

Résistance aux ARV dans les Pays du Maghreb

Echanges

- **Algérie :**

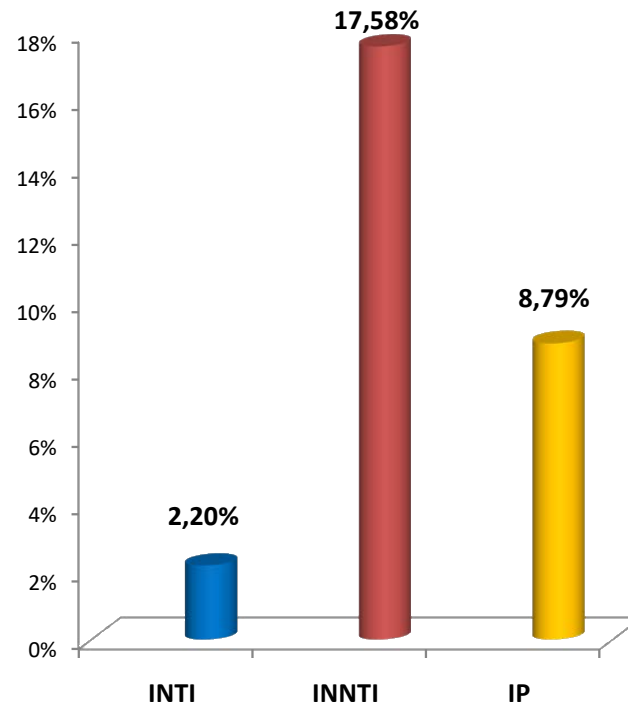
- Pr Salima BOUZEGHOUB : Institut Pasteur - Alger
- Dr Nassima BELABAS : Infectiologie – EHS Laadi Flici – Alger
- Mme Patricia PINSON : Virologie CHU Bordeaux

- **Mauritanie**

- Dr Fall Malik Zahra : Institut National d'Hépat-Virologie - Nouakchott
- Pr Coumba Toure Kane – Virologie – Dakar

RESISTANCE PRIMAIRE / TRANSMISE

Le pourcentage de la résistance primaire du VIH-1 : **27,47%** (n= 25/91)



Répartition de la résistance primaire du VIH-1 selon les classes ARV

Prevalence of pretreatment HIV drug resistance in West African and Southeast Asian countries

**Nicole Ngo-Giang-Huong¹, Thu H. K. Huynh², Anoumou Y. Dagnra³, Thomas-d'Aquin Toni⁴,
Almoustapha I. Maiga⁵, Dramane Kania⁶, Sabrina Eymard-Duvernay⁷, Martine Peeters⁷, Cathia Soulie⁸,
Gilles Peytavin⁹, Claire Rekacewicz¹⁰, Marie-Laure Chaix¹¹ and Avelin F. Aghokeng^{7,12*}
on behalf of the ANRS 12333 Study Group†**

¹IRD UMI 174-PHPT-Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand; ²HIV/AIDS laboratory, Pasteur Institute in Ho Chi Minh City, Vietnam; ³Centre de Biologie moléculaire et d'Immunologie, Faculté des Sciences de la santé, Université de Lomé, Lomé, Togo; ⁴Virology Laboratory CIRBA, Programme PACCI, Abidjan, Côte d'Ivoire; ⁵UCRC/SEREFO, FMOS, University of Sciences, Techniques and Technologies of Bamako, Bamako, Mali; ⁶Virology Laboratory, Department of Biomedical Sciences, Centre MURAZ, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso; ⁷IRD UMI-233, INSERM U1175, Université de Montpellier, Unité TransVIHMI, Montpellier, France; ⁸Sorbonne Université, INSERM, Institut Pierre Louis d'Epidémiologie et de Santé Publique (iPLESP), AP-HP, Hôpital Pitié Salpêtrière, Laboratoire de virologie, F-75013 Paris, France; ⁹AP-HP, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Laboratoire de Pharmacologie-Toxicologie and IAME, UMR 1137, Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité et INSERM, Paris, France; ¹⁰Agence Nationale de Recherches sur le Sida et les hépatites virales (ANRS), Paris, France; ¹¹INSERM U941, Université Paris Diderot, AP-HP, Hôpital Saint-Louis, Laboratoire de Virologie, Paris, France; ¹²Centre de Recherche sur les Maladies Emergentes et Reemergentes (CREMER), Virology laboratory IMPM-IRD, Yaoundé, Cameroon

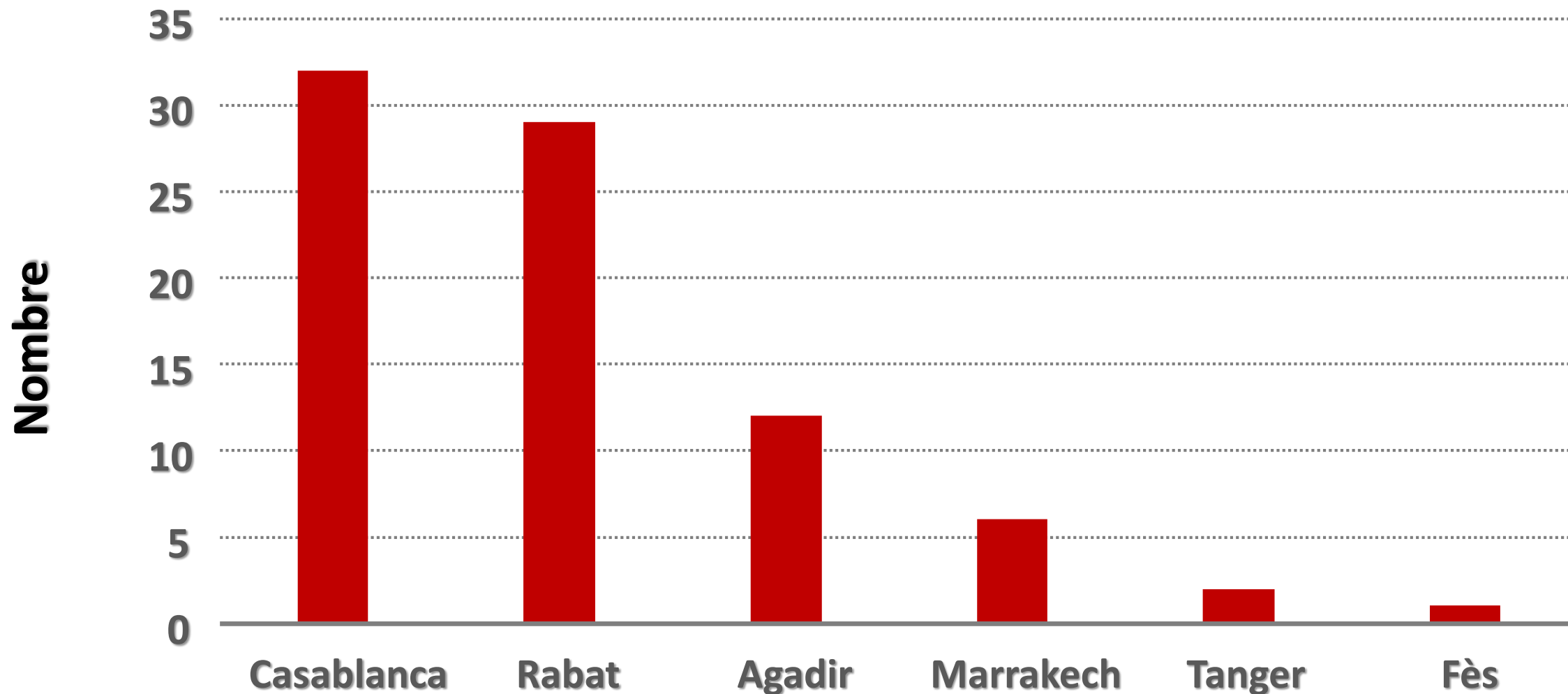
Génotype pour Optimisation de la Troisième Ligne d'ARV au Maroc

GOTLAM

Dr Ali SI-MOHAMMED
Virologie – CHU Dijon - France

- **Inclusions :** Février 2015 – Novembre 2017
- **Nombre de patients:** (n= 81)
- **Echantillons :** (n=98)
 - 1 prélèvement n=69 (85%)
 - ≥ 2 prélèvements n=12 (15%)
 - 2 prélèvements (n=8)
 - 3 prélèvements (n=3)
 - 4 prélèvements (n=1)

Répartition des patients par site (nombre)



Ligne de traitement	Nombre de patients	Nombre de patients
1^{ère}	24	24
2^{ème}	48	63*
3^{ème}	5	7**
Inconnue	4	4
Total	81	98

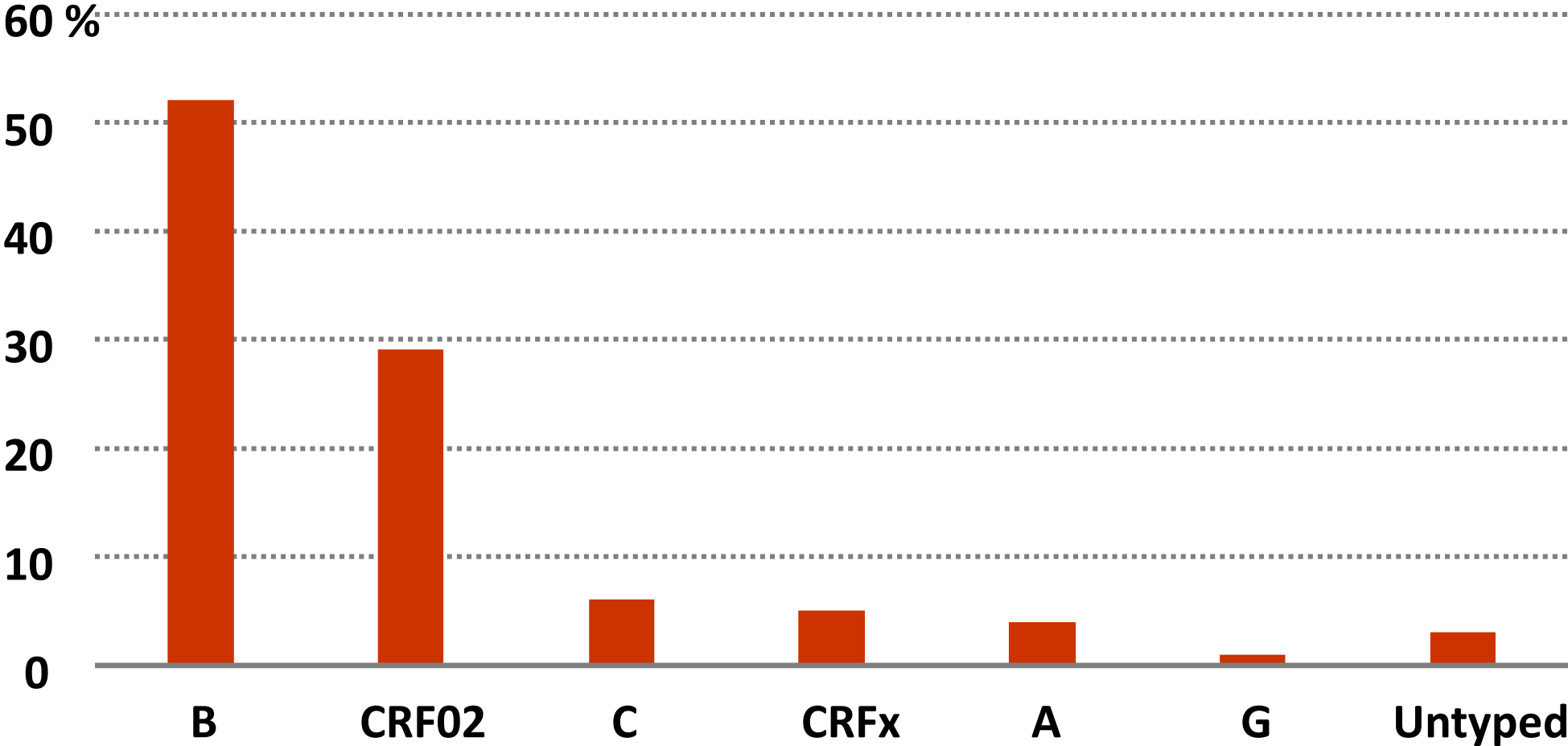
* 2 Prélèvements (n=6 patients) ; 3 Prélèvements (n=2 patients) ; 4 Prélèvements (n=1 patients)

** 3 Prélèvements (n=1)

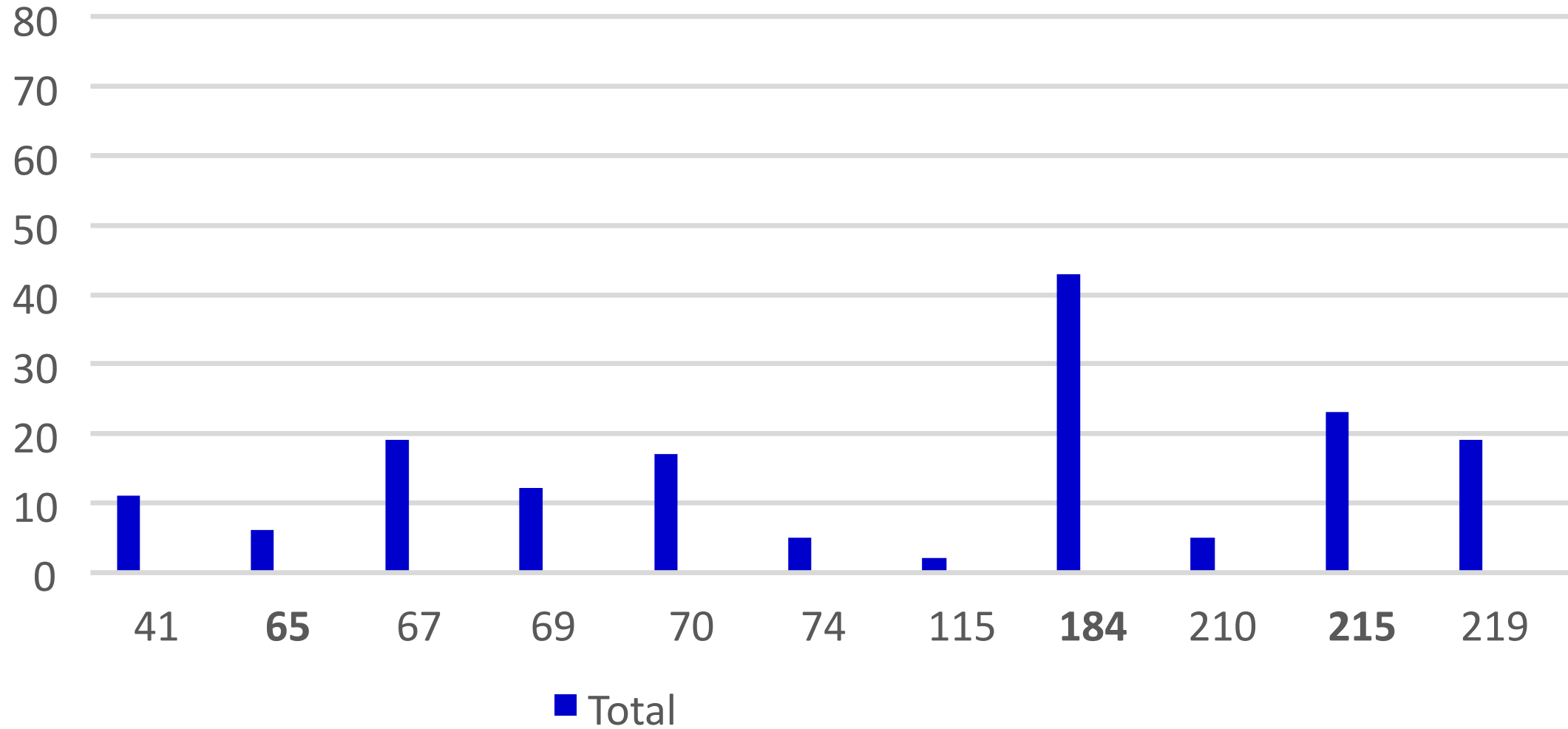
	1 st line group	2 nd line group
Number of patients	n=24 (21%)	n=48 (51%)
ARV Time duration of 1 st line (months)	52 [10 – 158]	37 [8 – 140]
NRTI + NNRTI • AZT/3TC/EFV • TDF/FTC/EFV • AZT-3TC/TDF-FTC/EFV	24 (100%) 8 (33%) 9 (38%) 7 (29%)	44 (92%) 35 (73%) 5 (10%) 4 (8%)
NRTI + IP AZT-TDF/3TC-FTC/LPV-r	0 (0%)	4 (8%)
Clinical stage • A • B • C • Unknown	2 (8%) 2 (8%) 17 (71%) 3 (13%)	5 (10%) 10 (21%) 26 (54%) 7 (15%)
VL : Cp/mL Log ₁₀ Cp/mL	25 909 4,4	38 354 4,6
CD4	223	244

	2ème ligne	3ème ligne
Number of patients	n=48 (51%)	5 (6%)
ARV time duration of 2 nd line(months)	25 [8 – 179]	20
NRTI + PI • TDF/3TC/LPV-RTV • Autre	47 (96%) 39 (81%) 7 (15%)	5 (100%) 5 (100%)
NRTI + NNRTI	2 (4%)	
NRTI + INI	0 (0%)	3 (60%)
VL : Cp/mL	38 354	7 563
Log ₁₀ Cp/mL	4,6	3,9
CD4	244	289
Durée totale de traitement (mois)	73 [22 – 224]	87 [32 – 165]

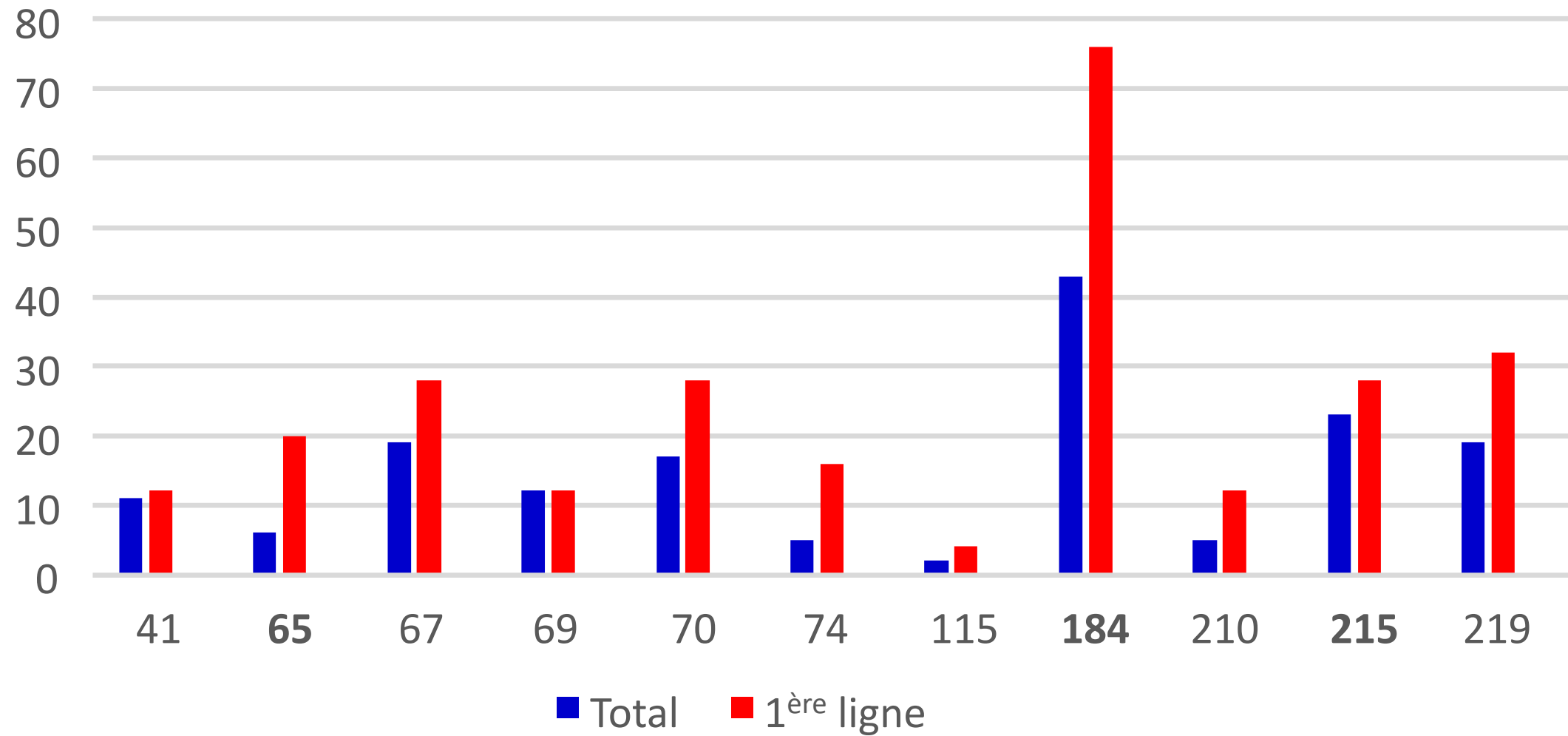
Subtype distribution



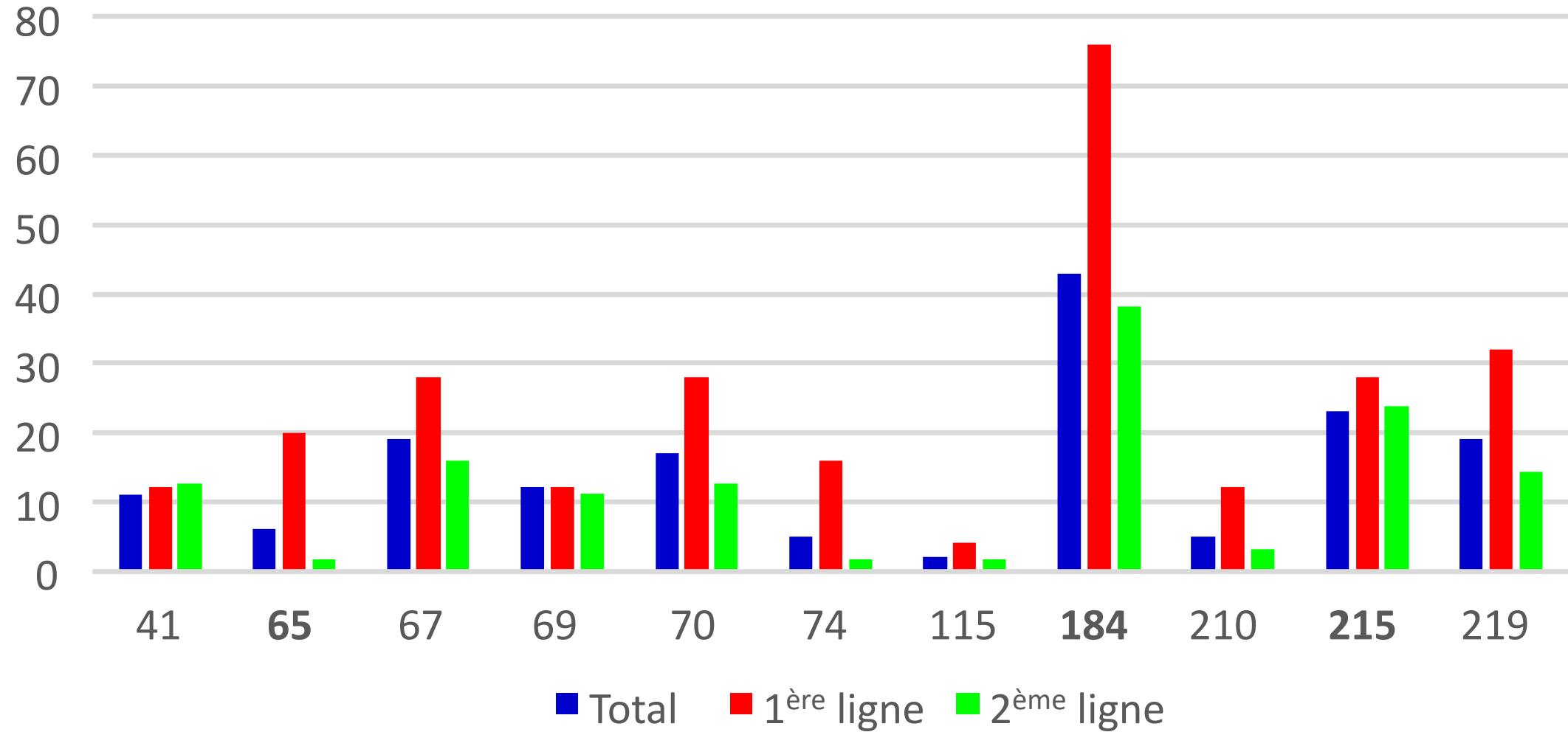
NRTI



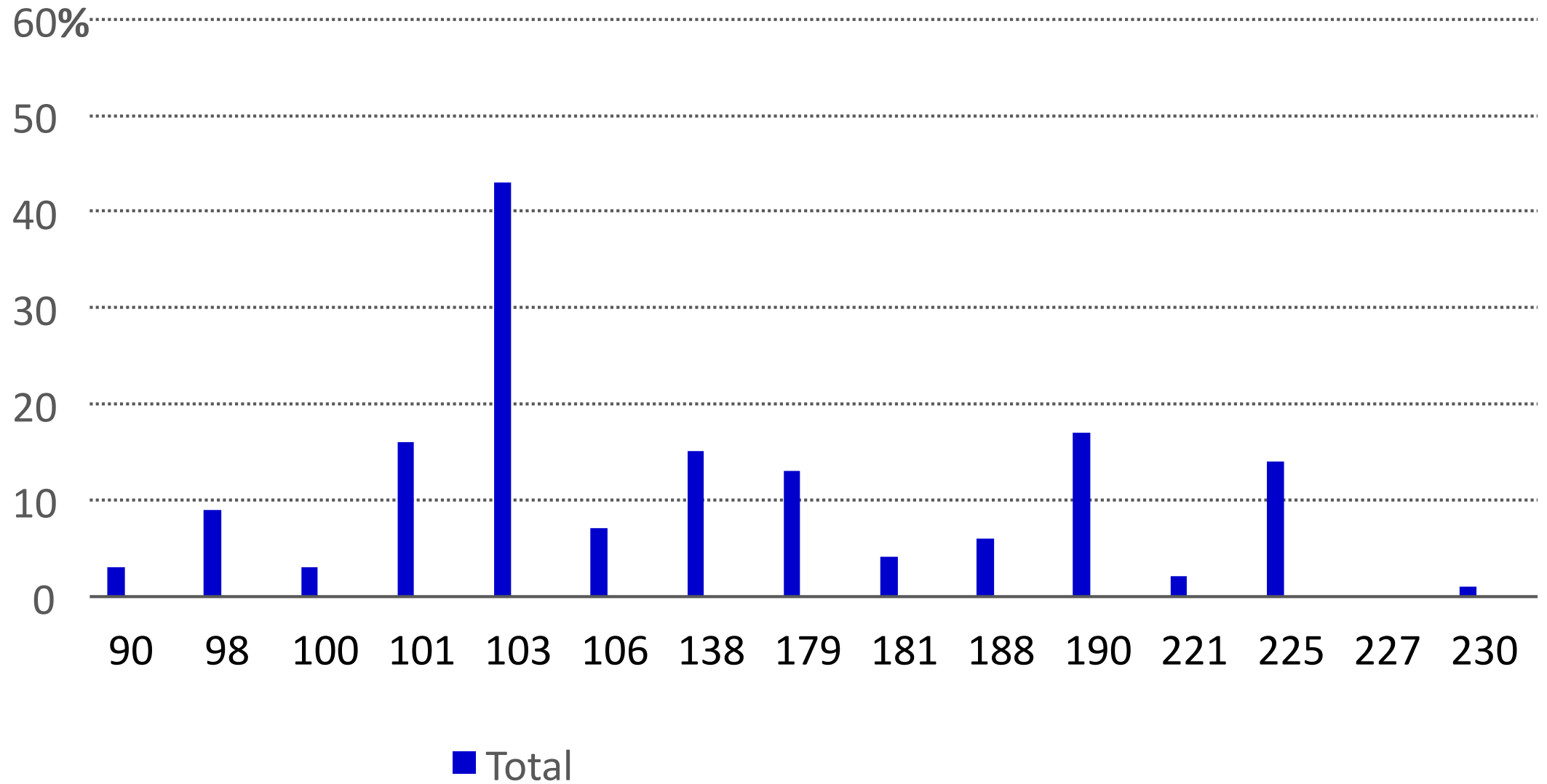
NRTI



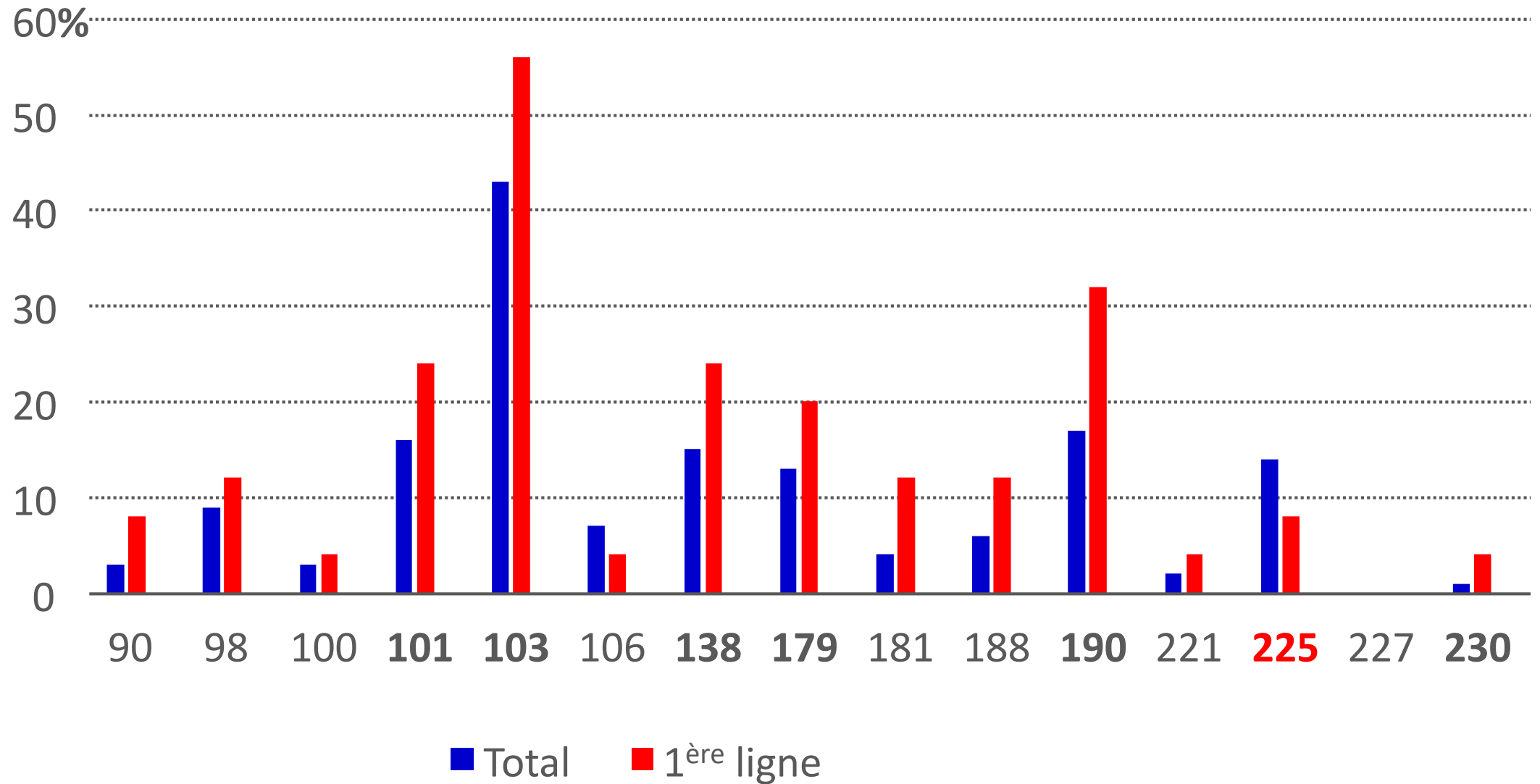
NRTI



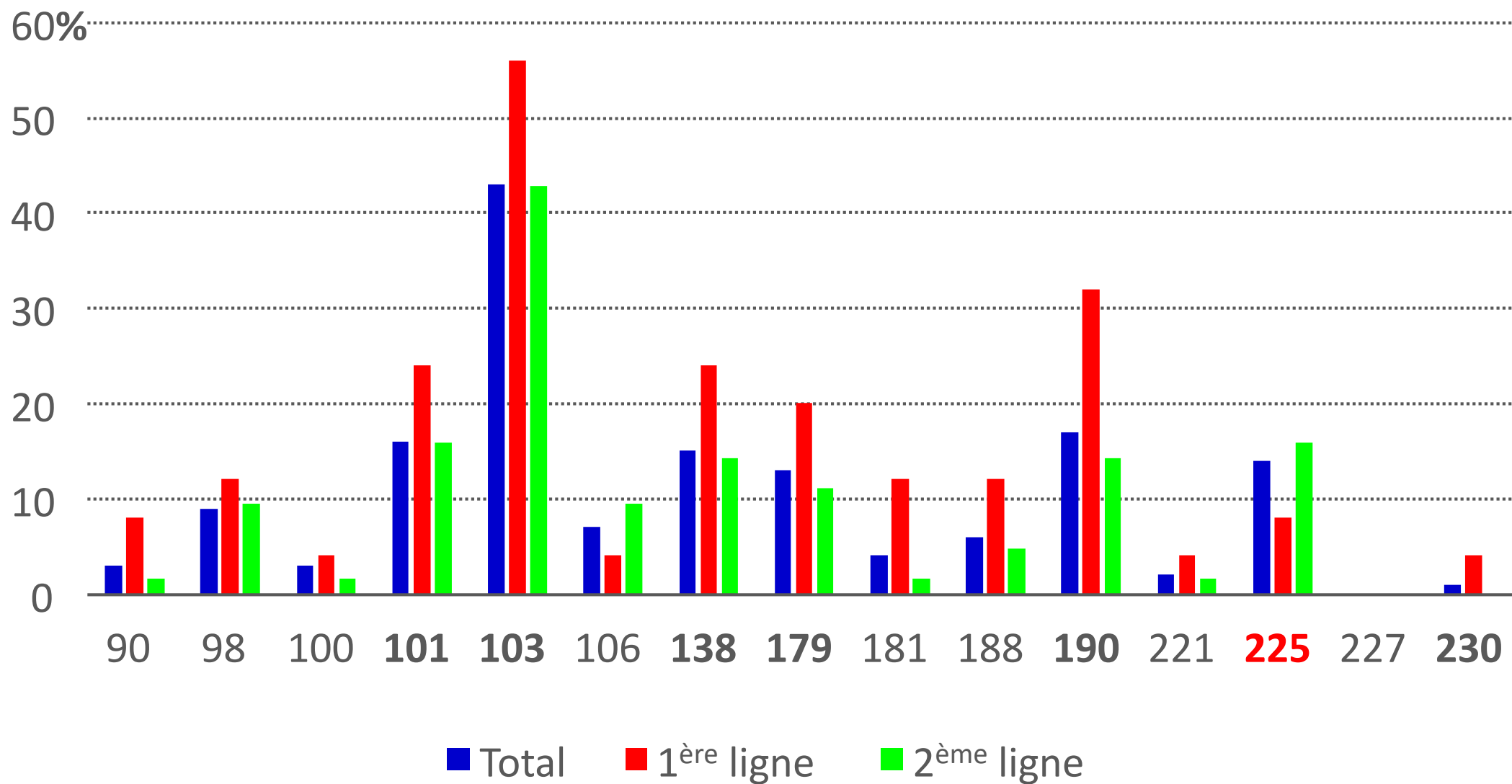
NNRTI



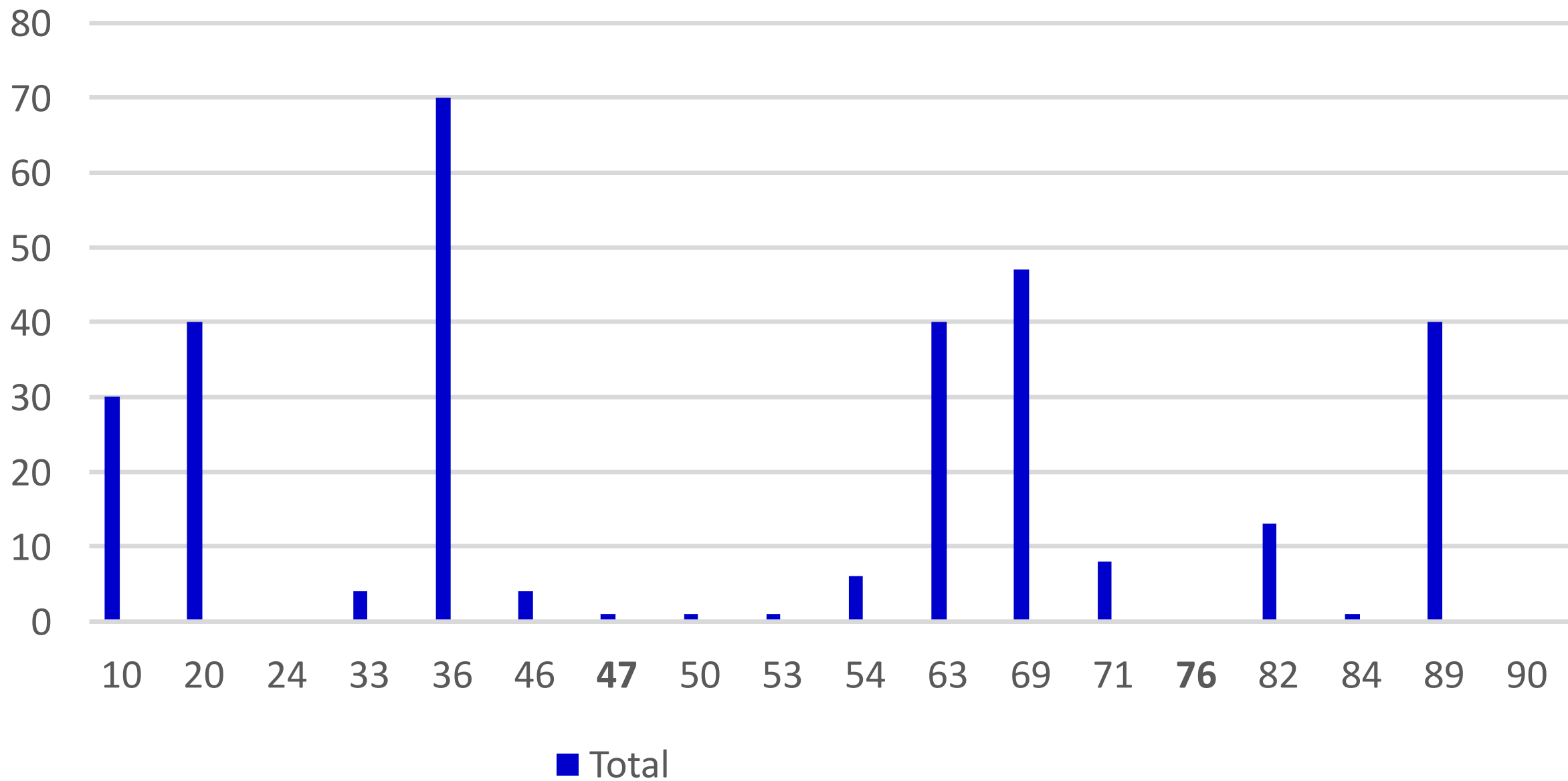
NNRTI



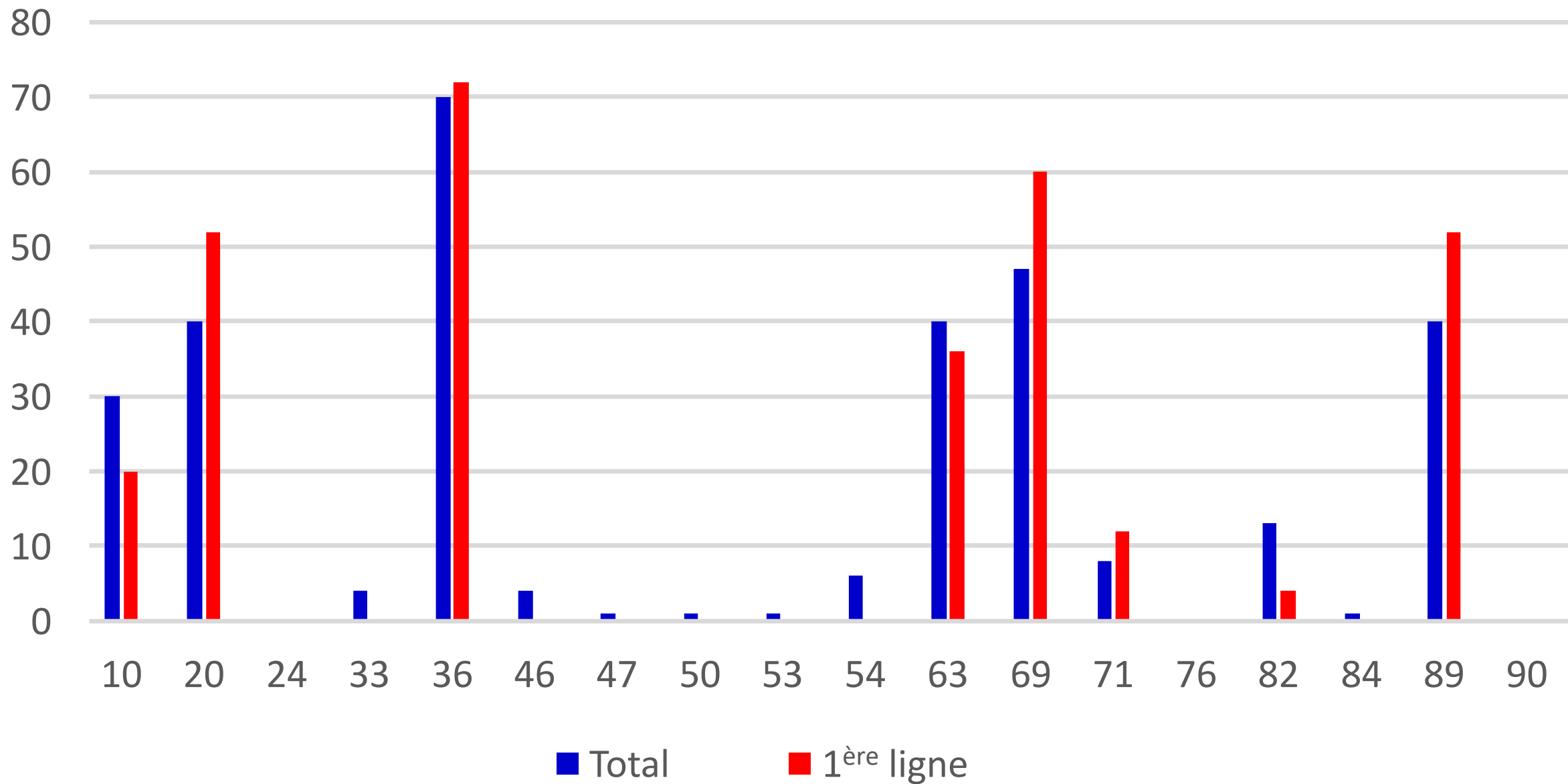
NNRTI



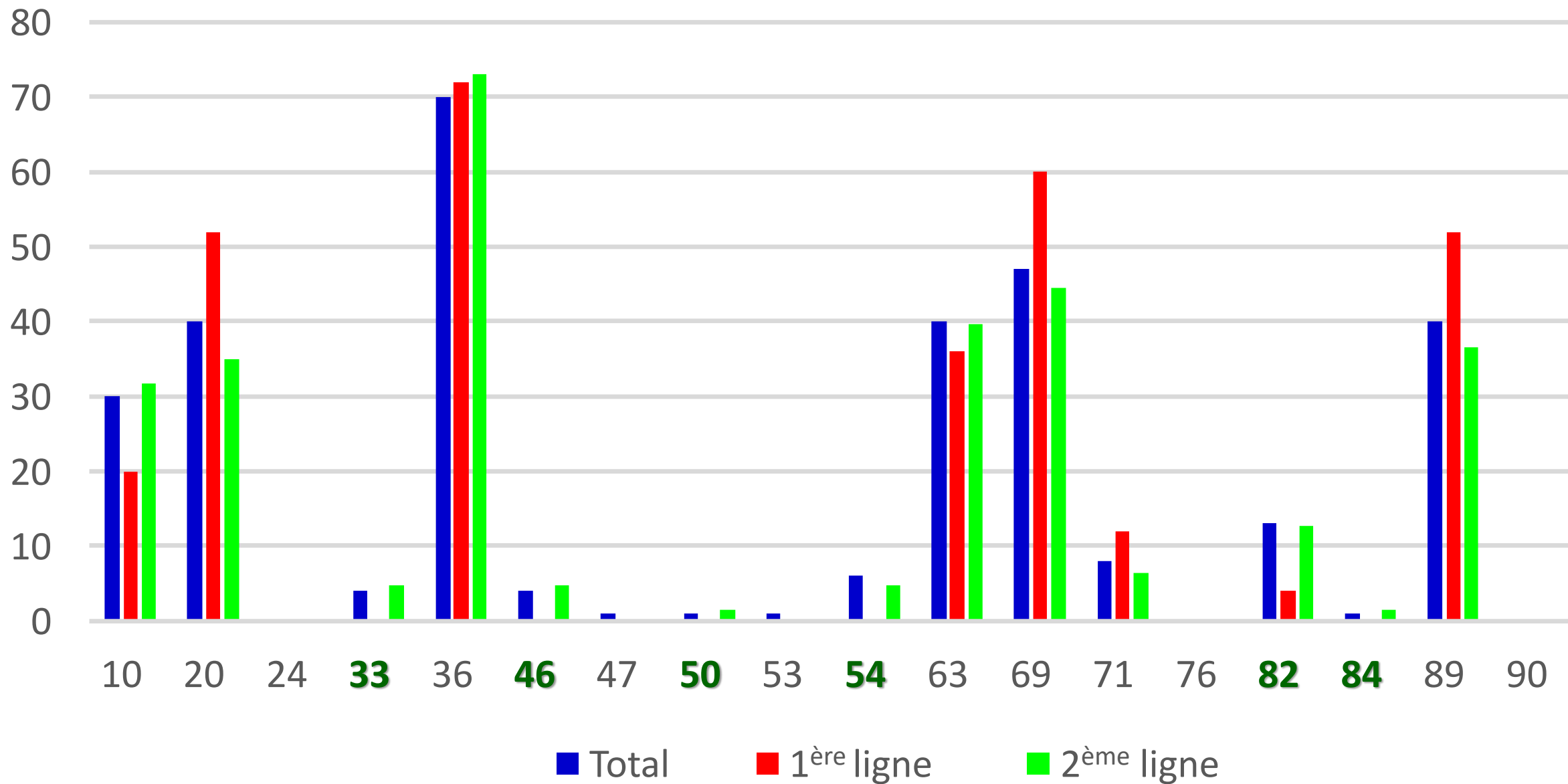
PI

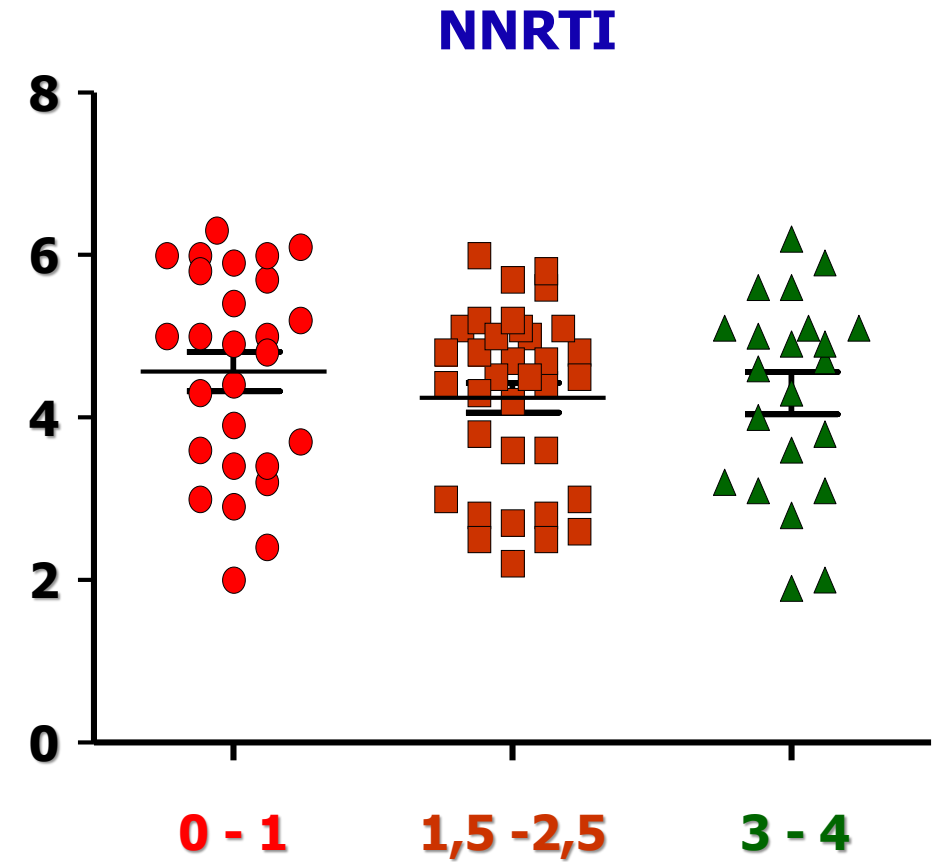
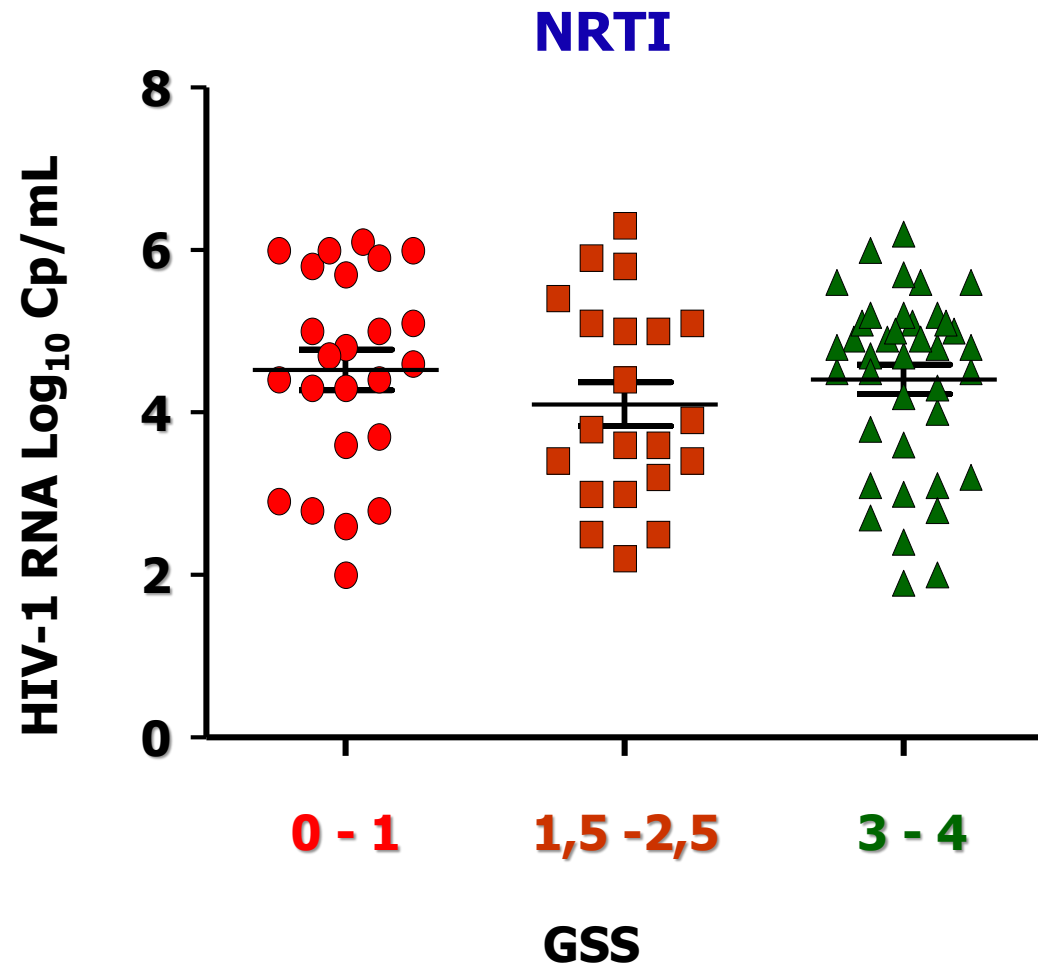


PI



PI





← 10 % of adult patients with high VL (4,5 – 6,2) showed **extended** resistance to **all NRTI and NNRTI**

1^{ère} ligne

2^{ème} ligne

90%

70

50

30

10

AZT

3TC/FTC

ABC

TDF

EFV/NVP

RPV

ETR

DOR

LPV/r

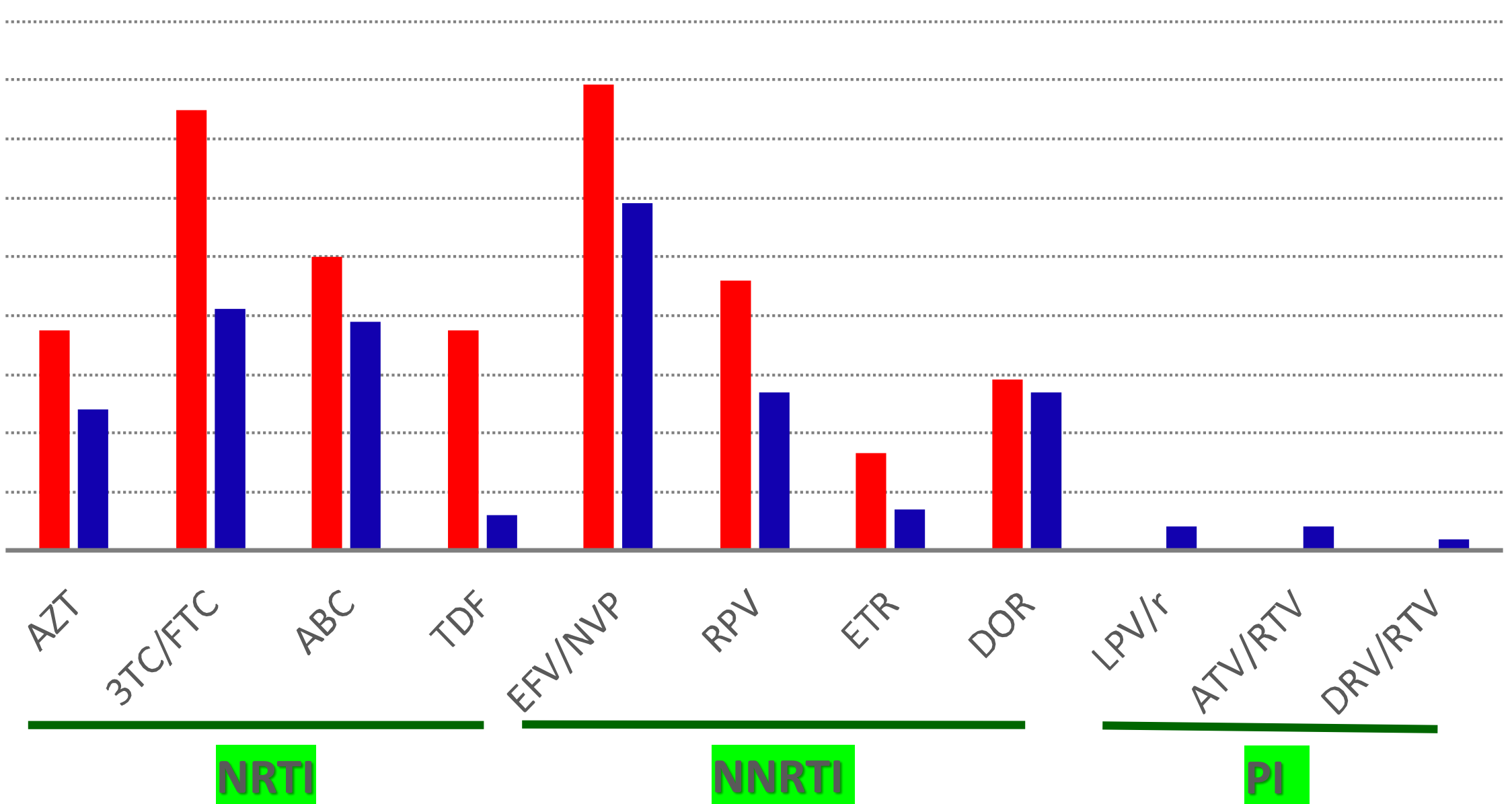
ATV/RTV

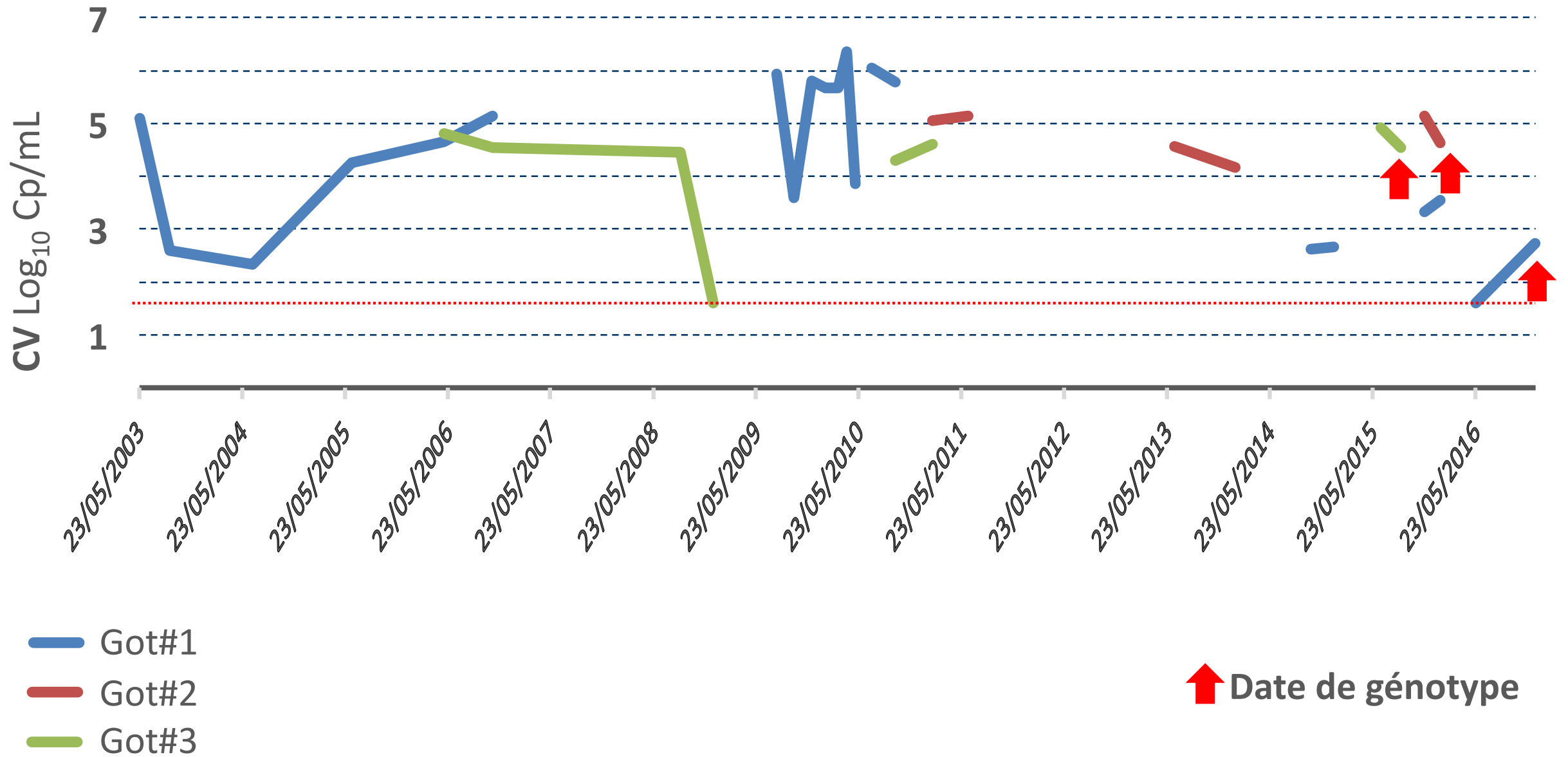
DRV/RTV

NRTI

NNRTI

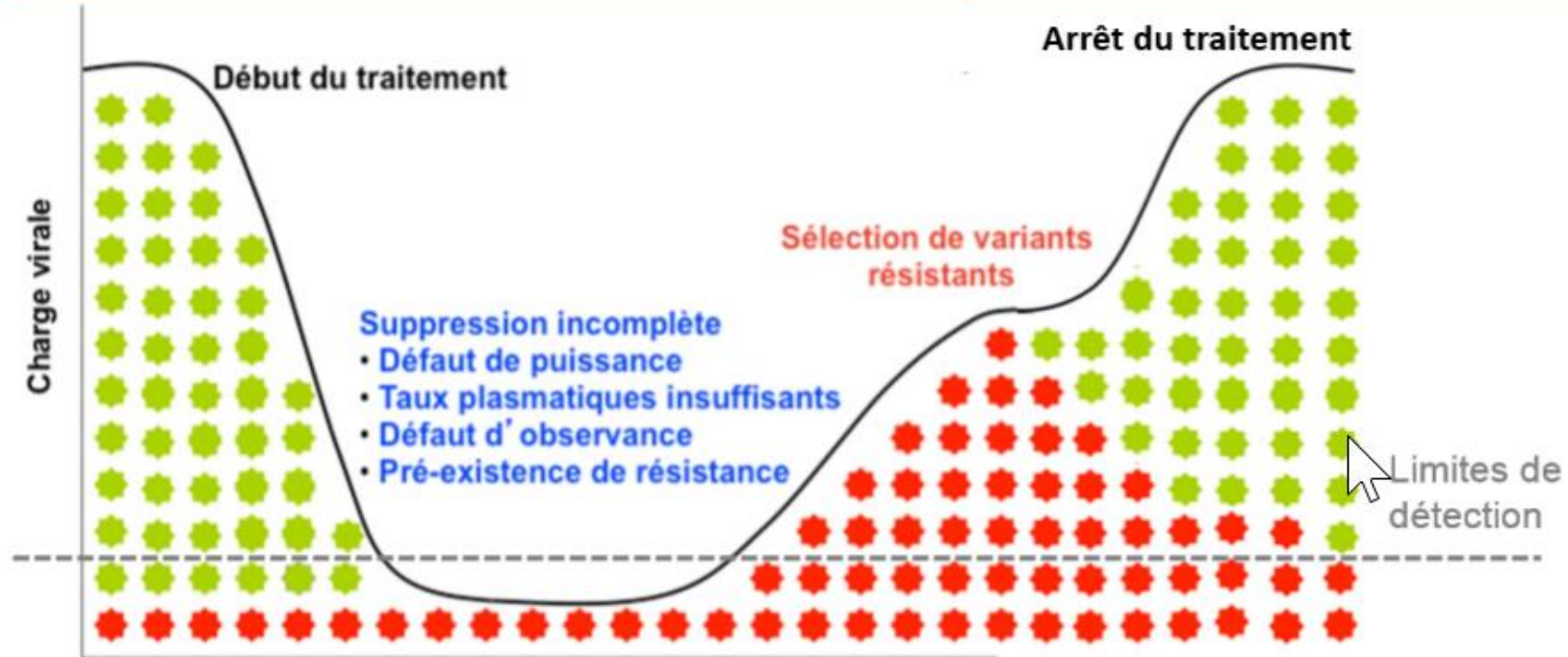
PI





Dynamique et résistance

65



En l'absence de traitement antirétroviral : le virus sauvage est le plus adapté donc le plus prévalent dans la quasi espèce virale répliquative

Sous pression de sélection antirétrovirale : les variants résistants peuvent émerger en raison de leur avantage réplcatif dans ces conditions

⇒ Proof of concept validé

Géno ADN par NGS ~ ARN cumulé >> Géno ADN par Sanger



Poster 44



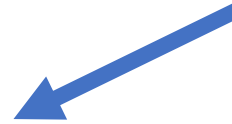
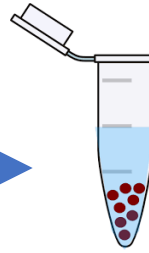
ali.simohamed@egp.aphp.fr

Roche/454 Pyrosequencing to explore archived HIV-1 drug resistance mutations in comparison with traditional sanger-based sequencing

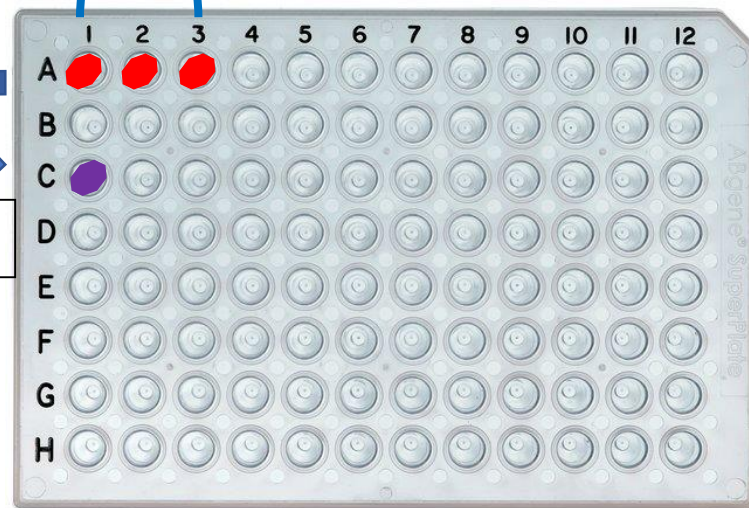
A. SI-MOHAMMED^{1*}, L. MANSOUR-HENDILI², J. PAVIE³, K. AURIBAUT², M. KARMOCHKINE³, F. BRASSEUR¹, X. JEUNEMAITRE²

¹Laboratoire de Virologie ; Hôpital Européen Georges Pompidou (HEGP), Assistance Publique Hôpitaux de Paris (AP-HP), Université Paris Descartes Sorbonne Paris Cité, Paris, France, Paris , ²Laboratoire de Génétique; HEGP; AP-HP; Université Paris Descartes Sorbonne Paris Cité, Paris, France ³Service d'Immunologie Clinique HEGP; AP-HP; Université Paris Descartes Sorbonne Paris Cité, Paris, France

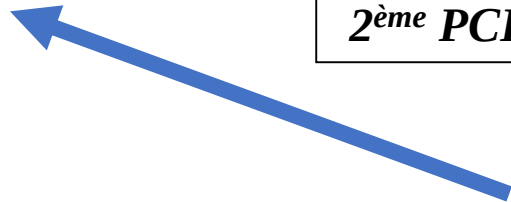




1^{ère} PCR



2^{ème} PCR





Séquençage haut-débit & Virologie : Approches bioinformatiques

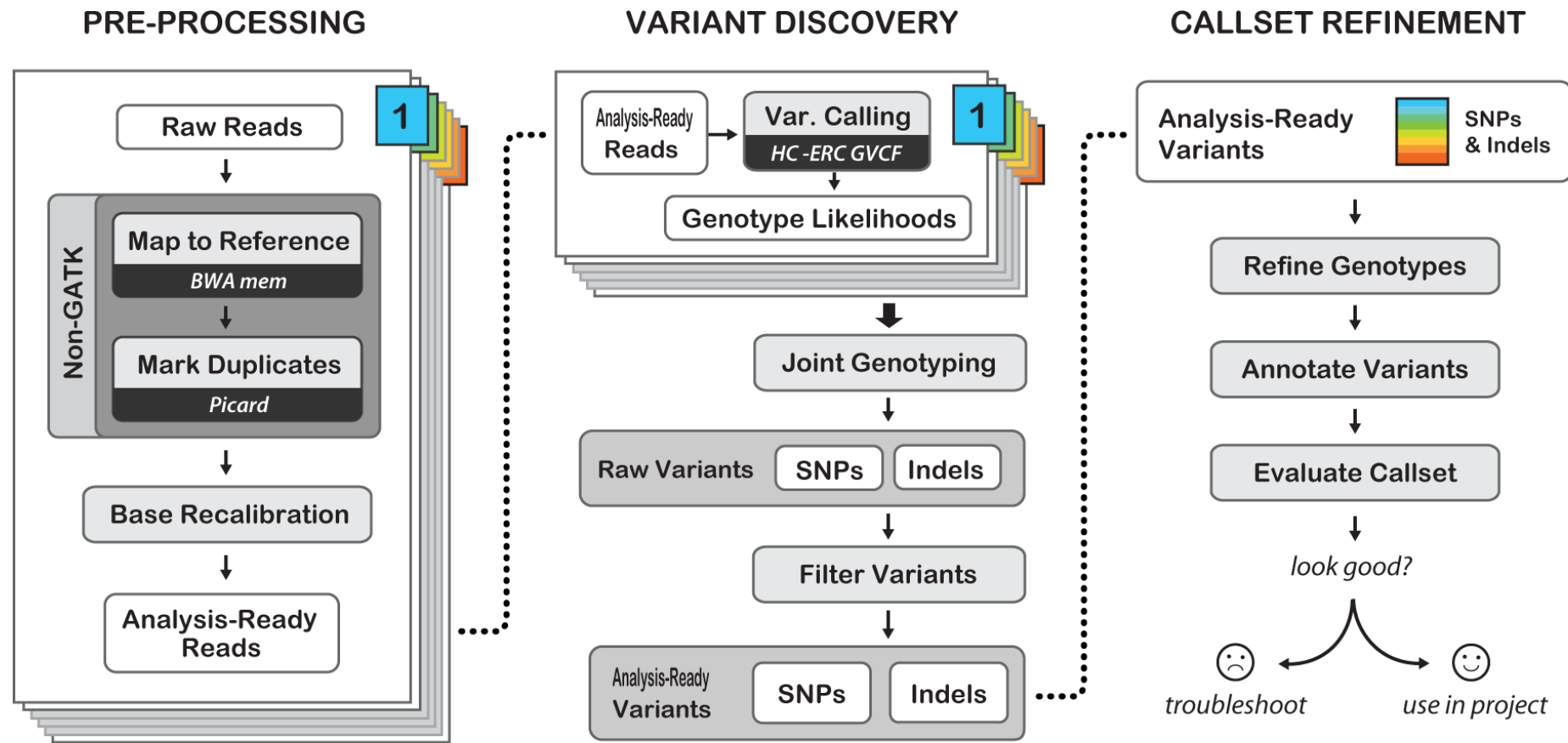
M. Duffourd Yannis
Bioinformaticien – CHU Dijon

Le 18 janvier 2019



Approches classiques

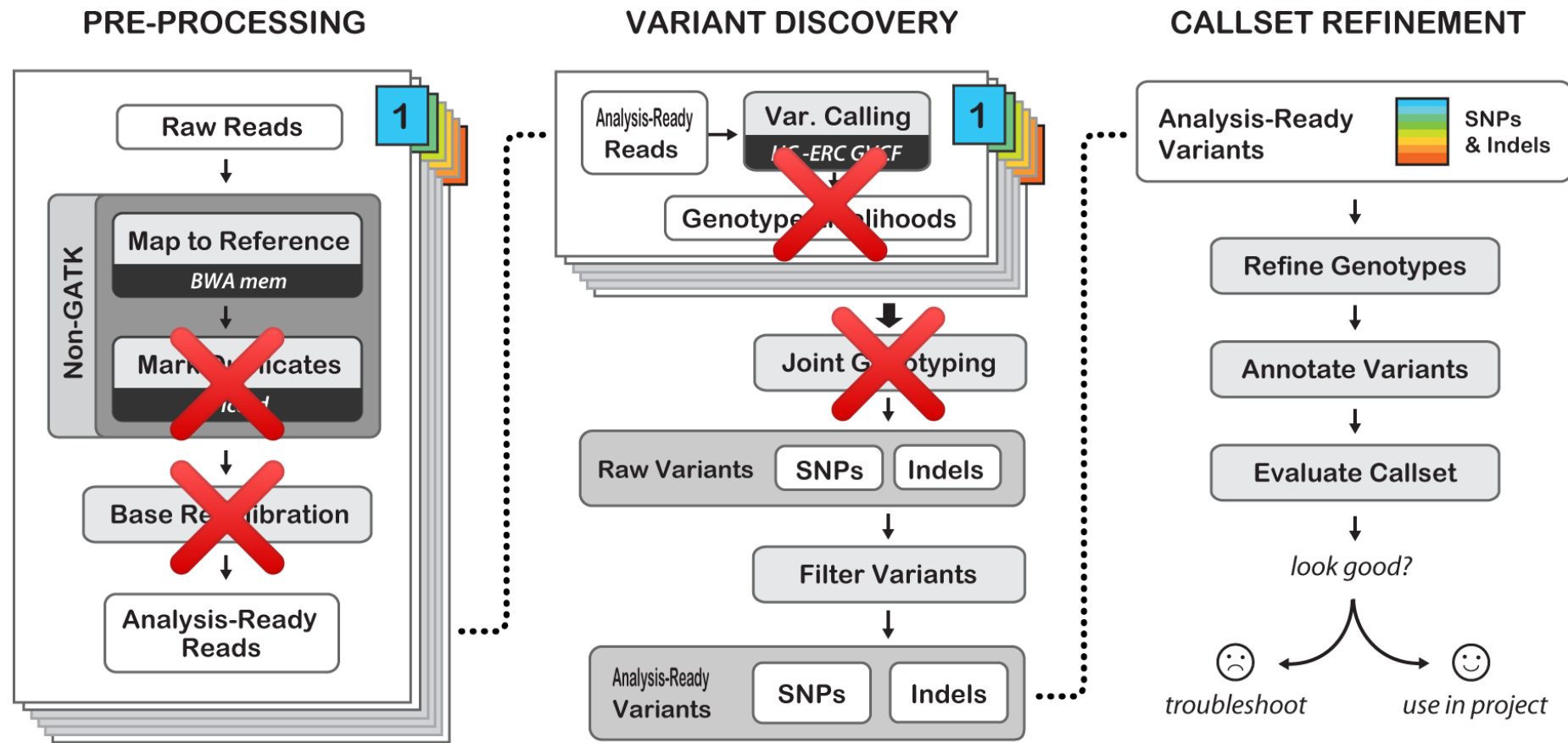
Analyse de données de SHD



Best Practices for Germline SNPs and Indels in Whole Genomes and Exomes - June 2016

Approches classiques

Amplicons



Best Practices for Germline SNPs and Indels in Whole Genomes and Exomes - June 2016

Utilisation d'un contrôle interne au run

Utilisation de la lignée 8E5 incluse dans chaque run

#position	A	C	E	D	G	F	I	H	K	*	M	L	N	Q	P	S	R	T	W	V	Y
38	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
39	0	0	0		0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
40	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0
41	0	0	1		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
42	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18	2	0	2	0	0	0
43	0	0	0		0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0
44	0	0	0		0	0	0	0	4	0	0	0	2	0	0	3	0	7	0	0	0
45	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	24	0	0	2	0	1
46	0	0	22		1	0	0	1	0	0	7	0	0	18	1	0	0	31	3	0	0
47	0	0	46		0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	13	0	0	2
48	8	0	0		8	14	0	0	0	32	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12
49	0	0	0		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	400	1	0	12	0	8
50	0	0	0		0	0	0	70	0	10	0	0	5	0	0	0	0	0	79	0	27
51	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0	0	7	3	23	8	0	23	0	0	0
52	0	0	16		0	0	0	0	0	0	11	0	0	0	0	0	0	26	0	0	3
53	0	0	0		0	0	0	0	10	0	11	0	8	0	0	7	0	35	0	0	0
54	49	0	6		0	0	1	17	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
55	4	0	3		0	29	0	0	1	0	0	0	0	122	0	0	1	0	0	0	9
56	0	0	0		0	3	3	0	0	0	5	0	0	0	0	0	3	89	0	2	0
57	0	8	0		0	31	0	4	0	0	0	0	1	24	0	0	0	21	2	0	0
58	1	0	0		0	0	0	0	0	0	0	0	17	0	2	0	11	0	1	0	0
59	0	0	116		0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	29	0	0	7
60	0	0	0		0	0	0	0	0	3	0	33	8	0	0	0	0	4	45	0	59
61	0	6	0		0	4	1	0	0	0	59	0	5	0	1	0	0	119	0	0	0
62	1	0	0		0	0	0	0	11	2	21	0	21	0	0	3	0	46	0	0	0
63	0	0	0		0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	5	63	0	1	0	0	1
64	2	0	13		0	56	0	0	1	0	0	0	0	156	0	0	2	0	0	0	6
65	0	0	0		0	3	4	0	0	0	11	0	0	0	0	0	13	101	0	0	0
66	59	0	0		0	0	0	9	0	3	0	0	0	0	0	15	17	2	0	0	0
67	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	5	10	0	34	0	0	0
68	0	0	0		0	0	20	11	0	0	2	0	0	0	0	0	60	0	0	0	4
69	6	0	0		16	76	0	0	0	195	8	0	0	0	1	0	1	0	0	0	6
70	0	0	199		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	22	0	0	8

Recherche des mutations sur l'échantillon

Pour chaque position candidate :



Fischer Exact Test vs Echantillon contrôle

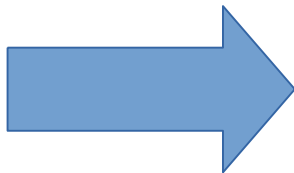
Détermine si les effectifs de la position sont différents du contrôle.

Si la position est différente :



Chi2 d'indépendance vs Echantillon contrôle

Détermine si la mutation est du bruit de fond.



Liste de mutations annotées (VCF & TSV)

Effectifs de tous les codons

Résultats des test statistiques pour chaque mutation

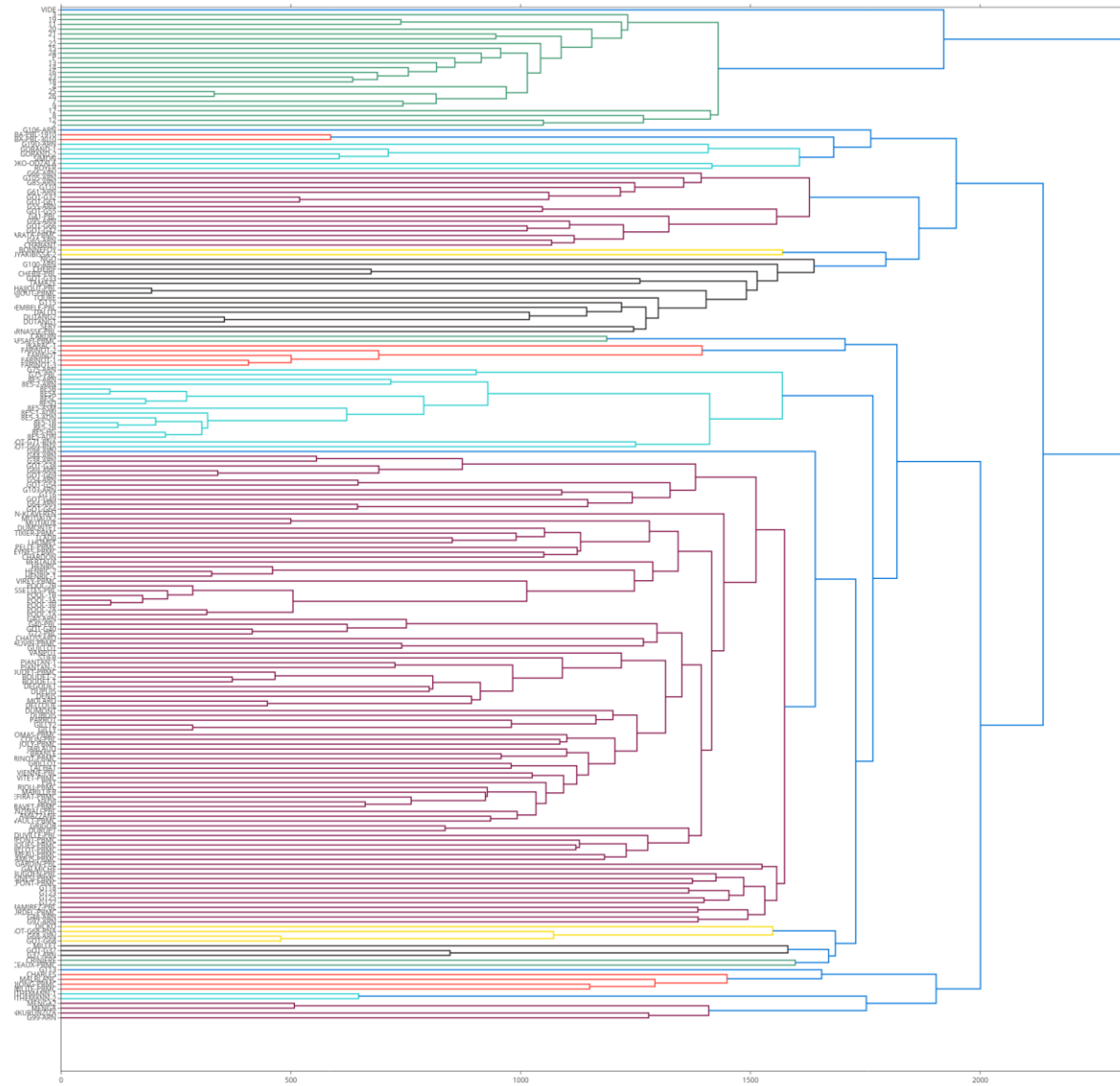
Consensus calculé en prenant chaque codon le plus fréquent

>Integrase

```
GGGGAAGCCATGCGTAGACATGAAGACCGTCGTTTCAGAATTATGACTATCAGAACGTTACGTCAAGAAGAAGAACTTTCTTAGAATCAGACCCAGAAC
CCCGTGACTCCTTAGAATCAGAAGTACCCTCATCAGAATCAGAAATAAGAATCATCATCCTTATTATAAGAATCATCAGAAAGTTTGTCAGAAGAAGAATTAC
CCTCAGAAGACGACCCCGACCCCGCGTACTTCAGAACAGTCATCACGTTGATAACCCAGTAGTAGTCTAGAATTGGAAAGTCCCTCCGACCCCTAC
GTCTAGAACTAGAAGAATCAGTAAGTGAAGTATCACAGCTAATGTTAGAGCCGGACAGTGAAGTAACTGAACCCCGTGAATCATCAGAACCCTGTCAGC
TCCCACCCCGAGTGTAGAAGAAGAAGACGAGTTGGTTGTTCCCGTTCAGCTGAAAGTTTATTAGAAGTATTATCATCAGAATCACTAAGTGAAGAATCAT
AAGAACTAAGTTCAGAAAGTCTAAGTTTGCAAGTGTTCAGTGAAAGTAGTGAATCAAGTTGAGAAGAATCATCAGAACAACCCTGAGAAAGTGAAGAG
TCAGAATAATTACTAGAAGACAGTGACTTAGAAGAAGAATCAAGTAGTGAATCAGAATTCTTGAGTGAATTTGAAGAACCCTTGAAAGTGAAGAACGTCC
GGAACGTAGTCGGGATGAGGAT
```

VIHGO

Clustering



Développements avant publication

- Rendre l'outil utilisable pour tous :
tous virus dès que sequence référence et annotation disponibles
- Compatibilité avec les formats bioinformatiques classiques
 - .fa
 - .gtf
 - .bam
 - .vcf

Clonal analysis of HIV-1 variants in proviral DNA during treatment interruption in patients with multiple therapy failures

Sébastien Boucher^a, Patricia Recordon-Pinson^a, Didier Neau^b, Jean-Marie Ragnaud^b,
Karine Titier^c, Muriel Faure^a, Hervé Fleury^a, Bernard Masquelier^{a, *}

^a *Département de Virologie et Immunologie biologique, CHU de Bordeaux, Hôpital Pellegrin, Place Amélie Raba Léon, 33076 Bordeaux cedex, France*

^b *Département des Maladies Infectieuses, Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France*

^c *Laboratoire de Pharmacologie clinique, Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France*

Received 18 October 2004; received in revised form 19 January 2005; accepted 19 January 2005

Abstract

Background: Treatment interruption (TI) in antiretroviral-treated patients on virological failure (VF) often results in a shift from resistant to wild-type HIV-1 in plasma. A clonal analysis was set out to determine the importance of archiving of resistant HIV-1 variants during TI and its relationship with the occurrence of a VF after treatment resumption.

Methods: A fragment of the *pol* gene was cloned and sequenced from peripheral blood mononuclear cells DNA sampled at the end of TI. Clonal sequences were compared to bulk plasma sequences determined before TI, after TI and at VF.

Results: Four patients were enrolled; all had a complete reversion to wild-type HIV-1 at the end of TI. In two patients with subsequent VF, archiving of minority resistant variants was detected in proviral DNA. Archived resistant variants were found to be phylogenetically linked to sequences detected before TI and at VF, suggesting the re-expansion of resistant HIV-1 from archived quasispecies.

Conclusion: In patients having a TI in the context of VF, archiving of resistant HIV-1 variants in proviral DNA can be involved into the mechanisms of further VF after treatment resumption.

© 2005 Elsevier B.V. All rights reserved.

Classe ARV	Génotype ARN Cumulé [1999 – 2008]
NRTI	70 R 184 V 215 I 215 F
NNRTI	101 E 181 C 190 A
INI	Aucune
PI	10I 36I 63P

Classe ARV	Génotype ARN Cumulé [1999 – 2008]	Fraction 1 5 x 10 ⁵ ∅ PBMC
NRTI	70 R 184 V 215 I 215 F	33 / 28 9 / 8 5 / 5 8 / 6
NNRTI	101 E 181 C 190 A	10 / 8 0 / 0 9 / 6
INI	Aucune	Aucune
PI	10I 36I 63P	85 / 89 54 / 53 96 / 97

Classe ARV	Génotype ARN CumulGénotype [1999 – 2008]	Fraction 1 5 x 10 ⁵ ∅ PBMC	Fraction 2 5 x 10 ⁵ ∅ PBMC
NRTI	70 R 184 V 215 I 215 F	33 / 28 9 / 8 5 / 5 8 / 6	66 / 65 20 / 22 10 / 9 16 / 18
NNRTI	101 E 181 C 190 A	10 / 8 0 / 0 9 / 6	0 / 0 21 / 23 0 / 0
INI	Aucune	Aucune	Aucune
PI	10I 36I 63P	85 / 89 54 / 53 96 / 97	99 / 98 78 / 79 99 / 100

Classe ARV	Génotype ARN Cumulé [1999 – 2008]	Fraction 1 5 x 10 ⁵ ∅ PBMC	Fraction 2 5 x 10 ⁵ ∅ PBMC	Pool 1 + 2 1 x 10 ⁶ ∅ PBMC
NRTI	70 R 184 V 215 I 215 F	33 / 28 9 / 8 5 / 5 8 / 6	66 / 65 20 / 22 10 / 9 16 / 18	52 / 52 16 / 17 8 / 8 13 / 14
NNRTI	101 E 181 C 190 A	10 / 8 0 / 0 9 / 6	0 / 0 21 / 23 0 / 0	4 / 3 14 / 15 3 / 4
INI	Aucune	Aucune	Aucune	Aucune
PI	10I 36I 63P	85 / 89 54 / 53 96 / 97	99 / 98 78 / 79 99 / 100	88 / 87 59 / 62 97 / 97

Culot cellulaire

- Total n=49
- PCR + n=25 (51%)
- NGS ADN & ARN n=11
- NGS ADN n=14
- NGS ARN n=13

• **Mme M.H; 36 ans**

1^{ère} ligne : * AZT-3TC-EFV pdt 27 mois : échec virologique : 14 467

Date	ARV	CV	Géno ARN Sanger	Géno ARN NGS	Géno ADN NGS
30/03/2014	TDF-FTC-LPV/r	ND	ND	ND	ND
27/01/2015		80 461	ND	ND	ND
10/11/2015	TDF-FTC-ATV/R	139 112	✓	✓	✓
23/03/2016		42 404	✓	✓	ND
19/10/2016		486 252	✓	✓	✓

• Mme M.H; 36 ans

1^{ère} ligne : * AZT-3TC-EFV pdt 27 mois : échec virologique : 14 467

Date	ARV	CV	Géno ARN Sanger	Géno ARN NGS	Géno ADN NGS
30/03/2014	TDF-FTC-LPV/r	ND	ND	ND	ND
27/01/2015		80 461	ND	ND	ND
10/11/2015	TDF-FTC-ATV/R	139 112	184 V 103 K/N	√	√
23/03/2016		42 404	184 / - 103 N	√	ND
19/10/2016		486 252	184 / - 103 / -	√	√

• Mme M.H; 36 ans

1^{ère} ligne : * AZT-3TC-EFV

pdt 27 mois :

échec virologique : 14 467

Date	ARV	CV	Géno ARN Sanger	Géno ARN NGS	Géno ADN NGS
30/03/2014	TDF-FTC-LPV/r	ND	ND	ND	ND
27/01/2015		80 461	ND	ND	ND
10/11/2015	TDF-FTC-ATV/R	139 112	184 V 103 K/N	99% 62%	√
23/03/2016		42 404	184/ - 103 N	9% 88%	ND
19/10/2016		486 252	184 / - 103 / -	0% 11%	√

• Mme M.H; 36 ans

1^{ère} ligne : * AZT-3TC-EFV pdt 27 mois : échec virologique : 14 467

Date	ARV	CV	Géno ARN Sanger	Géno ARN NGS	Géno ADN NGS
30/03/2014	TDF-FTC-LPV/r	ND	ND	ND	ND
27/01/2015		80 461	ND	ND	ND
10/11/2015	TDF-FTC-ATV/R	139 112	184 V	99%	54%
			103 K/N	62%	22%
23/03/2016		42 404	184 / - 103N	9% 88%	ND
19/10/2016		486 252	184 / - 103 / -	0% 11%	25% 25%

Date	ARV	CV	Géno ARN Sanger	Géno ARN NGS	Géno ADN NGS
30/03/2014	TDF-FTC-LPV/r	ND	ND	ND	ND
27/01/2015		80 461	ND	ND	ND
10/11/2015	TDF-FTC-ATV/R	139 112	184 V	99%	54%
			103 K/N	62%	22%
23/03/2016		42 404	184 / -	9%	ND
			103N	88%	
19/10/2016		486 252	184 / -	0%	25%
			103 / -	11%	25%

Génotype ARN Classique (Sanger)	RESISTANCE	SAUVAGE
ARN par NGS	R : 4/11 (36%)	W : 7/7 (100%)
	R+ : 7/11 (64%)	R : 0/7 (0%)

Génotype ARN (Sanger)	RESISTANCE	SAUVAGE
ARN par NGS	R : 4/11 (36%)	W : 7/7 (100%)
	R+ : 7/11 (64%)	R : 0/7 (0%)

Génotype ARN (Sanger)	RESISTANCE	SAUVAGE
ADN par NGS	R/R+ : 12/13 (93%)	W : 5/16 (31%)
	W : 1/13 (7%)	R : 11/16 (69%)

Génotype ARN Classique (Sanger)	RESISTANCE	SAUVAGE
ARN par NGS	R : 4/11 (36%)	W : 7/7 (100%)
	R+ : 7/11 (64%)	R : 0/7 (0%)



R : ↗ ou ↘

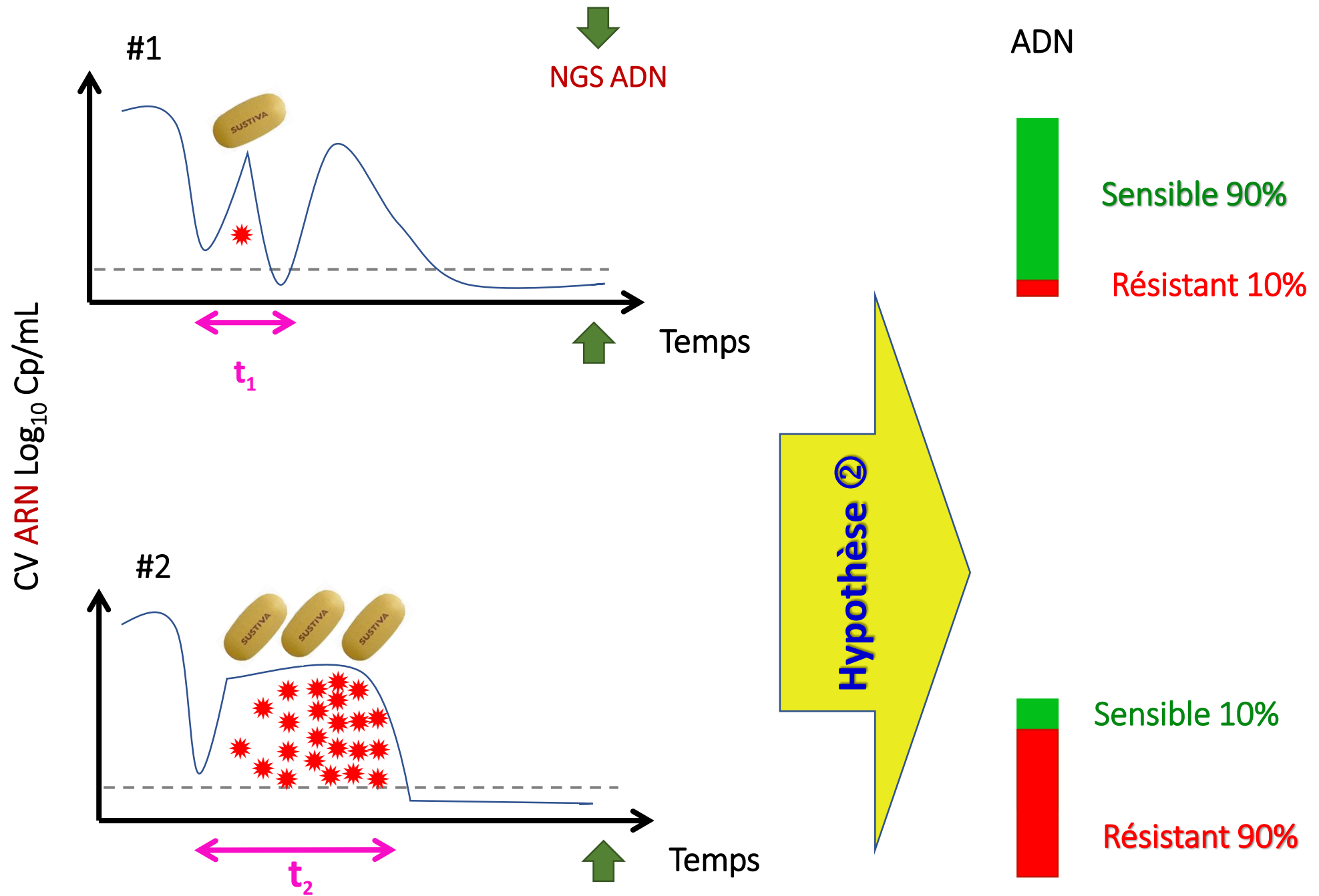
Génotype ARN Classique (Sanger)	RESISTANCE	SAUVAGE
ADN par NGS	R : 12/13 (93%)	W : 5/16 (31%)
	W : 1/13 (7%)	R : 11/16 (69%)



R : Âge ?

Hypothèse ②

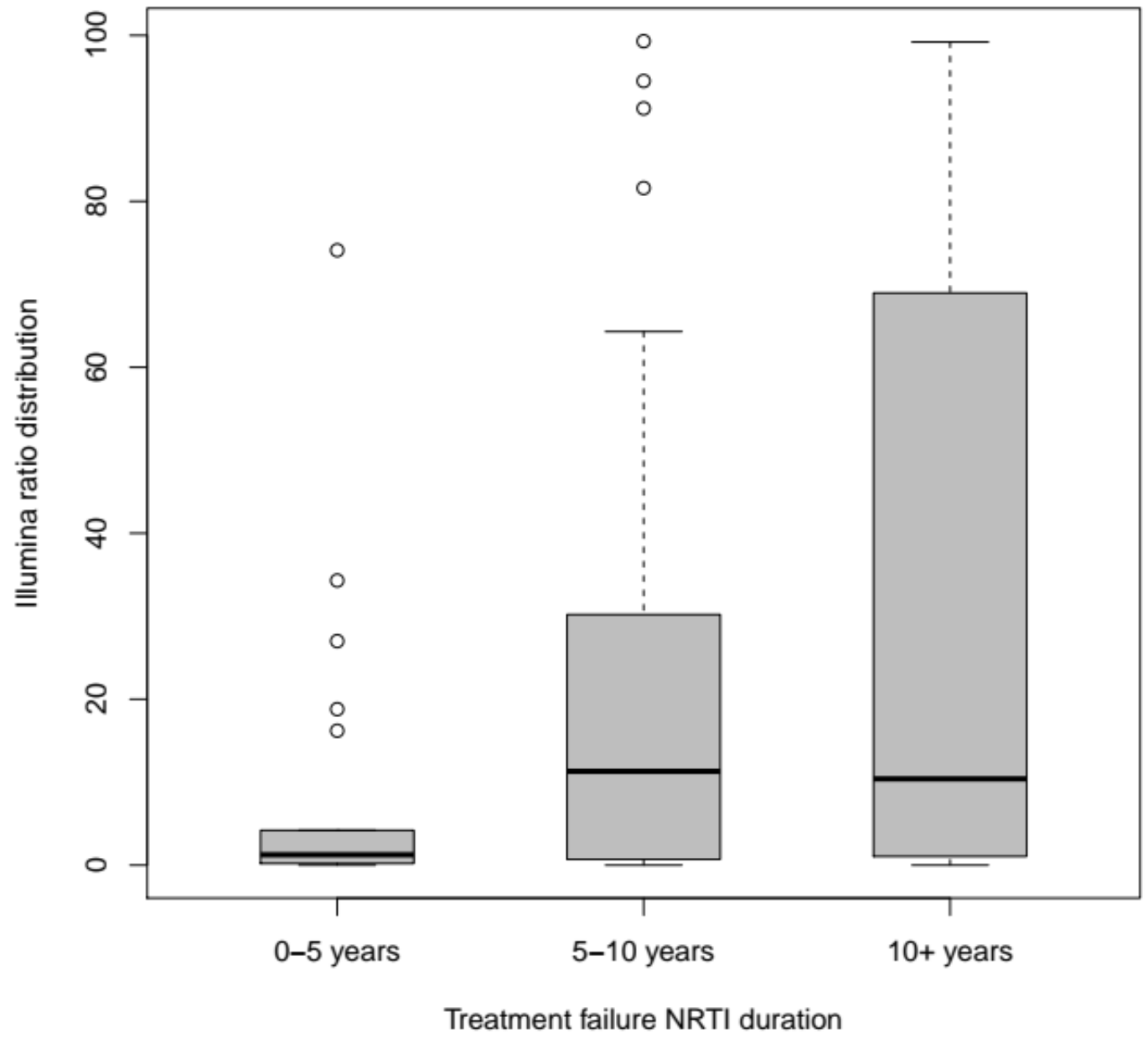
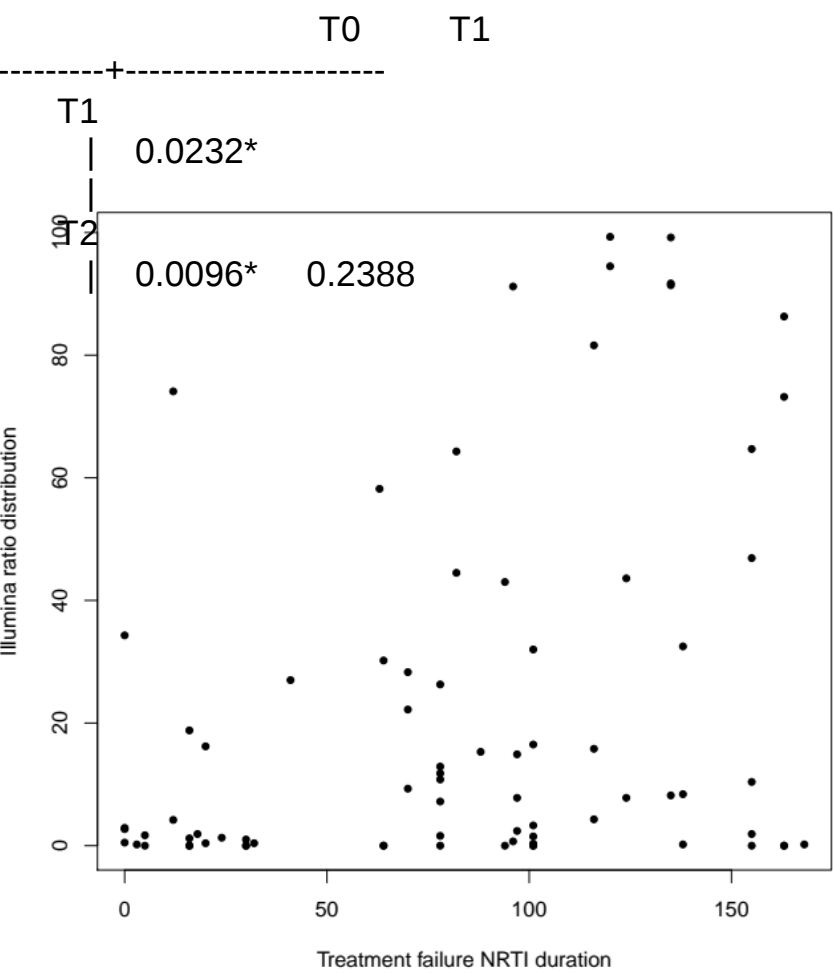
Durée de réplication sous pression de sélection comme
« cofacteur » pouvant être impliqué dans le
« remplissage » du réservoir ADN en variants résistant ?



Illumina ratio distribution vs traitement failure duration NRTI (Resistance mutations - 2&3)

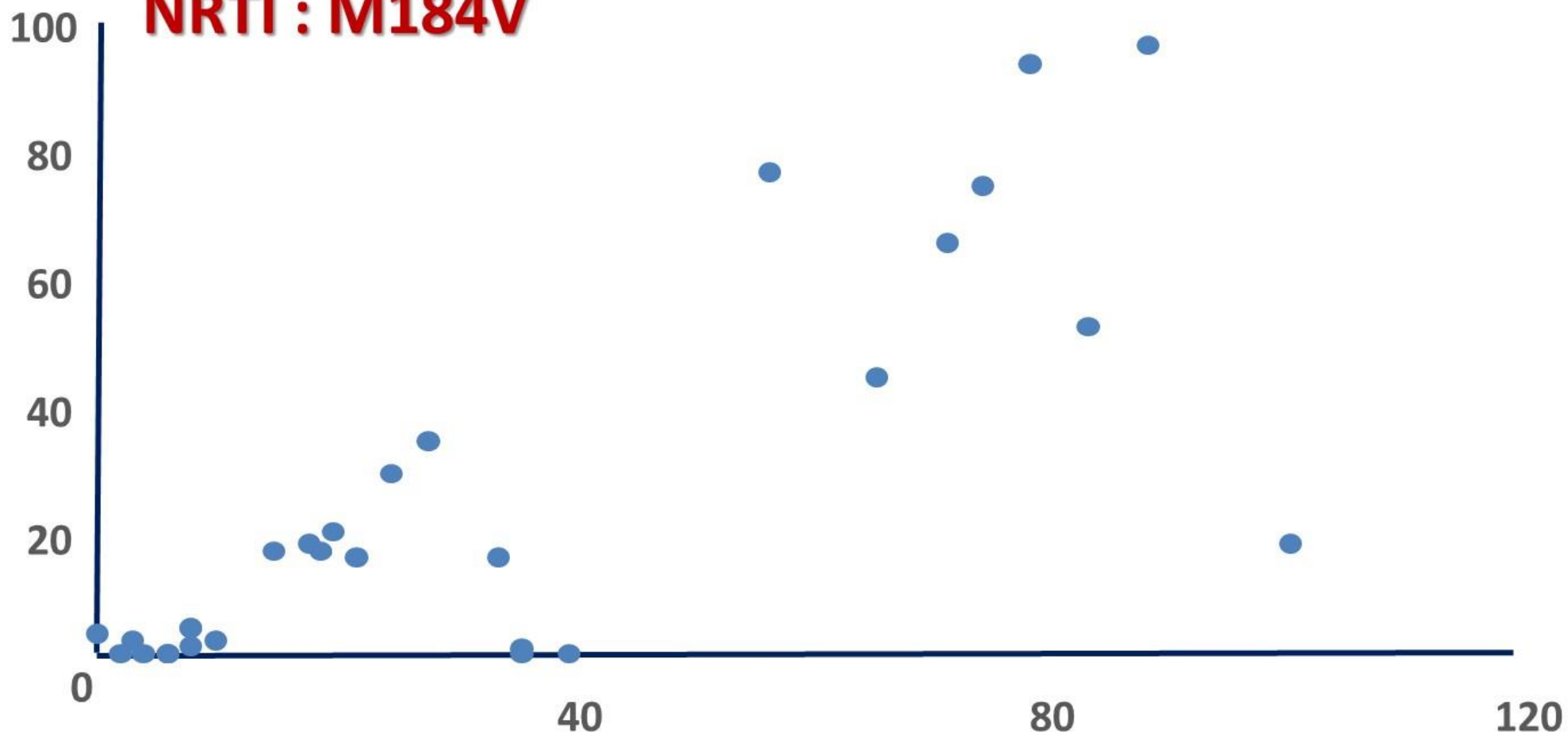
T0 : 22
T1 : 38
T2 : 19

Kruskal-Wallis chi-squared : p-value = 0.04



Archivage dans le compartiment ADN %

NRTI : M184V



Durée de réplication sous ARV (mois)

Discussion

- Adapter la technologie de génotypage au contexte...
- Le NGS ADN/ARN a de la valeur ajoutée..... À évaluer / valider
- Indicateurs pour la résistance primaire
- Cinétique et fréquence des CV
- Biothèque
- Switch NNRTI vers INI (CV ↑ , PDR ?)

MAROC

Equipe LNRV

H. OUMZIL
E. ELHARTI
H.ELOUDYI
H. LEMRABET
S. AMGHAR

CRU Casablanca

R. BENSGHIR
M. SODQI
K. FILALI MARHOUM

CRU Hôpital d'Enfants Rabat

S. BENCHEKROUNE

CR Agadir

Z. OUAGARI
M. MALMOUSSI

MAROC

CR Marrakech

M. AAJLY

CRU Marrakech

N. TASSI
F. IHBIBANE

CRU Fes

S. RABHI

CRU Rabat

M. MAAMAR
M. BOURKIA

Hôpital Militaire Med V, Rabat

M. BOUI

MAROC

UGFM

B. ELOMARI

PNLS

N. SAKHRI
K, BELBACHIR
A.BENNANI

المملكة المغربية
وزارة الصحة



Royaume du Maroc
Ministère de la Santé



Tous les patients

FRANCE

Virologie

H. Giraudon
V. Laurent
A. Lézé
A. SI-MOHAMMED
M. Villaumé

Département de Génétique

M. Chevarin
Y. Duffourd
L. Faivre
C. Thauvin
E. Tisserant

