



Boletín Médico del Hospital Infantil de México

www.elsevier.es/bmhim



TEMA PEDIÁTRICO

Diseño de estudios clínicos y causalidad: ¿la vacuna oral contra rotavirus causa invaginación intestinal?



María Fernanda Castilla-Peón^{a,*}, Juan C. Ramírez-Sandoval^b,
Hortensia Reyes-Morales^c y Alfonso Reyes-López^c

^a Departamento de Ediciones Médicas, Hospital Infantil de México Federico Gómez, México D.F., México

^b Departamento de Nefrología y Metabolismo Mineral, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, México D.F., México

^c Dirección de Investigación, Hospital Infantil de México Federico Gómez, México D.F., México

Recibido el 14 de septiembre de 2015; aceptado el 15 de septiembre de 2015

Disponible en Internet el 16 de octubre de 2015

PALABRAS CLAVE

Diseños de investigación;
Causalidad;
Ensayos clínicos;
Cohortes;
Casos y controles;
Transversal

KEYWORDS

Research designs;
Causality;
Clinical trial;
Cohort;
Case-control;
Cross-sectional

Resumen Los diseños de investigación clínica, cuyo propósito es responder preguntas sobre causalidad, se pueden clasificar en relación con cuatro ejes: el número de grupos de estudio, la aplicación de una maniobra experimental, la direccionalidad causa-efecto y la fuente de la que se recaban los datos. Los diseños básicos más utilizados en epidemiología son el ensayo clínico, el estudio de cohortes, el estudio de casos y controles y la encuesta transversal. Este texto pretende facilitar la identificación y comprensión de cada uno de estos diseños mediante ejemplos relacionados con la asociación entre la vacunación con rotavirus y la invaginación intestinal.

© 2015 Hospital Infantil de México Federico Gómez. Publicado por Masson Doyma México S.A. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Clinical research design and causality: does oral rotavirus vaccine cause intussusception?

Abstract Design of clinical research whose purpose is to answer questions about causality can be classified in relation to four axes: the number of study groups, the implementation of an experimental maneuver, cause-effect directionality and source from which the data are collected. The basic designs used in epidemiology are the clinical trial, the cohort study, the

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: fernandacastillapeon@gmail.com (M.F. Castilla-Peón).

case-control study and the cross-sectional survey. This text aims to facilitate the identification and understanding of each of these designs through examples related to the association between rotavirus vaccination and intussusception.

© 2015 Hospital Infantil de México Federico Gómez. Published by Masson Doyma México S.A. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

1. Introducción

En octubre de 1998 se utilizó la primera vacuna contra rotavirus (Rotashield®) en los Estados Unidos. En julio de 1999 se habían reportado 15 casos de invaginación intestinal posteriores a la aplicación de la vacuna. Ante la posible asociación entre la vacunación y este evento adverso, en octubre de 1999, el US Advisory Committee on Immunization Practices y los Centers for Disease Control retiraron su recomendación para la aplicación de la vacuna contra rotavirus, y la farmacéutica voluntariamente cesó su producción. Pasaron 8 años para que estuvieran disponibles nuevas vacunas contra rotavirus¹.

La pregunta *¿la vacuna oral contra rotavirus causa invaginación intestinal?* ha intentado resolverse de distintas formas. En el 2015 siguen publicándose trabajos con este objetivo, ya que las conclusiones de los diferentes estudios han sido contradictorias.

Se ha escrito mucho sobre la teoría de la causalidad, en general, y sobre la causalidad de los fenómenos relacionados con la salud, en particular. No es la intención de este escrito profundizar en la filosofía de la causalidad; sin embargo, sí se pueden señalar algunos de los criterios más aceptados en epidemiología para asumir que la asociación entre dos eventos es de naturaleza causal, es decir, que una variable independiente tiene un efecto o modifica la variable dependiente.

La variable independiente corresponde a la causa o factor de riesgo en estudio mientras que la variable dependiente corresponde al efecto o desenlace que se investiga. Algunos de estos criterios de causalidad son: 1) la asociación estadística entre la variable independiente y la variable dependiente; 2) la secuencia temporal entre las variables (que la independiente preceda a la dependiente o no, respectivamente); 3) la experimentación (que la variable dependiente se modifique o no si el investigador la expone a la variable independiente), y 4) la relación dosis-respuesta (a mayor magnitud de la variable independiente, mayor magnitud en el cambio de la dependiente)². Los dos primeros criterios, la asociación estadística y la secuencia temporal, son necesarios para establecer la relación causal, de tal manera que sin estas dos condiciones se asume que el evento independiente no es causa del evento dependiente. Por otra parte, la evidencia experimental es, por sí sola, la mejor evidencia de la relación causal entre dos fenómenos.

Ya sea desde el punto de vista del clínico que revisa críticamente la literatura científica o del investigador que planea un proyecto para contestar una pregunta, lo primero que debe hacerse es identificar el diseño del estudio de investigación.

El *diseño* de un estudio es la estructura lógica que se utiliza para la construcción del proyecto con el fin de aportar elementos que satisfagan los criterios de causalidad antes mencionados. Existen diversos tipos de diseños de investigación, cada uno con diferente capacidad para aportar evidencia sobre la asociación causal entre dos fenómenos. A continuación se citan cinco trabajos de investigación clínica cuyo objetivo fue aportar evidencia sobre la relación causal entre la vacunación contra rotavirus y la invaginación intestinal.

2. Estudios de investigación clínica para establecer la causalidad entre vacunación contra rotavirus y la invaginación intestinal

2.1. Estudio 1

Fueron identificados todos los casos de invaginación intestinal reportados al Sistema de Reportes de Eventos Adversos Asociados a Vacunación. De 98 casos reportados de invaginación, el 87% habían recibido una dosis previa de vacuna de rotavirus, el 56% fue tratado con cirugía, hubo una mediana de 4 días entre la vacunación y la invaginación, la mediana de edad de los casos fue de 4 meses, la mediana de los días de estancia hospitalaria fue de 2 y el 2% de los pacientes falleció³.

Arquitectura del estudio: descriptivo, observacional, sin direccionalidad causa-efecto y retrolectivo.

Diseño del estudio: encuesta transversal.^a

2.2. Estudio 2

Se identificaron, mediante la revisión de registros médicos y radiológicos, a los niños entre 1 y 12 meses de edad de 19 estados de los Estados Unidos que habían sido hospitalizados por invaginación intestinal entre 1998 y 1999. Por cada niño con invaginación fueron seleccionados 4 niños de la misma edad y nacidos en el mismo hospital, y fue recabada la historia de vacunación de todos los niños con el proveedor de salud. El 17% de los 429 niños con invaginación y el 13% de los 1,763 niños sin invaginación habían recibido la vacuna contra rotavirus⁴.

^a El trabajo citado comprendió varios abordajes, incluyendo una parte longitudinal y comparativa (serie de casos). Fue simplificado y se presentó, con fines didácticos, solo una de sus partes, para ilustrar un diseño descriptivo y transversal.

Arquitectura del estudio: comparativo, observacional, transversal, direccionalidad del efecto a la causa, retrolectivo.

Diseño del estudio: casos y controles.

2.3. Estudio 3

De 2006 a 2008 se aplicaron 207,621 vacunas contra rotavirus (RotaTeq®, Merck) a niños entre 4 y 48 semanas de edad. Fueron registrados los efectos adversos durante los siguientes 30 días a la aplicación de la vacuna. Se encontraron cinco casos de invaginación intestinal. De acuerdo con los datos históricos, se esperaban 6.75 casos⁵.

Arquitectura del estudio: comparativo, observacional, direccionalidad de la causa al efecto, ambilectivo.

Diseño del estudio: cohorte.

2.4. Estudio 4

Fueron aleatorizados 68,038 niños. Un grupo recibió tres dosis de vacuna contra rotavirus y otro, placebo. La maniobra fue cegada. Fue realizada vigilancia activa para identificar efectos adversos. Al cabo de un año de la primera dosis, ocurrió invaginación en 12 de los niños que recibieron la vacuna y en 15 de los que recibieron placebo⁶.

Arquitectura del estudio: comparativo, experimental, direccionalidad de la causa al efecto, prolectivo.

Diseño del estudio: ensayo clínico aleatorizado.

2.5. Estudio 5

Fueron incluidos niños de 4 a 34 semanas de edad que recibieron al menos una dosis de vacuna contra rotavirus RotaTeq® (RV5) entre 2006 y 2010. Se identificaron los casos de invaginación intestinal durante los 30 días posteriores a la vacunación mediante la revisión de los diagnósticos capturados en hospitalización, servicio de urgencias o consulta externa. Se comparó la incidencia de invaginación en este grupo de niños contra la incidencia de invaginación en los niños que recibieron otras vacunas, pero ninguna contra rotavirus durante el mismo periodo de estudio. Se encontraron 14 casos de invaginación en los 30 días posteriores a la aplicación de 786,725 dosis de RV5 y ocho casos después de 389,026 aplicaciones de otras vacunas⁷.

Arquitectura del estudio: comparativo, observacional, direccionalidad de la causa al efecto, prolectivo.

Diseño del estudio: cohorte

3. Ejes para clasificar un diseño de investigación clínica

Los diseños de investigación se han clasificado de distintas maneras. A. R. Feinstein propuso una clasificación "arquitectónica" en la que cada estudio se cataloga de acuerdo con cinco ejes⁸. La siguiente es una versión modificada de esta clasificación.

3.1. Eje 1. Número de grupos de estudio: descriptivo vs. comparativo

Un estudio es descriptivo si comprende un solo grupo; es comparativo si la variable dependiente se contrasta entre dos o más grupos. Algunos autores utilizan el calificativo *analítico* para referirse a los estudios comparativos, ya que el propósito de estos es hacer inferencias sobre la asociación entre variables y probar hipótesis⁹. Con un estudio descriptivo es imposible estimar el grado de asociación entre la causa y el efecto; solamente se puede caracterizar el fenómeno y, si es longitudinal, observar la secuencia temporal de los eventos.

El estudio 1 es de tipo descriptivo ya que solo reporta datos en el grupo de niños vacunados. El resto de los estudios son comparativos ya que incluyen datos de al menos dos grupos de niños. En el estudio 3, si bien el grupo comparativo no fue simultáneo, sí se comparó la variable dependiente (invaginación) con la de otro grupo de niños de características similares que no habían sido vacunados y que existió en el pasado (a este grupo se le llama una cohorte histórica). En ocasiones, el grupo comparativo puede estar conformado por el mismo grupo de sujetos en diferentes momentos en el tiempo.

3.2. Eje 2. Asignación de una maniobra experimental: observacional vs. experimental

Este eje se refiere a la existencia de una intervención *diseñada* por el investigador con el fin de evaluar su efecto. Cuando el investigador somete a uno o más grupos de estudio a una intervención diseñada *ex profeso* para el estudio y es él quien decide qué sujetos se someterán a esta intervención, estamos ante un estudio de tipo experimental. Si los sujetos no son sometidos a ningún procedimiento asignado por el investigador, estamos ante un estudio *observacional*. En algunas ocasiones, los sujetos de estudio han sufrido intervenciones como parte de su historia o evolución durante el estudio, pero estas no han sido decididas por el investigador sino por alguien ajeno al proyecto, por ejemplo, su médico tratante; en este caso, el estudio no es experimental sino observacional.

De los estudios presentados anteriormente, solamente el estudio 4 es experimental y el resto son observacionales. Nótese que en los estudios 1, 2, 3 y 5 los sujetos también recibieron la vacuna contra rotavirus, pero a diferencia del estudio 4 el investigador no fue quien decidió aplicarla ni a quiénes aplicarla; en estos estudios, los sujetos recibieron la vacuna como parte de su atención médica.

3.3. Eje 3. Conformación de los grupos de estudio según la direccionalidad entre causa-efecto: cohorte, casos y controles o encuesta transversal

Al diseñar un estudio para probar una hipótesis sobre la asociación causal entre dos variables, se puede optar entre tres formas de reclutar a los participantes¹⁰. La primera es reclutar dos grupos, uno que esté expuesto a la presunta causa y otro que no lo esté; después de cierto tiempo se compara cuál de los grupos presenta una mayor frecuencia o

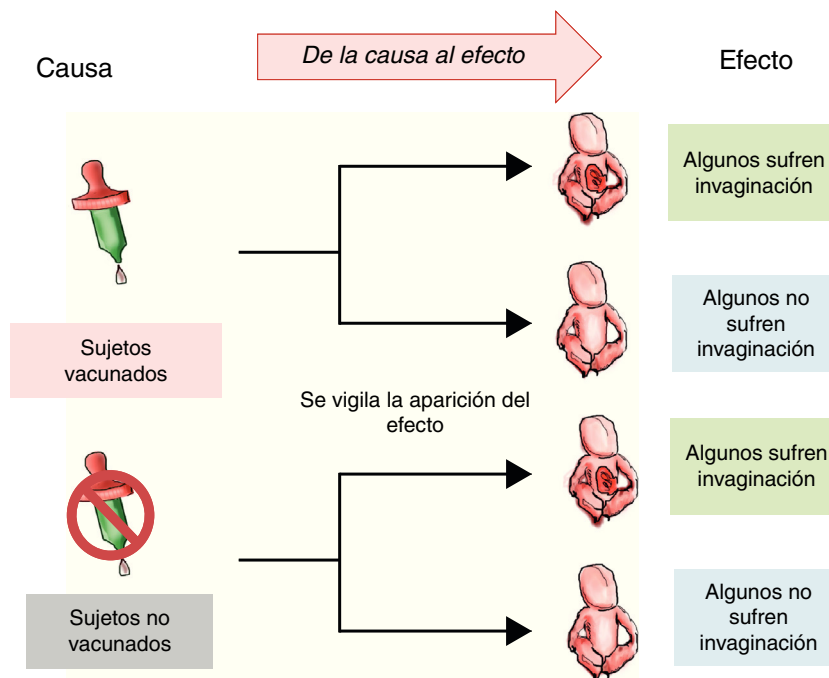


Figura 1 Diseño de cohortes. Los grupos de estudio se definen por la exposición a la causa, en este caso la vacunación, y se vigila la aparición del efecto, la invaginación.

intensidad del efecto. Este es un estudio con *direccionalidad de la causa al efecto* y cada uno de los grupos que se comparan se denomina cohorte (del latín *cohors*: séquito, agrupación). Una cohorte es un conjunto de sujetos que comparten cierta característica en un mismo momento y que son observados a lo largo del tiempo. Por eso, los estudios que dan seguimiento a dos o más grupos de sujetos definidos por su grado de exposición y comparan el desarrollo de un evento (efecto) a lo largo del tiempo, se denominan *estudios de cohortes* (Figura 1).

Los investigadores también pueden optar por formar dos grupos de estudio, no de acuerdo con la exposición sino de acuerdo con el efecto; es decir, reclutar un grupo que presente el efecto o la enfermedad y otro grupo que no lo presente, para evaluar cuál de los dos grupos tuvo mayor exposición al factor de riesgo. Este es un estudio con *direccionalidad del efecto a la causa*. El grupo que presenta el efecto se denomina grupo de casos, y el grupo que no presenta el efecto buscado se llama grupo de controles. Por eso este tipo de estudios se conocen como estudios de *casos y controles* (Figura 2).

En ocasiones, cuando no se tienen pistas sobre cuál es la posible causa y el posible efecto, no se puede establecer una direccionalidad causa-efecto. En estos casos, se recluta un solo grupo de estudio: una población o una muestra representativa de esta y se miden diversas variables en todos los sujetos. A este tipo de estudio se le conoce como *encuesta transversal*¹¹, *estudio transversal analítico*, o simplemente *estudio transversal* (en inglés, *cross-sectional study*)¹⁰.

De los cinco ejemplos anteriores, el estudio 2 tiene direccionalidad del efecto a la causa, pues reclutó a los participantes en el momento del desenlace —la invaginación o no invaginación—, y posteriormente fue recabado el historial de vacunación, la presunta causa de la invaginación. Los estudios 3 a 5 son estudios con direccionalidad de causa a

efecto, pues todos reclutan los pacientes al momento de la exposición (vacunación), y a partir de ese momento se les da seguimiento hasta la aparición del desenlace (invaginación). En el estudio 1 no se observa direccionalidad causa-efecto, pues es un estudio transversal.

3.4. Eje 4. Fuente de donde se recaban los datos: retrolectivo vs. prolectivo

Existen dos formas de recabar los datos para un estudio. *Después* de la planeación del estudio directamente de la *fuentes primarias*; por ejemplo, mediante el interrogatorio a los sujetos o la realización de estudios de laboratorio o gabinete solicitados *ex profeso* para el estudio. En este caso se trata de un estudio *prolectivo*. Otras veces, los datos se obtienen de *fuentes secundarias* existentes *antes* de realizar el proyecto, y generalmente con información registrada con fines distintos al estudio, como expedientes, registros o bases de datos, estos estudios son *retrolectivos*. Algunos proyectos pueden incluir datos tomados tanto de fuentes primarias como de fuentes secundarias, y en tal caso son *ambilectivos*.

Se debe notar que, en general, cada uno de estos ejes es independiente uno de otro. Si bien un estudio de cohortes siempre tiene direccionalidad causa-efecto y frecuentemente es prolectivo, también puede ser retrolectivo. Las cohortes retrolectivas se denominan también *cohortes históricas*. Los estudios de casos y controles son generalmente retrolectivos, pero también pueden ser prolectivos.

La clasificación propuesta tiene el objetivo de proporcionar un marco teórico y un mapa conceptual para la mejor comprensión de la estructura lógica de los diseños de investigación clínica sobre causalidad. Sin embargo, para fines prácticos y específicamente para fines de publicación, se

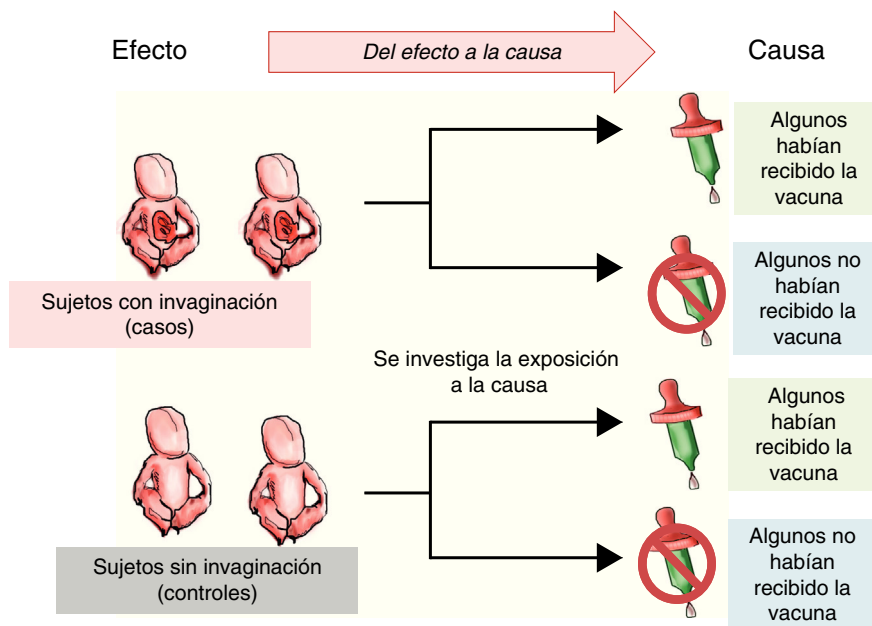


Figura 2 Diseño de casos y controles. Los grupos de estudio se definen por la presentación del efecto (invaginación), y se investiga si estuvieron o no expuestos a la causa (vacuna).

reconocen cuatro tipos básicos de diseños de investigación clínica sobre causalidad. En orden decreciente en cuanto a su capacidad para aportar evidencia sobre causalidad, estos cuatro tipos son: ensayos clínicos, cohortes, casos y controles y transversales. Estos son modelos básicos y cada uno tiene múltiples variantes. A continuación se señalan las características esenciales de cada uno, para poder identificarlos fácilmente (Figura 3).

4. Diseños básicos de investigación clínica sobre causalidad

4.1. Ensayo clínico

Es un estudio comparativo, experimental, con direccionalidad causa-efecto. En los ensayos clínicos de mayor calidad,

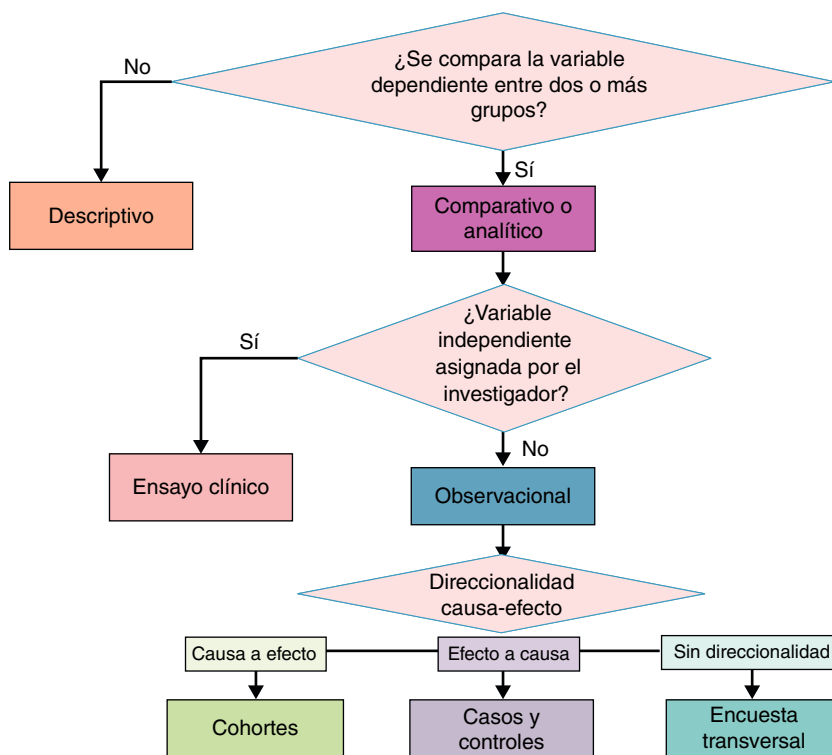


Figura 3 Clasificación de los diseños básicos de investigación clínica.

la maniobra experimental es asignada de forma aleatoria y ciega a los sujetos de estudio. Los ensayos clínicos en los que la maniobra no es asignada aleatoriamente también se conocen como *cuasi-experimentales*. El ensayo clínico es el diseño que permite aportar la mayor evidencia sobre una relación causal entre dos fenómenos, particularmente si es aleatorizado y ciego. Sin embargo, no todos los fenómenos pueden ser estudiados con un ensayo clínico debido a las implicaciones éticas, logísticas y financieras.

4.2. Estudios observacionales

4.2.1. Estudios de cohortes

Si bien existen estudios de cohorte descriptivos, es decir, formados por un solo grupo de sujetos o cohorte, por ejemplo, con el fin de estimar la incidencia de un evento o describir la historia natural de la enfermedad, un *estudio de cohortes* generalmente se refiere a un estudio observacional en el que se comparan dos o más cohortes definidas por el grado de exposición al factor de riesgo en estudio. En literatura anglosajona en ocasiones se usan como sinónimos de estudio de cohorte los términos *longitudinal* y *prospective study*. Se prefiere no utilizar esta terminología ya que genera confusión con otras acepciones de estos términos.

Después del ensayo clínico, el estudio de cohortes es el que mayor evidencia aporta sobre la relación causal entre dos fenómenos. Tiene las ventajas, respecto al estudio de casos y controles, de que la exposición puede documentarse con exactitud, así como la relación temporal entre la causa y el efecto. Además, se pueden estudiar varios efectos de una misma exposición y es útil para estudiar exposiciones poco frecuentes. En comparación con el estudio de casos y controles, el estudio de cohortes tiene la desventaja de requerir más tiempo, y generalmente más presupuesto para su realización, y la de ser poco eficiente para efectos poco frecuentes.

4.2.2. Estudios de casos y controles

Son estudios observacionales en los que se compara la frecuencia de exposición a un factor de riesgo entre un grupo de enfermos y un grupo de no enfermos. En literatura anglosajona en ocasiones se utiliza el término *retrospective study* como sinónimo.

Los estudios de casos y controles tienen la ventaja de requerir menos tiempo y menos presupuesto que los ensayos clínicos y que los estudios de cohortes. Sin embargo, tienen la desventaja de ser más susceptibles a diversos sesgos, por lo que la calidad de la evidencia sobre una relación causal es menor con respecto a los dos diseños mencionados previamente. Son particularmente útiles para enfermedades raras pero son ineficientes para exposiciones poco frecuentes.

4.2.3. Estudios transversales

Los estudios transversales recaban datos en un solo punto en el tiempo. Dependiendo de si se forma uno o más grupos, el estudio puede ser de dos tipos:

a) Transversal descriptivo. Se utilizan generalmente para estimar parámetros (frecuencias, medias, etcétera) de alguna variable en una población.

b) Transversal comparativo (analítico). En estos estudios los parámetros son calculados en dos o más grupos, y por lo tanto se pueden calcular medidas de asociación y diferencias entre las frecuencias, medias o medianas de una variable entre los grupos.

En cuanto a la capacidad para demostrar causalidad, los estudios transversales son los que aportan menor evidencia ya que, si bien en los transversales comparativos se pueden calcular medidas de asociación, no se puede establecer la relación temporal entre la variable dependiente e independiente.

5. Conclusiones

Para cada problema particular sobre causalidad en investigación clínica se pueden diseñar y llevar a cabo estudios con diferentes diseños, aunque tengan el mismo objetivo. En ocasiones, la evidencia que aporten puede ser discordante. En otras, puede no ser factible realizar cierto tipo de diseños por cuestiones éticas, logísticas o financieras. En estos casos, se deberá optar por elegir la evidencia de los estudios con diseños de mayor fortaleza, y de estos, los de mejor calidad.

Los diseños básicos para responder preguntas sobre causalidad en investigación clínica se diferencian en cuanto a cuatro ejes: el número de grupos de estudio, la aplicación de una maniobra experimental, la direccionalidad causa-efecto y la fuente de la que se recaban los datos. El ensayo clínico aleatorizado es la mejor evidencia de causalidad, ya que satisface el criterio de experimentación. Los estudios observacionales de cohorte y de casos y controles permiten también estimar la asociación entre la causa y el efecto, así como su secuencia temporal; sin embargo, de estos, el diseño de cohortes tiene mayor fortaleza que el diseño de casos y controles porque es menos susceptible de sesgos. Los estudios transversales comparativos solo permiten estimar la asociación entre las variables, más no la temporalidad de los eventos, por lo que son el diseño más débil para demostrar causalidad. Los estudios descriptivos no aportan información sobre causalidad, ya que es imposible estimar la fuerza de asociación entre causa y efecto (Figura 4).

De los ejemplos comentados en este trabajo, se puede decir que el estudio 1 no permite hacer ninguna inferencia sobre la relación entre la vacunación contra rotavirus y la invaginación intestinal, ya que es un estudio descriptivo. Del estudio 2, con diseño de casos y controles y cuya conclusión fue una asociación positiva entre la vacunación y la invaginación, se puede decir que fue una forma eficiente de aportar evidencia tomando en cuenta la prontitud con la que se obtuvieron conclusiones. De hecho, ante la falta de mejor evidencia, esta fue suficiente para suspender la aplicación de la vacuna contra rotavirus. Los estudios con diseño de cohortes y el ensayo clínico aleatorizado no encontraron asociación entre la vacuna y la invaginación. Por ser estos diseños de mayor fortaleza que los transversales y los de casos y controles, sus conclusiones son más fiables.

En la ciencia ninguna respuesta es definitiva. Por esta razón, es bueno que se continúen realizando estudios sobre una pregunta aparentemente ya resuelta. La concordancia entre las conclusiones de distintos estudios apoya un quinto



Figura 4 Pirámide de evidencia de los diseños de investigación. Los diseños que están más arriba en la pirámide son los de mayor fortaleza para establecer causalidad.

criterio de causalidad de los propuestos por A. B. Hill: la consistencia². Las discordancias son fuente de nuevas preguntas de investigación y nuevas hipótesis. Por otra parte, además de los diseños primarios, hay forma de evaluar de forma combinada los resultados de varios estudios primarios mediante revisiones sistemáticas de la literatura, tema meritorio de otra publicación como la presente.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Referencias

1. Bines J. Intussusception and rotavirus vaccines. *Vaccine*. 2006;24:3772–6.
2. Hill AB. The environment and disease: association or causation? *Proc R Soc Med*. 1965;58:295–300.
3. Zanardi LR, Haber P, Mootrey GT, Niu MT, Wharton M. Intussusception among recipients of rotavirus vaccine: reports to the vaccine adverse event reporting system. *Pediatrics*. 2001;107:E97.
4. Murphy TV, Gargiullo PM, Massudi MS, Nelson DB, Jumaan A, Okoro CA, et al. Intussusception among infants given an oral rotavirus vaccine. *N Engl J Med*. 2001;344:564–72.
5. Belongia E, Irving S, Shui IM, Kulldorff M, Lewis E, Yin R, et al. Real-time surveillance to assess risk of intussusception and other adverse events after pentavalent, bovine-derived rotavirus vaccine. *Pediatr Infect Dis J*. 2010;29:1–5.
6. Vesikari T, Matson DO, Dennehy P, Van Damme P, Santosham M, Rodriguez Z, et al. Safety and efficacy of a pentavalent human-bovine (WC3) reassortant rotavirus vaccine. *N Engl J Med*. 2006;354:23–33.
7. Shui I, Baggs J, Patel M, Parashar U, Rett M, Belongia E, et al. Risk of intussusception following administration of a pentavalent rotavirus vaccine in US infants. *JAMA*. 2012;307:598–604.
8. Feinstein AR. *Clinical Epidemiology: The Architecture of Clinical Research*. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1985.
9. Kleinbaum DG, Sullivan KM, Barker ND. *A Pocket Guide to Epidemiology*. New York: Springer; 2007. p. 281.
10. Elm E, Von, Altman DG, Egger M, Pocock SJ, Gøtzsche C, Vandenbroucke JP. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) Statement: guidelines for reporting observational studies. *Bull World Health Organ*. 2007;85:867–72.
11. Haynes RB, Sackett DL, Guyatt GH, Tugwell P. *Clinical Epidemiology: How to Do Clinical Practice Research*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006. p. 486.