

In: Lopes AC (editor). Tratado de Clínica Médica. Volume I. São Paulo. 2015. Editora Guanabara Koogan LTDA, 3ª. Edição.

## **Epidemiologia: Introdução ao método**

Eliseu Alves Waldman\*

### **Tópicos**

1. Conceitos
2. Definição, Princípios e Métodos
3. Histórico
4. Etapas para o Desenvolvimento de um Projeto de Pesquisa
5. Medidas de Ocorrência de Doenças
  - 5.1. Incidência
  - 5.2. Prevalência
  - 5.3. Mortalidade
  - 5.4. Letalidade
6. Conceito de Risco e de Causa
7. Medidas de Associação
  - 7.1. Risco Relativo
  - 7.2. Risco Atribuível
  - 7.3. Odds Ratio
  - 7.4. Interpretação das medidas de associação
8. Tipos de Estudos Epidemiológicos
  - 8.1. Estudos Descritivos
    - 8.1.1. Relatos de Caso e de Séries de Casos
    - 8.1.2. Vigilância
    - 8.1.3. Estudos de Corte Transversal ou de Prevalência
    - 8.1.4. Estudos Ecológicos ou Estudos de Correlação
  - 8.2. Estudos Analíticos
    - 8.2.1. Estudos Observacionais
      - 8.2.1.1. Estudos de Coorte
      - 8.2.1.2. Estudos de Caso Controle
    - 8.2.2. Estudos Experimentais
9. A Inferência em Estudos Epidemiológicos
  - 9.1. Critérios de Causa em Epidemiologia
  - 9.2. Viés

---

\* Professor do Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da USP

### 9.3. Fator de Confusão

#### 1. Conceitos

O raciocínio epidemiológico difere conceitualmente do clínico, pois o primeiro focaliza o processo saúde/doença em populações e o segundo no indivíduo. No entanto, assistimos nos últimos anos uma aproximação desses dois campos do conhecimento, à medida que os investigadores clínicos identificaram a importância da epidemiologia e da estatística no delineamento e análise de seus estudos <sup>1</sup>(Kramer MS, 1988).

A epidemiologia aplicada à investigação clínica, freqüentemente designada de epidemiologia clínica, pode ser entendida como o estudo epidemiológico desenvolvido no âmbito da clínica, geralmente por clínicos, tomando pacientes como sujeitos do estudo ou ainda, a aplicação para a tomada de decisão em casos individuais, dos conceitos quantitativos usados por epidemiologistas no estudo de doenças em populações <sup>2</sup>(Porta M, 2008).

As principais áreas de interesse da epidemiologia em medicina abrangem a etiologia, diagnóstico, prognóstico, tratamento, prevenção, análise de riscos e benefícios de procedimentos diagnósticos e terapêuticos <sup>1</sup>(Kramer MS, 1988).

#### 2. Definição, Princípios e Métodos

Existem várias definições de epidemiologia, uma delas, bem concisa e abrangente, delimita seu campo de atuação como “o estudo da distribuição e dos determinantes do estado e de eventos relacionados à saúde em específicas populações e a aplicação desses estudos na prevenção e controle dos problemas de saúde” <sup>2</sup>(Porta M, 2008).

A partir dos componentes dessa definição, podemos identificar todos os princípios e métodos da epidemiologia. O *estudo* inclui a vigilância, observação, teste de hipóteses, pesquisa analítica e experimentos. A *distribuição* diz respeito à análise segundo características do tempo, espaço e classes de pessoas afetadas. Os *determinantes* abrangem todos os fatores físicos, biológicos, sociais, culturais e comportamentais que influenciam a saúde. *Estado e eventos relacionados à saúde* incluem doenças, causas de óbito, comportamento como o uso do tabaco, adesão a condutas preventivas e ao uso de serviços de saúde. *Específicas populações* são aquelas com características identificáveis como associadas a determinados estados e eventos relacionados à saúde. O trecho final da definição torna explícito o papel da epidemiologia como ciência básica da saúde pública, ou seja, a aplicação do conhecimento produzido por esses estudos na prevenção e controle dos problemas de saúde <sup>2</sup>(Porta M, 2008).

Em síntese a epidemiologia pode ser entendida como fundamentada em dois pressupostos: primeiro, a doença humana não ocorre aleatoriamente; segundo, a doença humana tem fatores causais, prognósticos e preventivos que podem ser identificados por meio

de investigações sistemáticas de diferentes populações ou subgrupos de populações em distintos pontos no tempo e/ou no espaço <sup>3</sup>(Hennekens & Buring, 1987).

Como sugere a definição apresentada, o raciocínio epidemiológico segue uma determinada progressão, que tem início com suspeitas a respeito da possível influência de um particular fator na ocorrência da doença. Tal suspeita pode surgir a partir da observação clínica, de pesquisas de laboratório ou mesmo de especulações teóricas que levam a elaboração de uma hipótese específica. O **teste dessa hipótese** é efetuado mediante estudos epidemiológicos que incluem **um grupo apropriado de comparação**.

Com tal finalidade, temos a coleta sistemática de dados e a análise dos mesmos com o objetivo de identificar a existência ou não de **associação estatística** entre exposições e desfechos de interesse, ou seja, se existe diferença da probabilidade de desenvolver uma doença na presença ou ausência da exposição a determinado fator.

Em seguida, é necessário avaliar **a validade** das possíveis **associações estatísticas** observadas, excluindo a possibilidade do acaso, do erro sistemático na coleta ou interpretação dos dados (viés), ou ainda, do efeito de outras variáveis que podem ser responsáveis pela associação observada. Esse efeito é conhecido como fator de confusão. Finalmente, o julgamento focaliza a possibilidade de a **associação estatística** expressar também uma **associação de causa e efeito**; para tanto, leva em consideração uma série de critérios que tornam consistentes a sua natureza causal, entre eles: força da associação, consistência dos resultados obtidos, efeito dose resposta, plausibilidade biológica, entre outros <sup>3</sup>(Hennekens & Buring, 1987).

### 3. Histórico

Alguns autores apontam como origem da epidemiologia a antiga cultura grega, cabendo possivelmente a Hipócrates, no século V antes de Cristo, em sua obra “Ares, mares e lugares” a primazia de reconhecer a relação entre doença e ambiente, incluindo os efeitos do clima e do estilo de vida <sup>4</sup>(Nájera E, 1984).

Já na era moderna, merece destaque John Graunt, que no século XVII, foi o primeiro a quantificar os padrões da natalidade, mortalidade e ocorrência de doenças, identificando algumas características importantes nesses eventos, entre elas: a existência de diferenças segundo o gênero e na distribuição urbano-rural; a elevada mortalidade infantil; as variações sazonais. São também atribuídas a esse inglês, as primeiras estimativas de população e a elaboração de uma tábua de mortalidade. Tais trabalhos conferem-lhe o mérito de ter sido o fundador da bioestatística e um dos precursores da epidemiologia <sup>5</sup>(Rosen 2006).

Posteriormente, em meados do século XIX, temos Willian Farr que iniciou a coleta e análise sistemática das estatísticas de mortalidade na Inglaterra e País de Gales. Graças a

essa iniciativa, Farr é considerado o pai da estatística vital e da vigilância epidemiológica <sup>6</sup>, <sup>7</sup>(Scliar et al. 2012; Langmuir 1976).

Outro que se destacou entre os pioneiros da epidemiologia, foi o anestesologista inglês John Snow, contemporâneo de William Farr. Sua contribuição está sintetizada no ensaio *Sobre a Maneira de Transmissão da Cólera*, publicado em 1855, onde apresenta memorável estudo a respeito de duas epidemias de cólera ocorridas em Londres, respectivamente, em 1849 e 1854. A principal contribuição de Snow foi a sistematização da metodologia epidemiológica, que assim permaneceu, com pequenas modificações, até meados do século XX <sup>3</sup>, <sup>8</sup> (Hennekens & Buring, 1987; Snow 1990).

No final do século XIX, vários países da Europa e os Estados Unidos da América iniciaram a aplicação do método epidemiológico na investigação da ocorrência de doenças na comunidade. Nesta época, as doenças infecciosas agudas constituíram o foco principal da maioria dos investigadores. Durante o século XX, a aplicação da epidemiologia ampliou-se. Um exemplo é o trabalho clássico coordenado por Joseph Goldberger, pesquisador do Serviço de Saúde Pública norte-americano, que em 1915, aplicando o raciocínio epidemiológico, estabelece a etiologia carencial da pelagra, expandindo os limites da epidemiologia para além das doenças infectocontagiosas <sup>1</sup>(Kramer MS, 1988).

No entanto, é a partir do final da segunda guerra mundial que assistimos o intenso desenvolvimento do método epidemiológico com a ampla incorporação da estatística na análise de dados, propiciada em boa parte pela utilização dos computadores. A aplicação da epidemiologia passa a cobrir um largo espectro de agravos à saúde. Os estudos de Doll e Hill <sup>9</sup>, <sup>10</sup>(Doll & Hill, 1956; Doll & Hill, 1964) estabelecendo associação entre o tabagismo e o câncer de pulmão e os de Framingham (EUA) sobre a história natural das doenças cardiovasculares, são dois exemplos da aplicação do método epidemiológico em doenças crônicas. Hoje a epidemiologia constitui importante instrumento para a pesquisa na área da saúde, seja no campo da clínica seja no da saúde pública <sup>6</sup>(Scliar et al. 2012).

A epidemiologia aperfeiçoou, nas últimas décadas, seu arsenal metodológico permitindo a melhor compreensão do processo saúde/doença e dos múltiplos fatores que interagem na sua determinação, assim como o de novas técnicas estatísticas que se tornaram mais acessíveis com o desenvolvimento dos computadores pessoais e de *softwares* aplicados às análises de dados obtidos em investigações epidemiológicas.

Acompanhando essa evolução, a epidemiologia passa a ser compreendida também como um processo contínuo de acúmulo de conhecimentos com o objetivo de prover um acervo de evidências indiretas, cada vez mais consistentes, de associação entre saúde e fatores protetores ou doença e fatores de risco.

Com essa finalidade, dispomos de um conjunto de delineamentos ou estratégias para o desenvolvimento de estudos epidemiológicos, variando conforme os objetivos estabelecidos, que podem ser tanto a identificação de uma possível associação tipo exposição-efeito, como a avaliação da eficácia/efetividade de uma intervenção com a finalidade de prevenir um determinado efeito. O desenvolvimento de um projeto de pesquisa pressupõe a observação de algumas etapas que apresentaremos a seguir.

#### 4. Etapas para o desenvolvimento de um projeto de pesquisa

Na elaboração de um projeto de pesquisa epidemiológica devemos seguir uma seqüência que não é rígida, mas que apresenta itens obrigatórios. Hulley e colaboradores (2007)<sup>11</sup>, num texto que focaliza essa questão, apresentam de maneira interessante cada uma das partes desse processo, apontando a necessidade de explicitar a **composição da pesquisa**, observando os seguintes itens: 1) apresentação da relevância do tema; 2) definição da questão a ser pesquisada; 3) opção pelo desenho ou tipo de estudo; 4) definição da população de estudo; 5) definição das variáveis de estudo; 6) plano para o manejo e análise dos dados.

A organização formal desses itens compõe o protocolo da pesquisa, que nada mais é do que os passos a serem seguidos pelo pesquisador no desenvolvimento da investigação, diminuindo a probabilidade de falhas que poderão comprometer a **validade interna e externa** dos resultados do estudo. A seguir procuraremos detalhar os itens citados.

Na **introdução** do projeto é necessária a apresentação de uma breve revisão sobre o tema, apontando o que há de novo a respeito e salientando pontos em relação aos quais não exista consenso na literatura, discutindo a plausibilidade biológica das hipóteses explicativas e, quando necessário, incluir uma tabela cronológica dessas publicações. Finalizando a introdução, deve-se apontar o porquê **da relevância** da investigação proposta, assim como os resultados esperados do estudo e quais tipos de questões poderão ser resolvidos e como influenciarão decisões seja em condutas clínicas seja em estratégias de intervenções saúde pública <sup>12</sup>(Szklo & Nieto 2007).

A **definição da questão** a ser pesquisada ou pergunta a ser respondida pela investigação, delimita o **objetivo** da pesquisa, devendo ser, tanto quanto possível, específica.

A definição da estratégia ou **tipo de estudo** a ser adotado pela pesquisa proposta constitui um dos pontos mais importantes na elaboração do protocolo de pesquisa, motivo pelo qual dedicaremos um item inteiro deste capítulo para a apresentação deste assunto.

Um aspecto importante e que, de certa forma, define o **tipo de estudo** é a escolha da **unidade de estudo**, quando optamos em tomar como unidade **um agregado de indivíduos**, temos os denominados **estudos ecológicos** ou de **correlação**, enquanto que nos demais

delineamentos, experimentais e observacionais, a unidade de estudo é **o indivíduo**<sup>11</sup>(Hulley et al. 2007).

A identificação da **população de estudo** é outro tópico indispensável na elaboração do protocolo. Neste ponto, devemos definir de forma clara qual o universo que dá origem a população de estudo e explicitar detalhadamente os procedimentos utilizados na seleção dos indivíduos incluídos na investigação, assim como para o cálculo do tamanho da amostra. Nos **estudos analíticos**, o tamanho da amostra deve equivaler ao número mínimo necessário para observarmos de forma consistente a diferença entre os grupos estudados, enquanto que, nos **estudos descritivos**, deve abranger o número mínimo necessário para produzir estatísticas descritivas (média, proporções, etc.) com precisão adequada. Ainda nesse item, dependendo do tipo de estudo escolhido, deverão ser apresentadas as **definições de caso e de controle e critérios de inclusão e de exclusão**<sup>12</sup>(Szklo & Nieto, 2007).

Dois itens importantes a serem incluídos no projeto de pesquisa são: a identificação das **fontes de dados** e a descrição dos **procedimentos para sua coleta** (entrevista, exames clínicos e de laboratório, compilação de registros), formas de mensuração das variáveis de exposição e dos **instrumentos** utilizados com tal finalidade (questionários, formulários, etc.). Os manuais de codificação das variáveis e os destinados a padronizar procedimentos utilizados nas atividades de campo, assim como o Termo de Consentimento devem ser apresentados como anexos do projeto<sup>12</sup>(Szklo & Nieto, 2007).

Concluída essa fase, o próximo passo será a **definição das variáveis**, ou seja, quais as características do sujeito de estudo que serão analisadas, descrevendo como serão medidas e categorizadas. Nos **estudos analíticos** nós temos basicamente dois tipos de variáveis, as **variáveis de exposição ou preditoras ou independentes** e as **variáveis de desfecho ou dependentes**. Tomando como exemplo um estudo que pretende verificar a associação da doença coronariana com algumas exposições como o tabagismo, a hipertensão arterial, a diabetes e níveis elevados de colesterol no sangue. A doença coronariana é a **variável de desfecho** ou **dependente**, enquanto que as demais são as **variáveis preditoras** ou **independentes**<sup>11</sup>(Hulley et al. 2007).

Finalmente, devemos explicitar qual é o **plano para o manejo e análise dos dados**. Para **estudos analíticos** sejam eles observacionais ou experimentais, essa fase sempre inclui o teste de hipótese como componente, o que pressupõe a prévia especificação da principal hipótese. Exemplo: O estado nutricional está associado com a gravidade do sarampo. Os **estudos descritivos** não requerem hipótese, pois seu objetivo é principalmente estudar como as variáveis se distribuem e não como elas estão associadas entre si.

Ainda com referência ao **plano para o manejo e análise dos dados**, devemos descrever detalhadamente como os dados serão analisados estatisticamente, assim como

justificar os métodos propostos e apontar como serão controladas as variáveis de confusão. É recomendável iniciar a análise com modelos mais simples antes da utilização dos mais sofisticados e complexos. Devemos iniciar analisando as incidências brutas (não ajustadas) que são as verdadeiras e em seguida as ajustadas que nos permitem comparações<sup>11, 12</sup> (Hulley et al. 2007; Szklo & Nieto 2007). Concluído o protocolo do estudo, devemos nos preocupar com a maneira pela qual o mesmo será conduzido e com a qualidade de seus resultados, salientando que os estudos são úteis à medida que permitam inferências válidas, ou seja, que possamos conhecer em que grau as conclusões do pesquisador descrevem corretamente o que realmente ocorreu na amostra estudada (**validade interna**), e permitam generalizações daquilo que foi verificado no estudo para o universo externo à amostra estudada (**validade externa**).

Portanto, o objetivo do pesquisador é definir todos os componentes de um protocolo de estudo de tal forma que garantam sua **validade interna e externa** e, além disso, que o desenvolvimento da pesquisa seja rápido, de baixo custo e simples de operacionalizar.

## 5. Medidas de Ocorrência de Doenças

Para estudarmos o comportamento das doenças (ou eventos adversos à saúde) é necessário medir sua ocorrência e os desfechos que dela podem advir: a cura, a cronicidade, a incapacidade e o óbito. Podemos utilizar várias fontes de informação para mensurar a ocorrência desses eventos tais como prontuários médicos, de ambulatórios e de hospitais. No entanto, como o curso da doença se inicia em momento anterior a assistência médica, uma alternativa seria a obtenção dessas informações do próprio paciente por meio da aplicação de questionários ou entrevistas em inquéritos domiciliares.

As fontes de dados utilizadas influenciam, sobremaneira, o resultado da mensuração da frequência das doenças, comprometendo a comparabilidade de resultados de estudos que utilizaram fontes de dados distintas. Por exemplo, registros hospitalares não incluirão pacientes atendidos exclusivamente em consultórios médicos. Por decorrência, quando analisamos medidas de ocorrência de doenças, é indispensável identificar as fontes das informações e o tipo de registro utilizado, antes de compará-las às obtidas em outros estudos<sup>13</sup>(Gordis 2009).

Para mensurarmos a ocorrência de doenças, utilizamos, basicamente, **razões e proporções**. A **razão** é um parâmetro matemático básico para expressar a relação entre o número de casos de doenças (ou eventos adversos à saúde) e o tamanho da população na qual a mesma ocorreu. Podemos calcular a **razão** mediante a divisão de duas quantidades sem que exista uma relação entre o numerador e o denominador. Exemplo: razão de sexos, calculada mediante a divisão do número de homens pelo número de mulheres<sup>3</sup>(Hennekens 1987).

A **razão** é um termo geral que inclui tipos mais específicos de medidas com a **proporção**, **porcentagem** e a **taxa**. A **proporção** é um quociente onde obrigatoriamente o numerador é contido no denominador e seu valor varia de zero a um. A **proporção** pode ser expressa em **porcentagem**. A **taxa** é um quociente onde existe uma relação distinta entre o numerador e o denominador, pois a medida de tempo faz parte do denominador <sup>3</sup>(Hennekens 1987). A **taxa** indica quão rápida é a ocorrência da doença, enquanto a **proporção** aponta qual é a fração da população afetada.

Na literatura médica e de saúde pública, o termo **taxa**, quando se refere a medidas demográficas e epidemiológicas é frequentemente utilizada sem preocupação com aspectos conceituais. Portanto, podem ser, de fato, verdadeiras taxas ou proporções ou ainda razões, portanto, é indispensável que estejamos alerta para verificarmos exatamente como foram calculadas <sup>3</sup>(Hennekens 1987).

### 5.1. Prevalência

**Prevalência** e **incidência** são as duas categorias de medidas de frequência de doença mais amplamente utilizadas em epidemiologia. A **prevalência** quantifica a **proporção** de indivíduos na população que apresentam determinada doença (ou evento adverso à saúde) em um definido ponto ou período no tempo. Por ser uma **proporção** a prevalência varia de zero a um, podendo ser calculada da seguinte forma:

$$\text{Prevalência} = \frac{\text{N}^{\circ} \text{ de casos conhecidos da doença (em determinado período ou momento)}}{\text{População Total}} \times 10^n$$

Muitas vezes é usado o termo “taxa de prevalência”, embora a rigor **prevalência** seja uma **proporção** e não uma **taxa** <sup>3</sup>(Hennekens 1987). Embora na maioria das situações seja necessário expressar a prevalência especificando o denominador, algumas vezes a apresentação do número absoluto de **casos prevalentes** pode ser suficientemente informativa <sup>13</sup>(Gordis 2009).

A **prevalência** depende simultaneamente da incidência e do prognóstico (duração) da doença, portanto, se a doença for crônica e se a incidência mantiver-se constante, ao introduzirmos uma intervenção efetiva, mas que não cure, verificaremos como consequência o aumento da sobrevida, ou seja, da duração da doença, com o **aumento da prevalência**. No caso em que a intervenção induza a cura da doença e a incidência mantenha-se constante, teremos a **diminuição da prevalência**, resultado da recuperação mais rápida dos pacientes.

Entre as limitações das estimativas da **prevalência**, vale salientar que elas tendem a subestimar a magnitude das doenças agudas, pois estas evoluem rapidamente para cura ou óbito. Por sua vez, quando a doença é crônica, as estimativas da prevalência tendem a apresentar um viés, pois entre os casos identificados predominam os casos sobreviventes, ou



seja, aqueles que não morreram na fase inicial, ou aguda, da doença, portanto, não será representativo dos indivíduos acometidos pela doença de interesse. Além disso, quando mensuramos a **prevalência**, é impossível determinar se a exposição antecedeu o desfecho; assim como não pode determinar se o desenvolvimento da doença alterou a exposição.

A **prevalência** é útil para a mensuração da magnitude da doença na comunidade e, portanto, para o planejamento de serviços de saúde, uma vez que o número de casos prevalentes é um fator determinante da demanda desses serviços. Mas pelos motivos expostos, não é uma medida tão adequada quanto a **incidência** para identificar fatores de risco numa população bem definida, ainda que muitas vezes seja mais factível e/ou mais barato utilizar um conjunto de casos prevalentes para testar uma hipótese etiológica.

Usamos dois tipos básicos de medidas para determinar a **prevalência** de uma doença. A **prevalência num ponto** que expressa o total de casos existentes de uma doença em determinado ponto no tempo e **prevalência num período** que expressa o total de pessoas que apresentaram a doença de interesse em determinado momento do período especificado, abrangendo casos já existentes anteriormente e caso novos, inclusive casos novos que se curaram ou morreram durante o período. O importante é que todos os indivíduos que foram incluídos no numerador tenham apresentado a doença em algum momento do período especificado. Geralmente quando o termo **prevalência** é apresentado sem o qualificativo **num ponto** ou **num período**, podemos entender como sendo **prevalência num ponto**.

Uma medida de **prevalência** pouco utilizada é a **prevalência de toda vida**, que expressa a quantidade de indivíduos que já apresentaram determinada doença em qualquer momento desde o nascimento até a realização do estudo <sup>14</sup>(Costa e Kale 2009).

Como a **prevalência** mensura uma condição, ela é muitas vezes utilizada para medir condições que não expressam doença, podendo ser utilizada para estimar a proporção de indivíduos expostos a um **fator de risco** ou que apresentam uma característica, como por exemplo, a **prevalência de tabagistas** numa população ou a prevalência de indivíduos com o tipo sanguíneo O entre doadores de sangue.

## 5.2. Incidência

**Incidência** é definida como o número de **casos novos** de uma doença (ou evento adverso à saúde) ocorridos durante um período de tempo especificado, numa população sob risco de desenvolvê-la. Os **casos novos**, ou incidentes, são aqueles ocorridos entre indivíduos que não apresentavam a doença de interesse no início do período de observação e, portanto, estavam sob risco de adoecer. A incidência é uma medida dinâmica, pois expressa a mudança no estado da saúde, por consequência, é uma **medida de risco** <sup>13</sup>(Gordis 2009).

A **incidência** pode ser calculada em qualquer grupo da população, estimamos a **incidência** para um grupo etário, para homens ou mulheres, para um grupo profissional, ou ainda para um grupo exposto a um determinado agente encontrado no ambiente.

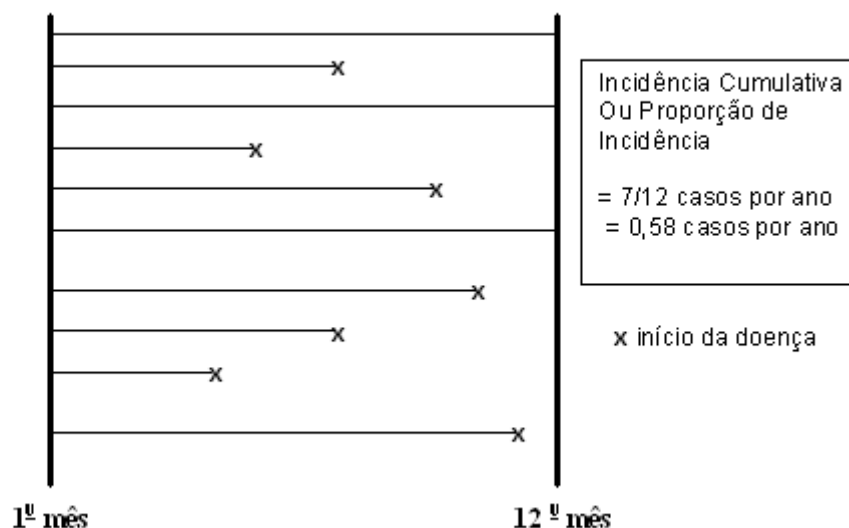
Existem dois tipos específicos de medidas de incidência: **incidência acumulada** e a **taxa de incidência**. A **incidência acumulada** expressa a **proporção** de pessoas que adoecem num específico período de tempo.

A **incidência acumulada** é uma **proporção** que estima o risco de ocorrer uma doença (ou um evento adverso à saúde) numa população, durante um intervalo de tempo determinado, podendo variar de zero a um. Seu cálculo **pressupõe que toda a população sob risco tenha sido seguida por todo o período de interesse** (Figura 1) <sup>13</sup>(Gordis 2009).

O cálculo da **incidência acumulada** se faz da seguinte forma:

$$\text{Incidência acumulada} = \frac{\text{Número de Casos Novos de uma doença durante um período de tempo especificado}}{\text{Número de indivíduos sob risco (expostos à doença) no período especificado}} \times 1.000$$

#### Incidência Cumulativa ou Proporção de Incidência



Observação: O cálculo da Incidência cumulativa (CI) pressupõe que a população sob risco tenha sido seguida por todo o período.

**Figura 1:** Representação gráfica do cálculo da incidência cumulativa

A **incidência acumulada** é também denominada de **proporção de incidência**, **incidência cumulativa** ou **taxa de ataque**, sendo esta última, uma proporção que expressa o risco de adoecimento em grupos populacionais específicos, em situações como a de um surto epidêmico de doença infecciosa, carencial ou tóxica. Nesses casos o período de

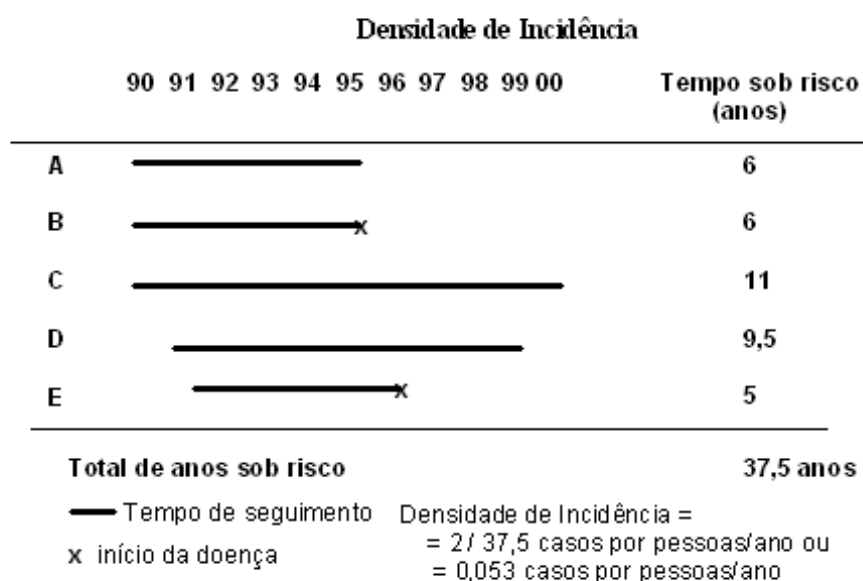
observação é limitado e geralmente o surto decorre de uma exposição muito específica<sup>14</sup>(Costa e Kale 2009). A **taxa de ataque** é tipo particular de **incidência acumulada** e é expressa em porcentagem, não sendo, a rigor, um **taxa de incidência**, cujo conceito será apresentado a seguir. Outra medida utilizada em investigações de surtos de doença infecciosa é a **taxa de ataque secundária**, que é a taxa de ataque entre os suscetíveis que tiveram contato direto com os casos primários, ou seja, aqueles que se infectaram na primeira onda da epidemia.

Com alguma frequência, os indivíduos sob risco não são seguidos durante todo o tempo de interesse para o estudo, seja porque ingressaram no estudo em momentos diferentes e seguidos somente até determinada data, ou porque, por várias razões, houve perda de seguimento, apesar de todos terem ingressado num mesmo momento. Nesse caso, nós calculamos a **taxa de incidência** ou **densidade de incidência** ou **força de morbidade ou de mortalidade**.

Essa medida de incidência é expressa por pessoas/tempo, não sendo, portanto, uma **proporção** como a **incidência acumulada**, mas uma razão que expressa a velocidade média com que ocorre o evento de interesse. Varia de zero ao infinito<sup>13</sup>(Gordis 2009).

Para aplicarmos uma terminologia mais rigorosa, utilizamos o termo **densidade de incidência** quando a incidência é estimada com base no seguimento de uma coorte de indivíduos<sup>12</sup>(Szklo Nieto 2007). Por sua vez, denomina-se **taxa de incidência** quando a incidência média é estimada com base no seguimento de um agregado de pessoas, ou seja, para dados obtidos numa área geográfica, como por exemplo, a taxa de incidência de tuberculose no município de São Paulo.

Para o cálculo da **densidade de incidência**, tomamos como numerador os **casos novos** do evento de interesse e como denominador a soma dos intervalos de tempo que cada um dos indivíduos acompanhados esteve sob risco e livre da doença (Figura 2).



**Figura 2:** representação gráfica do cálculo da densidade de incidência

O cálculo da **densidade de incidência** se faz da seguinte forma:

$$\text{Densidade Incidência}^* = \frac{\text{Número de Casos Novos}}{\text{Total de pessoas/tempo de observação}} \quad \times 1.000$$

\* Quando a unidade de estudo é o indivíduo

No exemplo acima, onde o cálculo é baseado no total de pessoas/tempo de exposição ao risco experimentado pelo grupo, toma-se como **pressuposto que o risco de ocorrer o evento de interesse manteve-se constante durante o período.**

O cálculo da **taxa de incidência** se faz da seguinte forma:

$$\text{Taxa de Incidência} = \frac{\text{Número de Casos Novos}}{\text{População média}} \quad \times 1.000$$

(para dados agregados)                      (estimada para o meio do período, ex.: 1<sup>o</sup> de julho)

Para o cálculo da **taxa de incidência** tomamos como numerador os **casos novos** do evento de interesse e como denominador a população média estimada para o meio do período de interesse. A **taxa de incidência** é utilizada frequentemente para **coortes abertas** ou **dinâmicas** para apresentação de estatísticas vitais, neste caso o denominador é a população estimada para o meio do período, geralmente, a estimada para 1<sup>o</sup> de julho. O pressuposto para o uso desse denominador é o de que as entradas e saídas da população (mortes,

nascimentos e migrações) ocorram uniformemente durante o período, portanto, a população média expressa o total de pessoas/tempo acompanhadas <sup>12</sup>(Szklo e Nieto 2007).

Pode-se demonstrar que quando perdas ou entradas, assim como os eventos, numa coorte dinâmica ou aberta, ocorrem uniformemente, temos que a **taxa de incidência** estimada para dados agregados e a **densidade de incidência** estimada para dados individuais em pessoas/tempo são virtualmente semelhantes. Cumprido esse pressuposto, a **densidade de incidência** por pessoa/tempo corresponde à **taxa de incidência anual média** estimada com a população média, que em estatística vital é geralmente a população estimada para o ponto médio (ou 1<sup>o</sup> de julho) <sup>12</sup>(Szklo e Nieto 2007).

Embora na maioria das situações seja necessário expressar a incidência especificando o denominador, ou seja, estimando o risco, algumas vezes a apresentação do número absoluto de **casos incidentes** pode ser suficientemente informativa <sup>13</sup>(Gordis 2009).

Vale assinalar que o numerador utilizado na estimativa da incidência (número de **casos novos**) pode variar conforme a definição de caso adotada, o grau de dificuldade em identificar o momento de início da doença, o perfeito conhecimento da fase pré-clínica e clínica e do período de incubação ou de latência da doença. Portanto, a estimativa da incidência é vulnerável a erros de classificação, influenciando a validade das estimativas de frequência de doenças, sendo que a magnitude dos erros de classificação é condicionada pela sensibilidade e especificidade dos procedimentos diagnósticos, assim como pela prevalência da doença na população estudada.

### 5.3. Taxas de Mortalidade

A **taxa de mortalidade** é uma **taxa de incidência** no qual o evento que está sendo mensurado é o risco de morrer por qualquer causa ou por uma causa específica. Quando calculamos a **taxa de mortalidade** por todas as causas em determinado agregado populacional (exemplo: população residente no município de São Paulo), em 2010, o numerador é o total de óbitos por todas as causas ocorridos em 2010, entre os residentes nesse município. O denominador é a população média estimada para a metade do período.

Muitas vezes podemos estar interessados em conhecer as taxas anuais de mortalidade por todas as causas, segundo o sexo, o grupo etário ou outros atributos da população, nesse caso teremos taxas anuais de mortalidade específicas por sexo, por grupo etário e assim por diante. Podemos também estar interessados no cálculo de taxas anuais de mortalidade por causas específicas de morte, como por exemplo, taxa anual de mortalidade por câncer de pulmão.

Outro ponto a ser considerado é o de que as **taxas de mortalidade** a semelhança das **taxas de incidência**, não permitem comparações da mesma população em diferentes períodos e de regiões distintas, pois são influenciadas pela característica da composição

demográfica das populações, principalmente as composições etárias. Por exemplo, ao compararmos as **taxas de mortalidade** do Brasil com as da Suécia, poderemos chegar a conclusões erradas se não levarmos em consideração essas diferenças. A forma correta de compararmos **taxas de mortalidade** em diferentes momentos num mesmo local ou em diferentes locais é por meio do uso de métodos de padronização ou ajuste, que eliminam ou atenuam a influência das diferenças de idade ou de outra variável de interesse, tornando possíveis as comparações. Esses métodos de ajuste não serão apresentados nesse texto por fugirem a seus objetivos, mas podem ser encontrados em textos especializados <sup>13,15</sup> (Gordis 2009; Laurenti et al 2005).

Outra forma de medir a mortalidade é por meio do cálculo da **mortalidade proporcional** que não é uma **taxa** e sim **proporção**. É o caso, por exemplo, da **mortalidade proporcional** por doença cardiovascular, no Brasil, em 2010. Neste caso utilizamos como numerador os óbitos por doença cardiovascular e como denominadora o total de óbitos ocorridos no Brasil em 2010. Esse indicador deve ser entendido como a proporção de óbitos ocorridos no Brasil em 2010 que teve como causa as doenças cardiovasculares.

#### 5.4. Letalidade

Diferentemente do que obtemos com a taxa de mortalidade por causa específica, que expressa o número de óbitos por determinada causa numa população e período, a **letalidade** nos dá o número de óbitos dividido por todos os casos dessa doença. Portanto, a **letalidade** é um **indicador de gravidade** ou de **prognóstico** da doença <sup>3</sup>(Hennekens 1987). A letalidade é uma **proporção de incidência** geralmente apresentada em porcentagem <sup>16</sup>(Rothman 2002), ela mede a probabilidade de um indivíduo, atingido por uma doença, morrer em função dessa mesma doença, sua aplicação típica e de mais fácil interpretação é em doenças de rápida evolução para cura ou óbito, como por exemplo, o sarampo. Para doenças de evolução crônica, como por exemplo, a AIDS, utilizam-se, geralmente, a estimativa de sobrevida que também é uma medida de **prognóstico**.

$$\text{Letalidade} = \frac{\text{n}^\circ \text{ de óbitos por determinada causa}}{\text{n}^\circ \text{ de doentes pela mesma causa}} \times 100$$

#### 6. Conceito de Risco e de Causa

**Risco** pode ser definido como a probabilidade de ocorrer um particular evento como, por exemplo, câncer de bexiga entre indivíduos expostos a anilinas em ambiente de trabalho. Por sua vez, **fator de risco** é um atributo ou exposição que aumenta a probabilidade de ocorrência da doença ou de outro desfecho de interesse. Os **fatores de risco** podem ser características individuais como sexo, idade ou uma exposição a um risco ambiental, como por exemplo, estar internado numa enfermaria com número elevado de pacientes; ou ainda

uma intervenção, como a administração de um quimioprolifático previamente a uma cirurgia<sup>16</sup>(Rothman 2002).

Alguns autores estabelecem uma diferença entre **fatores de risco** e **marcadores de risco**. Os primeiros seriam atributos ou exposições cujos efeitos podem ser prevenidos, enquanto os últimos não, pois não estão associados diretamente ao desfecho, mas ao fator de risco. A identificação de **fatores de risco** é um passo obrigatório para a prevenção primária (antes, portanto, da ocorrência da doença), por exemplo, o sedentarismo, a obesidade, a hipertensão arterial são fatores de risco para a doença coronariana; já o reconhecimento dos **marcadores de risco** teria importância para a prevenção secundária, em programas de rastreamento (*screening*), uma vez que se trata de atributos cujos efeitos sobre a saúde não são passíveis de qualquer ação preventiva, por exemplo, idade ou herança de características familiares. Por sua vez, **grupo de risco** pode ser definido como um grupo populacional mais exposto a um dado **fator de risco** ou identificado por um **marcador de risco**<sup>17</sup>(Almeida Filho et al. 2012).

O conceito de **causa** é uma das questões centrais da Epidemiologia, mas também uma das mais complexas, aproximando-se do campo da filosofia da Ciência, tema que não é objeto de discussão deste texto. No entanto, simplificando a questão, pode-se dizer a Epidemiologia entende a **causa** como *uma multiplicidade de condições propícias que, reunidas em configurações determinadas, aumentam a probabilidade de ocorrência (risco) de determinado acontecimento*. O que a epidemiologia busca, portanto, é identificar aquelas *múltiplas condições* e estabelecer suas **associações** com a ocorrência de um dado fenômeno. Fala-se em **associação causal** quando a presença de determinado elemento, exposição ou característica é **condição** para o desencadeamento ou para a evolução de uma doença. Nesse caso, tal elemento ou característica é considerado **fator de risco** para a ocorrência ou evolução daquela doença.

Normalmente, é possível identificar diversos **fatores de risco** para uma mesma doença, o que pressupõe a existência de uma **rede de fatores causais**. A força de cada fator como determinante do agravo, pode ser variável. A ocorrência de *configurações determinadas* desses fatores resulta no que Rothman (2002)<sup>16</sup> denominou **causa suficiente** para que a doença ocorra. A inevitabilidade da doença dependeria, então, da atuação conjunta daqueles fatores. Por outro lado, a presença constante de um determinado fator nas várias *causas suficientes* dá, a esse fator, o *status* de **causa necessária**.

A mensuração do **risco** pelo cálculo da **incidência** e a comparação dos **riscos** (incidências) entre indivíduos **expostos** e não **expostos** a determinado fator são procedimentos indispensáveis à identificação dos **fatores de risco** e, portanto, da **rede da causalidade** dos eventos adversos à saúde.

Uma das principais contribuições da pesquisa epidemiológica é a identificação de **fatores de risco** a agravos à saúde, requisito indispensável para a elaboração de estratégias com o objetivo de aplicar medidas de prevenção e/ou controle.

## 7. Medidas de Associação

A **incidência** expressa a magnitude do **risco** de determinado desfecho num grupo de pessoas expostas ao fator em estudo. No entanto, como o seu cálculo não leva em conta o **risco** desse mesmo evento entre pessoas não expostas a esse fator, a **incidência** expressa, na realidade, o **risco absoluto**, não indicando se a exposição de interesse está associada ou não à ocorrência do desfecho em estudo.

A associação entre determinada exposição e o desfecho de interesse é estimada a partir do cálculo da razão dos **riscos absolutos** de ocorrer o evento entre expostos e não expostos ao **fator** de interesse. Essa medida de associação é denominada de **risco relativo** <sup>13</sup>(Gordis 2009).

### 7.1. Risco Relativo

O **risco relativo (RR)** ou **razão de incidências** expressa uma comparação entre o **risco** de adoecer entre **grupos expostos e não expostos** a um determinado **fator** em estudo. Na tabela 1 exemplificamos o cálculo das **incidências acumuladas** da doença Y entre os **expostos** e **não expostos** utilizando uma tabela de contingência (tabela 2X2):

**Tabela 1:** Esquema de uma tabela 2X2 para o cálculo da incidência e do **risco relativo**

Exposição	Doença Y		Total	Incidência
	Sim	Não		
<b>Sim</b>	a	b	A+b	a/a+b
<b>Não</b>	c	d	C+d	c/c+d
Total	a+c	b+d	t	a+c/t

$$\text{Incidência nos expostos} = \frac{a}{a+b} = (\text{proporção de atingidos entre os expostos na população})$$

$$\text{Incidência nos não expostos} = \frac{c}{c+d} = (\text{proporção de atingidos entre os não expostos na população})$$

$$RR = (\text{Incidência nos expostos}) / (\text{Incidência nos não expostos}) = a/(a+b) / c/(c+d)$$

A interpretação dos valores encontrados no cálculo do **RR** é a seguinte:

1) Quando o **RR** apresenta valor **igual a 1** não temos **associação**.



2) Quando o **RR** é menor do que 1 a **associação** sugere que o fator estudado teria uma **ação protetora**.

3) Quando o **RR** é maior do que 1 a **associação** sugere que o fator estudado seria um **fator de risco**,

4) Quanto mais o **RR se afastar de 1**, independentemente da direção, maior será a força da associação entre exposição e o efeito estudado.

## 7.2. Risco Atribuível

Frequentemente temos interesse em saber a qual parcela dos casos de uma doença é atribuível à determinada exposição. A resposta pode ser dada por meio da estimativa de outra medida de associação, o **risco atribuível**. Neste caso temos a mensuração da quantidade ou proporção da incidência da doença ou do risco da doença que pode ser atribuível a uma exposição específica. Enquanto o **risco relativo** é importante para estabelecer associações entre exposição e desfecho, o **risco atribuível** é importante na prática clínica e em saúde pública por nos fornecer uma estimativa do impacto de uma determinada intervenção, ou seja, da parcela do risco (incidência) de uma doença que pode ser prevenida se nós formos capazes de eliminar determinada exposição <sup>13</sup>(Gordis 2009).

Fundamentados no conceito de multicausalidade das doenças podemos aceitar que todas as pessoas apresentam alguma probabilidade de desenvolver uma doença (ou evento adverso à saúde) independentemente da exposição a um específico fator em estudo, portanto, o risco total de ocorrer uma doença é a soma daquela parcela comum a todas as pessoas acrescido daquela decorrente da exposição em estudo. Logo o **risco atribuível** à determinada exposição é igual à diferença entre o **risco nos expostos** ( $I_E$ ) e o **risco nos não expostos** ( $I_{NE}$ ).

$$\text{Risco Atribuível (RA)} = I_E - I_{NE}$$

Caso queiramos saber qual é a proporção do **risco atribuível entre os expostos**, poderemos expressar o **risco atribuível** mediante o seguinte cálculo:

$$\text{Risco Atribuível nos Expostos (RAE)} = \frac{I_E - I_{NE}}{I_E} \times 100$$

Na prática clínica o médico frequentemente está interessado em explicar aos seus pacientes em que proporção estará reduzindo o risco de apresentar determinada doença caso seja eliminada a exposição ao fator de interesse. Por exemplo, em que proporção estará reduzido o risco de apresentar câncer de pulmão caso deixe de fumar? Por sua vez, em saúde pública, frequentemente, precisamos saber qual a proporção da incidência da doença na população total (exposta e não exposta) pode ser atribuível a uma exposição específica, ou

em outras palavras, qual será o impacto na comunidade de um programa de prevenção. Nesse caso falamos em **risco atribuível na população** que pode ser calculado da seguinte maneira:

$$\text{Risco Atribuível na População} = \frac{I_p - I_{NE}}{I_p} \times 100$$

onde:

$I_p$  = Incidência na população

$I_{NE}$  = Incidência nos não expostos

### 7.3. Odds Ratio

Em **estudos caso-control**, a rigor, não se conhece o número de indivíduos que compõem os *grupos de expostos* e *não expostos*, não sendo disponível, portanto, o **denominador** com o qual podemos calcular diretamente a **incidência** (ou o **risco**), desta forma não nos é possível também o cálculo direto do **risco relativo**. Em decorrência, a mensuração da **associação** é feita indiretamente pelo cálculo da “**Odds Ratio**” (OR) que é uma estimativa do RR. Para doenças raras, como é o caso da maioria das doenças que estudamos, o OR apresenta um valor muito próximo ao **risco relativo**.

Na tabela 2 apresentamos os dados necessários para o cálculo da **Odds Ratio** numa tabela de contingência (tabela 2X2):

**Tabela 2:** Esquema de uma tabela 2X2 para o cálculo da **Odds Ratio**

Exposição	Casos	Controles	Total
<b>Sim</b>	a	b	a+b
<b>Não</b>	c	d	c+d
Total	a+c	b+d	a+b+c+d

Portanto temos que:

$$\text{Proporção de expostos entre os casos} = \frac{a}{a + c}$$

$$\text{Proporção de expostos entre os controles} = \frac{b}{b + d}$$

Como veremos mais à frente, nos **estudos tipo caso-control** nós não podemos calcular diretamente a **incidência** em **expostos** e **não expostos**, pois não dispomos do denominador. O que temos é **proporção de expostos entre os casos** e a **proporção de**

**expostos entre os controles** (tabela 2). Utilizamos então, outra **medida de associação**, a **Odds Ratio** (OR) ou **razão de Odds** que em determinadas condições pode ser aceita como uma boa estimativa do **risco relativo**.

Para entendermos o que vem a ser a OR, é necessário primeiro distinguirmos **odds** (ou **chances**) de **probabilidade**. A **incidência entre os expostos** pode ser entendida como a **probabilidade** de indivíduos expostos a determinado fator apresentarem o desfecho de interesse.

Exemplo: na tabela 1 temos que o **risco** entre os expostos é a **probabilidade** dos expostos apresentarem o desfecho de interesse:

$$\text{Risco ou Probabilidade dos expostos (tabela 1) apresentarem o desfecho} = \frac{a}{a+b}$$

Por sua vez, **Odds** (ou **chances**) é a razão de duas probabilidades complementares.

Exemplo: na tabela 2 temos que:

$$\text{Odds de ser exposto entre os casos} = \frac{a / (a+c)}{c / (a+c)} = a/c$$

ou seja, é a razão da probabilidade de ser exposto entre os casos pela probabilidade de não ser exposto entre os casos.

$$\text{Odds de ser exposto entre os controles} = \frac{b / (b+d)}{d / (b+d)} = b/d$$

ou seja, é a razão da probabilidade de ser exposto entre os controles pela probabilidade de não ser exposto entre os controles.

A **OR** é definida em **estudos tipo caso-controle** como a **razão** entre a **Odds** dos **casos** terem sido **expostos** e a **Odds** dos **controles** terem sido **expostos**.

Quando a exposição ao **fator em estudo** for maior entre os **casos** do que entre os **controles** a **OR excederá a 1**, indicando **associação** entre a exposição ao **fator** e o **desfecho** (doença), ou seja, que o **fator** em estudo é um **fator de risco**. Inversamente, se a exposição for menor entre os **casos** do que entre os **controles** a **OR** será **menor** do que **1**, indicando que o fator em estudo é um **fator protetor**.

Logo o cálculo da **OR** é feito da seguinte forma:

$$\text{Odds Ratio} = \frac{\frac{a}{c}}{\frac{b}{d}} = ad / bc \quad \text{ou} \quad \text{OR} = ad/bc$$

#### 7.4. Interpretação das medidas de associação

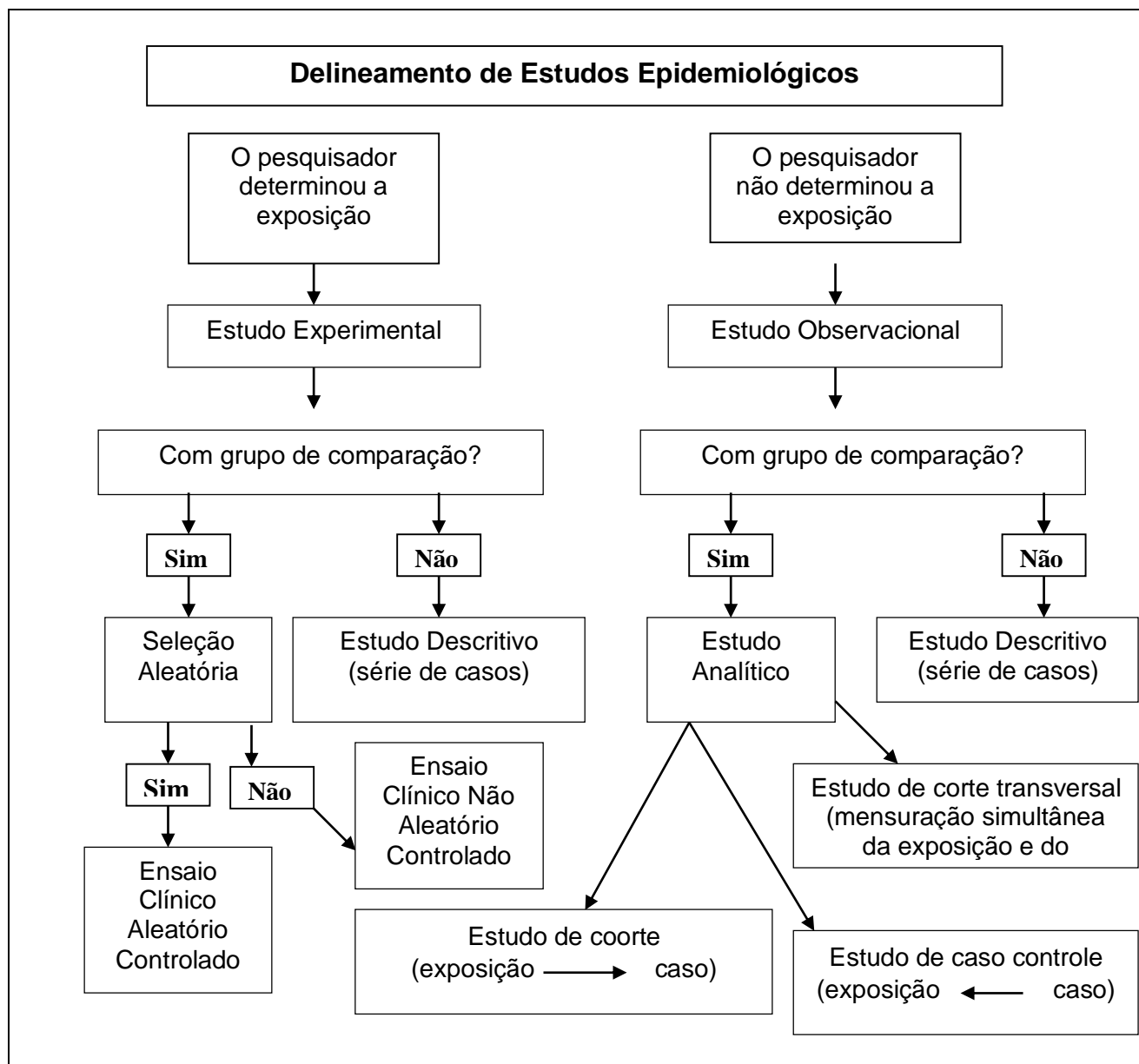
As **associações estatísticas** estimadas por meio do cálculo do **risco relativo** e da **Odds Ratio** obtidos, respectivamente, em estudos de **coorte** e de **caso-controle**, com o objetivo de identificar possíveis **associações causais**, devem ser **interpretados com cautela**, pois podem expressar:

1. **Acaso**:- quando decorrem de variações aleatórias. Essa possibilidade pode ser avaliada por testes estatísticos, como por exemplo, o qui quadrado.
2. **Viés** (“bias” em idioma Inglês):- constituem erros sistemáticos. Os principais vieses resultantes de estudos epidemiológicos são os vieses de seleção e de informação.
3. **Fator de confusão**: que ocorre quando dois fatores ou exposições estão associados entre si, e o efeito de um confunde ou distorce o efeito do outro.
4. **Verdade**:- quando a associação causa-efeito observada é verdadeira. **É recomendável que se aceite essa explicação somente quando for possível excluir as demais.**

## 8. Tipos de estudos epidemiológicos

Retomando o tópico 4 (Etapas para o desenvolvimento de um projeto de pesquisa), uma vez delimitada a questão a ser pesquisada, o passo seguinte é definir a estratégia a ser seguida. Para tanto, existem duas opções: desenvolver um estudo **observacional** ou **experimental**. Na primeira delas, não há intervenção do investigador em fatores que participam ou podem participar do processo que leva a doença de interesse ou altere seu prognóstico. Por sua vez, nos **estudos experimentais**, o pesquisador controla fatores selecionados que podem ser de importância nesse processo (Figura 3).

A seguir apresentaremos de forma sintética os principais desenhos de estudos epidemiológicos.



**Figura 3:** Algoritmo de opções de tipos de estudo no qual a unidade de observação é o indivíduo.

Tanto os estudos **observacionais** como os **experimentais** podem ser **descritivos** ou **analíticos**. Quando não existe o **grupo de comparação** e, portanto, quando não houver o objetivo de analisar associação entre exposição e desfecho, o estudo será **descritivo** visando, principalmente, a elaboração de hipóteses explicativas a serem testadas posteriormente pelos **estudos analíticos**. Os **estudos descritivos** são desenvolvidos frequentemente na forma de **relatos de caso** ou de **uma série de casos** <sup>16</sup>(Rothman 2002).

Quando temos um **grupo de comparação**, o estudo será **analítico**, permitindo a identificação de associações entre doenças e vários fatores que podem ter importância na

sua ocorrência e/ou em seu prognóstico <sup>16</sup>(Rothman 2002). Podemos exemplificar com **ensaios clínicos controlados** (estudos experimentais) para analisar a eficácia de determinada vacina <sup>18</sup>(Mulholland K, 1997), ou ainda, com **estudos de coorte** e de **caso controle** (estudos observacionais) para investigar a associação entre tabagismo e câncer de pulmão <sup>9, 10</sup>(Doll & Hill, 1956; Doll & Hill, 1964).

### 8.1. Estudos Descritivos

Os **estudos descritivos** apresentam papel relevante na pesquisa médica, constituindo a primeira etapa da aplicação do método epidemiológico com vistas à compreensão do comportamento de um agravo à saúde numa população. Nesta fase é possível respondermos a questões relativas ao quem? quando? onde?, ou em outros termos, é nessa etapa que descrevemos os caracteres epidemiológicos das doenças relativos à pessoa, ao tempo e ao lugar <sup>1</sup>(Kramer MS 1988).

Os caracteres epidemiológicos relativos às **pessoas** referem-se, especialmente, ao sexo, idade, escolaridade, nível socioeconômico, etnia, ocupação, situação conjugal. Por exemplo, o risco para tromboembolismo aumentaria exponencialmente com a idade <sup>19</sup>(Anderson e al., 1991), a etnia afetaria o risco para o leiomioma <sup>20</sup>(Marshall et al., 1997). Outras estratificações podem ser criadas segundo características como, por exemplo, ser usuário ou não de serviços de saúde, pessoas que vivem em domicílios com ou sem acesso a serviços de abastecimento de água, etc. Qualquer variável relevante pode ser analisada, observados critérios que delimitem perfeitamente uma categoria da outra.

Ao descrevermos os caracteres epidemiológicos relativos ao **tempo**, focalizamos o padrão do comportamento das doenças, em amplos períodos de tempo, pelo levantamento de séries históricas com objetivo de caracterizar **tendências**, **variações regulares** como, por exemplo, as variações cíclicas e sazonais e as **variações irregulares** que caracterizam as epidemias. Por sua vez, a descrição dos caracteres epidemiológicos relativos ao **lugar**, preocupa-se com aspectos da distribuição urbano-rural, diferenças do comportamento das doenças em distintas regiões do globo ou mesmo com diferenciais existentes no interior de uma mesma comunidade <sup>1</sup>(Kramer MS 1988).

Outro aspecto importante é a perfeita **definição de caso**, que deverá ser suficientemente clara e específica de maneira a permitir que o desfecho em estudo seja mensurável, caso contrário, os resultados da pesquisa serão de difícil interpretação.

Nos estudos descritivos, os dados são reunidos, organizados e apresentados na forma de gráficos, tabelas com incidências, prevalências, médias e proporções distribuídas segundo atributos da pessoa, do tempo e do espaço, com o objetivo de identificar possíveis grupos e exposições de risco e com fundamento nessas informações, formular hipóteses, mas sem analisar *associações* ou efetuar *inferências causais*.

Podemos dividir esse tipo de estudo em dois grupos maiores, em um deles a **unidade de estudo** é o **indivíduo**, abrangendo os **relatos de casos e de séries de casos, vigilância e estudos transversais**. O outro grupo a **unidade de estudo** são **agregados populacionais**, neste último caso temos os **estudos ecológicos ou de correlação** <sup>13</sup>(Gordis 2009).

### 8.1.1. Relatos de Caso ou de Série de Casos

Os **relatos de caso** consistem em descrições detalhadas de um caso ou de um pequeno grupo de casos elaborados por um ou mais investigadores, focalizando características pouco frequentes de uma doença já conhecida ou buscando descrever uma moléstia possivelmente desconhecida. Frequentemente, esses estudos visam chamar a atenção de outros pesquisadores que tenham efetuado observações semelhantes, criando condições para formulações de **hipóteses** <sup>1</sup>(Kramer MS 1988). Constituem praticamente o único meio de descrever eventos clínicos raros. Um exemplo é o relato de um caso de adenoma benigno hepatocelular, um tumor raro, numa mulher que usava contraceptivos orais <sup>21</sup>(Schenken, 1976), estudo tipo caso-controle feito posteriormente confirmou uma associação entre o uso prolongado de contraceptivos orais e esse tipo raro de tumor <sup>22</sup>(Rooks et al., 1979).

Estudos de **série de casos** são publicações de relatos detalhados de um agregado de casos num único artigo, muitas vezes o motivo de uma publicação com essas características é a descrição da ocorrência de vários casos similares num curto período de tempo expressando uma epidemia. Um exemplo muito conhecido desse tipo de estudo descritivo é o registro de um “cluster” de casos apresentando a mesma síndrome verificada entre homens homossexuais em Los Angeles, EUA, entre outubro de 1980 e maio de 1981 <sup>23</sup>(CDC 1982) que alertou os serviços de saúde para o início da epidemia de AIDS nos EUA. Em nosso meio podemos citar o exemplo da descrição de uma **série de casos** com características da síndrome de “Waterhouse-friderichsen”, atingindo crianças menores de 10 anos, residentes em várias localidades dos estados de São Paulo e do Paraná que, posteriormente, delimitou uma nova entidade nosológica, a febre purpúrica brasileira <sup>24</sup>(Harrison et al 2008). Em geral, o registro de série de casos, especialmente em casos relacionados a uma epidemia, gera estudos complementares, contribuindo para a produção de conhecimento sobre novas doenças ou doenças já conhecidas, mas que se apresentam com o comportamento modificado <sup>1</sup>(Kramer MS 1988).

### 8.1.2. Vigilância

A **vigilância** epidemiológica ou em saúde pública (vigilância com ambos os qualificativos têm o mesmo significado) deve ser entendida como uma das aplicações da epidemiologia em serviços de saúde pública e não um tipo de estudo. No entanto, por analisar

sistematicamente informações a respeito de específicas doenças, utiliza amplamente a epidemiologia descritiva e frequentemente gera novos conhecimentos a respeito do comportamento de doenças, sendo que esse conhecimento produzido tem mostrado ampla aplicação tanto em saúde pública como na clínica. Em termos conceituais a vigilância pode ser definida como “a observação contínua da distribuição e tendências da incidência de doenças mediante a coleta sistemática, consolidação e avaliação de informes de morbidade e mortalidade, assim como de outros dados relevantes e a regular disseminação dessas informações a todos que necessitam conhecê-la” <sup>7</sup>(Langmuir, 1976). Sua característica mais importante é a ampla disseminação da informação analisada com recomendações visando o controle de doenças <sup>25</sup>(Waldman 2006). O uso da vigilância nos últimos 50 anos tem acumulado um amplo acervo de contribuições ao campo da saúde pública, um exemplo, é a produção do conhecimento relativo à AIDS desde o início da epidemia, identificando tendências, grupos e fatores de risco.

Em função da importância crescente, em saúde pública, das doenças de curso crônico (infecciosas e não infecciosas), a **vigilância** tem ampliado sua abrangência, passando também a acompanhar a prevalência de fatores de risco com o objetivo de fundamentar estratégias de prevenção, avaliar sua efetividade e prever o aumento da incidência de doenças, como o da obesidade e de doenças cardiovasculares. Justifica-se esse novo componente da vigilância, pelo longo período de latência entre a exposição e o surgimento dessas doenças, tornando necessário o acompanhamento de mudanças na prevalência de determinadas exposições na população ou em grupos de risco, que possam a médio ou longo prazo, modificar sua ocorrência.

### 8.1.3. Estudos Transversais

Os estudos de **transversais**, também conhecidos como **estudos de prevalência** ou **seccionais** são frequentemente utilizados para descrever as condições de saúde de populações, por meio de inquéritos nacionais, regionais ou locais. Como tipo de estudo são semelhantes aos Censos Demográficos decenais, oferecendo informações que refletem a situação em determinado ponto no tempo. Os inquéritos aplicados ao estudo das condições de saúde de populações têm sido cada vez mais utilizados em nosso país. Os instrumentos de medida de exposição são geralmente registros, questionários, exames físico e clínico e testes de laboratório.

Nos estudos **transversais** a unidade de estudo é o indivíduo, a mensuração da exposição e do desfecho é efetuada em um **único ponto no tempo** ou no decorrer de um curto intervalo de tempo. Esses estudos quando efetuados em população bem definida permitem a obtenção de **medidas de prevalência** <sup>1</sup>(Kramer MS 1988).



O fato de mensurar exposição e desfecho num único momento torna difícil a identificação da sequência temporal desses eventos, ou seja, se a exposição precede o aparecimento da doença ou se a presença da doença altera o grau de exposição a determinado fator. No entanto, para fatores que permanecem inalterados no tempo, tais como: sexo, raça e grupo sanguíneo, os **estudos seccionais** podem oferecer evidência válida de uma **associação estatística**, permitindo, portanto, **testar hipóteses**. Esse raciocínio também se aplica quando a exposição determinada num ponto no tempo, for um *proxy* válido da exposição passada. Quando investigamos, por exemplo, hábitos relativos à dieta e tabagismo num ponto no tempo, de maneira que possa refletir de forma acurada essas práticas num intervalo de tempo consistente com o período de latência da doença de interesse, os resultados de **estudos seccionais** são semelhantes aos obtidos por um estudo tipo caso-controle. Portanto, como esses hábitos variam no tempo, a análise dessas exposições em **estudos seccionais** é mais adequada em doenças com períodos de latências curtos<sup>1</sup>(Kramer MS 1988).

Como frequentemente os **estudos seccionais** mensuram a prevalência de determinados desfechos, a adequada interpretação de seus resultados, deve levar em conta que casos que evoluíram para óbito não são incluídos na amostra estudada. Portanto, esse tipo de investigação é mais adequado para o estudo de doenças crônicas não fatais. Por outro lado, aqueles que foram tratados com sucesso ou curaram-se espontaneamente deixam de ser incluídos no numerador para o cálculo da prevalência. O estudo de casos incidentes quando investigados simultaneamente para exposições de interesse, podem ser considerados estudos seccionais, por exemplo, casos novos de infarto do miocárdio podem ser investigados quanto ao hábito atual do tabagismo<sup>1</sup>(Kramer MS, 1988).

**Entre as vantagens** dos *estudos transversais*, temos:

- \* São frequentemente desenvolvidos com base em amostras representativas da população, não abrangendo apenas pacientes que buscam atendimento em serviços de assistência médica, permitindo estudos que visam testar hipóteses e, portanto, a elaboração de inferências causais mais fortes.
- \* Seu custo é geralmente mais baixo se comparado a outros tipos de estudos, em virtude de seu desenvolvimento em curto espaço de tempo.
- \* São úteis para estudos descritivos relativos ao espectro clínico da doença e para inquéritos de prevalência.

Quanto às **limitações** dos **estudos seccionais**, temos:

- \* A dificuldade, já apontada, de identificarmos a sequência temporal da exposição de interesse em relação ao efeito;

- \* A maior dificuldade de identificação de doenças de curta duração se comparados com aquelas de longa duração.
- \* Os inquéritos populacionais geralmente não fornecem informações relativas a grupos submetidos à exclusão social (população sem teto, grupos indígenas e outras minorias, assim como de grupos que migram frequentemente).
- \* O fato de a participação ser voluntária pode gerar vieses, pois o grupo que adere ao estudo, geralmente é mais preocupado com a saúde e, portanto, apresentar hábitos mais saudáveis.

Recomenda-se também cuidado na análise de **estudos seccionais** que incluam doenças que apresentem períodos de remissão e de exacerbação e também quando abrangem pacientes em tratamento. Nessas circunstâncias, a classificação dos casos dependerá dos objetivos da pesquisa, que deverá estabelecer critérios específicos para cada situação com o objetivo de estabelecer **definições de caso** mais adequadas <sup>1</sup>(Kramer MS, 1988).

#### 8.1.4. Estudos Ecológicos ou Estudos de Correlação

Os **estudos ecológicos** focalizam possíveis associações entre exposições e desfechos em populações e não em indivíduos, ou seja, a **unidade de estudo é o agregado populacional** que reside numa área geográfica definida como países, regiões, cidades, distritos, etc. As variáveis analisadas nesse tipo de estudo são medidas sumarizando características individuais dentro de um grupo e apresentadas por meio de valores médios, por exemplo, taxas médias de uma dada doença, consumo médio de gorduras, proporção de fumantes, renda média em populações. Podemos também utilizar medidas ambientais como, por exemplo, intensidade de poluição ambiental, tempo médio de insolação diária. Outras variáveis frequentemente utilizadas em estudos desse tipo são medidas globais que representam características de um grupo e que não são reprodutíveis individualmente, por exemplo, tipos ou modelos de políticas de saúde, de regulamentação ou lei <sup>11</sup>(Hulley et al. 2007). Um exemplo seria a análise do impacto da legislação de trânsito brasileira nas taxas de mortalidade por acidente causado por veículo a motor.

Os **estudos ecológicos** analisam dados globais de agregados populacionais, comparando a frequência de doença entre diferentes agregados durante o mesmo período de tempo (comparações geográficas) ou a mesma população em diferentes momentos (séries temporais). Esses estudos são geralmente descritivos, ou seja, desenvolvidos com a finalidade de elaborar **hipóteses**, mas podem também **testar hipóteses**. Nesse caso porém, a interpretação dos resultados deve ser feita com cuidado em virtude da denominada **“falácia ecológica”**, que consiste em considerar, erroneamente, uma associação verificada entre

variáveis analisadas no nível de um **agregado populacional** como também existente para o **nível individual**, quando na realidade ela expressa somente a associação existente no **nível de agregado** <sup>12</sup>(Szklo e Nieto 2007).

Um exemplo de **estudo ecológico** é a verificação de taxas mais baixas de cárie dentária em população servida por água de abastecimento com níveis mais elevados de concentração de flúor, permitindo a elaboração de **hipótese** de que o flúor diminuiria o **risco** da cárie dentária. Neste caso, dispomos de dados relativos a um fator de exposição, a concentração de flúor na água de abastecimento, e a um efeito, a taxa de cárie dentária, ambos referentes a toda a população; no entanto, esse estudo não nos dá a frequência **individual** da exposição e do efeito, fato que nos impede de efetuar inferências para o indivíduo.

Os estudos ecológicos são usados em situações em que se pretende analisar a associação entre disponibilidade de alimentos e determinados eventos adversos à saúde; desigualdades socioeconômicas e saúde, modificações da legislação e saúde <sup>12</sup>(Szklo & Nieto 2007).

## 8.2. Tipos de Estudos Analíticos

Os **estudos analíticos** caracterizam-se por incluir um **grupo comparação**, permitindo a análise de associações entre determinadas exposições e desfechos, geralmente testando hipóteses elaboradas durante estudos descritivos. Os **estudos analíticos** visam estabelecer inferências a respeito de **associações** entre duas ou mais variáveis, para tanto são utilizadas duas abordagens a de **estudos observacionais** e a de **estudos experimentais** conforme o esquema apresentado na Figura 3 <sup>16</sup>(Rothman 2002).

### 8.2.1. Estudos Observacionais

Os **estudos observacionais** são assim denominados uma vez que o **pesquisador não intervém**, apenas analisa com fundamento no método epidemiológico os dados de um **experimento natural**. Eles abrangem basicamente três tipos de delineamentos, os **estudos transversais**, os **estudos de coorte** e os de **caso-controle**, que em síntese têm por objetivo verificar se o **risco** de desenvolver uma doença (ou evento adverso à saúde) é maior entre os **expostos** do que entre os **não expostos** ao fator de interesse ao estudo.

As características básicas dos **estudos de coorte e de caso controle** são os seguintes (Figura 3):

1) Os **estudos de coorte** iniciam-se com indivíduos que **não apresentam o desfecho de interesse** e após segui-los por algum tempo, analisa-se a existência ou não de possíveis **associações** do tipo **exposição-efeito** por meio da comparação da ocorrência da doença (ou evento adverso à saúde) entre **expostos** e **não expostos** ao possível **fator de risco**.

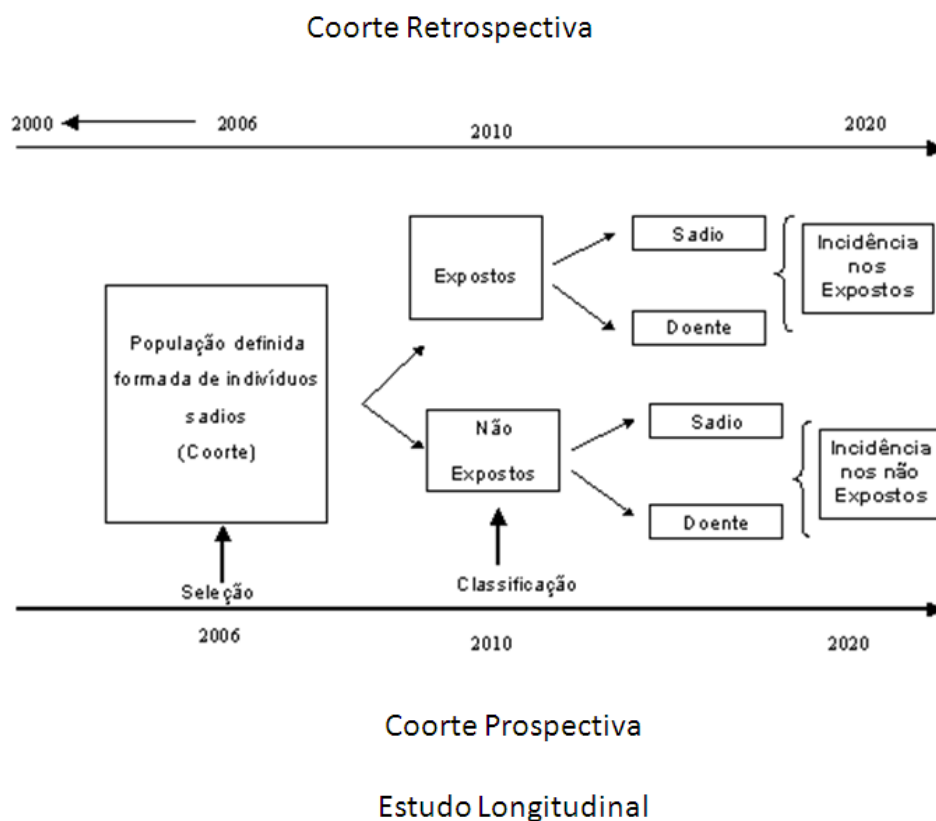
2) Os **estudos tipo caso-controle** iniciam-se a partir da identificação de casos da doença de interesse e seleção dos controles adequados, investigando-se retrospectivamente a prevalência de **exposições** entre **casos** e os **controles** com a finalidade de averiguar a existência ou não de possíveis **associações** do tipo **exposição-efeito**.

Tendo em vista que o objetivo dos **estudos observacionais** é a quantificação das **associações** entre **exposição e desfecho**, torna-se indispensável definir de forma bem precisa o que se entende e como será mensurada, respectivamente, a **exposição** (provável **fator de risco**) e por **desfecho** (doença).

A definição de **exposição** deve ser estabelecida levando em conta a dose e/ou duração da **exposição** ao provável **fator de risco** ou diferentes maneiras de **associação** entre a **exposição** e o **desfecho**. A **exposição** pode também ser entendida por características do indivíduo como, por exemplo: sexo, idade, tipo sanguíneo, etc. Por sua vez, a definição do **desfecho**, ou seja, a **definição de caso** é igualmente indispensável e pode ser entendida como um conjunto de critérios padronizados que nos permitem estabelecer quem deve ser classificado como apresentando a condição de interesse para a investigação. A **definição de caso** inclui critérios clínicos, laboratoriais e epidemiológicos, podendo delimitar também características epidemiológicas relativas ao tempo, espaço e pessoa.

#### 8.2.1.1. Estudos de Coorte

Os estudos de **coorte** são **estudos observacionais, longitudinais** em que a **unidade é o indivíduo** <sup>11</sup>(Hulley et al. 2007). Nos delineamentos mais simples, a coorte é formada inicialmente por um ou mais grupos de pessoas sadias ou que não apresentam o desfecho de interesse, que serão classificadas em subgrupos segundo a **exposição** ou **não** a um fator potencialmente associado à ocorrência da doença sob investigação (Figura 4). A finalidade dos **estudos de coorte** é a de averiguar se a **incidência** da doença difere entre o subgrupo de **expostos** a um determinado **fator** se comparada com o subgrupo **não exposto**, em outros termos, busca-se identificar se essa **exposição** está associada ao desfecho de interesse.



**Figura 4:** Apresentação esquemática de estudos de coorte.

Nos delineamentos mais complexos a coorte pode ser formada por diversos grupos com diferentes graus de intensidade e duração da exposição, sendo que as taxas de incidência podem ser calculadas segundo essas diferentes categorias de exposição <sup>13</sup>(Gordis 2009).

Os **estudos de coorte** iniciam-se por um **estudo transversal**, denominado **linha de base** do estudo. Neste momento, todos os componentes selecionados preliminarmente para compor a coorte são submetidos a exames clínicos, laboratoriais e respondem a um questionário (instrumentos de mensuração de exposição e de averiguação do desfecho). A seguir, aqueles que não apresentarem o desfecho de interesse passam a formar a coorte que será acompanhada mediante periódicas mensurações das variáveis de interesse (desfecho e exposições), com o objetivo de medir a ou as exposições e identificar a ocorrência do desfecho <sup>12</sup>(Szklo & Nieto 2007).

Entre as características mais importantes dos **estudos de coorte** temos:

- \* São os únicos estudos que testam hipóteses etiológicas produzindo medidas de **incidência** e, portanto, medidas diretas de associação, ou seja, o **risco relativo** (RR);
- \* Permitem aferir a contribuição individual ou combinada de mais de um **fator de risco** associado com determinada doença;

\* São geralmente **prospectivos ou concorrentes**, no entanto, em situações especiais, quando se dispõe de registros confiáveis relativos à exposição pregressa ao início do seguimento, pode também apresentar caráter **retrospectivo ou não concorrente**, temos então a **coorte histórica** (Figura 4).

\* Os **estudos de coorte** partem de grupos de pessoas saudáveis que naturalmente se distribuem em subgrupos de **expostos e não expostos** ao **fator de risco** em estudo. Tais grupos, após certo período de tempo, dividir-se-ão em outros subgrupos de **atingidos e não atingidos** pelo **efeito** (doença ou evento adverso à saúde) que se supõe estar associado à **exposição de interesse**;

\* O grupo estudado deverá ser o mais homogêneo possível em relação ao maior número de variáveis, que não sejam aquelas em estudo, denominadas **variáveis independentes**.

Por decorrência das características acima apontadas, as **associações** obtidas por **estudos de coorte**, geralmente, são mais consistentes do que aquelas que resultam de **estudos tipo caso-controle**.

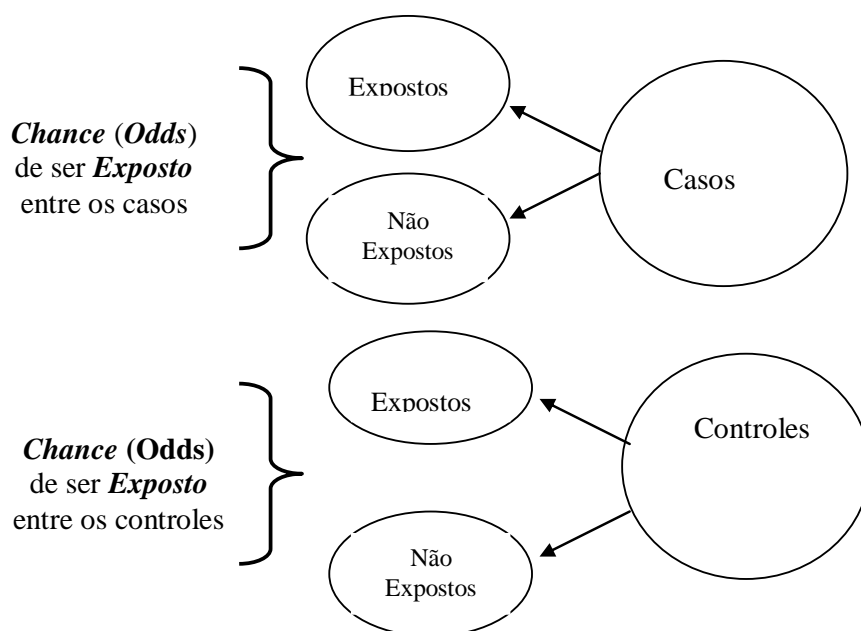
**Os estudos de coorte** apresentam vantagens em relação aos estudos de caso-controle, entre elas: i) permite o cálculo direto das taxas de **incidência** e da medida de associação, o **risco relativo** (RR); ii) por ser um estudo de longo prazo são geralmente melhor planejados do que os estudos de caso controle; iii) dependendo da forma como é planejado, pode identificar **associações** de uma **exposição** com uma ou mais doenças; iv) menor probabilidade de conclusões falsas ou inexatas, por ser menos vulnerável a vieses. Por outro lado, apresenta também desvantagens entre elas: i) custo elevado e a longa duração; ii) modificações na composição do grupo selecionado em decorrência de perdas por diferentes motivos; iii) dificuldade de manter a uniformidade do trabalho.

### 8.2.1.2. Estudos Tipo Caso Controle

Os estudos tipo **caso-controle** caracterizam-se, à semelhança dos **estudos de coorte**, por serem **observacionais**, ou seja, não há **intervenção** por parte do investigador e a **unidade de estudo é o indivíduo**. Os **estudos tipo caso-controle** partem de um grupo de indivíduos acometidos pela doença de interesse, os **casos**, comparando-os com outro grupo de indivíduos que devem ser em tudo semelhante aos **casos**, diferindo somente por não apresentarem a referida doença, são os **controles** (figura 5). Identificados os **casos** e selecionados os **controles**, o investigador estuda retrospectivamente a história dos **casos** e **controles**, com vistas a identificar a presença ou ausência de **exposição** a determinados **fatores** que podem ser importantes para o desenvolvimento da doença em estudo <sup>13</sup>(Gordis 2009).

A mensuração da exposição é efetuada por meio de entrevistas, questionários padronizados, informações de parentes/vizinhos ou por meio da pesquisa de marcadores biológicos. Os procedimentos devem ser rigorosamente iguais para casos e controles, sendo recomendável que os entrevistadores não conheçam o *status* caso/controle com o objetivo de se evitar vieses de informação <sup>11</sup>(Hulley et al. 2007).

Os **estudos tipo caso-controle** estão particularmente indicados em doenças raras e de longo **período de latência**, ou ainda, em situações como as encontradas em surtos epidêmicos ou diante de agravos desconhecidos, em que é indispensável a identificação urgente da etiologia e as formas de transmissão da doença com vistas a uma imediata ação de controle. Mais recentemente, os estudos caso-controle passam a ser utilizados na avaliação de eficácia/efetividade de vacinas <sup>26</sup>(Rodrigues & Smith 1999)



**Figura 5:** Apresentação esquemática de estudos de caso controle

Nos **estudos tipo caso-controle** a classificação de um doente como **caso** pressupõe uma perfeita definição das características desse grupo, que deve levar em consideração vários aspectos, entre eles: i) critério diagnóstico; ii) aspectos e variedades clínicas; iii) estadiamento da doença. Além disso, devemos selecionar **preferencialmente casos** ocorridos recentemente e num intervalo definido de tempo, ou seja, de **casos incidentes** e não de casos existentes num determinado momento, mas diagnosticados no passado, ou seja, de **casos prevalentes**, isso porque, os critérios diagnósticos, assim como as exposições podem variar com o tempo. Devemos também levar em conta que **casos prevalentes** geralmente diferem dos **casos incidentes** por apresentarem formas menos graves da doença

o que lhes permitiu sobreviver por mais tempo. Os **casos** podem ser selecionados, incluindo todos os atendidos por um ou mais serviços médicos ou todos os doentes encontrados na população geral, ou ainda, uma amostra deles <sup>1</sup>(Kramer MS 1988).

A seleção do **grupo controle** constitui um dos pontos mais importantes no delineamento dos **estudos tipo caso-controle**, devendo buscar a máxima semelhança entre **casos e controles**, à exceção do fato de os **controles** não apresentarem a doença objeto do estudo. No entanto, essa tarefa é difícil, pois até irmãos gêmeos são submetidos a diferentes **exposições ambientais**. Além das características já referidas, devemos observar os seguintes critérios na seleção dos controles: i) os controles devem ser representativos da população sob risco de tornarem-se casos, ou seja, de apresentarem a doença de interesse ao estudo; ii) **ser ou não exposto ao possível fator de risco investigado não pode ser critério de seleção dos controles**.

Ao selecionar os controles o pesquisador deve estar atento a possíveis vieses, exemplificando, citaria um estudo sobre fatores de risco para infarto do miocárdio, onde os casos são selecionados numa enfermaria de um grande hospital universitário. Neste caso, se selecionarmos como controles pacientes que não apresentam infarto do miocárdio entre os atendidos no pronto socorro, do mesmo hospital, é possível que tenhamos vieses, pois em virtude das características do hospital, sua enfermaria possivelmente recebe pacientes de todo o Estado, já o pronto socorro atende predominantemente pacientes residentes na própria cidade aonde se localiza o hospital <sup>13</sup>(Gordis 2009).

Uma alternativa para se evitar possíveis vieses determinados pela seleção dos **controles** entre pacientes hospitalizados seria selecioná-los entre indivíduos que vivam na vizinhança dos **casos**, ou ainda, parentes, colegas de trabalho ou de escola, ou pessoas que mantenham alguma relação de proximidade com os **casos**. Esses cuidados são indispensáveis para garantir a maior comparabilidade interna entre **casos e controles** e, portanto, uma estimativa mais consistente do **risco** <sup>13</sup>(Gordis 2009).

Os **estudos caso-controle** apresentam algumas dificuldades, uma delas está relacionada ao fato desse tipo de estudo obter as informações **retrospectivamente**, portanto, elas dependem da fidedignidade do recordatório, que pode gerar **vieses de memória**, tanto entre os **casos** como entre os **controles**. Esses vieses podem apresentar-se ou não com a mesma intensidade entre ambos, ou seja, podemos ter vieses diferenciais e não diferenciais entre casos e controles. Por exemplo, a mãe de uma criança com malformação congênita será capaz de descrever com maior riqueza de detalhes e maior precisão as intercorrências verificadas durante a gravidez, se comparada com a descrição, desses mesmos eventos, quando relatados por uma mãe de uma criança normal. Esse é um exemplo de viés diferencial, a respeito do qual falaremos mais à frente. Outro problema é o **viés de seleção** tanto de



**casos** como de **controles**, que pode ser atenuado se os **casos** forem selecionados em uma única área e observando critérios bem padronizados para sua inclusão no grupo <sup>13</sup>(Gordis 2009).

Diferentemente dos **estudos de coorte**, os do **tipo caso-controle** não permitem o cálculo direto do RR, por isso a **associação** entre **exposição** e **desfecho** será estimada indiretamente pelo cálculo do **Odds Ratio** (OR), que pode ser aceito como um estimador do **RR**, sempre que satisfizer dois pressupostos: i) Os controles devem ser representativos da população que deu origem aos casos; ii) A doença objeto do estudo deve ser rara <sup>13</sup>(Gordis, 2009).

Os estudos de **caso-controle** apresentam vantagens, entre elas: i) Fácil execução; ii) Baixo custo e curta duração; iii) São particularmente indicados para doenças raras; iv) Evita a perda no seguimento de casos; v) Pode analisar vários preditores simultaneamente. Por outro lado, entre as desvantagens desse tipo de estudo temos: i) Dificuldade de seleção dos **controles**; ii) As informações obtidas frequentemente são incompletas; iii) Presença de vieses de informação, de seleção e de fatores de confusão; iv) Impossibilidade de cálculo direto da **incidência** entre **expostos** e **não expostos** e, portanto, do **risco relativo**.

### 8.2.2. Estudos Experimentais

Os **estudos epidemiológicos experimentais ou de intervenção** são **prospectivos**, incluindo os **ensaios clínicos** e **ensaios de campo** que tomam como **unidade de estudo** o **indivíduo** ou os **ensaios de intervenção comunitária** que tomam com unidade de estudo um **agregado populacional**. O termo **ensaio** é utilizado como sinônimo de **experimento epidemiológico**.

A **epidemiologia experimental** abrange estudos que apresentam como característica principal o fato do pesquisador elaborar um protocolo em que estabelece as condições do experimento. Esse tipo de estudo pode incluir ou não um **grupo de comparação**. No primeiro caso teremos os **relatos de caso** e de **série de casos**, que não testam hipótese, portanto são estudos descritivos (Figura 3). Na segunda alternativa, temos os **ensaios clínicos**, **ensaios de campo** e os **ensaios de intervenção comunitária controlados**. Nesses últimos estudos quando o pesquisador utiliza a técnica de alocação aleatória para formar o grupo submetido à intervenção e o de comparação, temos os **ensaios clínicos**, **ensaios de campo** e os **ensaios de intervenção comunitária aleatórios controlados**, que são considerados como a estratégia metodológica ideal de estudo para avaliar a eficácia dessas intervenções <sup>13,16</sup> (Gordis, 2009; Rothman 2002).

A **eficácia** de um instrumento ou de uma intervenção expressa em qual extensão ele atinge seus objetivos, quando aplicado em condições ideais de pesquisa, enquanto que a

**efetividade** expressa em qual extensão o instrumento ou intervenção atinge seus objetivos, quando aplicado em condições de campo, onde nem todos os parâmetros podem ser fixados<sup>2</sup>(Porta M 2008).

Um dos objetivos da saúde pública e da clínica é modificar a história natural das doenças, seja prevenindo a doença e a incapacidade, melhorando a saúde dos pacientes ou da população, seja retardando a morte, portanto, o desafio é encontrar a melhor medida preventiva ou terapêutica com essa finalidade. Para tanto, necessitamos desenvolver estudos que avaliem essas intervenções clínicas ou de saúde pública.

Os **estudos de intervenção controlados** visam, justamente, responder a essas questões. Para tanto, selecionam dois grupos, um deles é submetido à intervenção objeto do estudo e o outro não. Em seguida os grupos são acompanhados comparando-se a taxa de incidência do evento de interesse em ambos; espera-se que a taxa de incidência seja menor no grupo selecionado para receber a intervenção, ou seja, o fator protetor.

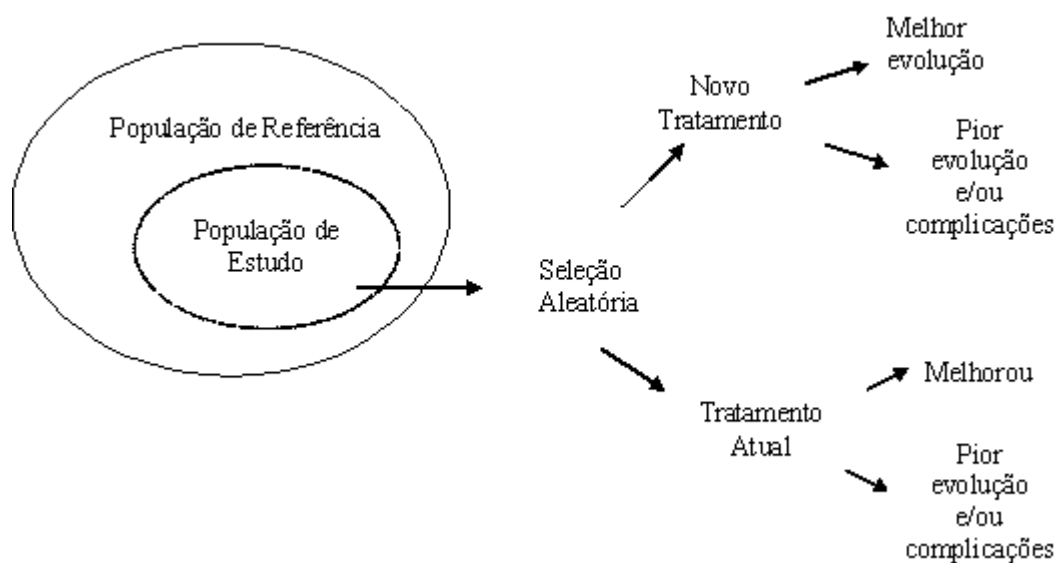
Nos **ensaios clínicos**, geralmente o desfecho de interesse não é uma doença, mas suas complicações ou óbito, enquanto que a **exposição de interesse** é uma **intervenção**, frequentemente um novo medicamento. A estratégia do **ensaio clínico** é a de comparar as taxas de incidência de complicações de uma doença em coortes submetidas a diferentes esquemas de tratamento<sup>13</sup>(Gordis 2009).

Além dos **ensaios clínicos**, temos os **ensaios de campo** que diferem do primeiro tanto pelas características dos participantes, pois são pessoas saudáveis, como também pelo tipo de **desfecho** que é a ocorrência da doença que a intervenção, geralmente uma vacina, pretende prevenir. A estratégia do **ensaio de campo** é a de comparar as taxas de incidência da doença de interesse em coortes submetidas à intervenção de interesse. Os **ensaios de campo** têm por finalidade avaliar intervenções que visam à **prevenção primária** de doenças, geralmente novas vacinas desenvolvidas para prevenir doenças infecciosas<sup>13</sup>(Gordis 2009).

Um terceiro tipo de **experimento epidemiológico** é o **ensaio de intervenção comunitária**, que diferentemente dos dois tipos de ensaios descritos, toma como unidade do estudo **grupos ou agregados populacionais** e não o indivíduo<sup>13</sup>(Gordis 2009). Um exemplo clássico é o **ensaio de intervenção comunitária** realizado em meados do século XX, com a finalidade de avaliar o efeito da fluoretação da água de abastecimento público na prevenção da cárie dentária. Em nosso país, podemos citar estudos recentes utilizando esta estratégia. Um deles visando avaliar a proteção contra a tuberculose conferida por uma dose de vacina (BCG) administrada a escolares em população com elevada cobertura dessa vacina no período neonatal<sup>27</sup>(Barreto et al 2002). Em outro estudo, a intervenção consistiu em educação nutricional para aumentar a participação de frutas e hortaliças na dieta das famílias<sup>28</sup>(Jaime et al 2007).

## Ensaio Clínico e Ensaio de Campo

Os **ensaios clínicos controlados aleatórios** e os **ensaios de campo controlados aleatórios** podem ser aplicados com vários objetivos, como avaliar novos medicamentos, vacinas e novos tipos de tratamento, incluindo novas tecnologias para assistência médica, avaliação de programas de rastreamento (“screening”) e de diagnóstico precoce ou novas formas de oferecer serviços de saúde <sup>13</sup>(Gordis 2009).



**Figura 6:** Esquema de um ensaio clínico controlado aleatório.

De acordo com o exemplo da **figura 6**, o **ensaio clínico controlado aleatório** se inicia pela seleção aleatória da população de estudo, dividindo-a em indivíduos submetidos ao novo tratamento cuja eficácia pretende-se testar e em indivíduos submetidos ao tratamento disponível no mercado. Após a seleção, nós seguimos os dois grupos para verificar se o novo tratamento está associado com a melhor evolução, pois a hipótese que está sendo testada é a de que o novo tratamento é melhor que o atual. Nós podemos comparar dois ou mais grupos recebendo diferentes terapias. Os critérios de seleção dos participantes da pesquisa deverão ser explicitados com grande precisão, não poderão existir critérios subjetivos por parte do pesquisador para decidir quem irá participar do ensaio, de forma que esses estudos possam ser reproduzidos por outros investigadores, da mesma forma que um experimento de laboratório <sup>13</sup>(Gordis 2009).

Os **ensaios clínicos** tipo **duplo cego**, são aqueles em que os indivíduos envolvidos na pesquisa, tanto os pesquisadores e auxiliares de pesquisa, de um lado, como os sujeitos da pesquisa, do outro, não sabem qual o grupo de pacientes que está sendo submetido à intervenção, cuja eficácia está sendo testada. Este tipo de delineamento de estudo constitui a melhor opção para evitarmos vieses. Por exemplo, um novo medicamento que esteja sendo comparado a outro já em uso no mercado deve ser “mascarado” de tal forma que tanto o grupo de pesquisadores e auxiliares como os pacientes envolvidos no ensaio clínico, não tenham condições de identificar quem está tomando o novo medicamento ou aquele já disponível no mercado <sup>13</sup>(Gordis 2009).

Entre os diferentes delineamentos de pesquisa se aceita que os **ensaios clínicos ou de campo aleatórios controlados e duplos cego** sejam aqueles que permitem evidências mais confiáveis em estudos epidemiológicos. Essa característica deve-se ao fato dos participantes serem selecionados aleatoriamente para nos grupos submetidos e não submetidos à intervenção cuja eficácia esteja sendo estudada. Essa técnica de seleção minimizaria **vieses** no método de alocação nos diferentes grupos de estudo e controlaria **fatores de confusão**, inclusive aqueles não conhecidos, e que podem afetar a estimativa do risco que está sendo medido. Vale salientar que esse tipo de controle que não é possível ser aplicado nos **estudos observacionais**. Essa característica dos **estudos de intervenção** é mais importante quando estudamos efeitos de pequena e média intensidade, ou seja, associações fracas. No entanto, cabe a ressalva de que a técnica de **alocação aleatória** dos participantes do estudo não nos assegura que o tratamento será igual nos diferentes grupos estudados, o que torna indispensável que a análise dos resultados do estudo inclua estatísticas descritivas das características dos indivíduos que formam cada um dos grupos estudados <sup>13</sup>(Gordis 2009).

Os **ensaios clínicos** de medicamentos e os **ensaios de campo** de vacinas incluem, de regra, quatro fases: a) **Fase I**: focaliza especialmente a segurança do produto e não a eficácia; b) **Fase II**: geralmente são estudos-piloto incluindo um número pequeno de pacientes voltados a obter informações da eficácia e segurança do produto, com acompanhamento cuidadoso de cada paciente; quando se trata de vacina, a preocupação é a análise preliminar da imunogenicidade; **Fase III**: após a nova droga ou vacina ter demonstrado relativa eficácia e segurança é necessário compará-la em larga escala com medicamentos de uso consagrado em ensaios clínicos controlados envolvendo número suficiente de pacientes. Para alguns autores, o termo **ensaio clínico e ensaio de campo** são sinônimos de ensaios de **Fase III**; **Fase IV**: corresponde a vigilância pós-comercialização que tem como objetivo identificar efeitos colaterais raros ou decorrentes de uso prolongado do fármaco, não identificados nas fases anteriores <sup>29,30</sup>(Clemens et al 2004; Escoteguy 2009)

Os **estudos epidemiológicos experimentais** devem obrigatoriamente pressupor uma análise prévia, muito cuidadosa, dos aspectos éticos envolvidos no projeto de pesquisa, devendo ser aplicado somente quando exista para o **fator em estudo** forte evidência de um **efeito protetor**. Os princípios éticos a serem observados em estudos de intervenção fundamentam-se em alguns documentos consagrados internacionalmente, destacando-se a Declaração de Helsink, de 1964, devendo obedecer, em nosso país, às Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos, Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde.

## 9. A Inferência em Estudos Epidemiológicos

### 9.1. Critérios de causalidade de Austin Bradford Hill

A concepção de **causa** enunciada anteriormente implica numa relação **probabilística** entre determinadas **exposições** e os agravos à saúde aos quais estão **associados**. Por sua vez, a investigação de **associações causais** é efetuada mediante a aplicação de técnicas estatísticas, estas, porém, não bastam para que se estabeleça **nexo causal** entre determinada **exposição** e um **desfecho**, pois identificam somente **associações estatísticas**. Com objetivo de estabelecer critérios que fortaleçam a possibilidade de que uma **associação estatística** observada entre determinada exposição e um desfecho expresse uma associação causal, Austin Bradford Hill propôs uma série de critérios apresentados abaixo <sup>16</sup>(Rothman 2002):

1. **Força da associação:** quanto mais forte for a **associação** entre determinado fator e um efeito, verificada por meio do cálculo do **risco relativo** ou do **Odds Ratio**, maior será a probabilidade de que essa **associação** seja de **causa e efeito**.
2. **Seqüência cronológica:** a **exposição** ao provável **fator de risco** deve anteceder o aparecimento da doença.
3. **Efeito dose-resposta:** quanto maior a intensidade ou frequência de **exposição** ao provável **fator de risco**, maior será a variação concomitante na ocorrência da doença.
4. **Significância estatística:** a **associação** deve ser estatisticamente significativa, ou seja, é necessário um elevado grau de certeza de que essa **associação** não se deve ao **acaso**.
5. **Consistência da associação:** A demonstração da **associação** deverá repetir-se em diferentes estudos efetuados em distintas populações e momentos, empregando-se diferentes métodos.
6. **Especificidade da associação:** Quando uma exposição está associada a um único desfecho.
7. **Reversão da intensidade da associação:** a **associação** entre o **efeito** e a **exposição** ao provável **fator de risco** perde sua força à medida que aumente o período de interrupção da **exposição**.

**8. Coerência científica ou plausibilidade biológica:**- Os novos conhecimentos devem ser coerentes com paradigmas científicos consagrados, ou seja, já validados por pesquisas anteriores. Qualquer incongruência entre ambos indica que um deles está incorreto, ou a associação identificada pelo estudo ou os paradigmas científicos consagrados.

### 9.2. Viés

No correr do texto fizemos várias referências a respeito da possibilidade de ocorrência de **vieses** e suas consequências em diferentes tipos de estudos epidemiológicos. A seguir faremos algumas considerações complementares, com ênfase a aspectos conceituais. Devemos entender por viés a qualquer erro sistemático no delineamento, condução ou análise de um estudo que resulta numa estimativa equivocada do efeito da exposição no risco da doença <sup>1</sup>(Kramer MS, 1988). Por sua vez, em linguagem estatística viés é quando a média dos valores das medidas de associação obtidas de um infinito número de estudos não é o verdadeiro valor <sup>12</sup>(Szklo & Nieto 2007). Em estudos epidemiológicos podemos encontrar basicamente dois tipos de **vieses**: os de **seleção** e os de **informação**. Entendemos como **vieses de seleção** aqueles que ocorrem quando a forma pelas quais casos e controles ou expostos e não expostos são selecionados é tal, que uma aparente associação é observada mesmo quando, na realidade, exposição e doença não estão associados. Neste caso a aparente associação é decorrente de um **erro sistemático de seleção**. Uma forma de viés de seleção que ocorre com alguma frequência em estudos epidemiológicos diz respeito à existência de diferenças existentes entre o grupo de indivíduos que aceitam participar de um estudo em relação àqueles que se negam a participar. Por exemplo, se ao estudarmos a associação entre uma exposição e uma doença e a taxa de adesão ao estudo for maior entre doentes que foram expostos do que entre aqueles não expostos, poderemos observar uma aparente associação. Frequentemente, pessoas que não aderem à participação em estudos diferem das que aderem em muitas características demográficas, socioeconômicas, culturais e de estilo de vida ou mesmo em suas condições clínicas. Esse tipo de viés aponta a importância de buscarmos o máximo de informações disponíveis que possam caracterizar aqueles que não aderiram ao estudo, com a finalidade de determinarmos de que forma diferem os indivíduos que participam e aqueles que se negam a participar de determinado estudo <sup>13</sup>(Gordis 2009).

O **viés de seleção** pode ocorrer também em consequência dos critérios de inclusão ou de exclusão adotados num estudo, quando os mesmos induzem a um erro sistemático na seleção dos componentes de um ou mais grupos de estudo numa pesquisa. A existência de vieses de seleção pode influir tanto na validade interna ou externa de um estudo, devendo merecer especial atenção do pesquisador durante o planejamento do estudo.

O outro tipo de viés é o **viés de informação** que ocorre quando a forma de se obter a informação sobre os sujeitos da pesquisa é imprecisa de maneira que informações relativas à exposição e/ou doença sejam incorretas. Portanto, temos como consequência um erro de classificação. Entre os vieses de identificação da exposição mais frequentes temos os de recordação ou de memória e o do entrevistador, enquanto que, os mais frequentes relacionados à identificação do desfecho são os do observador e o do entrevistado.

Os **vieses de informação** podem ser divididos em diferenciais e não diferenciais. Nos vieses diferenciais as medidas de associação podem ser distorcidas em qualquer direção, ou seja, superestimando ou subestimando o Risco Relativo ou o “Odds Ratio”. Por sua vez, quando temos vieses não diferenciais o erro de classificação tende a “diluir” a força da associação, ou seja, quando ele ocorre, é menos provável que consigamos identificar uma associação, mesmo quando ela existe <sup>13</sup>(Gordis 2009).

### 9.3. Fator de Confusão

Muitas vezes em um estudo epidemiológico nós encontramos uma associação que é verdadeira, pois não é fruto do **acaso** ou de um **erro sistemático**, ou seja, de um **viés**, mas quando analisamos melhor a característica dessa associação, verificamos que ela não é causal. Neste caso a associação pode refletir o efeito de uma terceira variável não analisada e que atua como um fator de confusão.

Para uma variável exercer o papel de fator de confusão ela deverá ter as seguintes características: 1) estar associada à exposição em estudo, sem ser consequência dela; 2) estar associada ao desfecho (associação causal ou não) independentemente da exposição em estudo. Por exemplo, ao estudarmos a associação entre consumo de cafeína e a ocorrência de câncer de pulmão, verificamos a existência de uma associação, ou seja, o risco relativo ou o “odds ratio” é maior do que um. Neste caso a associação pode estar sendo confundida pelo verdadeiro fator de risco, o tabagismo. Vejamos, o tabagismo está associado ao câncer de pulmão (é um fator de risco conhecido) e também está associado ao hábito de tomar café, porém não é consequência dele.

Existem algumas maneiras de controlar os fatores de confusão, uma delas é na fase de delineamento do estudo: 1) conduzir um experimento de forma a selecionar o grupo de estudo e o de comparação de forma aleatória; 2) pareamento de casos e controles pelas variáveis que sabidamente são fatores de risco para o desfecho de interesse. A outra é quando desenvolvemos a análise, nesta fase, podemos utilizar a técnica de estratificação pelas variáveis que se supõe estarem confundindo a associação encontrada, ou mediante a comparação do risco relativo ou do “odds ratio” bruto com o ajustado por técnicas de análise multivariada <sup>1</sup>(Kramer MS, 1988).

Um fator de confusão pode explicar completamente ou apenas parte da associação observada entre uma dada exposição e um desfecho, Por exemplo, se num estudo o “odds ratio” bruto é igual a 4,5 e o ajustado é 2,5, temos que parte da associação não é devida ao fator de confusão estudado. Com alguma frequência a variável de confusão pode representar um conjunto de variáveis/características quando se fala, por exemplo, em *status* socioeconômico, esta variável pode incluir educação, condições habitacionais e acesso a serviços, outro exemplo seria estilo de vida que pode abranger hábitos alimentares, atividade física e consumo habitual de álcool e tabaco <sup>12</sup> (Szklo & Nieto 2007).

## **Bibliografia**

- 1- KRAMER, M.S. **Clinical epidemiology and biostatistic. A primer for clinical investigators and decision-maker**. Berlin: Ed. Springer-Verlag, 1988, p. 286.
- 2- PORTA M. **A dictionary of epidemiology**. Fifth edition, New York: Oxford University Press, 2008.
- 3- HENNEKENS, C.H. & BURING, J.E. **Epidemiology in Medicine**. Boston: Little, Brown and Company, 1987, p. 383
- 4- NÁJERA, E. **Usos y perspectivas de la epidemiologia en la investigacion**. In: Organización Panamericana de la Salud. *Usos y perspectivas de la epidemiologia: documentos de Seminario*. Washington, D.C., Organização Pan-americana de Saúde: 1984. p.109-129.
- 5- ROSEN, G. **Uma história da Saúde Pública**. 3ª Edição. São Paulo: UNESP/HUCITEC/ABRASCO, 2006, p. 96-97.
- 6- SCLIAR M, ALMEIDA FILHO, N & MEDRONHO R. Raízes históricas da epidemiologia. In: ALMEIDA FILHO, N & BARRETO ML. **Epidemiologia & Saúde: Fundamentos, Métodos, Aplicações**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2012. P. 5-23.
- 7- LANGMUIR AD. Willian Farr: founder of modern concepts of surveillance. **Int. J. Epidemiol.** V 5, p. 13-18, 1976.
- 8- SNOW, J. **Sobre a maneira de transmissão da cólera**. 2ª Edição brasileira, São Paulo: Hucitec/Abrasco, 1999.
- 9- DOLL, R.; HILL, A.B. Lung cancer and other causes of death in relation to smoking; a second report on the mortality of British doctors. **Br. Med. J.** v 2(5001), p.1071-81, 1956.
- 10- DOLL, R.; HILL, A.B. Mortality in relation to smoking: 10 years observation of British doctors. **Br. Med. J.** v 1(5396), p.11460-7.



- 11- HULLEY, S.B.; CUMMINGS, S.R.; BROWNER, W.S.; GRADY, D.; HEARST, N.; NEWMAN, T.B. **Delineando a pesquisa clínica. Uma abordagem epidemiológica.** Tradução: Michael Schmidt Duncan e Ana Rita Peres. 3ª edição, Porto Alegre: Artmed, 2007.
- 12- SZKLO, M. & NIETO, F.J. **Epidemiology: beyond the basics.** 2<sup>nd</sup> Edition: Gaithersburg, Maryland : Aspen Publishers, Inc., 2007.
- 13- GORDIS, L. **Epidemiology.** W.B. 3<sup>rd</sup> Edition: Philadelphia: Saunders Company, 2009.
- 14- COSTA AJL & KALE PL. Medidas de frequência de doenças. In: Medronho et al. **Epidemiologia.** 2ª Edição, São Paulo: Atheneu, 2009. Cap. 2, Pág 13-31.
- 15- LAURENTI, R; MELLO JORGE, MHP; LEBRÃO, ML & GOTLIEB, SL. **Estatísticas de Saúde.** 2ª edição. São Paulo: Editora Pedagógica e Universitária LTDA., 2005. Cap. 7, Pág 133-142.
- 16- ROTHMAN, K.J. **Epidemiology. An Introduction.** New York: Oxford University Press, 2002.
- 17- ALMEIDA FILHO N, CASTIEL LD, Ayres JR. Risco: Conceito básico da epidemiologia. In: ALMEIDA FILHO, N & BARRETO ML. **Epidemiologia & Saúde: Fundamentos, Métodos, Aplicações.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012. Cap 5, Pág. 43-54.
- 18- MULHOLLAND, K. et al. Randomised trial of Haemophilus influenzae type-b tetanus protein conjugate for prevention of pneumonia and meningitis in gambian infants. **Lancet** v 349, p.1191-97, 1997.
- 19- ANDERSON, F.A. Jr; WHEELER, H.B.; GOLDBERG, R.J., et al. A population-based perspective of the hospital incidence and case-fatality rates of deep vein thrombosis and pulmonary embolism. The Worcester DVT W Study. **Arch. Intern. Med.**, v 151, p. 933-938, 1991.
- 20- MARSHALL, L.M; SPIEGELMAN, D.; BARBIERI, R.L., et al. Variation in the incidence of uterine leiomyoma among premenopausal women by age and race. **Obstet. Gynecol.**, v 90: 967-73, 1997.
- 21- SCHENKEN, J.R. Letter. Hepatocellular adenoma: relationship to oral contraceptives? **JAMA.** v 236(6): 559, 1976.
- 22- ROOKS, J.B.; ORY, H.W.; ISHAK, K.G. et al. Epidemiology of hepatocellular adenoma: the rule of oral contraceptive use. **JAMA**, v 242, p. 644-648, 1979.
- 23- CENTERS for DISEASE CONTROL and PREVENTION. Pneumocystis pneumonia: los Angeles. **MMWR**, v 30, p. 250-252, 1981.

- 24- HARRISON, L.H., SIMONSEN V.; WALDMAN EA. Brazilian Purpuric Fever: Emergence and Disappearance of a Virulent Clone of *Haemophilus influenzae* biogroup aegyptius. **Clin. Microbiol. Rev.**, v 21(4), p. 594-605, 2008.
- 25- WALDMAM, E.A. Vigilância como prática de saúde pública. In: Campos, GWS, Minayo, MCS, Akerman, M, Drumond Júnior, M e Carvalho, YM (orgs). **Tratado de Saúde Coletiva**. São Paulo-Rio de Janeiro: Hucitec-Fiocruz. 2006. Cap 15, Pág. 487-528.
- 26- RODRIGUES L.C. & SMITH P.G. Use of the case-control approach in vaccine evaluation: efficacy and adverse effects. **Epidemiol. Rev.**, v 21(1), p. 56-72, 1999.
- 27- BARRETO ML, RODRIGUES LC, CUNHA SS, PEREIRA S, HIJJAR MA, ICHIHARA MY, DE BRITO SC, DOURADO I. Design of the Brazilian BCG-REVAC trial against tuberculosis: a large, simple randomized community trial to evaluate the impact on tuberculosis of BCG revaccination at school age. **Control. Clin. Trials.**, v 23(5), p.540-53, 2002.
- 28- JAIME PC; MACHADO FMS; WESTPHA MF; MONTEIRO CA. Educação nutricional e consumo de frutas e hortaliças: ensaio comunitário controlado. **Rev. Saúde Pública**. v 41(1):154-7, 2007.
- 29- CLEMENS JD, NACIFY A, RAO MR, KOO H. Long term evaluation of vaccine protection: Methodological issues for phase III and IV studies. In: Levine MM, Kaper JB, Rappuoli R, Liu MA, Good MF. **New generation vaccines**. 3<sup>rd</sup> Edition. New York: Marcel Dekker Inc, 2004. Cap 4, p.29-48.
- 30- ESCOSTEGUY CC. Estudos de Intervenção. In: Medronho et al. **Epidemiologia**. 2<sup>a</sup> Edição. São Paulo: Atheneu, 2009. Cap 13, Pág.251-263.