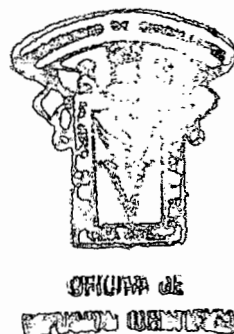


---

# UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

---

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



CONTRIBUCION AL ESTUDIO DE LA MICROBIOTA BACTERIANA  
OCULAR Y NASAL EN AVES DE ENGORDA  
APARENTEMENTE SANAS.

---

TESIS PROFESIONAL  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA  
P R E S E N T A  
SALVADOR VAZQUEZ VELAZQUEZ  
DIRECTOR DE TESIS  
M.V.Z. JAVIER SANCHEZ ARIAS  
ASESOR DE TESIS  
M.V.Z. ALBERTO VAZQUEZ GARCIA  
GUADALAJARA, JAL. MARZO 1994

---

Entonces dijo Dios: Hagamos al hombre a nuestra imagen, conforme a nuestra semejanza; y señoree en los peces del mar, en las aves de los cielos, en las bestias en toda la tierra, y en todo animal que se arrastre sobre la tierra. Y creo Dios al hombre a su imagen, a imagen de Dios lo creo; varón y hembra los creó

## MI AGRADECIMIENTO SINCERO

### DIOS ES AMOR

Yo conozco que todo lo puedes, y que no hay pensamiento que se esconda de Ti. ? Quien es el que oscurece el consejo sin entendimiento ?.

Por tanto yo hablaba lo que no entendía; cosas demasiado maravillosas para mi, que yo no comprendía.

Oye, te ruego, y hablaré; te preguntaré y Tu me enseñaras, de oídas te había oído; mas ahora mis ojos te ven.

Encomienda a Jehová tu camino, y confía en El y El hará. Guarda silencio ante Jehová, y en El.

Nosotros le amamos a El, por que El nos amó primero. Y todo aquel que tiene esta esperanza en El, se purifica así mismo, así como El es puro.

A mis Padres que con tanto amor y perseverancia me han apoyado en todo, gracias por su confianza, su dedicación, desvelos, su esfuerzo.

Guarda hijo mió el mandamiento de tu padre, y no dejes la enseñanza de tu madre. Atalos siempre en tu corazón, por que el mandamiento es lámpara, y la enseñanza es luz.

Ustedes que me brindaron la dicha de nacer son mi razón para existir que Dios los Bendiga.

J.MANUEL. V. Y AMELIA V.

A mis hermanos por su amor y comprensión su ayuda y apoyo, que Dios los bendiga y los guarde. GLAFIRA, ANTONIO, ARCELIA AMELIA, RAMÓN, L.MANUEL. ANA ISABEL ERNESTA Y ALEJANDRA.

A mi director y asesor de Tesis  
M.V.Z. Javier Sánchez Arias  
M.V.Z. Alberto Vazquez García  
por su confianza e incondicional  
apoyo en este trabajo.

Al M.V.Z. Ricardo Cervantes  
por su ayuda y consejos in-  
condicionales en la realiza-  
ción de este trabajo.

A los Doctores: Luis Villa,  
Minerva Soto y ala Q.F.B.  
Cristina Moran S. Por su  
ayuda brindada para la ela-  
boración del presente trabajo

Al M.V.Z. Fco. Javier Lagos  
y ala empresa Mr. Pollo por  
haberme permitido las faci-  
lidades para la investiga-  
ción de este trabajo.

Al M.V.Z. Jose L. De la Torre  
y al laboratorio de bacteriología  
de la F.M.V.Z. con su personal que  
de una u otra forma colaboraron  
para la realización de este trabajo.

A mis amigos, compañeros y  
maestros. Gracias por sus  
enseñanzas, ayudas y el apo-  
yo brindado para mi  
formación.

A mi amigo y compañero  
Jose Luis Aguilar B. por  
su incondicional ayuda y  
colaboración para la reali-  
zación de esta Tesis.

A la escuela:  
Lauro Aguirre (Comalillo Gto)  
Urbana 196 T/V  
Secundaria Técnica # 40  
Preparatoria # 3  
Facultad de Medicina Veteri-  
naria y Zootecnia.  
Y a la Universidad de Guada-  
lajara, que me permitió ser  
miembro de esta honorable  
casa de estudios.

## **CONTENIDO**

	<b>PÁGINA</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>Y</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	<b>4</b>
<b>JUSTIFICACIÓN</b>	<b>5</b>
<b>HIPÓTESIS</b>	<b>6</b>
<b>OBJETIVOS</b>	<b>7</b>
<b>MATERIAL Y MÉTODO</b>	<b>8</b>
<b>RESULTADOS</b>	<b>10</b>
<b>DISCUSIÓN</b>	<b>16</b>
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>18</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>19</b>

## RESUMEN

En la actualidad se desconoce la presencia de colonias bacterianas aeróbicas existentes en la mucosa conjuntival y nasal de las aves de engorda. Motivo primordial de la presente investigación; para lo que fue necesario identificar y establecer porcentajes de gérmenes bacterianos, con el propósito de tener evidencias y dar un parámetro en nuestro medio.

Se determinó la microbiota bacteriana existente en mucosa ocular y nasal en aves de engorda.

Se realizó un estudio bacteriológico en 100 aves de engorda, se tomo una muestra directamente de la mucosa nasal y ocular de la aves, se llevó al laboratorio de microbiología de la F.M.V.Z de la U.DE.G. Se encontraron 5 diferentes Géneros; Staphylococcus sp 42.5%, Micrococcus sp 18.6%, Enterobacterias sp 31.8%, Pseudomonas sp 6%, Acinetobacter sp 1.1%, y 26 especies de las cuales el mayor porcentaje fue Staphylococcus gallinarum 26.9%, Staphylococcus xylosus 19.1%, Enterobacter agglomerans 19.1%, E.coli 16.8%, Micrococcus varians 7.8%, Citrobacter diversus 6.7%, Pseudomonas aeruginosa 3.3%. Se concluye que la E.coli se encontró en las 3 etapas de la aves estudiadas.

Se proponen mas estudios sobre las mucosas de las aves.

## INTRODUCCIÓN

El hablar de la producción avícola es obtener una cantidad máxima de carne y huevo al menor costo posible. Estos dos productos poseen un alto valor nutritivo. Hace pocos años la explotación de aves se hacía en forma rústica. Consistía en tener unas pocas gallinas con un gallo, en estado de libertad alrededor de la casa habitación, su alimentación básica era lo que podían obtener de su medio natural, más un poco de grano suministrado por el propietario.

En la actualidad se han desarrollado razas especializadas que poseen una gran capacidad para producir huevo y carne, estos animales se explotan confinados en naves de gran capacidad, con este sistema se pueden obtener altas producciones .(4).

En la actualidad el buen éxito de la avicultura depende, en parte, de las características de valor económico que presentan las aves. Los mejores resultados se obtienen con aquellos que combinan características de raza con una buena aptitud para la producción de carne y de huevo .(9).

Así mismo, la medicina preventiva es el unico método racional para el manejo sanitario de la avicultura intensiva de nuestra época, cuando una granja de aves duplica su población, las posibilidades de enfermedad se cuadruplican. La clave de un régimen sanitario en avicultura, comprende la obtención de pollos exentos de enfermedad, atención esencial a los cuidados

como son; higiene, vacunación, medicación, adecuada nutrición y un aislamiento y saneamiento rigurosos; como son: cambiar cama y limpiar, desinfectar a fondo los locales y el equipo en cada grupo de aves, es una industria que requiere gran eficiencia y alta tecnología para el logro de buenos resultados .(14,16).

Por muchas razones el hombre se ha dado a la tarea de aprender a cuidarlas y protegerlas, de la variedad de enfermedades que fastidian a los órganos de los sentidos, por ejemplo el de la visión y olfato, siendo de los más importantes para esta especie animal, ya que su existencia depende de ellos .(17).

En las aves domésticas el olfato esta poco desarrollado. El nervio o fascículo olfatorio se ramifica en la mucosa del cornete dorsal y del tabique nasal, pero la región olfatoria queda reducida a una pequeña parte de la mucosa nasal .(15).

La fisiología de la cavidad nasal en el ave entre otras es la filtración de las partículas del aire, se ha demostrado que los cilios de la mucosa de la concha maxilar empujan las secreciones que cubre la concha nasal desembocando en la cavidad oral donde son deglutidas. La humedad del aire precedente de las glándulas nasal media y lateral es otra función. (7).

La mucosa es la que recubre el globo ocular por delante y los párpados por detrás, sufren dos tipos principales de



alteraciones inflamatorias y degenerativas. Es la estructura ocular que más presenta manifestaciones patológicas por ser la más expuesta a los agentes nocivos; Como son los agentes bacterianos, virales, micóticos, alérgicos, físicos y químicos. (9,13).

Los gérmenes que más frecuentemente causan problemas patológicos sin olvidar, que estos gérmenes son oportunistas y se presentan dependiendo de la situación existente en esa zona, en las cuales influyen una gran variedad de factores para su presentación y entre los más comunes encontramos: Staphylococcus sp, Streptococcus sp, Neisserias sp, Moraxellas sp, E.coli etc. Los más frecuentes son los Staphylococcus. Estos se transmiten por contacto directo con el germen. Las complicaciones posibles son queratitis y úlceras corneales que, se inician por erosiones de la cornea pudiendo infectarse a su vez. (9,13).

CONSIDERACIONES GENERALES: Debido a su localización la mucosa conjuntiva esta expuesta a muchos microorganismos y a otras sustancias nocivas.

Las conjuntivitis bacterianas agudas y crónicas son los tipos agudos que por lo general se vuelven crónicos, pero suelen ser autolimitadas. (6,18).

La terapia específica de la conjuntivitis bacteriana depende de la identificación del agente causal. Mientras se esperan los resultados del laboratorio, se debe empezar de inmediato la terapéutica general y la local después de haber estudiado el material obtenido del ojo. (1,2,12).

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las aves de corral son afectadas por diversas enfermedades que pueden ocasionar grandes pérdidas económicas, de ella dependen a menudo la diferencia entre ganancia y pérdida en la producción de huevo y carne. (4).

Estas enfermedades son ocasionadas en muchos de los casos por bacterias oportunistas que se encuentran presentes en la Microbiota transitoria normal del medio ambiente en el ave, y las cuales en un descuido del avicultor son capaces de provocar la presencia de una enfermedad con síntomas patológicos independientes, de alguna manifestación anterior y síntomas de enfermedad determinada. Así, que para poder definir si una bacteria es patógena o no en determinado grupo o sistema, es necesario analizar diversos factores; uno de estos es comprobar la existencia de bacterias que forman parte de una Microbiota obligada o transitoria normal y cuales son.

Los criterios respecto a la Microbiota transitoria normal o patógena son vagos, ya que existe poca información en relación a este problema.

## JUSTIFICACIÓN

Son abundantes las bacterias productoras de enfermedad en el mundo avícola, las enfermedades avícolas pueden ser clasificadas como contagiosas y no contagiosas.

La naturaleza, a dotado al ave con recursos para prevenir la invasión y con algunos otros factores que ayudan a reducir la frecuencia de la enfermedad, estos son tres: Secreciones, piel y mucosas. Es necesario tener conocimiento de las bacterias presentes en la granja para mejorar los tratamientos necesarios, identificando la causa y la bacteria, y como consecuencia se evitarán pérdidas habituales en las granjas obteniendo mayores ganancias y disminuyendo el porcentaje de muertes. (9,12).

## HIPÓTESIS.

En las aves al igual que en otras especies animales se cree que existe Microbiota nasal y ocular, y que probablemente en las aves está en relación con las diferentes enfermedades de estas. Por lo tanto es posible encontrar en las mucosas de las aves de engorda, Bacterias patógenas y no patógenas.

## OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL

Determinar la flora bacteriana existente en mucosa ocular y nasal en aves de engorda en diferentes etapas de desarrollo.

### OBJETIVO PARTICULAR

Determinar gérmenes patógenos aislados de la mucosa conjuntival de aves de engorda en diferentes etapas de desarrollo.

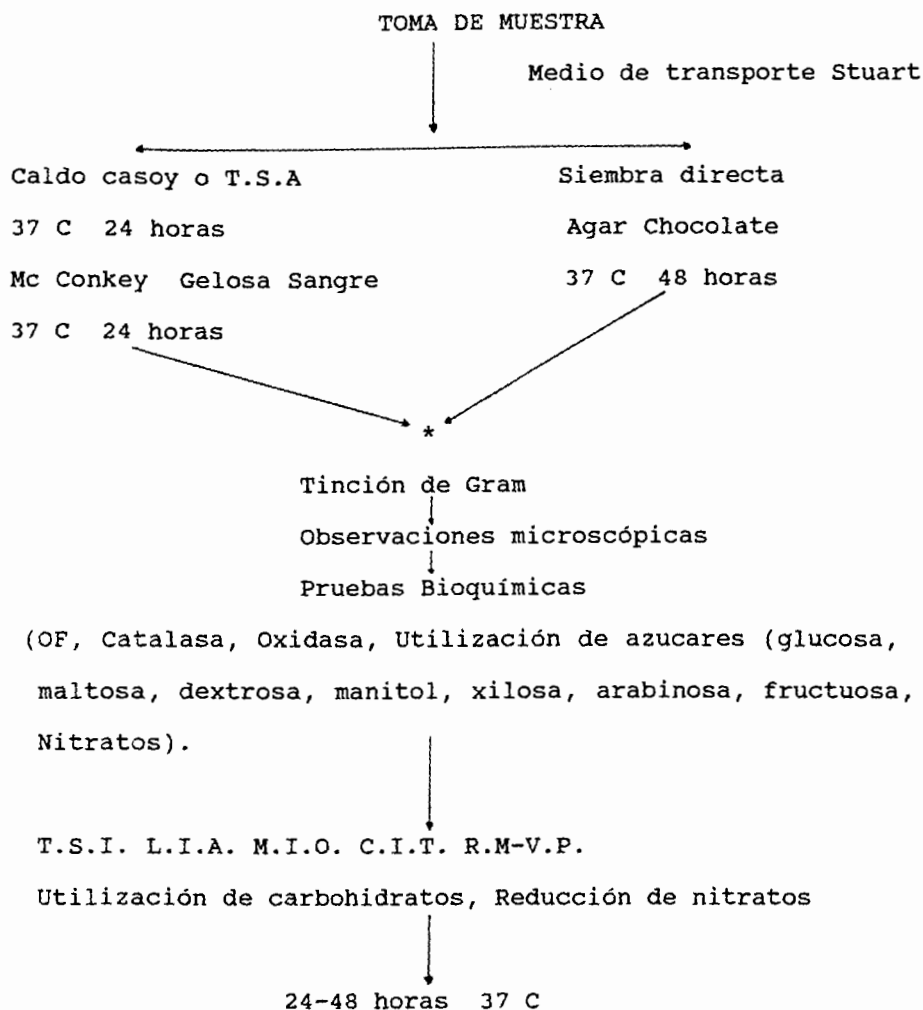
## MATERIAL Y MÉTODO

Se muestrearon al azar cien aves de diferentes granjas en la periferia de la ciudad en las diferentes etapas de producción (iniciación, desarrollo y finalización).

Estos animales aparentemente sanos se les muestreo evitando el menor stress posible para no obtener alteraciones en los resultados, se tomó una muestra de la conjuntiva nasal y otra de la ocular, y se llevó al laboratorio de bacteriología de la F.M.V.Z. Las muestras se tomaron con dos isopos estériles uno para cada mucosa, con los cuales se realizó un raspado tanto de conjuntiva ocular como nasal, tratando de evitar la contaminación lo menos posible, el isopo se introdujo en un medio de transporte Stuart, sembrándolo posteriormente en un medio de enriquecimiento caldo casoy-tripticosa, a 37 C durante 24 horas. Transcurrido este tiempo se procedió a realizar la resiembra en los medios de: Gelosa sangre, Mc Conkey, y Agar chocolate, nuevamente se metieron en incubación durante 24 y 48 horas para Agar chocolate, pasado este tiempo se observaron las cajas para determinar morfología colonial y así mismo realizar las técnicas de tinción. (3,5,11).

Se utilizaron las técnicas de Carter y las indicaciones en el manual Bergey's, y la identificación bioquímica siguiendo el esquema recomendado por la American Society for Microbiology. (10,11).

# DIAGRAMA DE FLUJO



## RESULTADOS

Los cien animales muestreados corresponden a un total de 50 hembras y 50 machos; comprendidas las 8 semanas de edad. La raza muestreada fue Arbor acres (Legor pesada), se aislaron 5 diferentes Géneros bacterianos como son: Staphylococcus 42.5%, Micrococcus 18.6%, Enterobacterias 31.8%, Pseudomonas 6%, Acinetobacter 1.1% . (Gráfica #1).

Se identificaron 26 especies diferentes, la mayor frecuencia corresponde a: Staphylococcus gallinarum (26.9%), Staphylococcus xylosus (19.1%), Enterobacter agglomerans (19.1%), E.coli (16.8%), Micrococcus varians (7.8%), Citrobacter diversus (6.7%), Pseudomonas aeruginosa (3.3%). (Gráfica #2).

En la presentación con respecto a la tinción de Gram los resultados obtenidos son; 132 Gram positivos que corresponden a un 62% y 92 Gram negativos que corresponden al 38% dando un total de 224 colonias identificadas. (Gráfica #3).

El 7.3% del muestreo presentó ausencia de Microbiota.

Los resultados encontrados en este estudio demuestran la variedad de micro organismos aislados, de las 100 muestras trabajadas. Arrojaron los siguientes resultados.



COLONIAS BACTERIANAS AISLADAS EN LA MUCOSA OCULAR Y NASAL  
EN AVES DE ENGORDA

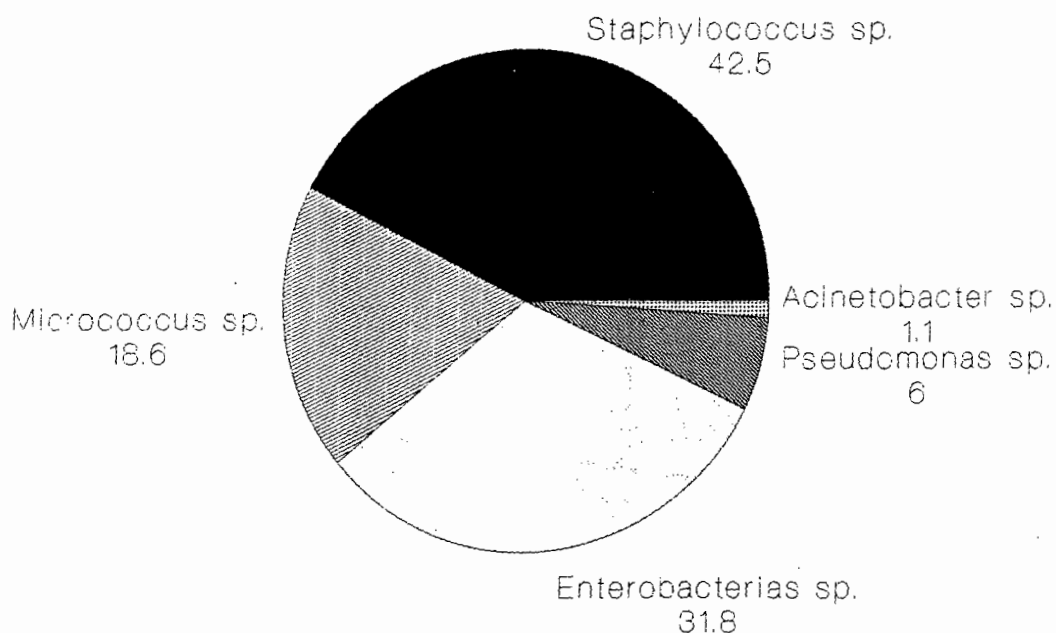
	OCULAR	NASAL
<i>S.xyloso</i>	10	8
<i>S.gallinarum</i>	15	13
<i>S.saccharolyticus</i>	2	1
<i>S.intermedius</i>	3	
<i>S.lentus</i>	3	1
<i>S.warneri</i>	1	
<i>S.auricularis</i>		1
<i>S.haemolyticus</i>		1
<i>M.varians</i>	3	6
<i>M.lentus</i>		3
<i>M.roceus</i>	1	1
<i>M.iglae</i>		1
<i>M.halobius</i>	1	1
<i>M.agilis</i>	1	
<i>E.agglomerans</i>	12	8
<i>Citrobacter</i> sp		4
<i>E.coli</i>	10	6
<i>Ps.aeruginosa</i>	2	2
<i>E.gergoviae</i>	1	
<i>P.mirabilis</i>		1
<i>C.diversus</i>	1	2
<i>C.freundii</i>	2	1
<i>P.vulgaris</i>		1
<i>Acinetobacter/Woffii</i>		1
<i>E.asburiae</i>	1	
<i>E.amnigenus</i>		1

COLONIAS AISLADAS EN MUCOSA OCULAR Y NASAL EN AVES DE ENGORDA  
EN DIFERENTES ETAPAS DE DESARROLLO.

C.BACTERIANA	INICIACION		DESARROLLO		FINALIZACIÓN	
	OCULAR	NASAL	OCULAR	NASAL	OCULAR	NASAL
S.xylosus	2		8	6		2
S.gallinarum			12	11	4	2
S.saccharolytic			1	1	1	
S.intermedius			2			
S.lentus			1	1	2	
S.warneri	1					
S.auricularis		1				
S.haemolyticus	1					
M.varians		1	1	5	2	
M.lentus				3		1
M.roceus			1	1		
M.iglae						1
M.halobius		1	1			
M.agilis			1			
E.agglomerans	4	2	2	5	1	
citrobacter sp	1	4				
E.coli	2	1	4	2	4	2
Ps.aeruginosa		1	2	1		
E.gergoviae					1	
P.mirabilis						1
C.diversus			1	2		
C.freundii					2	1
P.vulgaris						1
Acinetobacter/ Woffii						1
E.asburiae	1					
E.amnigenus		1				

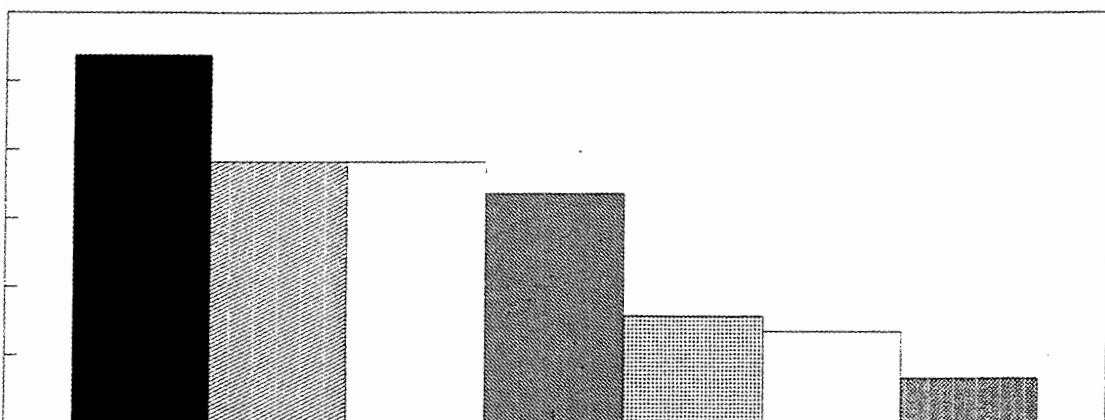
# Grafica # 1

## Porcentajes de Bacterias Aisladas










## Grafica # 2

Porcentaje de especies mas comunes encontradas en la mucosa de las aves

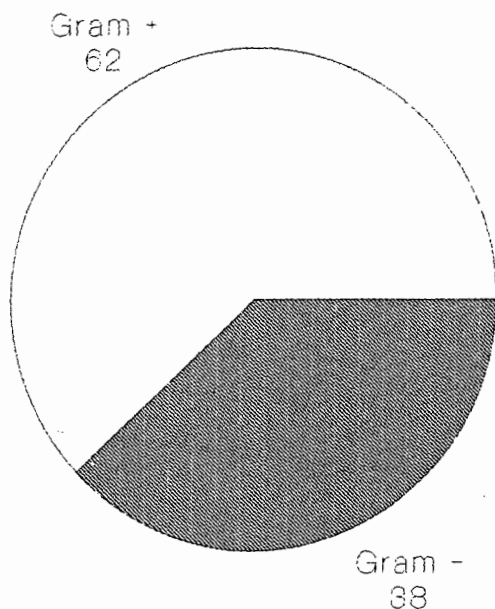


ESPECIES BACTERIANAS

 <i>S. gallinarum</i>	 <i>S. xylosus</i>	 <i>E. agglomerans</i>	 <i>E. coli</i>
 <i>M. Varians</i>	 <i>C. Divesrsus</i>	 <i>Ps. aeruginosa</i>	

## Grafica # 3

Porcentaje a la tinción de gram



## DISCUSIÓN

De acuerdo a la escasa información que existe sobre la mucosa ocular y nasal de las aves, los resultados obtenidos se contrastaron a los presentados por Julian Gómez G. En un estudio de la microbiota de conjuntiva ocular en perros, que realizó en la clínica de pequeñas especies de la F.M.V.Z de la U.DE.G. Sus reportes muestran 5 Géneros diferentes al igual que el presente estudio, Gómez reporta la incidencia de Staphylococcus sp 60%, Micrococcus sp 28%, Streptococcus sp 4%, Acinetobacter sp 4% y Enterobacterias sp 4%, en comparación con lo que se aisló; Staphylococcus sp 42.5%, Micrococcus sp 18.6%, Enterobacterias sp 31.8%, Pseudomona sp 6% y Acinetobacter sp 1.1%. Así mismo el reporta 16 especies diferentes y este estudio arrojó 26 especies diferentes. (8).

En relación al reporte de la tinción de gram, Gómez presenta un 92% de Géneros gram positivos y solo 8% gram negativos, el porcentaje difiere un poco por aislarse 62% gram positivos y 38% gram negativos.

La especie de mayor aislamiento citada por Gómez es el Staphylococcus intermedius (14%), y este estudio arrojó que la especie de mayor frecuencia fue Staphylococcus gallinarum (26.6%), y Staphylococcus xylosus (19.1%).

Los resultados obtenidos en el presente trabajo, nos dan una idea del tipo y cantidad de bacterias presentes en la mucosa ocular y nasal de las aves; ya que la microbiota normal no se ha estudiado en forma profunda como en el humano, y las especies de Staphylococcus, Micrococcus son parte de la microbiota normal de las superficies externas del cuerpo, así mismo la mayor parte de los miembros del Género

Enterobacter sp. son habitantes normales del tracto digestivo y las Pseudomonas sp. y Acinetobacter sp. se encuentran de forma natural en suelos y aguas.(8).

## CONCLUSIONES

- 1.- La microbiota presente en mucosa nasal y ocular de las aves es transitoria.
- 2.- Se aislaron cinco Géneros bacterianos diferentes en la mucosa ocular y nasal de aves de engorda aparentemente sanas de la periferia de la ciudad.
- 3.- El parámetro de la microbiota ocular y nasal muestra una frecuencia de Staphylococcus sp de un 42.5%, Micrococcus sp 18.6%, Enterobacterias sp 31.8%, Pseudomonas sp 6%, Acinetobacter sp 1.1%.
- 4.- Las especies aisladas mas abundantes son; Staphylococcus gallinarum, Staphylococcus xylosus, y E.coli, y las de menos frecuencia; E.amnigenus y E.asburiae.
- 5.- Es necesario proponer mas estudios sobre la mucosa de las aves, ya que existe escasa informacion sobre el tema.



## BIBLIOGRAFÍA

- 1.- ANTILLON A. 1985  
OFTAMOLOGIA BÁSICA 5ta. EDICIÓN  
EDITORIAL MÉNDEZ OTEO PÁG. 113-114
- 2.- ASBURY A.K. Y YAGHAM 1987  
OFTAMOLOGIA GENERAL 6ta. EDICIÓN  
EDITORIAL EL MANUAL MODERNO PÁG. 57,62
- 3.- CARTER G.R. .1982  
DIAGNOSTIC PROCEDURES IN VETERINARY BACTERIOLOGY AND  
MICROBIOLOGY  
VIRGINIA MORILOND REGINAL COLLEGE OF VETERINARY MEDICINE  
PAG. 7,11
- 4.- CASTELLANOS E.A.F. 1982  
MANUAL PARA LA EDUCACIÓN AGROPECUARIA (AVES DE CORRAL)  
EDITORIAL SEP-TRILLAS PAG. 9,109
- 5.- COLES E.H 1986  
DIAGNOSTICO Y PATOLOGÍA VETERINARIA  
EDITORIAL INTERAMERICANA MC GRAW-HILL PAG. 334-336
- 6.- FRANSON R.D 1976  
ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA DE LOS ANIMALES DOMÉSTICOS  
EDITORIAL INTERAMERICANA 2da EDICIÓN PAG. 87-94

7.-GETTY R. 1985

ANATOMÍA DE LOS ANIMALES DOMÉSTICOS TOMO II

5ta EDICIÓN EDITORIAL SALVAT

8.- GÓMEZ G. J. 1991

AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE LA FLORA BACTERIANA

AEROBICA DE LA CONJUNTIVA OCULAR EN PERROS APARENTEMENTE  
SANOS

TESIS DE LICENCIATURA F.M.V.Z. U.DE.G

9.- JULL M.A. 1982

LA EXPLOTACIÓN AVÍCOLA MODERNA Y PRODUCTIVA

EDITORIAL CONTINENTAL S.A PAG. 1,60-74

10.- GELLATT K.N. 1981

TEXTBOOK OF VETERINARY OPTAMOLOGY

LEAY Y FIBIGER PHILADELPHIA PAG. 221

11.- LENNETTE E. H. 1985

MANUAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY

AMERICAN SOCIETY FROM MICROBIOLOGY WASHINGTON D.C.

PAG. 1093,1102

12.- MARTÍNEZ F.C. Y CARAZO V. 1988

OFTALMOLOGÍA APLICADA

SERIE PALTEX PARA EJECUTADORES DE PROGRAMAS DE SALUD

SALVAT MEXICANA OPS/OMS-SALVAT PAG.13,34,89,90,156

- 13.- NORTH M.O. 1988  
MANUAL DE PRODUCCION AVÍCOLA 2da EDICIÓN  
EDITORIAL EL MANUAL MODERNO PAG. 1,701-708
- 14.- SCHWARTZ L.D. 1980  
MANUAL DE SANIDAD AVÍCOLA 1ra EDICIÓN  
EDITORIAL UTEHA PAG.2
- 15.- SCHWARZE E.S.L. 1986  
COMPENDIO DE ANATOMÍA VETERINARIA  
TOMO V EDITORIAL ACRIBIA PAG.65-69
- 16.- SUAZO O.L.A. 1991  
EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE ACIDOS ORGÁNICOS EN LAS  
DIETAS DE EL POLLO DE ENGORDA, SU INTERACCIÓN CON LA  
FUENTE DE PROTEÍNA EN LOS PARÁMETROS PRODUCTIVOS Y EL  
PERFIL METABÓLICO  
TESIS DE LICENCIATURA F.M.V.Z. U.DE.G.
- 17.- TISTAS O.C. 1983  
ATLAS DE CIRUGÍA OPTAMOLOGICA EN ANIMALES DOMÉSTICOS  
1ra EDICIÓN EDITORIAL C.E.C.S.A. PAG. 17,37-39
- 18.- TÓRTOLA G.J. Y ANAGNOSTAKOS N.P. 1975  
PRINCIPIOS DE ANATOMIA Y FISILOGIA  
EDITORIAL HARLA S.A. DE C.V. PAG. 294-295