

**EDULINK – LIVE project**

**2 ° International Plenary Meeting**

**December 2009**

**Séminaire de l'Université  
d'Owendo - Libreville - Gabon**



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI UDINE  
FACULTÉ de MÉDECINE VÉTÉRINAIRE  
DÉPARTEMENT de SCIENCES ANIMALES



SECTION de BIOLOGIE et PATHOLOGIE ANIMALE

**Animaux TSEs  
et  
La SCRAPIE, prototype des maladies à  
prions**

*Marco Galeotti*

Les maladies à prions sont des conditions neurodégénératives qui provoquent de graves dommages aux cellules nerveuses du SNC et qui portent à une mort certaine.

**Mad Cow**

**Mad Cow**

**Bovine Spongiform Encephalopathy  
(BSE)**

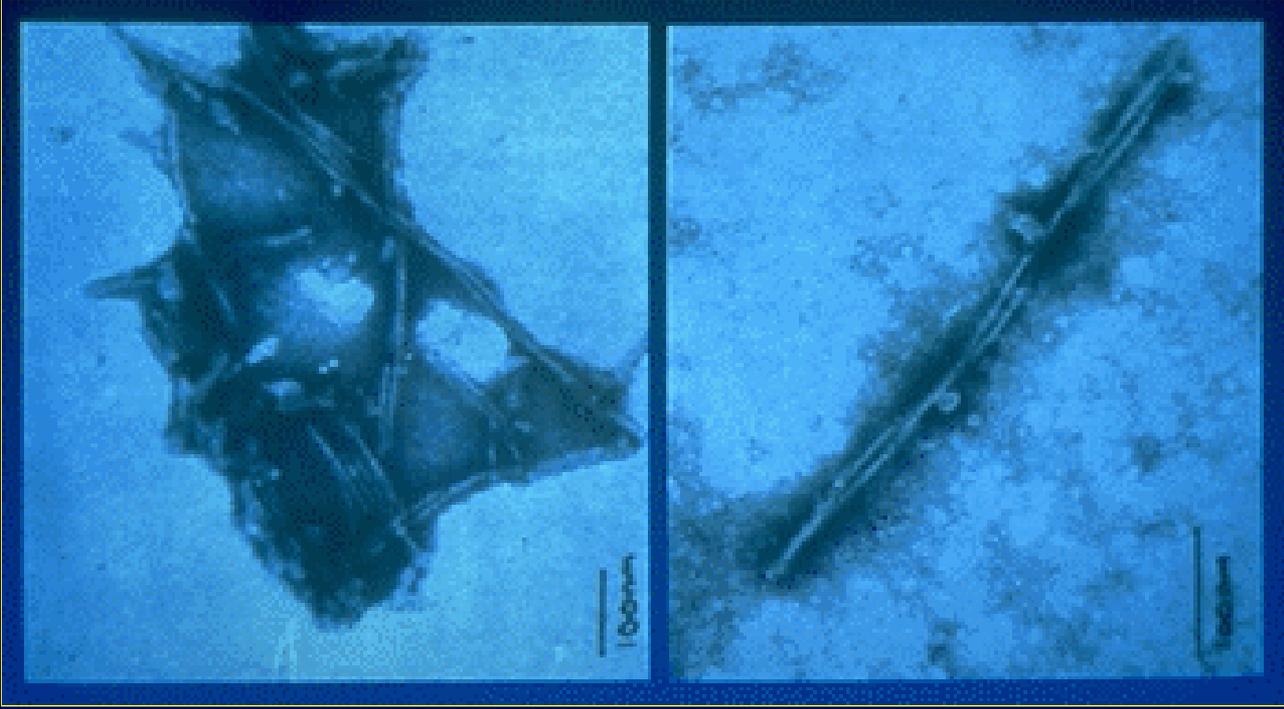
**Mad Cow**

**Bovine Spongiform Encephalopathy  
(BSE)**

**Transmissible Spongiform  
Encephalopathies (TSEs)**

PRION

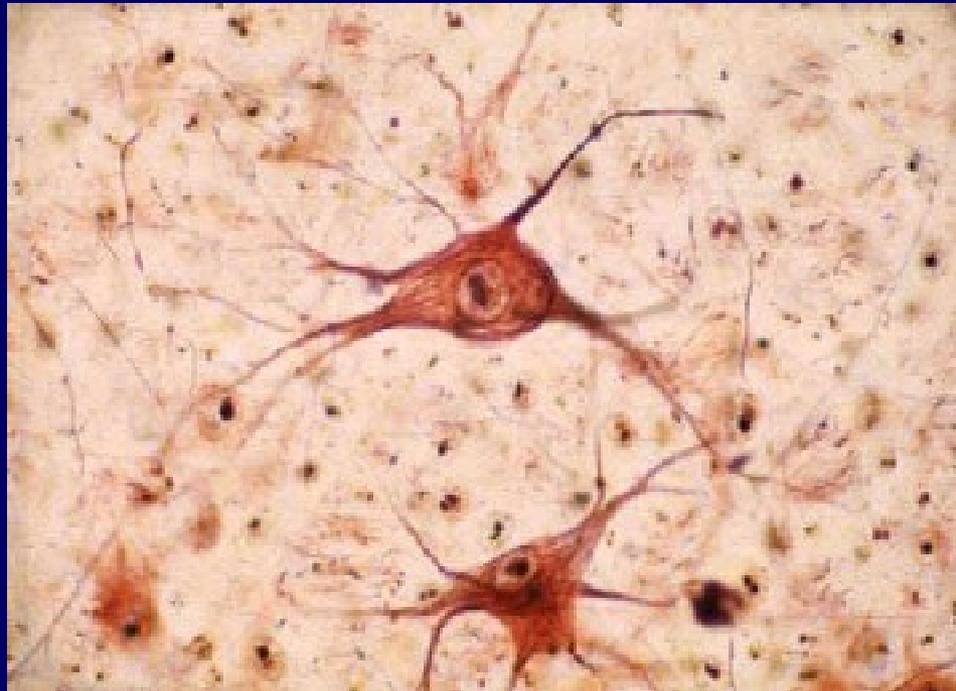
- Le terme Prion a été inventé en 1982 par Stanley Prusiner, pour définir une particule infectieuse avec des caractéristiques inconnues :
- résistance aux rayons U.V.,
- manque d'acides nucléiques
- composition de protéine exclusive
- prion
- Pr = la protéine
- i = infectieux
- on = la particule

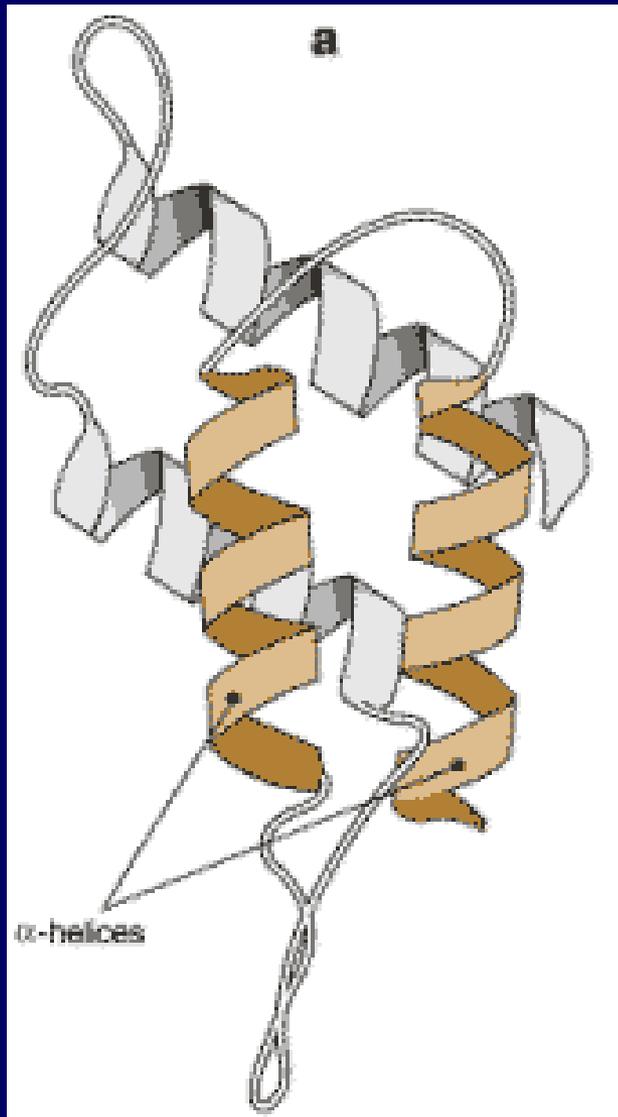


La Protéine Prionique est normalement présente dans les tissus des hommes et animaux

C'est un constituant de beaucoup de cellules, surtout ceux du système nerveux

Glycoprotéine, 33-35 kDa)  
normalement présente sur la surface des cellules insérée dans la membrane plasmique  
elle facilite la transmission du signal entre cellules nerveuses





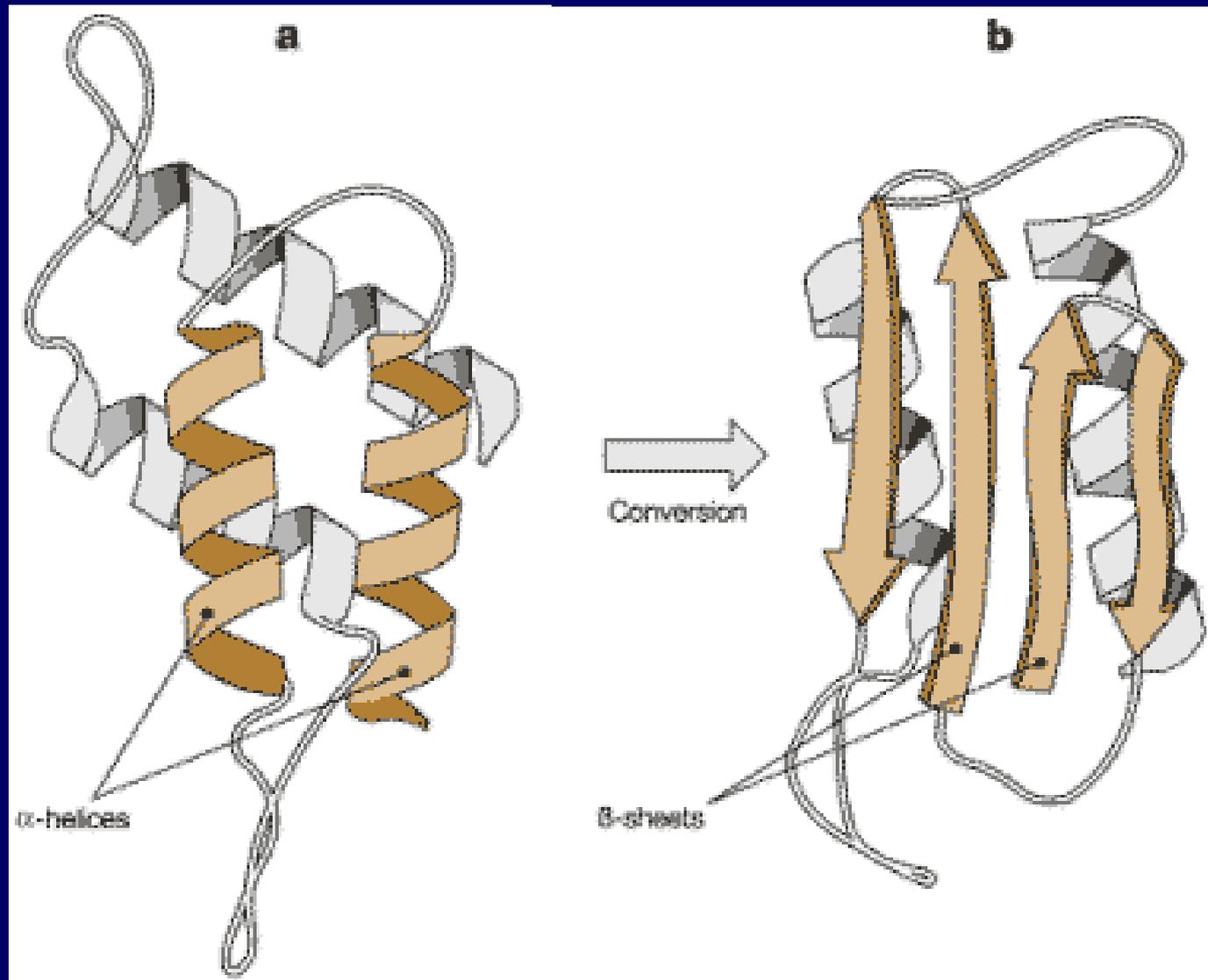
PrPc

PrPc est présent comme protéine avec une conformation de  $\alpha$  - hélice

La mutation de PrPc altère  $\longrightarrow$  le pliage de la protéine

qui se transforme en PrPsc

PrPsc = protéine avec conformation  $\beta$  - étendue



PrPc

Anomalous PrP

Ce qui est un clivage progressif des  
protéines saines (PrPc) en protéine  
prionique anormaux

(PrPsc)

La réaction est de type exponentielle

L'effet est d'une réaction en chaîne

- PrP<sup>c</sup>
- PrP<sup>sc</sup>
- terminations

n° of terminations

2

sphères  
blanches

jaune



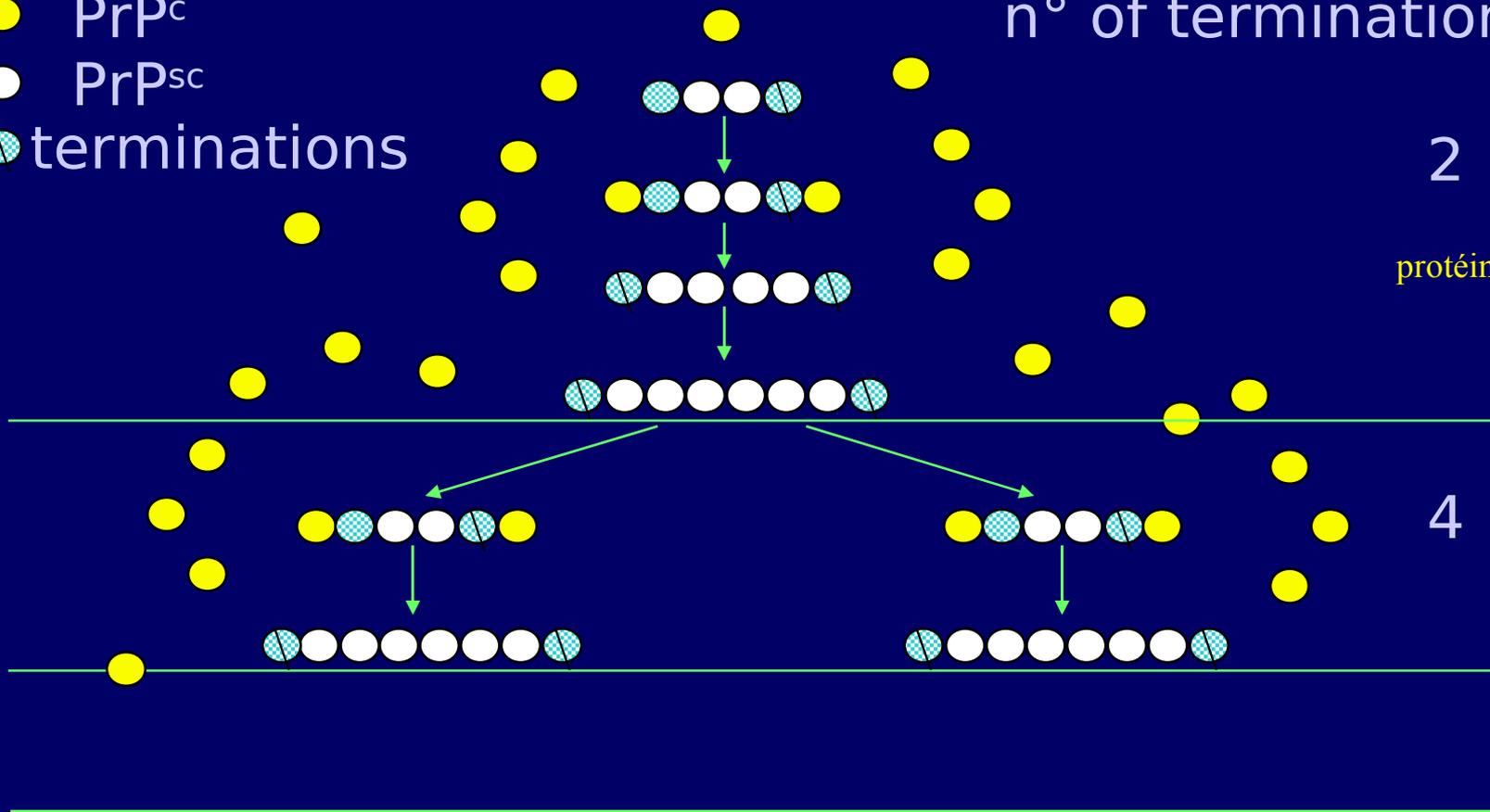
- PrP<sup>c</sup>
- PrP<sup>sc</sup>
- terminations

n° of terminations

2

protéine jaune

4

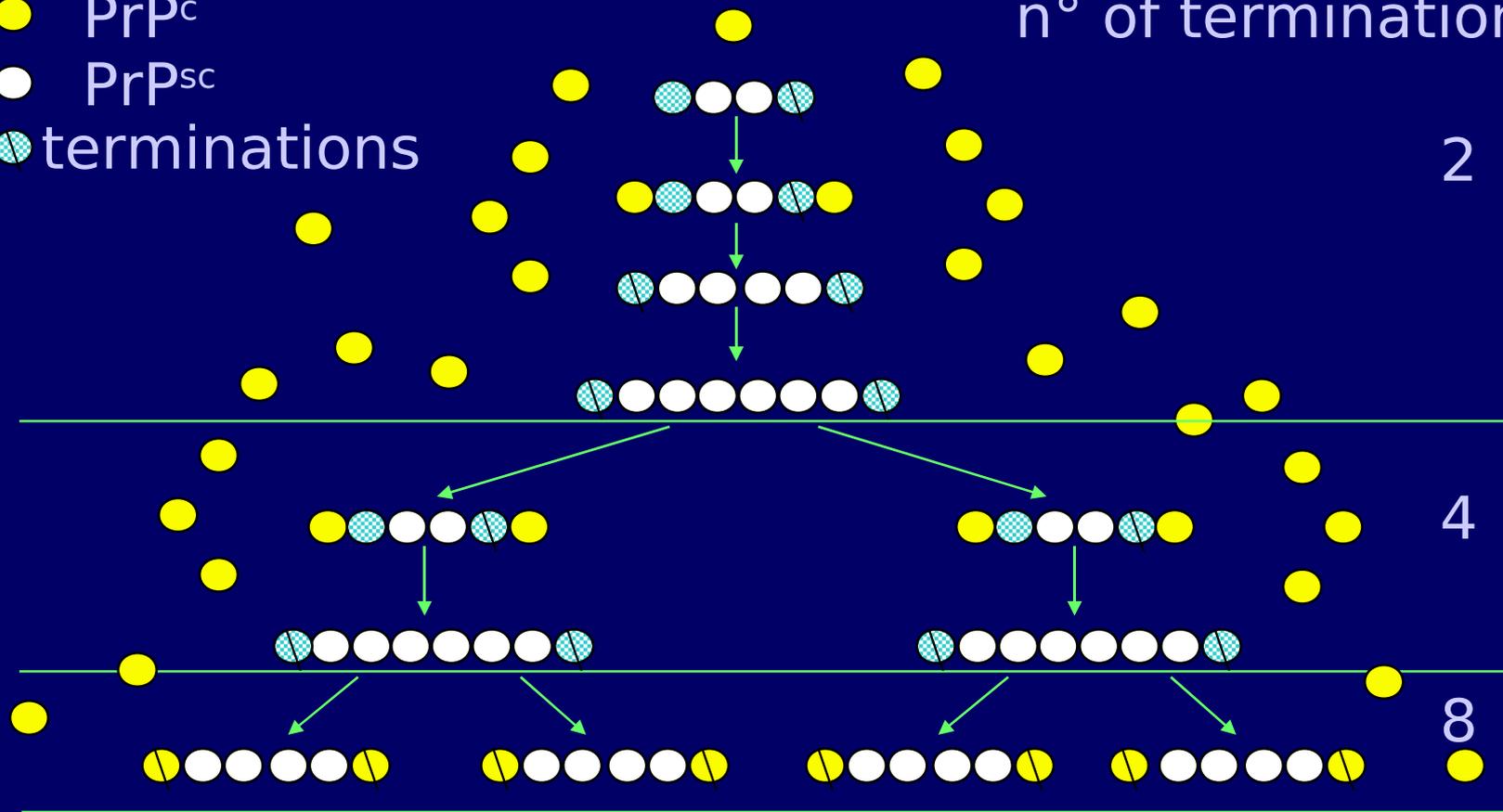


● PrP<sup>c</sup>

● PrP<sup>sc</sup>

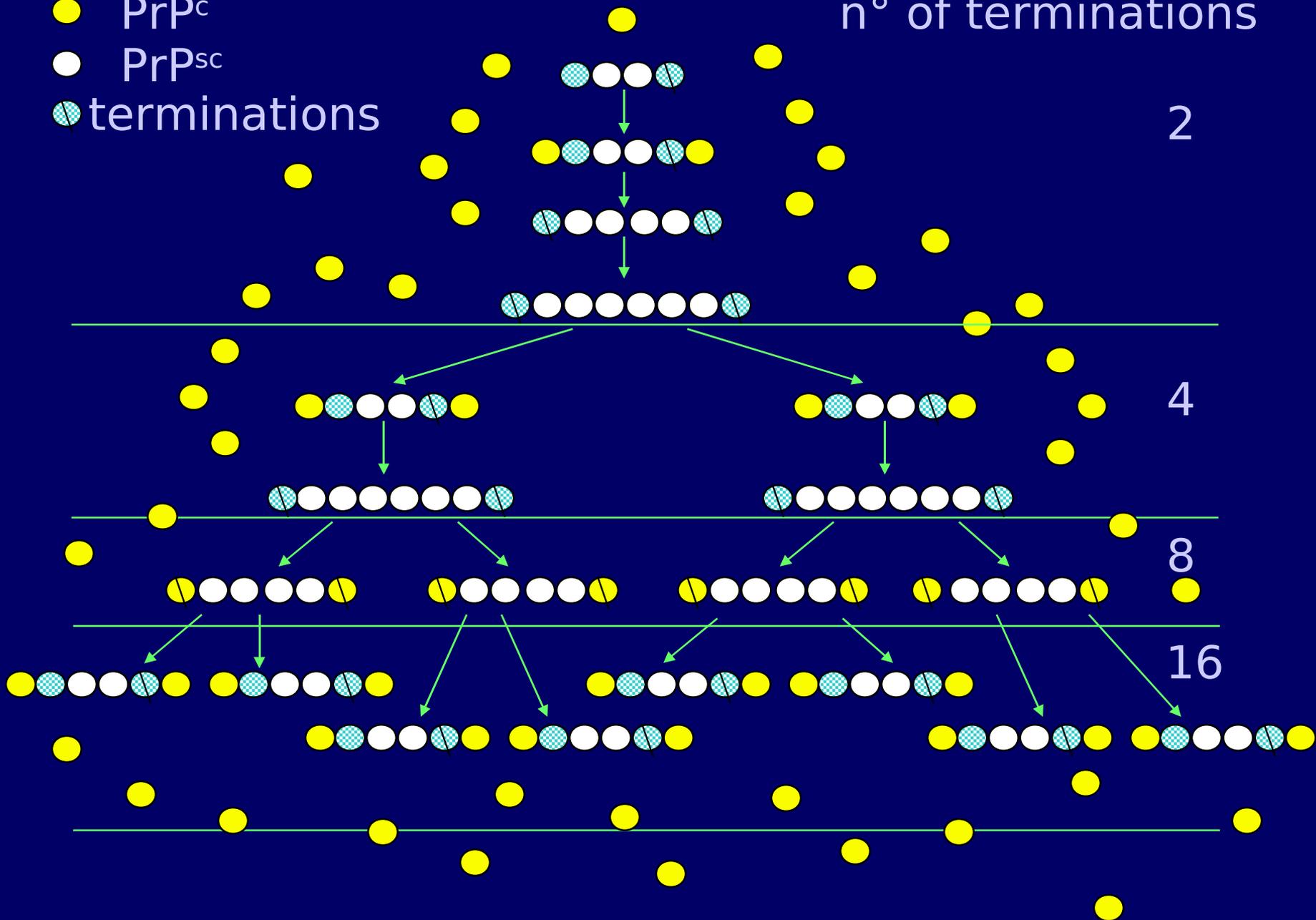
● terminations

n° of terminations



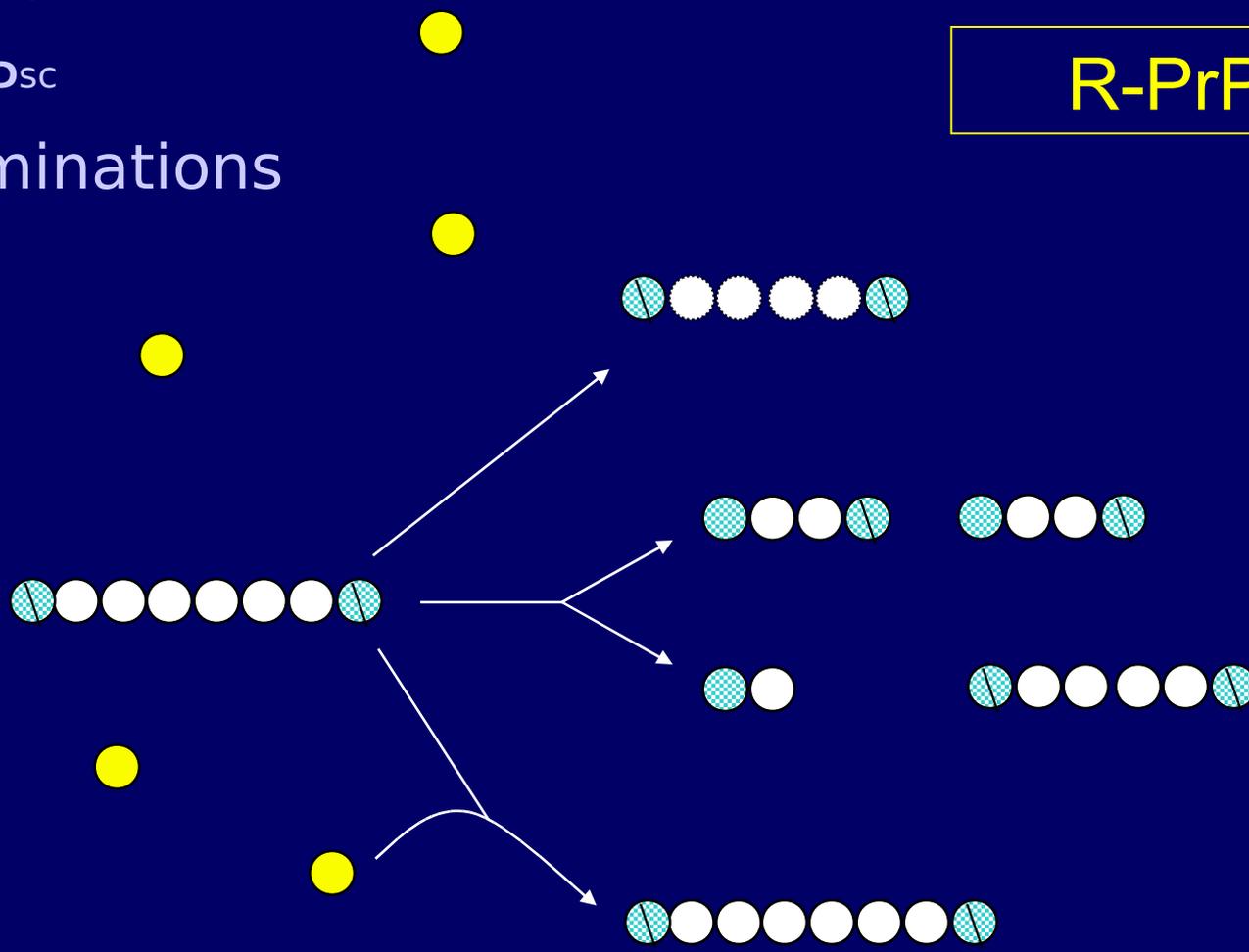
- PrP<sup>c</sup>
- PrP<sup>sc</sup>
- terminations

n° of terminations



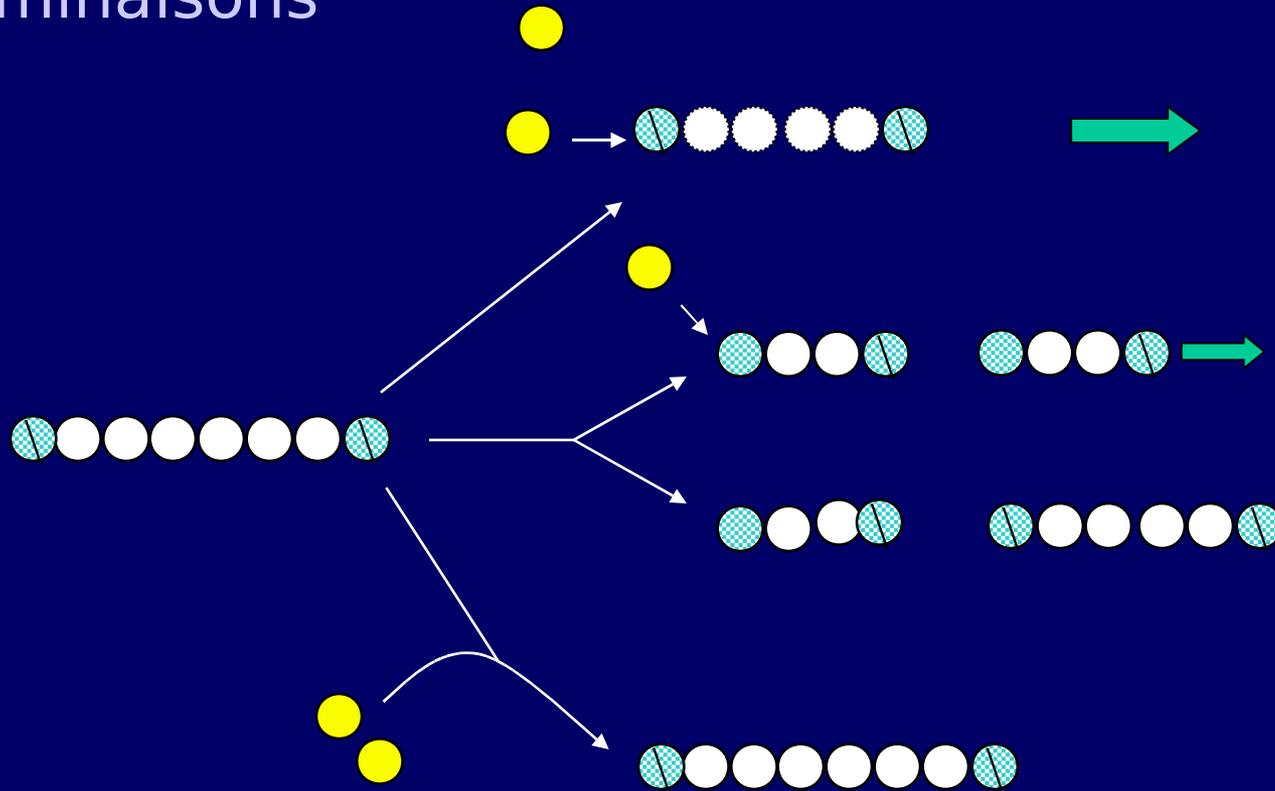
- PrP<sup>c</sup>
- PrP<sup>sc</sup>
- terminations

R-PrP<sup>sc</sup>

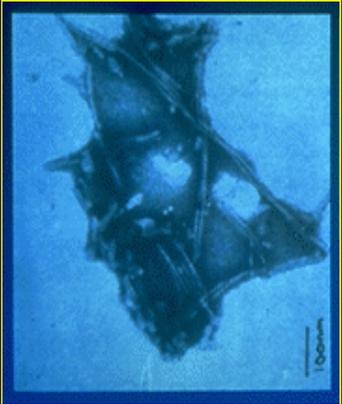


S-PrP<sup>sc</sup>

- PrP<sup>c</sup>
- PrP<sup>sc</sup>
- terminaisons

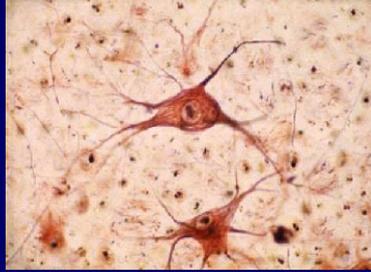


R-PrP<sup>sc</sup>

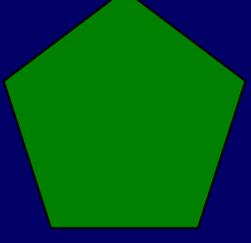
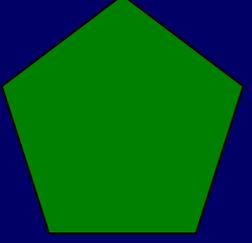
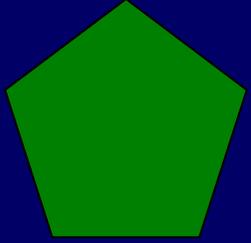
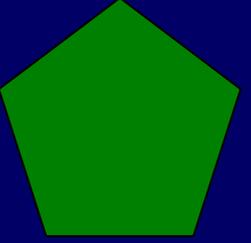
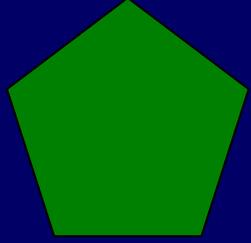
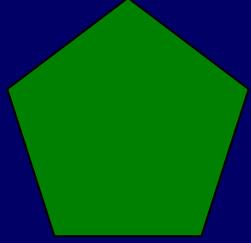
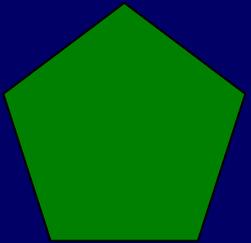
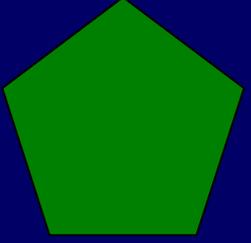
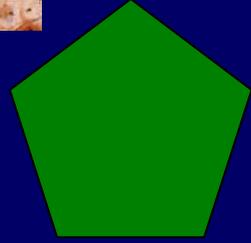
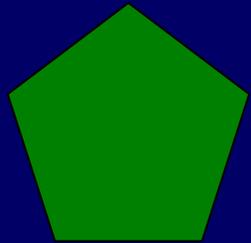
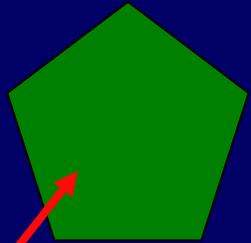


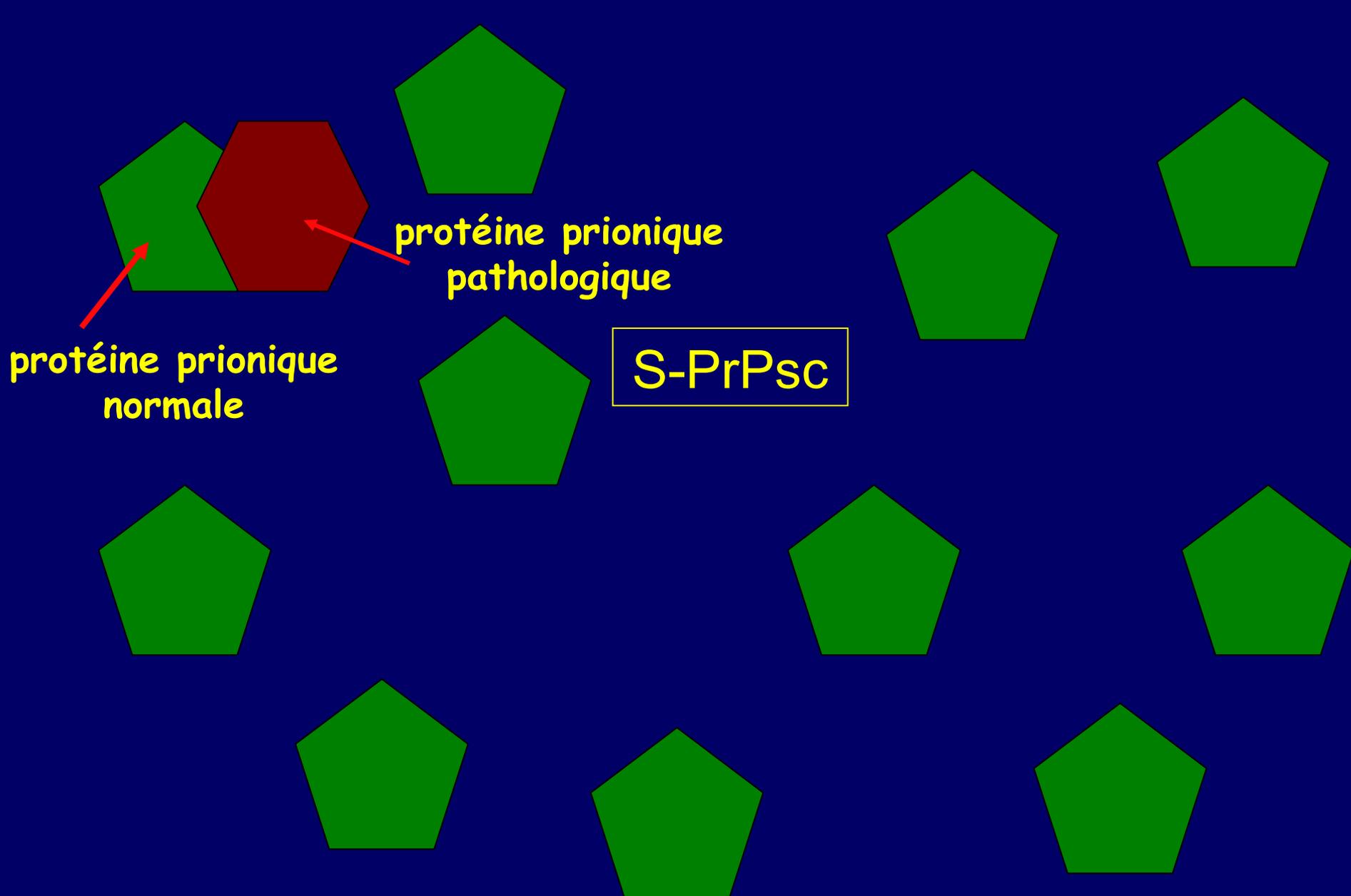
S-PrP<sup>sc</sup>

acts as template  
*il agit comme un moule*



protéine  
prionique  
normale



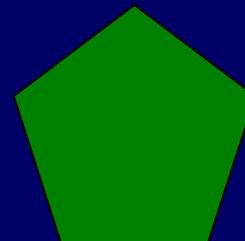
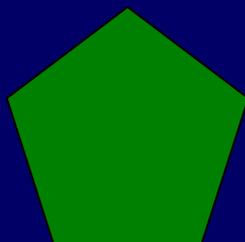
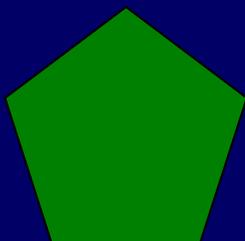
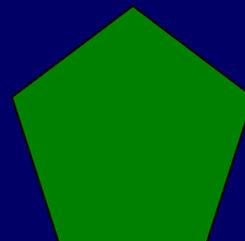
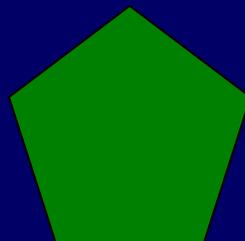
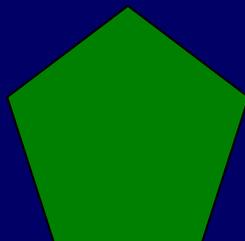
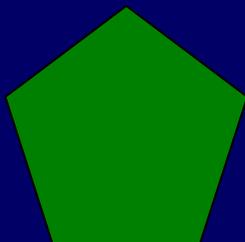
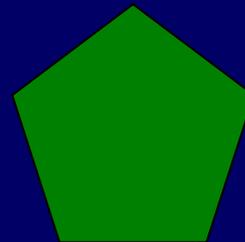
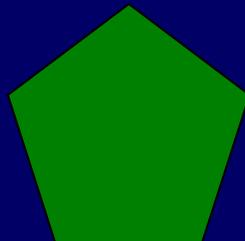
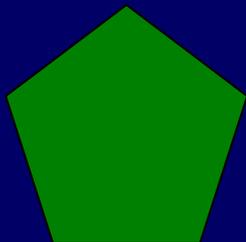
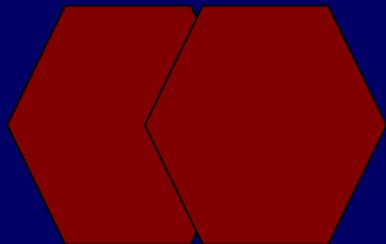


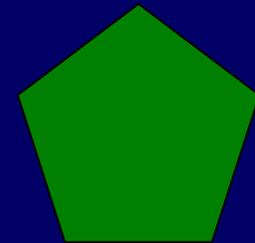
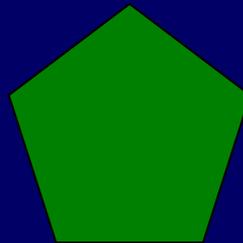
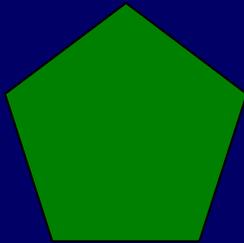
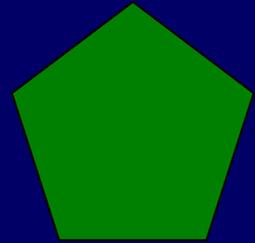
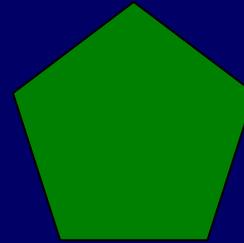
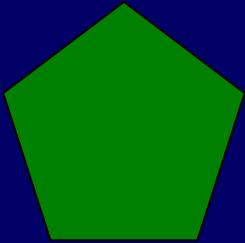
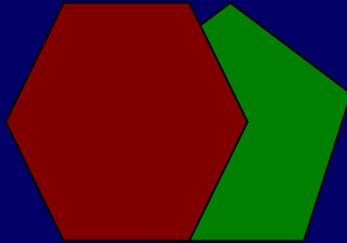
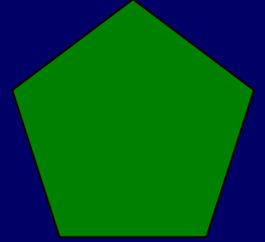
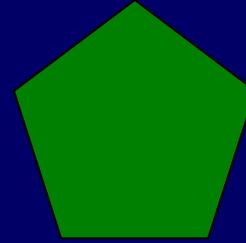
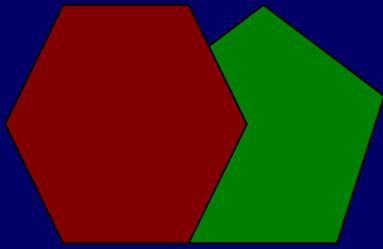
protéine prionique normale

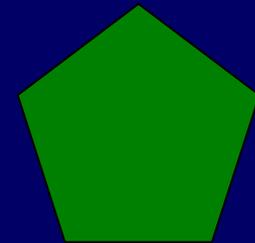
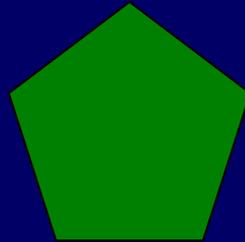
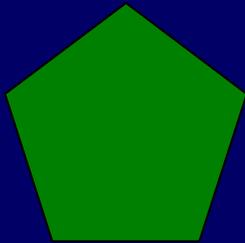
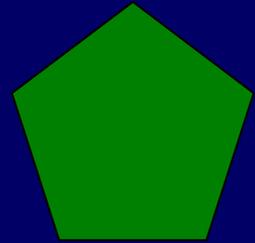
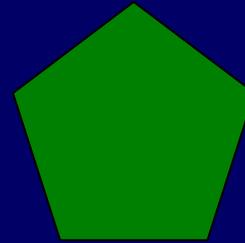
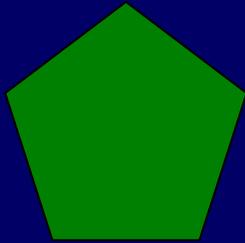
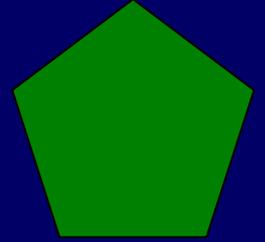
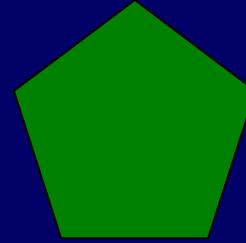
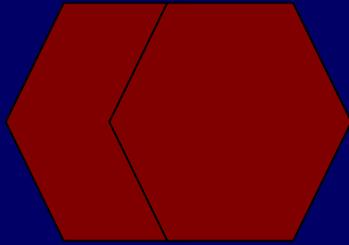
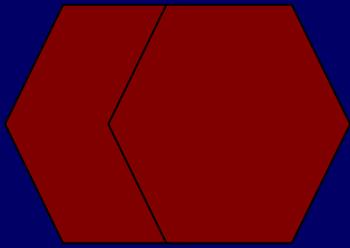
protéine prionique pathologique

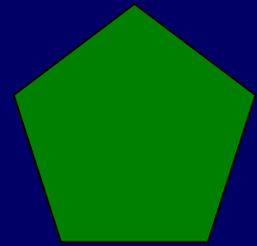
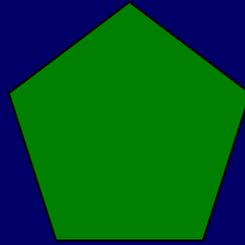
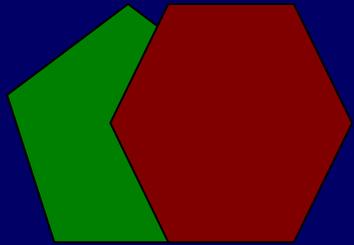
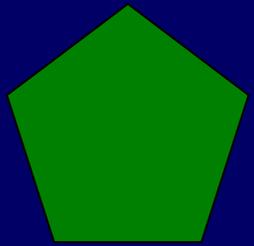
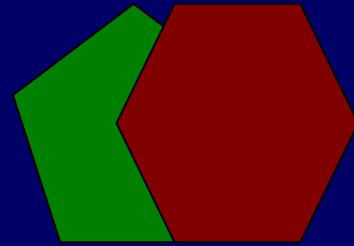
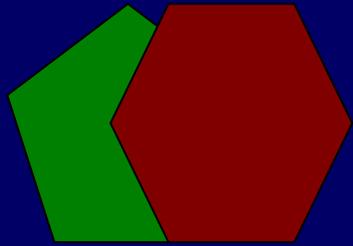
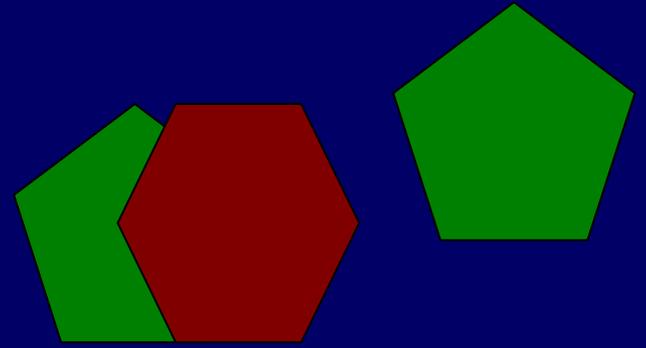
S-PrPsc

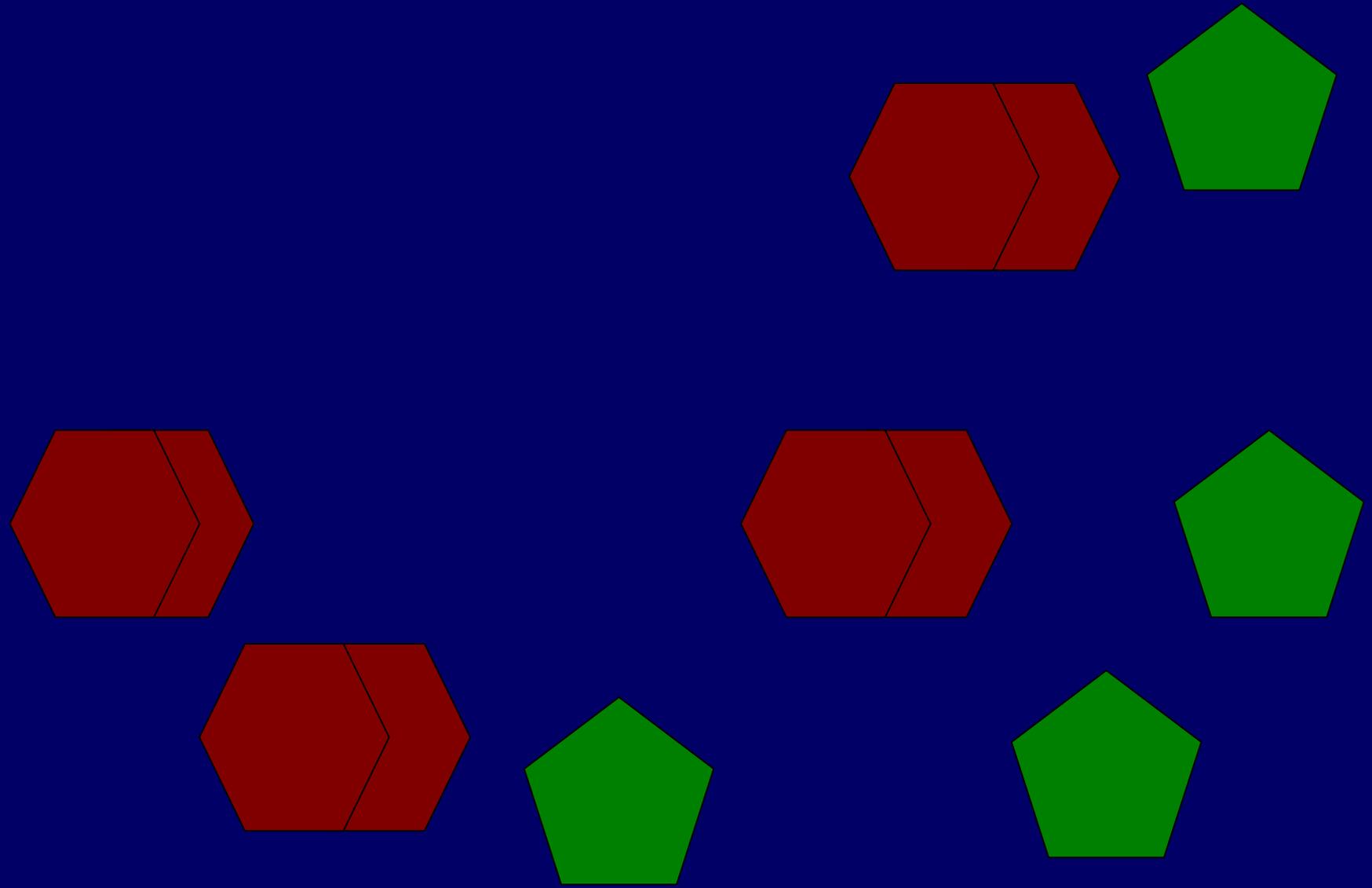
Quand PrPsc contacte PrPC il le convertit dans la forme anormale

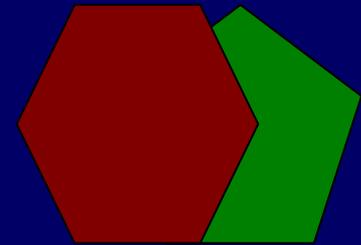
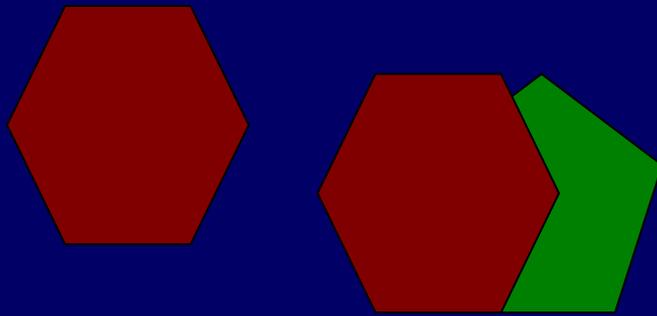
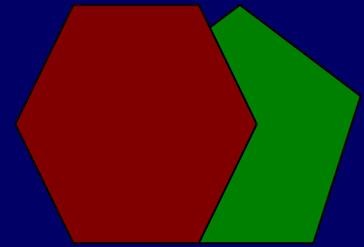
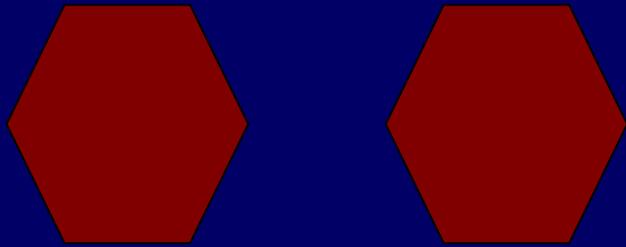
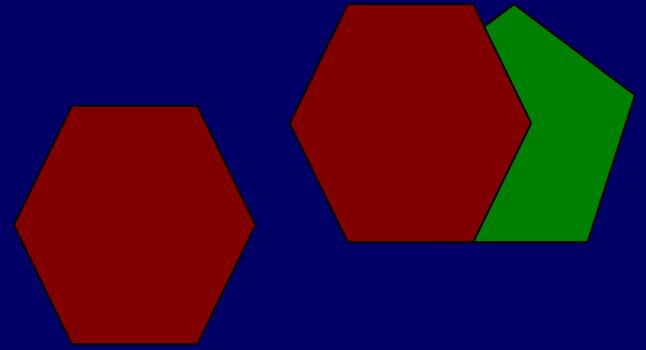








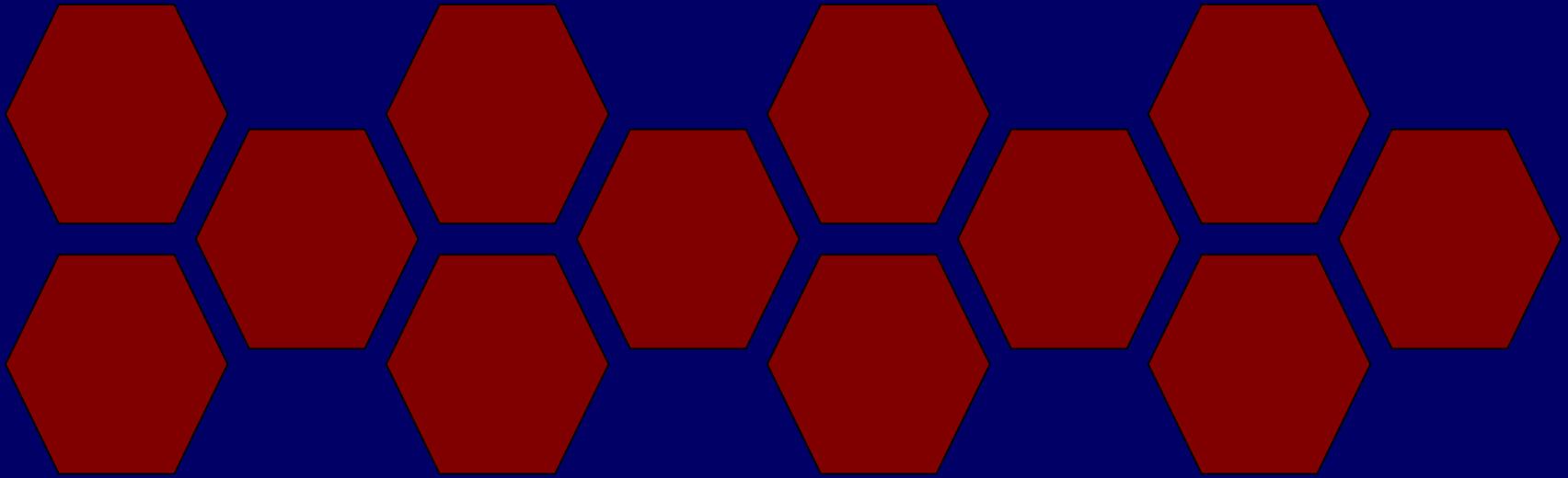
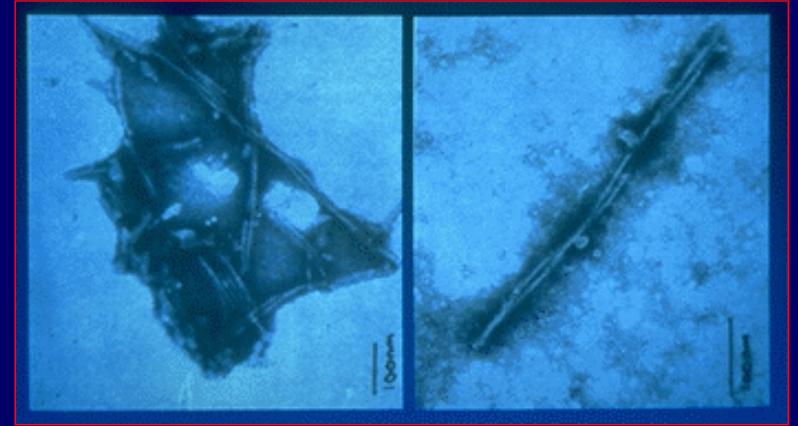






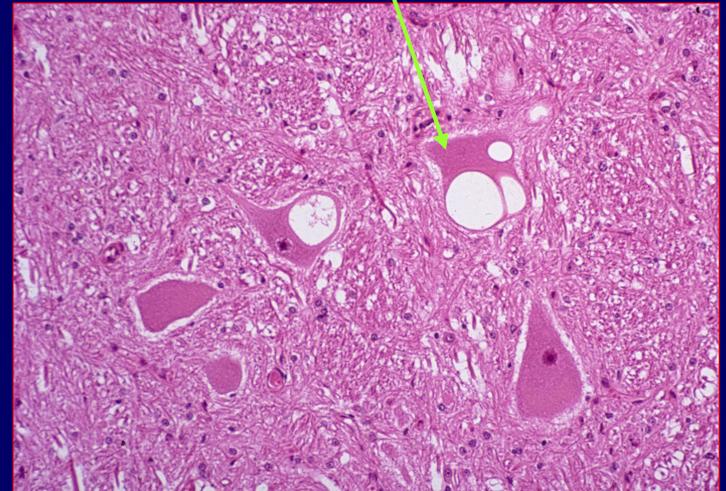






Le PrPsc qui ressemble un cristal auto-catalysent une réaction de polymérisation fibrillaire, en offrant sa propre structure

Les nouveaux PrPsc sont insolubles,  
se cristallisent  
et tombent comme une fibrille d'amyloïde



Cette modification du PrPc en PrPsc anormal  
peut être causée par une mutation du gène qui  
codifie pour la même protéine un phénomène  
rare et occasionnel spontané)  
(1 /1.000.000)

Les maladies causées par cette modification  
ont toujours existé  
chez l'homme chez les animaux  
d'une manière très sporadique

# MALADIES NEURODEGENERATIVE CAUSÉE PAR DES AGENTS TRANSMETTEUR NON CONVENTIONNELS

Scrapie

sheep, goat (mouflon)

Chronic wasting disease  
(CWD)

Red deer, black tail deer, elk

Transmissible encephalopathy

mink

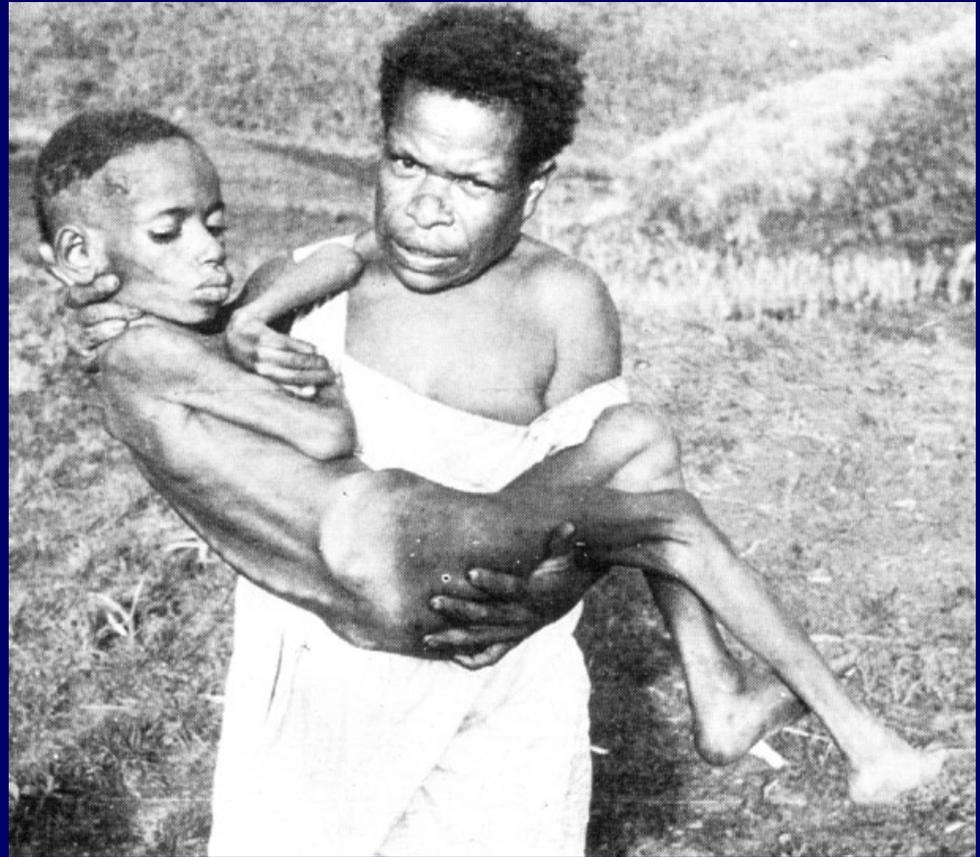
Sporadic Creutzfeld-Jacob disease  
Sporadic fatal insomnia

Familiar Creutzfeld-Jacob disease  
Fatal insomnia

Gerstmann-Straussler-Scheinker syndrome (GSS)

Iatrogenic Creutzfeld-Jacob disease  
Kuru

Kuru (homme)



*Kuru est le nom d'une maladie semblable à la maladie de Creutzfeldt-Jakob qui a frappé par le passé les populations originaires de la Nouvelle Guinée.*

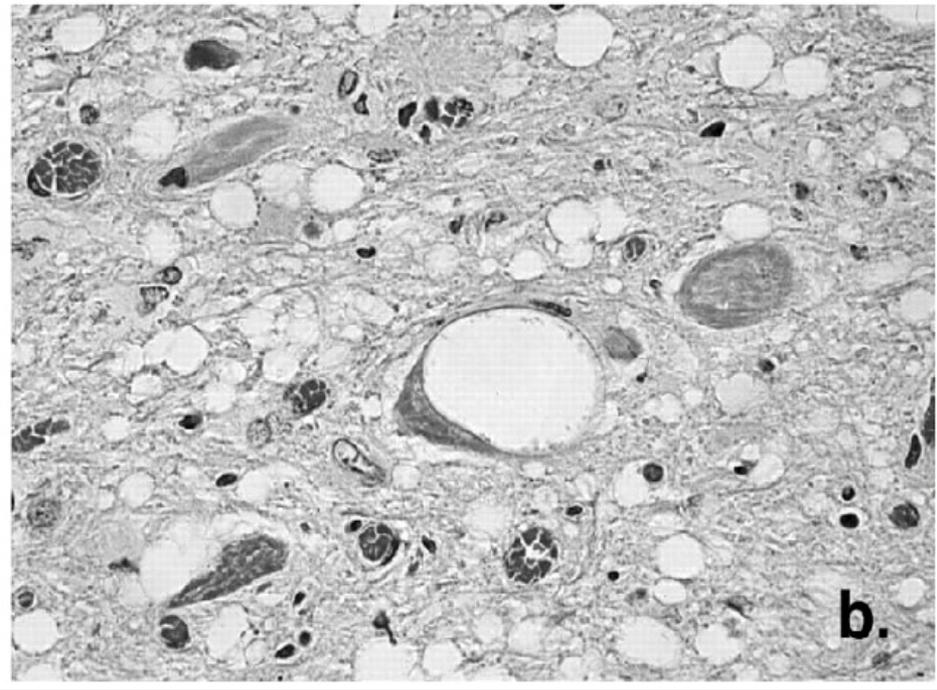
*Dr. Vincenzo Zigas a en 1955 décidé d'étudier l'augmentation anormale des maladies neurologiques dans les populations primitives de la Nouvelle Guinée*

# Chronic Wasting Disease CWD

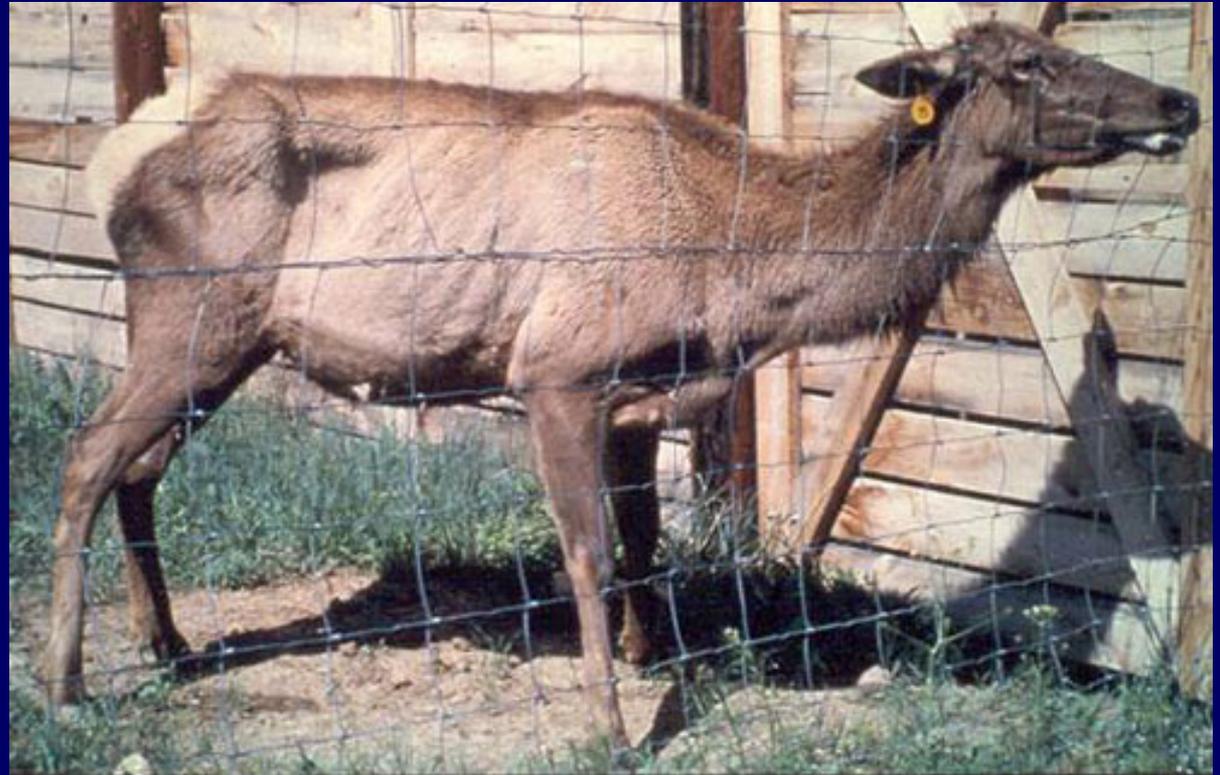
Pour la première fois signalée comme un syndrome de « d'amincissement chronique en 1967 dans les cerfs du colorado septentrional. Il fut identifié comme un TSE en 1978



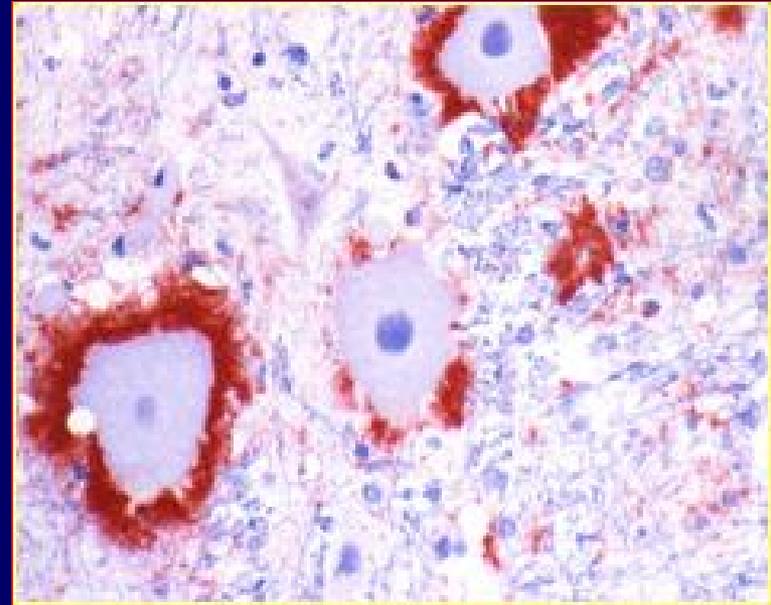
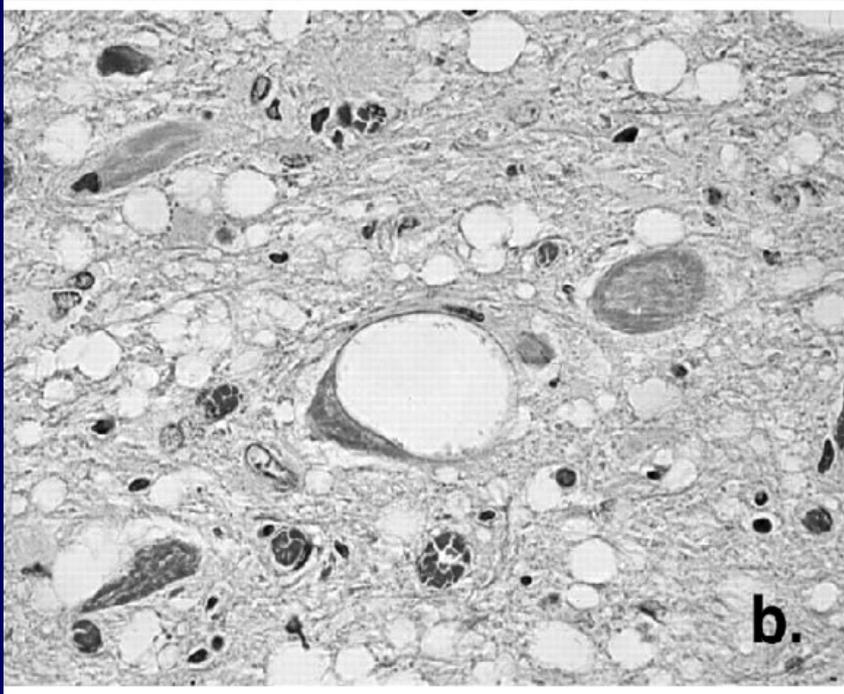
**Fig. 1** The geographical distribution of CWD in free-ranging deer in the US and Canada.



CWD







Lames dans le cerveau d'un cerf.  
Caractéristique de la maladie  
CWD

Scrapie



# SCRAPIE

Mouton, chèvre (muflone)

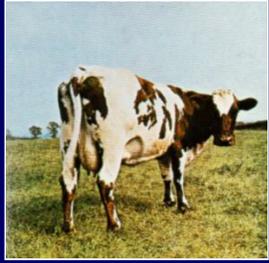
Pour la première fois décrite en Grande-Bretagne en 1732

Est considéré comme  
le prototype de la  
TSE

Modèle de maladie pour les TSE

L'apparition du BSE  
et les "nouvelles formes"  
de TSE





# BSE

## Epidémiologie

Le rôle spécifique des facteurs épidémiologiques comme les changements profonds survenu au cours des années 80', dans l'industrie alimentaire animale au Royaume-Uni

# Hypothèse sur l'origine du BSE



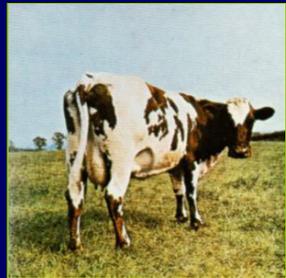
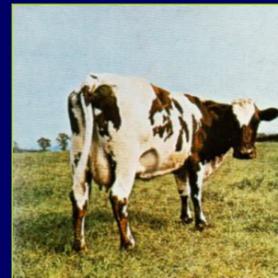
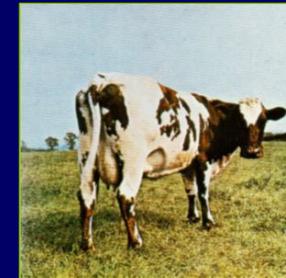
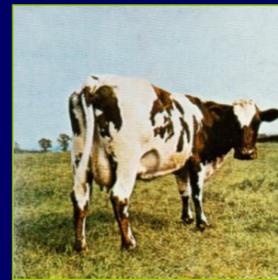
scrapie



farines  
d'origine  
animale, qu'ils  
contenaient  
prion



BSE

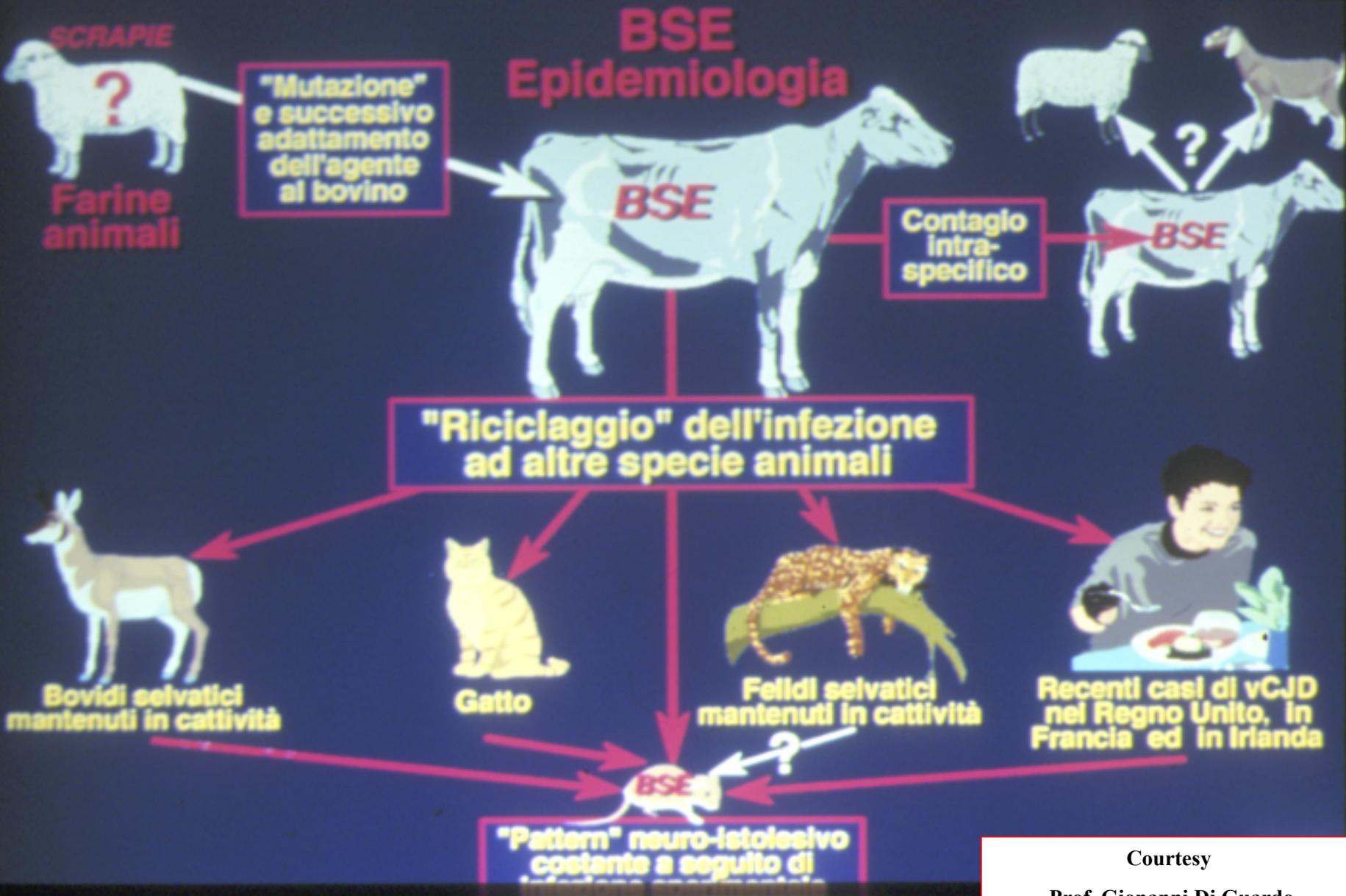


mutation intra-  
spécifique



farines  
d'origine  
animale, qu'ils  
contenaient  
prion

Courtesy  
Prof. Giovanni Di Guardo  
University of Teramo



Courtesy  
 Prof. Giovanni Di Guardo  
 University of Teramo

# Maladies NEURODEGENERATIVE Causée D'agents Transmissibles Conventionnels (premier de l'apparition du BSE)

Scrapie

sheep, goat (mouflon)

Chronic wasting disease  
(CWD)

Red deer, black tail deer, elk

Transmissible encephalopathy

mink

Sporadic Creutzfeld-Jacob disease  
Sporadic fatal insomnia

Familiar Creutzfeld-Jacob disease  
Fatal insomnia

Gerstmann-Straussler-Scheinker syndrome (GSS)

Iatrogenic Creutzfeld-Jacob disease  
Kuru

# Encefalopatie spongiformi transmissibles de l'homme et des animaux (après l'apparition du BSE)

|   |       |   |
|---|-------|---|
| Spongiform encephalopathy of bovine (BSE) "mad cow" | _____ | bovine                                    |
| Feline spongiform encephalopathy                    | _____ | cat                                       |
| Wild feline spongiform encephalopathy               | _____ | (* ) puma, cheetah, ocelot, tiger         |
| Wild ruminants spongiform encephalopathy            | _____ | (* ) nyala, antelope, kudu, Arab antelope |
| Sheep Spongiform encephalopathy                     | _____ | sheep and goat                            |
| Variant Creutzfeld-Jacob disease (VCJD)             | _____ | human                                     |



# SCRAPIE

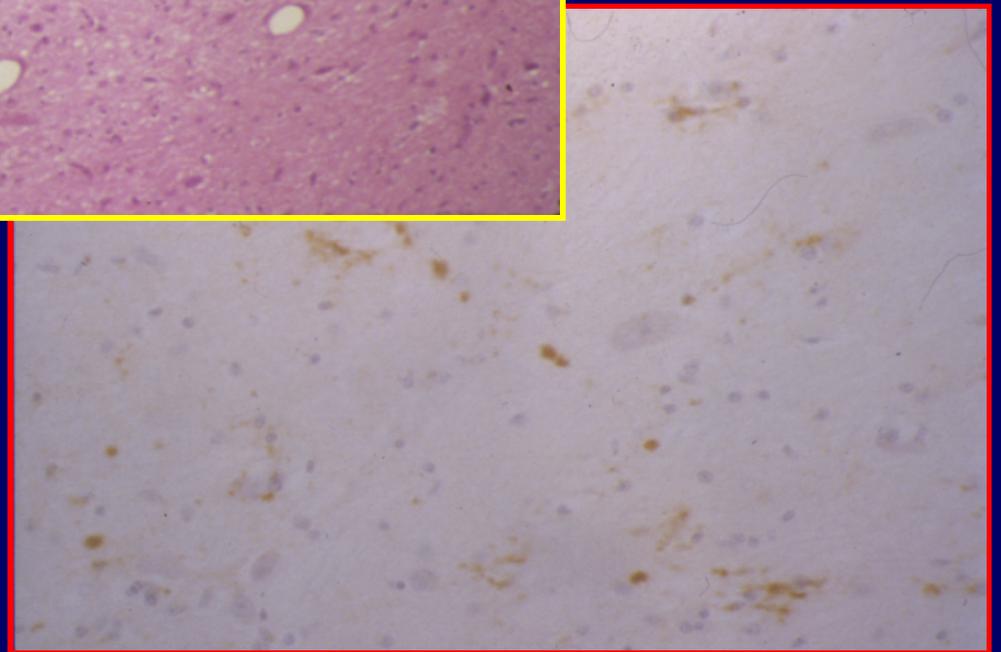
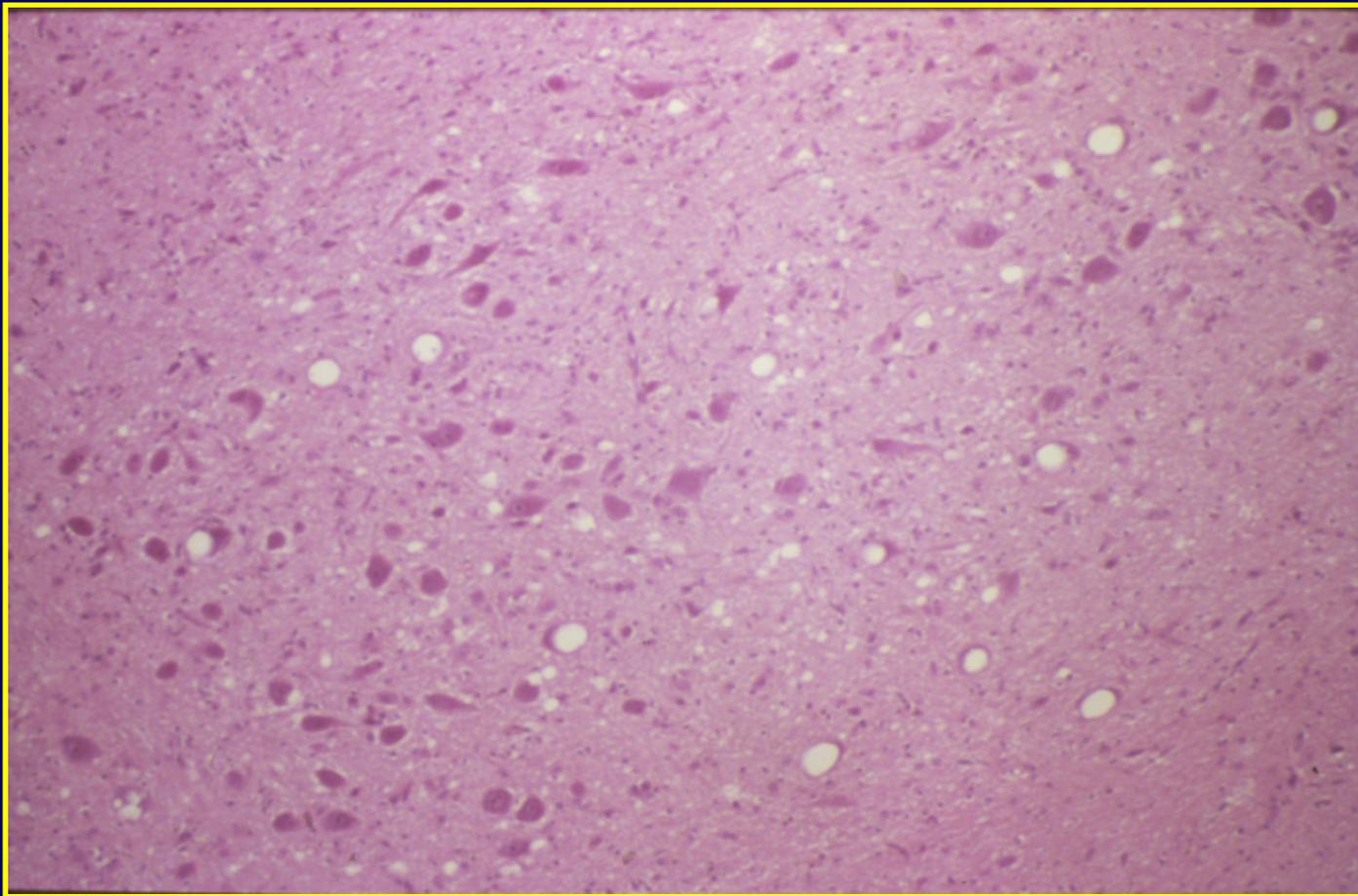
Maladie  
Neurodegenerativa avec  
cours lent mais  
progressif et fatal

Les moutons mangent souvent le  
placenta d'autre mouton après  
l'accouchement

# Pathogénie



- L'agent entre dans l'hôte à cause oral
- Il passe à travers la muqueuse intestinale et il arrive au sang
- Il se localise dans les organes de lymphoïdes, où il se multiplie activement
- À travers le système circulatoire, ou à travers le système enterico nerveux (plexus) (plexus d'ENS) arrive au cerveau



Courtesy

Prof. Giovanni Di Guardo

University of Teramo



Courtesy  
Prof. Giovanni Di Guardo  
University of Teramo

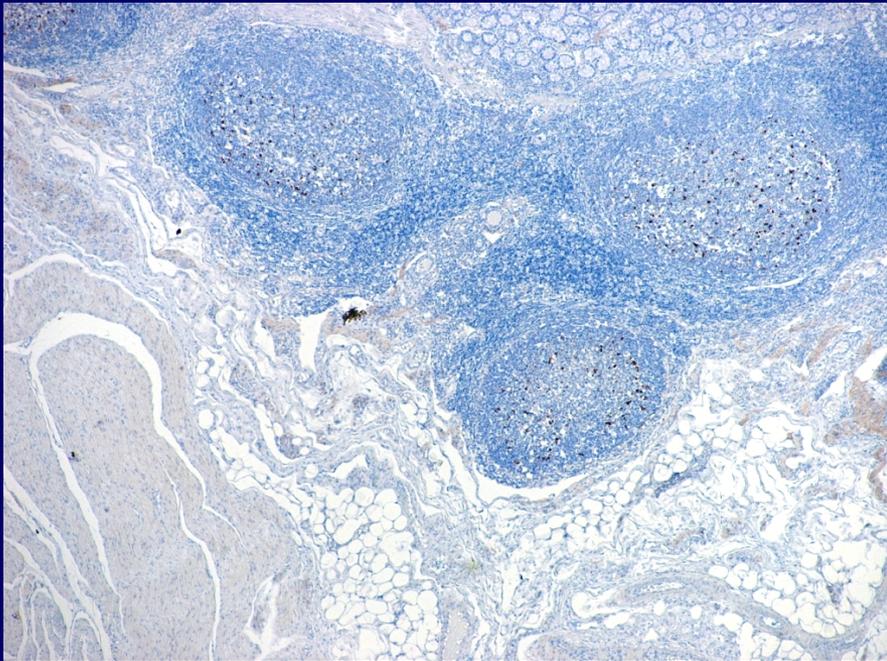
## Comment les ATNC (prion) réussissent-ils à atteindre le SNC après l'infection ?

L'étude des cellules et des mécanismes impliqués dans ce processus ont permis d'identifier des marqueurs spécifiques liés à l'infection, qui constituent des passages cruciaux dans le processus et qui, si on les bloque, empêchent ces agents de pénétrer dans le cerveau.

## Traversée de l'épithélium intestinal

En cas d'ingestion d'aliments contaminés, les ATNC doivent traverser l'épithélium intestinal.

Entre l'épithélium des villosités et l'épithélium folliculaire (FAE) des plaques de Peyer, se trouvent les cellules M (microfold), un type particulier de cellules épithéliales spécialisées dans le transport transépithélial de macromolécules et de particules.



Courtesy  
Prof. Giovanni Di Guardo  
University of Teramo

## Plaques de Peyer

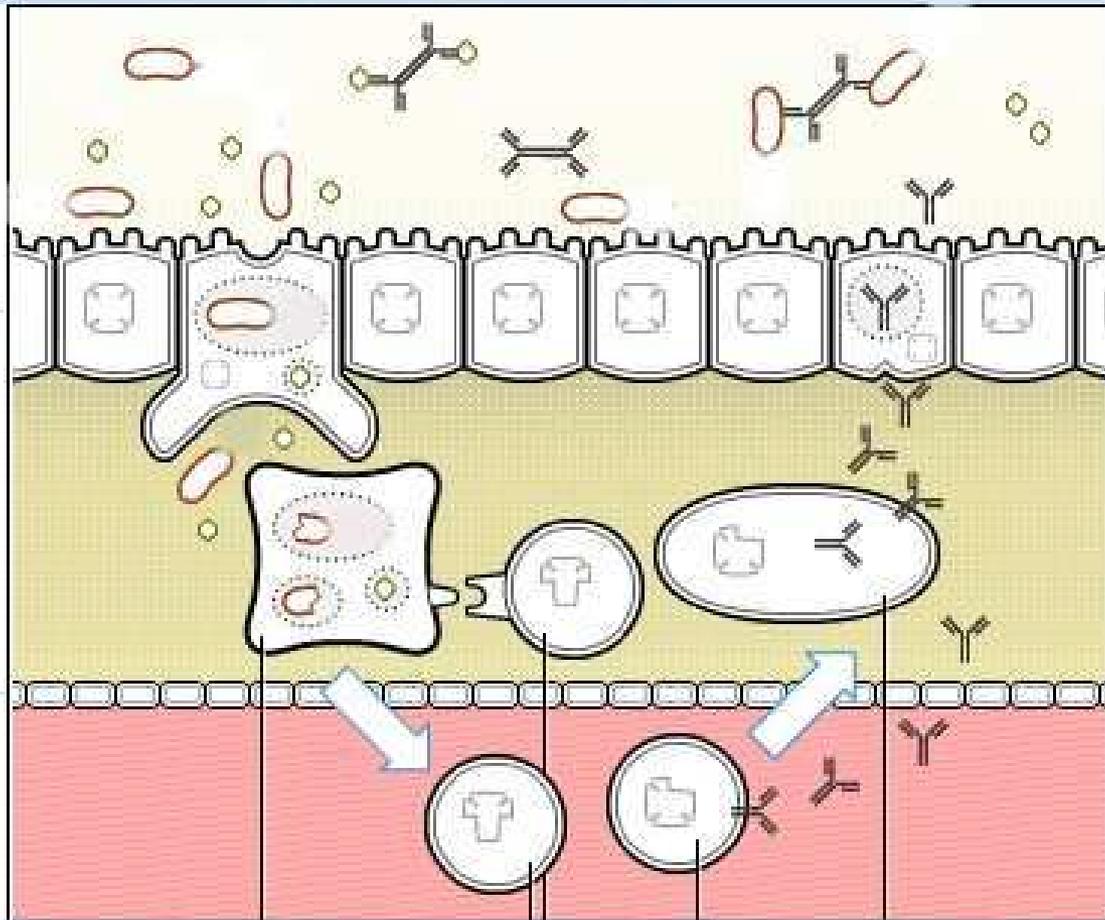
Ce sont des follicules lymphatiques spécialisés localisés dans la sous-muqueuse de l'intestin grêle. Ils contiennent des follicules de lymphocytes B et des zones T interfolliculaires, avec une couche d'épithélium qui les entoure contenant des cellules épithéliales spécialisées appelées « Microfold (M) cells ».

## Orochol elicits mucosal and systemic immunity

intestinal lumen  
mucosal immunity

intestinal wall  
systemic immunity

blood vessel



macrophage

T cell

B cell

plasma cell



fragments of bacteria



antibody

## Macrophages

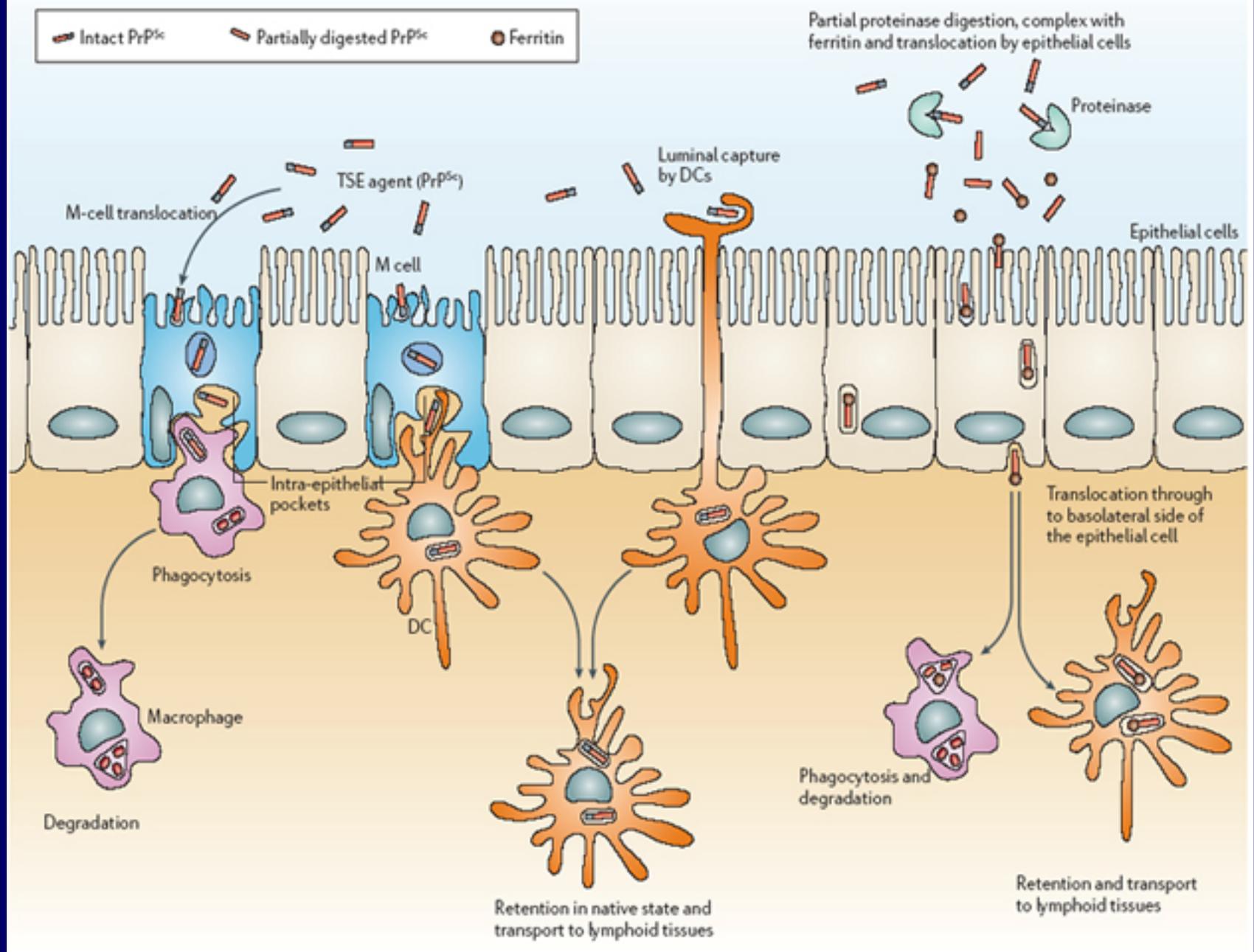
... ils peuvent empêcher l'accumulation précoce des ATNC dans le tissu lymphoïde, sans doute grâce au séquestre de l'inoculum initial.

## Cellules dendritiques (DC)

Cellules migratoires provenant de la moelle osseuse, les DC sont spécialisées dans la capture des antigènes dans les sites périphériques pour les libérer ensuite dans le tissu lymphatique afin de permettre le début d'une réponse immune.

Leur localisation à proximité des cellules M porte à croire que les DC sont des candidates plausibles pour transporter les ATNC au tissu lymphatique.

Contrairement aux macrophages, certaines DC peuvent capturer et retenir les antigènes protéiques et les ATNC en leur état natif et non dégradé !



Mabbott *et al.* *Nature Reviews Microbiology* advance online publication;  
 published online 06 February 2006 | doi:10.1038/nrmicro1346

## Traversée de l'épithélium intestinal

Certains micro-organismes pathogènes exploitent les cellules M et les utilisent pour pénétrer à travers la muqueuse intestinale.

1) Grâce à un système *in vitro*, les cellules M ont prouvé qu'elles ont une capacité active d'effectuer la transcytose de l'agent de la scrapie à travers l'épithélium.

Bien qu'une confirmation *in vivo* soit encore nécessaire, on suppose que les cellules M constituent le site de transport transépithélial des ATNC à travers l'épithélium intestinal.

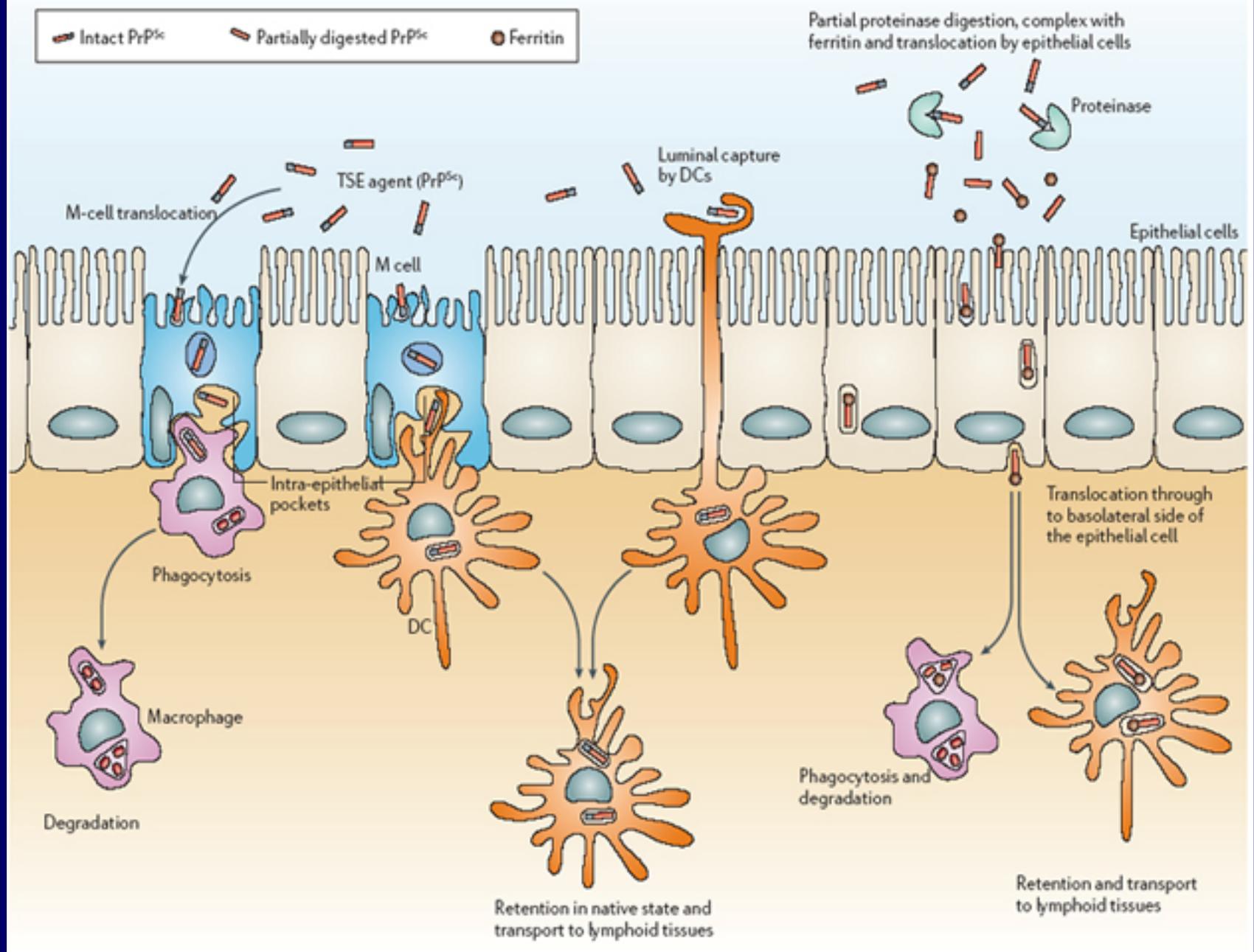
## Traversée de l'épithélium intestinal

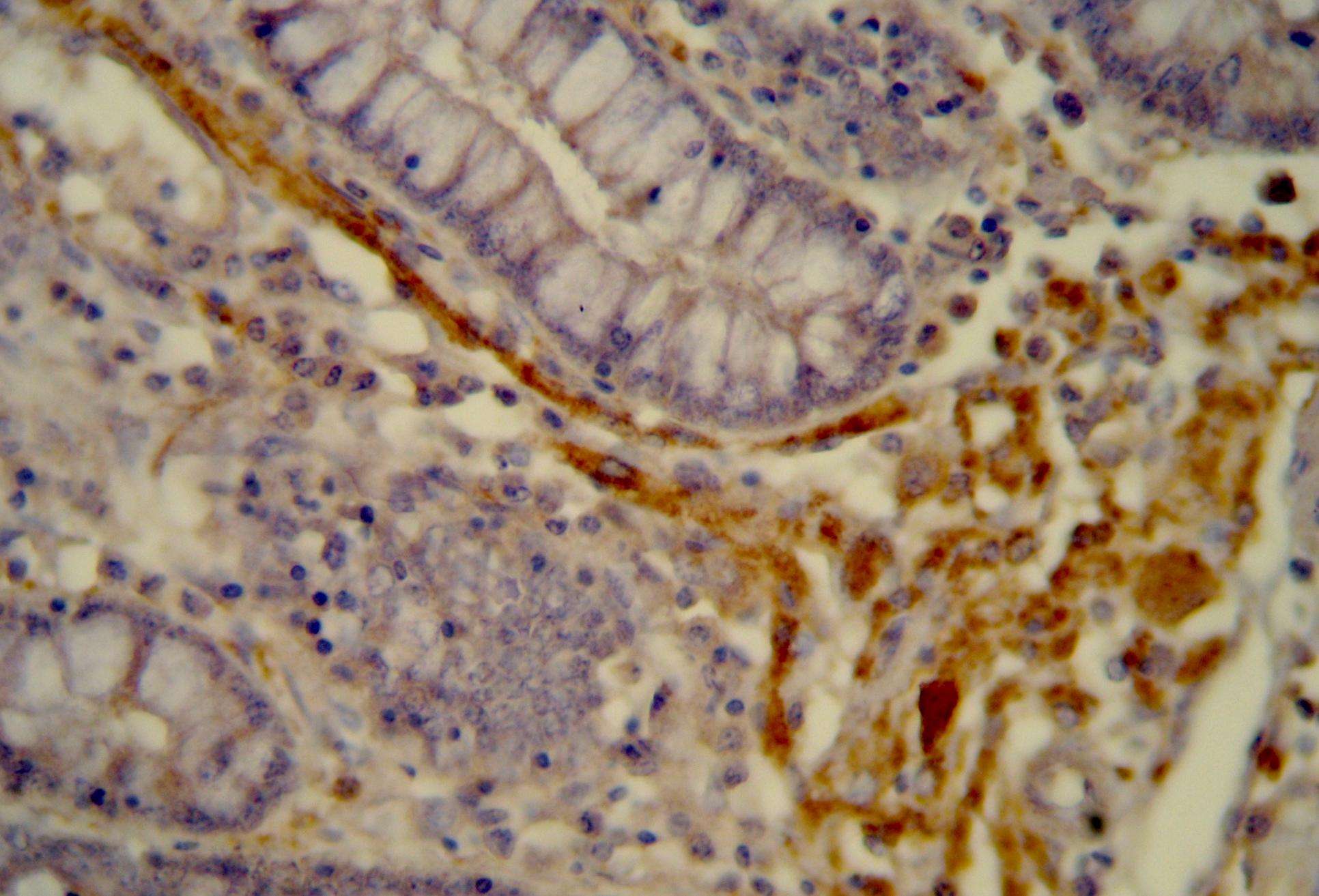
2) Capture à l'intérieur de la lumière intestinale par les dendrites des DC.

3) Digestion partielle par les protéinases, formation d'un complexe avec de la ferritine et translocation à travers les cellules épithéliales. (La digestion de la pepsine de l'estomac produit des fragments de PrP<sup>sc</sup> semblables aux fragments de 27-30-Kda du noyau de PrP<sup>sc</sup>, résistants à la protéinase K, qui peuvent former des complexes avec la ferritine. Ces complexes peuvent ensuite être endocytés par les cellules épithéliales intestinales et passer par transcytose dans les vésicules à l'aide d'un mécanisme ferritine-dépendant).

La ferritine est présente en abondance dans le muscle et elle est absorbée par l'aliment dans l'intestin.

Ceci peut être un mécanisme supplémentaire à travers lequel les ATNC peuvent être absorbés par l'aliment contaminé.





Dépôt de PrP<sup>Sc</sup> dans le plexus sous-muqueux

Photo G. Di Guardo

## Transport aux cellules folliculaires dendritiques (FDC)

Une fois que l'ATNC a traversé la barrière des cellules épithéliales, il doit être transporté aux FDC.

La membrane basolatérale des cellules M contient de grandes invaginations (poches intra-épithéliales). L'antigène sort dans les poches intra-épithéliales où il y est traité par les cellules B, T, DC et macrophages.

Le destin de l'ATNC dépend du type de cellule qui le capture.

→ Les cellules DC transportent le prion aux FDC.

Les ATNC persistent dans le tissu lymphatique pendant toute la durée de l'infection, bien qu'il existe de grandes différences qui dépendent du type d'hôte et du type d'ATNC en cause :

Bovins infectés expérimentalement → l'accumulation de l'agent de l'ESB dans le système lymphatique est restreint à celui de l'iléon terminal.

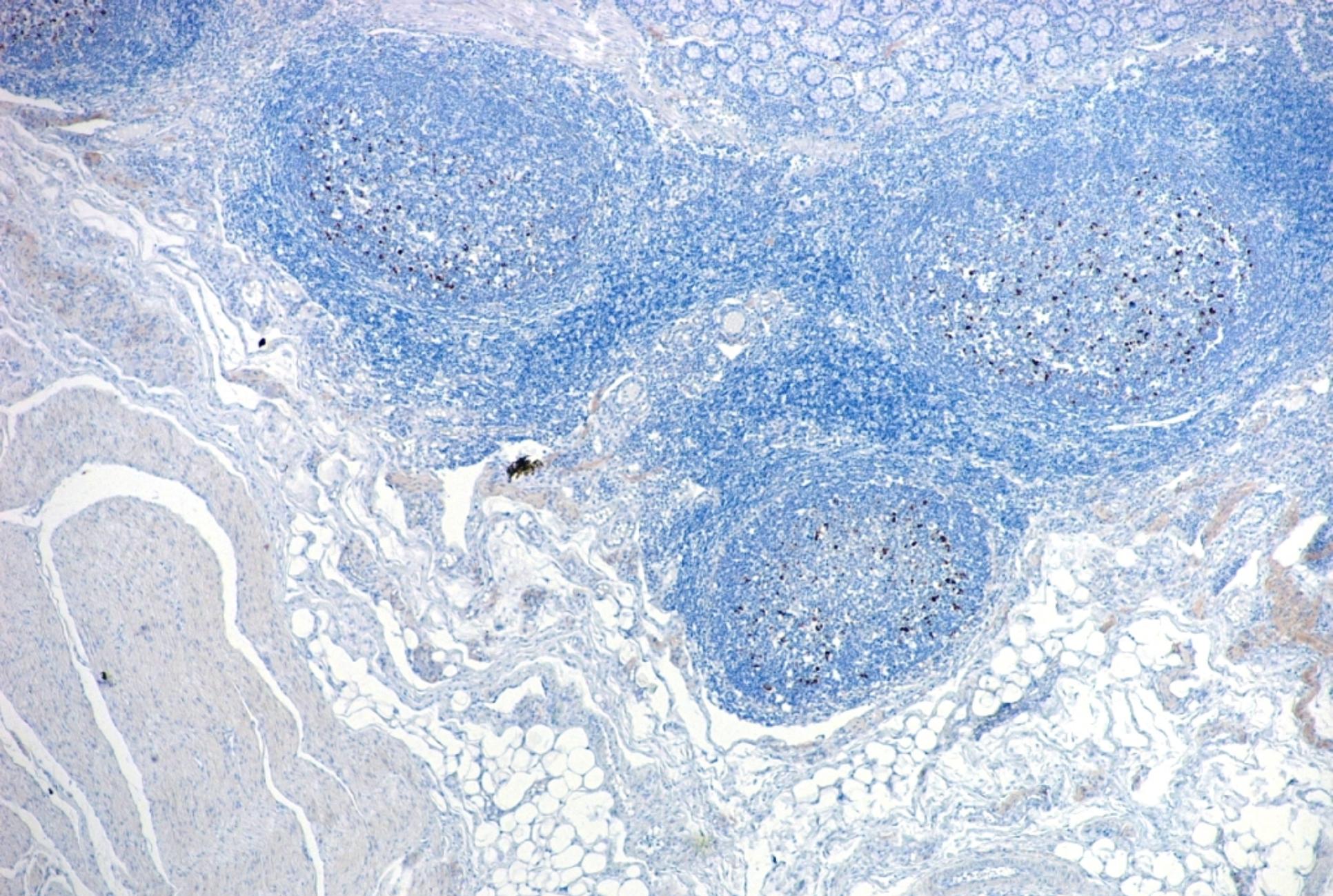
Brebis infectées expérimentalement → l'accumulation de l'agent de l'ESB dans le système lymphatique est plus abondant et plus fréquent.

Les ATNC persistent dans le tissu lymphatique pendant toute la durée de l'infection, bien qu'il existe de grandes différences qui dépendent du type d'hôte et du type d'ATNC en cause :

Bovins infectés expérimentalement → l'accumulation de l'agent de l'ESB dans le système lymphatique est restreint à celui de l'iléon terminal.

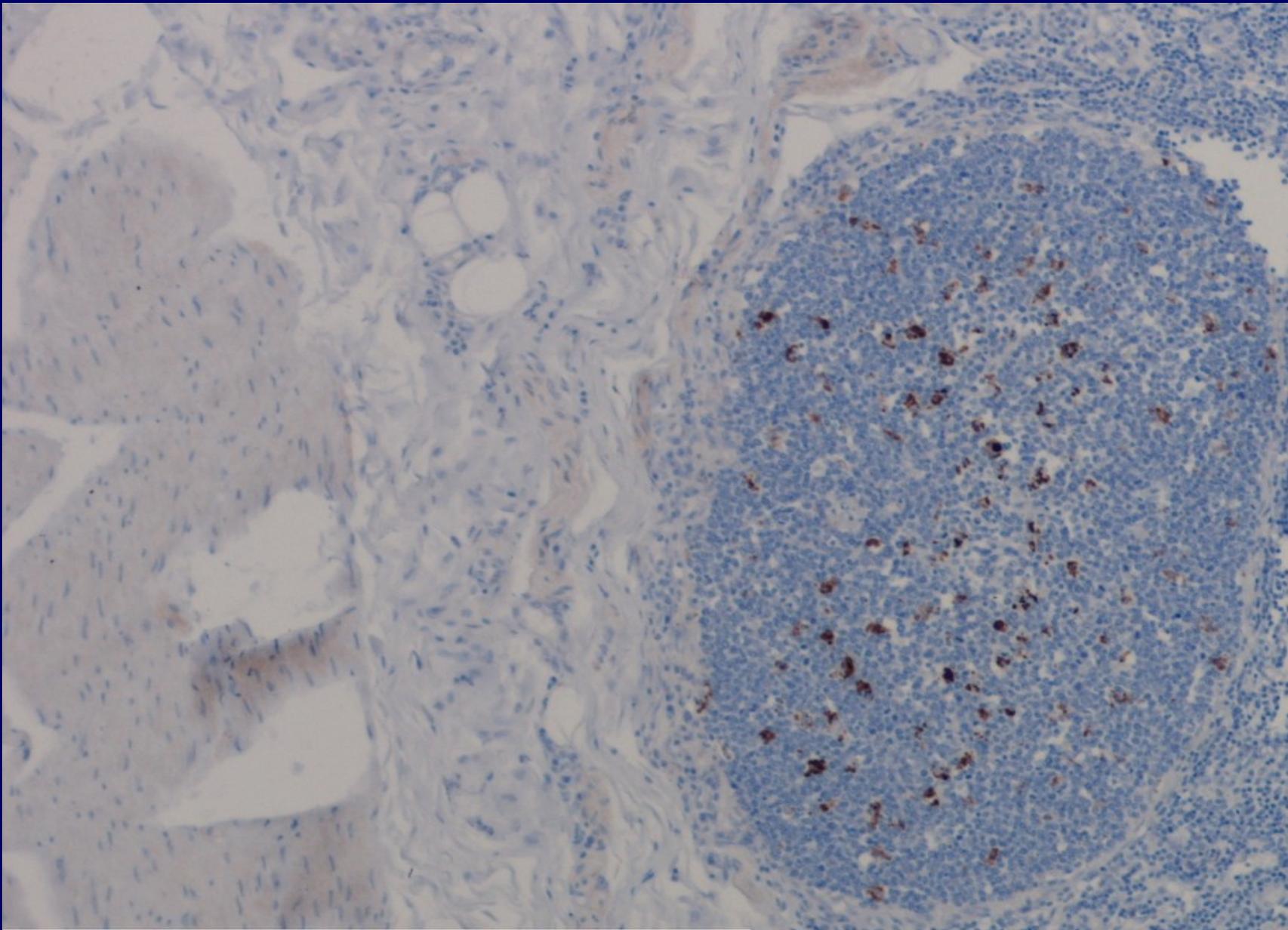
Brebis infectées expérimentalement → l'accumulation de l'agent de l'ESB dans le système lymphatique est plus abondant et plus courant.

Après l'inoculum administré par voie orale de l'agent de la Scrapie → l'accumulation est abondante dans le tissu lymphoïde associé au tube digestif (*gut-associated lymphoid tissues* ou *GALT*), dans les plaques de Peyer et dans les ganglions lymphatiques mésentériques.



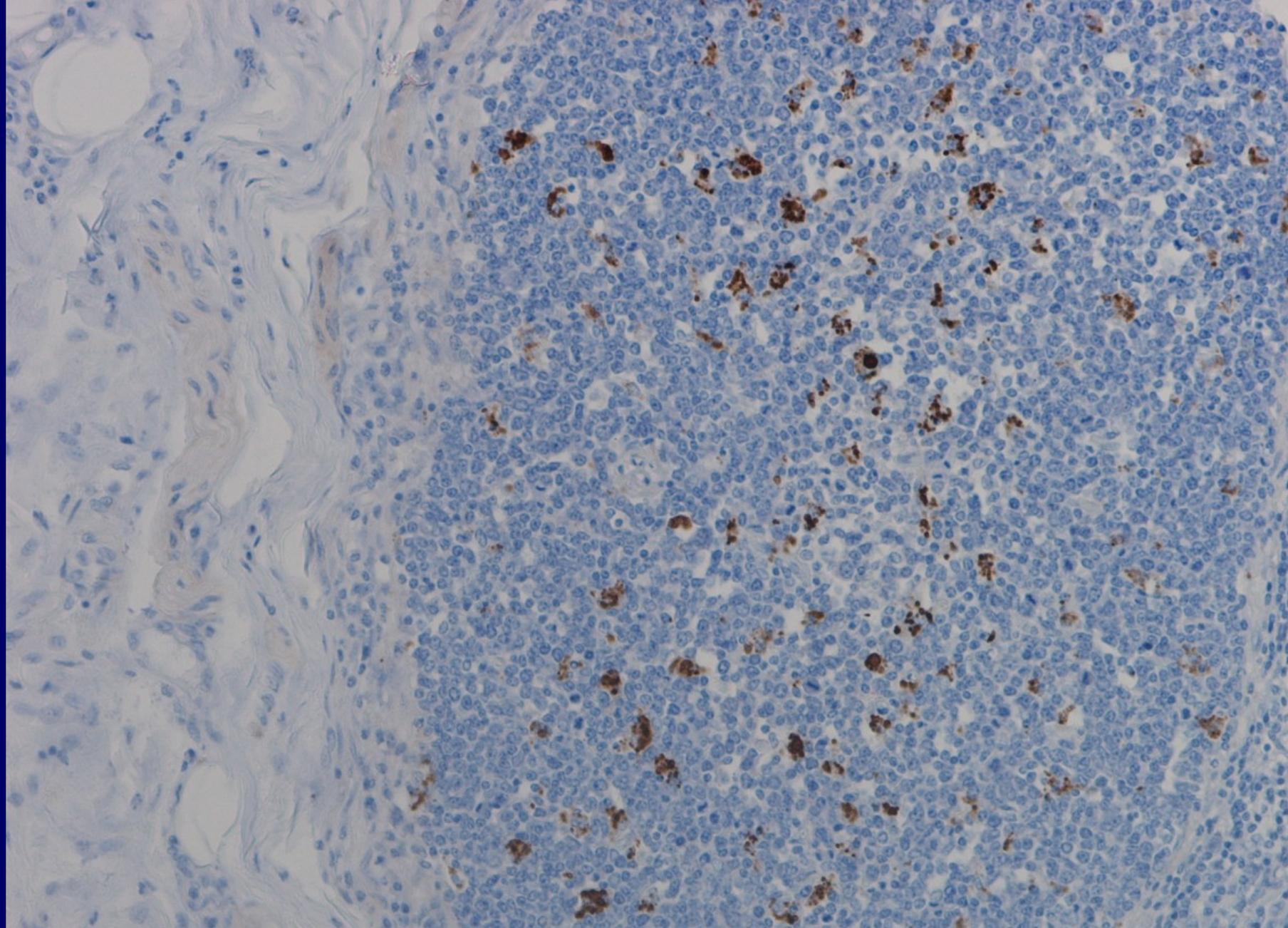
Plaque de Peyer : dépôts de PrP<sup>Sc</sup> dans les FDC

Photo G. Di Guardo



Plaque de Peyer : dépôts de PrP<sup>Sc</sup> dans les FDC

Photo G. Di Guardo



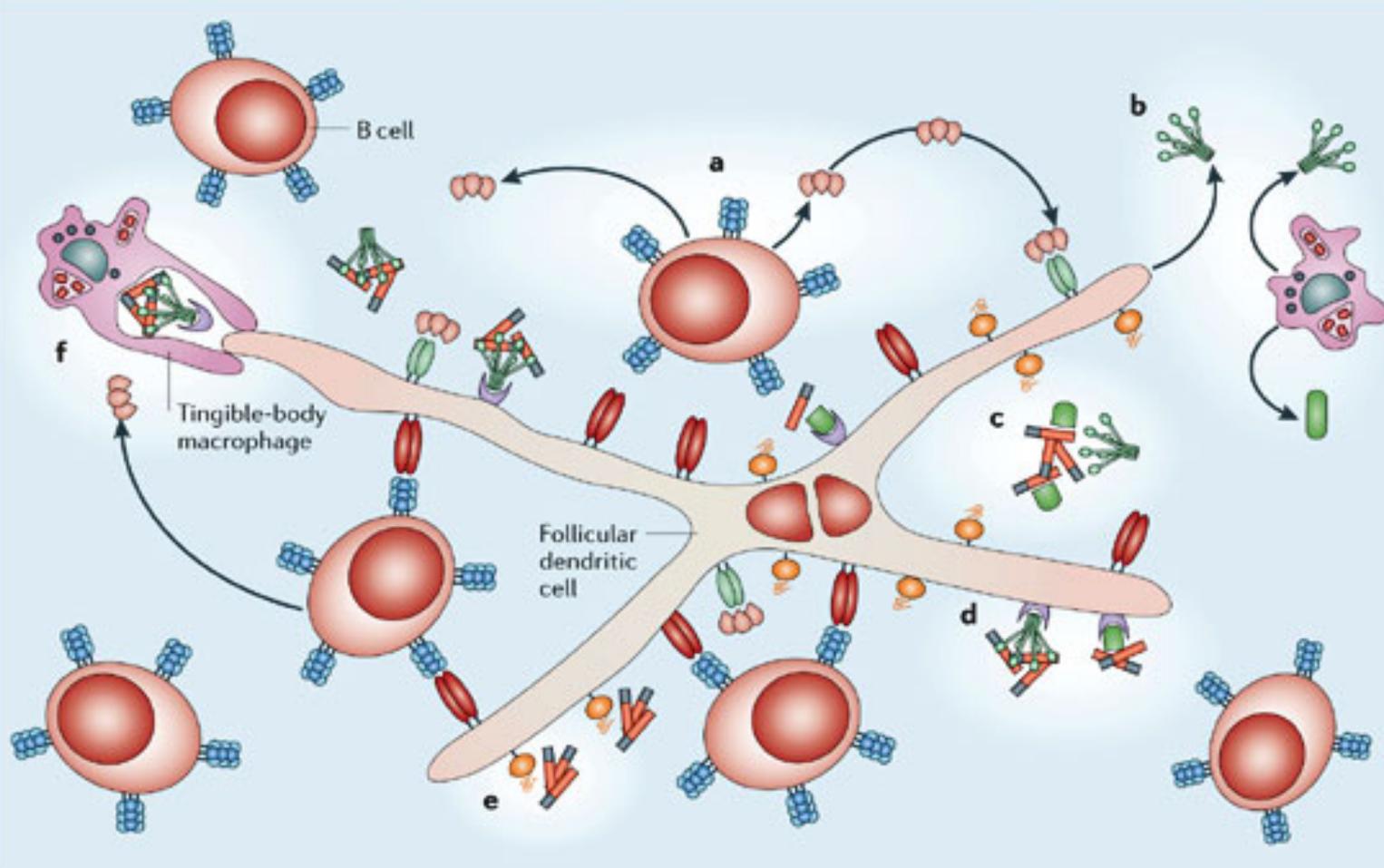
Plaque de Peyer : dépôts de PrP<sup>Sc</sup> dans les FDC

Photo G. Di Guardo

Une accumulation précoce des ATNC dans le tissu lymphatique est essentielle pour une neuro-invasion efficace.

L'absence des plaques de Peyer empêche la neuro-invasion des animaux infectés par voie orale avec l'agent de la scrapie.

L'ablation de la rate chez les brebis infectées par l'agent de la scrapie provoque le même phénomène.



Copyright © 2006 Nature Publishing Group  
 Nature Reviews | Microbiology

Mabbott *et al.* Nature Reviews Microbiology advance online publication;  
 published online 06 February 2006 | doi:10.1038/nrmicro1346



## *Cellules folliculaires dendritiques (Follicular dendritic cells - FDC)*

Des cellules stromales spécialisées résident dans le centre germinatif du follicule. Elles ont de longs dendrites qui s'irradient depuis le centre du corps cellulaire (grande augmentation de la surface) qui retiennent en surface les antigènes sous leur forme « native » et leur sous-forme de complexes immuns.

Les FDC ont une durée de vie très longue → les antigènes peuvent être conservés sur leur surface pendant des mois, voire des années.

Sur les cellules FDC, la PrP<sup>Sc</sup> s'accumule sur le cytoplasme et entre les espaces intercellulaires autour des dendrites.

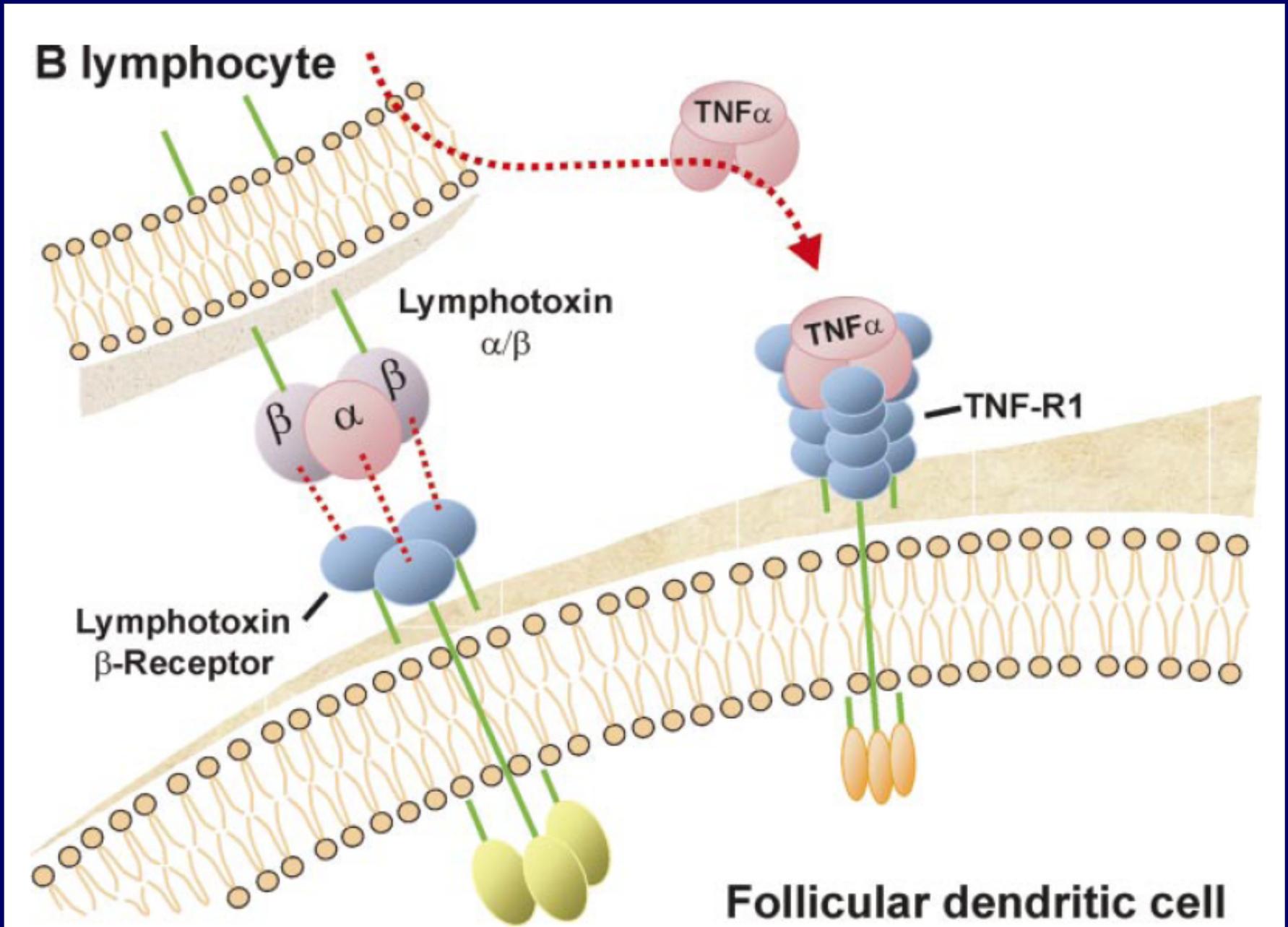
L'accumulation de PrP<sup>Sc</sup> sur les FDC est considérée comme un événement crucial, car, en l'absence de FDC, la neuro-invasion n'a pas lieu et la susceptibilité à la maladie se réduit de manière sensible.

Les cellules B produisent des cytokines :

« *membrane lymphotoxin* » (LT)  $\alpha$   $\beta$

« *tumor necrosis factor* » (TNF)  $\alpha$

→ elles constituent d'importants stimulants qui permettent aux cellules FDC de se conserver en leur état différencié.



Les souris déficientes en lymphocytes B ou en cytokines (LT)  $\alpha\beta$  et (TNF)  $\alpha$  deviennent déficientes en FDC et elles ne peuvent pas accumuler d'ATNC dans leur tissu lymphatique.

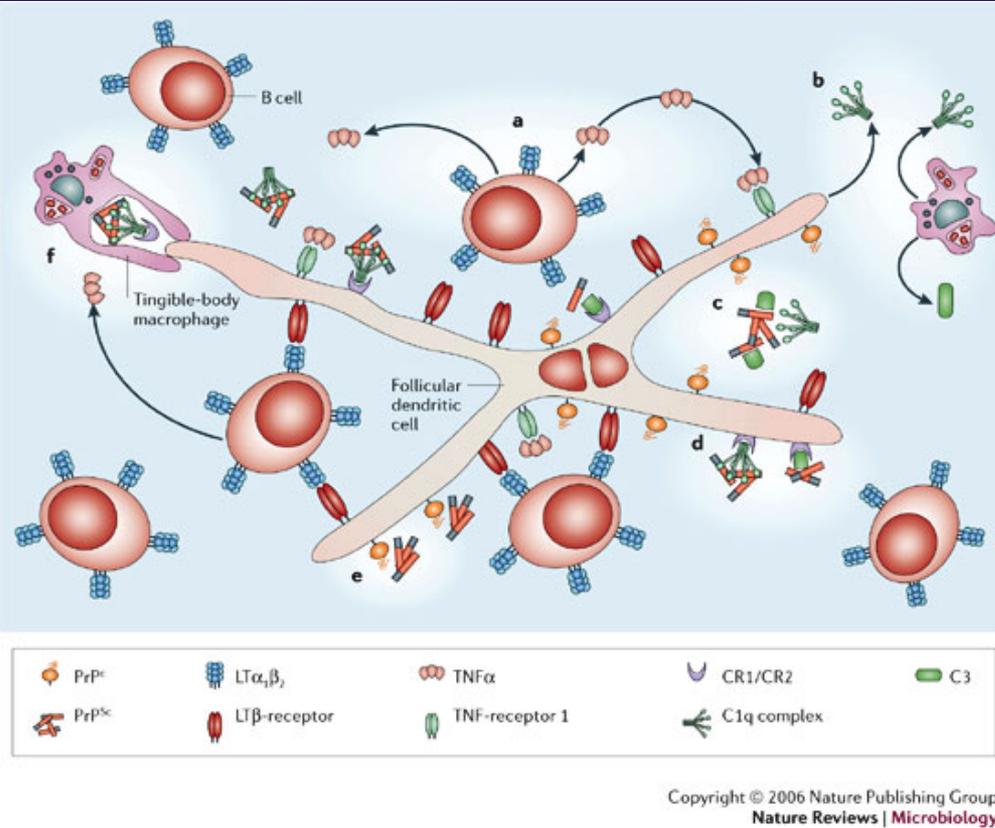
Les souris déficientes en lymphocytes B ou en cytokines (LT)  $\alpha\beta$  et (TNF)  $\alpha$  deviennent déficientes en FDC et elles ne peuvent pas accumuler d'ATNC dans leur tissu lymphatique.

Les substances qui bloquent les voies d'activation du récepteur LT  $\alpha\beta$  ou du récepteur TNF (TNFR) réduisent temporairement le nombre des FDC et réduisent la susceptibilité aux ATNC.

Les souris déficientes en lymphocytes B ou en cytokines (LT)  $\alpha\beta$  et (TNF)  $\alpha$  deviennent déficientes en FDC et elles ne peuvent pas accumuler d'ATNC dans leur tissu lymphatique.

Les substances qui bloquent les voies d'activation du récepteur LT  $\alpha\beta$  ou du récepteur TNF (TNFR) réduisent temporairement le nombre des FDC et réduisent la susceptibilité aux ATNC.

Ces substances constituent un traitement thérapeutique potentiel.



Pour supporter une infection d'ATNC, les cellules doivent exprimer PrP<sup>c</sup> → les FDC expriment de hauts niveaux de PrP<sup>c</sup>

Cela peut aider à expliquer pourquoi la neuro-invasion d'ATNC dépend pour beaucoup des FDC.

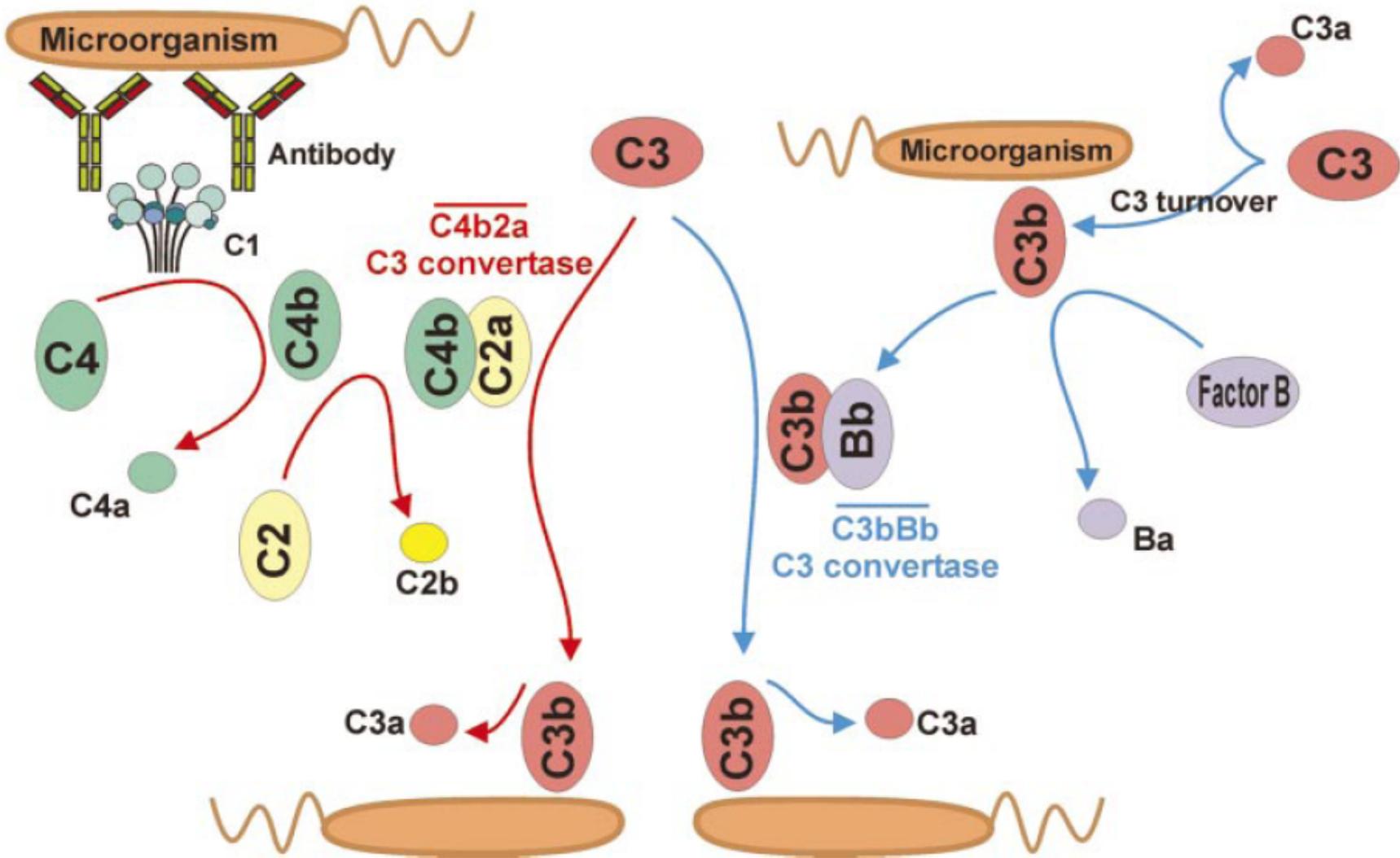
Mabbott *et al.* Nature Reviews Microbiology advance online publication; published online 06 February 2006 | doi:10.1038/nrmicro1346

Comparés aux cellules FCD, les lymphocytes expriment un niveau bien plus bas de PrP<sup>c</sup> → l'accumulation de la PrP<sup>Sc</sup> dans la rate et la neuro-invasion ne sont pas compromises par le manque d'expression de PrP<sup>c</sup> sur les lymphocytes.

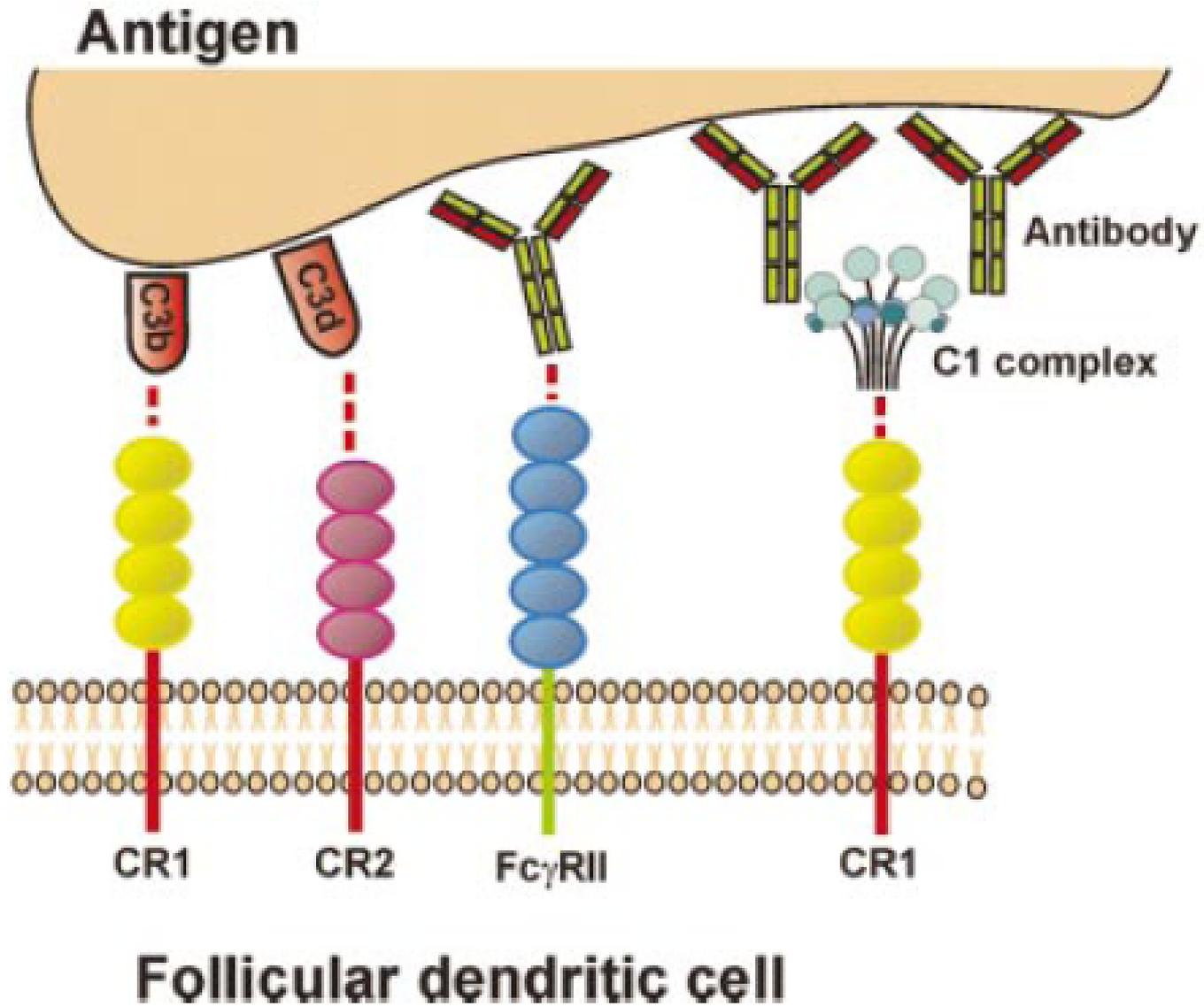
# LE RÔLE DU COMPLÉMENT

# Classical pathway

# Alternative pathway

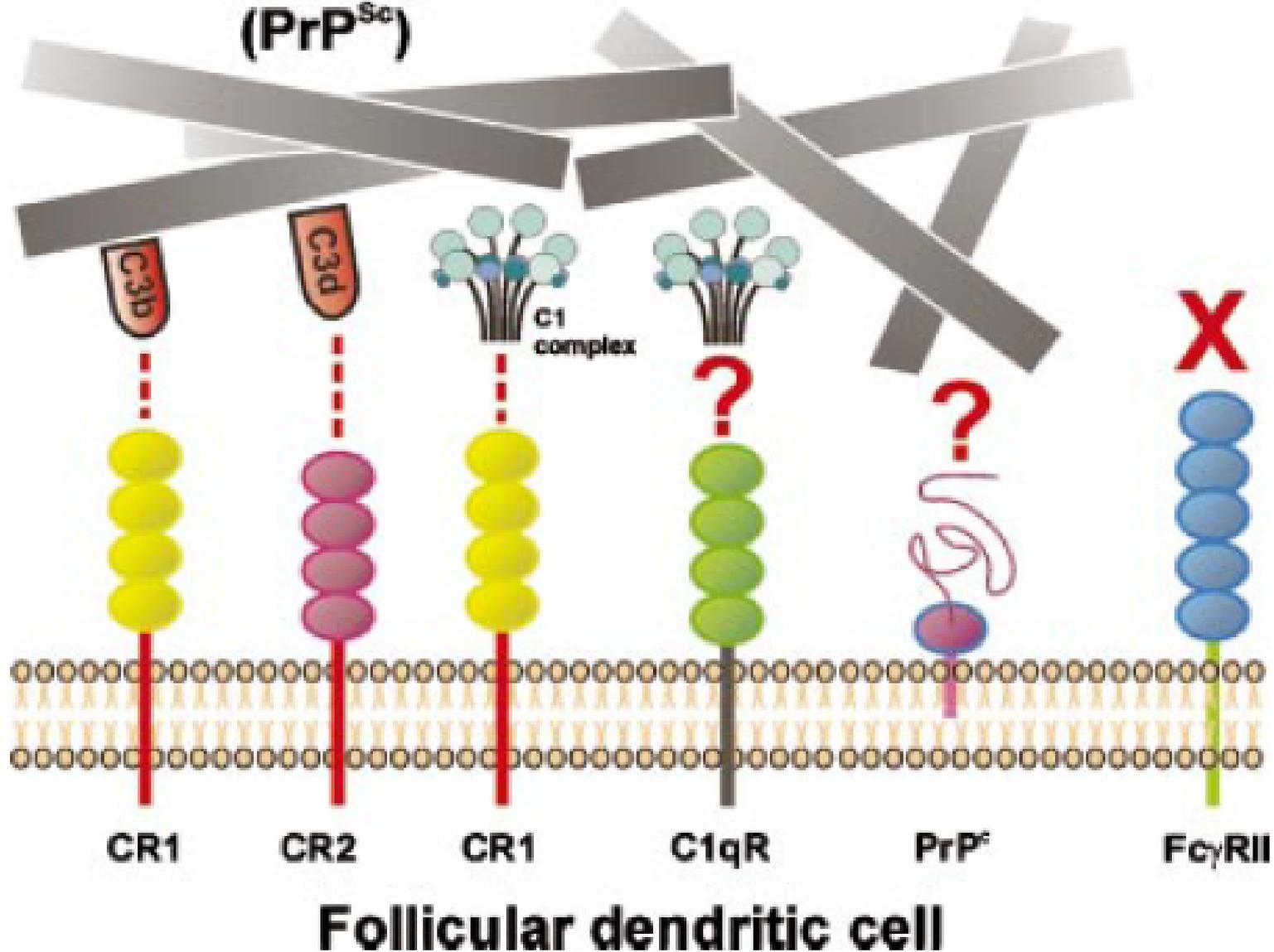


(a)



(b)

## Scrapie agent (PrP<sup>Sc</sup>)



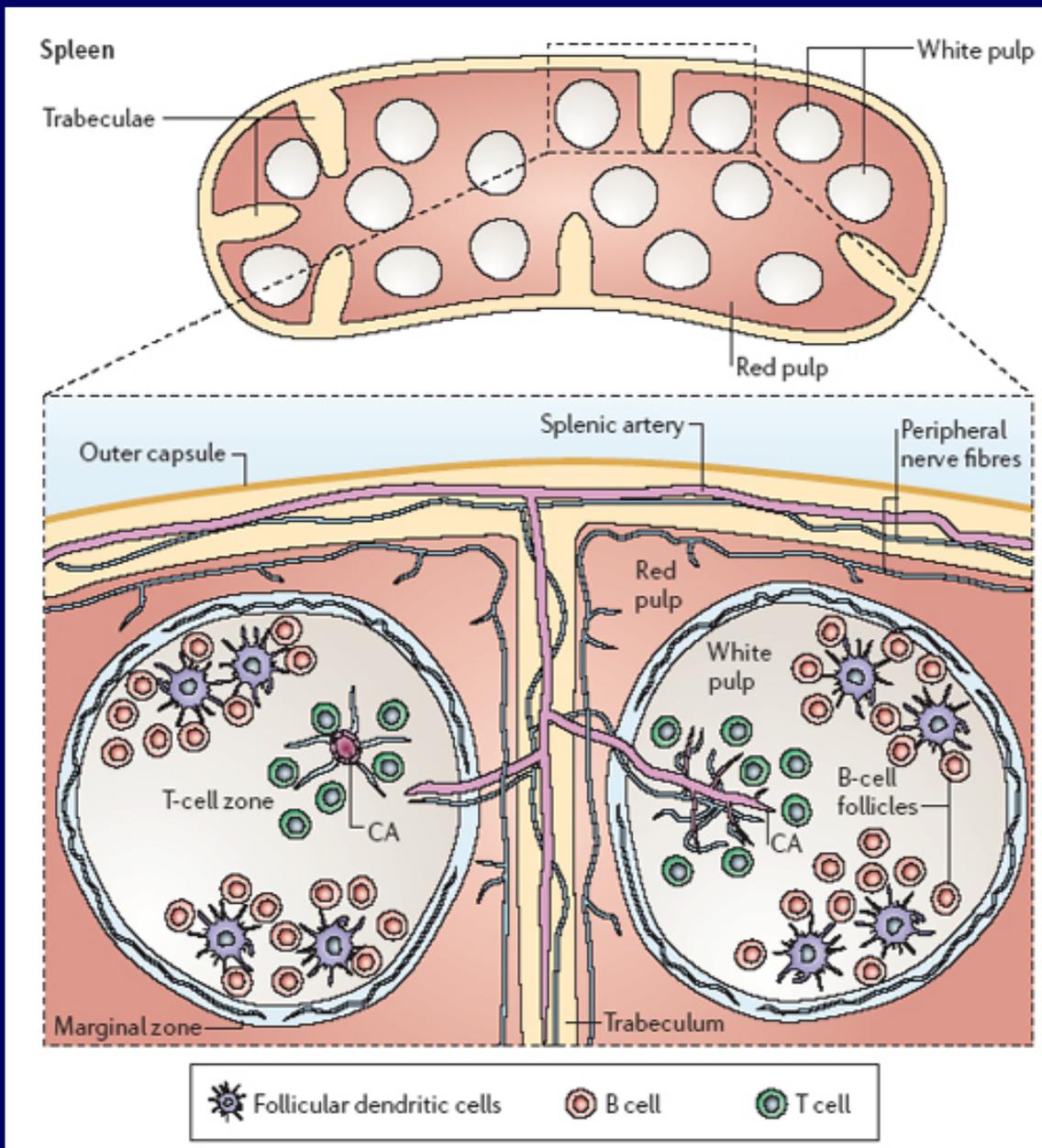
L'absence d'éléments complémentaires (C1q, C2, C3 et facteur B) et de récepteur cellulaire du complément (CCR) empêche l'accumulation de PrP<sup>Sc</sup> dans la rate.

L'absence d'éléments complémentaires (C1q, C2, C3 et facteur B) et de récepteur cellulaire du complément (CCR) empêche l'accumulation de PrP<sup>Sc</sup> dans la rate.

De nombreuses populations cellulaires expriment le CCR.

Le complément peut favoriser l'incorporation et le transport de PrP<sup>Sc</sup> dans des cellules migratoires comme les cellules dendritiques (DC)

ou la phagocytose et le séquestre par des macrophages.

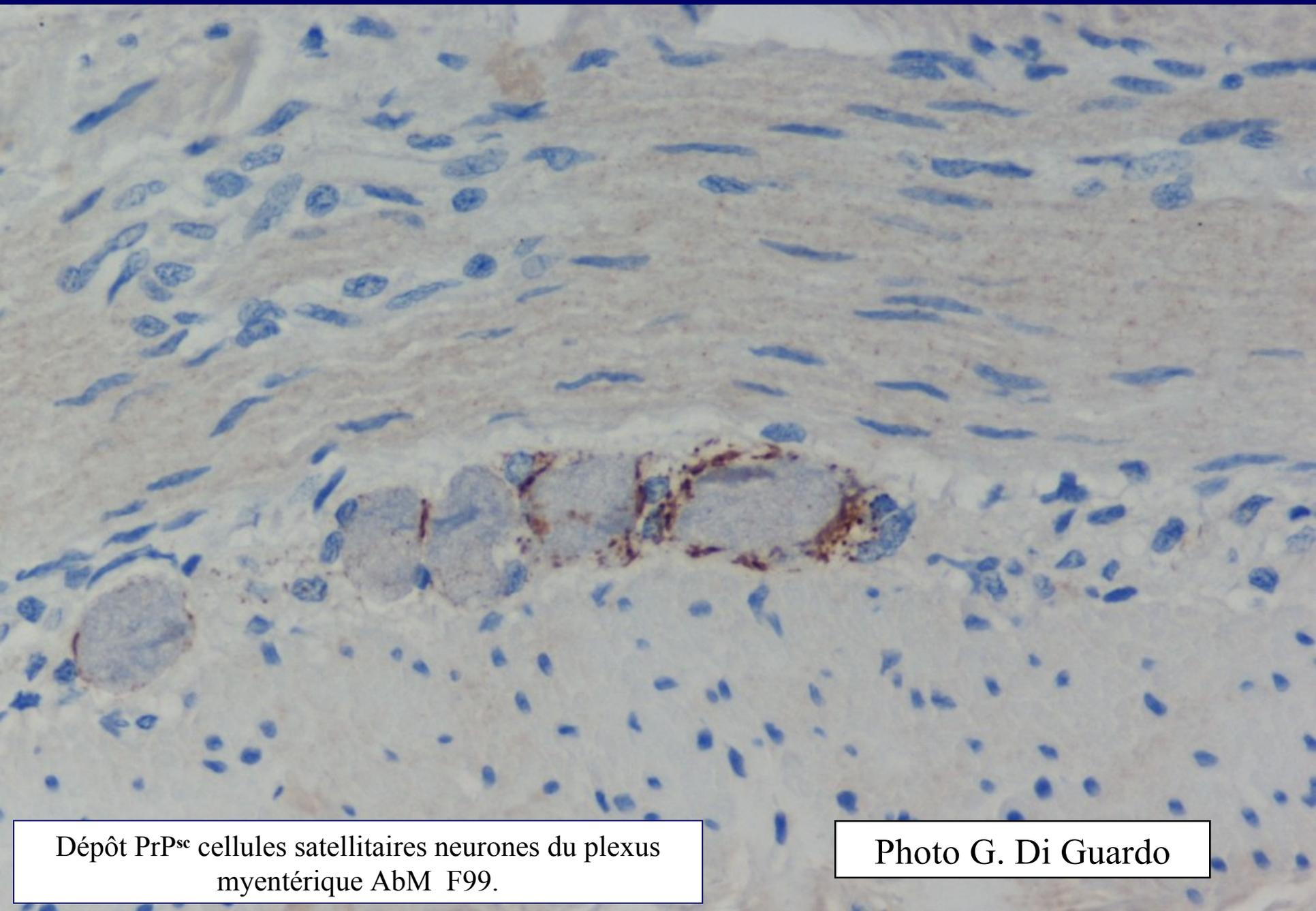


Mabbott *et al.* *Nature Reviews Microbiology* advance online publication;  
 published online 06 February 2006 | doi:10.1038/nrmicro1346

## Du système lymphatique au cerveau

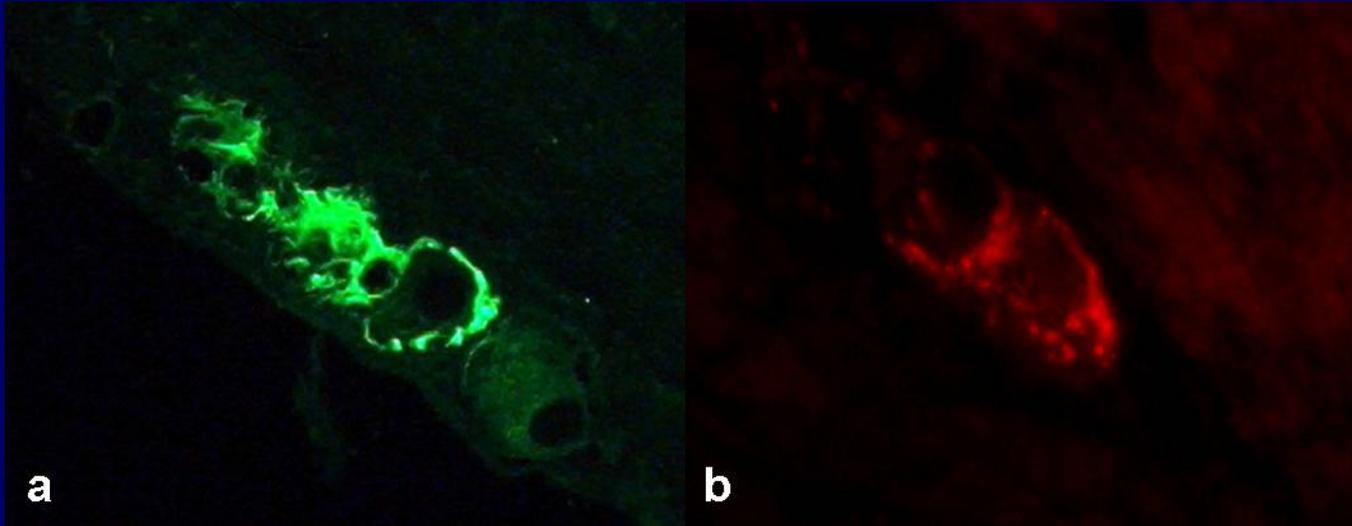
Le système nerveux entérique est un élément important du système nerveux autonome ; la régulation a lieu grâce aux fibres nerveuses du système sympathique et parasympathique.

L'analyse chronologique de la distribution de la PrP<sup>sc</sup> au sein du système nerveux de souris inoculées par voie orale indique que l'agent de la scrapie se répand des GALT au SNC à travers le système nerveux entérique.



Dépôt PrP<sup>sc</sup> cellules satellitaires neurones du plexus myentérique AbM F99.

Photo G. Di Guardo



Plexus  
myentérique

a) anticorps anti-GFAP qui  
colore les cellules  
entérogliales

Photo G. Di Guardo

b) ABM F99 qui met en  
évidence les cellules  
entérogliales

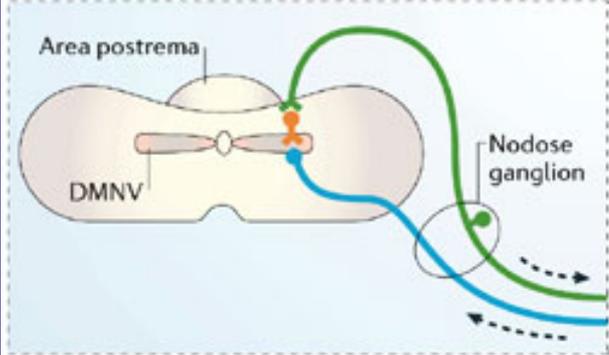
## Du système lymphatique au cerveau 1

La progression de l'accumulation dans le SNC de PrP<sup>sc</sup> de souris inoculées par voie expérimentale indique que la PrP<sup>sc</sup> se répand de l'intestin au SNC à travers deux voies distinctes.

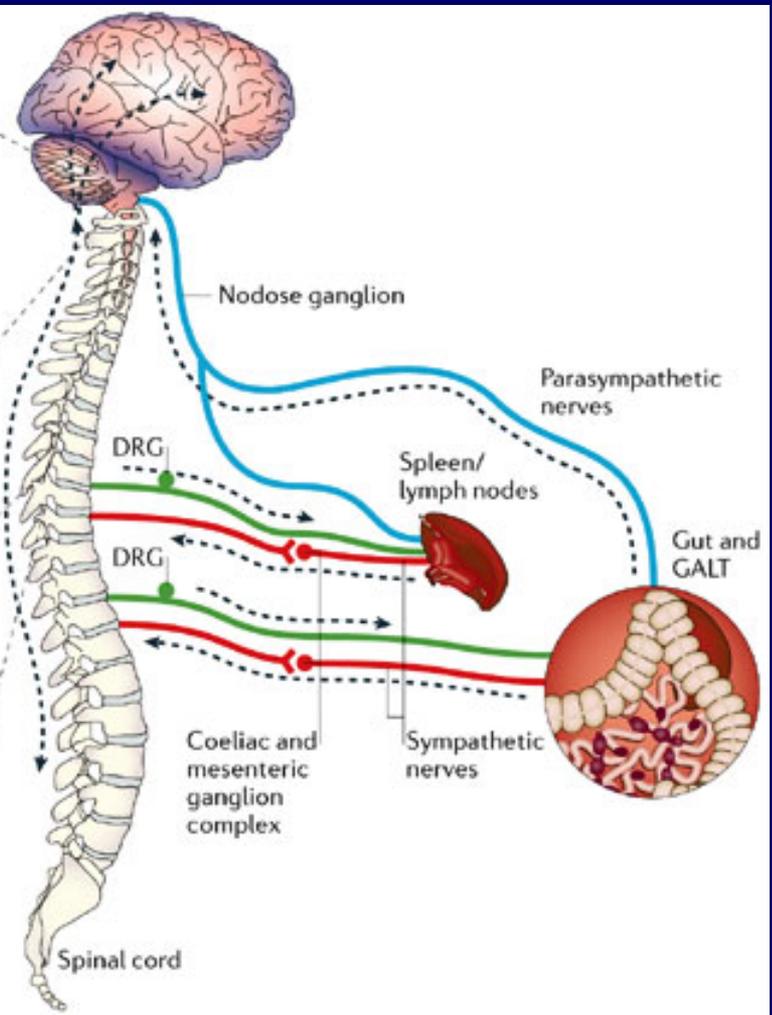
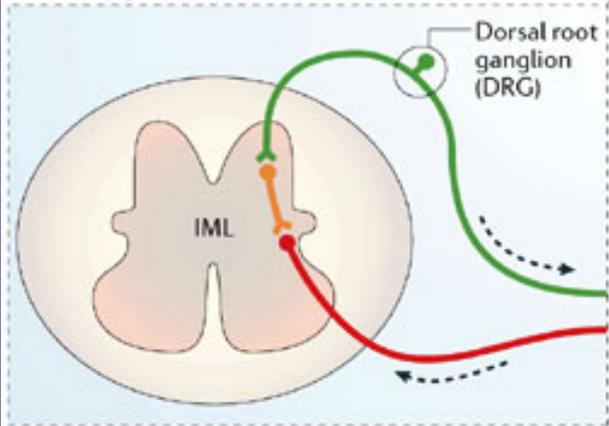
→ Une voie utilise les fibres **sympathiques** du nerf splanchnique au noyau intermedio-latéral de la moelle épinière de la portion thoracique.

Ensuite, la PrP<sup>sc</sup> se répand dans le cerveau en direction caudo-crâniale le long de l'épine dorsale.

### Medulla oblongata



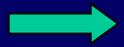
### Thoracic spinal cord



|  |   |   |   |  |
|--|---|---|---|--|
|  Efferent fibres of parasympathetic nerves (for example, vagus nerve) |  Efferent fibres of sympathetic nerves (for example, splanchnic nerve) |  Afferent nerve fibres |  Interneuron |  Direction of early neuroinvasion |
|--|---|---|---|--|

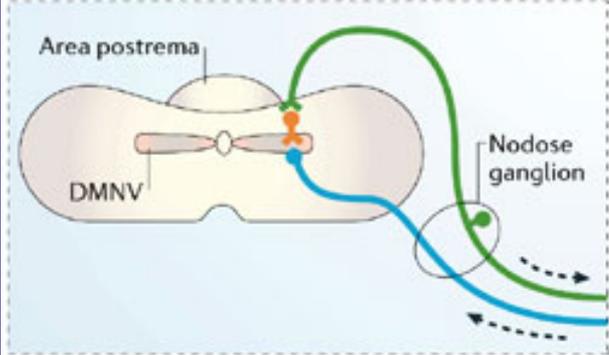
Copyright © 2006 Nature Publishing Group  
 Nature Reviews | Microbiology

## Du système lymphatique au cerveau 2

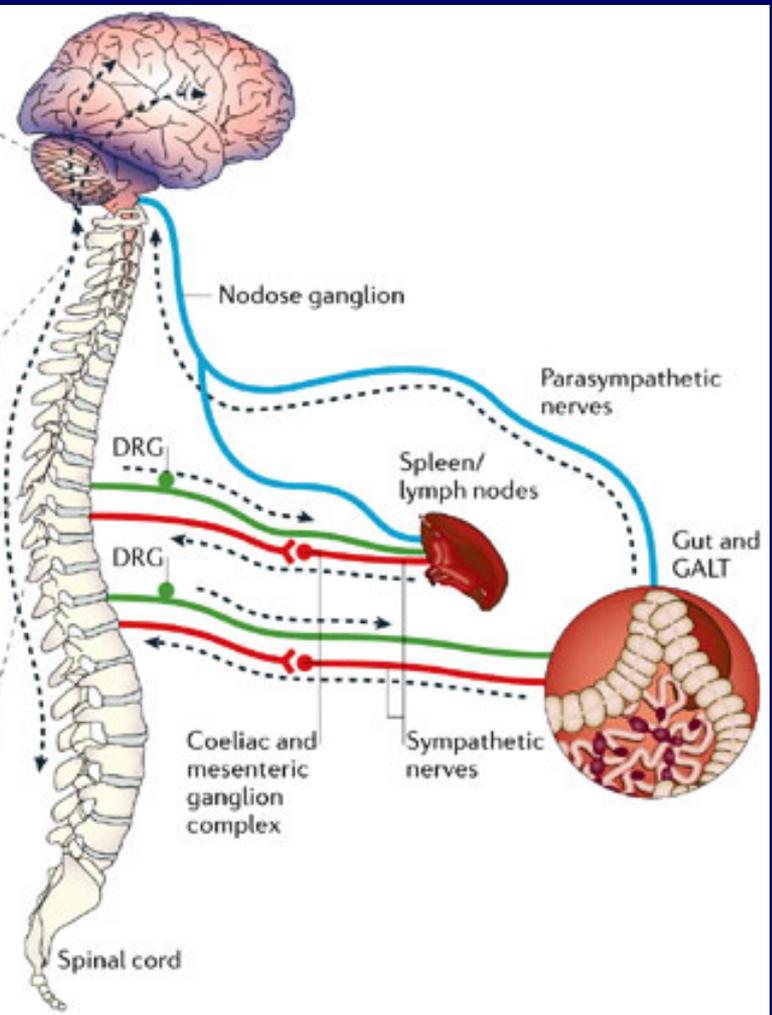
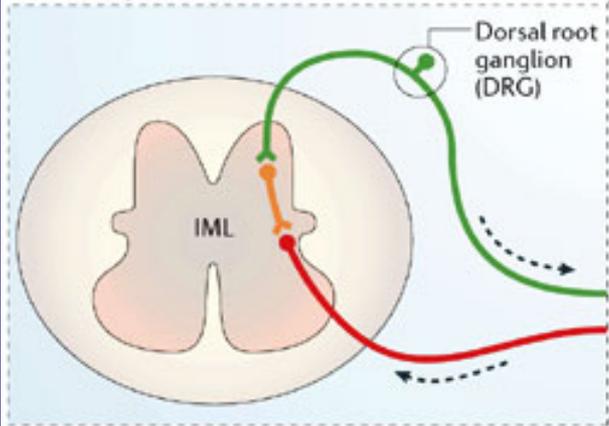


La PrP<sup>sc</sup> peut également se répandre le long des fibres parasympathiques du nerf vague aux noyaux moteurs dorsaux du nerf vague (DMNV) dans la moelle allongée du cerveau.

### Medulla oblongata



### Thoracic spinal cord



|  |   |   |   |  |
|--|---|---|---|--|
|  Efferent fibres of parasympathetic nerves (for example, vagus nerve) |  Efferent fibres of sympathetic nerves (for example, splanchnic nerve) |  Afferent nerve fibres |  Interneuron |  Direction of early neuroinvasion |
|--|---|---|---|--|

Copyright © 2006 Nature Publishing Group  
Nature Reviews | Microbiology



PrP<sup>Sc</sup> en siège sous-  
épendymaire - DAPI

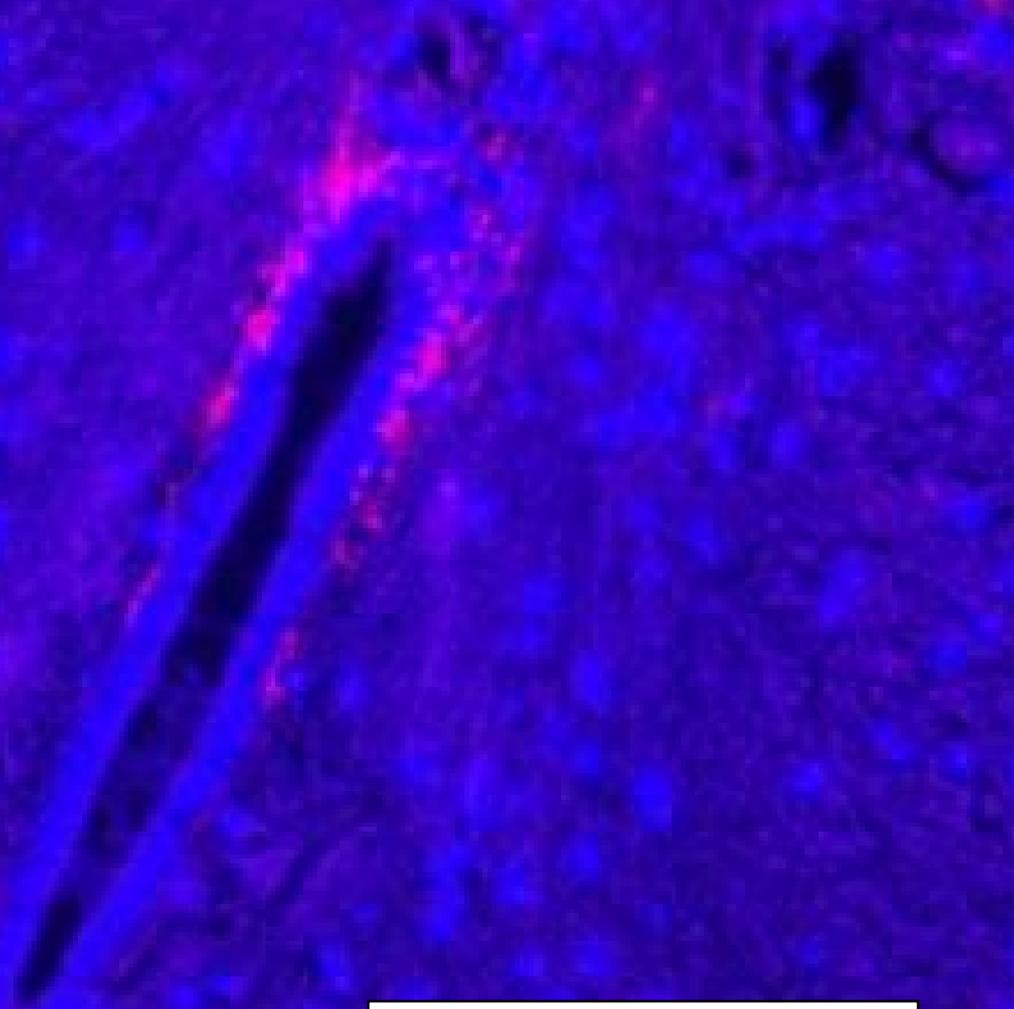
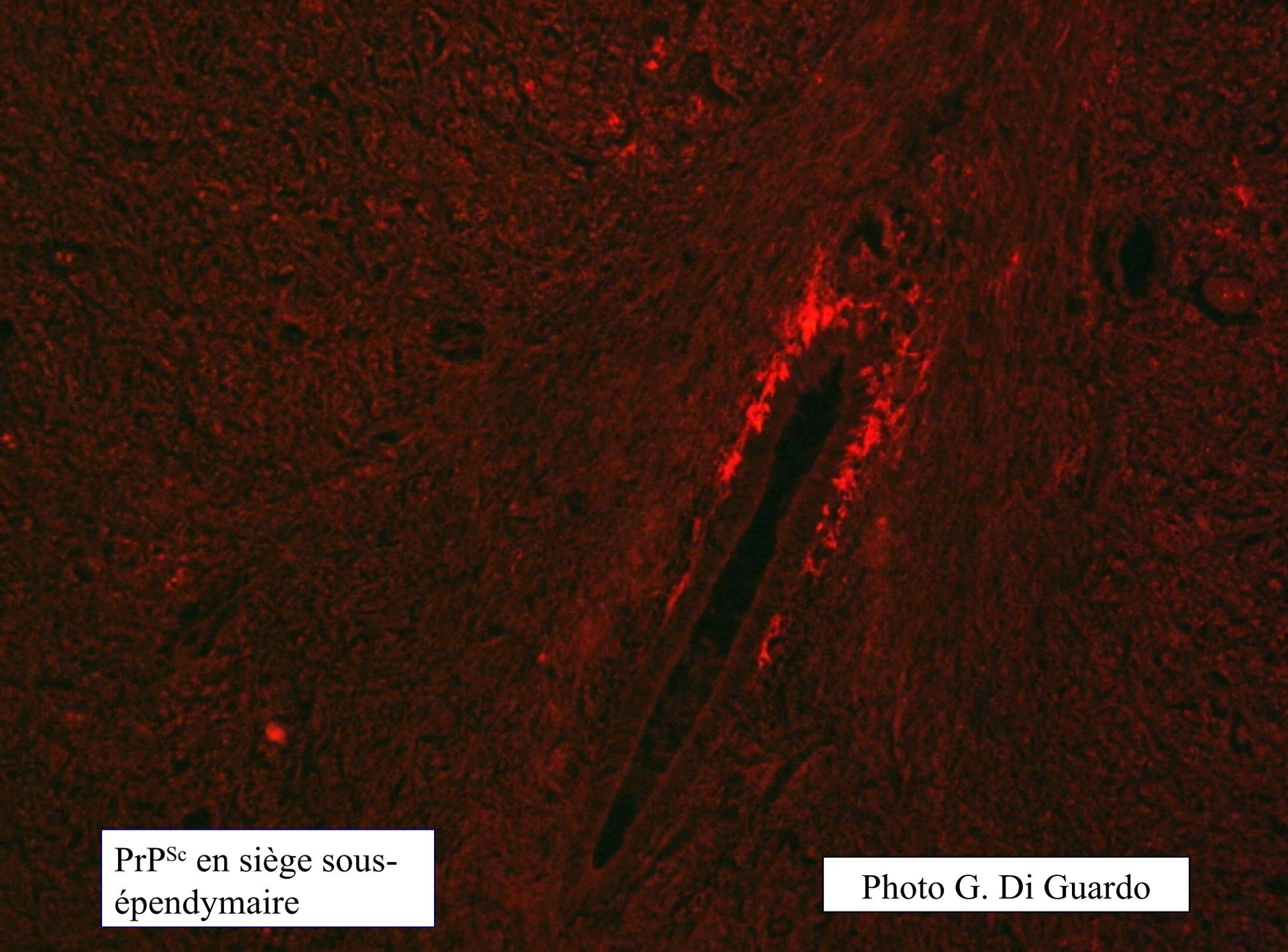
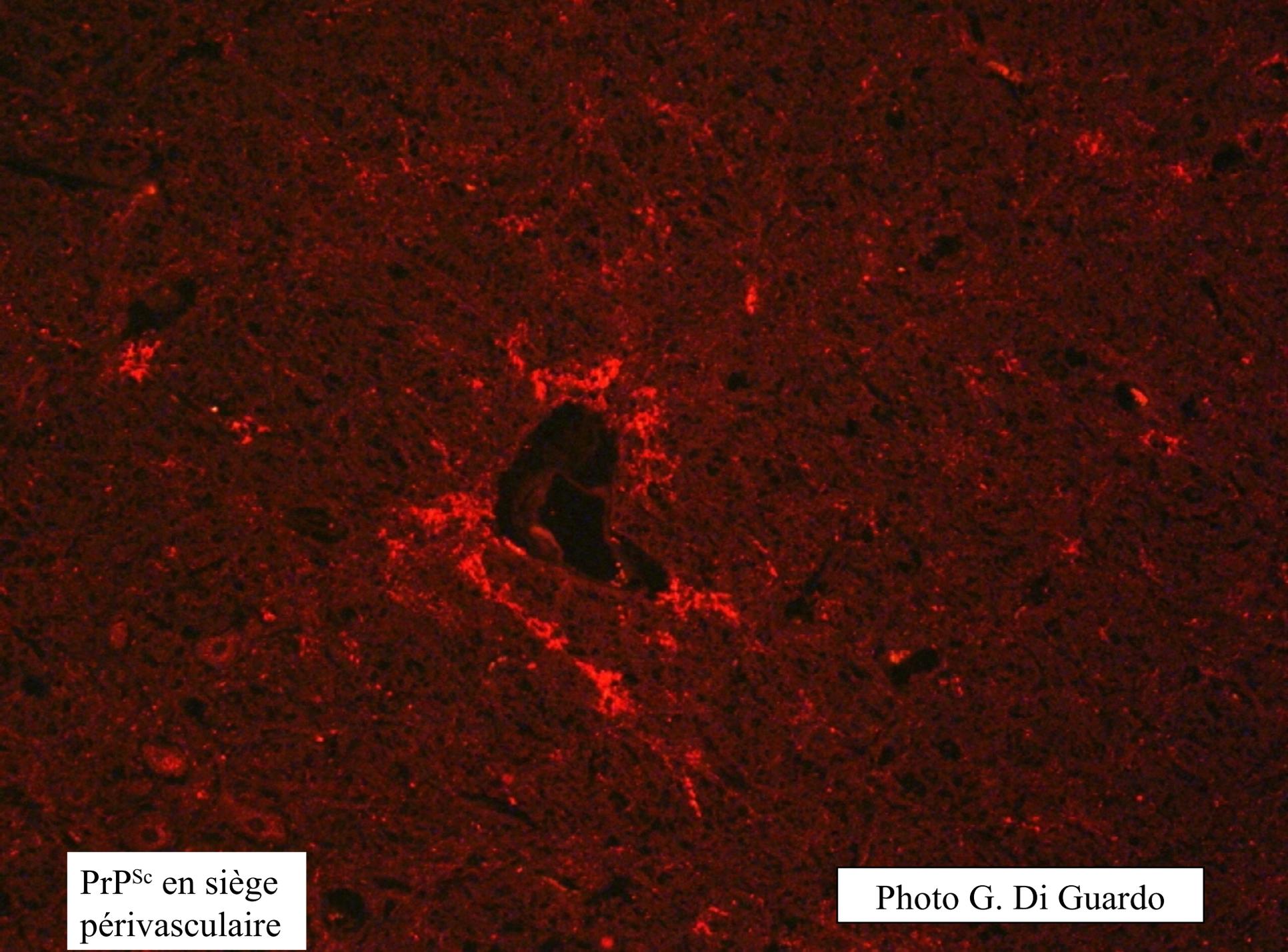


Photo G. Di Guardo



PrP<sup>Sc</sup> en siège sous-  
épendymaire

Photo G. Di Guardo



PrP<sup>Sc</sup> en siège  
périvasculaire

Photo G. Di Guardo

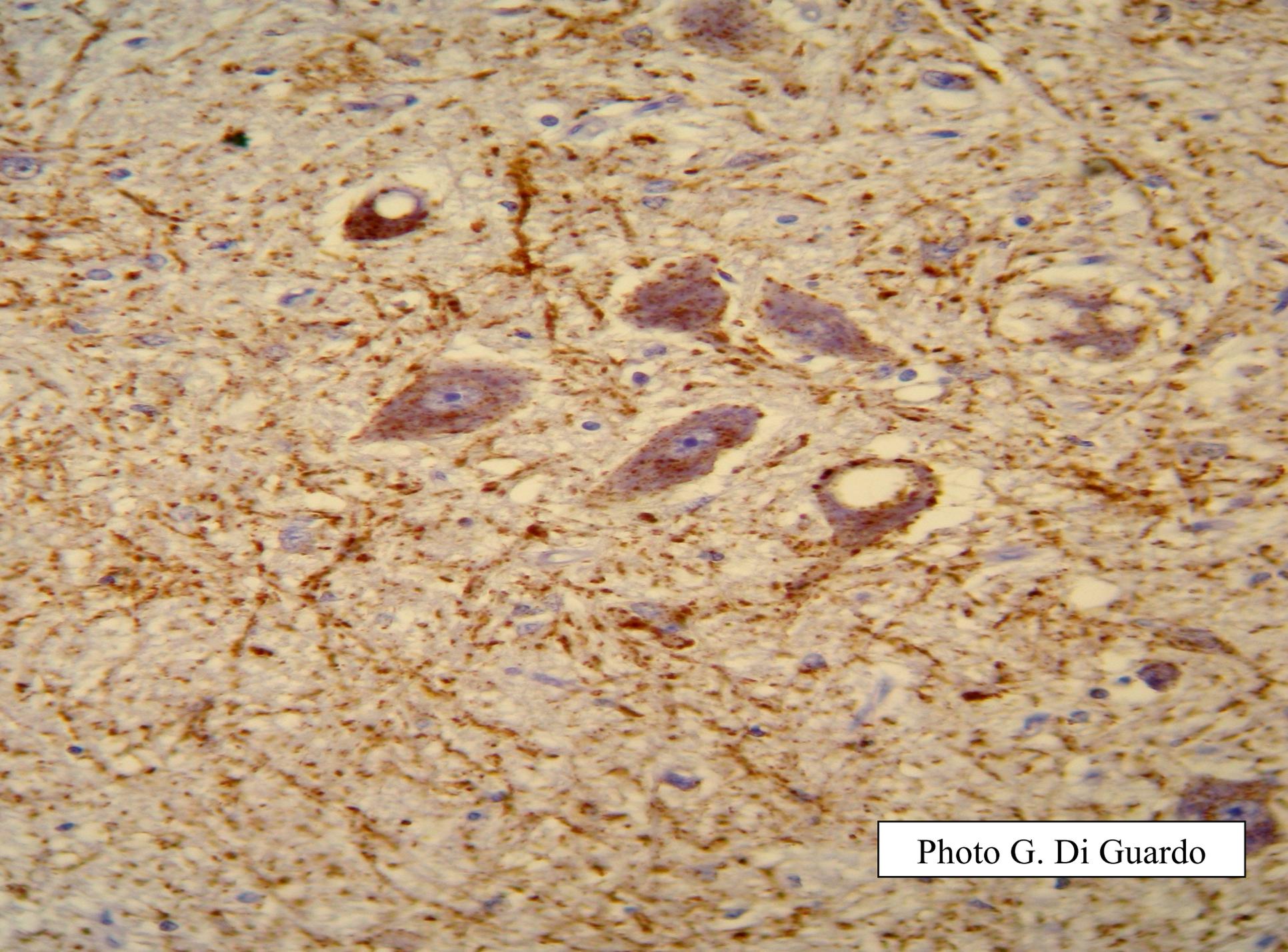


Photo G. Di Guardo

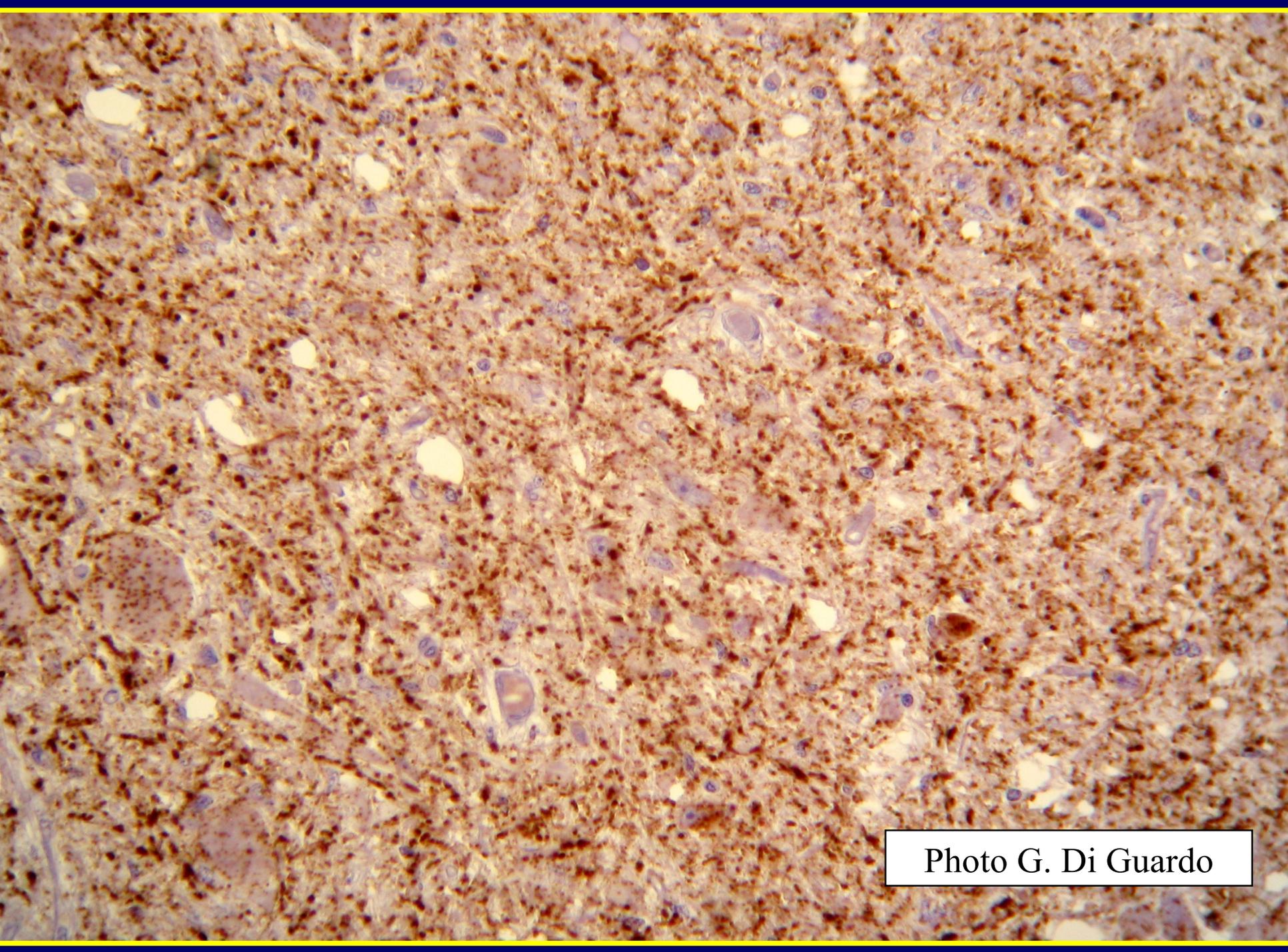
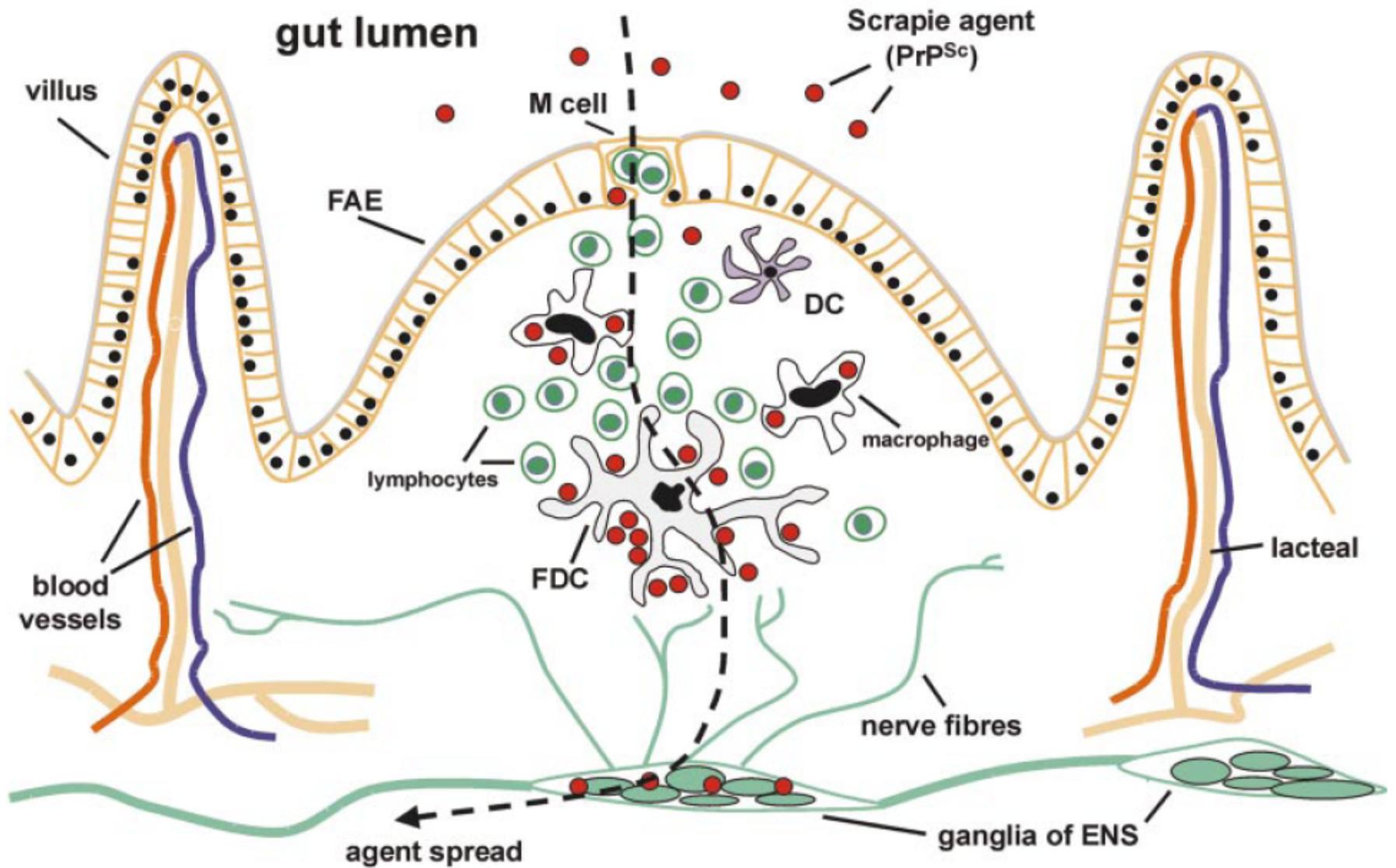


Photo G. Di Guardo



**FIN**