

ORIGINAL

BROTE POR *SALMONELLA ENTERITIDIS* EN UNA RESIDENCIA DE ANCIANOS

José Luis Yáñez Ortega (1), Isabel Carramiñana Martínez (1) y Mercedes Bayona Ponte (2)

(1) Sección de Epidemiología. Servicio Territorial de Sanidad y Bienestar Social. Junta de Castilla y León.

(2) Laboratorio del S.T. de Sanidad y Bienestar Social. Junta de Castilla y León.

RESUMEN

Fundamento: Se describe un brote de gastroenteritis por *Salmonella Enteritidis*, fagotipo 1, declarado en una residencia de ancianos de Burgos el 15 de noviembre de 1999. El objetivo de la investigación del brote ha sido determinar la fuente de infección, el mecanismo de transmisión y proponer las medidas adecuadas para evitar la recurrencia del problema.

Métodos: Se ha realizado un estudio observacional de cohortes retrospectivo encuestando a 106 de un total de 119 residentes y a 9 trabajadores del centro. Se ha estimado el Riesgo Relativo de enfermar en función del consumo de diversos alimentos. Se ha utilizado la Regresión Logística para calcular las odds ratio ajustadas por edad, sexo y por el consumo de alimentos y vino. Se ha estudiado la concordancia del diagnóstico clínico frente al diagnóstico por coprocultivo mediante el índice de concordancia *Kappa* de Cohen.

Resultados: Un total de 42 personas refirieron sintomatología (37 residentes y 5 empleados). La tasa de ataque clínico fue de 36,5%. De 91 coprocultivos realizados (82 en residentes y 9 en empleados) 45 resultaron positivos (41 en residentes y 4 en empleados). La Tasa de ataque de casos confirmados por coprocultivo fue de 49,5% en los investigados. La leche frita ha sido el alimento implicado epidemiológicamente con la aparición del brote: RR: 3,25 (IC_{95%} 1,10-9,59). El efecto protector del vino (Odds Ratio: 0,68) no alcanzó significación estadística ($p=0,36$). El índice *Kappa* resultó 0,43 ($p < 0,001$), lo que demuestra la escasa concordancia del diagnóstico clínico frente al diagnóstico mediante coprocultivo.

Conclusiones: Existe evidencia epidemiológica de que el consumo de leche frita ha sido el mecanismo de transmisión de la infección, y la conservación a temperatura inadecuada del alimento ha sido el factor contribuyente determinante en la eclosión del brote. Esto demuestra que lo más idóneo para prevenir este tipo de brotes son las prácticas y hábitos higiénicos por parte de todos los implicados en el sector alimentario.

Palabras Clave: Toxiinfecciones alimentarias. Brotes epidémicos. *Salmonella enteritidis*. Ancianos.

ABSTRACT

Outbreak for *Salmonella enteritidis* in a Residential Home for Elderly People

Background: An outbreak of gastroenteritis caused by *Salmonella Enteritidis* (SE), phagotype 1, reported at a senior citizen living facility in Burgos on November 15, 1999 is discussed. The objective of the research of this outbreak was that of ascertaining the source of infection, the mechanism by which it was transmitted and to propose the suitable measures for preventing any recurrence of this problem.

Methods: An observational retrospective cohort study has been made by surveying 106 of a total of 119 residents and 9 employees at the center in question. The Relative Risk of being affected by this disorder has been estimated in terms of the intake of different foods. Logic Regression was employed for calculating the odds ratio adjusted by age, sex and by the intake of foods and wine. The concordance of the clinical diagnosis with the coproculture diagnosis was studied using the Cohen's *Kappa* index of agreement.

Results: A total of 42 individuals reported symptoms (37 residents and 5 employees). The clinical attack rate was 36.5%. Forty-five (45) of the 91 coprocultures performed (82 on residents and 9 on employees) were positive (41 in residents and 4 in employees). The attack rate for cases confirmed by coproculture was 49.5% among those investigated. Fried breaded milk and flour batter sweets was the food product implicated epidemiologically with the onset of the outbreak: RR 3.25 (C.I at 95% 1.10-9.59). The protective effect of the wine (Odds Ratio: 0.68) was not high enough to be statistically significant ($p=0.36$). The *Kappa* index was 0.43 ($p < 0.001$), which reveals very little agreement between the clinical diagnosis and the coproculture diagnosis.

Conclusions: Epidemiological evidence exists of the intake of fried breaded milk and flour batter sweets having been the mechanism for the transmission of the infection, and the food product in question having been stored at room temperature having been the determining contributing factor in the start of the outbreak. This reveals that the best way of preventing this type of outbreaks are clean habits and practices on the part of all those involved in the food-handling sector.

Key words: Foodborne diseases. Outbreaks. *Salmonella enteritidis*. Elderly people.

Correspondencia:

José Luis Yáñez Ortega
Jefe de la Sección de Epidemiología
S.T. de Sanidad y Bienestar Social. Paseo Sierra de Atapuerca, 4.
09071 Burgos
Tel. 947-280107. Fax: 947-28 01 25.
Correo electrónico: Jose.Yanez@bu.jcyl.es

INTRODUCCIÓN

La Salmonelosis es considerada una enfermedad de la civilización como consecuencia del proceso de industrialización en la producción y distribución de alimentos. Los animales utilizados para la producción de carne, lácteos y huevos, frecuentemente son portadores de *Salmonella*. La mayoría de los casos de enfermedad se originan por un manejo inadecuado de alimentos contaminados en cocinas y restaurantes¹.

En España, durante 1997, *Salmonella enteritidis* (SE) fue el serotipo más frecuentemente identificado y responsable del 75% de los brotes familiares y comunitarios comunicados², comprobándose que los alimentos elaborados con huevo fueron los principales causantes. Esta situación es similar a lo que acontece en el ámbito internacional³, presentándose en ocasiones como brotes comunitarios que pueden afectar a cientos de miles de personas⁴, por lo que estos procesos constituyen un importante problema de salud pública. Los sistemas de vigilancia epidemiológica no permiten asociar los casos esporádicos con la fuente de infección a nivel comunitario⁵. Es por ello que se hace necesaria y útil una investigación rápida y metodológicamente correcta de todo brote de enfermedad transmitida por los alimentos⁶ para prevenir nuevos casos mediante la implementación de diferentes medidas de salud pública.

En el presente trabajo describimos un brote de *Salmonella enteritidis* que tuvo lugar en una residencia de ancianos y motivó la hospitalización de 5 de ellos. El objetivo del estudio fue la investigación clínica, epidemiológica y de laboratorio de un brote de gastroenteritis, con el fin de conocer la fuente de infección, el vehículo de transmisión, así como proponer las medidas de control pertinentes para evitar la recurrencia del problema.

MATERIAL Y MÉTODOS

Ámbito: El lunes 15 de noviembre de 1999 se informó a la Sección de Epidemiología del Servicio Territorial de Sanidad y Bienestar Social de Burgos de que numerosos internos de una Residencia de Ancianos de la capital habían presentado un cuadro de gastroenteritis aguda durante el fin de semana previo. El primer caso apareció a las 20 horas del viernes 12 de noviembre. La residencia, de titularidad privada, albergaba a 119 residentes con un rango de edad entre 66 y 99 años.

Investigación epidemiológica: El mismo día de la declaración se procedió por parte de las secciones de Epidemiología y de Higiene de los Alimentos y Sanidad Ambiental a la visita de inspección de la cocina y a la toma de muestras únicamente de productos de la despensa, ya que no se conservaron los alimentos consumidos el viernes ni en los días previos. Se determinó la no utilización de productos de huevo hasta la realización de los análisis microbiológicos y a extremar las medidas de higiene en todos los manipuladores del centro, hasta culminar la investigación de portadores en los manipuladores de alimentos. Se solicitó información sobre el menú consumido el día de la aparición de los primeros casos y en la cena del día anterior. Se diseñó una encuesta epidemiológica que permitió entrevistar a 106 residentes y a 9 trabajadores del citado establecimiento durante los dos días siguientes a la declaración del brote. Un total de 13 residentes no cumplimentaron la encuesta por negativa, ausencia, o por dificultad para la entrevista.

Se realizó coprocultivo a 91 personas (82 residentes y 9 trabajadores). Todos los manipuladores de alimentos y empleados del comedor fueron investigados, separando de la cocina a quienes presentaron coprocultivo positivo o refirieron sintomatología. En 7 trabajadores de la cocina, pertenecientes a un turno diferente, se realizaron coproculti-

vos pero no fueron incluidos en la estimación de riesgos.

Se definió como caso⁷ a toda persona con cuadro clínico de severidad variable, caracterizado por diarrea o vómitos, acompañado de alguno de los siguientes síntomas: náuseas, dolor abdominal o fiebre. Caso probable se definió como aquél compatible clínicamente y con vinculación epidemiológica a un caso confirmado; ésta ha sido la definición operativa utilizada en la investigación del brote cuando nos referimos a casos reales o enfermos. Caso confirmado es aquél en el que se ha producido un aislamiento en el laboratorio a partir de una muestra clínica (coprocultivo), y en el que puede, o no, estar presente la sintomatología clínica.

Como el brote ha ocurrido en un grupo bien definido de población, el tipo de estudio epidemiológico utilizado en la investigación ha sido observacional de cohorte retrospectivo⁸, diseño que es el apropiado para la investigación de brotes de esta naturaleza⁹.

Investigación microbiológica: Las muestras clínicas de los afectados fueron analizadas en los laboratorios del Hospital General Yagüe y del Servicio Territorial de Sanidad y Bienestar Social. Se realizó la serotipia con las cepas identificadas bioquímicamente como posibles *Salmonellas*, procediendo a aglutinación en porta según esquema de Kauffman-White, con antisueros somáticos polivalentes de la casa Difco o Pasteur. Para la investigación de fagotipia se remitieron dos cultivos de pacientes al laboratorio del Centro Nacional de Alimentación del Instituto de Salud Carlos III.

Análisis Estadístico: Las tasas de ataque (TA) se definen como la proporción de casos en relación a los expuestos al alimento investigado. La razón de tasas de expuestos y no expuestos estima el riesgo relativo (RR) de presentar la enfermedad para cada alimento o variable investigada. Se ha aplicado la regresión logística (RL) a los datos

del brote con el objeto de controlar el efecto de las variables investigadas (sexo, edad, consumo de alimentos y consumo de vino como variables independientes) en la aparición de la enfermedad (caso como variable dependiente). Se realizó un análisis para determinar las OR ajustadas por todas las variables independientes investigadas. El consumo de alcohol (vino) se ha determinado como variable cualitativa (sí/no), y se ha incluido en el análisis por el efecto protector referido en otros trabajos¹⁰. Los datos del cuestionario fueron almacenados en Dbase III Plus. Las variables cuantitativas se expresan como media aritmética y desviación estándar. Para la comparación de variables cualitativas se ha realizado la prueba de chi al cuadrado, y para la comparación de medias la prueba «t» de Student. El intervalo de confianza al 95% de las medidas de asociación se ha calculado mediante la binomial exacta. Se ha procedido al estudio de la concordancia de las manifestaciones clínicas como método diagnóstico frente al diagnóstico por aislamiento en laboratorio, determinando el coeficiente *Kappa* de Cohen. Todos estos cálculos se han efectuado mediante el programa informático Epi-Info, versión 6.01. El análisis de regresión logística se ha efectuado con el paquete estadístico SPSS.

RESULTADOS

Del total de 115 personas estudiadas 44 fueron varones de una edad media de 80,1 años (DE:6,1), y 71 mujeres, de una edad media de 79 años (DE: 14,1). El número de personas que manifestaron sintomatología clínica (casos probables) fue de 42 (37 residentes y 5 empleados). De ellos, 18 fueron varones, con edad media de 80,6 años (DE:7,1), y 24 mujeres, con edad media de 73,2 años (DE:15,3). No aparecen diferencias significativas entre las edades de los afectados (76,4;DE:12,9) respecto de los no afectados (81,2; DE:10,7) ($p > 0,05$). La tasa de ataque clínico alcanzó el 36,5%.

La investigación microbiológica determinó como agente causal del brote *Salmonella enterica*, subespecie I, serotipo Enteritidis 9,12:gm:-, fagotipo 1.

El período de incubación mediano fue de 27 horas, con un rango entre 5 y 96 horas (figura 1). Fueron hospitalizados 5 residentes (4 varones y 1 mujer), con una edad media de 79 años (DE:7,4). No se encontraron diferencias significativas en la edad de estos pacientes. Excepto en un varón diabético insulino dependiente, no se conoce patología de base u otros factores de riesgo que expliquen la severidad del cuadro clínico en los cuatro restantes.

Se estimó el riesgo relativo de enfermar (caso probable) en función del consumo de los diferentes alimentos de la comida del día de comienzo del brote y de la cena del día anterior en relación con los no consumidores (tabla 1). El único alimento cuyo consumo presentó asociación significativa con la presentación de la enfermedad (casos probables) fue la leche frita. El RR de enfermar en quienes consumieron este alimento respecto

a quienes no lo consumieron fue 3,25 (IC_{95%}: 1,10-9,59). Este alimento presentó la mayor TA en los expuestos (42,4%) y la menor TA en los no expuestos (13%).

Se ha construido un modelo logístico para controlar la confusión, calculando las OR ajustadas por sexo, edad y por el consumo de vino y de los diferentes alimentos investigados (tabla 2). La leche frita es el único alimento que ha mostrado asociación estadísticamente significativa (p=0,002) con la presentación de la enfermedad.

De un total de 9 trabajadores de la cocina (cocineros y camareros) incluidos en el estudio, 5 presentaron sintomatología, confirmando analíticamente el diagnóstico en 4 de ellos.

Se ha estudiado la fiabilidad del método diagnóstico clínico frente al diagnóstico de laboratorio realizando 91 coprocultivos. Un total de 45 personas (41 residentes y 4 empleados) resultaron con coprocultivo positivo, lo que supone una TA de infección del 49,5%. De los 91 coprocultivos investiga-

Figura 1
Brote de Salmonelosis en Residencia de Ancianos. Burgos, 1999

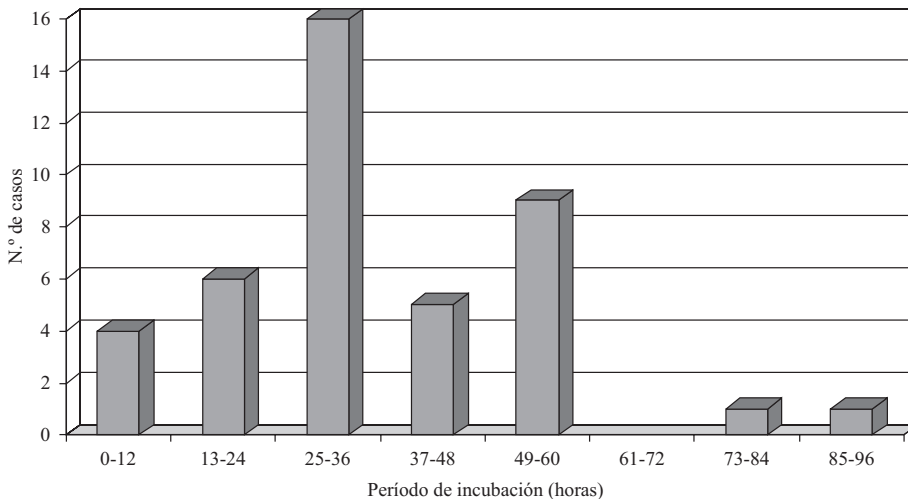


Tabla 1
Riesgos Relativos de Gastroenteritis según el sexo, consumo de alimentos y consumo de alcohol

<i>Alimento</i>	<i>Consumo</i>	<i>N</i>	<i>Casos</i>	<i>Tasa de Ataque (%)</i>	<i>RR</i>	<i>I.C. RR</i>	<i>P</i>
Canelones	Sí	74	26	35,14	0,90	0,55-1,47	0,67
	No	41	16	39,02			
Leche frita	Si	92	39	42,39	3,25	1,10-9,59	0,01
	No	23	3	13,04			
Huevos	Sí	79	30	37,97	1,14	0,66-1,96	0,78
	No	36	12	33,33			
Patatas de Cordero	Si	88	33	37,50	1,13	0,62-2,05	0,86
	No	27	9	33,33			
Crema de Espárragos	Sí	88	32	36,36	0,98	0,56-1,73	0,94
	No	27	10	37,04			
Crema De Ave	Si	86	30	34,88	0,84	0,50-1,42	0,52
	No	29	12	41,38			
Vino	Sí	41	15	36,58	1,00	0,61-1,66	0,84
	No	74	27	36,49			
Sexo	V	44	18	40,91	1,21	0,75-1,96	0,57
	M	71	24	33,80			

RR: riesgo relativo. I.C.: intervalo de confianza al 95%. p: significación estadística

Tabla 2
Modelo logístico según edad, sexo, consumo de alimentos y consumo de alcohol

<i>Variable</i>	β	<i>SE</i>	<i>P</i>	<i>OR (I.C. 95% OR)</i>
Sexo	,322	,460	0,484	1,38 (0,56-3,40)
Edad	,039	,020	0,057	1,04 (0,99-1,08)
Canelones	-1,081	,564	0,055	0,34 (0,11-1,02)
Leche frita	2,919	,951	0,002	18,53 (2,87-119,46)
Huevos	,412	,647	0,524	1,51 (0,42-5,37)
Patitas de Cordero	-,016	,750	0,982	0,98 (0,23-4,28)
Crema Espárragos	-1,117	,914	0,222	0,33 (0,05-1,96)
Crema de Aves	-,530	,632	0,401	0,59 (0,17-2,03)
Vino	-,088	,467	0,851	0,92 (0,37-2,29)
Constante	-3,343	1,919	0,081	

β : Coeficiente beta; SE: error estándar de β ; p: significación estadística.

dos, 35 correspondían a casos probables (con sintomatología), confirmándose por coprocultivo en 27 de ellos (77,1%). Los 56

coprocultivos restantes se efectuaron en asintomáticos, confirmándose la *Salmonella* en 18 de ellos, por lo que la tasa de infecta-

dos subclínicos en el total de la población investigada asciende al 19,8%. El índice de concordancia se ha estimado en 0,43 ($p < 0,001$), lo que traduce un desacuerdo significativo entre los resultados de los dos métodos diagnósticos.

La estimación del riesgo relativo de enfermar atendiendo a los criterios de laboratorio (casos confirmados mediante coprocultivo) ofreció resultados similares al análisis simple efectuado con la definición de caso probable: el único alimento asociado significativamente ($p=0,01$) con la enfermedad fue la leche frita, con RR:3,91 (IC_{95%}: 1,1-14,3).

DISCUSIÓN

La investigación clínica, epidemiológica y de laboratorio ha permitido el estudio de un brote de gastroenteritis en una residencia de ancianos producido por *Salmonella enterica*, Sub. I, serotipo Enteritidis 1,9,12:g,m: -, fagotipo 1.

La curva epidémica presentó una distribución de casos característica de exposición puntual a un factor. Tanto la tasa de ataque clínico como la de casos confirmados ha sido superior a lo publicado en otros brotes ocurridos en residencias de ancianos¹¹. De los 91 coprocultivos investigados cabe destacar la elevada tasa de infectados asintomáticos (19,8%). Se han producido 5 hospitalizaciones. La evolución clínica ha sido favorable en todos los afectados.

Se ha demostrado la escasa concordancia del diagnóstico clínico frente al de laboratorio. Esto puede explicarse por distinto grado de exposición al alimento implicado o por susceptibilidad individual, o bien debido a errores en la clasificación (casos leves considerados como sanos y coincidencia de otros procesos considerados como casos).

También cabe la posibilidad de influencia entre sustancias consumidas coincidentemente con el alimento implicado. En nuestro estudio no se ha demostrado el efecto

protector de las bebidas alcohólicas, posiblemente por el escaso consumo en esta población y por la baja graduación del vino.

Existe evidencia epidemiológica de que el consumo de leche frita fue el mecanismo de transmisión de la infección, y la conservación inadecuada del alimento por parte de un cocinero aparece como el factor contribuyente determinante en la aparición del brote investigado. La leche frita es un postre de consumo habitual en Castilla y León. Para su elaboración se utiliza leche templada a la que se añade harina, en este caso de maíz. Esta mezcla se deja refrigerada hasta el día siguiente, cuando se trocea y reboza con huevo batido. Posteriormente se fríe y se añade azúcar. Pensamos que es probable que se haya producido una contaminación cruzada entre los alimentos utilizados en la elaboración de la leche frita (mezcla elaborada un día antes del consumo) y útiles o superficies en contacto con carnes utilizadas en la preparación de otros platos preparados en aquellos momentos, como por ejemplo la sopa de aves preparada la noche anterior a la comida sospechosa. Una vez elaborado el postre y hasta su consumo se mantuvo irregularmente, durante más de dos horas, en una estufa a una temperatura aproximada de 40 °C. La conservación del alimento a temperatura inadecuada contribuyó al crecimiento bacteriano y al desencadenamiento del brote. Aunque cabe la posibilidad de transmisión transovárica de *Salmonella*, descartamos los huevos como fuente de infección ya que la inspección e investigación microbiológica efectuada en una muestra de ellos resultó negativa.

Creemos que, aunque es posible la existencia en la investigación de sesgos de selección y de información (mala clasificación de la exposición y de la enfermedad), éstos son de escasa importancia y no afectan a la validez del estudio, pues sobre el total de residentes en la institución se alcanzó un elevado porcentaje de respuesta (89% de los entrevistados) y la clasificación de la exposición no debería haberse afectado, dada la

cercanía de las encuestas al comienzo del brote.

La salmonelosis es un importante problema de Salud Pública y, aunque en el presente brote todos los afectados han presentado una evolución clínica favorable, en determinados grupos de riesgo, como los ancianos, puede acarrear graves consecuencias. El serotipo Enteritidis es el más frecuentemente implicado en brotes comunitarios, probablemente porque está relacionado con el huevo y la carne de pollo. El fagotipo 1 del serotipo Enteritidis es el más frecuentemente responsable de este tipo de brotes¹².

Aunque en nuestro estudio nos inclinamos por la carne de aves como origen de la contaminación cruzada, para el control de la salmonelosis, además de la vigilancia e investigación de los brotes, según las recomendaciones propuestas por la *Food and Drug Administration* de Estados Unidos¹³, sería preciso la identificación de granjas implicadas y la destrucción de los huevos sospechosos, la refrigeración de los huevos desde la puesta hasta el consumo, el cocinado correcto y la educación sanitaria de los manipuladores.

La existencia de manipuladores portadores ha sido raramente responsabilizada en la aparición de este tipo de brotes¹⁴, por lo que las medidas más idóneas para la prevención de enfermedades transmitidas por alimentos son las prácticas y hábitos higiénicos adecuados por parte de todos los implicados en el sector alimentario. En nuestro país el RD 202/2000 de 11 de febrero¹⁵ establece las normas generales de higiene relativas a los manipuladores de alimentos y adopta como terminología de los sistemas de autocontrol los «análisis de peligros y puntos de control críticos».

AGRADECIMIENTOS

A Eduardo Sáez, Director de la Residencia, Elvira Martín, médica de la Residencia, Moisés García, microbiólogo del Hospital

«General Yágüe», Carmen Vilches, Jefa de Sección del Laboratorio del Servicio Territorial de Sanidad y a Ana Aladueña, del Laboratorio de Referencia de Salmonellas del Centro Nacional de Alimentación, por su colaboración en el estudio de este brote.

BIBLIOGRAFÍA

1. Blaser MJ. How safe is our food? Lessons from an Outbreak of Salmonellosis. *N Engl J Med* 1996; 334: 1324-5.
2. Ministerio de Sanidad y Consumo. Análisis de las cepas de *Salmonella* sp aisladas de muestras clínicas de origen humano en España en el año 1997. *Bol Epidemiol Sem* 1998; núm. 13: 129-136.
3. Salmonellosis Associated with a Thanksgiving Dinner. Nevada, 1995. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1996; 45: 1016-1017.
4. Hennessy TW, Hedberg CW, Slutsker L, White KE, Besser-Wiek JM, Moen ME et al. A National Outbreak of *Salmonella* Enteritidis Infections from Ice Cream. *N Engl J Med* 1996; 20: 1281-1286.
5. Chalker RB, Blaser MJ. A review human salmonellosis. III. Magnitude of salmonella infection in the United States. *Rev Infect Dis* 1988; 10: 111-124.
6. Palmer SR. Outbreak investigation: the need for quick and clean epidemiology. *Int J Epidemiol* 1995; 24 Suppl 1: S34-38.
7. Case definitions for Infections Condition under Public Health Surveillance. *MMWR* 1997; 46: núm RR-10.
8. Samet JM and Muñoz A. Evolution of the Cohort Study. *Epidemiol Rev* 1998; 20: 1-14.
9. Reingold AL. Outbreak investigations. A perspective. *Emerg Infect Dis* 1998; 4: 21-27.
10. Bellido JM, González F, Arnedo A, Galiano JV, Safont L, Herrero C, et al. Brote de infección alimentaria por *Salmonella* enteritidis. Posible efecto protector de las bebidas alcohólicas. *Med Clin (Barc)* 1996; 107: 641-644.
11. McCallum A. An outbreak of salmonella enteritidis phage type 5a infection in a residential home for elderly people. *Commun Dis Public Health* 1998 Sep; 1 (3): 172-175.

12. Usera MA, Aladueña A, Díez R, de la Fuente M, Gutierrez R, Cerdán P et al. Análisis de las cepas de *Salmonella* spp. Aisladas de muestras clínicas de origen humano en España en el año 1998. *Bol Epidemiol Sem* 1999; 7: 45-56.
13. Outbreaks of *Salmonella* Serotype Enteritidis Infection Associated with Consumption of Raw Shell Eggs. United States, 1994-1995. *MMWR* 1996; 45: 737-742.
14. Miller SI, Hohmann EL, Pegues DA. *Salmonelas*. En: Mandell Douglas y Bennett. *Enfermedades infecciosas. Principios y Práctica*. 4.ª edición. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 1997, p. 2254-2276.
15. Boletín Oficial del Estado. R.D. 202/2000, de 11 de febrero, por el que se establecen las normas relativas a los manipuladores de alimentos. BOE núm. 48, 25/2/2000.