



ADIAVET™ APP

TEST POUR LA DETECTION ET TYPAGE *D'ACTINOBACILLUS
PLEUROPNEUMONIAE* PAR AMPLIFICATION ENZYMATIQUE DE GENE

Références :

ADI032-50 (50 réactions)
ADI032-100 (100 réactions)

ADIAVET™ APP

HISTORIQUE DES REVISIONS	- 3 -
PRÉAMBULE	- 4 -
I. INFORMATIONS GENERALES	- 5 -
1. But de l'essai.....	- 5 -
2. <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	- 5 -
4. Description et principe du test	- 5 -
II. MATERIEL ET REACTIFS.....	- 7 -
1. Réactifs fournis dans le kit.....	- 7 -
2. Validité et conservation	- 7 -
3. Utilisation des témoins APP CTL+	- 7 -
4. Matériel nécessaire mais non fourni	- 7 -
III. EXTRACTION DE L'ADN	- 9 -
1. Précautions - instructions de sécurité	- 9 -
2. Conservation des échantillons et des extraits d'ADN.....	- 9 -
IV. EXTRACTIONS ET PURIFICATIONS.....	- 10 -
1. Extraction avec le kit QIAamp® DNA Mini kit	- 10 -
2. Extraction avec le kit NucleoSpin® Tissue	- 11 -
3. Extraction à partir de culture bactérienne	- 12 -
IV. AMPLIFICATION	- 13 -
V. LECTURE ET INTERPRETATION DES RESULTATS.....	- 14 -
1. Détection des produits amplifiés.....	- 14 -
2. Validation et interprétation des résultats.....	- 14 -
☐ a- Validation du test.....	- 14 -
☐ b- Interprétation des résultats.....	- 14 -
VI. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :	- 16 -
VII. TABLE DES SYMBOLES.....	- 17 -

Historique des révisions

N/A	Non Applicable (première publication)
Correction	Correction des anomalies du document
Modification technique	Addition, révision et/ou suppression d'information liée au produit
Administratif	Modifications non techniques notables pour l'utilisateur

NB : toute modification mineure, typographique grammaticale et mise en page, ne figurent pas l'historique des révisions

Date d'édition	Référence	Type de révision	Révision apportée
2017/01	NF032-01	N/A	Non Applicable (première publication)
2020/01	NF032-02	Modification technique	Ajout d'un tube d'eau dans le kit

Préambule

Le kit ADIAVET™ APP (Références ADI032-50 et ADI032-100) contient strictement les mêmes réactifs d'Amplification A1 et A2 que ceux contenus dans la version précédente ADI031-0, seules les conditions de stockage de ces 2 réactifs changent afin d'augmenter leur stabilité à 18 mois.

Les performances sont les mêmes.

Le kit ADIAVET™ APP (Références ADI032-50 et ADI032-100) peut être utiliser pour le typage des échantillons positifs identifiés avec le kit ADIAVET™ APP REAL TIME Référence ADI033-100 (kit PCR en temps réel pour la détection de tous les sérotypes d'*A. pleuropneumoniae*) à partir des ADN déjà extraits.

I. Informations générales

1. But de l'essai

Le kit ADIAVET™ APP permet de détecter *Actinobacillus pleuropneumoniae* par amplification enzymatique (PCR conventionnelle) et le typage en 4 groupes, à partir de brochette et de biopsie d'amygdale ou de fragment de poumon issu de porc ainsi que sur culture.

2. *Actinobacillus pleuropneumoniae*

Actinobacillus pleuropneumoniae (APP) est l'agent étiologique de la pleuropneumonie hémorragique du porc ou actinobacillose. Cette maladie est à l'origine de pertes économiques dans de très nombreux élevages industriels (Gottschalk, 2012). *A. pleuropneumoniae* est un coccobacille Gram- pléomorphe appartenant à la famille des Pasteurellaceae (Borr, 1991).

Les besoins en NAD divisent l'espèce *A. pleuropneumoniae* en 2 biovars : le biovar 1, dont les souches sont NAD-dépendantes et le biovar 2, dont les souches sont NAD-indépendantes. Le sérotypage des souches d'*A. pleuropneumoniae* est basé sur les antigènes de la capsule polysaccharidique (Mittal *et al.*, 1983). Il a permis la distinction de 15 sérotypes, les sérotypes 1 et 5 étant respectivement subdivisés en 1a, 1b et 5a, 5b (Nielsen, 1986 - Jolie *et al.*, 1994). Il existe 4 cytotoxines protéiques (apxl, apxII, apxIII et apxVI). La combinaison des toxines rend le sérotype plus ou moins virulent. La prévalence des sérotypes varie entre les pays et au cours du temps (Gottschalk, 2015). La bactérie est fréquemment isolée au niveau des cavités nasales, des amygdales et des poumons.

On sait aujourd'hui que d'autres bactéries appartenant à la famille des Pasteurellaceae sont également présentes au niveau des voies respiratoires supérieures du porc, *Haemophilus parasuis* (agent causal de la maladie de Glasser), *Actinobacillus minor*, *Actinobacillus porcicus*, *Actinobacillus indolicus* et *Actinobacillus* taxon C (Moller *et al.*, 1996).

L'ensemble de ces espèces partage un certain nombre de caractères biochimiques avec *Actinobacillus pleuropneumoniae*, ce qui rend leur identification parfois délicate.

4. Description et principe du test

Ce test repose sur l'amplification enzymatique de gène ou technique PCR.
Les produits amplifiés sont visualisés sur un gel d'agarose 2%.

Le kit ADIAVET™ APP peut détecter simultanément

- *A. pleuropneumoniae* sous 4 groupes :

Typage PCR	Sérotypie
Groupe I	Sérotypes 1-9-11-12*-14
Groupe II	Sérotypes 5a-5b-10
Groupe III	Sérotypes 2-4-7-8-12
Groupe IV**	Sérotypes 3-4*-6-7-13-15

* seules les souches de référence des sérotypes 4 et 12 sont dans ces groupes.

** Certaines souches d'*Actinobacillus lignieresii* peuvent également donner un résultat positif

- Un contrôle interne d'amplification spécifique d'un ADN exogène

Adiagène a validé ce test avec différents kits de purification d'ADN (Qiagen et Macherey-Nagel). D'autres kits de purification peuvent être utilisés s'ils sont validés par l'utilisateur.

Types de prélèvements et options d'analyse correspondantes :

Prélèvement	Analyse individuelle
Biopsie/Tissu	☒
Brossette/écouvillon	☒
Culture bactérienne	☒

II. Matériel et réactifs

1. Réactifs fournis dans le kit

REF ADI032-50		
A1	solution d'amplification n°1	2 x 1250 µl tubes à bouchon rouge (Réactif prêt à l'emploi)
A2	solution d'amplification n°2	1 x 60 µl tube à bouchon rouge (Réactif prêt à l'emploi)
E1	Marqueur de taille	1 x 100 µl tube à bouchon incolore (Réactif prêt à l'emploi)
E2	Tampon de charge	1 x 500 µl tube à bouchon bleu (Réactif prêt à l'emploi)
App I CTL+	contrôle positif A. <i>pleuropneumoniae</i> groupe I	1 tube à bouchon violet (A reconstituer)
App II CTL+	contrôle positif A. <i>pleuropneumoniae</i> groupe II	1 tube à bouchon violet (A reconstituer)
App III CTL+	contrôle positif A. <i>pleuropneumoniae</i> groupe III	1 tube à bouchon violet (A reconstituer)
App IV CTL+	contrôle positif A. <i>pleuropneumoniae</i> groupe IV	1 tube à bouchon violet (A reconstituer)
NF-Water	Eau Nuclease free	1 x 1000 µl tube à bouchon blanc (Réactif prêt à l'emploi)
REF ADI032-100		
A1	solution d'amplification n°1	4 x 1250 µl tubes à bouchon rouge (Réactif prêt à l'emploi)
A2	solution d'amplification n°2	2 x 60 µl tubes à bouchon rouge (Réactif prêt à l'emploi)
E1	Marqueur de taille	1 x 100 µl tube à bouchon incolore (Réactif prêt à l'emploi)
E2	Tampon de charge	1 x 1000 µl tube à bouchon bleu (Réactif prêt à l'emploi)
App I CTL+	contrôle positif A. <i>pleuropneumoniae</i> groupe I	1 tube à bouchon violet (A reconstituer)
App II CTL+	contrôle positif A. <i>pleuropneumoniae</i> groupe II	1 tube à bouchon violet (A reconstituer)
App III CTL+	contrôle positif A. <i>pleuropneumoniae</i> groupe III	1 tube à bouchon violet (A reconstituer)
App IV CTL+	contrôle positif A. <i>pleuropneumoniae</i> groupe IV	1 tube à bouchon violet (A reconstituer)
NF-Water	Eau Nuclease free	1 x 1000 µl tube à bouchon blanc (Réactif prêt à l'emploi)

2. Validité et conservation

A réception, le kit doit être stocké à **<-15°C**.

Il est recommandé d'aliquoter les réactifs « A1 » et « A2 » si le nombre d'analyses à effectuer nécessite plus de trois décongelations.

Ne pas décongeler plus de 3 fois.

Ne pas mélanger des réactifs de différents lots.

A l'ouverture du kit, les solutions E1 et E2 doivent être stockés à température ambiante (+18/25°C) et uniquement dans la salle d'analyse des produits amplifiés.

3. Utilisation des témoins APP CTL+

Les tubes « APP CTL+ » sont des témoins positifs d'amplification.

Ajouter **200 µl** "NF-Water" à chaque tube et vortexer au moins 20 secondes.

Aliquoter cette solution par 6 ou 12 µl et conserver à **<-15°C**.

Pour chaque analyse, utiliser 2 µl de chaque « APP contrôle positif » dans des puits indépendants.

Amplifier chacune des bandes séparément pour une meilleure visibilité sur gel.

4. Matériel nécessaire mais non fourni

Attention : le consommable utilisé doit être Nuclease-free ou autoclavé 25 minutes à +120°C.

- Un thermocycleur avec son consommable pour PCR : tubes PCR de 0,2 ml ou plaques PCR 96 puits fermées
- Une centrifugeuse pour microtubes
- Microtubes stériles de 1,5 ml et 2 ml
- Un vortex
- 2 bain(s)-marie(s), étuve(s) et/ou bloc(s) chauffant(s)
- Gants latex
- Pipettes de 1-10 µl, 20-200 µl et 200-1000 µl
- Embouts Nucléase-free avec filtres pour micropipettes
- Un générateur pour électrophorèse
- Une cuve à électrophorèse avec son support et un peigne
- Une table UV ($\lambda = 254$ nm) et un système photo
- Agarose (qualité biologie moléculaire)
- Bromure d'éthidium (Et Br) en solution

- Tampon TBE 1X ou TAE 1X
- Eau physiologique stérile (NaCl 8,5 g/l)
- Eau Nucléase-free

- **Kit d'extraction d'ADN en colonne individuelle**
 - QIAamp® DNA Mini Kit (Qiagen, 50 tests : réf. 51304 ou 250 tests : réf. 51306)
 - NucleoSpin® Tissue (Macherey-Nagel, 50 tests : réf.740952.50 ou 250 tests : réf. 740952.250)

III. Extraction de l'ADN

Nous vous recommandons de lire l'ensemble du protocole avant de commencer l'essai et de le respecter scrupuleusement.

1. Précautions - instructions de sécurité

Adiagène a validé ce test avec les kits d'extraction d'ADN des sociétés Qiagen et Macherey-Nagel. D'autres kits d'extraction peuvent être utilisés avec une validation préalable.

Respecter les recommandations des fabricants pour la conservation, la préparation et l'utilisation des réactifs contenus dans les kits d'extraction.

Certains kits contiennent et/ou nécessitent l'utilisation de composés toxiques. Ces produits doivent être manipulés avec des gants et sous hotte chimique.

Nous conseillons vivement que cet essai soit réalisé par des personnes ayant reçu une formation appropriée. Vérifier l'exactitude et la précision des micropipettes utilisées. La qualité des résultats dépend du respect scrupuleux des bonnes pratiques de laboratoire.

La réaction PCR génère de grandes quantités d'ADN amplifié. Quelques molécules de produits amplifiés peuvent générer des résultats positifs. Il est donc important de bien séparer la zone d'analyse des produits amplifiés de la zone où sont manipulés les échantillons à analyser et de ne pas ouvrir les tubes après amplification en dehors de la salle dédiée à l'électrophorèse.

Les échantillons à analyser doivent être manipulés et éliminés comme des déchets biologiques. **Prendre toutes les dispositions de sécurité et de confinement requises pour la manipulation des agents biologiques concernés.**

***NOTE : Le bromure d'éthidium est un réactif dangereux. Se référer aux instructions de sécurité et d'élimination du fournisseur avant toute manipulation. Toujours utiliser des gants.**

Nous vous recommandons de faire des fractions aliquotées d'eau physiologique, de les autoclaver (25 minutes à +120°C) et de changer de tube d'eau lors de chaque manipulation afin d'éviter toute contamination.

Nous vous recommandons de prévoir au moins un témoin négatif d'extraction (= extraction sans échantillon) par série d'extractions.

Un échantillon positif en *Actinobacillus pleuropneumoniae* (culture ou échantillon terrain) peut être inclus et extrait dans chaque série, il sera considéré comme témoin positif d'extraction.

2. Conservation des échantillons et des extraits d'ADN

Les échantillons se conservent un ou deux jours à +2/8°C. Au-delà de 2 jours, il est conseillé de les conserver à <-15°C.

Les ADN extraits sont des molécules sensibles. Les extraits d'ADN peuvent être stockés dès la fin de l'extraction à +2/8°C pendant 24 heures, puis doivent être conservés à <-15°C.

IV. Extractions et purifications

1. Extraction avec le kit QIAamp® DNA Mini kit

Toutes les centrifugations sont réalisées à température ambiante.

	Biopsie/Tissu Brossette/écouvillon
Préparation de l'échantillon	Placer la biopsie ou 0,1 g de tissu ou couper la brosette ou l'écouvillon dans un microtube. Ajouter 1 ml d'eau physiologique. Vortexer. Transférer la totalité du surnageant dans un microtube. Centrifuger 10 minutes à 3 300 g. Jeter le surnageant.
Lyse	Ajouter au culot 180 µl de tampon ATL et 20 µl de protéinase K. Vortexer. Incuber 30 minutes à +70°C (ou 1 nuit à +56°C).
	Ajouter 200 µl de tampon AL. Vortexer. Incuber 10 minutes à +70°C.
Préparation de la fixation	Ajouter 200 µl d'éthanol 100%. Homogénéiser par flux et reflux à la pipette (~10 fois) ou au vortex (~15 secondes).
Transfert sur colonnes et fixation à la membrane	Identifier les colonnes, déposer la totalité de chaque échantillon sur une colonne. Centrifuger 1 minute à 10 000 g. <i>Si la totalité du mélange n'a pas pu être déposé en une seule fois sur la colonne, déposer le volume restant sur la colonne et centrifuger 1 minute à 10 000 g.</i>
1 ^{er} lavage	Changer le tube collecteur et ajouter 500 µl de tampon AW1. Centrifuger 1 minute à 10 000 g.
2 ^{ème} lavage	Changer le tube collecteur et ajouter 500 µl de tampon AW2. Centrifuger 1 minute à 10 000 g.
Séchage de la colonne	Changer le tube collecteur. Centrifuger 3 minutes à 10 000 g.
Elution	Transférer la colonne sur un microtube. Déposer 200 µl de tampon AE. Incuber ~1 minute à température ambiante et centrifuger 1 minute à 10 000 g.
Conservation	Fermer les tubes, identifier et conserver à +2/8°C pendant 24 heures, puis à <-15°C.

2. Extraction avec le kit NucleoSpin® Tissue

Toutes les centrifugations sont réalisées à température ambiante.

	Biopsie/Tissu Brossette/écouvillon
Préparation de l'échantillon	Placer la biopsie ou 0,1 g de tissu ou couper la brosse ou l'écouvillon dans un microtube. Ajouter 1 ml d'eau physiologique . Vortexer. Transférer la totalité du surnageant dans un microtube. Centrifuger 10 minutes à 3 300 g. Jeter le surnageant.
Lyse	Ajouter au culot 180 µl de tampon T1 et 25 µl de protéinase K . Vortexer. Incuber 30 minutes à +70°C (ou 1 nuit à +56°C).
	Ajouter 200 µl de tampon B3 . Vortexer. Incuber 10 minutes à +70°C .
Préparation de la fixation	Ajouter 200 µl d'éthanol 100% . Homogénéiser par flux et reflux à la pipette (~10 fois) ou au vortex (~15 secondes).
Transfert sur colonnes et fixation à la membrane	Identifier les colonnes, déposer la totalité de chaque échantillon sur une colonne. Centrifuger 1 minute à 10 000 g. <i>Si la totalité du mélange n'a pas pu être déposé en une seule fois sur la colonne, déposer le volume restant sur la colonne et centrifuger 1 minute à 10 000 g.</i>
1 ^{er} lavage	Changer le tube collecteur et ajouter 500 µl de tampon BW . Centrifuger 1 minute à 10 000 g.
2 ^{ème} lavage	Changer le tube collecteur et ajouter 600 µl de tampon B5 . Centrifuger 1 minute à 10 000 g.
Séchage de la colonne	Changer le tube collecteur. Centrifuger 3 minutes à 10 000 g.
Elution	Transférer la colonne sur un microtube. Déposer 200 µl de tampon BE . Incuber ~1 minutes à température ambiante et centrifuger 1 minute à 10 000 g.
Conservation	Fermer les tubes, identifier et conserver à +2/8°C pendant 24 heures, puis à <-15°C.

3. Extraction à partir de culture bactérienne

	Culture bactérienne
Préparation de l'échantillon	Déposer 100 µl d'eau Nucléase-free dans un microtube. Ou prélever une colonie isolée d'un milieu gélosé. Mettre en suspension la colonie.
	Incuber 10 minutes à 95°C.
	Centrifuger brièvement pour éliminer les gouttes de condensation (optionnel).
Extraction – purification des ADN	N/A Réaliser directement l'analyse par PCR.

IV. Amplification

a - Déterminer le nombre d'échantillons (n) à analyser, y compris les témoins utilisés (par exemple les témoins positif et négatif d'extraction, les témoins positifs d'amplification (APP CTL+) et le témoin réactif d'amplification (NTC ou No Template Control)).

b - Décongeler les réactifs « A1 » et « A2 » à température ambiante. Vortexer. Transférer dans un microtube stérile **48 x (n+1) µl** de réactif « **A1** », puis ajouter avec une micropipette munie d'un embout stérile **1,2 x (n+1) µl** de « **A2** ». Vortexer l'ensemble.

c- **Remplacer immédiatement les réactifs « A1 » et « A2 » à <-15°C.**

d- Répartir **48 µl** du mélange « A1 + A2 » dans chacun des tubes PCR ou des puits de la plaque PCR avec une pipette munie de pointes Nucléase-free.

e- Pour chaque échantillon, le témoin négatif d'extraction (obligatoire) et le témoin positif d'extraction (recommandé), ajouter **2 µl** d'extrait purifié aux **48 µl** de mélange.

Pour les témoins positifs APP CTL+, ajouter **2 µl** de la solution (§ II.3.) aux 48 µl de mélange dans des puits indépendants.

Pour le témoin réactif d'amplification (NTC), ne rien ajouter au mélange.

Remplacer immédiatement les extraits d'ADN purifiés à +2/8°C ou <-15°C. Éliminer les bulles qui pourraient rester au fond des puits.

f- Démarrer le run rapidement après la mise en place de la plaque ou des tubes dans le cycleur.

Le programme suivant a été développé pour les appareils GeneAmp PCR système type 9700 (mode 9600), 9600, 2400 ou 2700 de chez Applied Biosystems. Pour le système Perkin-Elmer 480 ou un autre thermocycleur, contactez-nous.

Cycle :

1 fois 94°C pendant 5 minutes

45 fois (94°C pendant 15 secondes, 55°C pendant 40 secondes, 72°C pendant 1 minute)

1 fois 72°C pendant 10 minutes

1 fois 10°C maintenu jusqu'à l'analyse du produit amplifié

V. Lecture et interprétation des résultats

1. Détection des produits amplifiés

La détection des produits amplifiés se fait sur un gel d'agarose à 2% en TBE 1X ou en TAE 1X.

a- Préparer un gel d'agarose à 2 % en solution dans du tampon TBE 1X ou TAE 1X.

Pour un gel, peser 2 grammes d'agarose et les placer dans 100 ml de tampon. Porter le mélange à ébullition. Laisser refroidir quelques minutes, homogénéiser et verser le mélange sur le support d'électrophorèse. Prévoir un peigne pour un dépôt de 10 µl. Laisser solidifier le gel au moins 45 minutes avant de l'utiliser.

b- Placer le support électrophorèse dans la cuve et immerger le gel dans du tampon TBE 1X ou TAE 1X (le même que celui utilisé pour faire le gel). Ajouter 2 gouttes de bromure d'éthidium (100 µl) d'une solution à 1 mg/ml dans le tampon de la cuve pour 1 litre de tampon d'électrophorèse.

Pour chaque puits d'amplification, mélanger 2 µl de solution « E2 » (Tampon de charge) avec 10 µl de produit amplifié et déposer 10 µl de ce mélange dans un puits du gel. Déposer 5 µl de solution « E1 » (marqueur de taille d'ADN) SEUL dans un des puits du gel.

c- Faire migrer les échantillons dans un champ électrique de 3 volts/cm, pendant 2 heures.

d- Placer le gel sous lumière UV et prendre une photo.

2. Validation et interprétation des résultats

- **a- Validation du test**

Le test est considéré comme **valide** si une seule bande identique à la bande N°5 du marqueur de taille est observée dans le tube contrôle négatif (tableau page suivante, piste F). L'amplification de chaque témoins positif APP CTL+ doit être conforme au tableau ci-dessous.

- **b- Interprétation des résultats.**

L'échantillon est considéré comme **négatif** si une seule bande correspondant à la bande N°5 du marqueur de taille est observée (piste F sur photo).

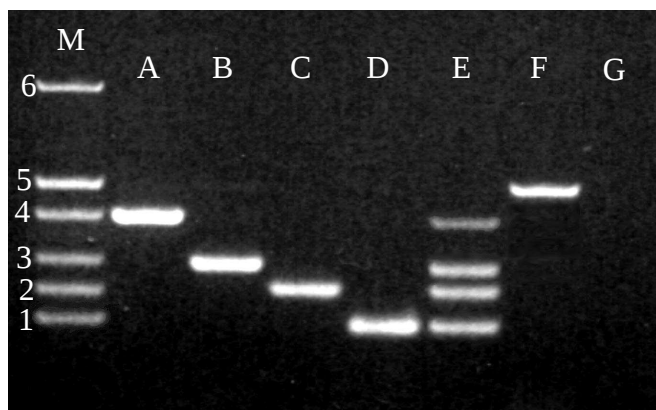
L'échantillon est considéré comme **positif** si une ou plusieurs bandes correspondant à la bande N°1, 2, 3 ou 4 du marqueur de taille sont observées. La bande N°5 du contrôle interne peut être co-amplifiée. Pour l'identification du sérotype, veuillez vous référer au tableau ci-dessous.

Un échantillon est considéré **inhibé** si aucune bande correspondant au marqueur de taille (piste G sur photo) n'apparaît. Il est alors conseillé de refaire le test en double en utilisant l'échantillon pur et dilué au 1/10^{ème} dans de l'eau stérile.

La bande N° 6 permet de repérer l'emplacement des marqueurs de taille E1 (piste M sur photo) sur le gel.

Si des signaux différents de ceux présentés sur la figure jointe sont observés, il est recommandé de contacter votre distributeur.

Bande n°	Présence d'un APP groupe III	Présence d'un APP groupe I	Présence d'un APP groupe IV	Présence d'un APP groupe II	Présence des 4 APP groupe I-II-III-IV	Résultat PCR négatif	Présence d'inhibiteurs
6	-	-	-	-	-	-	-
5	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+	-
4	+	-	-	-	+	-	-
3	-	+	-	-	+	-	-
2	-	-	+	-	+	-	-
1	-	-	-	+	+	-	-
Piste M	Piste A	Piste B	Piste C	Piste D	Piste E	Piste F	Piste G



Typage PCR	Sérotypie	Bande	Piste
Groupe I	Sérotypes 1-9-11-12*-14	3	B
Groupe II	Sérotypes 5a-5b-10	1	D
Groupe III	Sérotypes 2-4-7-8-12	4	A
Groupe IV**	Sérotypes 3-4*-6-7-13-15	2	C

* seules les souches de référence des sérotypes 4 et 12 sont dans ces groupes.

** Certaines souches d'*Actinobacillus lignieresii* peuvent également donner un résultat positif

VI. Références bibliographiques :

- Borr J. D., Ryan D. A. and MacInnes J. I. (1991) Analysis of *Actinobacillus pleuropneumoniae* and related organisms by DNA-DNA hybridization and restriction endonuclease fingerprinting. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 41 (1) : 121-129
- Gottschalk, M. (2012) Actinobacillosis. In *Diseases of Swine*, 10th edn. Karriker, L., Ramirez, A., Schwartz, K., Stevenson, G., and Zimmerman, J. (eds). Hoboken, NJ: Wiley, pp. 653–669.
- Gottschalk, M. (2015) The challenge of detecting herds sub-clinically infected with *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *The Veterinary Journal* 206,30–38
- Jolie R. A., Mulks M. H. and Thacker B. J. (1994) Antigenic differences within *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 1. *Vet. Microbiol.* 38 (4) : 329-349
- Mittal K. R., Higgins R. and Larivière S. (1983) Detection of type-specific antigens in the lungs of *Haemophilus pleuropneumoniae*-infected pigs by coagglutination test. *J. Clin. Microbiol.* 18 (6) : 1355-1357
- Moller K., Fussing V., Grimont P., Paster B., Dewhirst F. and Killian M. (1996) *Actinobacillus minor* sp.nov, *Actinobacillus porcinus* sp.nov, and *Actinobacillus indolicus* sp.nov, three new V factor-dependent species from respiratory tract of pigs. *Inter. J. System. Bacteriol.* 37 (4) : 463-464.
- Nielsen R. (1986) Serological characterization of *Actinobacillus pleuropneumoniae* strains and proposal of a new serotype : serotype 12. *Acta Vet. Scand.* 27 : 453-455

VII. Table des symboles

Symbole	Signification
	Référence du catalogue
	Fabricant
	Limites de température
	Utiliser jusqu'à
	Code du lot
	Consulter les instructions d'utilisation
	Contenu suffisant pour "n" tests
	Pour usage vétérinaire in vitro uniquement – Pour usage animal uniquement

Bio-X Diagnostics, les logos, ADIAGENE et ADIAVET™ sont des marques utilisées, déposées et/ou enregistrées appartenant à ADIAGENE et/ou Bio-X Diagnostics ou à l'une de ses filiales, ou à une de ses sociétés. Les autres marques et noms de produits mentionnés dans ce document appartiennent à leurs propriétaires respectifs.



**S.A.R.L. ADIAGENE**
9, rue Gabriel Calloët-Kerbrat
22440 Ploufragan - France

RCS 417 876 299
Tel. +33 (0)2 96 68 40 20
www.biox.com