMMERCIALISATION OU D'ADAPTATION POUR UN USAGE SPÉCIFIQUE. En cas de défaut de tout produit de Sécurité Alimentaire Neogen, Neogen ou son distributeur agréé s'engage, à son entière discrétion, au remplacement ou au remboursement du prix d'achat du produit. Il s'agit de vos recours exclusifs. Tout défaut supposé du produit devra être notifié à Neogen dans un délai de soixante jours et le produit renvoyé au fournisseur. Merci de contacter votre représentant Neogen ou votre distributeur Neogen agréé pour toute autre question.

Limitation de Responsabilité de Neogen

NEOGEN NE SERA PAS TENUE RESPONSABLE DES PERTES OU DES DOMMAGES ÉVENTUELS, QU'ILS SOIENT DIRECTS, INDIRECTS, SPÉCIFIQUES, ACCIDENTELS OU CONSÉCUTIFS, Y COMPRIS, MAIS SANS S'Y LIMITER, LES PERTES DE PROFITS. En aucun cas et en aucune manière, la responsabilité de Neogens ne sera engagée au-delà du prix d'achat du produit prétendu défectueux.

Stockage

Conserver les poches de Test Neogen Petrifilm SEC non ouvertes au réfrigérateur ou au congélateur à des températures inférieures ou égales à 8 °C (46 °F). Les laisser atteindre la température ambiante avant de les ouvrir. Replacer les Tests Neogen Petrifilm SEC non utilisés dans leurs poches. Refermer hermétiquement les poches ouvertes avec un ruban adhésif après avoir replié le côté ouvert sur lui-même. **Ne pas réfrigérer les poches ouvertes pour éviter une exposition à l'humidité.** Les poches rescellées doivent être conservées dans un endroit frais et sec pendant une durée maximale de quatre semaines. Lorsque la température d'un laboratoire dépasse 25 °C (77 °F) et/ou que ce laboratoire est situé dans une région où l'humidité relative dépasse 50 % (à l'exception des locaux climatisés), il est recommandé de conserver les poches de Tests Neogen Petrifilm SEC refermées au congélateur, comme indiqué ci-dessous.

Pour conserver les poches ouvertes des Tests Neogen Petrifilm SEC dans un congélateur, les placer dans un récipient étanche. Pour utiliser des Tests Neogen Petrifilm SEC congelés, sortir les tests de leur récipient et remettre immédiatement les tests restants dans le congélateur, après les avoir replacés dans le récipient étanche. Les Tests Neogen Petrifilm SEC ne doivent pas être utilisés après leur date de péremption. Le congélateur utilisé pour la conservation des poches ouvertes ne doit pas posséder de cycle de dégivrage automatique. En effet, les Tests Neogen Petrifilm SEC pourraient être endommagés en raison d'une exposition répétée à l'humidité.

Ne pas utiliser les Tests Neogen Petrifilm SEC qui présentent des signes de décoloration. La date de péremption et le



numéro de lot figurent sur chacune des poches des Tests Neogen Petrifilm SEC. Le numéro de lot est également indiqué sur tous les Tests Neogen Petrifilm SEC.

△ Mise au Rebut

Après usage, les Tests Neogen Petrifilm SEC peuvent contenir des micro-organismes susceptibles de présenter un risque biologique potentiel. Respecter les normes en vigueur concernant l'élimination des déchets.

Instructions D'utilisation

Suivre attentivement toutes les instructions. Dans le cas contraire, les résultats obtenus risquent d'être inexacts.

Préparation de l'échantillon

1. Utilisez des diluants stériles appropriés : Eau de dilution tamponnée au phosphate de Butterfield⁶, eau peptonée à 0,1 %⁶, diluant de sel peptoné⁶, eau peptonée tamponnée⁶, solution de Ringer diluée au quart⁶, hydrogénophosphate dipotassique⁶, solution saline (0,85-0,90 %), neutralisant à large spectre Neogen⁶, bouillon letheen sans bisulfite⁶ ou eau distillée.

Se référer à la section « **Instructions spécifiques pour méthodes validées** » pour connaître les exigences spécifiques.

Ne pas utiliser de diluants contenant du citrate, du bisulfite ou du thiosulfate avec les Tests Neogen Petrifilm SEC, car ils peuvent inhiber la croissance. Si une solution tampon au citrate est indiquée dans la procédure standard, la remplacer par l'un des tampons cités plus haut, réchauffé à une température de 40 à 45 °C (104 à 113 °F).

2. Mélanger ou homogénéiser l'échantillon.
3. Pour obtenir des conditions de croissance et de recouvrement optimales des micro-organismes, ajuster le pH de l'échantillon dilué entre 6,5 et 7,5. Pour les produits acides, ajuster le pH avec NaOH 1 N. Pour les produits alcalins, ajuster le pH avec HCl 1 N.

Test

1. Placer le Test Neogen Petrifilm SEC sur une surface de travail plane et régulière.
2. Soulever le film supérieur et, en tenant la pipette perpendiculairement à la zone d'inoculation, déposer 1 ml d'échantillon dilué au centre du film inférieur.
3. Recouvrir délicatement l'échantillon avec le film supérieur pour éviter de piéger des bulles d'air.
4. Placer le Neogen® Petrifilm® Diffuseur, face plane au contact du test, au centre du Test Neogen Petrifilm SEC. Répartir l'échantillon uniformément en exerçant une légère pression au centre du Neogen Petrifilm Diffuseur. Répartir l'inoculum sur la totalité de la zone de croissance du Test Neogen Petrifilm SEC avant que le gel ne se forme. Ne pas faire glisser le Neogen Petrifilm Diffuseur sur le film.
5. Retirer le Neogen Petrifilm Diffuseur et laisser reposer le Test Neogen Petrifilm SEC durant au moins une minute afin de laisser le gel se former.

Incubation

Laisser incuber les Tests Neogen Petrifilm SEC à l'horizontale, avec le film transparent vers le haut, en veillant à ne pas empiler plus de 20 tests. Laisser incuber les Tests Neogen Petrifilm SEC pendant 24 heures ± 2 heures à 42 °C ± 1 °C. Plusieurs durées et températures d'incubation peuvent être utilisées en fonction des méthodes de référence locales en vigueur. Certaines d'entre elles figurent dans la section « **Instructions spécifiques pour méthodes validées** ».

Interprétation

1. Le dénombrement à l'aide des Tests Neogen Petrifilm SEC peut se faire à l'aide d'un compteur de colonies standard ou d'une autre source de lumière intense. Ne pas compter les colonies présentes sur le pourtour en mousse, la sélectivité du milieu y est modifiée. Ne pas tenir compte des bulles artefacts qui étaient éventuellement présentes avant l'incubation. *E. coli* produit des colonies de couleur vert foncé à vert clair. Les colonies peuvent être associées à des bulles de gaz. Compter toutes les colonies allant du vert au bleu-vert comme étant des *E. coli*, qu'il y ait des bulles de gaz ou non.

▲ AVERTISSEMENT

Ne pas utiliser le Test Neogen Petrifilm SEC pour la détection des *E. coli* O157. Étant donné que la plupart des souches d'*E. coli* O157 sont atypiques, elles sont par exemple glucuronidase négatives, elles ne produiront pas de couleur bleu-vert et ne seront pas détectées comme étant des *E-coli* par les Tests Neogen Petrifilm SEC.



2. La zone de croissance circulaire est de 20 cm² environ. Des estimations peuvent être faites sur les Tests Neogen Petrifilm SEC contenant plus de 150 colonies, en comptant le nombre de colonies dans deux ou plusieurs carrés représentatifs et en déterminant le nombre moyen par carré. Multiplier ce nombre moyen par 20 pour déterminer le nombre estimé par Test Neogen Petrifilm SEC.
3. La présence d'une forte concentration de colonies sur les Tests Neogen Petrifilm SEC entraîne une coloration grise ou bleue et l'une des deux ou les deux caractéristiques suivantes sur l'ensemble de la zone de croissance : grand nombre de petites colonies indiscernables et/ou grand nombre de bulles de gaz. Lorsque l'un de ces phénomènes se produit, enregistrer le résultat comme incomptable. Lorsqu'un dénombrement plus précis est requis, recommencer l'analyse sur des dilutions plus élevées de l'échantillon.
4. Si nécessaire, les colonies peuvent être isolées pour être identifiées. Soulever le film supérieur selon une technique d'analyse appropriée et prélever la colonie de la surface du gel. Utiliser les procédures standard d'analyse.
5. Si les Tests Neogen Petrifilm SEC ne peuvent pas être lus dans l'heure qui suit leur sortie de l'incubateur, ils peuvent être stockés congelés, dans un récipient étanche, à une température inférieure ou égale à -15 °C (5 °F), pendant une semaine au maximum.

Pour plus d'informations, consulter le « Guide d'interprétation du Test Neogen® Petrifilm® pour la numération sélective des *E. coli* ». Si vous avez des questions au sujet d'applications ou de procédures spécifiques, veuillez visiter notre site Web à l'adresse www.neogen.com ou contacter votre représentant Neogen ou votre distributeur Neogen agréé.

Instructions spécifiques pour méthodes validées

Méthode certifiée par AFNOR Certification :

La méthode certifiée NF Validation 3M 01/08–06/01 est conforme à la norme ISO 16140-2⁷ par rapport à la norme ISO 16649-2⁸.

Utiliser les détails suivants lors de l'application des instructions d'utilisation ci-dessus :

Portée de la validation :

Pour l'analyse de tous les produits alimentaires destinés à la consommation humaine, les produits alimentaires pour animaux et les échantillons environnementaux industriels.

Préparation de l'échantillon :

N'utiliser que des diluants répertoriés dans la norme ISO.

Incubation :

Laisser incuber les Tests Neogen Petrifilm SEC pendant 24 heures ± 2 heures à 42 °C ± 1 °C.

Interprétation :

La plaque Petrifilm SEC a été validée en termes de numération à l'aide du lecteur de plaques Petrifilm Plate Reader Advanced (PPRA) et d'interprétation visuelle conformément aux consignes générales de la méthode. Reportez-vous au certificat de validation NF ci-dessous pour connaître la version du logiciel PPRA utilisée dans le cadre de la validation NF. Pour obtenir des consignes sur l'utilisation du PPRA et du logiciel, consultez le manuel d'utilisation. Pour la version la plus récente, rendez-vous sur neogen.com.

*La congélation des plaques Petrifilm SEC avant la numération n'est pas visée par la validation NF.

Précautions :

Respecter les bonnes pratiques de laboratoire en microbiologie, notamment la norme ISO 7218. La numération à l'aide d'une seule plaque et d'une seule dilution est une option certifiée dans la validation NF par AFNOR Certification. Dans ce contexte, les exigences de la norme ISO 7218 relative à l'utilisation de deux dilutions successives ou de deux plaques de même dilution ne sont pas applicables (voir les paragraphes « Inoculation » et « Calcul et expression des résultats »). Pour la préparation d'échantillons, se reporter à la série ISO 6887 conformément aux dispositions des normes. Les matrices contenant un niveau élevé de particules sont susceptibles de fausser les résultats obtenus avec le lecteur Petrifilm Plate Reader Advanced (PPRA) et devraient être vérifiées par l'utilisateur.

Pour plus d'informations sur la fin de validité, veuillez vous référer au certificat NF Validation disponible sur le site mentionné ci-après.



3M 01/08 – 06/01

MÉTHODES ALTERNATIVES D'ANALYSE POUR L'AGROALIMENTAIRE<http://nf-validation.afnor.org/en>

Pour plus d'information sur l'expiration de la validité, se reporter au certificat NF VALIDATION disponible sur le site Internet cité ci-dessus.

Références

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
2. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
3. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
4. Frampton, E.W. and L. Restaino, 1993. Methods for *Escherichia coli* identification in food, water and clinical samples based on beta-glucuronidase detection. *Journal of Applied Bacteriology* 74, 223-233.
5. FDA. Bacteriological Analytical Manual (BAM), 8th Edition, Revision A, 1998. Reagents Index for BAM found at: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm055791.htm>.
6. ISO 6887 Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.
7. ISO 16140-2. Microbiology of the food chain – Method Validation – Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.
8. ISO 16649-2: Microbiology of food and animal feeding stuffs- Horizontal method for the enumeration of β -glucuronidase-positive *Escherichia coli* - Part 2: Colony- count technique at 44°C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl β D-glucuronide.

Se reporter aux versions en cours de validité des méthodes normalisées citées plus haut.

Explication des Symboles

info.neogen.com/symbols

Neogen Food Safety

Neogen Corporation

620 Leshar Place
Lansing, MI 48912 USA
Neogen.com

Neogen Europe Ltd.

The Dairy School
Auchincruive
Ayr, KA6 5HU
Scotland, UK

Neogen Ireland, Ltd.

Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland



Neogen Corporation

620 Leshar Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2025. All rights reserved.
Neogen and Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00840C-1