

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
3 janvier 2002 (03.01.2002)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 02/00922 A1

- (51) Classification internationale des brevets⁷ : C12Q 1/04
- (21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR01/02033
- (22) Date de dépôt international : 27 juin 2001 (27.06.2001)
- (25) Langue de dépôt : français
- (26) Langue de publication : français
- (30) Données relatives à la priorité :
00/08237 27 juin 2000 (27.06.2000) FR
- (71) Déposant et
(72) Inventeur : RAMBACH, Alain [FR/FR]; 73, boulevard
du Montparnasse, F-75006 Paris (FR).
- (74) Mandataires : MARTIN, Jean-Jacques etc.; Cabinet
Regimbeau, 20, rue de Chazelles, F-75847 Paris Cedex 17
(FR).
- (81) États désignés (*national*) : AU, CA, JP, US.
- (84) États désignés (*régional*) : brevet européen (AT, BE, CH,
CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT,
SE, TR).
- Publiée :**
— avec rapport de recherche internationale
- En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrévia-
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de
la Gazette du PCT.*



WO 02/00922 A1

(54) Title: VIBRIO BACTERIA DETECTION AND/OR DIFFERENTIATION

(54) Titre : DETECTION ET/OU DISCRIMINATION DES BACTERIES DU GENRE VIBRIO

(57) Abstract: The invention concerns a culture medium for isolating *Vibrio* bacteria, characterised in that it comprises, in a *Vibrio* culture medium, at least a chromogenic agent selected among the β -glucosidase substrates and the β -galactosidase substrates.

(57) Abrégé : La présente invention concerne un milieu de culture destiné à mettre en évidence les bactéries du genre *Vibrio*, caractérisé en ce qu'il comporte, dans un milieu de culture de *Vibrio*, au moins un agent chromogène choisi parmi les substrats de la β -glucosidase et les substrats de la β -galactosidase.

DETECTION ET/OU DISCRIMINATION DES BACTERIES DU GENRE VIBRIO

La présente invention concerne un milieu de culture chromogène destiné à
5 mettre en évidence les bactéries du genre *Vibrio*.

Le genre *Vibrio* est associé au choléra (*V. cholerae*) et à plusieurs autres
pathologies cliniques. En particulier, *V. parahaemolyticus* est responsable de
certaines gastro-entérites aiguës, en particulier au Japon, observées après ingestion
d'aliments contaminés (généralement des produits de la mer, poissons, coquillages,
10 crustacés ou mollusques crus ou peu cuits).

La transmission du vibrion cholérique s'effectue généralement d'homme à
homme (vomissements, matières fécales, sueurs), ou par l'intermédiaire d'aliments
contaminés. Par ailleurs, on trouve naturellement les vibrions dans la flore
microbienne des eaux côtières et estuariennes. Parmi leurs hôtes naturels, on
15 compte les mollusques, crustacés, poissons, échinodermes, ou les planctons.

Les infections à vibrions posent un problème de santé publique, et il est
donc important de disposer d'un test fiable et rapide permettant de détecter les
contaminations alimentaires par ces bactéries.

Il existe aujourd'hui des milieux de culture plus ou moins sélectifs qui
20 permettent de détecter la présence de vibrions dans des échantillons. En particulier,
on utilise la gélose TCBS (Thiosulfate de sodium – Citrate de sodium – Bile de
bœuf – Saccharose)(Diagnostics Pasteur, réf. 69456 ; Oxoid, réf. CM 333 ; Merck,
réf. 10263). La grande majorité des entérobactéries et les entérocoques poussent peu
ou pas du tout sur ce milieu par rapport aux vibrions.

25 La gélose TTG (Taurocholate – Tellurite – Gélatine) est également utilisée,
mais est relativement fastidieux à préparer, nécessitant des contrôles réguliers et un
dosage rigoureux du tellurite de potassium.

Un des inconvénients du milieu TCBS est qu'il ne permet généralement pas
de discriminer entre les différentes espèces de vibrions. Il conviendrait en effet de
30 pouvoir identifier l'espèce de *Vibrio* présente dans l'échantillon analysé. En
particulier, il serait avantageux de pouvoir identifier la présence et de discriminer *V.*
cholerae, *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*. Cette dernière espèce n'est que
rarement associée à des pathologies diarrhéiques, mais est probablement l'entité la

plus fréquemment isolée dans les pays à climat tempéré, dans une grande diversité d'échantillons cliniques.

Afin d'améliorer l'évaluation du risque sanitaire, il convient donc de pouvoir discriminer les différents types de vibrions pouvant être présents dans des échantillons (alimentaires, fèces...), de façon plus fine que ce qui était obtenu par les milieux précédents, qui ne pouvaient que différencier les bactéries saccharose⁺ (telles *V. alginolyticus* ou *V. cholerae*) des bactéries saccharose⁻ (telles *V. parahaemolyticus*).

La présente invention se propose de fournir un nouveau milieu de culture, pour la détection et/ou la discrimination de bactéries du genre *Vibrio*, caractérisé en ce qu'il comporte, dans un milieu de culture de *Vibrio*, au moins un agent chromogène choisi parmi les substrats de la β -glucosidase et les substrats de la β -galactosidase.

L'agent chromogène substrat d'une des enzymes citées ci-dessus comprend un chromophore, qui est libéré par l'hydrolyse du substrat par son enzyme. Ainsi, la colonie bactérienne se colore en fonction du chromophore libéré.

De façon préférée, ledit chromophore est choisi parmi les dérivés indoxyle, halogéno-indoxyle (bromo-indoxyle, chloro-indoxyle, fluoro-indoxyle, iodo-indoxyle, dichloro-indoxyle, chloro-bromo-indoxyle, tri-chloro-indoxyle), le méthyl-indoxyle, ou hydroxy-quinoline. Des dérivés préférés sont choisis en particulier parmi les dérivés suivants : 6-chloro-indoxyle, 5-bromo-indoxyle, 3-bromo-indoxyle, 6-fluoro-indoxyle, 5-iodo-indoxyle, 4,6-dichloro-indoxyle, 6,7-dichloro-indoxyle, 5-bromo-4-chloro-indoxyle, 5-bromo-6-chloro-indoxyle, 4,6,7-trichloro-indoxyle, N-méthyl-indoxyle et 8-hydroxy-quinoline.

Ainsi, de façon préférée, le substrat de la β -glucosidase est un indoxyl-glucoside, et/ou le substrat de la β -galactosidase est un indoxyl-galactoside.

La concentration de chaque agent chromogène dans le milieu est comprise entre environ 0,02 et 0,5 g/l. Une concentration préférée est 0,1 g/l.

V. parahaemolyticus est décrit comme négatif pour le caractère β -glucosidase (galerie d'identification Rapid 20E de la société BioMérieux, Marcy l'Etoile, France), et comme positif pour le caractère β -galactosidase (galerie d'identification API 20 NE de la société BioMérieux, op. cit.).

De façon surprenante, l'invention montre que *V. parahaemolyticus* peut présenter un phénotype inverse pour ces deux caractères sur milieu solide. Ainsi, l'utilisation d'un agent chromogène substrat pour la β -glucosidase permet de colorer les colonies sur milieu solide, alors qu'elles restent incolores lorsqu'un agent chromogène substrat pour la β -galactosidase est utilisé.

Il est toutefois difficile de distinguer et discriminer *V. parahaemolyticus* de *V. alginolyticus*, qui sont souvent trouvés dans les mêmes échantillons d'origine marine, car ces deux espèces présentent de nombreux caractères communs. Ainsi, les deux espèces sont toutes deux positives pour le caractère β -glucosidase. De façon surprenante, l'ajout de saccharose au milieu selon l'invention, en particulier à une concentration élevée, permet de faire disparaître l'activité β -glucosidase de *V. alginolyticus*, tout en la laissant subsister chez *V. parahaemolyticus*. Ainsi, le milieu selon l'invention permet de discriminer aisément *V. parahaemolyticus* de *V. alginolyticus*, par simple coloration ou absence de coloration des colonies présentes sur le milieu de culture.

Une concentration élevée de saccharose doit être considérée comme une concentration en saccharose supérieure à 5 g/l, de préférence, comprise entre 5 g/l et 35 g/l. Une concentration de saccharose efficace est 20 g/l.

La présente invention permet également de détecter *V. cholerae*, et de le discriminer par rapport aux deux autres espèces citées ci-dessus. En effet, *V. cholerae* présente une activité β -galactosidase, sans présenter d'activité β -glucosidase. Ainsi, l'ajout d'un agent chromogène substrat pour la β -galactosidase dans un milieu de culture des *Vibrio* permet de distinguer *V. cholerae* des autres vibrions, par coloration des colonies formées.

Afin de pouvoir discriminer les différentes bactéries en une étape, il est donc intéressant d'utiliser un milieu de culture qui comporte à la fois un agent chromogène substrat de la β -galactosidase et un agent chromogène substrat de la β -glucosidase.

En effet, l'ajout de saccharose dans le milieu de culture ne fait pas disparaître le caractère β -galactosidase de *V. cholerae*. Ce résultat est d'autant plus surprenant qu'une inhibition est observée pour *V. alginolyticus*, qui présente le même caractère saccharose⁺ que *V. cholerae*.

Ainsi, l'utilisation d'un milieu de culture comportant à la fois un agent chromogène substrat de la β -galactosidase et un agent chromogène substrat de la β -glucosidase permet de différencier *V. parahaemolyticus* (mauve lorsque le 5-bromo-6-chloro-3-indoxyl- β -glucoside est utilisé), *V. cholerae* (bleu lorsque le 5-bromo-4-chloro-3-indoxyl- β -galactoside est utilisé), et *V. alginolyticus* (incolore). Un tel milieu selon l'invention permet donc la détection et la discrimination de trois souches différentes de vibrions, alors que les milieux de l'art antérieur ne permettent d'obtenir qu'une différenciation en deux catégories (saccharose⁺ et saccharose⁻).

10 La présente invention est également dirigée vers un procédé de détection et/ou de discrimination des bactéries du genre *Vibrio* dans un échantillon, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes suivantes :

- a. inoculer un milieu de culture selon l'invention avec ledit échantillon ou un inoculum dérivé de l'échantillon,
- 15 b. détecter la présence de bactéries du genre *Vibrio* sur ledit milieu de culture,
- c. de façon optionnelle, différencier *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, et *V. alginolyticus* présents sur ledit milieu de culture.

20 L'utilisation de ces milieux est généralement précédée d'une étape d'enrichissement, par des méthodes connues de l'homme du métier. On peut utiliser en particulier de l'eau peptonée alcaline à 1 g % de NaCl (pH 8,6), ou de l'eau peptonée alcaline à 3 g % de NaCl.

25 Divers facteurs sélectifs pour *Vibrio* bien connus de l'homme du métier peuvent être ajoutés dans le milieu de la présente invention. Ainsi, la présence d'un pH alcalin, de thiosulfate, de citrate, de bile, de sel biliaire, de magnésium, de calcium, de teepol, de SDS, de Polyximine, de colistine, de tellurite... permettent d'améliorer les propriétés du milieu selon l'invention, et d'isoler les *Vibrio* de manière satisfaisante.

30

EXEMPLES

Exemple 1

Un milieu préféré pour la mise en œuvre de l'invention comprend (pour un litre) :

5	- Agar	15 g
	- Peptone	15 g
	- Extrait de levure	3 g
	- NaCl	10 g
	- 5-bromo-6-chloro-3-indoxyl- β -glucoside	0,1 g
10	- 5-bromo-4-chloro-3-indoxyl- β -galactoside	0,1 g
	- Saccharose	20 g
	- Glucose	1 g
	- Lactose	0,1 g
	- IPTG	0,04 g
15	- Trizma Base	5 g
	- Citrate de sodium	10 g
	- Thiosulfate de sodium	10 g
	- Cholate de sodium	3 g

20 Exemple 2

L'étalement de bactéries sur différents milieux a donné les résultats suivants.

	TCBS	BTB-Teepol	Milieu de l'invention (Exemple 1)
<i>V. cholerae</i>	Jaune	Jaune	Bleu
<i>V. alginolyticus</i>	Jaune	Jaune	Incolore
<i>V. parahaemolyticus</i>	Vert	Bleu-vert	Mauve

25 L'utilisation du milieu selon l'invention permet donc de discriminer les trois espèces de vibrions, par rapport aux milieux de l'art antérieur.

Revendications

1. Milieu de culture pour la détection et/ou la discrimination de bactéries du genre *Vibrio*, caractérisé en ce qu'il comporte, dans un milieu de culture de *Vibrio*, au moins un agent chromogène choisi parmi les substrats de la β -glucosidase.
5
2. Milieu de culture selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il contient en outre une concentration élevée de saccharose.
3. Milieu de culture pour la détection et/ou la discrimination de bactéries du genre *Vibrio*, caractérisé en ce qu'il comporte, dans un milieu de culture de *Vibrio*, au moins un agent chromogène choisi parmi les substrats de la β -galactosidase, et
10 une concentration élevée de saccharose.
4. Milieu de culture selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que ledit agent chromogène libère, par hydrolyse, un chromophore choisi parmi les dérivés indoxyle, halogéno-indoxyle (bromo-indoxyle, chloro-indoxyle, fluoro-indoxyle, iodo-indoxyle, dichloro-indoxyle, chloro-bromo-indoxyle, tri-chloro-indoxyle), méthyl-indoxyle, ou hydroxy-quinoline, en particulier les dérivés
15 suivants : 6-chloro-indoxyle, 5-bromo-indoxyle, 3-bromo-indoxyle, 6-fluoro-indoxyle, 5-iodo-indoxyle, 4,6-dichloro-indoxyle, 6,7-dichloro-indoxyle, 5-bromo-4-chloro-indoxyle, 5-bromo-6-chloro-indoxyle, 4,6,7-trichloro-indoxyle, N-méthyl-indoxyle ou 8-hydroxy-quinoline.
20
5. Milieu de culture selon l'une des revendications 1, 2 ou 4, caractérisé en ce que ledit substrat de la β -glucosidase est un indoxyl-glucoside.
6. Milieu de culture selon la revendication 5, caractérisé en ce que le substrat de la β -glucosidase est le 5-bromo-6-chloro-3-indoxyl- β -glucoside.
- 25 7. Milieu de culture selon la revendication 3 ou 4, caractérisé en ce que ledit substrat de la β -galactosidase est un indoxyl-galactoside.
8. Milieu de culture selon la revendication 7, caractérisé en ce que le substrat de la β -galactosidase est le 5-bromo-4-chloro-3-indoxyl- β -galactoside.
9. Milieu de culture selon l'une des revendications 1 à 8, caractérisé en ce qu'il
30 contient à la fois au moins un agent chromogène substrat de la β -glucosidase et au moins un agent chromogène substrat de la β -galactosidase.

10. Milieu de culture selon l'une des revendications 1 à 9, caractérisé en ce qu'il comporte en outre des facteurs sélectifs pour *Vibrio*.

11. Milieu de culture selon l'une des revendications 1 à 10, caractérisé en ce qu'il comprend (pour un litre) :

5	- Agar	15 g
	- Peptone	15 g
	- Extrait de levure	3 g
	- NaCl	10 g
	- 5-bromo-6-chloro-3-indoxyl- β -glucoside	0,1 g
10	- 5-bromo-4-chloro-3-indoxyl- β -galactoside	0,1 g
	- Saccharose	20 g
	- Glucose	1 g
	- Lactose	0,1 g
	- IPTG	0,04 g
15	- Trizma Base	5 g
	- Citrate de sodium	10 g
	- Thiosulfate de sodium	10 g
	- Cholate de sodium	3 g

12. Utilisation d'un milieu de culture tel que défini dans l'une des revendications 1 à 11 pour la détection et/ou la discrimination des bactéries du genre *Vibrio*.

13. Procédé de détection et/ou discrimination des bactéries du genre *Vibrio* dans un échantillon, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes suivantes :

- a. inoculer un milieu de culture tel que défini dans l'une des revendications 1 à 11 avec ledit échantillon ou un inoculum dérivé de l'échantillon,
- b. détecter la présence de bactéries du genre *Vibrio* sur ledit milieu de culture,
- c. de façon optionnelle, différentier *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, et *V. alginolyticus* présents sur ledit milieu de culture.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 01/02033

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 C12Q1/04

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C12Q

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	O'BRIEN M ET AL: "MODIFIED TAUROCHOLATE-TELLURITE-GELATIN AGAR FOR IMPROVED DIFFERENTIATION OF VIBRIO-SPP" JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, vol. 22, no. 6, 1985, pages 1011-1013, XP001003084 ISSN: 0095-1137 the whole document	3,12,13
A	US 4 308 346 A (NIWANO KIYOSHI) 29 December 1981 (1981-12-29) abstract; tables 1-3	1,11

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *G* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

2 October 2001

Date of mailing of the international search report

10/10/2001

Name and mailing address of the ISA
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Hart-Davis, J

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 01/02033

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>CHANG TSUNG C ET AL: "Development of a latex agglutination test for the rapid identification of <i>Vibrio parahaemolyticus</i>." JOURNAL OF FOOD PROTECTION, vol. 57, no. 1, 1994, pages 31-36, XP001003097 ISSN: 0362-028X the whole document</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1-13
A	<p>CHATTERJEE B D ET AL: "STUDIES ON THE BETA D GALACTOSIDASE ACTIVITY OF <i>VIBRIO-PARAHAEMOLYTICUS</i>" INDIAN JOURNAL OF MEDICAL RESEARCH, vol. 60, no. 6, 1972, pages 831-833, XP001003086 ISSN: 0019-5340 the whole document</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1-13
A	<p>BHATTACHARYA G ET AL: "STUDIES ON BETA GALACTOSIDASE ACTIVITY IN <i>VIBRIO-ELTOR</i>" CANADIAN JOURNAL OF MICROBIOLOGY, vol. 20, no. 6, 1974, pages 897-898, XP001003041 ISSN: 0008-4166 the whole document</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1-13
P,A	<p>MAUGERI T L ET AL: "Potentially pathogenic vibrios in brackish waters and mussels." JOURNAL OF APPLIED MICROBIOLOGY, vol. 89, no. 2, August 2000 (2000-08), pages 261-266, XP001003099 ISSN: 1364-5072 the whole document</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-13

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 01/02033

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 4308346 A	29-12-1981	JP 1138494 C	11-03-1983
		JP 56039635 B	14-09-1981
		JP 56048897 A	02-05-1981
		DE 3007579 A1	02-04-1981
		FR 2465782 A1	27-03-1981
		GB 2059435 A ,B	23-04-1981
		IT 1127366 B	21-05-1986

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale No
PCT/FR 01/02033

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE CIB 7 C12Q1/04				
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB				
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE				
Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) CIB 7 C12Q				
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche				
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés) EPO-Internal, BIOSIS				
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS				
Catégorie °	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées		
A	O'BRIEN M ET AL: "MODIFIED TAUROCHOLATE-TELLURITE-GELATIN AGAR FOR IMPROVED DIFFERENTIATION OF VIBRIO-SPP" JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, vol. 22, no. 6, 1985, pages 1011-1013, XPO01003084 ISSN: 0095-1137 le document en entier ---	3, 12, 13		
A	US 4 308 346 A (NIWANO KIYOSHI) 29 décembre 1981 (1981-12-29) abrégé; tableaux 1-3 --- -/--	1, 11		
<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 50%; border: none;"><input checked="" type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents</td> <td style="width: 50%; border: none;"><input checked="" type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe</td> </tr> </table>			<input checked="" type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents	<input checked="" type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe
<input checked="" type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents	<input checked="" type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe			
° Catégories spéciales de documents cités:				
A document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent *E* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date *L* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée) *O* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens *P* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée	*T* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention *X* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément *Y* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier *&* document qui fait partie de la même famille de brevets			
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée	Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale			
2 octobre 2001	10/10/2001			
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale	Fonctionnaire autorisé			
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Hart-Davis, J			

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale No

PCT/FR 01/02033

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie °	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	<p>CHANG TSUNG C ET AL: "Development of a latex agglutination test for the rapid identification of Vibrio parahaemolyticus." JOURNAL OF FOOD PROTECTION, vol. 57, no. 1, 1994, pages 31-36, XP001003097 ISSN: 0362-028X le document en entier</p> <p style="text-align: center;">----</p>	1-13
A	<p>CHATTERJEE B D ET AL: "STUDIES ON THE BETA D GALACTOSIDASE ACTIVITY OF VIBRIO-PARAHAEMOLYTICUS" INDIAN JOURNAL OF MEDICAL RESEARCH, vol. 60, no. 6, 1972, pages 831-833, XP001003086 ISSN: 0019-5340 le document en entier</p> <p style="text-align: center;">----</p>	1-13
A	<p>BHATTACHARYA G ET AL: "STUDIES ON BETA GALACTOSIDASE ACTIVITY IN VIBRIO-ELTOR" CANADIAN JOURNAL OF MICROBIOLOGY, vol. 20, no. 6, 1974, pages 897-898, XP001003041 ISSN: 0008-4166 le document en entier</p> <p style="text-align: center;">----</p>	1-13
P,A	<p>MAUGERI T L ET AL: "Potentially pathogenic vibrios in brackish waters and mussels." JOURNAL OF APPLIED MICROBIOLOGY, vol. 89, no. 2, août 2000 (2000-08), pages 261-266, XP001003099 ISSN: 1364-5072 le document en entier</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-13

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande Internationale No

PCT/FR 01/02033

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)		Date de publication
US 4308346	A	29-12-1981	JP	1138494 C	11-03-1983
			JP	56039635 B	14-09-1981
			JP	56048897 A	02-05-1981
			DE	3007579 A1	02-04-1981
			FR	2465782 A1	27-03-1981
			GB	2059435 A , B	23-04-1981
			IT	1127366 B	21-05-1986
