● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل، سال اول، شمارهٔ ۴، صفحه ۱۹ الی ۲۵ ، پائیز ۱۳۷۸

شیوع کمبود G6PD در نوزادان زنده متولد شده شهرستان بابل (۱۳۷۴)

دکتر یدا.. زاهدپاشا
فوق تخصص نوزادان، استادیار دانشگاه علوم پزشکی بابل

سابقه و هدف: کمبود آنزیم G6PD شایعترین نقص آنزیم در انسان می‌باشد. در نوزادان باعث یرقان شدید، کرن ایکتروس و مرگ و در سایر سنین در اثر مصرف باقلا و برخی مواد شیمیائی باعث همولیز شدید و حتی مرگ میگردد. این مطالعه به منظور تعیین شیوع کمبود G6PD از طریق خون بند ناف انجام گردید.

مواد و روشها: این تحقیق به شیوه توصیفی تحلیلی روی ۲۰۳۶ نوزاد انجام گردید. نمونه ها از خون بند ناف گرفته شدند. با روش فلئورسنت لکه‌ای (FST) فعالیت آنزیم در سه سطح کافی (S)، ضعیف نسبی (D) و بسیار ضعیف (SD) بررسی شد و ضعیف نسبی و بسیار ضعیف (D,SD) کمبود آنزیم تلقی گردید. داده‌ها با استفاده‌از روش آماری Chi-square و یا Fisher Exact مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و اختلاف با $p<0/05$ در داده‌ها، معنی دار تلقی شد.

یافته ها: از ۲۰۳۶ نمونه مورد آزمایش ۱۰۲۵ مورد پسر(۵۰/۵٪) و ۱۰۱۱ مورد دختر(۴۹/۵٪) بودند. ۱۲/۵ درصد پسران و ۳/۱ درصد دختران و در کل ۸/۷ درصد موالید زنده مبتلا به کمبود آنزیم بودند. بین‌سابقه خانوادگی مثبت و ابتلا نوزادان مذکر رابطه وجود داشت($p<0/005$). همچنین بین نقص G6PD در بستگان درجه اول با ابتلا نوزاد رابطه معنی داری وجود داشت ($p<0/001$).

نتیجه گیری: براساس نتایج بدست آمده شیوع کمبود G6PD در پسران بیش از دختران بوده و رابطه بین سابقه خانوادگی مثبت در پسران معنی دار است. شیوع آن در دختران با توجه باینکه از طریق ژن وابسته به جنس مغلوب منتقل می‌گردد زیاد می‌باشد(۳/۱٪). با توجه به یافته‌های این پژوهش میتوان گفت که استفاده از نمونه خون بندناف، راه مناسبی در غربالگری کمبود G6PD است.

واژه‌های کلیدی: نوزاد، خون بند ناف، نقص G6PD، غربالگری، یرقان.

مقدمه

کمبود G6PD شایعترین نقص آنزیم در انسان می‌باشد(۱). بطور کلی علت مهم یرقان نوزادی است که میتواند منتج به مرگ، کرن ایکتروس یا فلج مغزی گردد. در کودکان و سنین بعدی با تداخل بعضی از داروها و مصرف باقلا میتواند حمله همولیز تهدیدکننده حیات ایجادنماید (۲و۱). این نقیصه از طریق ژن وابسته به جنس (X) معیوب به ارث میرسد. بیشتر مبتلایان جنس مذکر هموزیگوت (XY)بوده ولی در جنس مؤنث هموزیگوت (XX) نیز عارضه شدید خواهد بود. جنس مؤنث هتروزیگوت معمولاً سطح

این طرح پژوهشی در قالب طرح تحقیقاتی شمارهٔ ۱۳۷۴۶ از اعتبارات معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی بابل تأمین شده است.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1378.1.4.3.4]

آنزیم متوسطی بین یک مرد مبتلا و مرد سالم را داراست. در جنس مؤنث هتروزیگوت اگر مطابق تئوری Lyon کروموزم X سالم غیرفعال گردد تظاهر بیماری شدید خواهد بود(۳و۴). شیوع آن در مردهای سفیدپوست آمریکائی ۲۰٪، مردان سیاهپوست آمریکائی ۸٪ ، چین ۴/۵٪، مالی ۳/۵٪ ، هند ۱/۵٪ و در عربستان سعودی ۱۸٪ گزارش شده است (۵و۶).

در یک مطالعه انجام شده در بیمارستان کودکان امیرکلا (بابل) ۲۵٪ نوزادان مبتلا به زردی بستری شده همزمان به نقص آنزیم G6PD نیز مبتلا بودند که ۴۰٪ آنها تعویض خون گردیده‌اند(۷).

در بررسی دیگر انجام شده در همان بیمارستان تعداد مراجعین مبتلا به همولیز ناشی از مصرف باقلا در ۲ ماه اردیبهشت و خرداد سالهای ۱۳۷۲ تا ۱۳۷۴به تعداد ۱۴۸ نفر بوده است(۸). هر دو عارضه نقص G6PD یعنی یرقان نوزادان و همولیز شدید ناشی از فاویسم تهدیدکننده بهداشت عمومی و معضل اجتماعی می‌باشند. لذا با تشخیص زودرس این نقیصه و تعلیم و بالا بردن اطلاعات مردم در این زمینه میتوان گامهای مؤثری در ارتقای کیفی مراقبت‌های اولیه بهداشتی برداشت (۱و۲).

با عنایت به مراتب فوق برآن شدیم تا از طریق خون بند ناف نوزادان زنده متولد شده، این مطالعه را با اهداف تعیین شیوع G6PD به تفکیک سطح فعالیت آنزیم، جنس، همبستگی فامیلی انجام دهیم.

مواد و روشها

این بررسی به روش توصیفی تحلیلی صورت گرفت. تمامی نوزادان زنده متولد شده بصورت نمونه‌گیری آسان وارد مطالعه گردیدند .حجم نمونه با سطح اشتباه ۲٪ و سطح اطمینان ۹۵٪ و شیوع ۳۰٪، ۲۰۱۷ محاسبه گردید که در طی مدت ۶ ماه ۲۰۴۶ نوزاد مورد بررسی قرار گرفتند. روش گردآوری اطلاعات از طریق مشاهده، مصاحبه و یافته‌های آزمایشگاهی بود.

داده‌ها ابتدا در جداول اولیه وارد شدند پس از ورود داده‌ها به جداول توخالی از پیش تعیین شده جهت فراوانی و علل آماری، آنالیز توسط تست‌های Fisher Exact , chi-square صورت گرفت.p.value کمتر از ۰/۵ معنی دار میشود.

جهت ارزیابی تمامی مراحل پروژه از قبیل پرسشنامه‌ها، تست‌های آزمایشگاهی، جداول توخالی و پاسخگویی تستهای آماری، مطالعه راهنما و پیش آزمون در طی ۱۵ روز انجام شد و پس از رفع نقایص موجود مطالعه وارد مرحله اصلی خود گردید.

شرح عملیات اجرائی بترتیب زیر بوده‌است:

در اتاق زایمان عاملین زایمان وظیفه داشتند که نمونه خون بند ناف را در ظرف سیتراته ریخته و سپس در یخچال تا زمان انتقال به آزمایشگاه حفظ نمایند.

پرسشنامه‌های مربوط توسط عاملین زایمان تکمیل و در دفاتر اطلاعات مورد نیاز ثبت می‌شوند (عاملین زایمان عملیات فوق را در اتاق زایمان واطاق عمل انجام می‌دادند). روزانه پژوهشگران اصلی نمونه‌ها را به آزمایشگاه انتقال داده و هر سه روز نتایج آزمایش را جمع آوری می‌نمودند. (عمل انتقال نمونه‌های خون هر روزه از سه مرکز درمانی بیمارستان شهید یحیی‌نژاد، بیمارستان مازیار، بیمارستان بابل کلینیک انجام میشد).

فعالیت G6PD به روش فلئورسنت لکه‌ای مورد بررسی قرار میگرفت.[1]

این روش بعنوان اختصاصی‌ترین و قابل اعتمادترین[2] روش اندازه‌گیری آنزیم G6PD معرفی شده است (۹).

امتیاز این روش این است که با حجم بسیار کم خون حدود ۱۰ میکرومتر یا یک قطره خون روی کاغذ صافی مخصوص قابل انجام می‌باشد. نتایج منفی کاذب در این تست بسیار نادر و کمتر از ۲ در هزار بوده و مثبت کاذب

۱- flurecent spote test

۲- reliable

[DOR: 20.1001.1.15614107.1378.1.4.3.4]

فقط در زنان هتروزیگوت و مردان هموزیگوت پس از خونریزی‌های شدید بعلت ورود تعداد گلبولهای قرمز جوان فراوان پس از خونریزی می‌باشد.

اصول آزمایش

آنزیم G6PD در محیط تامپونی مناسب باعث احیای NADP[1] و تبدیل آن به NADPH[2] میگردد.

NADPH بوجود آمده زیر لامپ ماوراً بنفش (UV)[3] با طول موج ۳۶۵ نانومتر ایجاد فلئورسانس میکند. این فلئورسانس در خون افراد سالم زیاد و در خون افراد مبتلا به نقص آنزیم G6PD ضعیف یا منفی است. در نهایت بازتاب نوری و فعالیت آنزیمی را میتوان به سه گروه تقسیم نمود:

۱ - فلئورسانس قوی بمعنی آنزیم کافی (S)[4] می‌باشد.

۲ - فلئورسانس ضعیف بمعنی کمبود (ضعف) نسبی آنزیم (D)[5] می‌باشد.

۳ - فلئورسانس منفی بمعنی فعالیت بسیار ضعیف آنزیم (SD)[6] می‌باشد.

برای اطمینان از کیفیت کار و کنترل کیفی از روش زیر استفاده گردید:

سه نمونه خون با فعالیت آنزیمی کافی، ضعف نسبی، و بسیار ضعیف به ترتیب زیر تهیه گردید:

الف: خون فرد سالمی با هموگلوبین ۱۵ - ۱۴ گرم درصد را بعنوان نمونه طبیعی انتخاب شد، این نمونه دارای فعالیت آنزیمی حدود صددرصد (کافی) و فلئورسانس قوی خواهد بود.

ب : بخشی از خون فوق (الف) را در لوله سربسته‌ای بمدت ۲۰ دقیقه ۵۶ درجه سانتیگراد حرارت داده، این نمونه خون که فعالیت آنزیمی آن بسیار ضعیف شده و فاقد فلئورسانس بود،بعنوان نمونه منفی (بسیار ضعیف) بکار گرفته شد (SD).

د : با اختلاط حجم مساوی از خونهای بند الف و ب نمونه با فعالیت آنزیمی ۵۰٪ تهیه شد که این نمونه فلئورسانس ضعیف داشته و بصورت نمونه (ضعف نسبی) تلقی گردید (D).

هرسه نمونه فوق را درکنار هم آزمایش نموده و شدت فلئورسانس آنها بررسی و مقایسه گردید .

درصورت لزوم با مخلوط کردن حجم مساوی از خون های بند الف و د و همچنین در خون‌های بند ب و د به ترتیب نمونه‌هائی با فعالیت آنزیمی ۷۵٪، ۲۵٪ تهیه و شدت فلئورسانس آنها نیز قابل مقایسه بود.

در نهایت نمونه بسیار ضعیف (SD) و ضعف نسبی (D)بعنوان کمبود آنزیم تلقی گردید.

یافته‌ها

در این بررسی ۲۰۴۶ نوزاد زنده متولد شده تحت مطالعه قرار گرفتند که ۱۰۳۵ نوزاد پسر و ۱۰۱۱ نوزاد دختر بودند.

جدول ۱، توزیع فراوانی آنزیم G6PD را به تفکیک جنس و سطح فعالیت آنزیم نشان می‌دهد. در ۱۲/۵٪ پسرها و ۴/۱٪ دخترها نقص آنزیم G6PD (D,SD)وجود داشته و همبستگی معنی داری بین شیوع نقص فعالیت آنزیم در دو جنس وجود دارد (P<۰/۰۰۱). از نظر شیوع نقص آنزیم و سابقه خانوادگی در بستگان درجه اول (مادر، پدر، برادر و خواهر)، جدول ۲ توزیع فراوانی و همبستگی خانوادگی را در این پژوهش نشان می‌دهد. همانطوریکه در جدول ملاحظه میگردد. ۲۲/۵٪ نمونه‌های با سابقهٔ خانوادگی مثبت، نقص آنزیم داشتند (SD,D)؛ در حالیکه فقط ۸٪ نمونه‌ها با سابقه خانوادگی منفی سطح فعالیت آنزیم کاهش یافته داشتند، (SD,D)،که

۱- nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

۲- NADPH: (reducted of NADP)

۳- ultra violet ۴- sufficient

۵- deficient ۶- severe deficient

[DOR: 20.1001.1.15614107.1378.1.4.3.4]

از این نظر ارتباط آماری معنی‌داری بین فعالیت آنزیم و سابقه خانوادگی را نشان داده است (P<۰/۰۰۵). از نظر شیوع نقص آنزیم در جنس مؤنث و سابقهٔ خانوادگی ابتلا به نقص G6PD در بستگان درجه اول جدول ۳ این رابطه رانشان میدهد.

همانطوریکه ملاحظه می‌شود ۹/۴٪ دختران مبتلا به نقص G6PD سابقهٔ خانوادگی مثبت در بستگان درجه اول را داشته که این رقم در دختران مبتلا به نقص آنزیم با سابقهٔ خانوادگی منفی ۳/۹٪ بوده است. یافته‌های فوق همبستگی معنی داری بین ابتلا جنس دختر و سابقهٔ خانوادگی ابتلا به نقص G6PD را نشان نمی‌دهد.

درخصوص نقص آنزیم G6PD و سابقهٔ خانوادگی ابتلا به کمبود آنزیم در جنس مذکر جدول ۴ نمایشگر این رابطه می‌باشد.

همانگونه که ملاحظه می‌گردد ۴۷/۱٪ نمونه‌های پسرمبتلا به نقص G6PD سابقهٔ مثبت ابتلا خانوادگی را داشته‌اند اما ۱۱/۹٪ نمونه‌های پسر مبتلا به نقص G6PD سابقهٔ خانوادگی نداشته و یافته‌های مربوطه همبستگی معنی داری بین ابتلا به نقص G6PD در پسران و سابقهٔ خانوادگی را نشان داده‌اند (p<۰/۰۰۱).

جدول ۱. توزیع فراوانی G6PD به تفکیک جنس و سطح فعالیت آنزیم در خون بندناف نوزادان زنده متولدشده شهرستان بابل-۱۳۷۴

سطح فعالیت آنزیم	مرد	زن
کافی	۹۰۶(٪۸۷/۵)	۹۷۰(٪۹۵/۹)
ضعف نسبی	۹(٪۰/۹)	۱۹(٪۱/۹)
نسبتاً ضعیف	۱۲۰(٪۱۱/۶)	۲۲(٪۲/۲)
جمع	۱۰۳۵	۱۰۱۱

(χ^2 = ۷۳/۵ ،p< ۰/۰۰۱)

جدول ۲. توزیع فراوانی و همبستگی خانوادگی ابتلا به G6PD-d دربستگان درجه اول نوزادان زنده متولدشده در شهرستان بابل-۱۳۷۴

سطح فعالیت آنزیم G6PD	سابقه‌خانوادگی G6PD-d دارد	سابقه‌خانوادگی G6PD-d ندارد
کافی	۳۸(٪۷۷/۵)	۱۹۳۸(٪۹۲)
ناکافی	۱۱(٪۲۲/۵)	۱۵۹(٪۸)
جمع	۴۹	۱۹۹۷

سابقه کمبود آنزیم G6PDدر بستگان درجه یک مدنظر می باشد.

(χ^2 = ۱۳/۳ ،p< ۰/۰۰۵).

جدول ۳. توزیع فراوانی و همبستگی خانوادگی ابتلاء به G6PD-d در بستگان درجه اول نوزادان مؤنث متولد شده درشهرستان بابل - ۱۳۷۴.

سابقه خانوادگی	مرد		زن	
	بیمار	سالم	بیمار	سالم
مثبت	۸(٪۴۷/۱)	۹(٪۵۲/۹)	۳(٪۹/۴)	۲۹(٪۹۰/۶)
منفی	۱۲۱(٪۱۱/۹)	۸۹۷(٪۸۸/۱)	۳۸(٪۳/۹)	۹۲۱(٪۹۶/۱)
ارزش P	p<۰/۰۰۱		NS	

NS: Not-Significant

[DOR: 20.1001.1.15614107.1378.1.4.3.4]

بحث

در بررسی ما شیوع کمبود آنزیم G6PD (SD,D) در جنس مذکر ۱۲/۵٪ و جنس مؤنث ۴/۱٪ و بدون در نظرگرفتن جنس یعنی در کل موالید زنده ۸/۷ درصد بوده است. استفاده از روش فلئورسنت لکه‌ای (FST) در مقابل سایر روش‌ها قابل اعتماد، ساده و ارزان می‌باشد توصیه‌می‌شود که انجام آزمایشات از زمان نمونه‌گیری تا حداکثر دو هفته و بدون مواجهه نمونه با حرارت و رطوبت بالا انجام گیرد(۹). تست ها در این بررسی حداکثر هر ۳ روز انجام می‌گرفت. در یک بررسی دو روش فلئورسنت لکه‌ای و متد کالری متری در غربالگری مورد مقایسه گرفت که روش FST مفیدتر تشخیص داده شد(۱۰).

در یک مطالعه که در آن حدود ۱۰۰۰ نوزاد از نظر نقص آنزیم G6PD غربالگری گردید، شیوع در کل موالید ۳/۹٪ (۵٪ پسرها۲/۸٪ دخترها) بوده که ۴۸ درصد نوزادان با نقص G6PD به یرقان نوزادی مبتلا گشتند(۱۱). در سنگاپور با هدف پیشگیری اولیه از معلولیت برنامه واکسیناسیون، غربالگری G6PD و هیپوتیروئیدی در نوزادان همگانی اعلام گردید(۱۲). در پژوهش دیگر دو گروه نوزادان سالم و مبتلا به یرقان را از نظر G6PD غربالگری نمودند که ۳۵/۱٪ نوزادان زرد و ۶/۴٪ نوزادان سالم به نقص G6PD مبتلا بودند (۱۳). در یک بررسی انجام شده ۱۴۷۸ نوزاد مبتلا به زردی از نظر G6PD غربالگری بعمل آمد. در نتیجه ۵/۶٪ پسرها و ۲/۲٪ دخترها مبتلا به نقص این آنزیم بودند. محققین فوق با عنایت به اینکه شیوع در دخترها را غیرمنتظره و زیاد قلمداد نموده، پیشنهاد نمودند که کلیه نوزادان زرد بدون در نظر گرفتن جنس از نظر G6PD مورد آزمایش قرار گیرند (۴). در مطالعه دیگر با توجه باینکه نوزادان مبتلا به نقص G6PD آمادگی ابتلا به یرقان شدید و کرن ایکتروس و مرگ در موارد نادر عفونت باکتریائی را دارند ، غربالگری G6PD همراه با غربالگری عمومی بیماری‌های ارثی آن منطقه بعمل آمد که از ۳۴۰۰۰ نوزاد غربالگری بعمل آمده ۱۸/۴٪ (۲۴٪ پسر، ۱۱/۸٪ دختر) مبتلا به کمبود G6PD بودند در نتیجه محققین غربالگری همراه با برنامه آموزش همگانی را برای آن ناحیه از دنیا پیشنهاد نمودند (۳). نتیجه یک بررسی چنین گزارش گردید که نوزادان پسر مبتلا به G6PD ۲/۳ برابر نوزادان سالم به یرقان مبتلا می‌شوند (۱۴). مطالعه انجام شده در عربستان سعودی نشان داده است که شیوع و شدت یرقان در نوزادان ترم مبتلا به نقص G6PD از نوزاد سالم بیشتر بوده (۳۴٪ در مقایسه با ۹٪) و تعدادی از نوزادان مبتلا، نیاز به تعویض خون پیدا کردند. لذا برای جلوگیری از کاهش موربیدیته و مرگ و میر ناشی از آن پیشنهاد غربالگری از خون بندناف را برای کلیه نوزادان نمودند (۱۵).

باتوجه باینکه این نقیصه از طریق ژن وابسته به X به ارث میرسد و بررسیهای متعدد انجام شده شیوع آن را در دختران بترتیب ۲/۲٪، ۱۱/۸٪، ۲/۸٪، ۱/۸٪،گزارش نمودند (۱۶و۱۱و۷و۴) و در این بررسی نیز شیوع در دختران ۴/۱٪ بوده است، لذا بدون در نظر گرفتن جنس و سابقه فامیلی پیشنهاد می‌شود برای شناخت سریع این نقیصه

[DOR: 20.1001.1.15614107.1378.1.4.3.4]

ارثی و تعلیم و آگاه نمودن خانواده‌ها جهت پیشگیری از عوارض جدی آن کلیه نوزادان اعم از پسر و دختر از طریق خون بند ناف غربالگری گردند.

تشکر و قدردانی

در خاتمه از جناب آقای دکتر محمد جعفر سلیمانی که درانجام آزمایش همکاری صمیمانه داشتند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

****

References

1. WHO Working Group, Glucose-6-Phosphate dehydrogenase deficiency. Bull World Health Organ 1989; 67(6): 601-11.

2. Mallouh AA, Imseeh G, Abu-Osba YK, Hamdan JA. Screening for glucose-6-phospate dehydrogenase deficiency can prevent severe neonatal Jaundice. Ann Irop Paediatr 1992; 12(4): 391-5.

3. Meloni L, Forteleoni G, Meloni GF. Marked decline of favism after neonatal glucose-6-phosphate dehydrogenase screening and health education: the northern sardinian experience. Acta Haematol 1992; 87(1-2): 29-31.

4. Leung AK. Screening of Jaundiced neonates for glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. South Med J 1987; 80(2):217-8.

5. Hon At, Balakrishnan S, Ahmad Z. Hyperbilirubinaemia and erythrocytic glucose 6 phosphate dehydrogenase deficiency in Malaysian children. Med J Malysia 1989; 44(1): 30-4.

6. Abu-Osba YK, Mallouh AA, Hann RW. Incidence and causes of sepsis in glucose-6-phosphate J Pediatr 1989; 114(5): 748-52.

۷ – بنی هاشم ص، بررسی شیوع هیپربیلیروبینمی در نوزادان بستری شده در بیمارستان کودکان امیرکلا، رساله پایان نامه تخصصی کودکان، شمارهٔ ۶، ۱۳۷۱.

۸ – ازگمی ف، بررسی کودکان مبتلا به فاویسم در بیمارستان کودکان امیرکلا(۱۳۷۴)، رساله پایان نامه دکتری پزشکی، ۱۳۷۵:۲۵.

9. Missiou-isagaraki S. Screening for glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency as a preventive measure: prevalence among 1,286,000 greek newborn infants. J Pediatr 1991; 119(2): 293-9.

10. Lyen kk. Prevention of intellectual and other disabilities: the Singapore experience. Aia Pac J Public Health 1989; 3(4): 278-84.

11. Verma M, Singla D, Crowell SB. G6PD deficiency in neonates: a Prospective study. Indian J Pediatr 1990; 57(3): 385-8.

12. Abdalla SH, Phelan L, Hussein HA. The Value of screening test for glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency Clin Lab Haematol 1990; 12(1): 77-88.

13. Madan N, Sundaram KR, Bhargava SK, Sood SK. Glucose- 6- Phosphate dehydrogenase deficiency & neonatal hyperbilirubinaemia. Indian J Med Res 1989; 90: 306-13.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1378.1.4.3.4]

14. Gonzalez-Quiroga G, Ramirez-del-Rio JL, Ortiz-Jalomo R. Jaundiced newborn infants in the metropolitan area of monterrey, Nuevo Leon. Arch Invest Med Mex 1990; 21(3): 223-7.

15. Yaish-HM, Niazi GA, al-Shaalan M, Khan S, Ahmed GS. Increased incidence of hyperbilirubinaemia in "unchllenged" glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in term Saudi newborns. Ann Irop Paediatr 1991; 11(3): 259-66.

16. Aksu IA, Esen F, Dotunay MS, Aticiguzel Y, Yucel G, Cali S, Baykal Y. Erythrocyte glucose-6- phosphate dehydrogenase (1.1.1.49) deficiency in Antalya province, lurkey: an epidemiologic and biochemical study. Am J Epidemiol 1990; 131(6): 1094-7.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1378.1.4.3.4]