

El estudio retrospectivo de cohorte durante la investigación de campo de una epidemia

Víctor M. Cárdenas, Jefe de Redacción de la RAEC

Resumen

Los estudios de cohortes retrospectivos en el contexto de las investigaciones epidemiológicas de campo no reciben suficiente atención en la mayoría de los textos de epidemiología, a pesar de ser los más comúnmente empleados. Además, se argumenta erróneamente que el estudio de casos y controles debería utilizarse con más frecuencia. Repaso las indicaciones en las que el estudio de cohortes retrospectivo es más apropiado: la identificación de una población de riesgo que pueda estudiarse mediante empadronamiento o muestreo y que experimente una tasa de ataque considerable, digamos del 10%. También abordo otras cuestiones metodológicas sobre las mediciones de la exposición y la aparición de la enfermedad, el tamaño de la muestra necesario y el análisis de los datos de un estudio de cohortes retrospectivo.

Palabras clave: epidemias; brotes de enfermedades; estudios de cohorte; métodos epidemiológicos

Abstract

Retrospective cohort studies in the context of epidemic field investigations do not receive sufficient attention in most epidemiology texts despite being the most commonly employed. Moreover, it is erroneously argued that the case-control study should be used more frequently. I review the indications in which the retrospective cohort study is most appropriate: identification of an at-risk population that can be studied by census or sampling and that experiences a substantial attack rate, say 10%. I also address other methodological issues regarding measurements of exposure and disease occurrence, the sample size required, and the analysis of data from a retrospective cohort study.

Keywords: epidemics; disease outbreaks; cohort studies; epidemiologic methods

Introducción

El estudio retrospectivo de cohorte (a veces llamado histórico) es el diseño de estudio epidemiológico más comúnmente utilizado durante la investigación de un brote epidémico. Este hecho no recibe la atención debida en libros de epidemiología en los que se concibe como estudios epidemiológicos solamente aquellos planeados [1], e incluso se propone equivocadamente un lugar preponderante o especial para los estudios de casos y controles en la investigación de brotes epidémicos [2]. En escenarios comunes encontrados en la investigación de epidemias en las que se identifica una población con un riesgo realizado de al menos 10%, se puede enumerar toda o una parte de esta población para contrastar la ocurrencia de la enfermedad entre las exposiciones que se postulan puedan estar asociadas con dicha ocurrencia. Este son las circunstancias en las que uno piensa en realizar un estudio de cohorte retrospectivo, como veremos más adelante con mayor detalle.

Previamente en esta sección de la Esquina del Entrenador se argumentó que, la mayoría de las veces, la indagación de un brote epidémico es parte de la respuesta de salud pública y no se justifica una investigación epidemiológica completa [3]. Sin embargo, hay ocasiones en que si se justifica para avanzar el conocimiento y aplicarlo inmediatamente, pues como Schaffner y La Force escribieron: “Los experimentos naturales en brotes sólo se hacen evidentes más tarde, porque un epidemiólogo(a) aprovechó la circunstancia en el terreno para plantear una pregunta y estructurar una investigación de manera que se aprendiera algo nuevo” [4].

Para describir la ocurrencia de la enfermedad durante una epidemia, si están disponibles los datos de la población a riesgo, como los estimados de la población por edad y sexo u otras características, se deben calcular tasas específicas por grupos de edad, sexo lugar de residencia u otras características para lograr la caracterización de la epidemia y postular hipótesis sobre factores del agente, huésped y ambiente que pudieran estar asociados con la ocurrencia de la enfermedad. Esta parte de la investigación es descriptiva, aunque puede tener elementos de un estudio ecológico al poner a prueba

hipótesis sobre la existencia de diferencias digamos por edad, sexo, lugar de residencia u otras características. Para la descripción de la ocurrencia de la enfermedad en esta fase descriptiva, se utilizan las proporciones de personas afectadas según tales características en la forma de tasas de ataque (TA):

$$Tasa\ de\ ataque = \frac{casos\ nuevos}{Población\ a\ riesgo} \times k$$

en la que k es un constante generalmente 100 o cualquier número que permita que la tasa sea de al menos un dígito entero. Durante una epidemia de corta duración, se entiende que el periodo de seguimiento es el periodo que dura la epidemia, es decir, el periodo epidémico. La TA es un caso específico de una medida de frecuencia más general llamada incidencia acumulada o riesgo, que tiene un periodo de seguimiento implícita o explícitamente asociado. Asumiendo que la enfermedad no estaba presente antes del inicio del periodo epidémico, es decir que todos los casos son nuevos, tal proporción es en realidad el riesgo de enfermedad durante el periodo epidémico. Uno debe tener en mente que, para obtener la población a riesgo, uno debería excluir a quienes ya tuvieron la enfermedad o que no son susceptibles a ella (por ejemplo, que tienen anticuerpos). Las TA se comparan de preferencia ajustando por edad y tal comparación, aun tratándose de una fase descriptiva de la investigación, es consistente con un estudio analítico de grupos de personas, así los datos de los casos representen una serie de casos y por ende individuos. Las TA crudas o ajustadas se comparan de acuerdo con esas características utilizando razones, es decir cociente de tasas de ataque, o razón de riesgos (RR) o diferencias en las tasas de ataque o diferencia de riesgos (DR).

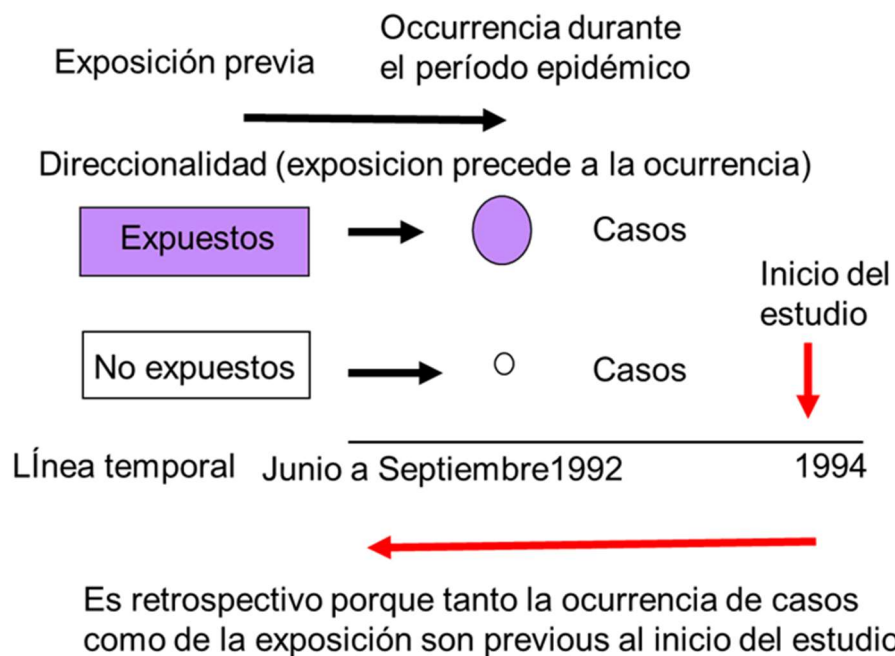
Muchas veces la fase descriptiva de la investigación de un brote y aun las comparaciones de tipo grupal, es decir de tipo ecológico, que uno realiza no dan respuesta a preguntas que uno tiene sobre los factores de riesgo prevenibles del agente, huésped, ambiente incluyendo aquellos referentes a los determinantes sociales y los relacionados con los servicios de salud, que influyen la ocurrencia de la enfermedad o condición de interés. Por tal razón, son necesarios los estudios basados en individuos

como los de cohortes o casos y controles. Tenga presente que algunos determinantes o condicionantes del proceso salud-enfermedad no pueden ser cabalmente evaluados con datos a nivel individual, sino a nivel ecológico [5].

Diseño general

Los estudios retrospectivos de cohorte recolectan información sobre las exposiciones una vez que la exposición ocurrió, y asimismo una vez que todos o casi todos los casos ya ocurrieron (Figura 1). Es decir, lo que hace “retrospectivo” a estos estudios de cohorte es que tanto la exposición y los casos ya ocurrieron al tiempo del inicio del estudio.

Figura 1. Características de un estudio retrospectivo de cohorte



Brote de infección por el virus de la inmunodeficiencia humana en una unidad de hemodiálisis

Para fines de Ilustración del diseño general y otros tópicos a revisar más adelante, retomamos el ejemplo visitado en esta serie de la epidemia de VIH en una unidad de diálisis que ocurrió en un hospital universitario en Colombia en 1992 [6]. La evaluación en terreno de los datos disponibles en los registros

de la unidad de diálisis llevo a identificar que el riesgo se concentraba entre quienes recibieron diálisis repetidamente (Cuadro 1).

Cuadro 1. Características de los pacientes que recibieron diálisis, disponibilidad de sueros para las pruebas de VIH y los resultados de las pruebas de VIH, enero de 1992 a diciembre de 1993 (periodo epidémico), unidad de diálisis de Colombia

Diálisis	Número de Pacientes			
	No. (sueros disponibles)	Estatus serológico		
		Negativos	Convertidos	Seropositivos Probable/definitivo
DCAP*	4 (4)	4	0	0
Diálisis aguda	9 (8)	8	0	0
Diálisis crónica	29 (23)	10	9	1/3
Total	42 (35)	22	9	1/3

*Diálisis crónica ambulatoria peritoneal Fuente: [Referencia 6]

El estudio se concentró entre 19 de estos 23 sujetos. Por razones ajenas al estudio, el jefe de la unidad de diálisis era a su vez el decano de la facultad de medicina y llevaba a cabo un protocolo de investigación por el cual obtenía sueros cada vez que los pacientes iban a sus sesiones de hemodiálisis. Esto permitió hacer primero el descubrimiento del brote dado que una microbióloga por serendipia uso un suero de esos pacientes como control para una prueba de VIH, y al resultar positiva, termino no solamente notificando el brote al Instituto Nacional de Salud, sino enviando todas las muestras del banco de sueros.

El estudio del brote de infección por VIH en la unidad de diálisis se realizó retrospectivamente entre abril y mayo de 1994, es decir, cuando ya habían ocurrido tanto los casos (esto es, infecciones nuevas por VIH) y las exposiciones que se indagaron. Lo que lo hace retrospectivo es que se inicia en 1994 cuando los casos y las exposiciones ocurrieron en 1992. Sin embargo, mantiene la arquitectura fundamental de un estudio de cohorte en que se seleccionan personas al estudio de acuerdo con su

estatus de exposición (esto es, recibir diálisis crónica) y se puede discernir claramente el tiempo en que ocurrieron las exposiciones y que estas son previas a la ocurrencia de las infecciones.

Si decimos que una exposición (variable X) ocurre antes, es decir que antecede a un efecto en la salud, como la enfermedad o condición de estudio (variable Y), decimos que la direccionalidad causal está bien establecida. Cuando hacemos un estudio retrospectivo de cohorte, se indaga el momento en que ocurren tanto la exposición (X) como la enfermedad (Y). Como todo estudio de cohorte el estudio retrospectivo de cohorte mantiene una clara direccionalidad causal, esto es, la temporalidad de las exposiciones precediendo a la ocurrencia de la enfermedad queda claramente establecida y se pueden medir directamente las medidas de ocurrencia como el riesgo o tasa de ataque. Es el caso del estudio en el ejemplo del VIH en la unidad de diálisis.

La cohorte de la hambruna en Holanda

Las características de un estudio retrospectivo de cohortes planeado se ilustran brevemente con el famoso estudio de la hambruna en Holanda en 1944, a finales de la II guerra mundial. Los epidemiólogos Mervin Susser y Zena Stein dirigieron este famoso estudio [7], al que vieron como “análogo a los experimentos con animales en los que la deprivación nutricional baja el crecimiento del feto, incluida la cabeza, y tal vez cause una depleción de las células cerebrales”. El Dr. Susser había servido como piloto con los aliados y ambos fueron perseguidos en su natal Sudáfrica por su interés en la salud de la mayoría negra y su apoyo político a la lucha contra el *Apartheid*, y ambos emigraron en los 1960s a EE. UU. A sabiendas de que había registros de nacimientos en los hospitales de áreas afectadas y no afectadas por el racionamiento (de aproximadamente 1,500 calorías por día) en Holanda durante la hambruna (octubre de 1944 a mayo de 1945), se dispusieron a examinar qué efectos tuvo tal experiencia en indicadores antropométricos al nacer. Luego se propusieron y lograron cazar los registros de nacimientos con los del servicio militar de 400,000 holandeses, y así establecieron sus efectos en el neurodesarrollo. Lo que hace a este estudio de cohortes retrospectivo

o histórico, es que tanto la exposición a la hambruna tanto los efectos ocurrieron veinte años antes de iniciado el estudio. Sin embargo, no hay duda de que la hambruna precedió temporalmente a la ocurrencia de déficits en el desarrollo infantil. Los investigadores identificaron que el déficit de peso al nacer fue más significativo al experimentar la hambruna en el tercer trimestre del embarazo. Sorpresivamente, sus estudios establecieron que no hubo efectos de importancia de haber sido expuestos en el útero a la hambruna en el desarrollo cognitivo a los 18 años. Otros estudios anidados en los de los autores han identificado un incremento en el riesgo de enfermedades crónicas entre quienes sufrieron la hambruna en la etapa fetal de la vida.

Este diseño de estudio de cohorte retrospectiva o histórica en una forma acortada se aplica en el estudio de brotes de intoxicación alimentaria entre los comensales de una reunión social, como lo son un banquete, una fiesta, o entre los clientes de una cafetería o restaurante. De la misma manera, cuando ocurre un brote entre los pacientes de un pabellón de un hospital como vimos en el ejemplo del brote de VIH en la unidad de diálisis. Mas adelante revisaremos otros escenarios en que se utiliza el estudio de cohorte retrospectiva en epidemiología de campo. La misma naturaleza no planeada de los estudios de brote determina que casi todos los estudios de brotes sean retrospectivos: dependen de que se haya notificado a una jurisdicción sanitaria la ocurrencia inusual de casos y es común que quienes reporten identifiquen inmediatamente la experiencia en común o el grupo que experimentó el riesgo elevado.

Adelantemos que durante epidemias de alta frecuencia que afectan a la población general, el estudio de los residentes de un vecindario o una institución escolar o militar pueden servir como poblaciones de estudio en las que se desarrolla el estudio retrospectivo de cohorte.

Sera de interés con los lectores de esta sección, el anotar que a menudo se publican estudios principalmente de interés clínico de pacientes de alguna enfermedad a los que se les llama estudios de cohortes. Durante la pandemia de COVID-19 se publicaron muchos informes de tales estudios de

cohorte. Es apropiado quizá llamarles a tales investigaciones estudios de series de casos, ya que carecen de datos de la población a riesgo.

Requisitos

De nuevo, los requisitos son que la tasa de ataque de Y sea relativamente elevada ($\geq 10\%$), todos o la mayoría de los casos ya ocurrieron y que los miembros de la cohorte sean fáciles de enumerar y recolectar datos sobre la exposición a X previa a la ocurrencia del brote o epidemia, de manera que no haya duda de que la exposición precede temporalmente a la ocurrencia de la enfermedad o condición de interés.

Es necesario tener forma de medir la exposición ya sea de manera directa por entrevista estructurada por un cuestionario, o un cuestionario autoadministrado, por consulta de registros como ordenes de menú si se trata de un banquete, ordenes de productos, o registros de servicios de sala o expedientes si se trata de un brote en una institución hospitalaria, medición de anticuerpos de origen vacunal o registros de vacunación. Es necesario también poder medir la ocurrencia de la enfermedad o condición bajo estudio utilizando una definición operacional de caso y hacerlo de forma tal que sea completa tanto retrospectivamente, como durante y al menos cierto tiempo después de la concluida la investigación.

Los pacientes en diálisis con o sin seroconversión al VIH durante el periodo epidémico fueron similares en número de transfusiones de sangre recibidas, expuestos a procedimientos quirúrgicos, trasplante renal, procedimientos dentales o endoscopia (Cuadro 2). En cambio, la tasa de seroconversión por VIH fue mayor en los pacientes que recibieron diálisis durante los mismos 4 meses en los que el paciente 22 de la unidad de diálisis, un paciente que era positivo en la primera muestra de suero tomada la primera vez que el asistió a la unidad (de mayo a octubre de 1992) (90% frente a 0%; $P < 0.0001$) o los meses en que la unidad de diálisis reprocessaba los filtros de diálisis (enero de 1992 a agosto de 1993) (60% frente a 0%, $P = 0.05$).

Evaluación de la asociación

Las medidas de asociación que se emplean en los estudios de cohorte retrospectiva, como adelantamos antes, son la razón de tasas de ataque, o razón de riesgos (RR), y la diferencia de tasas de ataque o diferencia de riesgos (DR). Si existe información sobre el tiempo de seguimiento y la fecha/hora de ocurrencia de la enfermedad o condición de interés (Y), uno podría estimar tasas de incidencia y las medidas de asociación que uno puede usar son tanto la razón de tasas de incidencia como la diferencia de tasas de incidencia. Este tipo de información detallada (tiempo-persona) o no está disponible o el periodo epidémico es relativamente corto por lo que en la mayoría de las veces no hay justificación para usar tasas de incidencia sobre el riesgo o tasas de ataque.

Cuadro 2. Comparación del riesgo de seroconversión entre los pacientes en hemodiálisis crónica de acuerdo con su exposición a varios factores de riesgo

Exposición	Si/No	Seroconversión	Razón de riesgos (IC 95%)	Diferencia de riesgos (IC 95%)	Valor de <i>P</i>
Recibió hemodiálisis					
Con el paciente #22 (mayo - octubre 1992)	Si	9/10	∞ (NC*, ∞)	90% (60.0, 100.0)	0.0001
	No	0/9			
Reprocesamiento de filtros (enero de 1992 - agosto 1993)	Si	9/15	∞ (NC, ∞)	60% (35.2%, 84.8%)	0.05
	No	0/4			
>2 transfusiones	Si	4/6	1.7 (0.7, 4.2)	28.2% (-17.9%, 74.3%)	0.3
	No	5/13			
Procedimientos					
Transplante renal	Si	2/3	1.5 (0.6, 4.0)	22.9% (-35.7%, 81.5%)	0.5
	No	7/16			
Dental	Si	4/7	1.4 (0.5, 3.5)	15.5% (-30.6%, 61.5%)	0.6
	No	5/12			
Endoscopia	Si	3/6	1.4 (0.4, 2.9)	12.0% (-44.5%, 34.8%)	0.9
	No	6/13			

*NC: no calculable

Fuente: [Referencia 6]

La razón de tasas de ataque o riesgo (RR) entre los expuestos sobre los no expuestos, esto es, $\frac{\text{Riesgo en los expuestos}}{\text{Riesgo en los no expuestos}}$, es la medida de asociación empleada en la mayoría de las veces en los estudios retrospectivos de cohorte.

Una de las ventajas de los estudios de cohorte sobre otros diseños de estudios epidemiológicos, consiste en que se pueden obtener directamente de las observaciones hechas, las tasas de ataque en la población de estudio. Las tasas de ataque o riesgo en los no expuestos, sustraídas de las tasas de los o riesgo en los expuestos, esto es, la diferencia de riesgos, (DR), es $\text{Riesgo en los expuestos} - \text{Riesgos en los no expuestos} \times k$. donde k es una constante generalmente 100, es la otra medida de asociación o efecto empleada en estudios de cohorte. Note que, en contraste con la razón de riesgos, la diferencia de riesgos es una medida directa de la ocurrencia de la enfermedad, en este caso el riesgo, mientras que la razón de riesgos es una medida relativa. Aunque hay dos ventajas del uso de la diferencia de riesgos sobre la razón de riesgos, una que proporciona una medida de riesgo absoluta y la segunda que permite obtener estimados aun cuando hay celdas con zero como lo ilustra el ejemplo del cuadro 1. La diferencia de tasa de ataque o riesgos, dividida por la tasa de ataque o riesgo en los expuestos, $\frac{\text{Riesgo en los expuestos} - \text{Riesgos en los no expuestos}}{\text{Riesgo en los expuestos}} \times 100$, es también llamada el porcentaje de riesgo atribuible o simplemente riesgo atribuible (RA), la cual es una medida de impacto potencial.

Como una de las fuentes de error posibles es el azar, es decir que las diferencias observadas sean solamente debidas a la suerte, utilizando métodos estadísticos uno desea ponerle límites a esta incertidumbre. Lo hacemos de dos maneras. El primero es haciendo una prueba estadística que para datos categóricos generalmente es la prueba de ji-cuadrada para el caso de números suficientes, o una prueba de Fisher para el caso de escasas observaciones. Tales pruebas comparan los números observados con los esperados bajo la así llamada hipótesis nula (H_0), producen un valor de cada estadístico de prueba que tiene a su vez un valor de P asociado. El valor de P mide la probabilidad de

los datos dado que la hipótesis nula fuese cierta. Tales valores de P van de 0 a 1, y se utiliza como punto de corte, por convención, el de menor de 0.05 para rechazar la H_0 , es decir que tal hipótesis es poco creíble dadas las observaciones a la mano. En el caso de la RR, la hipótesis nula, H_0 , es $RR=1$; mientras que, en el caso de la DR, la H_0 es $DR=0$. El segundo enfoque, preferido por los epidemiólogos y en esta Revista, es obteniendo un intervalo de confianza alrededor de RR o de DR. Si el intervalo de confianza (IC) del 95% no incluye el valor nulo de RR o de DR según se haya escogido una medida o la otra, proporciona la misma respuesta que el valor de P . Además, el IC nos proporciona el valor de punto de RR o DR que maximiza la probabilidad de los datos y el rango más consistente con ellos, es decir, que el IC es mucho más informativo que el valor de P .

Volviendo al ejemplo del cuadro 2, para el riesgo de infectarse con VIH de los pacientes en diálisis crónica en el hospital universitario mientras que se dializaba el paciente 22, la razón de riesgos es indefinido dado que hay valores cero para el denominador, es decir, la tasa de los no expuestos fue cero. La diferencia de riesgos no tiene ese problema y es calculada como 90%. La diferencia de riesgos del 90% dividida por la tasa de ataque en los expuestos (90%) y expresada en porcentaje es el 100%. Este es el RA.

Interpretación de las medidas de asociación

Las exposiciones que son deletéreas para la salud incrementan el riesgo en los expuestos y pues los valores de la RR y la DR de las exposiciones sean nocivas, son mayores de 1 y 0, respectivamente. Las exposiciones pueden tener un efecto protector en el riesgo de desarrollar una enfermedad o condición relacionada con la salud. Por ejemplo, las vacunas pensadas como exposición a las que las personas se exponen no solamente voluntarias sino por recomendación de los profesionales de la salud, destacadamente los epidemiólogos y otros profesionales, cuando y si son efectivas disminuyen el riesgo de infección y enfermedad o su desenlace grave después de la inmunización con ellas. Los valores de la RR y de la DR si son protectoras serían menores de 1 y menores de 0, respectivamente.

Dado que estas medidas de riesgo (RR y DR) son diferentes, es decir la primera es una medida de asociación relativa y la segunda es absoluta, su interpretación es también diferente. Uno expresa la RR como que tantas veces cabe el riesgo de los expuestos sobre el riesgo de los no expuestos. En el cuadro 2, la exposición a ser dializado simultáneamente con el paciente 22, el riesgo de esos pacientes se *incrementó* infinita o indefinidamente comparado con el riesgo de aquellos no expuestos, y podríamos asimismo decir que fue estadísticamente significativo con un valor de P de 0.0001. Si nos refiriéramos al RR de haberse infectado con el VIH por haber recibido más de dos transfusiones de sangre, diríamos que el riesgo de aquellos que recibieron más de dos transfusiones de sangre aparentemente fue 1.7 veces el riesgo de quienes no las recibieron pero que intervalo de confianza no permitió establecer que esta diferencia pudo haber sido debida solamente al azar. Esto último lo afirmamos porque el IC del 95%, (0.7, 4.2), incluyó el valor nulo y consistentemente el valor de P fue de 0.3. También podría uno decir que aparentemente el riesgo de infección de VIH entre quienes recibieron dos o más transfusiones tuvo un exceso de riesgo de 70% (RR-1) en relación con el riesgo de quienes no recibieron dos o más transfusiones, y de nuevo podemos decir que tal exceso aparente pudo haber sido producto del azar.

Un error común en la interpretación de los RR es el empleo incorrecto del comparativo más en lugar del comparativo multiplicativo doble y duplicar, triple y triplicar, cuádruple y cuadruplicar, y así. También se puede decir aumentar en tantas veces. Explicamos que un RR de 2 no significa que haya dos veces “mas” riesgo de “X”, sino que el riesgo de X se dobló entre aquellos expuestos comparado con el riesgo de los no expuestos. Si se insiste en usar el comparativo más .. que, uno debería substraer 1 del RR, es decir un RR de 2, se interpreta correctamente como que el riesgo de los expuestos se incrementó en 100% con respecto al riesgo de los no expuestos. Del mismo modo, un RR de 5, significa que el riesgo de los expuestos es en un 400% más que el nivel de los no expuestos. Lo mismo aplica al comparativo mayor .. que o menor... que, pues solamente implica que hay una diferencia, a menos

que se especifique que es X número de veces mayor o menor. Esto se debe a que el RR es una medida en la escala multiplicativa y no la aditiva.

Los valores de la DR están medidos en la escala aditiva, es decir, no son relativos sino absolutos ya que la diferencia resulta en un valor de riesgo en la escala original. Entonces, una de las maneras más sencillas de interpretarlo es como exceso de riesgo o casos por la constante k , utilizada para expresar el riesgo, en el caso de las tasas de ataque, estas generalmente son por cien personas, en este caso expuestas. Por ejemplo, volviendo al cuadro 2, la exposición a ser dializado simultáneamente con el paciente 22, confirió un riesgo en exceso para 9 de cada 10 pacientes así expuestos desarrollaran la infección por VIH y también podríamos asimismo decir que este exceso fue estadísticamente significativo con un valor de P de 0.0001.

Como habíamos escrito antes, la razón de la DR sobre la tasa de los no expuestos, RA, es una medida no de asociación, sino de impacto potencial, que se interpreta como la fracción de la enfermedad o condición entre los expuestos que se debe a su exposición. En el ejemplo del cuadro 2, el RA asociado a recibir diálisis crónica al tiempo que el paciente 22 fue de 100% (esto es, $\frac{90\% - 0\%}{90\%} \times 100$), y puede interpretarse como que ninguno de las infecciones por VIH hubiese ocurrido en la unidad de diálisis de no haberse transfundido simultáneamente con el paciente 22. Esta medida es de gran utilidad para evaluar la eficacia o efectividad de una intervención como es el caso de las vacunas (eficacia o efectividad vacunal), pero también de los medicamentos y otros procedimientos, tecnologías y métodos de prevención, control y promoción de la salud.

Tipos de escenarios de estudio

Expandiendo los escenarios en que se emplea el estudio de cohorte retrospectivo durante el curso de una epidemia que mencionamos antes, podemos listar los escenarios siguientes:

Asistentes a un evento discreto, es decir que ocurre una sola vez (banquete [9], reunión familiar/social [10], servicios religiosos [11], conciertos [12], transportes [13, 14] u otra parecida).

Exposición común continua en instituciones (escuelas [15], hospitales [6], otros establecimientos de salud como casas de asistencia a personas mayores [16], centros de cuidados a menores [17], cuarteles [18], reclusorios [19]).

Centros de trabajo (fábricas [20], oficinas [21]).

Viviendas cuando las tasas de ataque son altas en la población general como en la pandemia de COVID-19 [22] o transmitidas por vectores como ocurrió en una epidemia de encefalitis equina venezolana [23].

Generalmente fuera de la profesión de epidemiólogo de campo, hay otros escenarios en que se usan estudios de cohorte planeados, generalmente de periodos de seguimiento mayores, ya sean retrospectivos o prospectivos, incluyendo los estudios de cohorte de embarazos [24], de trabajadores [25], los estudios de poblaciones que sufren exposiciones inusuales como la hambrunas [p. ej., 7,8] o bombardeo atómico [26], entre otros [1, pp. 44-46].

Identificación de casos y seguimiento

Durante brotes de enfermedades es común que casi todos los casos ya se hubiesen reportado. A veces por defecto en la exhaustividad de la notificación se requiere una búsqueda más detenida, que implica contactar a todos o a una muestra aleatoria de la población a riesgo. La decisión sobre estudiar a todos los miembros del universo (por ejemplo, los asistentes a un banquete o los empleados de una fábrica o los habitantes de todas las viviendas de una comunidad afectada) debe basarse en lo que es factible. Es más importante la validez del estudio (es decir, la ausencia de sesgos) en una muestra que sea factible enumerar, y debe cuidarse no comprometer tal validez por un plan ambicioso que produzca estimados de la asociación que podrían estar sesgados. Una fuente importante de sesgo potencial

deriva de realizar la investigación demasiado tarde cuando ya la exposición no se puede documentar. Por ejemplo, en un brote de intoxicación alimentaria que hayan pasado más de 2-3 días y las personas no puedan recordar que comieron y se han descartado alimentos implicados. Por ejemplo, en un estudio realizado en Guizhou, China, después de recibir un informe de 200 casos de diarrea el 12 de mayo del 2012 entre estudiantes universitarios [27]. Los epidemiólogos iniciaron el estudio de cohorte retrospectivo inmediatamente. La mayoría de los casos ocurrieron entre el 8 y el 11 de mayo. La epidemia fue causada por *Aeromonas hydrophyla* que tiene un periodo de incubación de 1-2 días. La investigación identificó una relación dosis-respuesta con la cantidad de ensalada de pepinos. Aunque estudiaron a 902 estudiantes (TA 14%), muchos no pudieron recordar que habían comido, y el informe no aclara si se entrevistaron personalmente a los estudiantes o si el cuestionario fue autoadministrado. Solamente el 10% los casos tuvieron exámenes microbiológicos. Esta bacteria se transmite por agua, y aunque los pepinos pudieron ser el vehículo uno pensaría que el agua pudo estar implicada, dado que había historias de eventos semejantes asociado a falla del tanque de agua de la cafetería. Uno puede razonar que en estas circunstancias un estudio de 150 a 200 estudiantes seleccionados al azar y entrevistados más cuidadosamente podría haber proporcionado mejor información.

Debe existir un sistema de vigilancia, quizá activo si se justifica y es posible, para identificar la ocurrencia de casos nuevos, además de los casos ya identificados. Estos sistemas de duración breve, y de vigilancia activa, en general, son importantes para lograr una identificación más exacta, de la ocurrencia de la enfermedad o condición relacionada a la salud que se investiga, así como para monitorear la ocurrencia a corto plazo en el futuro, dado que muchas enfermedades epidémicas, sobre todo las propagadas de persona a persona, pero también en aquellas vehiculadas pueden haber olas secundarias o posteriores.

Cuando se recoge la información sobre los casos, debe investigarse la fecha de inicio tan precisamente como sea posible, y con una precisión tan fina como sea requerido de acuerdo con el periodo de incubación aparente de la enfermedad. Si se trata de una intoxicación por alimentos es probable que

necesitemos la hora y fecha de inicio. Hay enfermedades como la influenza o el dengue en que las personas afectadas recuerdan muy exactamente la hora en que empezó. Desde luego esto tiene valor si la indagación es oportuna. Habrá casos prevalentes de ciertas condiciones con duración crónica, como el VIH, en que su distinción con los casos nuevos es importante porque los casos prevalentes no forman parte de la “población a riesgo”, es decir no son susceptibles.

El estudio de cohorte ya sea prospectivo o retrospectivo requiere de los que se llama un seguimiento completo de la cohorte, esto es, la identificación de la ocurrencia de enfermedad más exhaustiva tanto entre expuestos como no expuestos. Evidentemente, el identificar de manera diferencial la ocurrencia de casos entre las diferentes categorías de la exposición, introducirá errores sistemáticos o así llamados sesgos. Por ejemplo, si hubiese un mayor esfuerzo en la búsqueda de casos entre los expuestos que los no expuestos, obviamente por error se inflara artificialmente el estimado del RR. Alternativamente, si el desbalance lleva a investigar con mayor exhaustividad a los no expuestos, esto podría subestimar la asociación. El trabajo de campo de un estudio de cohorte retrospectivo debe evitar la aplicación de métodos de búsqueda de casos diferentes según las exposiciones.

Evaluación de las exposiciones

Muchas veces las exposiciones a evaluar parecieran engañosamente numerosas. Debe uno guiarse por las pistas de la plausibilidad biológica o sociológica de las causas de la enfermedad o evento de salud, el recordatorio de los pacientes durante la fase exploratoria de la investigación y resistir la tentación de medir todas las causas posibles. Por regla, eso resulta en una dilución de la calidad de la información. Incluya posibles factores que estarán asociados con la ocurrencia de la enfermedad en la ausencia de la exposición y que pueden estar asociados a la exposición, así como aquellos que uno esperaría que modifiquen el efecto de la exposición en el riesgo. En el ejemplo del estudio de VIH en la unidad de diálisis, notamos que había un paciente del que se supo retrospectivamente que ya era positivo para el virus desde la primera visita a la unidad de diálisis (el paciente 22) y entonces lo que

se hizo fue identificar las fechas de visita de cada paciente para establecer una línea de tiempo, que hemos demostrado antes en esta sección como hacerla [28]. Pero el VIH se transmite por relaciones sexuales, uso de drogas intravenosas, recepción de sangre y órganos, y entre otros factores de riesgo fueron estudiados en detalle. La edad, el sexo, el estado marital, la ocupación y escolaridad fueron también obtenidos por entrevistas y extraídos de los registros médicos.

En la práctica en muchos brotes se mide la exposición y el estatus de salud al mismo tiempo a través de la aplicación de un cuestionario que cuenta con una sección de estado de salud y otra de las exposiciones. Es importante utilizar cuestionarios ya probados. Estos necesitan calibración o ajustes a la situación estudiada y preferentemente ser probados en campo antes de su aplicación. Como adelantamos antes, los cuestionarios son generalmente aplicados durante una entrevista en persona, o por teléfono. Si hay razones para pensar que la información recogida por autoadministración del cuestionario sea confiable, que es fácil de contestar, anticipe cómo evitar que los sujetos dejen en blanco las respuestas, entonces se puede emplear este método u otros como el internet. Considere si las preguntas requieren del participante un mínimo de alfabetismo, y si algunas requieran poder hacer cálculos mentales. Todo esto debe ser evaluado cuidadosamente.

Gran parte del rigor nuestra ciencia descansa en gran medida en la calidad del instrumento que usemos. No se puede nunca enfatizar de más la importancia del cuestionario, así como de la observación. El cuestionario debe hacer preguntas respecto a las exposiciones durante el periodo relevante (esto es, el periodo de referencia o recordatorio), utilizando ayudas visuales o referencias a días festivos que permitan mejorar el recordatorio, a la vez evitando sugerir las respuestas e introducir sesgos.

Desafortunadamente hay muchas investigaciones de brotes que carecen de un componente de estudio epidemiológico. Es común que en vez de evaluar las exposiciones utilizando un cuestionario, otros profesionistas, principalmente microbiólogos, prefieran depender del hisopado de muestras

ambientales, o la relación genotípica entre las cepas obtenidas de los pacientes, dejando de lado el estudio de la población a riesgo y la medición de los factores de riesgo. El trabajo de campo debe ser multidisciplinario, reconociendo la complementariedad de las diferentes profesiones.

Tamaño de muestra y poder estadístico

Si el número de expuestos es limitado se debe tratar de estudiar a todos los miembros de la cohorte y debe tomarse en cuenta que habrá limitaciones inherentes a la situación en que se produjo el brote para estimar adecuadamente las asociaciones. Dado que las investigaciones epidemiológicas en terreno de brotes epidémicos no son planeadas de antemano, las más de las veces más que determinar el número necesario de sujetos para probar una hipótesis, se trata de conocer la probabilidad de que la prueba de hipótesis detecte una asociación si tal existiera. Es decir, la evaluación del poder del estudio se debe considerar sobre todo si no se encontró una asociación que uno esperaría haber encontrado.

Si ha de obtenerse una muestra y tomarse una decisión de cuantas personas incluir, por regla general, 140 personas con la mitad expuestos y la otra mitad no expuestos en la cohorte, produce estimados adecuados, con al menos una probabilidad de 80% (esto es 0.8 como fracción de 1, en el eje de la Y en las figuras) de detectar la asociación, esto es poder estadístico, si la RR a estimar es de 2.0 y más, siempre que la TA en los no expuestos sea de al menos 30%, pero si la TA en este grupo es de 20% necesitamos al menos 80 en cada grupo, y si la TA en los no expuestos es alrededor de 10% uno tiene que estudiar a más de 200 en cada grupo (Figura 2). Por supuesto para RR mayores a 3 y de ahí que para asociaciones más fuertes se necesitan al menos 63 sujetos por grupo para alcanzar un poder estadístico de 80% (Figura 3). Considere que el valor escogido de un poder de 80% no garantiza que se vayan a detectar las asociaciones si están existen.

Al tomarse una muestra no siempre es evidente como seleccionar la muestra para que nos quede una razón de expuestos a no expuestos de 1:1. El muestreo debe procurar tener tantos expuestos como

no expuestos, en un balance cercano al 1:1, para reducir el tamaño de la muestra al mínimo necesario [29].

Figura 2. Poder estadístico de estudios de 25 a 200 personas expuestas y no expuestas comparando tasas de ataque en los no expuestos de 10% a 40% con un RR de 2

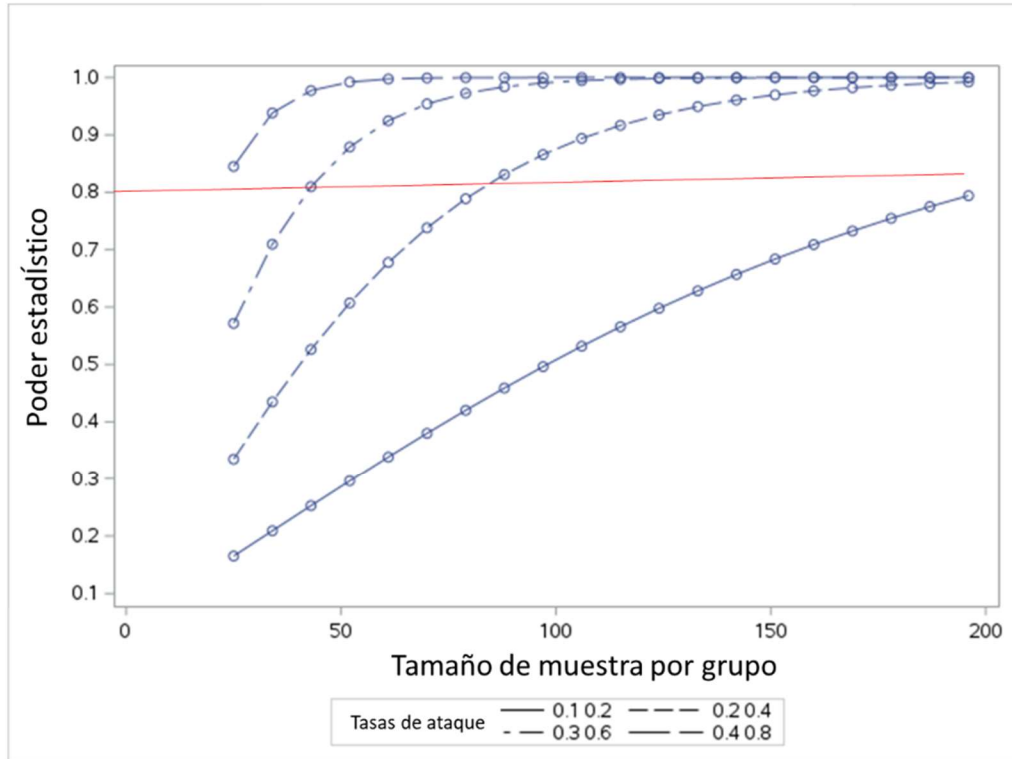
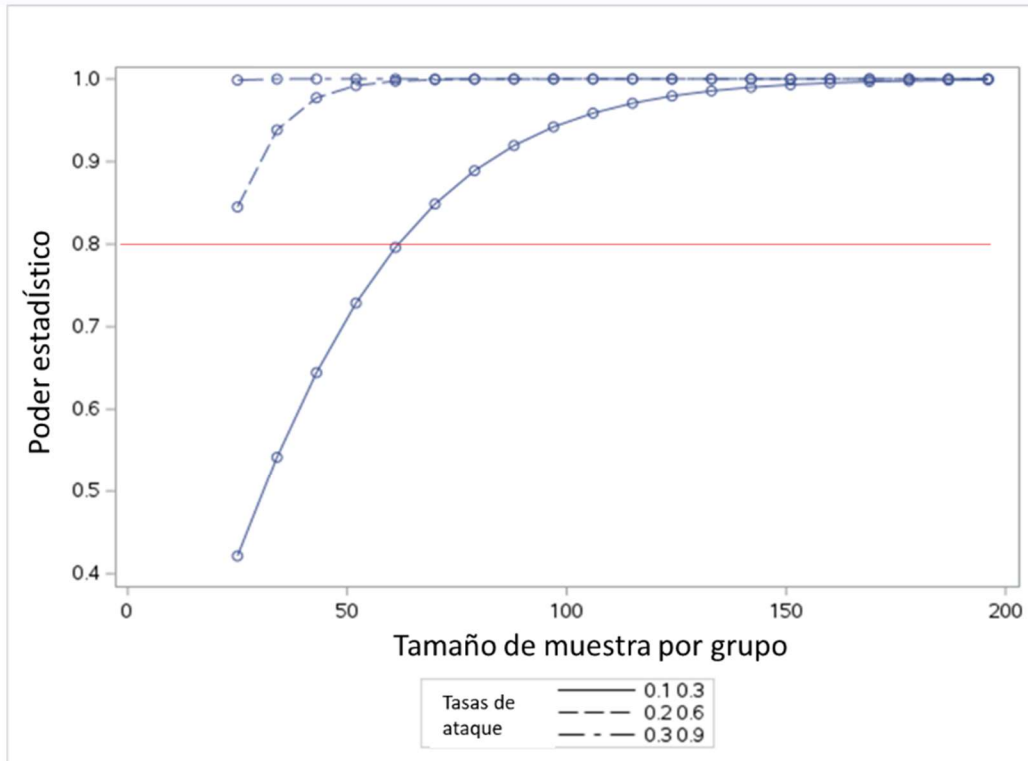


Figura 3. Poder estadístico de estudios de 25 a 200 personas expuestas y no expuestas comparando tasas de ataque en los no expuestos de 10% a 30% con un RR de 3



Análisis de los datos

Por regla general el análisis debe utilizar métodos simples que destaquen el estado de la relación entre las exposiciones (X 's), utilizando un grupo de referencia (los no expuestos) ($X=0$). El más utilizado, simple y fácil de comunicar es el cuadro de 2×2 , en el que se comparan las tasas de ataque entre expuestos y no expuestos. En estudios de brote vehiculados por alimentos se le llaman cuadro de consumo y no-consumo. Nos sirven para presentar también la medida de asociación deseada, ya sea la RR o la DR; luego, estimamos el intervalo de confianza con el nivel de significancia estadística, generalmente es el del 95% y el valor de P asociado con el estadístico de prueba.

Para variables de exposición medida en escala continua, por ejemplo, la cantidad de agua disponible en las viviendas es un factor protector del riesgo de enfermedades diarreicas. Se puede examinar la distribución en la cohorte entera y examinar si se puede agrupar en quintiles, cuartiles o tertiles para después examinar o algunos otros puntos de corte y contrastar las TA de acuerdo con las categorías

de creada a partir de las variables continuas. El mismo enfoque se puede usar para variables ordinales si tal análisis. Uno puede examinar si el riesgo aumenta o disminuye de manera concomitante con los niveles j de exposición (esto es, $X=0, X=1, X=2...X_j$). El análisis puede ser tan sencillo como describir si hay variaciones en las RR o DR utilizando un nivel de esta variable categórica como referente. Puede o no justificarse si se hace una prueba de ji cuadrado de tendencia de Mantel [30] que asume una tendencia lineal, y si se aplica una regresión polinomial con puntos de inflexión [31].

Brote de tosferina en San Bartolomé Quialana, México

Para ilustrar el análisis de 2x2 vamos a utilizar los datos de un estudio de terreno de un brote de tosferina en San Bartolomé Quialana, municipio de Tlacolula, Oaxaca, en 1988 [32]. En este brote se habían notificado al inicio 22 niños enfermos que fueron atendidos en la unidad de salud del Instituto Mexicano de Salud en esa localidad, por lo que, junto con un entrenado del programa de Residencia de Epidemiología Aplicada, asesorado por el autor, recién egresado de dicho programa y un epidemiólogo estatal, realizamos un censo de 280 de las 364 viviendas del poblado, identificando un total de 125 casos probables, confirmados por sintomatología compatible y el lazo epidemiológico. La TA general fue de 7.4%, pero entre los 269 menores de cinco años, hubo 68 casos para una TA de 25.3%. Todas las 17 defunciones por tosferina fueron en este grupo de edad. Se encontró entre los menores de cinco años que solamente el 15.0% habían recibido el esquema completo de vacunación con DPT, el biológico usado entonces para la profilaxis. Los datos de la historia de vacunación según la cartilla nacional de vacunación se presentan en el cuadro 3. La TA en los niños con esquema completo fue cerca de la mitad del riesgo de aquellos sin vacunación. Si consideramos la utilizamos el RA, la DR debe revertirse considerando a los no vacunados como expuesto y substraer de la TA entre ellos (31.9%) la TA de los vacunados (17.9%), una DR de 14%, la cual se divide entre la TA de los vacunados, nos permite estimar el RA que es un estimado de la efectividad vacunal (EV) =

$\frac{14.0\%}{31.95} \sim 44.0\%$, dado que es la proporción de la enfermedad prevenida entre los vacunados.

Cuadro 3. Distribución de la ocurrencia de tosferina según los antecedentes de vacunación DPT entre niños de 7 a 59 meses de edad en San Bartolomé Quialana, Tlacolula, Oaxaca, México, marzo a julio de 1988.

Esquema de vacunación con DPT	Casos de Tosferina (Tasa de ataque %)	No Enfermos	Total	Razón de riesgos (IC 95%)	Valor de <i>P</i>
Completo	5 (17.9)	23	28	0.56 (0.24, 1.29)	0.14
Incompleto	44 (31.9)	94	138	1 (Referente)	
Total	49 (29.6)	117	166	-	

Efectividad de la vacuna = 44.0% (-29.0%, 76.0%)

Fuente: Referencia [32]

Brote de enfermedad diarreica después del sismo de 1985 en la ciudad de México

Para en ilustrar el uso de variables categóricas u ordinales en el análisis de datos de una cohorte retrospectiva, vamos a utilizar los datos de un brote de enfermedad diarreica después del sismo de septiembre 19 de 1985 en la Ciudad de México [33]. Una buena parte de la ciudad se había quedado sin servicio de agua inmediatamente después del terremoto y una agencia de gobierno, CONASUPO, distribuyó agua no desinfectada en bolsas utilizadas para distribuir leche. El brote fue identificado por el autor en una encuesta de algunas viviendas en un área de bajos ingresos sin suministro de agua entubada incluyendo la Colonia Obrera, lo que llevó al Residencia en Epidemiología Aplicada a realizar encuestas en esa y otras áreas de la ciudad en octubre y en diciembre de 1985. La distribución de las tasas de ataque según la disponibilidad de agua en las viviendas del área de bajos ingresos sin agua en octubre de 1985 se presenta en el cuadro 4, en que se observa que las TA de diarrea no se

incrementaron gradualmente en medida de una menor disponibilidad de agua, sino al llegar a un nivel crítico de menos de 10 litros de agua al día.

Cuadro 4. Distribución del riesgo de diarrea en viviendas de un área de nivel de ingresos bajos sin suministro de agua entubada después del sismo del 19 de septiembre de 1985 en la ciudad de México

Disponibilidad de agua (cubetas de 20 litros/día)	Casos de diarrea (Tasa de ataque %)	No Enfermos	Total	Razón de riesgos (IC 95%)	Valor de <i>P</i> *
<10	20 (7.7)	239	259	8.4 (3.7, 18.8)	
10 – 20	4 (0.9)	428	433	1.0 (0.3, 3.3)	<0.001
>20	8 (0.9)	859	867	1 (Referente)	
Total	32 (2.1)	1,527	1,559	-	

*Prueba de Ji-cuadrada con 2 gl

Fuente: Referencia [33]

El cuadro 4 muestra que no hay una tendencia o variación concomitante por sí misma entre la disminución del abasto de agua, esto es el RR no aumentó digamos a valores intermedios, digamos entre 2-4 para quienes tenían entre 10 y 20, sino que se mantuvo en el valor nulo de 1, y solamente se elevó en el 17% de la cohorte con menos de 10 cubetas por día. En efecto si se colapsan las categorías de 10+ cubetas por día, se obtendría el mismo resultado (RR=8.4). Este ejemplo demuestra una situación en la que sería inadecuado utilizar una prueba de tendencia de Mantel o la prueba de tendencia con la extensión de Mantel-Haenszel, utilizando la presunción de que la relación es lineal, ya que no hay diferencia entre el riesgo en el nivel de referencia y la categoría intermedia.

El análisis de los datos de una cohorte retrospectiva no estaría completo sin considerar la relación de la variable de exposición de interés y el riesgo de la enfermedad o condición de interés con variables que pueden confundir o modificar la asociación y que llamaremos Z. Hay dos etapas de este análisis, que preferentemente deben ser realizadas secuencialmente: primero el análisis estratificado, seguido por un análisis multivariado si se considera que hay bases para ello. Dejando los detalles de tales análisis para otra ocasión, en resumen, el análisis estratificado requiere desagregar la asociación entre X y Y por los niveles de las variables Z's. Típicamente la edad es un confusor potencial porque la exposición generalmente está asociada a la edad y a su vez suele ser un factor de riesgo independiente de la variable X de interés en el riesgo de la variable Y. Otras variables potencialmente confusoras son factores asociados a la gravedad de la enfermedad o condición de interés Y. Una vez que se estratifica el riesgo de Y por X según los niveles de Z, y cuál es el promedio ponderado a través de los niveles de Z. El más popular de los métodos para obtener esta medida de resumen de las medidas de asociación según los niveles de la variable que se estratifica, es el de Mantel-Haenszel [34]. Si el valor del RR o DR de Mantel-Haenszel, que a menudo llamamos "ajustado" por Z, es parecido (aproximadamente dentro de un 10%) [35] al valor de la RR o DR sin ajustar, que llamamos "cruda", no hay evidencia de confusión, y uno podría ignorar los estimados estratificados. Uno tiene que observar si el RR o la DR cambian según los niveles de Z y si cambian de manera importante puede haber ya sea por la presencia de modificación de efecto o así llamada también interacción.

Es importante tener en cuenta que la confusión debe evitarse porque su presencia distorsiona o sesga los estimados de la asociación, esto es produce valores inválidos de RR o DR. Uno debe tratar de evitar que no se atienda si la confusión está presente en los datos del estudio de campo. En cambio, la interacción o modificación del efecto es un estado de la naturaleza que uno desearía describir si no ha sido descrito adecuadamente antes.

En futuras entregas de esta sección volveremos a tratar los temas del análisis epidemiológico, así como de validez, sesgos, confusión e interacción.

Referencias

1. Lash TL, VanderWeele TJ, Haneuse S, Rothman KJ. *Modern Epidemiology*. 4th ed. Philadelphia PA: Wolters Kluwer, 2021.
2. Dwyer DM, Strickler H, Goodman RA, Armenian HK. Use of case-control studies in outbreak investigations. *Epidemiol Rev*. 1994;16(1):109-123. doi:10.1093/oxfordjournals.epirev.a036137.
3. Cardenas VM, Ramírez DR, Suárez Rangel GI. Analytic epidemiological studies as part of an epidemic investigation. *Am J of Field Epidemiol*. 2023; 1(2): 34–44.
doi.org/10.59273/ajfe.v1i2.7849
4. Koopman JS, Longini IM Jr. The ecological effects of individual exposures and nonlinear disease dynamics in populations. *Am J Public Health*. 1994;84(5):836-842. doi:10.2105/ajph.84.5.836
5. Schaffner W, LaForce FM. Training field epidemiologists: Alexander D. Langmuir and the epidemic intelligence service. *Am J Epidemiol*. 1996;144(8 Suppl):S16-S22.
doi:10.1093/aje/144.supplement_8.s16
6. Velandia M, Fridkin SK, Cárdenas V, et al. Transmission of HIV in dialysis centre. *Lancet*. 1995;345(8962):1417-1422. doi:10.1016/s0140-6736(95)92603-8
7. Stein Z, Susser M. The Dutch Famine, 1944–1945, and the Reproductive Process. I. Effects on Six Indices at Birth. *Pediatr Res* 1975; 9: 70–76. doi.org/10.1203/00006450-197502000-00003
8. Stein Z, Susser M, Saenger G, Marolla F. *Famine and human development: The Dutch hunger winter of 1944-1945*. 1975. New York: Oxford University Press.
9. Kemble SK, Westbrook A, Lynfield R, et al. Foodborne outbreak of group a streptococcus pharyngitis associated with a high school dance team banquet--Minnesota, 2012. *Clin Infect Dis*. 2013;57(5):648-654. doi:10.1093/cid/cit359
10. Haselow DT, Safi H, Holcomb D, et al. Histoplasmosis associated with a bamboo bonfire--Arkansas, October 2011. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2014;63(8):165-168.

11. Nordt SP, Minns A, Carstairs S, et al. Mass sociogenic illness initially reported as carbon monoxide poisoning. *J Emerg Med.* 2012;42(2):159-161. doi:10.1016/j.jemermed.2011.01.028
12. Botelho-Nevers E, Gautret P. Outbreaks associated to large open air festivals, including music festivals, 1980 to 2012. *Euro Surveill.* 2013;18(11):20426. Published 2013 Mar 14. doi:10.2807/ese.18.11.20426-en
13. de Laval F, Chaudet H, Gorgé O, et al. Investigation of a COVID-19 outbreak on the Charles de Gaulle aircraft carrier, March to April 2020: a retrospective cohort study. *Euro Surveill.* 2022;27(21):2100612. doi:10.2807/1560-7917.ES.2022.27.21.2100612
14. Walker LJ, Codreanu TA, Armstrong PK, et al. SARS-CoV-2 infections among Australian passengers on the Diamond Princess cruise ship: A retrospective cohort study. *PLoS One.* 2021;16(9):e0255401. Published 2021 Sep 7. doi:10.1371/journal.pone.0255401
15. Simone B, Atchison C, Ruiz B, et al. Investigating an outbreak of *Clostridium perfringens* gastroenteritis in a school using smartphone technology, London, March 2013. *Euro Surveill.* 2014;19(19):20799. Published 2014 May 15. doi:10.2807/1560-7917.es2014.19.19.20799
16. Bouza E, Pérez-Granda MJ, Escribano P, et al. Outbreak of COVID-19 in a nursing home in Madrid. *J Infect.* 2020;81(4):647-679. doi:10.1016/j.jinf.2020.06.055
17. Gingrich GA, Hadler SC, Elder HA, Ash KO. Serologic investigation of an outbreak of hepatitis A in a rural day-care center. *Am J Public Health.* 1983;73(10):1190-1193. doi:10.2105/ajph.73.10.1190
18. de Laval F, Chaudet H, Gorgé O, et al. Investigation of a COVID-19 outbreak on the Charles de Gaulle aircraft carrier, March to April 2020: a retrospective cohort study. *Euro Surveill.* 2022;27(21):2100612. doi:10.2807/1560-7917.ES.2022.27.21.2100612
19. Hutchinson JA, Wheeler C, Mohle-Boetani JC. Outbreak epidemiologically linked with a composite product of beef, mechanically separated chicken and textured vegetable protein contaminated with multiple serotypes of *Salmonella enterica* including multidrug-resistant

- infantis*, California 2016. *Epidemiol Infect.* 2018;146(4):430-436.
doi:10.1017/S0950268817002941
20. Finci I, Siebenbaum R, Richtzenhain J, et al. Risk factors associated with an outbreak of COVID-19 in a meat processing plant in southern Germany, April to June 2020. *Euro Surveill.* 2022;27(13):2100354. doi:10.2807/1560-7917.ES.2022.27.13.2100354
21. Nicolay N, Boland M, Ward M, et al. Investigation of Pontiac-like illness in office workers during an outbreak of Legionnaires' disease, 2008. *Epidemiol Infect.* 2010;138(11):1667-1673. doi:10.1017/S0950268810000403
22. McCarthy KL, James DP, Kumar N, et al. Infection control behaviours, intra-household transmission and quarantine duration: a retrospective cohort analysis of COVID-19 cases. *Aust N Z J Public Health.* 2022;46(6):730-734. doi:10.1111/1753-6405.13282
23. Rivas F, Diaz LA, Cardenas VM, et al. Epidemic Venezuelan equine encephalitis in La Guajira, Colombia, 1995. *J Infect Dis.* 1997;175(4):828-832. doi:10.1086/513978
24. Cardenas VM, Cen R, Clemens MM, et al. Use of Electronic Nicotine Delivery Systems (ENDS) by pregnant women I: Risk of small-for-gestational-age birth. *Tob Induc Dis.* 2019;17:44. Published 2019 May 21. doi:10.18332/tid/106089
25. Selikoff IJ. Lung cancer and mesothelioma during prospective surveillance of 1249 asbestos insulation workers, 1963-1974. *Ann N Y Acad Sci.* 1976;271:448-456. doi:10.1111/j.1749-6632.1976.tb23146.x
26. Ozasa K, Shimizu Y, Suyama A, et al. Studies of the mortality of atomic bomb survivors, Report 14, 1950-2003: an overview of cancer and noncancer diseases [published correction appears in *Radiat Res.* 2013 Apr;179(4):e40-1]. *Radiat Res.* 2012;177(3):229-243. doi:10.1667/rr2629.1
27. Zhang Q, Shi GQ, Tang GP, Zou ZT, Yao GH, Zeng G. A foodborne outbreak of *Aeromonas hydrophila* in a college, Xingyi City, Guizhou, China, 2012. *Western Pac Surveill Response J.* 2012;3(4):39-43. Published 2012 Dec 19. doi:10.5365/WPSAR.2012.3.4.018

28. Cardenas VM, Suárez-Rangel GI, Ramírez DR. Timelines in epidemiological outbreak investigations. *Am J Field Epidemiol.* 2023; 1(1): 71–76. <https://doi.org/10.59273/ajfe.v1i1.7521>
29. Walter SD. Determination of significant relative risks and optimal sampling procedures in prospective and retrospective comparative studies of various sizes. *Am J Epidemiol.* 1977;105(4):387-397. doi:10.1093/oxfordjournals.aje.a112395
30. Mantel N. Chi-Square Tests with One Degree of Freedom; Extensions of the Mantel-Haenszel Procedure. *JASA* 1963; 58:303, 690-700, DOI: 10.1080/01621459.1963.10500879
31. Greenland S. Dose-response and trend analysis in epidemiology: alternatives to categorical analysis. *Epidemiology.* 1995;6(4):356-365. doi:10.1097/00001648-199507000-00005
32. Peña MP, Cárdenas VM, Ruiz C, Stetler HC, López O, Ibarra J, Sapiaín LA, Villafán F. Estudio de un brote de tosferina en San Bartolome Quialana, Oaxaca, 1988. *Boletín Mensual de Epidemiología del Sector Salud de México* 1989 4; (8): 112-118.
33. Ruiz Matus C, Cárdenas Ayala V, Koopman J, Herrera Bastos E, Montesano Castellanos R, Hinojosa M. Enfermedad diarreica después de los sismos de 1985 en México [Diarrheal disease after the 1985 earthquakes in Mexico]. *Salud Publica Mex.* 1987;29(5):399-405.
34. Mantel N, Haenszel W. Statistical aspects of the analysis of data from retrospective studies of disease. *J Natl Cancer Inst.* 1959;22(4):719-748.
35. Greenland S. Modeling and variable selection in epidemiologic analysis. *Am J Public Health.* 1989;79(3):340-349. doi:10.2105/ajph.79.3.340