

G. Solís Sánchez,  
G. Orejas Rodríguez-Arango<sup>1</sup>

*An Esp Pediatr 1998;49:527-538.*

### Epidemiología y metodología científica aplicada a la Pediatría (II): Diseños en investigación epidemiológica

#### Introducción

El desarrollo de un trabajo de investigación consta de varias etapas: planteamiento del estudio, diseño del mismo, trabajo de campo, análisis de los datos obtenidos y comunicación de los resultados<sup>(1,2)</sup>.

La fase de planteamiento supone el reconocimiento de una duda o problema a investigar, la revisión del estado actual del tema y la definición clara de un objetivo del estudio con el fin de formular la hipótesis de trabajo. Tras formular dicha hipótesis se pasa a la fase de diseño, que consiste en el planteamiento de la estructura básica del estudio (tipo de estudio, población a estudio y variables a estudio) y establece un plan general de desarrollo (calendario de realización, investigadores que toman parte y tareas concretas de cada investigador). La hipótesis de trabajo y el diseño del estudio debe recogerse en un protocolo discutido y asumido por todo el equipo investigador<sup>(3)</sup>. La tercera fase es la de realización del trabajo de campo o recogida de datos. Tras ella, la cuarta fase es la de análisis e interpretación, en la que se incluye la depuración de los datos, el análisis de los mismos (análisis de datos crudos, ajustes de modelos estadísticos y contraste de hipótesis) y la interpretación de resultados. Por último, la comunicación escrita y/u oral de los resultados culmina el proceso investigador. Así se cierra el círculo, ya que las conclusiones comunicadas servirán para plantear nuevas hipótesis e iniciar un nuevo trabajo investigador.

El planteamiento de la hipótesis de trabajo y la elección del diseño del estudio son los dos pasos más importantes en la realización de una investigación. Para el buen desarrollo de un estudio se debe partir de una única hipótesis principal que será la responsable de la elección del mejor tipo de diseño posible (tipo de estudio, tamaño de muestra, tipo de muestreo, estrategia de análisis, etc.) y alrededor de la hipótesis principal podrán, posteriormente, establecerse hipótesis secundarias que se beneficien de los datos que se obtengan en el estudio. La hipótesis debe ser factible de comprobar, científicamente interesante, novedosa, ética y relevante. En resumen, la hipótesis ha de ser pertinente y viable<sup>(1)</sup>.

Para la elección del tipo de estudio debemos reconocer en nuestra hipótesis científica tres elementos esenciales: el factor de estudio (exposición o intervención que se valora), el criterio de evaluación o respuesta (variable sobre la que se mide el posible efecto o asociación) y la población (elementos sobre los que se realiza el estudio). Estos elementos nos ayudarán a escoger el diseño más apropiado para sopesar nuestra hipótesis de trabajo.

En 1965, Sir Austin Bradford Hill<sup>(4)</sup> sintetizó los criterios que permiten concluir al investigador que la asociación observada entre dos variables es de tipo causal. En total, identificó nueve criterios:

1.- Fuerza de la asociación. Cuando existe una asociación fuerte (expresada por elevados riesgos relativos, odds ratios, riesgos de prevalencia, o medidas equivalentes) es más probable que la asociación sea causal. Sin embargo, no implica que asociaciones más débiles no sean causales.

2.- Consistencia. La asociación es observada por personas diferentes en lugares, circunstancias y momentos diferentes. También se aprecia con otros diseños de investigación.

3.- Temporalidad. La exposición debe preceder al resultado en un período de tiempo congruente con la posible hipótesis etiológica.

4.- Relación dosis-respuesta. El incremento de la exposición se traduce también en un incremento (o descenso) de la respuesta.

5.- Plausibilidad biológica. Debe existir un mecanismo biológico que justifique la asociación observada. Sin embargo, en un momento determinado este mecanismo podría no haber sido todavía descrito.

6.- Especificidad. La exposición es específica para la respuesta observada. No obstante, es preciso tener en cuenta que una exposición puede ocasionar más de una enfermedad o una enfermedad puede estar originada por más de una causa. Por lo tanto, la falta de especificidad no descarta la existencia de una relación causal.

7.- Coherencia. La interpretación de la causa y el efecto no deben estar en conflicto con los conocimientos establecidos sobre la historia natural y biología de la enfermedad.

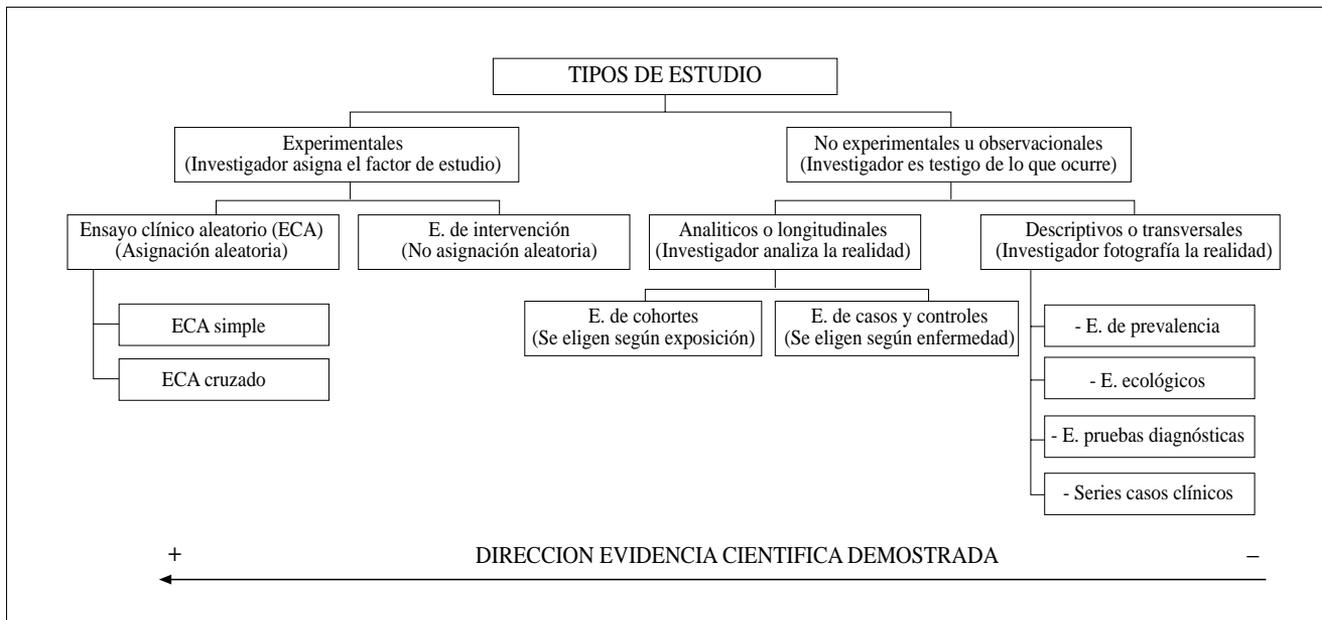
8.- Comprobación experimental. La relación entre la exposición y el efecto observado se puede demostrar experimentalmente.

9.- Analogía. Observaciones similares en la literatura reafirman la asociación encontrada.

Servicio de Pediatría. Hospital de Cabueñes. Gijón. Asturias.

<sup>1</sup>Clinamat-Medycsa. Madrid

Correspondencia. Dr. G. Orejas. Camino de los Tilos 127. La Fresneda. Siero. Asturias 33429.



**Figura 1.** Tipos de estudios en investigación epidemiológica

Estos criterios de causalidad siempre deben tenerse en cuenta a la hora de escoger el diseño para un proyecto de investigación. Junto a ellos, es imprescindible tener presente los llamados principios éticos de la investigación humana: el respeto a los sujetos investigados (el individuo investigado debe dar su consentimiento informado), el principio de beneficencia (los riesgos a los que se someten los individuos investigados deben ser proporcionales a los beneficios derivados de la investigación) y el principio de justicia (los beneficios y las cargas de la investigación se deben distribuir equitativamente en la sociedad).

### Tipos de estudio

Una vez definida la hipótesis de trabajo es necesario decidir cual es el tipo de estudio más adecuado para comprobar dicho planteamiento. Cada hipótesis necesita un diseño concreto modulado por los medios a nuestro alcance: población, tecnología necesaria, tiempo y dinero<sup>(5)</sup>.

Es muy importante destacar la importancia del diseño dentro de la investigación en Ciencias de la Salud. Cuando un estudio con un diseño correcto ha sufrido un análisis inapropiado es fácil de reanalizar y obtener resultados aceptables. Sin embargo, cuando el diseño es inadecuado el trabajo realizado y las conclusiones obtenidas tendrán poco o ningún valor, siendo difícil o imposible el aprovechamiento de ese trabajo. El análisis de los datos no podrá nunca solventar los defectos del diseño.

Existen muchas formas de clasificar los tipos de estudios dependiendo de los distintos autores o según se atienda a una u otra característica principal<sup>(1,5,6)</sup>. No obstante, inicialmente se suele

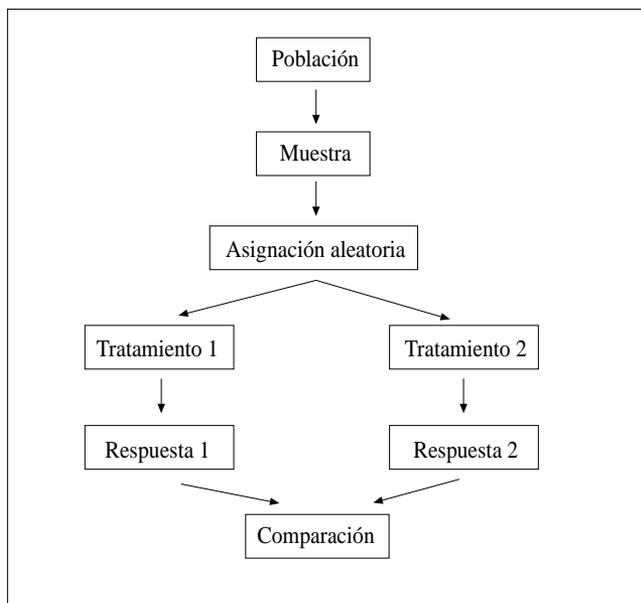
diferenciar entre estudios experimentales y no experimentales. Los no experimentales se dividen a su vez en estudios descriptivos y analíticos y, estos últimos, en estudios de cohortes y de casos y controles. Sin embargo, cada día surgen más tipos de estudios mixtos o híbridos que no responden a un diseño puro<sup>(7)</sup>. En la figura 1 se pueden ver los distintos tipos de estudios y la relación existente entre ellos.

En los estudios experimentales o de intervención el investigador asigna el factor de estudio o intervención a los diferentes grupos de sujetos y dicha asignación se realiza al azar. En los observacionales o no experimentales el investigador no puede asignar el factor de estudio y sólo es mero testigo de lo que ocurre.

Los estudios descriptivos “fotografían” la realidad respondiendo a preguntas del tipo ¿qué pasa?, ¿a quién?, ¿cuántos?, ¿dónde? o ¿cuándo?. Por el contrario, los estudios analíticos intentan interpretar una situación determinada y suelen responder a cuestiones como ¿por qué?, ¿cómo evitarlo?, ¿sirve para algo?. Ambos tipos de estudio se diferencian fundamentalmente en la existencia o no de un grupo de comparación, con el que podemos contrastar la hipótesis.

Los estudios de cohortes son diseños en los que los sujetos se eligen según el tipo de exposición (expuestos y no expuestos) y los estudios de casos y controles diseños en los que los sujetos se eligen según esté presente (casos) o ausente (controles) la enfermedad.

Según aporten mayor o menor evidencia científica los distintos diseños se pueden ordenar de más a menos de la siguiente forma: ensayos clínicos, estudios de cohortes, estudios de casos y controles y estudios descriptivos de series clínicas (Fig.



**Figura 2.** Esquema del ensayo clínico aleatorio simple

1)<sup>(8,9)</sup>.

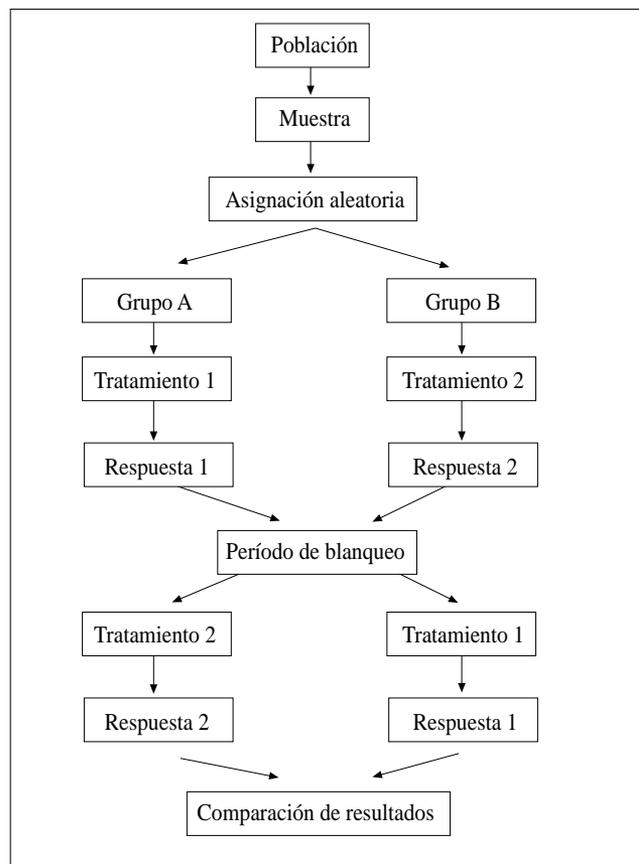
Considerando la temporalidad de la investigación, podemos hablar de estudios prospectivos o retrospectivos. En el primer caso, la exposición y el efecto no han ocurrido cuando se inicia el estudio. En el segundo, la exposición y el efecto ya han ocurrido al iniciarse el estudio. Si la situación del investigador es intermedia entre exposición y efecto, los estudios se denominan ambispectivos.

### 1.- Estudios experimentales

Los estudios experimentales son aquéllos en los que el investigador asigna el factor de estudio o intervención a los diferentes grupos. Por ello, sirven para valorar la eficacia del factor de estudio y son los mejores diseños para evidenciar una relación causa-efecto<sup>(9-12)</sup>.

Sus mayores limitaciones son las éticas, su coste económico y de tiempo, y que su realización exige condiciones especiales, por lo que puede ser difícil encontrar muestras de población suficientemente amplias que deseen participar en el estudio, siendo en ocasiones comprometido generalizar sus conclusiones. En este sentido, se diferencian dos tipos de ensayos clínicos, los explicatorios y los pragmáticos<sup>(13)</sup>.

Los ensayos clínicos explicatorios, que tratan de medir la eficacia de una intervención en condiciones ideales, se basan en muestras de sujetos muy seleccionadas para conseguir grupos muy homogéneos. En estas condiciones, la generalización de las conclusiones siempre es difícil, ya que la muestra de sujetos que interviene en su realización suele estar importantemente sesgada respecto a la población diana por, al menos, tres razones: 1. los criterios de inclusión se definen para eliminar la heterogeneidad de la población; 2. los pacientes que rechazan parti-



**Figura 3.** Esquema del ensayo clínico aleatorio cruzado

cipar en el ensayo clínico habitualmente son sistemáticamente diferentes de los que deciden participar; 3. los pacientes que no cumplen bien el protocolo de estudio se excluyen en sus primeras fases.

Por el contrario, los ensayos clínicos pragmáticos miden la eficiencia de la intervención, es decir, el efecto que esa intervención genera en condiciones similares a la práctica clínica diaria. En este caso con frecuencia se puede cuestionar la validez interna de la investigación.

Cuando la asignación no se realiza por azar, pero existe un control sobre el factor de estudio, se denomina estudio de intervención, comunitario o cuasi experimental.

#### 1.1.- Ensayo clínico aleatorio

El ensayo clínico aleatorio es un estudio prospectivo y analítico en el que el investigador compara una intervención, o factor de estudio, frente a otra intervención o control, asignando los sujetos del estudio de forma aleatoria a cada posibilidad de intervención. La intervención estudiada puede ser profiláctica, diagnóstica, farmacológica, dietética o educativa. Este tipo de estudio es el que se acepta como más riguroso cuando se pretende establecer una relación de causalidad entre un tratamiento y la respuesta a éste, así como cuando se pretende investigar la relación coste-eficacia de un tratamiento determinado. La es-

estructura general de este diseño se expone en las figuras 2 y 3.

Los ensayos clínicos aleatorios, a su vez, se dividen en ensayos simples o con datos independientes (Fig. 2), en los que cada grupo de sujetos recibe un tipo de intervención o factor de estudio, y ensayos clínicos cruzados (Fig. 3), en los que cada sujeto actúa como su propio control, recibiendo los distintos tipos de intervención, separados por un período de blanqueo. Este último tipo de ensayo clínico también se conoce como ensayo clínico con medidas repetidas o datos apareados. Ya que cada sujeto es su propio control (autoapareamiento o autoempareamiento), precisa de un tratamiento estadístico específico. Los ensayos clínicos cruzados confieren una mayor precisión a los resultados con el mismo número de sujetos que un ensayo clínico con datos independientes. Sin embargo, en general, su uso debe ser limitado al estudio de respuestas de aparición rápida en enfermedades crónicas, puesto que la enfermedad debe persistir el tiempo suficiente para que el investigador pueda medir el efecto de las intervenciones en ambos grupos de sujetos. Además, el tratamiento no debe modificar permanentemente la enfermedad a estudio.

Una variante del ensayo clínico con datos independientes es el ensayo clínico factorial, en el que se estudian 2 o más intervenciones simultáneas en cada paciente. El diseño factorial tiene como ventajas el poder contestar a más de una pregunta con un único ensayo, pero está muy limitado por las posibles interacciones entre intervenciones y por la complejidad del diseño y de su ejecución.

En los ensayos clínicos cruzados pueden aparecer dos efectos que hay que tener en cuenta a la hora de diseñar el estudio: el efecto período y el efecto secuencia. El efecto período consiste en la modificación de los resultados dependiendo del hecho de que el sujeto reciba las diferentes posibilidades del factor de estudio (tratamiento 1 y tratamiento 2) en momentos diferentes (momento 1 y momento 2). Para combatir este efecto período podría diseñarse un estudio en el que cada tratamiento sea recibido por los pacientes varias veces (en varios momentos diferentes), contrarrestándose los posibles altibajos de la enfermedad en cada instante.

El efecto secuencia resulta de los posibles cambios en los resultados originados por estar influido el efecto que se estudia por los tratamientos previos administrados en cada fase del ensayo (efecto del tratamiento 2 si antes había recibido el tratamiento 1, o viceversa). Para minimizar el efecto secuencia es importante dejar tiempos sin tratamiento entre las intervenciones, los llamados períodos de blanqueo o lavado, y asignar de forma aleatoria las distintas secuencias posibles (1-2 y 2-1) a los sujetos.

La aleatorización es característica indispensable en los ensayos clínicos aleatorios. Consiste en la asignación por azar del factor de estudio a los distintos grupos. Entre sus ventajas destacan el que posibilita la distribución equilibrada de las variables pronósticas conocidas y no conocidas entre los grupos a estudio, previenen de sesgos debidos al sujeto y al observador, permiten el uso de pruebas estadísticas y facilitan

el uso de técnicas de enmascaramiento. En resumen, asegura que la comparación sea imparcial, especialmente si el número de sujetos incluido en el ensayo clínico es grande. Sin embargo, si la muestra es pequeña, la aleatorización no garantiza que los grupos sean similares, ya que es posible que la "mala suerte" pueda desequilibrarlos en relación con una o varias características. Por ello, es recomendable siempre presentar una tabla que compare la frecuencia de las variables de control en los grupos de estudio. Si son similares, el investigador estará tranquilo. Si no lo son, será preceptivo la utilización de métodos de ajuste en el análisis para corregir esas diferencias.

Denominamos técnicas de enmascaramiento o técnicas de ciego a los procedimientos encaminados a evitar la subjetividad y los sesgos por parte de los investigadores y de los sujetos a estudio. Existen varias posibilidades para su realización, aunque no siempre es posible conseguir un enmascaramiento adecuado. Así, denominamos simple ciego cuando el investigador o el paciente no conoce el tipo de intervención; doble ciego si el investigador y el paciente ignoran el tipo de intervención; triple ciego en el caso de que el investigador, el paciente y el encargado de analizar los datos son ajenos a la intervención efectuada. Por el contrario, hablamos de estudio abierto si, tanto el investigador, como el paciente conocen el tipo de intervención. Las técnicas de ciego pueden ser difíciles o imposibles de aplicar en los ensayos clínicos pragmáticos.

Otro efecto importante que es preciso considerar en los ensayos clínicos aleatorios es el efecto placebo, que no es otra cosa que la respuesta que tiene cualquier intervención por el mero hecho de realizarse. Como generalización, denominamos tratamiento placebo al tratamiento con una sustancia absolutamente inocua, sin efecto farmacológico alguno. Este tratamiento es el que se administra al grupo control en los ensayos clínicos aleatorios con el fin de compararlos al grupo de estudio. El tratamiento placebo facilita la utilización de técnicas de ciego y controla la posible aparición de un "efecto placebo". Sin embargo, por razones éticas, los ensayos clínicos controlados con placebo cada vez son menos frecuentes en la investigación biomédica al ser cada vez mayores los conocimientos de la comunidad científica<sup>(14)</sup>.

El análisis de datos en los ensayos clínicos aleatorios presenta muchas peculiaridades que deben tenerse en cuenta para no llegar a conclusiones erróneas. Cada tipo de ensayo clínico debe analizarse con una estrategia determinada. Una de las características comunes más discutida, pero que casi siempre está indicado aplicar, es el análisis por intención de tratar. Este tipo de análisis obliga a incluir a los sujetos en sus grupos originales para la comparación, aunque terminen el estudio en grupos diferentes. Su justificación radica en preservar la aleatorización y evitar sesgos. En los ensayos clínicos cruzados siempre se debe comprobar la posible existencia de un efecto secuencia, verificando si el resultado de una intervención determinada se modifica según su secuencia de aplicación. En caso

afirmativo, lo mejor es tratar el estudio como si fuera un ensayo clínico en paralelo, reduciendo el análisis a la primera fase del estudio.

Un ejemplo de ensayo clínico aleatorio con datos independientes es el trabajo de Adkinson y cols.<sup>(15)</sup> sobre la eficacia de la inmunoterapia en el asma. Este ensayo doble ciego consistió en dividir aleatoriamente a un grupo de niños asmáticos (n=121) en dos grupos: un grupo recibió inyecciones subcutáneas de alérgenos (n=61) y el otro recibió inyecciones subcutáneas de suero salino (n=60). La respuesta se estudió valorando la medicación necesaria para mantener el peak-flow en límites adecuados y controlar la clínica asmática a través de una puntuación descrita en el trabajo.

Pallares y cols.<sup>(16)</sup> se valen de un ensayo clínico cruzado para comparar en pacientes asmáticos la administración de un broncodilatador mediante un nebulizador ultrasónico o un nebulizador jet. Los participantes fueron asignados aleatoriamente a uno u otro grupo durante dos semanas. Posteriormente, cada grupo recibió dos semanas más de la otra modalidad de tratamiento. Es decir, cada sujeto a estudio recibió ambas modalidades de tratamiento espaciadas por un período de lavado o no tratamiento. La respuesta se valoró según la función respiratoria.

En el análisis de los ensayos clínicos se suele tratar de describir la eficacia clínica de la intervención, utilizando para ello distintos parámetros: tasa de respuestas, diferencia de tasas de respuestas, riesgos relativos, reducción relativa de riesgos, reducción absoluta de riesgos y número de pacientes que necesitan ser tratados (number-needed-to-treat, NNT). Este NNT es un parámetro importante, muy en boga en la actualidad, que puede utilizarse de forma absoluta o estandarizado para comparar distintos estudios o intervenciones<sup>(17,18)</sup>. Representa el número de pacientes que deben ser sometidos a una intervención para evitar la aparición del efecto a estudio. Se calcula a partir del inverso de la reducción absoluta de riesgos originada por la intervención a estudio, es decir,  $NNT=1/RAR$ , siendo  $RAR=Riesgo$  en grupo control menos riesgo en grupo tratamiento.

Un trabajo clásico en el *Lancet* sobre prevención de ictus en hipertensos<sup>(19)</sup> nos sirve como ejemplo para el cálculo del NNT. En este artículo se observa un riesgo de ictus para la HTA moderada en el grupo control de 0,20 y en el grupo de tratamiento de 0,12. La reducción absoluta de riesgos (RAR) es 0,20-0,12=0,08 y el  $NNT=1/0,08=12$ . Es decir, se precisa tratar con el fármaco en cuestión a 12 personas con hipertensión moderada para evitar un ictus.

Cuando el NNT se obtiene de un ensayo clínico con placebo, se obtiene una estimación de la magnitud del efecto del tratamiento, que habitualmente incluye el correspondiente efecto placebo. Por lo tanto, el NNT será una sobrestimación del efecto de un determinado tratamiento sobre la opción no tratamiento. Por otro lado, ya que el efecto placebo puede aparecer al variar las alternativas terapéuticas, la comparación de los NNT de estas alternativas sólo proporcionará una estimación aproxima-

da de los posibles beneficios clínicos relativos<sup>(20)</sup>.

La legislación española en cuanto a la realización de ensayos clínicos está recogida en la Ley del Medicamento (Ley 25/1990) y en el Real Decreto "para la realización de ensayos clínicos con medicamentos" del 16 de abril de 1993 (Real Decreto 561/1993). Los artículos 11 y 12 de este Real Decreto especifican algunos datos sobre la realización de ensayos clínicos en menores de edad.

## 1.2.- Estudio de intervención

Algunos autores admiten como experimentales un tipo de estudios en los que la asignación del factor de estudio no se realiza aleatoriamente. Son los llamados estudios de intervención o cuasi experimentales y los ensayos clínicos no controlados<sup>(5,6)</sup>.

Los estudios de intervención son, generalmente, estudios comunitarios en los que la unidad de asignación es un grupo o comunidad y en los que resulta imposible establecer técnicas de enmascaramiento, salvo en la fase de análisis.

Estos estudios son más generalizables que los ensayos clínicos, ya que las intervenciones se producen en condiciones más próximas a la realidad. Por otra parte, son relativamente menos costosos y evitan algunos problemas éticos. Sin embargo, los estudios de intervención son poco adecuados para estudiar un solo factor, pueden presentar sesgos de contaminación y necesitan de una fuerte logística para su realización.

Un tipo particular es el ensayo clínico no controlado, que se asemeja mucho al ensayo clínico, pero se diferencia de él en que la asignación de sujetos a cada grupo no se hace aleatoriamente. En estos estudios, que algunos autores no reconocen como experimentales, se tiene que asumir que ambos grupos no difieren en ninguna de los posibles factores pronósticos. Dentro de este grupo de diseño también podría incluirse el estudio de intervención sin grupo control que algunas veces se plantea bien por problemas éticos o bien por falta de recursos. En dicho diseño se pueden utilizar a los mismos pacientes como controles en su situación previa al tratamiento. De cualquier forma los resultados deben considerarse con mucha cautela.

En los estudios de intervención debe tenerse en cuenta dos factores, que también pueden aparecer en otros diseños: el efecto Hawthorne y el efecto de la regresión a la media. El llamado efecto Hawthorne es la respuesta inducida que se obtiene por el conocimiento de los participantes de que se les está estudiando. La regresión a la media es la tendencia de los sujetos estudiados a presentar valores cada vez más cercanos a la media de la distribución cuando la misma variable se estudia repetidamente. Ambos efectos deben ser valorados cuando se estudia a una comunidad sin que la asignación de sujetos a cada grupo se realice aleatoriamente<sup>(2)</sup>.

Como ejemplo de estudio de intervención en la comunidad nos puede ser útil un estudio comparativo entre el consejo médico y la terapia grupal cognitivo conductual en el tratamiento de la obesidad infantil, publicado por Bustos y cols

en esta revista en 1997<sup>(21)</sup>. En dicho estudio se reclutan en 5 Centros de Salud niños que cumplen unos criterios de inclusión específicos de obesidad. En uno de los centros se ofertó a los niños tratamiento con terapia grupal cognitiva conductual, mientras que en el resto de centros se les ofertó consejo médico unificado. En resumen, se trataba de un estudio de intervención en la comunidad, unifactorial, con distribución por bloques a los grupos de estudio, con medida pre y postintervención.

## 2.- Estudios no experimentales u observacionales

Los estudios observacionales son aquellos diseños en los que el investigador no puede decidir la asignación del factor de estudio o intervención a los distintos grupos en estudio, siendo mero testigo de lo que ocurre en la realidad. Los estudios observacionales se realizan para describir una situación (estudios descriptivos transversales o de prevalencia) o para establecer una relación causa-efecto (estudios longitudinales o analíticos). Son mucho menos concluyentes que los experimentales para establecer relaciones de causalidad, pero resultan más fáciles y más económicos de realizar.

Los estudios observacionales descriptivos transversales son aquéllos en los que todas las variables (factor de estudio, efecto y resto de variables) se recogen en un determinado momento en el tiempo. Por el contrario, los estudios observacionales analíticos (longitudinales) son estudios no experimentales en los que se tiene en cuenta la secuencia temporal entre el factor de estudio y el efecto. Estos estudios observacionales analíticos se diferencian en estudios de cohortes y estudios de casos y controles.

### 2.1.- Estudios descriptivos

Los estudios descriptivos constituyen la primera aproximación lógica en la investigación científica sobre las circunstancias relacionadas con una enfermedad concreta. Proporcionan información sobre su magnitud, frecuencia y características más importantes (persona, lugar y tiempo). Estos diseños describen la enfermedad o fenómeno de salud y los factores de interés relacionados con ellos. Son estudios observacionales descriptivos los estudios de prevalencia, los estudios de valoración de pruebas diagnósticas, las series de casos clínicos, los estudios ecológicos y los estudios descriptivos de morbimortalidad.

Sus ventajas radican en que son útiles para establecer prevalencias del factor de estudio, son fáciles, rápidos y baratos de realizar, constituyendo una buena fuente de hipótesis, que deberán ser comprobadas por medio de otros estudios. Entre sus desventajas se incluyen el no permitir el establecimiento de relaciones de causalidad para las variables analizadas, el no posibilitar el cálculo de incidencia y de riesgos asociados, y el ser poco útiles para el estudio de enfermedades raras y de corta evolución.

Los estudios de casos clínicos son los estudios descriptivos más sencillos. Sirven para describir nuevas enfermedades

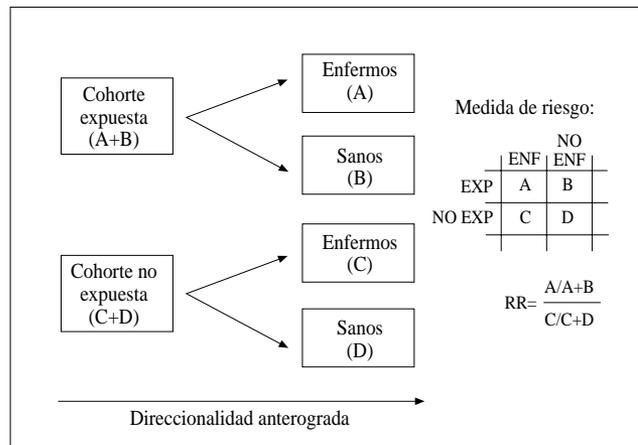


Figura 4. Esquema del estudio de cohortes

o síndromes clínicos y varían entre la presentación de un único caso a la descripción de una serie de enfermos. Un error importante de los investigadores al manejar este tipo de diseño es intentar comparar series entre sí, sin tener en cuenta las variaciones en el diseño de cada una (tiempo, lugar y criterios).

Los estudios de morbilidad y mortalidad son los estudios descriptivos más importantes dentro de la epidemiología clásica. Son los diseños descriptivos por excelencia y dan lugar al cálculo de las diferentes prevalencias.

Los estudios ecológicos son diseños descriptivos en los que la unidad de observación no son individuos, sino agrupaciones de los mismos (poblaciones o subconjuntos poblacionales). Las medidas utilizadas en los estudios ecológicos suelen ser indirectas (mortalidad global en la zona, consumo de un determinado producto, etc.), con origen en distintas fuentes, y en forma de medias de la población por lo que la asociación factor-enfermedad suele estar muy atenuada. El análisis de este tipo de diseño frecuentemente se realiza a través de datos tabulados y, con frecuencia, es imposible controlar factores de confusión (falacia ecológica) o modificadores de efecto<sup>(22-24)</sup>.

Los estudios transversales o estudios de prevalencia son los diseños descriptivos más utilizados<sup>(25,26)</sup>. Fotografían la comunidad en un momento determinado, midiendo exposición y enfermedad al mismo tiempo, siendo especialmente útiles en la planificación y administración de los servicios de salud. Sirven para calcular las prevalencias (de punto y/o de período)<sup>(9)</sup> de expuestos y no expuestos en las enfermedades estudiadas, determinando las proporciones atribuibles y las odds de prevalencia. En estos diseños transversales existe una gran variedad de estudios mixtos o híbridos: estudios de prevalencia y seguimiento, estudios seriados de prevalencia, estudios de cohortes y prevalencia, etc. Los estudios de prevalencia son fáciles, rápidos y poco costosos. Por lo tanto, representan el primer paso en la formulación de hipótesis que deberán ser comprobadas con el de-

Tabla I Ventajas y desventajas de los estudios de cohortes

<i>Ventajas</i>	<i>Desventajas</i>
Sirven para calcular la incidencia	Poco eficaces en enfermedades infrecuentes
Lógica clínica: exposición precede a enfermedad	Consumen mucho tiempo y recursos
Evitan sesgo característico de conocer el efecto antes de la exposición	Pérdidas en el seguimiento comprometen la validez
Proporcionan información en caso de resultados múltiples ante una exposición única	Sólo permiten analizar la relación entre la exposición o exposiciones observadas y la enfermedad o efecto estudiado
Útiles en el estudio de exposiciones infrecuentes	

sarrollo posterior de estudios analíticos.

Los estudios de pruebas diagnósticas son diseños específicos para establecer la habilidad diagnóstica de un test concreto. En un artículo posterior se abordarán detalladamente.

## 2.2.- Estudios analíticos

### 2.2.1.- Estudios de cohortes

Los estudios de cohortes son diseños analíticos no experimentales en los que dos grupos de sujetos, unos con el factor de riesgo -cohorte expuesta- y otros sin él -cohorte no expuesta-, van a ser observados y estudiados a lo largo del tiempo. En los estudios de cohortes la selección de los participantes se realiza según la exposición al factor de estudio y, posteriormente, se valora la aparición o no del efecto o estado patológico. En la figura 4 se representa la estructura básica de este diseño.

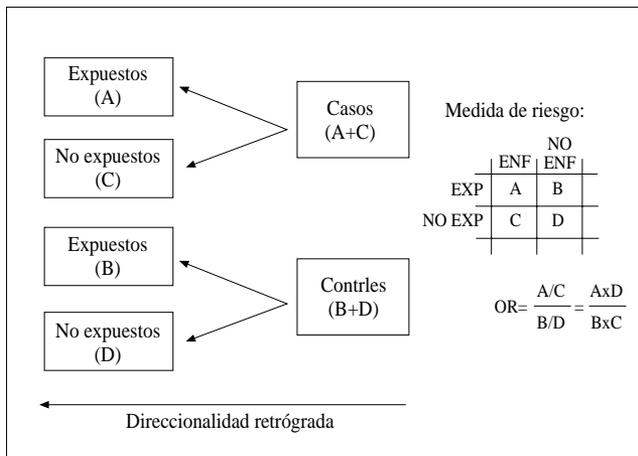
Los estudios de cohortes precisan que todos los sujetos de la cohorte sean observados durante el tiempo completo de seguimiento y que este tiempo sea suficientemente largo como para que el efecto o enfermedad investigada tenga oportunidad de manifestarse. Estos diseños son siempre anterógrados en cuanto a direccionalidad (la exposición es anterior en el tiempo a la enfermedad y el investigador escoge a los grupos según su exposición, esperando que desarrollen o no la enfermedad). Dependiendo del momento en el que el investigador inicie la recogida de los datos, los estudios de cohortes se denominan prospectivos (antes de que se haya producido la exposición), retrospectivos (tras la aparición de la enfermedad) o ambispectivos (se revisa retrospectivamente la existencia de exposición, pero todavía se sigue al paciente para comprobar si aparece la enfermedad).

Una investigación que trató de demostrar como la presencia de hemorragia intracraneal (exposición) puede determinar el coeficiente intelectual a lo largo de la infancia (respuesta) constituye un ejemplo interesante del diseño de cohortes prospectiva. Whitaker y cols.<sup>(27)</sup> estudiaron una cohorte de niños nacidos con menos de 2 kg de peso (n=597), a los que sistemáticamente se les realizó ecografía craneal. A los 6 años se les valoró su desarrollo intelectual. La cohorte fue dividida en 3 grupos según fuese la ecografía inicial normal (n=486), con hemorragia peri o intraventricular (n=83) o con hemorragia parenquimatosa (n=46). El desarrollo intelectual se concretó en

inteligencia normal (n=529), inteligencia límite (n=38) y retraso mental (n=30). Con estos datos se obtuvieron los distintos riesgos y sus intervalos de confianza, así como los riesgos atribuidos a otros factores.

Como ventajas características de los estudios de cohortes se encuentran el que la medición de la exposición se realice antes del desenlace, la existencia de una secuencia temporal (exposición-respuesta) que facilita establecer relaciones de causalidad entre las variables, y la posibilidad de medición de variables importantes de forma exacta. Además, proporcionan información sobre exposiciones múltiples y sobre respuestas múltiples a una exposición concreta. También son eficaces para el estudio de exposiciones poco frecuentes. Los estudios de cohortes permiten calcular la incidencia acumulada o la tasa de incidencia de una enfermedad o efecto, tanto en los grupos de sujetos expuestos, como en los no expuestos. Sus principales inconvenientes radican en que precisan, en general, un tiempo largo de observación y unas infraestructuras importantes, conllevando, por consiguiente, un alto coste económico. El prolongado período de seguimiento suele suponer una pérdida de parte de los pacientes incluidos en el estudio con lo que es probable que se reduzca la validez del mismo. Por otra parte, el nivel de exposición al que están sometidos los sujetos o los métodos diagnósticos empleados pueden variar en el tiempo, pudiendo sesgar los resultados finales. Cuando los estudios de cohortes son utilizados para la investigación de patologías poco frecuentes, exigen el reclutamiento de una población sana muy numerosa, que se debe seguir durante mucho tiempo, con los problemas que ello conlleva. Sin embargo, si la patología no es tan rara ante una exposición concreta (por ejemplo, asbesto-mesotelioma), el diseño de cohortes puede aplicarse eficazmente. En la tabla I se recogen las principales ventajas e inconvenientes asociados con este tipo de diseño.

En el diseño del estudio de cohortes es vital definir con absoluta claridad en que consiste la exposición. Cuando un sujeto cumple todos los criterios para ser incluido en el grupo de expuestos, no debe excluirse posteriormente si en el curso de la investigación se comprueba que ha disminuido su grado de exposición. Por ejemplo, si estudiamos la relación entre el empleo de corticoides en el síndrome nefrótico idiopático y la reduc-



**Figura 5.** Esquema del estudio de casos y controles

ción de la masa mineral ósea, en un sujeto concreto que sufre una fractura ósea podría decidirse suspenderse el empleo del fármaco precozmente y excluir a ese niño del estudio con lo que estaríamos subestimando la relación que pretendíamos demostrar.

En la selección de los sujetos que van a ser incluidos en un estudio de cohortes resulta fundamental que, tanto los individuos expuestos, como los no expuestos estén libres de la enfermedad o efecto que se investiga antes de la posible exposición, y que presenten “a priori” la misma susceptibilidad para desarrollar esa enfermedad o efecto. Idealmente, la muestra de sujetos no expuestos debería proceder de la misma población que el grupo expuesto. Sin embargo, esto con frecuencia no es posible y el grupo de comparación debe obtenerse de la población general. El problema es que ambas poblaciones pudieran no ser totalmente comparables. Por ello, es imperioso comparar los dos grupos con respecto a sus características basales, tratando de asegurarnos que no existan diferencias que quizás estén relacionadas con un mayor riesgo de desarrollar el efecto o enfermedad de interés. Por otra parte, el seguimiento y estudio de los dos grupos de sujetos, expuestos y no expuestos, debe de ser idéntico para evitar obtener falsas conclusiones.

El análisis de los estudios de cohortes se efectúa mediante el cálculo del riesgo relativo, la diferencia de riesgos o el porcentaje del riesgo atribuible<sup>(28)</sup>. También, como se ha dicho, los estudios de cohortes facilitan la comparación de las incidencias acumuladas o de las tasas de incidencia entre los grupos expuestos y no expuestos. Como en los estudios de casos y controles, en los estudios de cohortes debe valorarse la existencia de posibles factores de confusión y modificadores de efecto, mediante la estratificación y el ajuste multivariable<sup>(29,30)</sup>.

Entre todos los diseños metodológicos existentes, los estudios de cohortes son, tras los experimentales, los que mayor evidencia científica aportan en la demostración de una

posible asociación causal entre la exposición y el efecto evaluado.

### 2.2.2.- Estudios de casos y controles

Los estudios de casos y controles son diseños analíticos no experimentales en el que los dos grupos de sujetos, unos con la enfermedad -casos- y otros sin ella -controles-, se estudian retrospectivamente buscando la exposición al factor de estudio. En los estudios de casos y controles la elección de los sujetos que intervendrán en la investigación se realiza según la enfermedad o efecto analizado esté o no presente. Posteriormente, se valora de forma retrospectiva si los individuos estuvieron o no expuestos al factor de estudio. Es decir, los casos proceden de individuos que padecen la enfermedad investigada y los controles de sujetos sin ella. En la figura 5 se esquematiza la estructura básica de este método de investigación epidemiológica.

En el diseño de un estudio de casos y controles se siguen los siguientes pasos: 1º. Se define e identifica la población fuente, o lo que es lo mismo, la cohorte subyacente que incluirá todos los individuos que van a participar en el estudio. 2º. Se identifican los casos procedentes de la población fuente. 3º. Se seleccionan los controles de la misma población. 4º. Se investiga la existencia de exposición al factor de estudio, tanto en los casos, como en los controles. Obviamente, la exposición debe ser previa al inicio de la enfermedad en los casos y el tiempo de estudio similar en casos y controles. 5º. Se resumen y analizan los resultados obtenidos.

Los estudios de casos y controles constituyen el diseño de elección para evaluar si existe una relación causal entre un factor determinado y una enfermedad poco frecuente y/o con un largo período de latencia. Este punto queda bien ilustrado con el siguiente ejemplo. Imaginemos que quisiéramos efectuar un estudio de cohortes en niños con metabopatías congénitas. Ya que la incidencia descrita de éstas es de 1 por cada 800 recién nacidos vivos<sup>(31)</sup>, para disponer una muestra de 20 niños afectados deberíamos estudiar a 16.000 recién nacidos, lo que hace prácticamente inviable la investigación. Sin embargo, con un diseño de casos y controles sería mucho más fácil reunir la muestra de niños afectados. Por otra parte, los estudios de casos y controles son eficientes en términos de tiempo y costes en relación con otros estudios analíticos y permiten considerar simultáneamente varios factores con potencial influencia etiológica sobre una enfermedad concreta.

Estos diseños son habituales en trabajos sobre malformaciones congénitas, tales como los que publica regularmente el Estudio Colaborativo Español de Malformaciones Congénitas (ECEMC) en esta revista. Este grupo trabaja con un sistema de registros de neonatos, de base hospitalaria (75 hospitales), tipo caso-control. A cada niño registrado con malformación se le asigna un control que es el niño del mismo sexo nacido inmediatamente después del caso en dicho hospital y que no presente malformación. En una publicación reciente analizan los riesgos de las diferentes etnias que viven en nuestro país en la

Tabla II Ventajas y desventajas de los estudios de casos y controles

<i>Ventajas</i>	<i>Desventajas</i>
Relativamente rápidos y baratos	Más propensos a sesgos que otros diseños
Eficaces para estudio de enfermedades infrecuentes y/o con un largo periodo de latencia	No permiten calcular directamente incidencias acumuladas ni tasas de incidencia
Investigan simultáneamente varios factores etiológicos para una enfermedad concreta	Relación temporal entre exposición y enfermedad puede ser difícil de objetivar
Proporcionan información en caso de resultados múltiples ante una exposición única	Inadecuados para el estudio de exposiciones poco frecuentes
Útiles en el estudio de exposiciones infrecuentes	Obligan a categorizar la variable respuesta

aparición de defectos congénitos, analizando los OR crudos y tras ajustar por distintas variables<sup>(32)</sup>.

Una de las grandes limitaciones de esta modalidad de diseño es que, generalmente, exposición y enfermedad son anteriores al estudio por lo que son especialmente susceptibles de ser influidos por distintos sesgos (en un artículo posterior de esta serie se abordará específicamente el tema de los sesgos). Otras desventajas características de este tipo de estudio son que no permiten calcular directamente incidencias, que la relación temporal causa-efecto es difícil de objetivar, que no son adecuados para valorar exposiciones infrecuentes y que obligan a categorizar la variable respuesta (ejemplo, enfermo o no enfermo). Todas estas ventajas e inconvenientes intrínsecos a los estudios de casos y controles se resumen en la tabla II.

Para que un diseño de casos y controles aporte información útil es indispensable que los grupos de casos y controles sean similares en relación a otros factores de riesgo diferentes de la exposición estudiada y que la información se haya recogido de forma similar en ambos grupos.

Los sujetos seleccionados como casos (enfermos) pueden representar casos prevalentes o casos incidentes, y su selección a través de criterios estrictos de inclusión y exclusión es fundamental para el análisis posterior de los datos. Aunque la selección de casos prevalentes, especialmente en enfermedades poco comunes, como ya hemos comentado, hará posible disponer de muestras suficientemente grandes, siempre que sea factible, es recomendable optar por incluir casos incidentes, ya que en los casos prevalentes el pronóstico o la duración de la enfermedad pueden resultar afectados importantemente por la exposición. Por ejemplo, cuando se investigó la asociación entre los antígenos de histocompatibilidad (exposición) y leucemia aguda linfocítica (enfermedad), al considerar casos prevalentes, la proporción de pacientes con HLA-A2 era superior en los afectados de leucemia que en los controles<sup>(33)</sup>, deduciéndose que la presencia de HLA-A2 constituía un factor de riesgo para la enfermedad. Sin embargo, cuando posteriormente se consideraron casos incidentes, se apreció que aquellos pacientes con leucemia aguda linfocítica y sin HLA-A2 presentaban una mortalidad más elevada<sup>(34)</sup>, por lo que, en realidad, el HL-A2 se estaba comportando como un factor que mejoraba el pronóstico de esta leu-

cemia.

Los casos pueden proceder de la población general (estudio de casos y controles basado en la población). En esta situación se debe recabar información sobre todos los individuos afectados de una población definida o de una muestra aleatoria de ellos, y sobre los controles correspondientes. Otra alternativa es que los casos se obtengan a partir de pacientes ingresados en un hospital o centro de salud determinado (estudio de casos y controles basado en el hospital), lo que habitualmente es más barato y rápido de realizar, pero más susceptible a la influencia de sesgos.

La selección de los controles es, tal vez, la decisión más difícil en el diseño de estos estudios<sup>(35-37)</sup>. Idealmente, los controles se deberían escoger aleatoriamente a partir de la población fuente. Es decir, el mejor control es aquel sujeto que si estuviera enfermo sería incluido como caso en la serie. La participación del control no debe estar de ninguna manera influenciada por la exposición para que la comparación caso-control no sufra distorsiones. Generalmente, los controles se reclutan de pacientes ingresados en los hospitales por patologías distintas de las que se está investigando, de sujetos de la población general y de series de controles especiales como amigos, vecinos o parientes de los casos. Cada una de estas opciones de reclutamiento tiene sus ventajas e inconvenientes, que es preciso valorar detenidamente. Aunque no hay ningún grupo control ideal para todos los estudios y tampoco hay criterios firmes de lo que es un grupo control aceptable, existe acuerdo en que cuando el grupo control se obtiene a partir de pacientes hospitalizados, si la enfermedad que motivó el ingreso del control está de alguna forma relacionada con la exposición de interés, ese control debería ser excluido del estudio. Por ejemplo, si estudiamos la relación entre la exposición al humo del tabaco y el asma bronquial por medio de un diseño de casos y controles y suponemos que el humo del tabaco es también un factor predisponente para las infecciones respiratorias de repetición, no deberíamos incluir como controles a niños con esta última patología, ya que seguramente conllevaría que la población de niños expuestos al humo del tabaco estará sobrerrepresentada con relación a la población general.

Como estrategia general, los controles deben obtenerse de

la misma población de la que proceden los casos, pero examinando meticulosamente cualquier posibilidad de sesgos. Si éstos no pueden excluirse, el grupo control podría ser seleccionado a partir de la población general<sup>(38)</sup>.

La relación entre casos y controles puede variar desde 1:1 (razón óptima) a 1:4, ya que se ha demostrado que por encima de 4 controles por caso no existe un beneficio real en la potencia del estudio<sup>(37)</sup>. En ocasiones, cuando no se está del todo convencido de la idoneidad del grupo control elegido, se puede optar por seleccionar uno o varios grupos de control adicionales, verificando si la relación de los casos a la exposición varía en los distintos grupos control.

Una técnica especial en la elección de controles es el apareamiento o emparejamiento, que supone elegir un control concreto para cada caso (elección de pares) que sea similar a éste en algunas variables específicas. El objetivo de esta técnica es eliminar el efecto de confusión causado por otras variables, que podrían distorsionar la relación entre la variable exposición y la variable respuesta. Para ello, para cada caso se elige al menos 1 control que tenga el mismo valor en la hipotética variable de confusión. Así, considerando al sexo como una variable de confusión, si el caso es un niño el control deberá ser un niño y, si el caso es una niña, el control deberá ser una niña. Una importante ventaja añadida del apareamiento es que al mejorar la precisión en el análisis facilita el uso de muestras de sujetos más reducidas. Por el contrario, la técnica de apareamiento puede ser lenta y costosa, puede exigir la exclusión de algún caso para el que no se le haya encontrado control adecuado y, sobre todo, invalida como fuente de información a las variables que se han utilizado como criterio de apareamiento. Un riesgo de esta técnica es el sobreapareamiento, que consiste en emparejar por un gran número de variables, reduciendo la eficiencia de la comparación al formar grupos excesivamente parecidos (se enmascara la asociación de interés), aumentando los costes y la complejidad del estudio<sup>(37,39)</sup>. Una buena opción sería reservar la técnica del apareamiento para cuando existan factores de riesgo importantes que se sospeche vayan a ejercer un efecto de confusión.

Como se deduce fácilmente de todo lo dicho, la información recogida sobre los casos y los controles no debe limitarse a la exposición de interés, sino que debe ser completada con la de otros posibles factores de riesgo u otras exposiciones que pudieran influenciar dicha relación. Para ello, los investigadores entrevistan o envían cuestionarios a los sujetos incluidos en el estudio, revisan historias clínicas, registros de salud laboral o de otro tipo, e incluso, en ocasiones, pueden disponer de marcadores biológicos que informen objetivamente sobre la exposición investigada. Cualquiera de estas fuentes debe ser capaz de generar una información exacta y comparable en todos los grupos investigados.

En los estudios de casos y controles, la medida de riesgo que se valora es la razón de odds (OR), que en la tabla de contingencia 2x2 se calcula con el cociente de productos cruzados

( $OR = \frac{A \times D}{B \times C}$ ). La OR cruda, además, debe completarse con las OR estratificadas y conjuntas, con el fin de valorar posibles factores de confusión y modificadores de efecto. El análisis multivariante será el último paso en la valoración de estos diseños<sup>(30,40)</sup>.

El análisis de los estudios de casos y controles en los que se ha aplicado una técnica de apareamiento es más complejo. Sin entrar en detalles, mencionaremos que existen tres alternativas válidas para esta situación: la razón de odds de Mantel-Haenszel, el test de McNemar y la regresión logística condicionada. Estos procedimientos pueden ser consultados en textos avanzados<sup>(40)</sup>.

### 2.2.3.- Diseños híbridos

En algunas situaciones se diseñan estudios mixtos desde una cohorte inicial. Son los llamados estudios de casos anidados en una cohorte y los estudios cohorte-caso, que aprovechan la base de una cohorte ya establecida para emprender un estudio caso-control en un momento determinado de su evolución<sup>(7)</sup>.

Debido a que en la mayor parte de cohortes la proporción de participantes que desarrollan la enfermedad o el desenlace de interés es relativamente baja, el estudio de todos los casos que aparecen en la cohorte y de una muestra de controles, permite extraer la mayor parte de la información contenida en la cohorte original con un ahorro significativo de coste.

En los estudios de casos-control anidados en una cohorte (sintéticos o verdaderos caso-control híbridos) se obtiene una muestra consistente de casos (habitualmente todos los casos que hayan aparecido) y otra de controles, y se les aplica las técnicas tradicionales de análisis de casos y controles. El diseño es muy similar al de un estudio de casos y controles, pero con una base poblacional cerrada y estática. Al obtenerse la información sobre factores de riesgo y covariables previas al desarrollo de la enfermedad se eliminan sesgos de información frecuentes en los diseños caso-control clásicos.

En los estudios de cohortes y casos o estudios cohorte-caso se selecciona aleatoriamente una subcohorte que servirá como grupo de comparación para todos los casos que aparezcan posteriormente en la cohorte, con independencia de si éstos son miembros o no de la subcohorte. Así, se consigue una nueva cohorte con menos componentes en la que los casos están sobrerrepresentados. La subcohorte seleccionada puede servir como grupo de comparación para el estudio de distintas enfermedades por lo que este diseño puede tener un buen rendimiento en términos coste-beneficio.

Un ejemplo clásico del diseño cohorte-caso es el estudio de MacMahon<sup>(41)</sup> que analiza la relación entre la exposición “in utero” a rayos X y el riesgo ulterior de cáncer en los primeros 10 años de vida. De una cohorte inicial de 734.234 niños, se seleccionó una subcohorte de 7.242 madres (muestra sistemática del 1% de la cohorte inicial) y un grupo de casos incidentes de cáncer de 556 niños. Este diseño ahorró a los autores una gran cantidad de trabajo y recursos económicos, obteniéndose, en cambio, una información absolutamente válida

del problema.

## Bibliografía

- 1 Hulley SB, Cummings SR. Diseño de la investigación clínica. Ediciones Doyma SA, Barcelona, 1993.
- 2 Argimón Pallás JM, Jiménez Villa J. Métodos de investigación aplicados a la atención primaria de salud. Ediciones Doyma SA, Barcelona, 1991.
- 3 Roca Antonio J. Cómo y para qué hacer un protocolo. *Med Clin (Barc)* 1996; **106**:257-262.
- 4 Bradford Hill A. The environment and disease: Association or Causation?. *Proc Royal Soc Medicine* 1965; **58**:295-300.
- 5 Rothman KJ, Greenland S. Modern epidemiology. Second edition. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1998.
- 6 Lilienfeld A, Lilienfeld DE. Foundations of epidemiology. Second edition. Oxford University Press. New York, 1980.
- 7 Guallar EM. Alternativas al diseño tradicional de los estudios de cohortes: Estudios de casos y controles híbridos y estudios de cohortes y casos. *Rev Sal Pub* 1991; **2**:151-165.
- 8 Guerra Romero L. La medicina basada en la evidencia: un intento de acercar la ciencia al arte de la práctica clínica. *Med Clin (Barc)* 1996; **107**:377-382.
- 9 Jovell AJ, Navarro-Rubio MD. Evaluación de la evidencia científica. *Med Clin (Barc)* 1995; **105**:740-743.
- 10 Rubio Terrés C. Diseño estadístico de ensayos clínicos. *Med Clin (Barc)* 1996; **107**:303-309.
- 11 Pocock SJ. Clinical Trials: a practical approach. John Wiley and Sons. New York, 1983.
- 12 Friedman LM, Furberg CD, DeMets DL. Fundamentals of clinical trials. Second edition. PSG Publishing Co, Inc. Littleton, Massachusetts, 1985.
- 13 Roland M, Torgerson DJ. What are pragmatic trials?. *BMJ* 1998; **316**:285.
- 14 Rothman KJ. Placebo mania. *BMJ* 1996; **313**:3-4.
- 15 Adkinson NF, Eggleston PA, Eney D, Goldstein EO, Schuberth KC, Bacon JR, Hamilton RG, Weiss ME, Arshad H, Meinert CL, Tonascia J, Wheeler B. A controlled trial of immunotherapy for asthma in allergic children. *N Engl J Med* 1997; **336**:324-331.
- 16 Pallares DE, Pilarski BR, Rodríguez JL, Leickly FE. A comparison of bronchodilatador responses to albuterol delivered by ultrasonic versus jet nebulization in moderate to severe asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1996; **77**:292-297.
- 17 Laupacis A, Sackett DL, Roberts RS. An assessment of clinically useful measures of the consequences of treatment. *N Engl J Med* 1988; **318**:1728-1733.
- 18 Cook RJ, Sackett DL. The number needed to treat: a clinically useful measure of treatment effect. *BMJ* 1995; **310**:452-454.
- 19 Collins R, Peto R, MacMahon S, Hebert P, Fiebach NH, Eberlein KA, Godwin J, Qizilbash N, Taylor JO, Hennekens CH. Blood pressure, stroke and coronary heart disease. Part 2, short-term reductions in blood pressure: overview of randomised drug trials in their epidemiological context. *Lancet* 1990; **335**:827-838.
- 20 Craen AJM, Vickers AJ, Tijssen JGP, Kleijnen J. Number-needed-to-treat and placebo-controlled trials. *Lancet* 1998; **351**:310.
- 21 Bustos Lozano G, Moreno Martín F, Calderín Marrero MA, Martínez Quesada JJ, Díaz Martínez E, Arana Cañedo C. Estudio comparativo entre el consejo médico y la terapia grupal cognitivo conductual en el tratamiento de la obesidad infantojuvenil. *An Esp Pediatr* 1997; **47**:135-143.
- 22 Poole Ch. Ecologic analysis as outlook and method (editorial). *Am J Public Health* 1994; **84**:715-716.
- 23 Morgenstern H. Uses of ecologic analysis in epidemiologic research. *Am J Public Health* 1982; **72**:1336-1344.
- 24 Piantodosi S, Byar DP, Green SB. The ecologic fallacy. *Am J Epidemiol* 1988; **127**:893-904.
- 25 Tapia Granados JA. Medidas de prevalencia y relación incidencia-prevalencia. *Med Clin (Barc)* 1995; **105**:216-218.
- 26 Fleiss JL. Statistical methods for rates and proportions. Second edition. John Wiley and Sons. New York, 1981.
- 27 Whitaker AH, Feldman JF, Van Rossem R, Schonfeld SR, Pinto-Martin JA, Torre C, Blumenthal SR. Neonatal cranial ultrasound abnormalities in low birth weight infants: relation to cognitive outcomes at six years of age. *Pediatrics* 1996; **98**:719-729.
- 28 Orejas G, Martínez F. Epidemiología y metodología científica aplicada a la pediatría (I): Introducción. Medidas de frecuencia, asociación e impacto. Estandarización. *An Esp Pediatr* 1998; **49**:313-320.
- 29 Smith GD, Phillips AN. Confounding in epidemiological studies: why "independent" effects may not be all they seem?. *BMJ* 1992; **305**:757-759.
- 30 Cobo E, Buekens P. Necesidad y limitaciones del ajuste. *Med Clin (Barc)* 1990; **95**:702-708.
- 31 Baldellou A. Tratamiento de los errores congénitos del metabolismo. *An Esp Pediatr* 1997; **47**:563-567.
- 32 Martínez-Frías ML. Análisis del riesgo que para defectos congénitos tienen diferentes grupos étnicos de nuestro país. *An Esp Pediatr* 1998; **48**:395-400.
- 33 Rogentine GN, Yankee RA, Gart JJ, Nam J, Trapani RJ. HLA antigens and disease: acute lymphocytic leukemia. *J Clin Invest* 1972; **51**:2420-2428.
- 34 Rogentine GN, Trapani RJ, Yankee RA, Henderson ES. HL-A antigens and acute lymphocytic leukemia: The nature of the HL-A2 association. *Tissue Antigens* 1973; **3**:470-476.
- 35 Wacholder S, McLaughlin JK, Silverman DT, Mandel JS. Selection of controls in case-control studies: Principles. *Am J Epidemiol* 1992; **135**:1019-1028.
- 36 Wacholder S, Silverman DT, McLaughlin JK, Mandel JS. Selection of controls in case-control studies: Types of controls. *Am J Epidemiol* 1992; **135**:1029-1041.
- 37 Wacholder S, Silverman DT, McLaughlin JK, Mandel JS. Selection of controls in case-control studies: Design options. *Am J Epidemiol* 1992; **135**:1042-1050.
- 38 Cole P. En Breslow NE y Day NE, eds: Statistical methods in cancer research. Volume 1. The analysis of case-control studies. International Agency for Research on Cancer. Lyon. 1980; pp: 14-40.

- 39 Bland JM, Altman DG. Matching. *BMJ* 1994; **309**:1128. *Cancer Inst* 1962; **28**:1173-1191.
- 40 Kleinbaum DG. Logistic regression. A self-learning test. Springer-Verlag. Nueva York, 1994.
- 41 MacMahon B. Prenatal X-ray exposure and childhood cancer. *J Natl*