

Vigilancia epidemiológica y ambiental de criptosporidiosis en Gipuzkoa

Public health surveillance and environmental monitoring of cryptosporidiosis in Gipuzkoa

Vigilância epidemiológica e ambiental de criptosporidiose em Guipúscoa

María Adoración Cortés Alonso, Mikel Iriondo Aguirre, Lorea Álvarez Guerrero, Aintzane Orkaizagirre Gómara, Juncal Arandia Artieda

Subdirección de Salud Pública y Adicciones de Gipuzkoa. Departamento de Salud. Gobierno Vasco.

Cita: Cortés Alonso MA, Iriondo Aguirre M, Álvarez Guerrero L, Orkaizagirre Gómara A, Arandia Artieda J. Rev. salud ambient. 2016; 16(2):111-117.

Recibido: 1 de octubre de 2016. **Aceptado:** 16 de noviembre de 2016. **Publicado:** 15 de diciembre de 2016.

Autor para correspondencia: María Adoración Cortés Alonso.

Correo e: mambien2-san@euskadi.eus
Subdirección de Salud y Adicciones de Gipuzkoa.
Avenida de Navarra, 4. 20013 Donostia.

Financiación: Este grupo no ha contado con ningún tipo de financiación para el desarrollo de su trabajo.

Declaración de conflicto de intereses: Los autores declaran que no existen conflictos de intereses que hayan influido en la realización y la preparación de este trabajo.

Declaraciones de autoría: Todos los autores contribuyeron al diseño del estudio y la redacción del artículo. Asimismo, todos los autores aprobaron la versión final.

Resumen

La criptosporidiosis es una parasitosis de distribución mundial causada por un protozoo del género *Cryptosporidium*. La infección se produce tras la ingestión de oocistas excretados en las heces de animales o humanos. *Cryptosporidium* es uno de los agentes más importantes que causan brotes de origen hídrico y enfermedades diarreicas en todo el mundo, siendo su prevención una prioridad de Salud Pública. Con el propósito de conocer y describir el patrón de presentación de la criptosporidiosis en la población y detectar precozmente los casos para controlar la difusión de la enfermedad, establecer medidas de prevención y evitar brotes, se inició en 2015 la vigilancia activa de esta enfermedad en Gipuzkoa. Este trabajo resume los resultados de la vigilancia epidemiológica, microbiológica y ambiental de criptosporidiosis llevada a cabo en Gipuzkoa y las medidas de control establecidas.

Palabras clave: *Cryptosporidium*; salud pública; vigilancia.

Abstract

Cryptosporidiosis is a worldwide parasitosis caused by protozoa of the genus *Cryptosporidium*. Infection occurs after ingestion of oocysts excreted with human or animal faeces. *Cryptosporidium* is one of the most prevalent agents of waterborne outbreaks and diarrhoeic illness. Therefore, its prevention should be a Public Health priority. In order to find out and describe the cryptosporidiosis occurring pattern, detect cases early, prevent the illness from spreading, take preventive measures and avoid outbreaks, the illness began to be actively surveilled in Gipuzkoa in 2015. This paper sums up all public health and microbiological surveillance and environmental monitoring results and control actions taken in Gipuzkoa.

Keywords: *Cryptosporidium*; public health; surveillance.

Resumo

A criptosporidiose é uma parasitose de distribuição mundial causada por um protozoário do género *Cryptosporidium*. A infeção ocorre através da ingestão de oócitos excretados nas fezes de animais ou de humanos. *Cryptosporidium* é um dos agentes mais

importantes entre os que causam surtos de origem hídrica e doenças diarreicas em todo o mundo, sendo a sua prevenção uma prioridade de Saúde Pública. Com o propósito de conhecer e descrever o padrão de apresentação da criptosporidiose na população e detetar precocemente os casos para controlar a difusão da doença, estabelecer medidas de prevenção e evitar surtos, iniciou-se em 2015 a vigilância ativa desta doença em Guipúscoa. Este trabalho resume os resultados da vigilância epidemiológica, microbiológica e ambiental de criptosporidiose levada a cabo em Guipúscoa e as medidas de controlo estabelecidas.

Palavras-chave: *Cryptosporidium*; saúde pública; vigilância.

INTRODUCCIÓN

El *Cryptosporidium* es un parásito coccidio cuya forma infecciosa -ooquistes- se excreta por las heces humanas y de animales¹. Los genotipos que causan la mayoría de las infecciones en humanos son el "genotipo humano", conocido como *C. hominis* y el "genotipo bovino", para el que se mantiene la denominación de especie *C. parvum*. El reservorio más importante para la enfermedad humana son los seres humanos, el ganado bovino y otros animales domésticos. Los ooquistes de *C. parvum* suelen encontrarse en el intestino del ganado bovino, especialmente de los animales jóvenes y pueden contaminar manantiales, aguas superficiales, depósitos de agua de consumo y alimentos. La fuente de contaminación de *C. hominis*, suelen ser los humanos, bien a través del medio ambiente o directamente por la persona enferma²⁻⁴.

El **cuadro clínico** se caracteriza por una diarrea acuosa que puede acompañarse de dolor abdominal, pérdida de apetito y peso, febrícula, náuseas y vómitos⁵, aunque las infecciones asintomáticas son frecuentes⁶⁻⁹. En individuos sanos generalmente hay una completa recuperación en 2-3 semanas, aunque puede llegar a durar hasta 6 semanas¹⁰. En individuos inmunodeprimidos la enfermedad puede ser grave y duradera.

El **mecanismo de transmisión** es fecal-oral, incluyendo la transmisión de persona a persona, de un animal a una persona y la transmisión de origen hídrico y alimentario^{11,12}. La infección se adquiere por la ingestión de ooquistes de *Cryptosporidium* y la dosis infectiva es baja, la ingestión de 10 a 30 ooquistes puede producir infección en personas sanas^{13,14}. Aunque puede ocurrir de forma esporádica, son cada vez más frecuentes los brotes epidémicos. Se han producido brotes asociados al consumo de agua potable, al uso de aguas recreativas (como piscinas y lagos contaminados) o al consumo de bebidas no tratadas como sidra no pasteurizada y leche cruda, entre otros^{15,16}. Los ooquistes aparecen en heces desde el comienzo de los

síntomas y se excretan hasta varias semanas después de desaparecer las manifestaciones clínicas. Permanecen en el medio ambiente durante meses, ya que están recubiertos de una gruesa pared que los hace resistentes^{17,18}.

La enfermedad se ha descrito en los individuos de todas las edades y sin distinción de sexo, pero los menores de dos años son más susceptibles a la infección, probablemente debido al mayor riesgo de transmisión fecal-oral, a la falta de inmunidad protectora por exposiciones anteriores y a la relativa inmadurez inmunológica¹⁸.

El objetivo del trabajo es doble:

- Investigar la presencia de *Cryptosporidium* en el agua de las piscinas de uso público (definición del Real Decreto 742/2013)¹⁹ de Gipuzkoa frecuentadas por niños y así estimar el riesgo de infección asociado a la natación y al uso recreativo del agua de estas instalaciones.
- Establecer medidas de prevención para evitar la difusión de la enfermedad.

Además, dada la posibilidad de realizar de modo simultáneo la determinación de *Giardia*, se ha realizado también esta determinación.

MÉTODO

VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA

A partir del 1 de marzo de 2015 la Unidad de Epidemiología de la Subdirección de Salud de Gipuzkoa inició la vigilancia de la criptosporidiosis. Para ello se trabajó en colaboración con el Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Donostia y la red de atención primaria de Osakidetza. Para llevar a cabo las inspecciones ambientales y el establecimiento de las medidas de control se coordinaron las intervenciones con los técnicos de Sanidad Ambiental de Gipuzkoa.

Se ha definido **caso confirmado** como aquella persona, residente en Gipuzkoa que presenta, al menos, una de las dos manifestaciones siguientes: diarrea o dolor abdominal con resultado de laboratorio positivo a *Cryptosporidium* en al menos uno de los siguientes criterios:

1. confirmación de ooquistes de *Cryptosporidium* en heces,
2. confirmación de *Cryptosporidium* en muestras biópsicas de jugo intestinal o intestino delgado,
3. detección de ácido nucleico de *Cryptosporidium* en heces,
4. detección de antígenos de *Cryptosporidium* en heces.

Caso probable, es el de la persona que presenta diarrea y tiene nexo epidemiológico con caso confirmado. Se considera **brote** cuando dos o más casos de criptosporidiosis tienen una relación epidemiológica.

El Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Donostia comunica al Servicio de Epidemiología los resultados positivos de *Cryptosporidium*. Un epidemiólogo se coordina con el médico del paciente para recoger información clínica, comunicarle la realización de la encuesta y darle información de medidas higiénicas para el paciente, haciendo especial hincapié en la importancia del lavado de manos y la no utilización de piscinas en un plazo de 15 días desde que remite la diarrea. Se ha diseñado un cuestionario que recoge información correspondiente a las siguientes variables: sexo, edad, localidad de residencia, fecha de inicio de síntomas, síntomas, duración, contactos con caso y exposición a diferentes factores ambientales relacionados con el consumo de agua, asistencia a piscinas, contacto con animales y realización de viajes.

VIGILANCIA AMBIENTAL

Ante la detección de casos que pueden estar relacionados con el uso recreativo del agua, el Servicio de Epidemiología lo comunica a la Unidad de Sanidad Ambiental. Los técnicos realizan una inspección de las instalaciones y una revisión de los registros de autocontrol de las mismas. Si se detectan incidencias que pudieran tener relación con los casos confirmados se comunica a los responsables de la instalación que se debe realizar una limpieza y desinfección exhaustivas, tanto del agua del vaso como de las instalaciones.

El alto número de casos de criptosporidiosis posiblemente relacionados con el uso recreativo del

agua durante el año 2015, así como la frecuencia en la población infantil ha determinado la puesta en marcha una serie de acciones durante 2016.

En primer lugar, se elaboró un **censo** de las piscinas frecuentadas por niños: vasos de chapoteo, infantiles, recreativos y vasos únicos, tanto cubiertos como descubiertos. Los vasos fueron seleccionados por los Técnicos de Salud Pública del Gobierno Vasco y del Ayuntamiento de Donostia-San Sebastián en base a la utilización de los mismos por niños de corta edad. Se seleccionaron 77 vasos, de los cuales 34 son cubiertos y 43 descubiertos, pertenecientes a 66 instalaciones diferentes.

Una vez seleccionados los vasos, en coordinación con el Laboratorio de Salud Pública de Gipuzkoa se preparó el calendario para la toma de muestras, comenzando en los meses de julio, agosto y septiembre con las piscinas descubiertas. Los vasos cubiertos se muestrearán a partir de noviembre del presente año. Se toma una muestra de 10 litros de agua el propio vaso, en una zona donde se remueva agua del fondo y se envía al Laboratorio de Salud Pública de Gipuzkoa donde se procesa.

MÉTODO ANALÍTICO

El aislamiento de ooquistes de *Cryptosporidium* y quistes de *Giardia* a partir de muestras de agua requiere concentrar la muestra mediante filtración, utilizando filtros Pall Envirocheck™ HV. Tras la concentración, se aíslan los ooquistes de *Cryptosporidium* y quistes de *Giardia* por separación inmunomagnética (IMS), que consiste en la adhesión de los ooquistes y quistes a perlas paramagnéticas recubiertas con anticuerpo específico y su posterior disociación de las perlas, empleando una solución ácida que deberá neutralizarse antes de la inmunotinción. Después de la IMS los organismos se fijan en un porta y se tiñen con anticuerpos monoclonales (mAb) conjugados a un fluorocromo (FITC), normalmente isocianato de fluoresceína y con la solución 4,6-diamino-2-fenilindol (DAPI), tinción que permite observar el material nuclear. El recuento se realiza observando las tinciones en un microscopio con módulo de epifluorescencia^{20,21}.

MEDIDAS PREVENTIVAS

Los ooquistes son resistentes a la mayoría de los métodos tradicionales de desinfección que se aplican a las aguas de recreo y atraviesan muchos de los filtros utilizados en las plantas de tratamiento. Algunos métodos como la ósmosis inversa, el ozono o el tratamiento con radiación ultravioleta se han descrito como más eficaces que la cloración en la eliminación de los ooquistes^{22,23}. Sin embargo, su alto coste y las altas dosis necesarias hacen

difícil su utilización en las instalaciones públicas. Por ello, la prevención de la exposición es la única medida realmente eficaz en el control de la criptosporidiosis.

Con el fin de dar a conocer estas medidas preventivas a los usuarios de las instalaciones, desde la Unidad de Sanidad Ambiental de la Subdirección de Salud de Gipuzkoa se ha elaborado un cartel informativo, que se ha distribuido en las piscinas de uso público de todo el territorio histórico. Este cartel (figura 1) contiene recomendaciones sobre medidas preventivas higiénicas aplicables frente a cualquier enfermedad de posible transmisión en este medio.

En esta misma línea de difusión de la información se ha

propuesto la realización de una jornada informativa, en colaboración con el Servicio de deportes de la Diputación Foral de Gipuzkoa, destinada a los responsables y técnicos de mantenimiento de las instalaciones que está prevista para principios de 2017.

RESULTADOS

RESULTADOS DE LA VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA

Entre el 1 de marzo y el 31 de diciembre de 2015 se notificaron 232 resultados positivos de *Cryptosporidium* en heces. Se descartaron 10 por no cumplir la definición de caso. La presentación temporal de los casos se presenta en la figura 2.

Figura 1. Cartel con recomendaciones sobre medidas preventivas higiénicas aplicables frente cualquier enfermedad por el baño

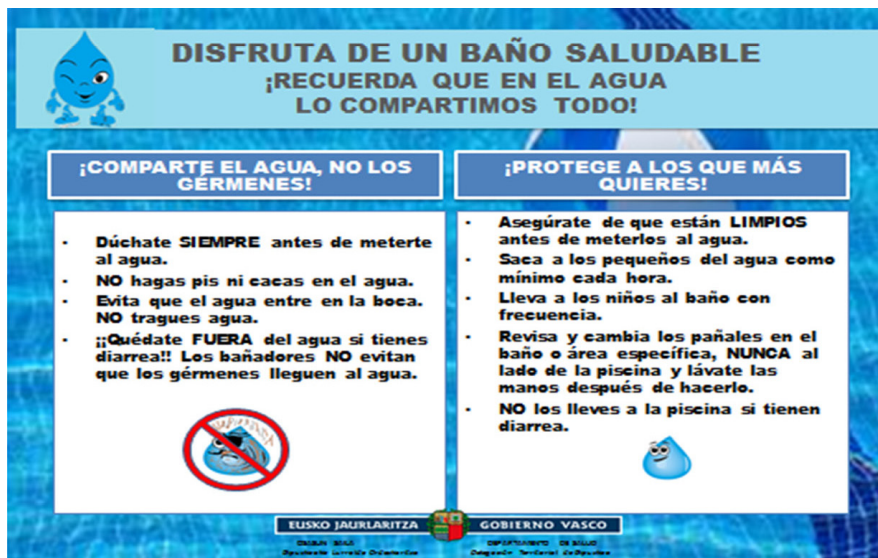
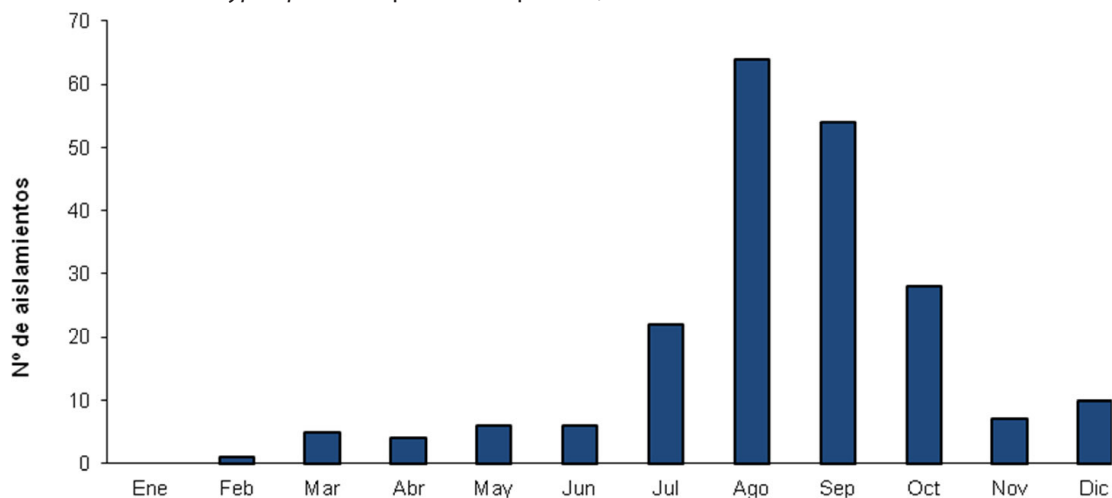


Figura 2. Notificación de *Cryptosporidium* por mes. Gipuzkoa, 2015



Se realizó la encuesta a 194 pacientes, 88 % del total, obteniéndose los datos que se recogen en la tabla 1.

Los casos se distribuyeron por toda Gipuzkoa: 112 Donostialdea, 23 Goierri, 19 Bidasoa, 13 Tolosaldea, 10 Bajo Deba y 1 Alto Deba. La frecuencia de los síntomas se detalla en la tabla 2. El síntoma más frecuente fue la diarrea y el rango de días de duración osciló entre 1 y 60 con una mediana de 12.

A 11 casos se les dio tratamiento farmacológico y de la totalidad de afectados 10 precisaron de ingreso hospitalario. En 29 coprocultivos positivos a *Cryptosporidium* spp., se asoció otro germen: en 11 fue *Giardia*, en 9 fue *Campylobacter* y en un caso se presentó una agrupación de 3 microorganismos.

El Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Donostia llevó a cabo la investigación de los genotipos de *Cryptosporidium* circulantes en Gipuzkoa. El 90 % de los casos se debieron al genotipo humano *C. hominis*, subtipo IbA10G2R2.

La información obtenida puso de manifiesto la existencia de 54 casos agrupados, con un rango entre 2 y 7 casos por agrupación. En una ocasión 7 afectados compartían localidad de residencia y hacían uso de la misma piscina. En dos agrupaciones escolares de 4 niños de preescolar cada una, se intervino en los centros escolares recomendando la intensificación de las medidas higiénicas y haciendo seguimiento de la situación.

En relación a los **factores de riesgo**, 59 tenían el antecedente de haber acudido a piscinas de Gipuzkoa durante el periodo de incubación y 53 a piscinas de fuera de Gipuzkoa (tabla 3). Entre los afectados asistentes a piscinas municipales de Gipuzkoa, el mayor porcentaje de casos fue esporádico y se detectaron 3 agrupaciones, 2 de 5 casos y 1 de 3. El 85 % de los casos que utilizaron piscinas fuera de Gipuzkoa se dieron en los meses de agosto y septiembre. En 22 casos la encuesta informó que el afectado había tenido contacto con animales, y en relación al antecedente de viaje solamente 10 personas manifestaron haber estado en el extranjero durante el periodo de incubación. En 50 casos no se identificó factor de riesgo.

Tabla 1. Datos encuesta epidemiológica. Gipuzkoa 2015

Casos totales	Casos encuestados	Sexo encuestados	Edad encuestados	Gérmenes asociados Casos totales
222	194 casos: 177 confirmados 17 probables	95 hombres 99 mujeres	Rango: 3 meses - 74 años Mediana: 4 años	29 casos: 11 <i>Giardia</i> 9 <i>Campylobacter</i> 9 otros

Tabla 2. Síntomas de los casos de criptosporidiosis. Gipuzkoa 2015

Síntomas	Frecuencia	Nº máximo de episodios/día	Duración días	Observaciones
Diarrea	177 (91 %)	Rango: 1 - 30 Mediana: 4	Rango: 1 - 60 Mediana: 12	Heces líquidas el 68 % y el 12 % con moco y/o sangre
Dolor abdominal	119 (61 %)			
Vómitos	71 (36 %)	Rango: 1 - 15 Mediana: 2	1 - 20 días	
Fiebre	58 (30 %)			

Tabla 3. Factores de riesgo. Gipuzkoa 2015

Piscina Gipuzkoa	Piscina No Gipuzkoa	Contacto Animales	Viaje al extranjero	Desconocido
59 (30,4 %)	53 (27,3 %)	22 (11,3 %)	10 (5,1 %)	50 (25,7 %)

RESULTADOS DE LA VIGILANCIA AMBIENTAL

La mayoría de los casos en los que se ha sospechado una transmisión hídrica recreativa han sido esporádicos, sin embargo existieron 3 agrupaciones con antecedente de uso de tres piscinas públicas en Gipuzkoa, dos con vasos cubiertos y uno descubierto. En todos ellos se ha procedido a la revisión de las instalaciones y los registros de autocontrol.

La toma de muestras en piscinas descubiertas se inició en junio de 2016 y ha finalizado en septiembre. Se han recogido 43 muestras y todas ellas han resultado negativas para *Giardia*. Se ha detectado presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* en dos vasos de chapoteo de dos instalaciones diferentes. Las dos muestras positivas fueron recogidas a principios de septiembre. Se ha programado el muestreo de los vasos cubiertos a partir de noviembre de 2016.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos de la vigilancia de la criptosporidiosis en Gipuzkoa han permitido conocer el patrón de presentación de esta enfermedad, la caracterización de los casos en relación a la edad, así como la estacionalidad (más frecuente a finales de verano) lo que concuerda con lo publicado en los informes CDC (Centers for Disease Control and Prevention. U.S. Department of Health and Human Services)²⁴.

A tenor de las publicaciones, la criptosporidiosis es una zoonosis emergente y constituye un riesgo para la salud, aspecto que determina la importancia de continuar con la vigilancia de esta enfermedad, la identificación de la exposición de riesgo y la toma de medidas de control. Es importante destacar que desde 2015 la criptosporidiosis se considera una enfermedad de declaración obligatoria en el estado español²⁵. Datos preliminares del seguimiento epidemiológico realizado en 2016 apuntan hacia una disminución de los casos comunicados. Aunque es prematuro asumir este descenso y valorar la eficacia de las medidas preventivas, sí se considera esencial mantener la vigilancia e insistir en la importancia de las buenas prácticas de higiene y desinfección tanto en centros escolares como en las instalaciones deportivas para evitar la transmisión de este microorganismo.

Los resultados del genotipado realizado en el Hospital Universitario Donostia (90 % *C. hominis*) sugieren la transmisión entre humanos como principal fuente de infección. Estos datos subrayan la necesidad de que la población conozca la posible transmisión de enfermedades relacionadas con el uso recreativo del

agua y adopten los hábitos saludables necesarios para disminuirla como son, entre otros, no hacer uso de las piscinas cuando existe un proceso gastroentérico, no tragar agua de la piscina o extremar la higiene personal tanto de los adultos como de los niños cuando se acuda a una instalación pública.

Respecto a la toma de muestras, se ha evidenciado la necesidad de recoger una mayor cantidad de muestra de agua en los vasos, ya que la baja concentración de ooquistes dificulta la detección en el laboratorio. Por ello, para el muestreo de los vasos cubiertos se realizará el filtrado en el propio vaso de un volumen de 50-100 litros de agua. El filtro se procesará posteriormente en el laboratorio.

BIBLIOGRAFÍA

1. Hlavsa MC, Roberts VA, Kahler AM, et ál. Recreational water-associated disease—United States, 2009–2010. *Morb. Mortal Wkly. Rep.* 2014; 63:6-10.
2. Xiao L, Fayer R, Ryan U, Upton SJ. *Cryptosporidium* taxonomy: recent advances and implications for public health. *Clin. Microbiol. Rev.* 2004; 17:72-97.
3. Xiao L. Molecular epidemiology of cryptosporidiosis: an update. *Exp. Parasitol.* 2010; 124:80-9.
4. Chalmers RM, Smith R, Elwin K, et ál. Epidemiology of anthroponotic and zoonotic human cryptosporidiosis in England and Wales, 2004-2006. *Epidemiol. Infect.* 2011;139:700-12.
5. Warren C, Guerrant R. Clinical Disease and Pathology. In: Fayer R, Xiao L, editors. *Cryptosporidium* and *Cryptosporidiosis*. 2nd ed. Boca Raton, FL: CDC Press; 2008. 235-54.
6. Hellard ME, Sinclair MI, Hogg GG, Fairley CK. Prevalence of enteric pathogens among community based asymptomatic individuals. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2000; 15: 290-3.
7. Pettoello-Mantovani M, Di Martino L, Dettori G, et ál. Asymptomatic carriage of intestinal *Cryptosporidium* in immunocompetent and immunodeficient children: a prospective study. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1995; 14:1042-7.
8. Davies AP, Campbell B, Evans MR, et al. Asymptomatic carriage of protozoan parasites in children in day care centers in the United Kingdom. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2009; 28:838-40.
9. Horman A, Korpela H, Sutinen J, et ál. Meta-analysis in assessment of the prevalence and annual incidence of *Giardia* spp. and *Cryptosporidium* spp. infections in humans in the Nordic countries. *Int. J. Parasitol.* 2004;34:1337-46.
10. Hunter PR, Hughes S, Woodhouse S, et ál. Health sequelae of human cryptosporidiosis in immunocompetent patients. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America.* 2004; 39:504-10.

11. Roy SL, DeLong SM, Stenzel SA, et ál. Risk factors for sporadic cryptosporidiosis among immunocompetent persons in the United States from 1999 to 2001. *J. Clin. Microbiol.* 2004; 42:2944-51.
12. Robertson B, Sinclair MI, Forbes AB, et ál. Case-control studies of sporadic cryptosporidiosis in Melbourne and Adelaide, Australia. *Epidemiol. Infect.* 2002;128: 419-31.
13. Chappell CL, Okhuysen PC, Langer-Curry R, et ál. *Cryptosporidium hominis*: experimental challenge of healthy adults. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2006; 75:851-7.
14. Okhuysen PC, Chappell CL, Crabb JH, et ál. Virulence of three distinct *Cryptosporidium parvum* isolates for healthy adults. *J. Infect. Dis.* 1999; 180:1275-81.
15. CDC. Swimming-associated cryptosporidiosis—Los Angeles County. *Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 1990; 39:343-5.
16. Sorvillo FJ, Fujioka K, Nahlen B, et ál. Swimming-associated cryptosporidiosis. *Am. J. Public Health* 1992; 82:742-4.
17. Shields JM, Hill VR, Arrowood MJ, Beach MJ. Inactivation of *Cryptosporidium parvum* under chlorinated recreational water conditions. *J. Water Health* 2008; 6:513-20.
18. Rodríguez JC, Royo G. *Cryptosporidium* y criptosporidiosis. SEIMC, 2001. [citado 23/11/2016] Disponible en: www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/parasitologia/crypto.pdf.
19. Real Decreto 742/2013, de 27 de septiembre por el que se establecen los criterios técnico-sanitarios de las piscinas. BOE nº 244, de 11 de octubre.
20. ISO 15553: 2006. Water quality- Isolation and identification of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts from water. Geneva:ISO. 2006.
21. Environment Agency U.K. The Microbiology of Drinking Water (2010) - Part 14- Methods for the isolation, identification and enumeration of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts. [citado 23/11/2016] Disponible en: https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/316766/Part_14-oct20-234.pdf.
22. Murphy JL, Haas CN, et ál. Efficacy of Chlorine Dioxide Tablets on Inactivation of *Cryptosporidium* Oocysts. *Environ. Sci. Technol.* 2014; 48(10):5849-56.
23. García Tapia AM, Fernández Gutiérrez del Álamo C, López García C, et ál. Brotes epidémicos de criptosporidiosis. SEIMC, 2004. [citado 23/11/2016] Disponible en: www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/parasitologia/Brotcripto.pdf.
24. Painter JE, Hlavsa MC, Collier SA, et ál. Cryptosporidiosis Surveillance — United States, 2011–2012. *Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 2015; 64(SS03):1-14.
25. Orden SSI/445/2015, de 9 de marzo, por la que se modifican los anexos I, II y III del Real Decreto 2210/1995, de 28 de diciembre, por el que se crea la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica, relativos a la lista de enfermedades de declaración obligatoria, modalidades de declaración y enfermedades endémicas de ámbito regional. BOE nº 65, de 17 de marzo.