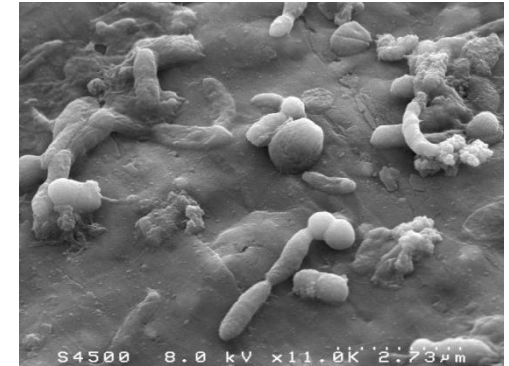
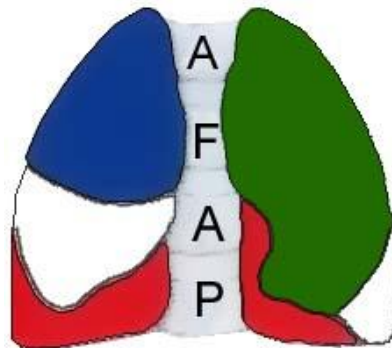
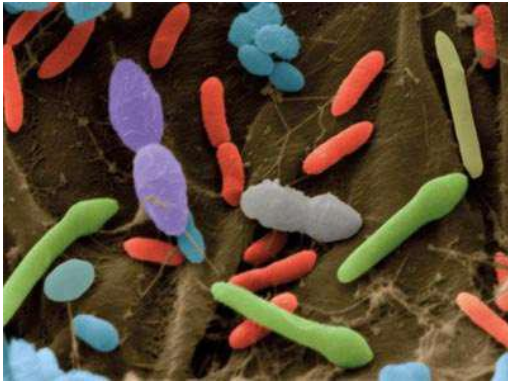


Les MICROBIOTES

DES LOCATAIRES INCONTOURNABLES



**XIème Congrès de l'Association Franco-
Algérienne de Pneumologie (AFAP)
02-05 Avril 2015 - ALGER**

Claude Krespine

□ LES MICRO-ORGANISMES: GÉNÉRALITÉS

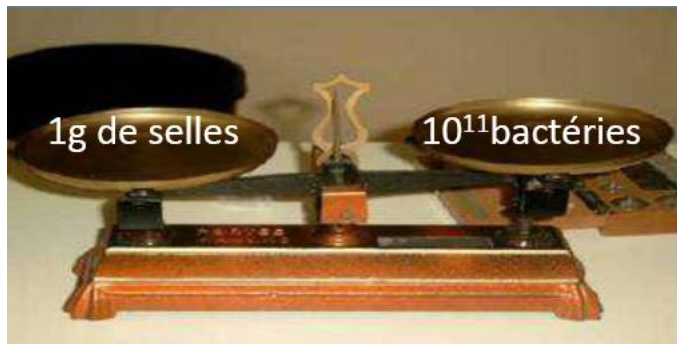
- ❖ Biomasse totale sur terre des micro-organismes: 10^{30} bactéries
- ❖ les seuls êtres vivants pendant près des 2 premiers milliards d'année *

* Dauga C. et Coll. M/S 2005; 21; 3: 290-296

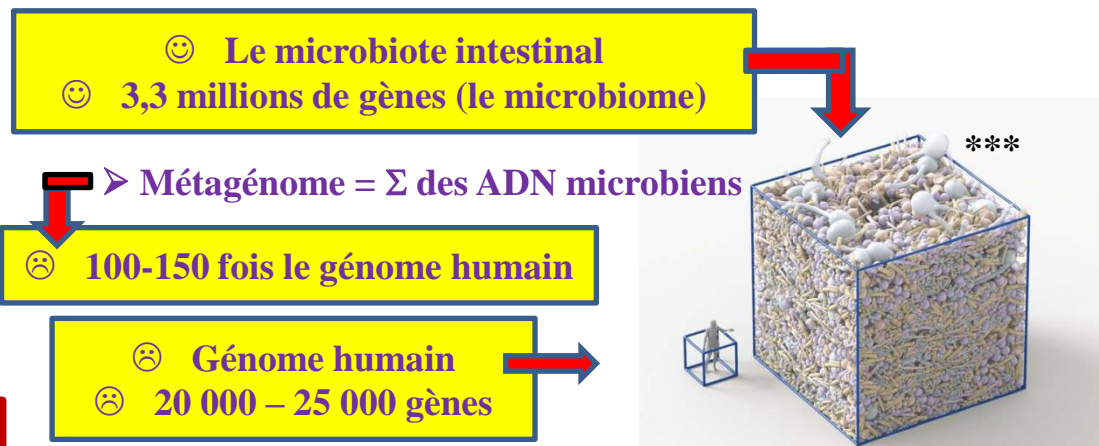
- ✘ Diverses populations de bactéries vivent en symbiose avec les humains
- ✘ ☒ au fil de l'évolution elles ont colonisé TOUTES les surfaces de l'organisme en contact avec l'extérieur: tube digestif – voies aériennes – peau – vagin
- ✘ l'ensemble de ces bactéries ☞ LE MICROBIOTE (anciennement "Microflore")

** http://www.acadpharm.org/dos_public/Transfert_de_Flore_-P_BOURLIOUX_05.06.2013.pdf

📖 C'est un écosystème complexe qui fonctionne comme un organe en étroite symbiose avec l'organisme et forme avec lui un "supra-organisme" **



📄 > 400 espèces – 90% anaérobies



*** Ebert G. Pour la Science 01/2015 n 447 p: 27-34

★ L'ÉQUILIBRE IMMUNITAIRE

❑ Le système immunitaire ne distingue pas les "bons" microbes des "mauvais"

↪ Production continue quotidienne de grammes d'AC y compris contre la multitude de germes qui peuplent nos interfaces

❖ Hypothèse: grâce à cette multitude d'AC (des milliards) les vertébrés toléreraient leur microbiote complexe et en contrôlerait ses membres

★ Sélection

📄 Cet équilibre serait le résultat de millions d'années d'évolution

☞ ...des microbes vivant en symbiose au fil des générations

➡ par le système immunitaire qui contrôle leur présence

⊗ Tout va dépendre du "comportement" des germes

Le système immunitaire s'active

- ⊗ proportionnellement à la virulence du microbe
- ⊗ fonction de l'importance de sa pénétration
- ⊗ en rapport avec les dommages qu'il provoque

💣 Virulence maximale

⚡ Réponse immunitaire violente → utilisation énergétique maximale (inflammation) → élimination

😊 La plupart du temps une fraction de cette énergie suffit à maintenir l'équilibre entre l'hôte et le monde microbien → homéostasie

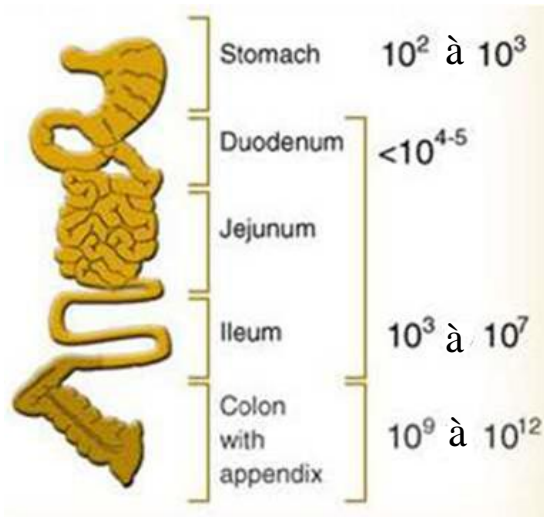
LES DIFFÉRENTS MICROBIOTES

LE MICROBIOTE INTESTINAL *

➤ Le microbiote du colon est le plus exploré et le mieux connu via le microbiote fécal

+ Frank D.N. et al; Proc Natl Acad Sci 2007; 104; 34: 13780-13785

- ⊗ 10^{14} bactéries
- ⊗ au moins 1 800 genres +
- ⊗ entre 15 000 et 36 000 espèces de bactéries+
- ⊗ 10 à 100 fois plus que le nombre de cellules du corps
- ⊗ 100-150 fois plus de gènes que dans l'organisme

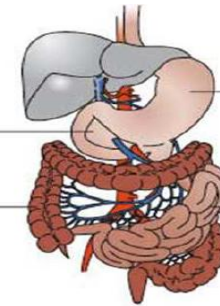


Duodenum :

Streptococcus
Lactobacillus

Côlon :

Bacteroides
Eubacterium
Clostridium
Ruminococcus
Bifidobacterium
Enterobacteriaceae
Streptococcus



Estomac :

Streptococcus
Lactobacillus

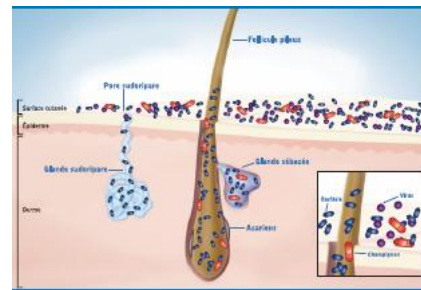
Jejunum/Ileum :

Streptococcus
Lactobacillus
Enterobacteriaceae
Clostridium
Bacteroides

➤ Diversité maximale dans le gros intestin →

• Garnier F. in http://www.cclin-sudouest.com/diaporamas/corres_lim_081013/fg_microbiote_intestinal.pdf

LE MICROBIOTE CUTANÉ **



➤ environ 10^6 /cm²

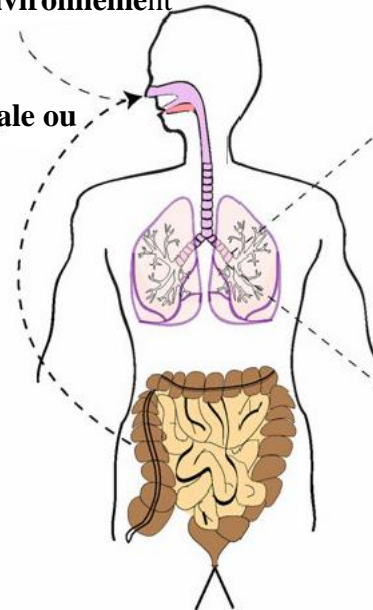
** Martin L. in <http://www.dermocosmetologie.fr/wp-content/uploads/2012/07/120626-Lettre-16-online.pdf>

LES DIFFÉRENTS MICROBIOTES

☑ Sources du microbiote *

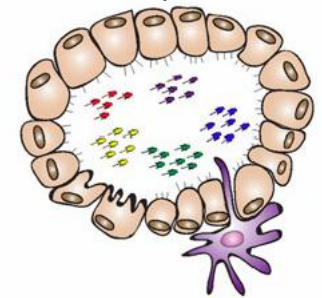
☛ microbes de l'environnement

☛ Flore d'origine intestinale ou oropharyngée



☑ Homéostasie

❖ Forte densité microbienne



- ☛ Bactériodetes
- ☛ Protéobactéries
- ☛ Autres
- ☛ Firmicutes
- ☛ Actinobactéries

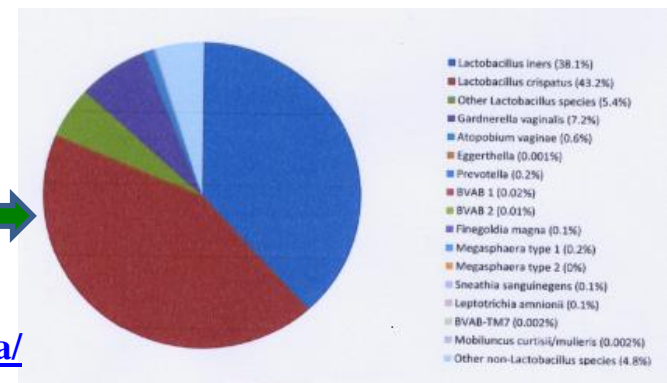
◎ LE MICROBIOTE PULMONAIRE *

* Marsland B.J et al, Chest; 2013; 144; 2: 632-637

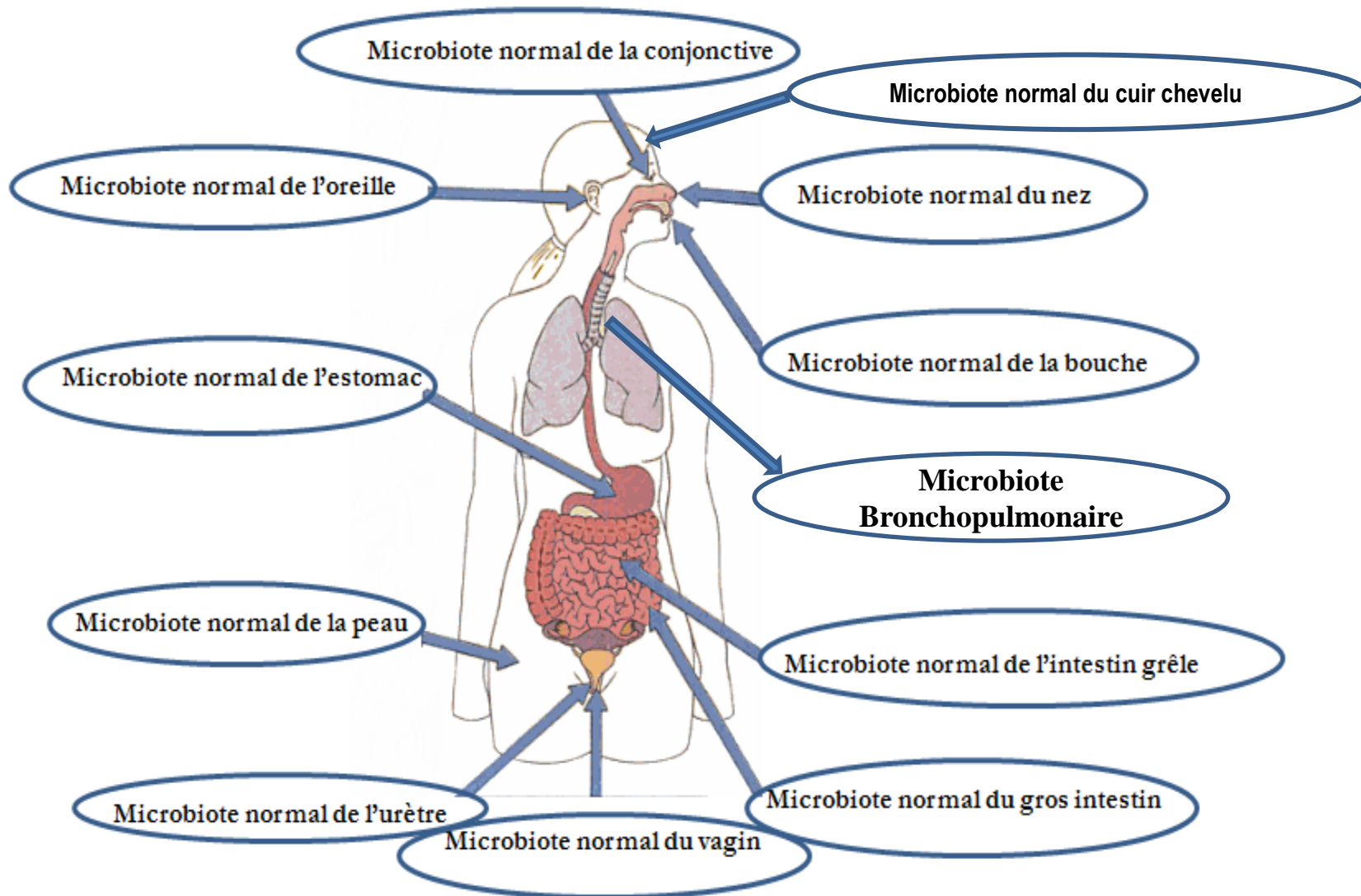
◎ LE MICROBIOTE VAGINAL**

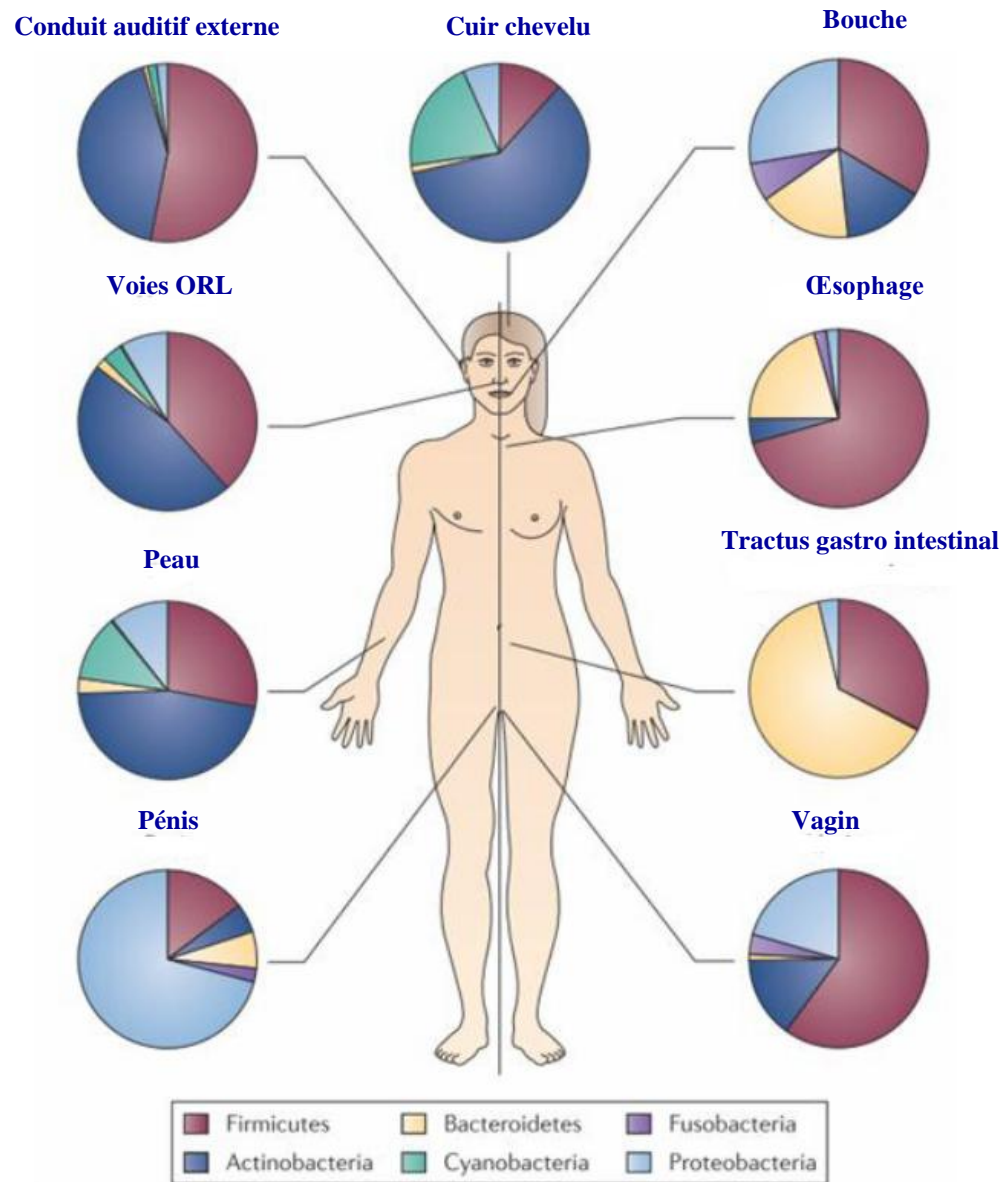
☞ Les femmes en bonne santé ont un microbiote vaginal dominé par *Lactobacillus* spp. estimé à environ 90% des séquences analysées

** <http://www.probionov.com/fr/human-microbiome/vaginal-microbiota/>



TOUS LES MICROBIOTES *



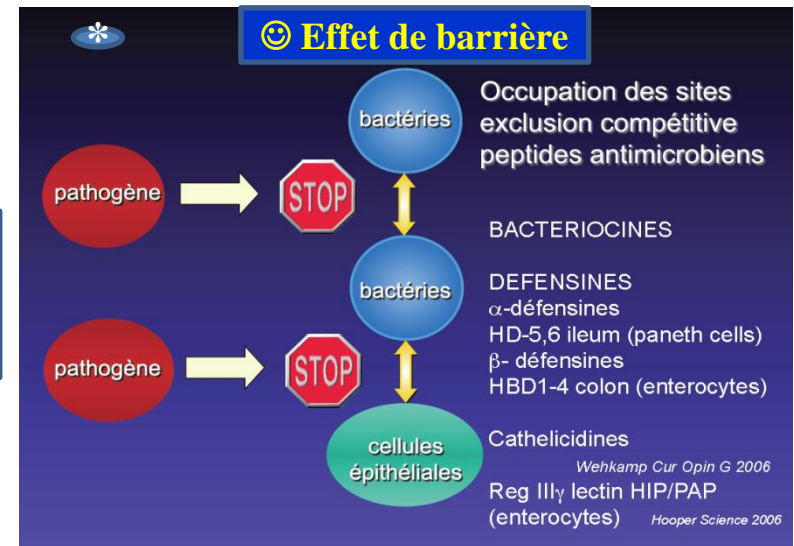


In Thèse 2012 E, Lecuyer p: 19 (d'après Spor A. et al. Nat Rev Microbiol 2011; 9; 4: 279-290)
<https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00833008/document>

* LES RÔLES DES MICROBIOTES

☞ Effet "barrière" vis-à-vis des microorganismes pathogènes

☞ Le microbiote s'oppose à la colonisation de l'organisme par des microorganismes pathogènes



* http://hepatoweb.com/DES/exposes/DES5_2011_HAGEGE/SEKSIK.pdf

☞ Développement des réponses immunitaires

- Immunité innée
- immunité adaptative

☞ Participation à la maturation du système immunitaire en début de vie

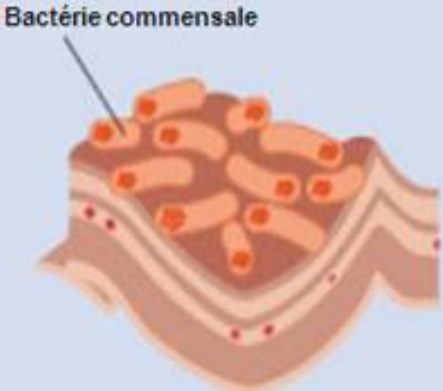
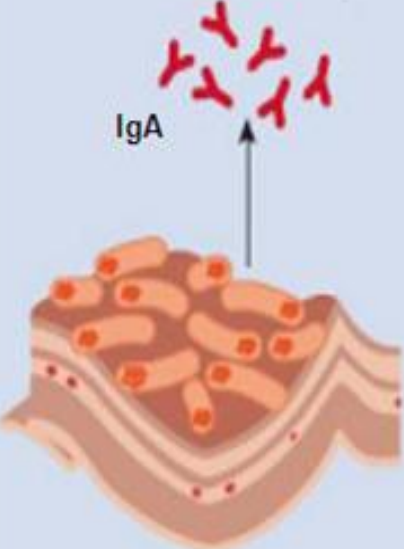
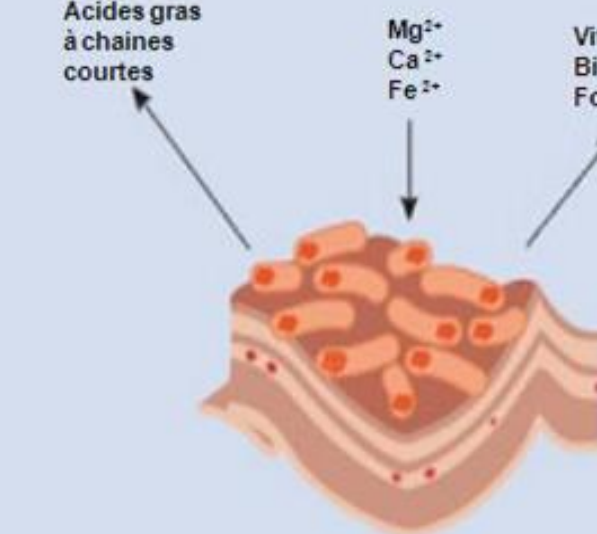
☞ Physiologie intestinale

- épaisseur de la muqueuse intestinale
- taille des villosités et de la bordure en brosse
- angiogénèse

☞ Fonctions métaboliques

- Fermentation des résidus alimentaires et substrats d'origine endogène
- Métabolisme des sels biliaires et xénobiotiques

+ TOUTES LES FONCTIONS CONNUES DU MICROBIOTE INTESTINAL*

Fonctions Protectrices	Fonctions Immunes	Fonctions Métaboliques	
<ul style="list-style-type: none">• Déplacement des agents pathogènes• Fortification de la barrière intestinal• Action sur les jonctions serrées au niveau apical• Compétition vis-à-vis des nutriments et des récepteurs• Production de facteurs antimicrobiens (acide lactique, bactériocines...)  <p>Bactérie commensale</p>	<ul style="list-style-type: none">• Induction de la production d'IgA• Stimulation du développement et de la maturation du système immunitaire  <p>IgA</p>	<ul style="list-style-type: none">• Contrôle de la différenciation et de la prolifération des cellules épithéliales intestinales• Métabolisme des carcinogènes alimentaires• Synthèse de vitamines (biotine, folate...) 	<ul style="list-style-type: none">• Fermentation des résidus alimentaires non digestibles• Récupération de l'énergie <p>Acides gras à chaînes courtes</p> <p>Mg²⁺ Ca²⁺ Fe²⁺</p> <p>Vitamine K Biotine Folate</p>

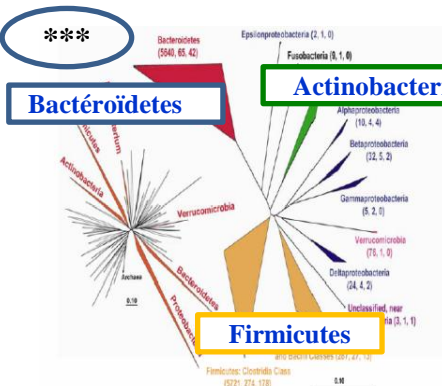
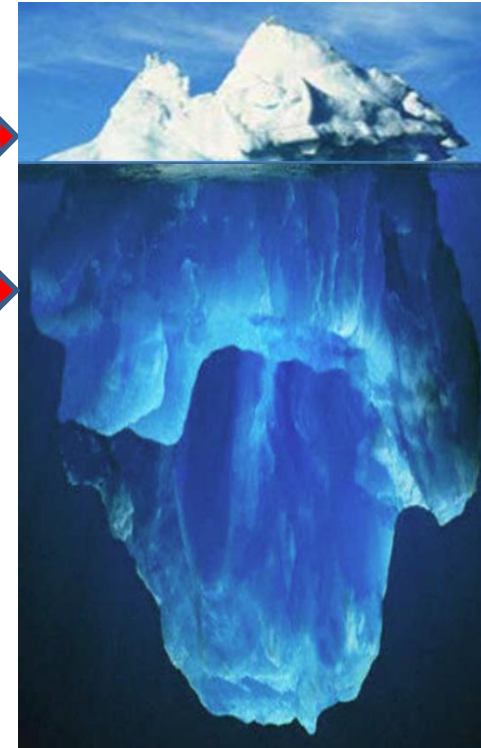
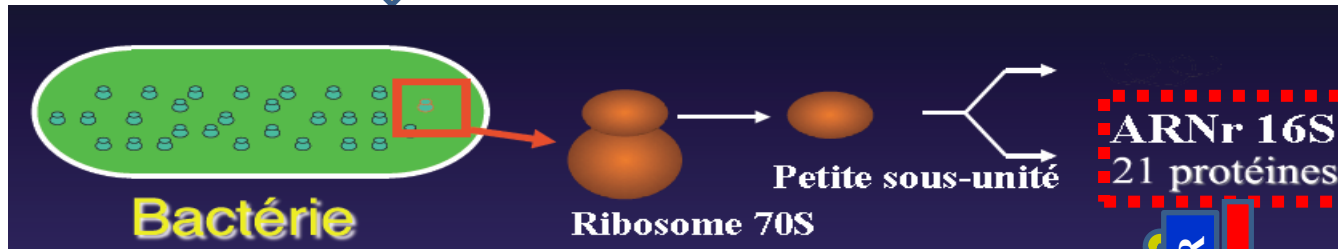
LES MÉTHODES D'ÉTUDE

☞ Seulement 20% à 30% du microbiote intestinal est cultivable

☞ 70%/80% du microbiote intestinal n'est pas cultivable

+ Utilisation d'outils moléculaires indépendants de la culture *

*http://hepatoweb.com/DES/exposes/DES5_2011_HAGEGE/SEKSIK.pdf



3 019 928 séquences différentes de ARNr16S reconnues au 17 09 2014 **

PCR

❖ + 5 000 espèces au total

** <http://rdp.cme.msu.edu/>

❖ 3 phylae majoritaires

❖ 1 200 espèces/sujet

- ☑ Firmicutes 60-75%
- ☑ Bactéroïdètes 30-40%
- ☑ Actinobacteria 1-5%

*** Eckburg P.B. et al , Science; 2005; 308; 5728: 1635-1638

ÉTABLISSEMENT DU MICROBIOTE *

❖ À la naissance

★ TUBE DIGESTIF (ET AUTRES INTERFACES) STÉRILE

📄 Implantations successives
d'espèces bactériennes

⊗ SOURCES

🏠 maternelle
🏠 environnementales
🏠 alimentaires

© Différences de composition entre enfants

⊗ Acquisition du microbiote vers un profil d'adulte entre 2 ans – 6 ans

⊗ Modifications
du microbiote

- **césarienne** ⇒ Pas de contact avec le tractus génital
⇒ retard d'implantation des anaérobies
- **Type d'alimentation** ⇒ allaitement maternel: dominance des bifidobactéries
- **Antibiothérapie** ⇒ Implantation de bactéries résistantes

* http://b2per-esi.bcpp.master.univ-paris-diderot.fr/M2/ESI/cours/UE5epithdigest/Chatel_2012.pdf

💡 CARACTÉRISTIQUES DU MICROBIOTE AU COURS DE LA VIE *

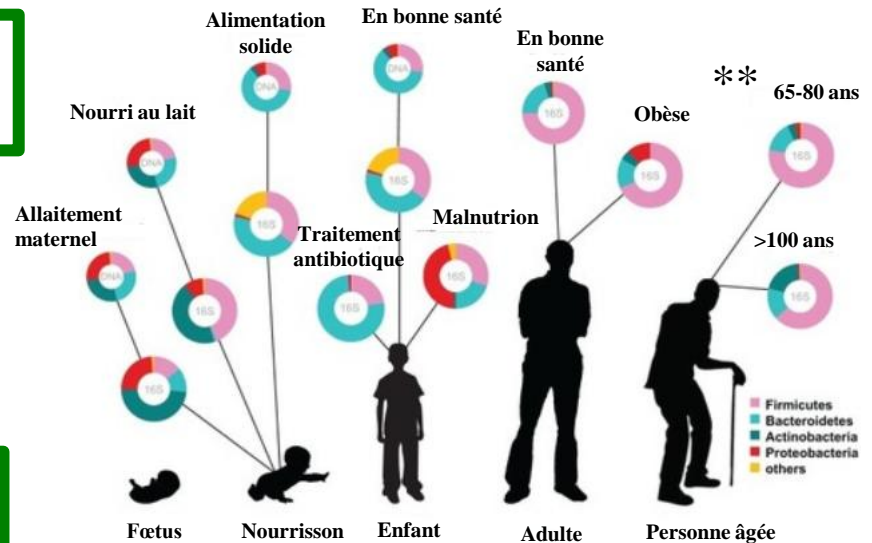
❑ Le microbiote est organisé en un écosystème hiérarchisé avec des espèces dominantes (en nombre) et des dominées (en nombre)

❑ Chaque personne possède un microbiote en propre

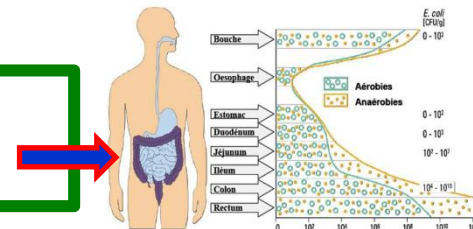
❑ Les 2/3 des espèces bactériennes intestinales sont totalement spécifiques de l'hôte

❑ La composition est dynamique avec des variations fonction de l'emplacement géographique, de la nutrition et du statut immunologique

❑ Chez les personnes âgées de nouvelles espèces apparaissent



** Ottman N et al Front Cell Infect Microbiol; 2012; 2; article104 (à partir de 6 études bibliographiques)



⚡ Anomalies du microbiote et Pathologies

💣 **Dysbiose: retard d'implantation d'un microbiote intestinal normal**

💣 **animal axénique: absence de microbiote**

💣 **Absence de germes ***

- ⊗ ↓ vascularisation
- ⊗ ↓ activité enzymatique digestive
- ⊗ ↓ épaisseur des muscles
- ⊗ ↓ production de cytokines
- ⊗ ↓ niveau des immunoglobulines sériques
- ⊗ ↓ plaques de Peyer
- ⊗ ↓ du nombre de lymphocytes intra épithéliaux
- ⊗ ↑ de la susceptibilité aux infections
- ⊗ ↑ couche de mucus
- ⊗ ↑ des besoins caloriques (20% à 30%)

© Dysbiose intestinale et Obésité

☹ LIEN ENTRE DYSBIOSE ET OBÉSITÉ

↳ Colonisation de souris sans germe (axénique) par un microbiote de souris normale *

☠ ↑ de 60% de la masse grasse en 10-14 jours malgré une ↓ de la consommation d'aliments

* Bäckhed F et al. Proc Natl Acad Sci U S A; 2004; 101; 44: 15718-15723

🧠 Chez l'être humain **

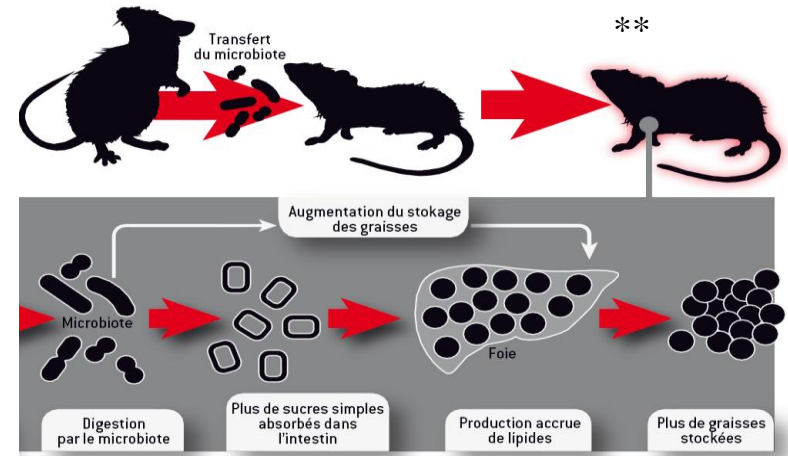
☹ n= 123 non obèses vs 169 obèses

** Le Chatelier E. et al. Nature; 2013; 500; 7464: 541-546

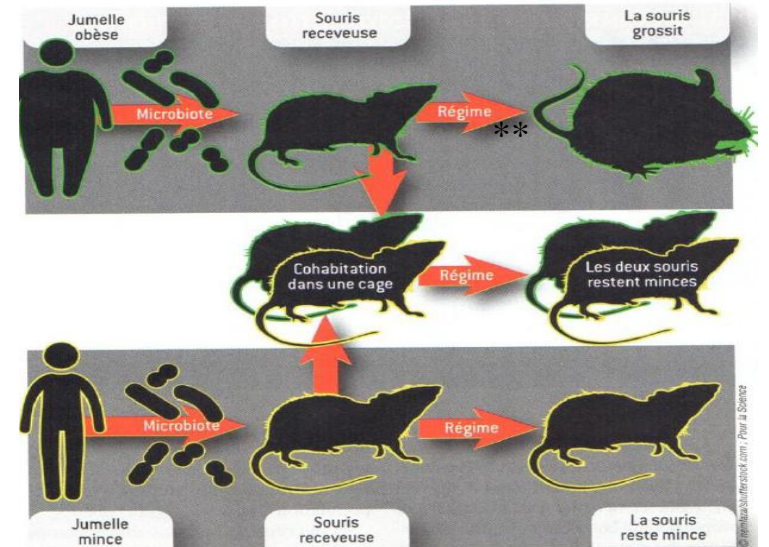
★ Les personnes pauvres en bactéries intestinales ont un risque plus important de développer des complications liées à l'obésité (diabète 2 – complications CV – dyslipidémie – voire cancers)

↳ Combinaison de facteurs environnementaux et génétiques → un microbiote type → risque obésité

STOCKAGE DES GRAISSES



** Gérard P. Pour la Science 2015 n 447 : 34-40



© Soigner avec du microbiote ?
Transplantation fécale ?

© Dysbiose intestinale et MICI (quelques exemples)

🔥* **Maladie de Crohn ***

* Sokol H. et al. Proc Natl Acad Sci USA ; 2008; 105; 43: 16731-16736

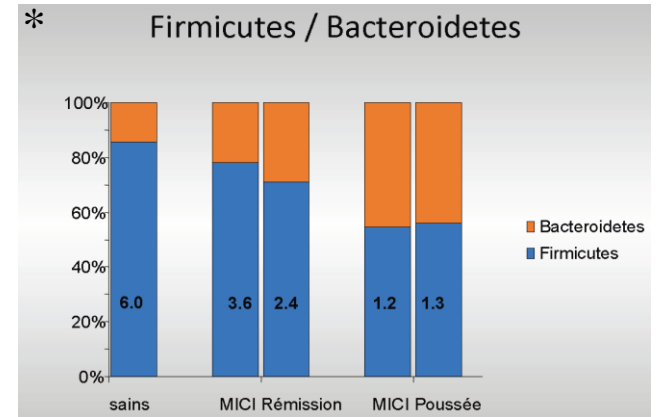
↓ **Importante de Faecalibacterium prausnitzii (Firmicutes)**

😊 **Amélioration significative par administration orale**

🔥* **Rectocolite hémorragique***

☆ **F. prausnitzii a des propriétés antiinflammatoires in vitro et in vivo**

☆ **Ces effets sont en partie dues à des métabolites sécrétés dans le surnageant bloquant l'activité de NFκB et la sécrétion d'IL-8**



© Dysbiose intestinale et Maladies mentales ** et +

👉 **Le microbiote intestinal communique avec le cerveau par voies sanguine et nerveuses**
👉 **il influe ainsi sur le comportement**

👉 **Des déséquilibres du microbiote pourraient être en cause dans certaines maladies neuro-développementales ou psychiatriques telles l'autisme et la dépression**

👉 **Des résultats préliminaires suggèrent que ces maladies pourraient être soignées en corrigeant ces déséquilibres** ** Daugé P. et Coll. Pour la Science 2015 n 447 p: 42-48

+ Dash S. et al. Curr Opin Psychiatry; 2015; 28; 1: 1-6 (biblio complète: 93 articles) → http://journals.lww.com/co-psychiatry/Fulltext/2015/01000/The_gut_microbiome_and_diet_in_psychiatry_focus.2.aspx

⊗ La composition du microbiote respiratoire en début de vie détermine les types bactériens successifs et la santé respiratoire de l'enfant*

* Biesbroek G. et al. Am J Respir Crit Care Med 2014; 190; 11: 1283 - 1292

⊙ Compositions du microbiote des VAS à

- ⊗ 1 mois
- ⊗ 5 mois
- ⊗ 6 mois
- ⊗ 12 et 24 mois

❖ n= 60 enfants

□ 8 profils distincts de microbiotes

✧ Les profils pourraient être identifiés dès 1^{1/2} mois
↳ ils ont été associés à une stabilité du microbiote
➡ avec changement les 2 premières années de vie

☞ Les profils les plus stables

☞ Présence précoce et grande abondance de Moraxella et Corynebacterium/ Dolosigranulum

😊 Association positive avec

☞ Allaitement maternel au sein
☞ Moindre fréquence d'infections respiratoires

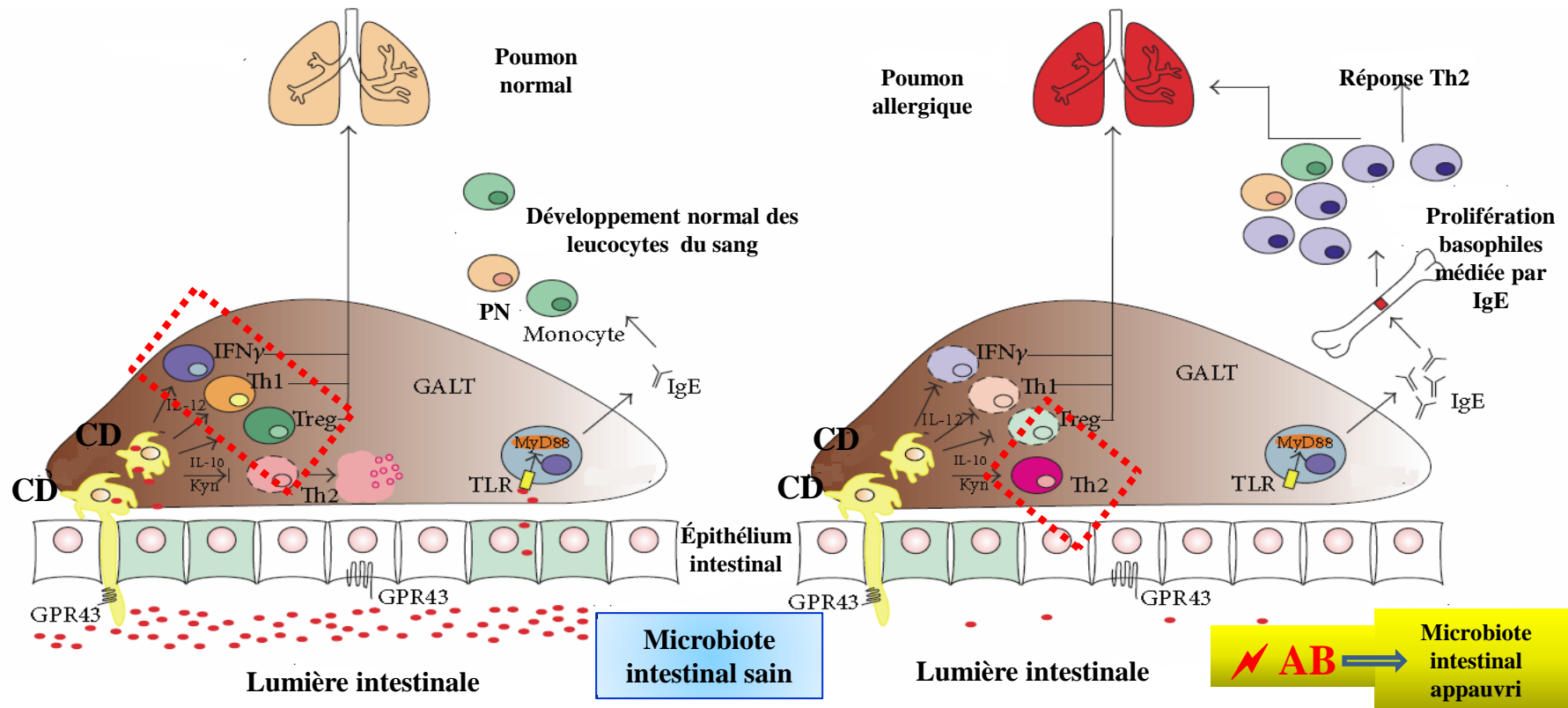
☞ Profils les moins stables

⚡ Forte abondance d'Haemophilus ou Streptococcus

☑ Liens entre profils du microbiote en début de vie, sa stabilité et la santé respiratoire

MICROBIOTE INTESTINAL ET RÉPONSES PULMONAIRES IMMUNES

* Marcantonio Ferreira C. et al, J Immunol Res, 2014; ID 689492



☑ les cellules dendritiques (CD) sont activées par le microbiote ou le GALT

☑ Les signaux combinés (microbes/GALT) conduisent à la différenciation Th1-Th2 -

☑ Forte production d'IL-10 → génération de Treg CD4+FOXP3 → tolérance immunitaire

☑ Rôle central du microbiote dans la genèse des maladies inflammatoires pulmonaires

RELATION ENTRE DYSBIOSES RESPIRATOIRES ET PATHOLOGIES

☺ HOMÉOSTASE

☺ PATHOLOGIES

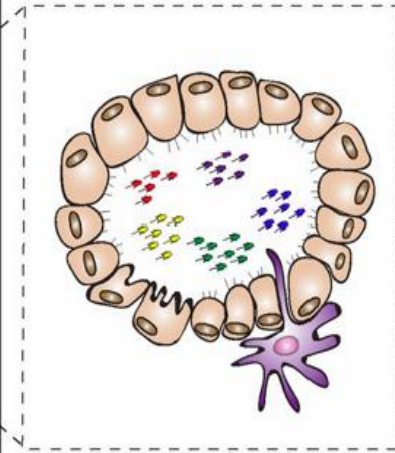
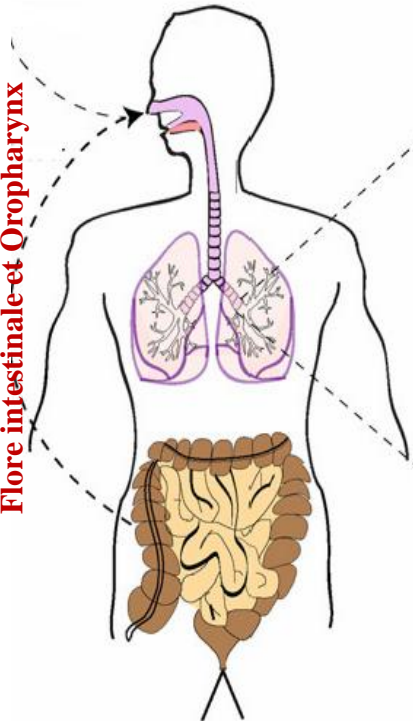
➤ Forte diversité microbienne

➤ Faible diversité microbienne

❖ SOURCES DU MICROBIOTE PULMONAIRE

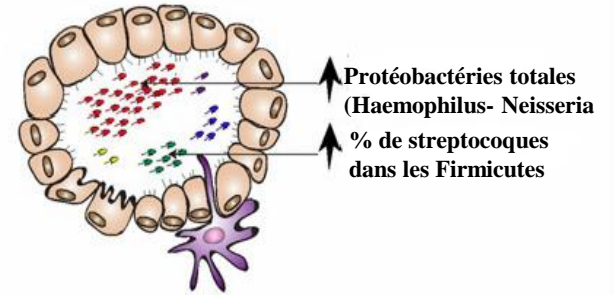
Microbes de l'environnement

Flore intestinale et Oropharynx



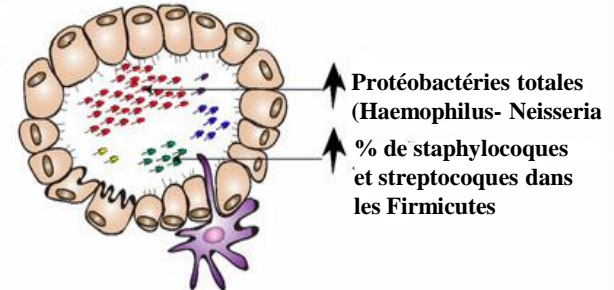
Phyla
 Bacteroidetes Firmicutes
 Proteobacteria Actinobacteria
 Others

ASTHME



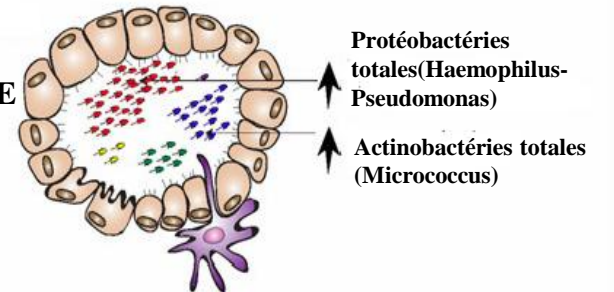
↑ Protéobactéries totales (Haemophilus- Neisseria)
 ↑ % de streptocoques dans les Firmicutes

BPCO



↑ Protéobactéries totales (Haemophilus- Neisseria)
 ↑ % de staphylocoques et streptocoques dans les Firmicutes

MUCOVISCIDOSE



↑ Protéobactéries totales (Haemophilus- Pseudomonas)
 ↑ Actinobactéries totales (Micrococcus)

* Marsland B.J. et al Chest; 2013; 144; 2: 632-637

☒ MICROBIOTE INTESTINAL ET ASTHME*

* Abrahamsson T.R. et al. Clin Exp Allergy 2014; 44; 6: 842-850

★ Diversité et composition du microbiote à

☒ 1 semaine

➤ n= 47 enfants

☒ 1 mois

☒ 12 mois

➤ Suivis jusqu'à l'âge de 7 ans

➤ N=8 enfants devenus asthmatiques

★ Moindre diversité du microbiote total à

☒ 1 semaine

☒ 1 mois

➤ N=13 enfants souffrant de rhinoconjonctivite allergique

➤ N=12 enfants souffrant d'eczéma

➤ N=14 enfants avec prick tests cutanés positifs

❖ Pas d'association avec la composition du microbiote à 12 mois

➤ Les enfants avec eczéma + IgE et asthme ultérieurement

★ Moindre diversité du microbiote total

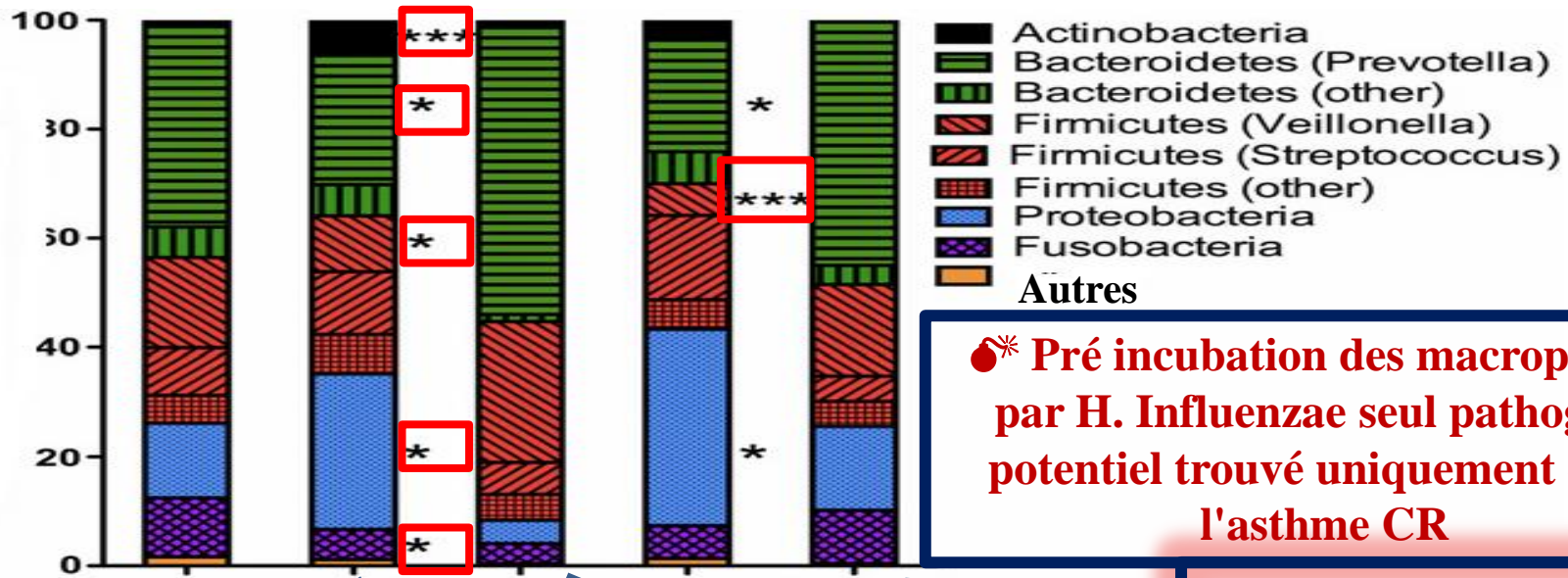
➤ Une faible diversité du microbiote au cours du 1^{er} mois ➔ asthme à 7 ans

☐ Les éléments affectant la colonisation microbienne au cours du 1^{er} mois de vie peuvent impacter le développement de l'asthme dans l'enfance

MICROBIOTE RESPIRATOIRES ET CORTICO-RÉSISTANCE DE L'ASTHME *

📖 Séquençage de l'ARNr 16S sur le LBA de 39 asthmatiques dont 29 cortico-résistant (CR) 10 asthmatiques cortico-sensibles (CS) et 12 sujets en bonne santé

* Goleva E. et al. Am J Respir Crit Care Med. 2013; 188(10): 1193–1201.



🔥* Pré incubation des macrophages par *H. Influenzae* seul pathogène potentiel trouvé uniquement dans l'asthme CR

🔥* Prolifération chez l'asthmatiques CR

⊠ Témoins en bonne santé

⊠ Asthme CR

⊠ Asthme CS

⊙ Prolifération bactérienne N=24 sujets

⊙ Pas de prolifération bactérienne N=5 sujets

⊙ Prolifération bactérienne N=9 sujets

⊙ Pas de prolifération bactérienne N=1sujets

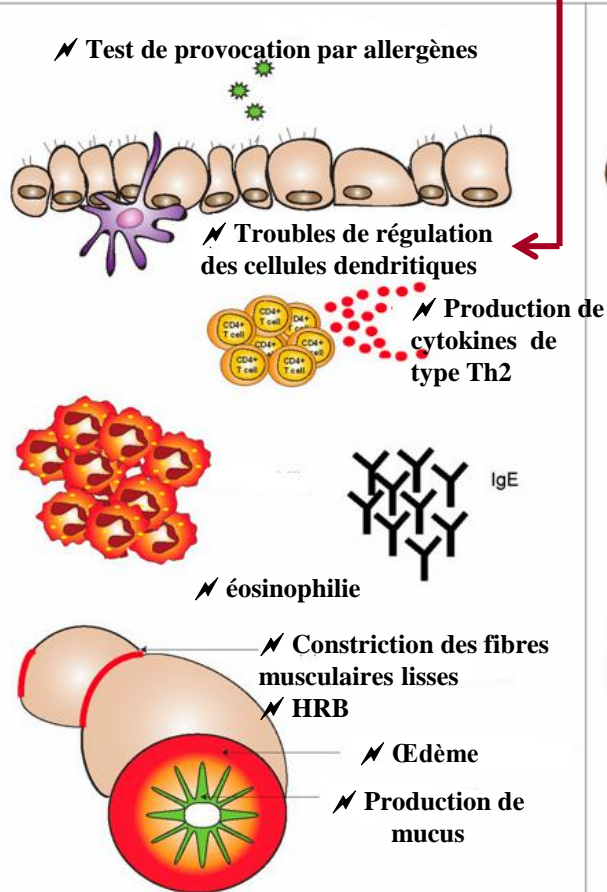
* Le sous-groupe asthme cortico-résistant présente une majoration des bactéries gram négatives qui déclenchent l'activation des enzymes TAK1/MAPK et induit la cortico-résistance

* L'inhibition de TAK1 restaure la sensibilité cellulaire aux corticoïdes 🐾+++

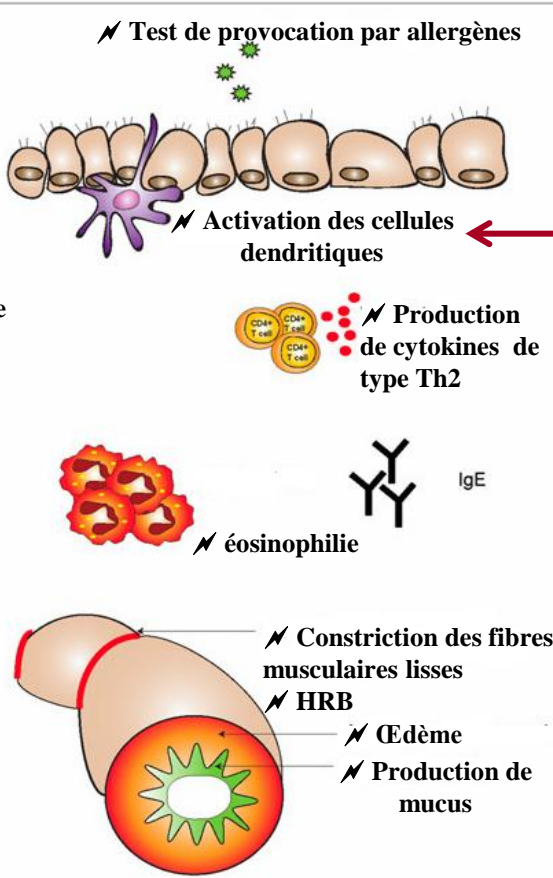
MICROBIOTE RESPIRATOIRES ET RÉPONSES ALLERGIQUES *

☒ Souris sensibilisées par l'ovalbumine ➔ test de provocation nasale par ovalbumine

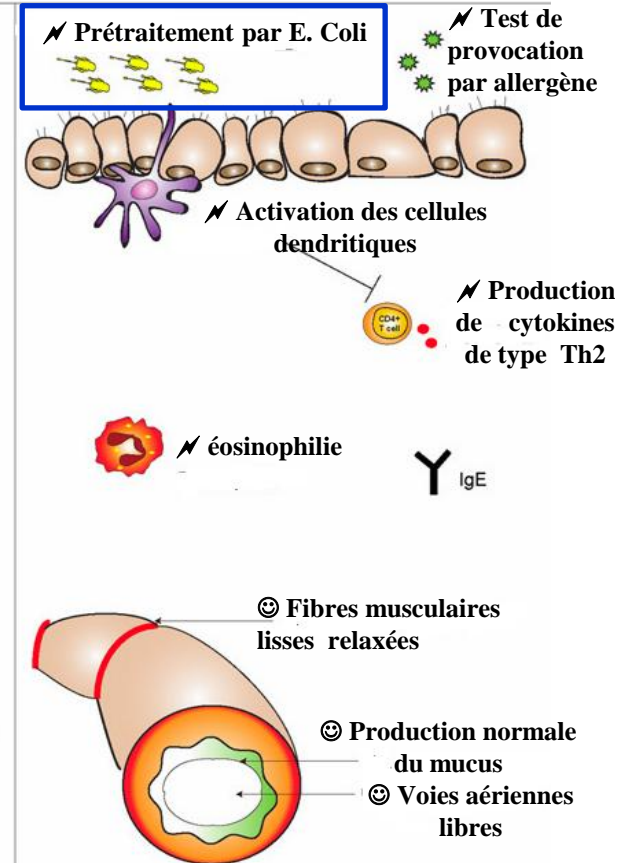
☐ Absence de microbiote



☐ Microbiote normal



☐ Microbiote normal avec supplément de bactéries inoffensives



★ MICROBIOTE ET ALLERGIES *

*Démonet G. in http://www.jim.fr/e_docs/le_microbiote_cutane_protège_de_l'allergie_149254/document_actu_med.phtml

- ⊗ le microbiote intestinal favoriserait l'activité des lymphocytes T régulateurs par la production d'IL-10
- ⊗ les endotoxines stimulent la production d'IL-12 par les macrophages et les cellules présentatrices d'antigène favorisant les réponses immunitaires de type Th1
- ⊗ le microbiote cutané protégerait contre l'allergie par induction des réponses immunitaires de type Th1 et inhibition des Th2
- ⊗ le microbiote cutané contrôle également les réponses inflammatoires locales au niveau de la peau des sujets en bonne santé par l'abondance des souches d'Acinetobacter qui sont associées à l'expression de molécules anti-inflammatoires par les cellules mononuclées du sang périphérique.
- ⊗ équilibre entre l'expression des gènes impliqués dans les réactions anti-inflammatoires et Th1/Th2 en relation avec la composition du microbiote cutané
- ⊗ les souches d'Acinetobacter ont induit de fortes réponses anti-inflammatoires et Th1 par les cellules immunitaires et cutanées ➔ protection contre la sensibilisation allergique et l'inflammation pulmonaire**

** Fyhrquist N. et al J Allergy Clin Immunol; 2014; 134: 6: 1301-1309

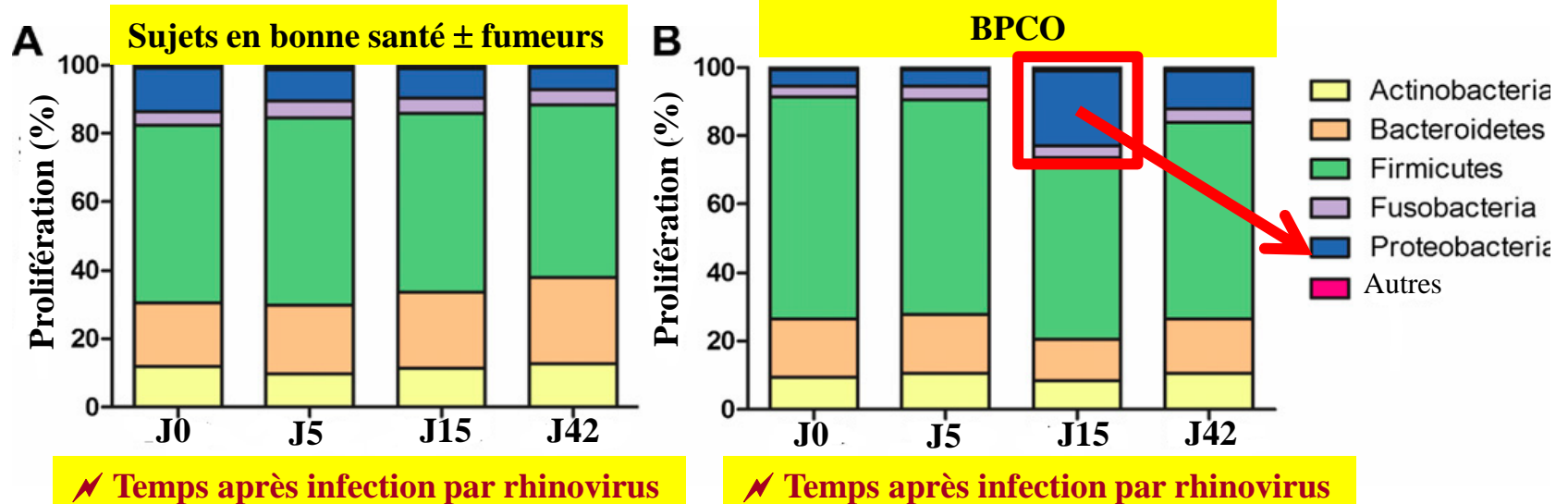
BPCO – INFECTION RHINOVIRUS - MICROBIOTE -*

* Molyneaux P.L. et al. Am J Respir Crit Care Med; 2013; 188 ; 10: 1224-1231

🦠 Infection par rhinovirus

👉 17 sujets en bonne santé vs 🦠* 14 BPCO

🦠 Recueil des expectorations
provoquées à J5- J15 - J42



🦠* À J15: augmentation des protéobactéries chez les seuls sujets souffrant de BPCO

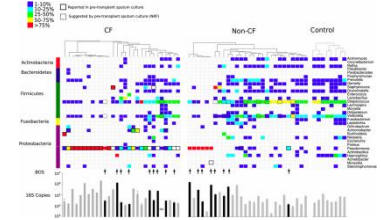
💀 Essentiellement Haemophilus Influenzae potentiellement pathogènes

L'infection à rhinovirus chez les sujets BPCO altère le microbiote respiratoire ce qui peut précipiter une infection bactérienne secondaire

★ MICROBIOTE ET TRANSPLANTATIONS PULMONAIRES **

☞ n=57 patients transplantés dont 29 pour mucoviscidose (CF)

☞ n=17 patients (30%) ☞ ☞* S. Bronchiolite oblitérante (SBO)



☞ La recolonisation par les populations microbiennes présentes en pré transplantation au niveau pulmonaire semble avoir un effet protecteur contre le SBO

☞ Le SBO est associé à une recolonisation microbienne "de novo" par des germes différents et non présents avant transplantation

☞ La prédominance dans le microbiote après transplantation de *Pseudomonas aeruginosa* semble protéger le poumon d'une colonisation par *Aspergillus fumigatus*

☞ Association du SBO avec un microbiote particulier *Veillonella/Prevotella*

☐ RÔLE DU MICROBIOTE DANS L'IMMUNO-MODULATION ?

★ MODULATION EXOGÈNE DU MICROBIOTE: LES ANTIBIOTIQUES ?

☞ n= 606 enfants de 3 pays d'Europe : association positive entre prise de macrolides la 1^{ère} année de vie et des sifflements jusqu'à 36 mois, association indépendante de l'effet de l'infection respiratoire* * Sun W. et al. J Asthma; 2014; décembre 24 sous presse : 1-24

☞ n= 493 785 enfants : association positive entre exposition à des antibiotiques au cours de la vie fœtale et en début de vie et un asthme ultérieur dans l'enfance **
** Ortqvist A.K et al. BMJ; 2014; 349: g6979

☞ n= 4 952 enfants : il est retrouvé une étroite association dose-dépendante entre prise d'antibiotiques les 2 premières années de vie et un asthme à 7 ½ ans ***
*** Hoskin-Parr L. et al. Pediatr Allergy Immunol; 2013 24: 8: 762-771

☞ Antibiothérapie dans l'enfance entre 2 et 8 ans et ↑ du risque de survenue d'asthme dans l'enfance + + Khalkhali H.R. et al Epidemiol health 2014; 36: 2014006

☞ Antibiothérapie péri natale et ↑ du risque de maladies pulmonaires de type TH2++
++ Shannon L. et al. J Allergy Clin Immunol; 2015; 135; 1: 100-109 e5

💣 Retentissement des antibiotiques sur la composition du microbiote

☠ Polluants

☠ Autres médicaments

💡 Autres éléments de l'environnement.....

☠ Pesticides

✘ Réponses selon la génétique individuelle

POURRA-T-ON AGIR POUR RÉCUPÉRER UNE NORMOBIOSE ? *

in http://www.acadpharm.org/dos_public/Transfert de Flore -P. BOURLIOUX 05.06.2013.pdf

☞ Bactéroïdes

☞ Protéines

☞ Graisses animales

☞ Ruminococcus

☞ Alcool

☞ Huile végétale

☞ Prévotella

☞ Glucides

☞ Fruits et légumes

☞ PROBIOTIQUES

(microorganismes vivants)

☞ MÉTABIOTIQUES

MICROBIOTE
(Intestinal)

☞ PREBIOTIQUES

(ingrédients alimentaires capables de modifier l'équilibre et/ou la fonctionnalité du microbiote)

☞ SYMBIOTIQUES

(association prébiotiques et probiotiques)

☞ BACTÉRIOTHÉRAPIE

☞ (antibiotiques ciblés)

☞ TRANSFERT DE FLORE

★ Avec le développement très rapide des connaissances sur le microbiote intestinal et les nouvelles technologies utilisées, une nouvelle discipline vient de naître alliant microbiologie, pharmacologie, génomique et métabolisme:

★ LA PHARMACOMICROBIOMIQUE

☞ Découvrir l'ensemble des facteurs impliqués dans les effets des microbiotes

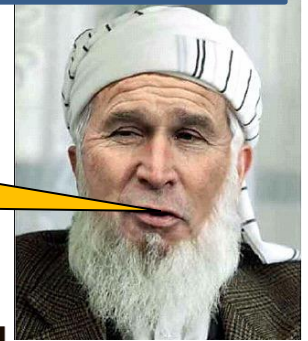
☞ Analyser la place et les potentialités thérapeutiques de ces facteurs

☞ Concrétiser médicalement leurs possibilités suivant les pathologies en rapport,,,,,

☹ LE HASARD N'EST QUE LE REFLET DE NOS INSUFFISANCES DE
COMPRÉHENSION DE L'INTRICATION DES LOIS
FONDAMENTALES DE LA PHYSIQUE RÉGISSANT LA SURVENUE
D'UN PHÉNOMÈNE OBSERVÉ DANS UN ENVIRONNEMENT DONNÉ

☺ S. SANCHO

**IL A BIEN RAISON
S. SANCHO**



**Je vous remercie de votre attention
et
de votre patience**