

BACTERIOLOGIE

Le génome bactérien

I. Définition

1. Mise en évidence
2. Structure de l'ADN
3. Réplication chez les Procaryotes
4. Rôles de l' ADN
5. Application à la Taxonomie

II. Les plasmides

1. Définition
2. Propriétés
3. Réplication des plasmides
4. Fonction

La tuberculose

I. Historique

II. Transmission

III. Les signes cliniques de la tuberculose maladie

1. La tuberculose pulmonaire
2. La tuberculose extra-pulmonaire

LE GÉNOME BACTÉRIEN

I. DÉFINITION

Génome bactérien : formé du chromosome bactérien, un constituant essentiel et de plasmides différents qui peuvent être présents en plusieurs copies.

- Support de l'information génétique.
- ADN bicaténaire libre dans le cytoplasme et **circulaire = particularité du génome bactérien.**
- Présence d'histone-like (particularité bactérienne). Pas d'histone.

1. Mise en évidence

Microscope photonique : après hydrolyse de l'ADN avec un microscope à contraste de phase.
Difficile de localiser l'ADN car il est libre dans le cytoplasme.

2. Structure de l'ADN

Une bactérie comme *E. Coli* mesure environ 2 μm , si on déplie son ADN il mesure 1360 μm de long.

L'ADN est très condensé dans le cytoplasme.

Il existe certaines bactéries qui ne possèdent pas de génome circulaire mais un génome sous forme linéaire comme par exemple *Borrelia burgdorferi* responsable de la maladie de Lyme transmise par les tiques qui peut évoluer vers des pathologies neurologiques.

La taille du chromosome est plus petit que celui eucaryote. Il fait environ 4 Mb, 650 fois moins que le génome humain. Cependant le nombre de gènes codés n'est que 10 à 15 fois inférieur à ceux codés dans le génome humain.

Très peu d'espace intergénique par rapport au génome eucaryote et pas de splicing alternatif.

Ce n'est pas tant le nombre de gène qui importe mais plutôt le nombre de combinaison possible. Le nombre de combinaisons possible pour un gène est donné par :

n^x combinaison possible avec x = le nombre de combinaisons et n le nombre de gène.

Plus il y a de gènes plus il y a de combinaisons possibles.

Ce n'est pas tant la taille du génome qui fait la diversité mais **la complexité de son expression.**

→ *E. Coli* : $4,7 \cdot 10^6$ Pb = 2200 gènes.

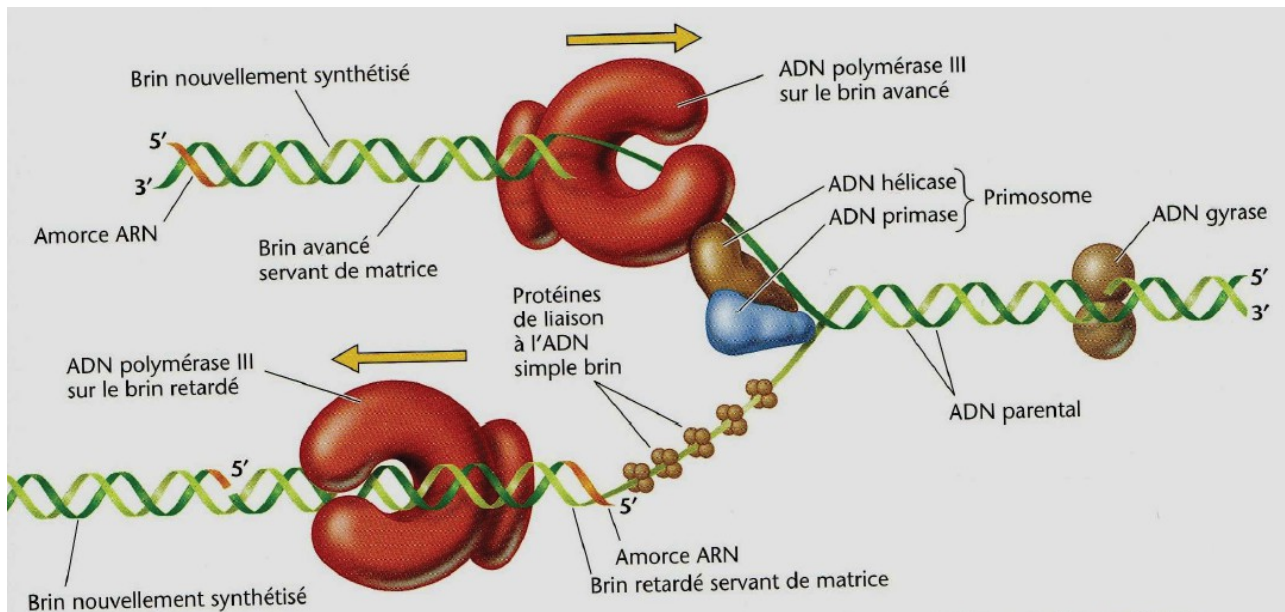
La particularité du génome bactérien est qu'il soit superenroulé, avec des enzymes particulières qui rendent accessible le génome pour la transcription et la traduction.

Ces enzymes sont des topoisomérases qui coupent l'ADN. La topoisomérase 1 coupe 1 brin alors que la topoisomérase 2 va couper 2 brins et est aussi capable de retordre l'ADN.

Elles sont indispensables car l'ADN est supercondensé et serait inaccessible si elles n'étaient pas

présentes.

3. Réplication chez les Procaryotes



La réplication fait intervenir une enzyme majeure qui est l'**ADN polymérase III**.

En amont on trouve deux enzymes particulières : une hélicase et une primase formant le **primosome**.

- L'hélicase est une topoisomérase, elle permet l'ouverture de la double hélice.
- Sur le brin retardé on a besoin d'une amorce, **les fragments d'Okazaki**, qui sont nécessaires à la synthèse d'ARN *de novo* sans aucune matrice au départ. Ces fragments sont synthétisés par la primase.

Il n'y a pas d'histone mais il y a quand même des protéines de liaison à l'ADN simple brin, les **protéines SSB**. Sans ces protéines l'ADN serait très vulnérable à la destruction.

L'ADN gyrase = topoisomérase II, servant à dérouler le chromosome est propre des procaryotes et est la cible de nombreux antibiotiques (AB) comme les quinolones ou les fluoroquinolones. Ces AB inhibent l'action de cette enzyme et empêchent ainsi la réplication de la bactérie. (Attention ce type d'antibiotique ne va pas agir en tuant la bactérie mais bien en inhibant sa multiplication.).

Des mutations dans la séquence du gène codant pour l'ADN Gyrase conduisent à des résistances aux antibiotiques.

La ligase recolle les fragments notamment sur le brin retard.

La réplication est dite semi conservative dans le cas du chromosome, mais ce n'est pas toujours le cas pour les plasmides.

La réplication d'une bactérie est **bidirectionnelle** avec une fourche de réplication des deux cotés. Important pour la bactérie, avec une zone d'origine de réplication pour un chromosome et à l'opposé une zone de terminaison de la réplication : les 2 fourches se rejoignent. On appelle cela un œil de réplication.

4. Rôles de l'ADN

Ces chromosomes vont coder pour :

- des ARN ribosomiques
- des ARN de transfert
- des ARN messager

Rôle de la division cellulaire : La réplication d'un chromosome est réalisée en parallèle à la synthèse de la membrane et de la de paroi.

→ L'ADN polymérase tourne a raison de 1 Kb/s.

→ Un chromosome se réplique en une quarantaine de minutes.

→ E. Coli fait une division en 20 minutes. L'ADN va accumuler **des origines de réplication**, des réplifications vont s'initier avant même que la première soit terminée. En 40 minutes on a donc presque 3 générations.

On peut avoir des cellules polynucléées avec un nombre de copies beaucoup plus important qu'avec des cellules mononucléées.

Cela va entraîner un problème majoritaire qui est celui des erreurs de réplication = **mutation**.

Pendant la synthèse on va avoir des mésappariements qu'il va falloir réparer.

L'ADN polymérase III a une activité exonucléase 3' → 5', s'il y a une erreur, elle est capable d'aller dégrader son erreur. On estime le nombre d'erreur à : **1 erreur toutes les 10⁹ pb.**

Malgré des systèmes de réparation il reste toujours des erreurs.

Systèmes de réparation dit des « mésappariements » :

Situation normal _____ A _____

 _____ T _____

Situation anormal _____ A _____

 _____ C _____



Conduit à des déformations de l'ADN

Le problème est de savoir sur quel brin est situé l'erreur. Quel est le brin matrice ? Quel est le brin néo synthétisé ?

L'ADN est **méthylé** sur des séquences particulières, qui sont des **séquences GATC**. Le brin qui est méthylé est celui d'origine. Le brin néo synthétisé n'est pas encore méthylé.

A partir du moment où il y a une erreur, reconnaissance grâce à la méthylation du brin qu'il faut conserver et du brin qu'il faut dégrader jusqu'à l'endroit où est située la mutation.



Méthylation des 2 brins = protection

Mésappariement pendant la réplication



Mut S liaison à la paire de bases incorrecte

MutH progresse fl base méthylée

MutS se lie à MutH

MutL coupe le brin non méthylé



Hélicase + exonucléase éliminent le fragment d'ADN

ADN polymérase I + ligase ajoutent le fragment correct



L'ADN pol I vient dégrader l'ADN jusqu'au problème et re-synthétise derrière comme un Pacman quoi.

(Les points rouges représente la méthylation du brin).

Système SOS :

C'est un système d'urgence, lorsque la bactérie est agressée sur son ADN (qui est caractérisée par une quantité importante d'ADN sous forme simple brin) par des UV, agents mutants, il y a une « alarme » qui s'allume signifiant qu'il faut réparer.

Quand le système de réparation classique est dépassé il y a mise en place d'un système de réparation qui va laisser passer des erreurs mais qui va polymériser un maximum afin d'éviter la mort de la bactérie.

Le rôle du systèmes SOS n'est pas tant de réparer les erreurs ayant eu lieu lors de la transcription mais bien **d'éviter la mort de la bactérie.**

Des agents mutagènes peuvent mutées complètement les cellules.

Les protéines mise en jeu sont les protéine RECa et LEXA.

Les mutations retrouvées dans le génome sont intrinsèques.

5. Application à la Taxonomie

Le GC% : permet de savoir si on est dans les mêmes filiations :

- même espèce = même GC%, relativement stable pour une bactérie.
- même GC% mais séquences différentes : souches génétiquement très différentes.

Si le GC% est très différent entre deux bactéries d'une même espèce, cela peut provenir d'une autre bactérie qui a donné une partie de son ADN : origine exogène

Taille du génome : renseigne sur l'évolution du génome qui n'est pas toujours un gain car certaine bactérie utilise les gènes de son hôte pour pouvoir se développer.

C'est une adaptation.

Séquençage du génome:

2 souches sont considérées de même espèce si leur % d'hybridation ADN/ADN (appariement) est supérieur ou égale à 70%. Argument d'épidémiologie et de phylogénie important.

Echerichia Coli et *Shingella* sont des espèces extrêmement proches, leur appartenance à deux espèces différentes est due à quelques gènes mais leur génome est homologue à plus de 90%. Ils appartiennent tout deux à la même famille : les entérobactéries.

Rôles des mutations : permet à la bactérie de s'adapter, cependant une mutation ne conduit pas forcément à un changement.

Détection des gènes : Par exemple savoir si le staphylocoques possède le gène Mec A ce qui signifie que la bactérie serait résistante à la méticilline.

Ces études se font principalement grâce à la PCR, il est donc nécessaire de connaître la séquence afin de pouvoir produire les amorces.

- Techniques des puces à ADN

Techniques d'hybridation utilisées en lien avec les données du séquençage pour mesurer l'expression des gènes.

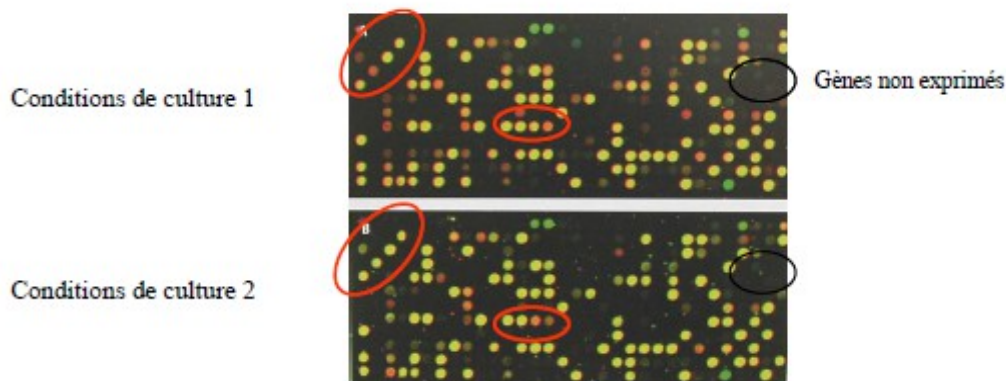
Synonymes : biopuces, microarrays, DNA chips, puces génomiques en bactério en développement.

C'est un outil de diagnostic : en effet une sonde qui s'accroche à un gène synthétisant une toxine permet de voir si une souche a le gène ou pas. Il permet de détecter des gènes de résistance ou de virulence, de comparer des génomes entiers...

Développement de tests d'identification basés sur la caractérisation du matériel génétique (rapides, sensibles, spécifiques).

Les puces sont caractérisées par une très forte densité par rapport à la taille (300 000 spot d'ADN sur 1 cm²). Des amorces sont déposées dans chacune des cases. Si une bactérie a 3 000 gènes, on peut déposer l'équivalent de la séquence de 300 bactéries sur une seule puce. Ces puces marchent aussi pour les gènes humains. La lecture se fait par ordinateur qui reconnaît quelle séquence correspond à chaque case.

L'intérêt est aussi de faire de la transcriptologie (analyse du transcriptome): on extrait les ARN, on fait un cDNA, ce cDNA va aller s'hybrider sur la puce. Ce cDNA est fluorescent et va aller s'hybrider sur le gène correspondant à sa case. Plus l'intensité sera forte, plus cela signifie que le gène est exprimé. Le passage de l'ARN au cDNA se fait grâce à une reverse transcriptase (ADN polymérase ARN dépendante), la quantité de cDNA produite est proportionnelle au nombre d'ARN car il y a dégradation de l'ARN après transcription.



II. LES PLASMIDES

1. Définition

Les plasmides sont des petits fragments d'ADN bicaténaires circulaires extrachromosomiques se répliquant de manière autonome (réplicons). Ils sont beaucoup plus petits que le chromosome bactérien.

Ils ne sont pas indispensables à la survie de la bactérie (contrairement au chromosome bactérien).

2. Propriétés

- Certains plasmides peuvent s'intégrer au génome bactérien, dans ce cas, leur répllication est dépendante de la répllication du génome bactérien. Parfois aussi il s'intègre mais ressort au moment de la répllication, il y a alors un équilibre qui s'installe.
- Peu ou pas d'homologie avec la séquence chromosomique. En effet on peut distinguer les deux types d'ADN en fonction du %CG. Ils ont leurs propres origines de répllications.
- Taille : 0,5 à 600 kpb, $3 \cdot 10^6$ à 10^8 daltons.
 - ➔ On constate que plus un plasmide est petit, plus il sera présent (jusqu'à une cinquantaine). Alors qu'un gros plasmide ne figurera qu'en un seul exemplaire par cellule.

- Nombre réduit de gènes codants des fonctions utiles mais non essentielles aux activités cellulaires normales.
- Transmission verticale et horizontale (transferts génétiques), soit entre même espèce ou entre deux espèces différentes peu éloignées. Pour l'évolution et la plasticité génomique, les plasmides jouent un rôle non négligeable.

Lors d'une migration sur gel d'un plasmide, on observe 3 bandes:

- Cercle ouvert (OC= open circle) le plasmide est coupé sur un brin, très lâche donc freiné dans le gel :
- Linéaire (L) le plasmide est coupé sur les 2 brins
 - Ces deux formes sont ex-vivo
- Surenroulé (SC = super coiled)
 - Forme in vivo

Différentes sortes de plasmides peuvent être hébergées par une même cellule, ils doivent cependant être compatibles.

Classifications :

- selon le nombre et la nature des gènes portés
- selon la taille (analyse par électrophorèse en présence de BET)
- cartographie et séquençage
- selon le mode de régulation de la réplication
- selon l'appartenance aux groupes d'incompatibilité (groupe Inc): certains plasmides ne peuvent pas être présents ensemble.

3. Réplication des plasmides

- Modèles de réplication nombreux
 - o Bidirectionnel : structure papillon
 - o Unidirectionnel : modèle du cercle roulant (structure sigma) courant chez G+

Modèle du cercle roulant : un brin à partir d'une origine, va passer dans l'autre cellule. On a alors deux plasmides simple brin dans deux cellules. Il va y avoir synthèse du brin complémentaire dans un deuxième temps. La réplication est unidirectionnelle.

- Élimination des plasmides = Curage des plasmides (spontané ou artificiel)

4. Fonctions

Les plasmides n'ont pas de fonctions vitales mais modifient largement le comportement de la bactérie.

- Produits des gènes liés à la virulence :
E.coli entéropathogène : facteur d'adhésion

Staphylococcus aureus : entérotoxine

Clostridium tetani (tétanos) : toxine tétanique (seuls les bactéries possédant le plasmide codant pour la toxine tétanique sont virulents).

- ◆ Porteurs de gènes de résistance aux antibiotiques : plasmides R
- ◆ Porteurs de gènes de bactériocines (peptide antimicrobien synthétisé par certaines espèces pour se débarrasser des autres espèces): colicine.
- ◆ Plasmides métaboliques porteurs de caractères qui permettent une adaptation des bactéries à l'environnement (adhésion, détoxification...).
- ◆ Porteurs de transposons (éléments génétiques mobiles qui vont aller s'insérer dans le génome).
- ◆ Transfert génétique par :
 - Transformation
 - Conjugaison

Cette notion sera revu plus en détails dans un prochain cours

La tuberculose

Les deux agents les plus connus sont *mycobactérium tuberculosis* et *Mycobactérium bovis* (il n'est pas pathogène mais c'est celui utilisé pour le BCG). Dans la même famille il y a *mycobacterium leprae* (agent de la lèpre) ;

Mycobactéries du complexe tuberculosis :

MYCOBACTERIA		<u>genres apparentés</u>
1 seul genre	<i>Mycobacterium</i>	<i>dt</i>
- <i>Mycobacterium</i> c.t.	4 espèces (identité génomique) <i>tuberculosis</i> <i>africanum</i> <i>bovis</i> (<i>dt souche vaccinale BCG</i>) <i>microti</i> (non pathogène pour H)	<i>Corynebacterium</i> <i>Nocardia</i>
- Mycobactéries atypiques	(Mycobactéries du complexe aviaire MAC) <i>M. avium, intracellulare</i> 60 espèces dont <i>M. kansasii, marinum, xenopi</i>	
- <i>Mycobacterium leprae</i>		

C'est une maladie qui revient malgré l'existence du vaccin (il est efficace mais pas à vie). On n'en meurt pas car on la soigne bien, mais il y a beaucoup de cas.

C'est une bactérie qui va être essentiellement intracellulaire, elle reste dans les macrophages.

Lecture d'un cas clinique :

Madame C., 24 ans, enseignante afro-américaine a récemment perdu 10% de son poids. Elle a des sueurs nocturnes et se sent fiévreuse. Elle a une toux associée à des crachats verdâtres et sanglants. Son médecin détecte une tuberculose pulmonaire. Il prescrit un test à la tuberculose. (Petite injection sur le bras) 48h après madame C. a une réaction cutanée très fortement positive avec un épaissement de la peau et une rougeur au niveau du site d'injection. Le médecin l'oriente vers le site de santé local où le diagnostic des poumons est confirmé par une radiographie des poumons et par la présence de bacilles acido-alcoles résistants sur le frotti de crachat coloré. L'interrogatoire révèle qu'entre l'âge de 10 et 12 ans elle a vécu avec une tante, maintenant décédée, qui aurait eu la tuberculose. Madame C. s'inquiète de sa santé et se demande si elle peut continuer à enseigner. Par ailleurs, son mari et elle projettent d'avoir un bébé bientôt. Mais elle craint les conséquences de la tuberculose sur la grossesse et sur l'état de son bébé. Son médecin la rassure et lui prescrit un antibiotique par voie orale d'une durée de plusieurs mois. Une fois le traitement débuté, elle peut reprendre l'enseignement et planifier sa grossesse.

On remarque qu'elle a 24 ans, elle a attrapé la tuberculose à 12 ans. Elle a pendant 10 ans eu la tuberculose sans le savoir. Elle était en tuberculose latente. Lorsqu'elle tousse, elle devient alors contagieuse. La prise d'antibiotiques va lui permettre de ne plus tousser, donc de ne plus être contagieuse, elle reste cependant toujours contaminée.

I. HISTORIQUE

Découverte du bacille de Koch en 1882 par Robert Koch.

Maladie transmissible d'homme à homme.

C'est une maladie liée à la promiscuité.

Avant l'apparition des traitements on mettait les malades dans des sanatoriums. Afin de prévenir de la maladie on préconisait à la population de respirer le grand air et de ne pas rester dans des pièces cloisonnées, de ne pas respirer par la bouche mais plutôt par le nez. Les antibiotiques et les antidouleurs ont permis efficacement de juguler la maladie.

Dans les pays occidentaux :

- L'amélioration des conditions de vie et d'hygiène a permis de diminuer l'incidence de la maladie.
- 1943 1er Traitement disponible : la streptomycine (Waksman)
 - o Une mauvaise observance des antibiotiques entraîne l'apparition de phénomènes de résistance.
- La vaccination n'est plus obligatoire en France, mais dans certaines zones de promiscuité les politiques redemandent une vaccination (des foyers de tuberculoses sévissent en région parisienne et dans le Nord de la France). Le vaccin n'est pas efficace à 100% mais il n'est pas dangereux et permet quand même de réduire significativement le développement de la maladie.

Dans les pays en voie de développement :

- Pas de diminution de l'incidence
- Endémie tuberculeuse : problème de santé public+. La première cause d'infection est liée aux mauvaises conditions de vie et au manque d'hygiène. Ainsi la tuberculose est très présente dans les pays en voie de développement, mais aussi dans les zones de grandes pauvretés des pays occidentaux.

En 1985, on observe une recrudescence de la maladie dans les pays développés liée à l'émergence du SIDA. Aux USA, apparaissent des souches multirésistantes.

OMS 2004 (dernier rapport) : quelques chiffres

- **Infection : 1,8 milliards infectés** (1/3 population)
- Maladie : 10 millions de cas TB dans le monde avec 2/3 dans PVD
2 millions de morts/an (VIH 2006 2,9 millions morts)
6000 cas/an en France (région parisienne +++, Guyane) (5588 cas en 2009)

C'est énorme ! Ce qui est alarmant c'est qu'on peut prévenir la maladie et on sait très bien la traiter (100% de succès).

Population touchée :

- Immigrés
- Vie en grande précarité
- Immunodéprimés
- Résidents de certaines collectivités (prisons)
- Adulte > 65 ans

II. TRANSMISSION

La contamination se fait par voie aérienne principalement.

L'homme est le réservoir et l'agent de transmission. C'est aussi le cas de l'animal domestique mais cela reste marginal.

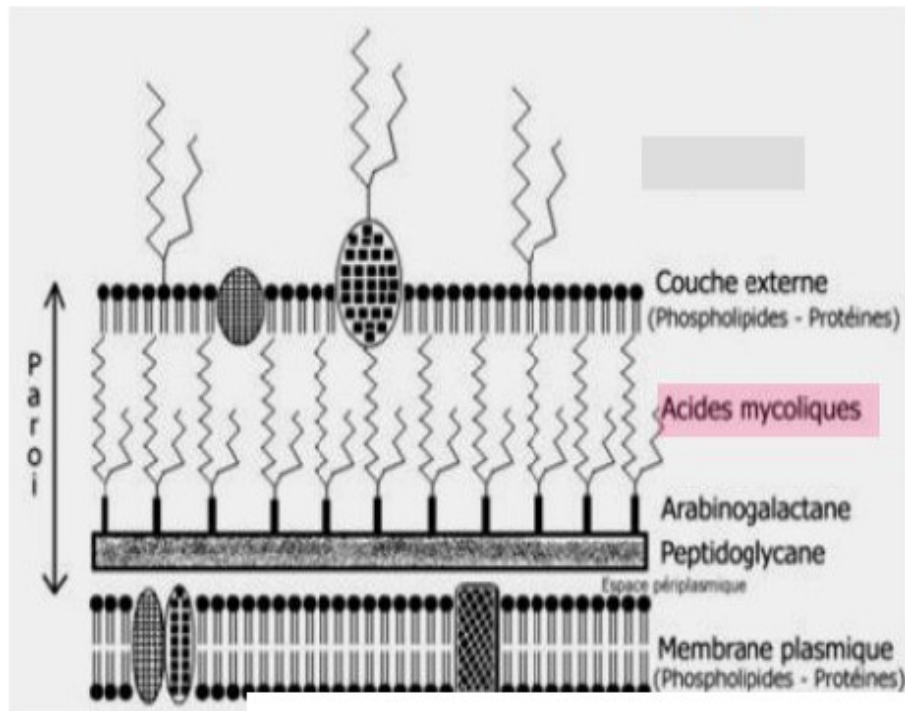
La bactérie possède une paroi à acides mycoliques.

Petit aparté dans le chapitre sur la tuberculose : **Les mycobactéries**

Les mycobactéries ne sont ni GRAM + ni GRAM - ; elles sont cependant plus proches des bactéries GRAM + car elles ne possèdent pas de membrane externe.

La paroi des mycobactéries est constituée d'une membrane plasmique et d'une paroi d'acides mycoliques légèrement greffés sur les peptidoglycanes et une monocouche de phospholipides qui forme la paroi des mycobactéries. Cette monocouche est extrêmement étanche. C'est cette paroi qui confère aux mycobactéries leur propriété acido-alcalo résistante. Elles peuvent survivre des mois dans un environnement en dessiccation. Cette couche est aussi étanche aux

nutriments (temps de division extrêmement lent). Ils peuvent survivre 10 ans dans les macrophages (oxydant et pH acide) grâce à cette membrane. Les mycobactéries ne prennent pas la coloration de Gram, mais on peut les colorer grâce à un protocole qui par chauffage augmente la perméabilité de la paroi ; c'est la coloration de Ziehl-Neelsen.



En laboratoire (au moins P2+, c'est à dire que les risques sont modérés pour la personne et faible pour la collectivité), énormément de techniciens sont atteints de la tuberculose. Les cultures ne se font qu'en tube avec des protocoles très particuliers pour éviter au maximum toute contamination.

Propriétés particulières de la bactérie :

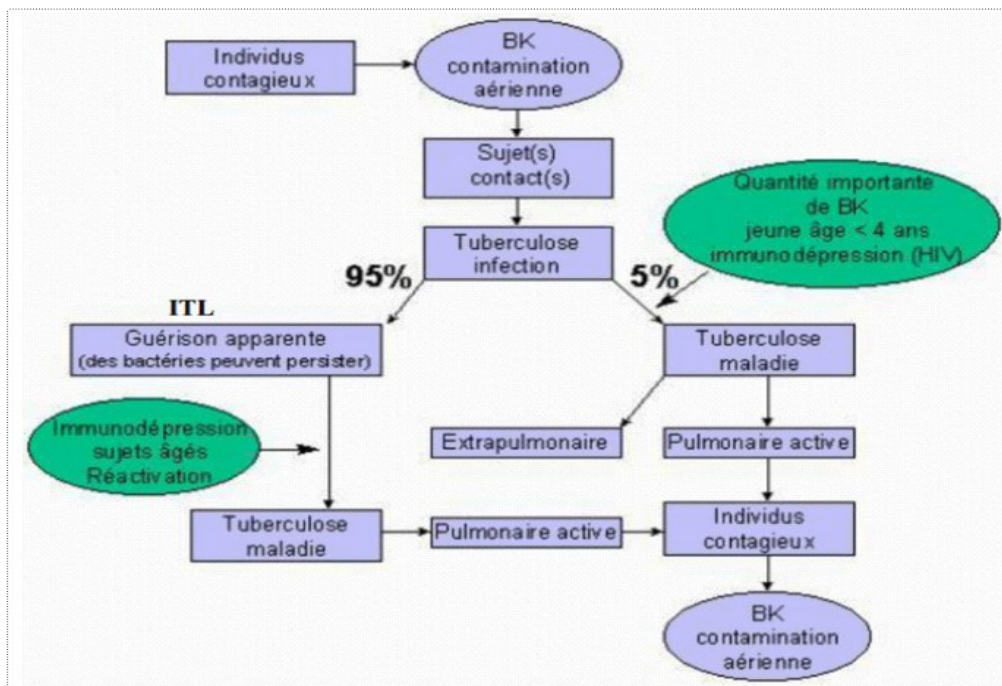
- Paroi acides mycoliques
- Survie et X dans les macrophages
- Bactérie Intra et extracellulaire (on ne sait pas encore les cultiver, certaines bactéries telles que la lèpre en dehors d'un organisme).

C'est une réaction immunitaire spécifique qui fait que lorsque l'on est vacciné on est positif au test de la tuberculose alors que l'on est pas infecté.

On distingue deux types de maladies :

95% à **Infection tb latente** : asymptomatique/bactéries quiescentes dans les macrophages.

5% **Tb maladie** : c'est très rare de déclencher la maladie lors d'une primo-infection : symptômes 50% des cas dans les deux ans, enfants, immunodéprimés, HIV, exposé à une très grande quantité de bacille de Koch... ou plusieurs années après la contamination.



Le passage de la tuberculose latente à la tuberculose maladie est liée à un élément déclencheur (plus ou moins marqué) : immunodépression, âge, réactivation (par contact avec une personne atteinte).

La tuberculose pulmonaire est la plus fréquente mais aussi la plus contagieuse (à cause des expectorations) mais il existe aussi de nombreuses formes de tuberculose extrapulmonaire (surtout chez les immunodéprimés). Lors d'une infection, les ganglions vont s'enflammer un peu partout dans le corps et former des tubercules.

Historiquement, les gens atteints du VIH développaient des tuberculoses (qui n'étaient même pas mycobactériennes) sur des personnes assez jeunes. Ils avaient des tuberculoses milliaires un peu partout sur le corps.

III. LES SIGNES CLINIQUES DE LA TUBERCULOSE MALADIE

Maladie à déclaration obligatoire = TB maladie (depuis 1964)
 (et ITL chez enfant < 15 ans)

Signes cliniques généraux :

quelque soit la localisation : **fièvre et sueurs nocturnes, amaigrissement, anorexie.**

1. La tuberculose pulmonaire

Signe clinique : toux, état général altéré.

Exam : radiographie pulmonaires : les cellules vont se regrouper pour former des cellules géantes, puis se lyser pour former des cavernes, surtout dans le haut du poumon (la partie la plus oxygénée). Les séquelles sont irréversibles contrairement à une simple pneumonie bactérienne pour laquelle on aura des tissus cicatriciels.

La détection du M. Tuberculosis dans des sécrétions bronchiques permet de déterminer avec certitude la maladie.

Maladie bacillaire contagieuse +++ à isolement

2. Les formes extra-pulmonaires

Infection préférentielle de tissus riches en O₂ (Bactérie aérobie stricte) mais diffusion hématogène ou lymphatique possible, elle peut potentiellement atteindre tous les organes.

- Iliaire
- Osseuse
- Méningite
- Rénale
- Hépatique

Maintenant quelques idées :

Tatouage :



Culinaire :



Petite prescription spéciale pour ma Chacha :
– 1 homme® (ça vaut bien les dieu du stade)
ci joins la notice

L'homme est recommandé pour toutes les femmes en général. Il est très efficace dans la plupart des cas de mélancolie, de découragement, d'anxiété, d'irritabilité, de mauvaise humeur et d'insomnie.

DOSAGE ET POSOLOGIE

L'homme peut être utilisé facilement deux ou trois fois par semaine et même plus. Si les symptômes ne disparaissent pas rapidement, la dose peut-être augmentée à volonté. L'homme peut aussi être utilisé de manière externe ou interne selon les besoins.

PRÉSENTATION

L'homme est offert en plusieurs formats destinés à répondre aux différents besoins et goûts : Mini, Midi, Max i et même Méga.

PRÉCAUTIONS

IMPORTANTES

Conserver l'homme hors de portée des amies, sœurs, voisines, collègues et autres personnes souriantes et bien intentionnées qui peuvent endommager le produit. Manipuler avec soin : l'homme explose facilement sous la pression, en particulier en association avec l'alcool. Il est également déconseillé de l'utiliser immédiatement après les repas.

EFFETS

SECONDAIRES

L'utilisation inappropriée de l'homme peut entraîner la grossesse ou un excès de jalousie. L'utilisation concomitante d'autres produits de la même espèce peut aussi provoquer des vertiges, de la fatigue chronique et, dans les cas extrêmes, des crises de nerfs. L'utilisation excessive de l'homme peut par ailleurs produire des douleurs dans les hanches ou l'abdomen, des entorses, des raideurs musculaires, des blessures de divers types et des sensations de brûlures dans la région pelvienne.

DATE

D'EXPIRATION

Le numéro de lot et la date de fabrication apparaissent sur la carte d'identité et la carte de crédit. Notez que l'homme existe sur le marché en plusieurs marques de contrefaçon dont l'effet est totalement opposé, c'est-à-dire qu'en plus de ne pas être efficace dans le traitement, il aggrave les symptômes et empire la situation.

INSTRUCTIONS

GÉNÉRALES

Lors de l'ouverture du paquet, dans tous les cas ne jamais afficher un air déçu. Cela va immédiatement influencer très négativement sa qualité et son efficacité. Un air très heureux, ébloui ou apeuré produit à chaque fois un impact très positif sur son bon fonctionnement. Pour l'activer, le port d'un décolleté, une petite remarque suggestive, des petits bisous sur le cou ou de légers mouvements lascifs du buste du postérieur suffisent généralement. Recharger les batteries trois fois par jour : déjeuner, dîner et souper. Plus que cela peut provoquer des effets indésirables tels le sommeil, l'épuisement, ou des troubles érectiles. L'encourager souvent pour le garder en bon état.

GARANTIE

L'homme n'a pas de garantie. Tous les modèles sont sujets à des défauts d'usine comme critiquer, se plaindre, boire beaucoup, laisser des serviettes humides sur le lit et des chaussettes sales sous le lit, manger de l'ail et des oignons, oublier les dates d'anniversaire, ronfler. Il peut être avantageux de renouveler le modèle lorsque le fonctionnement est trop altéré.