

Subcomisiones y comités

Gastroenteritis por rotavirus y su prevención

Comité Nacional de Infectología

MAGNITUD DE PROBLEMA

El rotavirus es la principal causa de diarrea en el mundo. Este agente produce 111 millones de casos, 25 millones de consultas médicas, 2 millones de hospitalizaciones y aproximadamente 611.000 muertes anuales, principalmente en lactantes y niños pequeños.

AGENTE ETIOLÓGICO

Los rotavirus son virus ARN, miembros de la familia *Reoviridae*; fueron descubiertos por la Dra. Ruth Bishop, en 1973 en Australia. Utilizando fundamentalmente las características inmunogénicas de la proteína de la cápside VP6 se han identificado 7 grupos antigénicos (A, B, C, D, E, F y G). Los virus del grupo A son los que producen infecciones habituales en el ser humano y constituyen causas importantes de diarrea del lactante.

El grupo A consiste en dos subgrupos que tienen al menos 14 serotipos distintos, de los cuales los serotipos 1-4 son los aislados más frecuentemente. Los virus del grupo B han causado grandes brotes de gastroenteritis en adultos y niños, aunque sólo en China. Los virus del grupo C tienen distribución mundial, pero sólo se los ha hallado en baja prevalencia. Los virus de los grupos D y E han sido hallados sólo en animales.

Las proteínas de cápside externa VP4 y VP7 inducen la producción de anticuerpos neutralizantes y se han utilizado para una clasificación dual en serotipos. Los serotipos definidos por la glicoproteína VP7 se denominan G y los definidos por la sensibilidad a las proteasas de la VP4, se denominan P.

Los serotipos G1 al G4 y G9 del grupo A son los más frecuentes.

EPIDEMIOLOGÍA

La mayoría de las infecciones por rotavirus, si no todas, son el resultado del contacto con personas infectadas. Las infecciones por este agente en animales se presentan en muchas especies, pero la transmisión de animales a personas sólo ha sido documentada excepcionalmente. Están presentes en título elevado (10^{12} partículas/g) en las heces de los pacientes enfermos y la muestra puede permanecer positiva varios días después del inicio de los síntomas. La principal vía de transmisión es la fecal-oral. Sin embargo, dado que los rotavirus afectan con igual frecuencia a los niños de países desarrollados y en vías de desarrollo, se cree que su modo habitual de transmisión no está relacionado con la contaminación de los alimentos ni del agua. También se ha sugerido la transmisión por vía respiratoria del virus, pero no se cuenta con evidencia concreta que avale esa hipótesis. La diseminación intrafamiliar y dentro de hospitales, guarderías y otras instituciones es muy frecuente.

Las infecciones humanas se presentan en todo el mundo y este agente constituye el agente único más frecuente de diarrea en lactantes menores de 2 años que requieren atención médica en países desarrollados. La mortalidad por deshidratación, aunque inusual en éstos, es una causa importante en los países en vías de desarrollo. La enfermedad es más prevalente durante los meses más fríos del año en los climas templados. La variación estacional en los climas tropicales es menos pronunciada. Aun cuando los casos aparentemente clínicos de gastroenteritis se producen con más frecuencia cuando el lactante tiene entre 6 y 24 meses de vida, los grupos etareos mayores muestran evidencia serológica de

Integrantes del Comité Nacional que participaron en la elaboración:

Drs. Angela Gentile, Miriam Bruno, José Marcó del Pont, Alejandro Ellis, Charlotte Russ, Raúl Ruwinsky, Héctor Abate, Ana Cevallos, Rina Moreno, Enrique Casanueva, Alicia Puscama y Santiago López Papucci, Carolina Cibau, Ana Rosaenz, Andrea Falaschi, Claudia Domínguez, Ana Houdek, Liliana Strugo, Silvia Onorati, Rodolfo Tallei, Zoila Morán, Andrea Uboldi, Gabriela Ensink.

infección. El primer episodio de gastroenteritis por RV (primoinfección) es el que se presenta con mayor severidad clínica, disminuyendo la gravedad en los episodios subsiguientes. Las infecciones asintomáticas son frecuentes en los recién nacidos, en los niños mayores y en los adultos. La re-infección, en general asintomática, se presenta en los contactos adultos. El período de incubación, por lo general, es de 1 a 3 días.

En la Argentina, el Programa de Vigilancia del Ministerio de Salud informó que el 42% de las internaciones por diarrea en menores de 3 años se deben a rotavirus. El pico de detección del virus se produjo entre abril y mayo. En esos meses, el 70-80% de las diarreas son por rotavirus. El 71% de los casos de rotavirus se observó durante el primer año de vida. Durante el segundo año se observaron el 20% de los casos y en el tercer año, el 9%.

Otro estudio desarrollado por el Instituto Malbrán y el Hospital de Niños "Dr. Ricardo Gutiérrez" de Buenos Aires entre 1997 y 1999 encontró rotavirus en el 36% de las gastroenteritis agudas asistidas en forma ambulatoria y en el 45% de los niños internados por diarrea. En las 170.686 atenciones ambulatorias anuales del hospital se estimó la existencia de 4.652 casos de diarrea aguda en niños menores de 3 años, con 1.674 casos causados por rotavirus. De estos últimos, sólo el 0,8% requirió internación. Se observó una tendencia estacional similar. En pacientes ambulatorios se observó un 52% de diarrea por rotavirus en el primer año de vida, un 38% en el segundo y un 10% en el tercero.

Estudios del Laboratorio de Gastroenteritis Virales del Instituto Malbrán señalan que las cepas prevalentes durante 1997 fueron los serotipos G1 y G2, durante 1998 fueron G1 y G4 y durante 1999, G1, G4 y G9. Los rotavirus serotipo G9 también han comenzado a ser prevalentes en los últimos años en países desarrollados.

Como demuestran algunos estudios en nuestro país, la prevalencia de los distintos serotipos de rotavirus puede variar de año a año en las mismas regiones.

Utilizando siete unidades centinelas: Resistencia, Rosario, Mendoza, La Plata, Córdoba, Buenos Aires y Tucumán, se realizó un estudio entre octubre de 1996 a septiembre 1998. Las diarreas RV negativas tuvieron su pico entre enero a marzo y las diarreas RV positivas entre abril a junio.

El rotavirus resultó positivo en 550/1.312 muestras estudiadas. La tipificación mostró en el 1º año G1 29,2%, G2 52,8% y en el 2º año G1 54%, G4 30%.

La distribución por edad fue el 67% entre 0-11 meses, y 26% entre 12-23 meses.

En un estudio epidemiológico publicado por Gómez, J y col., se estima que según datos del SINAVE en el país en el año 1999 se produjeron alrededor de 100 defunciones por diarrea por RV, 20.000 hospitalizaciones y 130.000 consultas ambulatorias. En las provincias del norte del país se registraron 26,2 veces más muertes que en Buenos Aires y 14,7 veces más hospitalizaciones debidas a este virus que en Tierra del Fuego.

En relación a los costos de esta enfermedad, se ha estimado que en 1991 hubo 84.500 pacientes ambulatorios y 21.000 hospitalizaciones asociadas a diarreas por rotavirus en el país, con gastos por más de 27 millones de dólares. Considerando los estudios de "costo-beneficio" que presenta la bibliografía internacional, se puede estimar que estos costos podrían ser reducidos en un 56% con la vacuna. En base a la información que se dispone hasta hoy, podemos decir que una vacuna segura y efectiva con un costo por persona menor a los 25 dólares podría tener un fuerte impacto en nuestro medio.

El rotavirus es también una importante causa de diarrea nosocomial. En un estudio se comprobó la reducción de los episodios de infección hospitalaria por rotavirus de 5,9 episodios / 1.000 egresos a 2,2 cuando se incrementa el lavado de manos del 62% al 81% y el uso de gel alcohólico de 4% a 29%.

ASPECTOS CLÍNICOS

Las manifestaciones clínicas al ingreso en niños con rotavirus positivo son fiebre, vómitos y diarrea sin sangre. En los casos graves puede haber deshidratación considerable y acidosis. La infección también puede estar acompañada por síntomas respiratorios, como tos y resfrío.

En un estudio se encontró que en los pacientes que se aisló rotavirus fueron más frecuentes: vómitos (OR 8,40); deshidratación (OR 3,73); necesidad de rehidratación EV (OR 7,50) y necesidad de internación (OR 8,40). La duración de la diarrea fue de 3,42 días y la mayor frecuencia de casos fue entre mayo y julio.

METODOLOGÍA DIAGNÓSTICA ESPECÍFICA

Dado el elevado número de partículas virales eliminadas en heces, el diagnóstico se realiza mediante la detección rápida de las mismas. Existen diversas pruebas comerciales de ELISA y de aglutinación del látex para detectar virus en las heces. Las pruebas de látex son más sencillas y económicas pero poseen baja especificidad y sensibilidad. Por tal motivo, las técnicas de ELISA son las pruebas de elección. En los laboratorios de investiga-

ción, el virus también puede ser identificado en las heces por aislamiento viral y microscopia electrónica. Se puede efectuar el análisis epidemiológico de las cepas mediante la determinación de los patrones de migración del ARN viral en electroforesis en gel de poliacrilamida. Esta metodología es muy útil para caracterizar virus causantes de brotes en la comunidad o intrahospitalarios. Recientemente, se han desarrollado técnicas de PCR que presentan una mayor sensibilidad que el ELISA, pero que por su complejidad y costo sólo son utilizadas para la caracterización de cepas.

TRATAMIENTOS RECOMENDADOS

No existe ningún tratamiento específico. Se administran líquidos por vía parenteral y oral para corregir la deshidratación. Se ha utilizado inmunoglobulina humana administrada por boca en forma experimental para tratar a los pacientes inmunocomprometidos con infecciones prolongadas.

También se han realizado algunos estudios utilizando probióticos en el tratamiento y prevención de las diarreas, con resultados prometedores.

PREVENCIÓN

Se recomiendan las medidas generales para lograr la interrupción de la cadena de transmisión del virus. Los niños con diarrea por rotavirus, en los que sus heces no pueden ser retenidas por los pañales o por el uso del baño, deben ser excluidos de concurrir a la guardería hasta que finalice la diarrea. En el paciente hospitalizado se recomienda el cumplimiento estricto de las precauciones entéricas mientras dure la enfermedad. No todos los antisépticos son efectivos. Además del hipoclorito de sodio y el etanol al 70%, se recomienda el uso de glutaraldehído al 2%, solución de yodopovidona al 10%, hexaclorofeno al 0,75%, y la mezcla de alcohol isopropílico al 70% junto con hexaclorofeno al 0,1%.

Hoy en día existen sobradas evidencias de que los mecanismos de prevención de las diarreas son distintos para las diarreas virales y las de origen bacteriano. Estas últimas pueden ser controladas mejorando el medio ambiente y la calidad del agua que se consume. En cambio, las de origen viral no están asociadas a calidad de vida y la protección contra ellas surge de la memoria inmunológica. Por ello se acepta que las vacunas serían una herramienta idónea para su correcto control. En los últimos 10 años se han desarrollado y evaluado varias vacunas.

La lactancia materna a través de la lactaderina protege contra la infección sintomática por rotavi-

rus. Esta protección es de 50% en los menores de 6 meses y 40% en menores de 1 año.

VACUNAS CONTRA ROTAVIRUS

El motivo de lograr una inmunización contra rotavirus está dado porque:

- La infección ocurre por igual en países desarrollados y en vías de desarrollo.
- La mejoría de la higiene ambiental no controla la infección.
- No hay disponible tratamiento antiviral efectivo.
- La mayor mortalidad ocurre en comunidades pobres con escasa cobertura médica.
- Es una enfermedad de alto impacto familiar, social y económico.

Con la vacunación se busca una respuesta inmune a la infección natural para:

- Proteger contra diarrea moderada/grave.
- Prevenir la hospitalización y muerte.
- Reducir la mortalidad y el impacto socioeconómico.

ANTECEDENTES

La primera vacuna licenciada fue de virus vivo heterólogo administrándose por vía oral. Contenia rotavirus de mono reasociado con genes humanos (RRV-TV). Rotashield NR.

La eficacia fue determinada de 88% para enfermedad grave y 48% para enfermedad leve. Las reacciones adversas detectadas fueron: hipertermia > 38° C en el 15% de los pacientes y mayor a 39° C en el 1 a 2% de los mismos, diarrea en el 3% de los casos e invaginación intestinal en el 0,05% de los niños vacunados.

Fue aprobada en 1998 y retirada en el año 1999 del mercado según directivas de la FDA por su probable asociación con invaginación intestinal (15 en 1,5 millones de dosis aplicadas).

Esta situación llevó a que para la aprobación de las nuevas vacunas contra rotavirus se exigiese que los estudios incorporasen más de 65.000 voluntarios antes de su aprobación por los organismos de control.

VACUNAS ACTUALES

Dos vacunas han sido recientemente aprobadas. La EMEA (Agencia de medicamentos europea) aprobó la vacuna monovalente G1 P 1 [8] humana (Rotarix®) y la FDA y la EMEA (Administración de Drogas y Alimentos de EE.UU.) la vacuna pentavalente humano-bovino G1, G2, G3, G4 y P1 [8] (RotaTeq®). Ambas están aprobadas en nuestro país por el ANMAT.

Las características de dichas vacunas son:

Agente inmunizante

Se dispone de dos vacunas por el momento.

- **Vacuna monovalente de virus vivos atenuados:** Vacuna a virus vivos atenuados humanos que contiene la cepa RIX4.414. Monovalente, con especificidad G1 P1A [8], derivada de la cepa de origen 89-12.
 - Comparte epítopes neutralizantes contra la mayoría de los rotavirus humanos aislados en pacientes con gastroenteritis severa por rotavirus.
 - Se administra por vía oral (1 ml).
 - Se reconstituye con buffer de carbonato de calcio.
 - Se administra en 2 dosis comenzando a las 6 semanas de edad, debiendo respetarse un intervalo de 4 semanas entre las dosis. El esquema de vacunación debe haberse completado a las 24 semanas de edad.
 - Vacuna liofilizada que se almacena a 2-8° C.
 - Tiene replicación intestinal y el virus se elimina por materia fecal entre el 15 y el 50% de los niños vacunados.

La excreción del virus de la vacuna en heces ocurre luego de la vacunación, con un pico alrededor del séptimo día. Las partículas virales se detectaron en 50% de las heces posterior a la primera dosis y 4% de heces después de la segunda dosis. Al analizarse estas heces, 17% demostraron contener cepas vivas de la vacuna.

- **Vacuna pentavalente a virus vivos atenuados:** Vacuna a virus atenuado reasociado con virus bovino (WC3) y proteínas de superficie de 5 serotipos humanos: G1, G2, G3, G4, y P 1 [8].
 - Administración por vía oral.
 - No necesita ser reconstituida. Contiene un buffer líquido para neutralizar la acidez estomacal.
 - Se administra en 3 dosis a partir del mes con 1 o 2 meses de intervalos.
 - Todos los serotipos son un "reasociado" de genes humanos-bovinos (WC3).
 - No tiene replicación intestinal, habiéndose observado eliminación por materia fecal en el 9% de los vacunados con la primera dosis, siendo despreciable con las dosis posteriores.
 - Se presenta en estado líquido y se almacena en temperaturas de 2 a 8° C.

INMUNOGENICIDAD Y EFICACIA CLÍNICA**Vacuna a virus vivos atenuados humanos**

La eficacia para las diarreas graves fue del 85% (IC 95% 71,7-92,4) para las diarreas por rotavirus, llegando a ser del 100% en los casos más severos

(según score de intensidad de Vesikari), 91% (IC 95% 70,5-98,2) para RV G1, 86% (IC 95%-9,3-99,7) para RV G3, 100% 90,6 (IC 95% 61,7-98,9) para RV G9, 71% 76,7% (IC 95% 51,0-90,1) para RV no G1. Se observó un 86% de eficacia contra hospitalizaciones por gastroenteritis por rotavirus (IC 95% 69,6-93,5) y el 42% (IC 95% 28,6-53,1) de reducción global de hospitalización por todas las causas de diarrea. La eficacia es del 90% para la diarrea grave en general y 70% para todas las diarreas por rotavirus.

Vacuna pentavalente humano-bovino

La eficacia para las diarreas por rotavirus G1-G4 graves fue del 98% y 74% para las gastroenteritis, independientemente de la severidad. Se observó una disminución del 96% de internaciones por rotavirus G1-G4 y un 94% en las consultas a los servicios de guardia. Además hubo una disminución del 87% en la pérdida de días de trabajo debido a las diarreas por los serotipos incluidos en la vacuna. Durante el segundo año fue el 88% para las diarreas graves por RV G1-G4 y 63% para todas las gastroenteritis por rotavirus.

ESQUEMA DE VACUNACIÓN

Vacuna a virus vivos atenuados humanos: Dos dosis por vía oral con intervalo de 8 semanas.

Vacuna multivalente humano-bovino: Tres dosis por vía oral con intervalos de 4 a 10 semanas.

CONSIDERACIONES PARTICULARES

- Se recomienda la aplicación de la primera dosis de vacuna antes de la semana 14 de vida (sería difícil cumplir el esquema completo).
- El intervalo mínimo entre dosis son 4 semanas.
- La vacuna humana a virus atenuados debe cumplir su esquema con la última dosis aplicada a los 6 meses de vida, por el momento, y la vacuna multivalente humana-bovina antes de las 32 semanas de vida.
- En el esquema de vacunación con tres dosis, si hubiera un retraso en la aplicación de alguna de las dosis puede acortarse el intervalo entre las mismas a 4 semanas. (Ejemplo: 2 m, 5 m y 6 m).
- Por el momento, no existen evidencias sobre la posibilidad de intercambiar las marcas comerciales de las vacunas.
- Por el volumen del líquido administrado, si el paciente vomita luego de la aplicación de la vacuna, no es necesario repetir la dosis de la misma.

INDICACIONES

Lactantes menores de 6 meses, a partir de las 6

semanas de vida. De manera tal que se encuentren protegidos antes de la edad de mayor susceptibilidad a la infección.

CONTRAINDICACIONES

Como toda vacuna viral atenuada se contraindica en pacientes inmunocomprometidos.

No hay datos por el momento que avalen el uso en los contactos (hermanos, familiares, etc.) de pacientes con inmunocompromiso, por lo que por el momento no se recomienda su indicación.

Tampoco estaría indicada en pacientes con enfermedad intestinal crónica o anomalías del tracto gastrointestinal.

Son contraindicaciones relativas los episodios febriles de más de 38° C.

Por el momento su aplicación no está avalada en unidades de cuidado intensivo neonatal.

EFFECTOS ADVERSOS

- Reactogenicidad: El evento más frecuente fue la fiebre, pero fue similar que con placebo, al igual que los vómitos y la diarrea.
- Seguridad: no se encontró asociación con invaginación intestinal y no se reportaron muertes relacionadas con la administración de la vacuna.

No hay ninguna evidencia de mutación de las cepas vaccinales a cepas virulentas.

ADMINISTRACIÓN SIMULTÁNEA CON OTRAS VACUNAS

No se han observado alteraciones en la respuesta inmune cuando estas vacunas se aplican conjuntamente con las vacunas del calendario nacional o bien con vacunas tales como antineumocócica o meningocócica conjugadas, IPV o vacunas acelulares.

En los estudios realizados con la vacuna de virus vivos atenuados humano administrada conjuntamente con OPV, se ha demostrado que no se afectan los títulos de anticuerpos para los tres serotipos de la vacuna antipoliomielítica oral.

Se encuentran en desarrollo los estudios con la administración conjunta de la vacuna multivalente humano-bovino.

INTRODUCCIÓN DE LA VACUNA AL CALENDARIO NACIONAL EN LAS AMÉRICAS

La vacuna contra el rotavirus ha sido declarada prioritaria por la OPS para su incorporación en Calendarios Nacionales de Latinoamérica en los próximos 5 años.

Hasta el momento de redacción de este docu-

mento, tres países de América la incorporaron en sus calendarios: Brasil, Panamá y Venezuela. México la incorporó en forma regionalizada y otros países consideran próximamente su incorporación.

Esto implica un desafío desde el punto de vista individual para el pediatra (necesidad de notificación de efectos adversos y estrategias de capacitación) y global (necesidad de vigilancia epidemiológica continua).

CONCLUSIONES

- Las vacunas contra el rotavirus recientemente aprobadas son seguras y efectivas.
- Se encuentran a disposición de los pediatras para la prevención de esta enfermedad potencialmente grave.
- Se recomienda analizar estrategias de inmunización más amplias que contemplen la vacunación regional en áreas de alto riesgo según datos epidemiológicos del país. Por otra parte, es importante instrumentar técnicas de abordaje para la población clínicamente más vulnerable en todas las jurisdicciones.
- Se recomienda afianzar el programa de vigilancia epidemiológica de diarreas a través de las unidades centinelas, especialmente en las áreas sujetas a vacunación, a fines de evaluar circulación viral, impacto del programa y avanzar en el conocimiento de esta patología y sobre todo de las estrategias de intervención. ■

BIBLIOGRAFÍA

- Parashar U, Bresee J, Gentsch J y Glass R. Rotavirus. *Emerg Infect Dis* 1998; 5:61-570.
- Parashar U, Hummelman E, Bresee J y col. Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. *Emerg Infect Dis* 2003; 9(5) 565-572.
- Gentsch J, Laird A, Bielfelt B y col. Serotype diversity and reassortment between human and animal rotavirus strains: Implications for rotavirus vaccine programs. *J Infect Dis* 2005; 192: Suppl1:S146-159.
- Glass R, Bresee J, Turcios R y col. Rotavirus vaccines: targeting the developing world. *J Infect Dis* 2005; 192: S1160-166.
- J Gómez, K Bok, et al. Rotavirus surveillance in Argentina. 9th Int Cong on Infectious Diseases. Argentina, Abril 2000.
- Gómez J, Sordo ME, Gentile A et al. Epidemiologic patterns of diarrheal disease in Argentina: estimation of rotavirus disease burden. *Pediatr Infect Dis J* 2002; 21(9):843-850.
- Tregnaghi M y col. 4th WSPID, Varsovia 1-4 setiembre, 2005. Abstract 218.
- Castello A, Arvay M, Glass R y Gentsch J. Vigilancia de cepas de rotavirus en Latinoamérica. Revisión de los últimos nueve años. *Pediatr Infect Dis J* 2004; 23: S168-172.
- Velásquez F, Matson D, Calva J et al. Rotavirus infection in infants as protection against subsequent infections. *N. Engl J Med* 1996; 335:1022-28.
- De Vos, B; Vesikari, T; Linhares, A y col. A Rotavirus Vaccine for Prophylaxis of Infants Against Rotavirus Gastroenteritis. *Pediatr Infect Dis J* 2004; 23: S179-182.

- Heaton P, Goveia M, Millar J y col. Development of a Pentavalent Rotavirus Vaccine against Prevalent Serotypes of Rotavirus Gastroenteritis. *J Infect Dis* 2005; 192: S17-21.
- Murphy T, Gargiullo P, Massoudi M, et al. Intussusception among infants given an oral rotavirus vaccine. *N Engl J Med* 2001; 344 564-72.
- Saez-Llorens X, Guevara JN. Intussusception and rotavirus vaccines: What Is the background risk? *Pediatr Infect Dis J* 2004; 23: 364-365.
- Cedrato A, Peuchot JC, Rubio MI et al. Rotavirus: a new future for an old known virus. 16^o European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. ECCMID. April 1-4, 2006. Abstract N ° 2253.
- Ruiz Palacios G, Perez-Schael I, Velazquez R et al. Safety and efficacy of an attenuated vaccine against severe rotavirus gastroenteritis. *N Engl J Med* 2006; 354: 11-22.
- Vesikari T, Matson D, Dennehy P y col. Safety and efficacy of a pentavalent human-bovine (WC3) reassortant rotavirus vaccine. *N Engl J Med* 2006; 354:23-33.
- Gómez J, Abate H, Costa Clemens S, y col. Vaccination for rotavirus gastroenteritis in Latin America I. Economic and Health Burden of the Disease. Lisboa. Portugal, ICID; 2006. Abstract 10.014.
- Gómez J, Costa Clemens S, Sanches N et al. Vaccination for Rotavirus Gastroenteritis in Latin America I. Cost-effectiveness of vaccination. Lisboa. Portugal, ICID; 2006. Abstract 10.015.
- Salinas B, Schael I, Linhares A, et al. Evaluation of safety, immunogenicity and efficacy of an attenuated rotavirus vaccine, RIX4414: A randomized, placebo-controlled trial in Latin American infants. *Pediatr Infect Dis J* 2005; 24(9): 807-816.
- Steele A, Tumbo J, Armah G y col. Concomitant administration of a liveattenuated oral rotavirus vaccine (RIX4414) with poliovirus vaccines in African infants. ESPID, Valencia, España. 2005. (Abstract).