

انواع مطالعات اپیدمیولوژیک (۲)*

دکتر بتول شریعتی

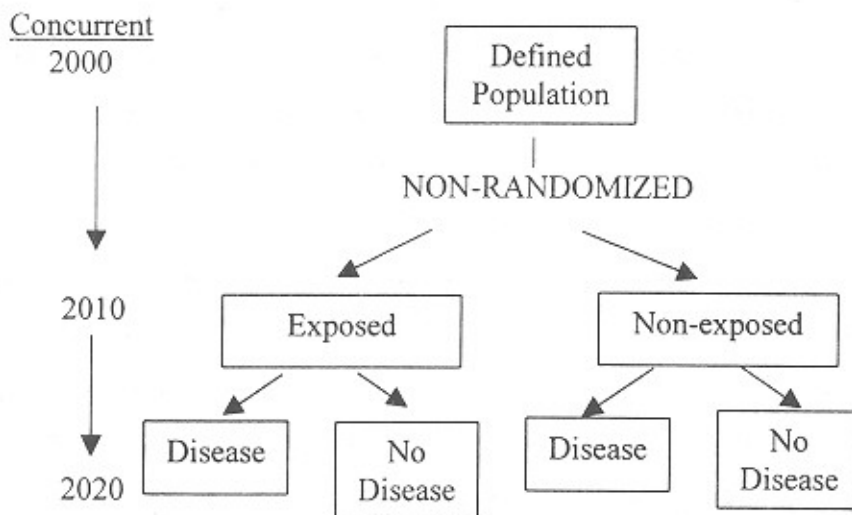
استادیار گروه آموزشی پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران

مطالعه کوهورت (Cohort)

در سطوح مختلف مواجهه، با یکدیگر مقایسه شود (۱-۴). این مطالعه یکی از مهمترین و قویترین انواع مطالعات مشاهده‌ای است و با توجه به این که در این مطالعه بروز بیماری قابل اندازه‌گیری است، به آن مطالعه بروز (Incidence Study) نیز می‌گویند. مطالعه کوهورت به مطالعه Prospective، Longitudinal، Follow up نیز معروف است که البته در بعضی مطالعات دیگر نیز هر سه حالت کاربرد دارد. شمای کلی این مطالعه مطابق شکل ۱ است. مراحل اصلی یک مطالعه کوهورت عبارتند از:

۱- تدوین یک فرضیه واضح

مطالعه کوهورت، مطالعه‌ای تحلیلی است که در آن گروهی از افراد با یک عامل خطر مواجهه دارند و گروه دیگری مواجهه ندارند و این دو گروه برای مدت زمانی مورد پیگیری قرار می‌گیرند و بروز بیماری در گروه اول با گروه دیگر مقایسه می‌شود. کوهورت یک لغت لاتین و به معنی هم‌گروه مشابه است؛ به عنوان مثال افراد متولدشده در یک سال شمسی را کوهورت سنی می‌گویند. در این مطالعه عامل (عوامل) خطر می‌تواند به صورت سطوح مختلف مواجهه در نظر گرفته شوند و پس از پیگیری، بروز بیماری



شکل ۱- شمای یک مطالعه کوهورت که در سال ۲۰۰۰ شروع می‌شود (۵).

* قسمت اول این مقاله - انواع مطالعات اپیدمیولوژیک (۱) - در دوره ۱۴، شماره ۳، سال ۱۳۸۰ به چاپ رسیده است.

۲- مشخص کردن گروه‌هایی که تحت مطالعه قرار می‌گیرند.

۳- تعریف مواجهه و چگونگی اندازه‌گیری آن

۴- تعریف و اندازه‌گیری متغیرهای مخدوش‌کننده

۵- تعریف پیامد و اندازه‌گیری آن

۶- تجزیه و تحلیل داده‌ها

۷- تفسیر نتایج

۱- تدوین فرضیه

لازم است قبل از انجام مطالعه کوهورت، فرضیه تحقیق به صورت یک فرضیه روشن و قابل اجرا تدوین شود. از آنجایی که این مطالعه، به صرف وقت و هزینه زیاد نیاز دارد، بهتر است قبل از شروع آن، فرضیه مورد نظر با انواع دیگر مطالعات مشاهده‌ای (مثل مقطعی یا مورد شاهدهی) آزمون شده باشد.

۲- انتخاب افراد مورد مطالعه

در مطالعه کوهورت گروهی از افراد انتخاب و سپس به دو دسته دارای مواجهه (Exposed) و بدون مواجهه (Unexposed) تقسیم می‌شوند. نکته مهم این است که، در شروع این مطالعه تمام افرادی که وارد مطالعه می‌شوند، باید عاری از پیامد یا بیماری مورد نظر باشند؛ برای مثال اگر قرار است این مطالعه روی رابطه سیگار و بیماری قلبی- عروقی انجام شود، تمام افرادی که وارد مطالعه می‌شوند، باید از نظر بیماری قلبی- عروقی، مورد معاینه قرار گیرند و افراد بیمار از مطالعه خارج (Exclude) شوند. مواجهه با عامل خطر را می‌توان به صورت کمی پیوسته (Continuous) نیز در نظر گرفت؛ به عنوان مثال تعداد سیگار مصرفی در روز و یا مدت زمان شیردهی و غیره. کمتر پیش می‌آید که افراد مورد مطالعه به صورت دو گروه کلی دارای مواجهه و بدون مواجهه تقسیم‌بندی شوند. در نظر گرفتن مواجهه به صورت سطوح مختلف، این امکان را به محقق می‌دهد تا اثر افزایش مواجهه را بر روی

وضعیت بیماری به دست آورد؛ به عبارت دیگر روند (Trend) بیماری در اثر افزایش یا کاهش مواجهه را مشخص نماید؛ به عنوان مثال نتیجه بگیرد که با افزایش مصرف سیگار در روز، خطر ابتلا به بیماری قلبی نیز افزایش یافته است. به این رابطه «مواجهه- واکنش» یا (Exposure- Response Relationship) اطلاق می‌شود. با چنین نتیجه‌ای محقق می‌تواند علی بودن سیگار را برای ابتلا به بیماری قلبی با قدرت بیشتری مورد بحث قرار دهد. انتخاب افراد دارای مواجهه می‌تواند از منابع مختلفی صورت پذیرد. به طور کلی برخی ملاحظات مثل فراوانی مواجهه مورد مطالعه، میزان نیاز به کسب اطلاعات دقیق و کامل و نیز طبیعت سؤالات تحقیق در انتخاب افراد مورد مطالعه مؤثر است (۶). در مورد مواجهه‌های نسبتاً شایع مثل کشیدن سیگار، تعداد کافی افراد دارای مواجهه را می‌توان از کل جامعه (General Population) انتخاب نمود ولی برای موارد نادر مثل مواجهه‌هایی که به مشاغل ارتباط دارند و یا عوامل محیطی در مناطق جغرافیایی ویژه، انتخاب گروهی که با آن عامل خاص مواجه هستند، عملی‌تر است. معمولاً مطالعه کوهورت در مواقعی بیشتر قابل انجام است که مواجهه نادر باشد (Rare Exposure)؛ یعنی امکان این که افراد عادی واجد آن عامل خطر باشند، کم باشد؛ به عنوان مثال مواجهه با اشعه ایکس، نوعی مواجهه نادر در جامعه است و اگر محقق تصمیم بگیرد بر روی اثر این اشعه تحقیق کند، مطالعه روی کل افراد جامعه قدرت آماری کمی خواهد داشت؛ زیرا تعداد کمی از افراد جامعه در معرض اشعه قرار دارند، ولی با انتخاب گروهی از افراد شاغل در رادیولوژی که در مواجهه با اشعه ایکس می‌باشند دامنه وسیعی از اثرات این مواجهه را همراه با پیامدهایی که در کل جامعه نادر ولی در افراد خاص شایع هستند، به دست خواهد آورد.

۱۱۰

برای این مطالعه ضروری است. در واقع اگر پیامد مورد مطالعه نادر باشد، حجم نمونه‌ای که برای این مطالعه لازم است، به اندازه‌ای زیاد می‌شود که انجام چنین مطالعه‌ای غیر عملی می‌گردد (۵).

۳- تعریف مواجهه و چگونگی اندازه‌گیری آن

لازم است مواجهه به طور واضح تعریف شود. برخی مواجهه‌ها حاد هستند و یک بار رخ می‌دهند و ممکن است، هرگز در طی زندگی فرد تکرار نشوند؛ مثل ترامای شدید در اثر تصادف رانندگی. برخی مواجهه‌ها طولانی‌مدت هستند؛ مثل مصرف سیگار یا استفاده از خمیر دندانهای حاوی فلوراید؛ مواجهه حتی می‌تواند در طی فواصل زمانی خاص باشد؛ مثل پرفشاری خون در اثر حاملگی که در یک حاملگی بروز می‌کند و پس از زایمان از بین می‌رود و ممکن است در حاملگی‌های بعدی نیز بروز کند. در جدول ۱ حالت‌های ممکن مواجهه (به عنوان مثال در مورد پرفشاری خون دوران بارداری) نشان داده شده است.

نکته حائز اهمیت در مطالعات پیگیری (Follow Up)

این است که چنانچه فردی معیارهای ورود به مطالعه را داشته و وارد مطالعه شده باشد، به علت تغییر شرایط مواجهه در طی دوره پیگیری نایستی از مطالعه خارج شود (۹۶). این نوع خروج از مطالعه منجر به نتایج تورش‌دار می‌شود؛

جدول ۱- اندازه‌گیری مواجهه‌هایی که در مطالعه کوهورت

به کار می‌روند.

اندازه‌گیری مواجهه	مثال
شدت (Intensity)	حد متوسط فشار خون
دوره (Duration)	هفته‌هایی که فرد دچار پرفشاری خون است.
تکرار (Regularity)	تعداد حاملگی‌هایی که فرد دچار پرفشاری خون شده است.
تغییرات (Variability)	دامنه فشار خون اندازه‌گیری شده

از طرف دیگر از آنجایی که پیش‌نیاز اولیه برای اعتبار یک مطالعه کوهورت، توانایی به دست آوردن اطلاعات کافی و دقیق در مورد تمام شرکت کنندگان در مطالعه، بخصوص از نظر مواجهه و پیامد است، این مطالعه، اغلب در بین گروه‌هایی اجرا می‌شود که در آنها علاوه بر وضعیت مواجهه، امکان جمع‌آوری اطلاعاتی که نیاز است نیز وجود دارد. گروه‌های خاصی که شغل ویژه‌ای دارند مثل پزشکان، پرستاران، کارگران، دانش‌آموزان، ساکنین خانه‌های سالمندان گروه‌های مناسبی برای انجام این نوع مطالعه می‌باشند.

انتخاب گروه مقایسه در مطالعه کوهورت، به دو صورت انجام پذیر است:

- در صورت انتخاب افراد بدون مواجهه از جامعه، اصطلاحاً به آن کوهورت خارجی (External Cohort) و چنانچه این افراد شاغلین بخش‌های دیگری از همان محل کار باشند، به آن کوهورت داخلی (Internal Cohort) اطلاق می‌شود (۶).

نکته حائز اهمیت انتخاب گروه‌های بدون مواجهه (شاهد) به طور مناسب و صحیح است که یکی از مشکل‌ترین جنبه‌های این مطالعه می‌باشد. مشکلی که همواره در این مطالعه مطرح است این است که آیا گروه کنترل واقعاً بدون مواجهه است یا خیر؛ برای مثال در مورد سیگار، ممکن است افراد، سیگار کشیدن را در مقطعی ترک و دوباره شروع کنند؛ یا این که شغل خود را تغییر داده باشند؛ بنابر این تعریفی که از مواجهه داشتن، می‌شود و نیز میزان صحت اندازه‌گیری آن روی انتخاب کنترل‌ها و در نهایت روی نتیجه مطالعه اثر می‌گذارد (۷).

به منظور دست یافتن به نتایجی معتبر در یک مطالعه کوهورت، لازم است تعداد زیادی از افراد مورد مطالعه به پیامد مورد نظر مبتلا شوند؛ به این ترتیب حجم نمونه زیاد

مورد مقایسه باید اطلاعات مشابه (از نظر کیفیت و کمیت) کسب شود.

۵- هر دو گروه لازم است برای پیگیری در دسترس باشند و طول دوره پیگیری برای آنها یکسان باشد.

۶- گروه‌های مقایسه‌ای چندگانه از افراد بدون مواجهه که از طرق مختلف انتخاب شده باشند، اعتبار یافته‌ها را قوت می‌بخشند (۶).

طول دوره پیگیری و یا فواصل زمانی که در مورد هر فرد باید از نظر بروز پیامد بررسی شود، به زمان پنهانی (Latency Period) بیماری مورد نظر بستگی دارد.

بیماریهایی مثل سرطان و بیماری عروق کرونر، دوره پنهانی طولانی‌تری دارند ولی برای بیماریهای حاد، دوره پنهانی چند هفته است. هر چه طول دوره پیگیری مورد نیاز بیشتر باشد، امکان دسترسی به یک پیگیری کامل مشکل‌تر خواهد بود؛ زیرا ممکن است تعدادی از افراد، از محل سکونت خود به جای دیگر بروند، شغل خود را عوض کنند، به علل دیگری فوت کنند و یا اتفاقات دیگری بیفتند؛ بنابراین لازم است مطالعه طوری طراحی شود که حداقل دارای از دست دادن افراد در دوره پیگیری (Loss to Follow Up) باشد (۷). چنانچه میزان افراد از دست رفته در مطالعه، زیاد باشد و یا افراد از دست رفته از نظر پیامد با افرادی که در مطالعه باقی مانده‌اند، تفاوت داشته باشند، اعتبار نتایج بطور جدی تحت تأثیر قرار می‌گیرد و نوعی تورش به نام تورش انتخاب (Selection Bias) ایجاد می‌شود (۶). حتی اگر زمان در نظر گرفته شده برای پیگیری خیلی طولانی باشد، معیارها و روشهای تشخیصی برای ارزیابی وجود پیامد نیز ممکن است، تغییر کند که خود مشکل‌آفرین است.

۴- اندازه‌گیری متغیرهای مخدوش‌کننده

متغیر مخدوش‌کننده متغیری است که با مواجهه

بخصوص این که در برخی موارد تغییر در مواجهه به علت بروز علائم پیامد است؛ مثلاً در مورد بررسی ارتباط نوع اکلوزن و تحلیل لثه که تعدادی از افراد مورد پژوهش دچار حساسیت دندانها شوند. (مواجهه در این مطالعه اکلوزن تروماتیک است.) خارج کردن این افراد از تجزیه و تحلیل باعث تخفیف برآورد (Underestimation) ارتباط نوع اکلوزن و تحلیل لثه می‌شود.

پتانسیل تغییر در شرایط مواجهه بر روی تعداد دفعات پیگیری اثر زیادی دارد. در صورتی که شرایط مواجهه با زمان تغییر کند، ارزیابی مجدد و مکرر مواجهه همانند ارزیابی پیامد لازم و ضروری است.

نکته دیگر آن که برای ارزیابی مواجهه بهتر است از معیارهای عینی (Objective Measures) نظیر شاخصهای بیولوژیک به جای سؤال از فرد و معیارهای ذهنی (Subjective) استفاده شود؛ به عنوان مثال چنانچه مقدر باشد می‌توان به جای سؤال درباره مصرف داروی نامشروع، متابولیت‌های آن را در ادرار اندازه گرفت تا اطلاعات صحیح‌تر و قابل اعتمادتری حاصل شود. در ذیل راهنمایی‌های لازم برای انتخاب افراد دارا و بدون مواجهه در مطالعه کوهورت ارائه شده است:

۱- افراد بدون مواجهه باید از همان منبعی که گروه مواجهه از آن انتخاب شده‌اند یا از منابع قابل مقایسه با آن انتخاب شوند.

۲- هر دو گروه مواجهه و بدون مواجهه باید در شروع مطالعه عاری از بیماری مورد نظر باشند و از نظر حساسیت نسبت به ابتلا به بیماری با یکدیگر یکسان باشند.

۳- خصوصیات اولیه (Baseline) افراد دارای مواجهه نباید به طور سیستماتیک (عمدی) با افراد بدون مواجهه تفاوت داشته باشد؛ مگر از نظر مواجهه مورد مطالعه.

۴- در مورد وضعیت مواجهه و بیماری در هر دو گروه

۵- اندازه‌گیری پیامد

یکی از مزایای مهم مطالعه کوهورت امکان ارزیابی چند پیامد به جای یک پیامد می‌باشد.

دامنه پیامدهایی که ارزیابی می‌شوند، به روش اندازه‌گیری آنها بستگی دارد. در کشورهای پیشرفته در بیشتر مطالعات از داده‌هایی که به طور عادی جمع‌آوری می‌شوند، استفاده می‌شود. این داده‌ها از ثبت موارد سرطانی، گواهی‌های مرگ و یا برخی روشهای خاص مراقبت به دست می‌آیند. در این حالت برای محقق در مورد داده‌هایی که به طور منظم جمع می‌شوند و یا در پرونده‌ها وجود دارند، محدودیت ایجاد می‌شود؛ ولی در کشورهای در حال توسعه یا زمانی که اطلاعات مرتبط به پیامد مورد نظر در سیستم جاری ثبت و مراقبت وجود ندارد، محقق می‌تواند شکلی از مراقبت را تدوین و اجرا نماید. در این حالت هر نوع پیامدی قابل اندازه‌گیری است. روش پیگیری می‌تواند به صورت آزمایشات منظم بالینی باشد یا پرسشنامه‌ای که توسط فرد مورد مطالعه تکمیل می‌شود و یا هر دوی آنها باشد. نکته اصلی در هر روشی که انتخاب می‌شود یکسان بودن روش اندازه‌گیری برای گروه مواجهه و بدون مواجهه می‌باشد و ایده‌آل آن است که قضاوت در مورد پیامد، تحت تأثیر آگاهی قبلی نسبت به وضعیت مواجهه قرار نگیرد؛ در غیر این صورت محقق دچار نوعی تورش به نام تورش اندازه‌گیری (Measurement Bias) خواهد شد. در مطالعه مشهور قلب Framingham حدود ۵۱۰۰ نفر از ساکنین ۳۰ تا ۶۲ ساله این شهر برای مدت حدود ۳۰ سال پیگیری شدند و در هر سال آزمایشات پزشکی و سایر تست‌های مربوط در مورد آنها به عمل آمد. پیامدهای مورد نظر بیماری عروق کرونر، بیماری روماتیسم قلبی، نارسایی احتقانی قلبی CHF، انژین پکتوریس، ضربه مغزی و ... بودند.

ارتباط دارد و به طور مستقل بر روی خطر ابتلا به بیماری نیز تأثیر می‌گذارد. از آنجایی که مطالعه کوهورت یک مطالعه مشاهده‌ای است؛ بنابراین محقق مواجهه را به طور تصادفی به گروههای مورد مطالعه تخصیص نمی‌دهد و این امر ممکن است باعث شود گروهها به جز مواجهه‌ای که در دست مطالعه است، با عوامل دیگری نیز روبه‌رو باشند. اهمیت این امر زمانی بیشتر می‌شود که این مواجهه، خود نیز برای بیماری یا پیامد مورد نظر عامل خطر محسوب شود؛ به عنوان مثال سن برای بدست آوردن رابطه بین سیگار و سرطان ریه یک متغیر مخدوش‌کننده بالقوه است؛ زیرا در افرادی که سن بیشتری دارند، احتمال ابتلا به سرطان ریه بیشتر است و از طرف دیگر در سن بالا طول دوره مصرف سیگار و یا حتی احتمال سیگار کشیدن هم بیشتر است. امکان حذف اثر متغیرهای مخدوش‌کننده نیز در طراحی مطالعه و همچنین در زمان آنالیز وجود دارد.

به منظور حذف اثر سن در این ارتباط، یا باید گروههای مواجهه و بدون مواجهه از نظر سن (گروه سنی) کاملاً یکسان باشند و یا در تجزیه و تحلیل آماری با انجام انطباق (Adjustment) اثر سن را حذف نمود؛ با این وجود، جمع‌آوری داده در مورد متغیرهایی که در طراحی به عنوان مخدوش‌کننده شناخته شده‌اند، ضروری است. در این مثال اگر چه محقق افراد مشابهی را از نظر گروه سنی انتخاب می‌کند ولی بایستی داده‌های مربوط به سن افراد حتماً ثبت شود و یک بار دیگر در آنالیز اثر سن در نظر گرفته شود. به این ترتیب شناخت کامل عواملی که روی پیامد و مواجهه اثر می‌گذارند و اندازه‌گیری آنها در هنگام انجام تحقیق برای حصول نتایج صحیح و معتبر مهم و لازم است. در اینجا یک بار دیگر اهمیت تدوین یک پیش‌نویس تحقیق (پروپوزال) همراه با بررسی متون کافی مشخص می‌گردد.

۶- تجزیه و تحلیل داده‌ها:

تجزیه و تحلیل داده‌های یک مطالعه کوهورت به صورت محاسبه میزانهای بروز یک پیامد خاص در بین افراد هم‌گروه تحت مطالعه است. این میزانها را می‌توان در دو گروه مواجهه یافته و بدون مواجهه مقایسه نمود. مقایسه پیامدهای حاصل از مواجهه با سطوح مختلف یک عامل و یا ترکیبی از چند عامل نیز مقدور است. یکی از مهمترین دستاوردهای مطالعه کوهورت محاسبه خطر نسبی (Relative Risk) است (۸).

بحث کامل در مورد تجزیه و تحلیل و تفسیر نتایج مطالعه کوهورت در شماره دیگری ارائه خواهد شد.

انواع مطالعه کوهورت (۹، ۱۰)

مطالعه کوهورت بر حسب تقدم وقوع بیماری و زمان شروع مطالعه به دو نوع آینده‌نگر (Prospective) و گذشته‌نگر (Retrospective) طبقه‌بندی می‌شود. در هر دو نوع، افراد تحت مطالعه در شروع از نظر داشتن یا نداشتن مواجهه به دو گروه تقسیم می‌شوند. در کوهورت تاریخی یا گذشته‌نگر (Historical Cohort) تمام وقایع مربوط به مطالعه (مواجهه و پیامد) هر دو در زمانی که مطالعه شروع می‌شود اتفاق افتاده است ولی در کوهورت آینده‌نگر، در زمان شروع مطالعه، مواجهه ممکن است اتفاق افتاده یا هنوز صورت نگرفته باشد اما پیامد به طور قطع بروز نکرده است؛ بنابراین این ابتدا افراد تحت مطالعه (کوهورت) انتخاب شده و سپس پیگیری می‌شوند تا میزانهای بروز بیماری مشخص شود.

مطالعه کوهورت را که از زمان حال شروع شده و تا آینده ادامه داشته باشد Concurrent Cohort study نیز می‌گویند. مطالعه کوهورت به صورت Mixed Design نیز کاملاً قابل طراحی و اجرا است.

انتخاب روش مطالعه کوهورت به صورت گذشته‌نگر یا آینده‌نگر یا Mixed به برخی ملاحظات بستگی دارد. مطالعات کوهورت گذشته‌نگر معمولاً با سرعت بیشتری انجام می‌شوند و ارزاتر هستند. به این ترتیب این مطالعات برای بیماریهایی که دوره مخفی طولانی دارند، مناسب‌ترند ولی صحت مطالعه بستگی به وجود و کفایت داده‌های مربوط به مواجهه و پیامد دارد و امکان اشتباه در طبقه‌بندی (Misclassification) گروههای مواجهه‌یافته و نیافته نیز وجود دارد؛ چون اغلب جمع‌آوری داده‌ها در قبل از مطالعه با اهداف دیگری بوده است. در مطالعه کوهورت آینده‌نگر، داده‌های مربوط به متغیرهای مخدوش‌کننده بالقوه نیز قابل جمع‌آوری هستند؛ بنابراین اگر پیامد مورد نظر یک بیماری عفونی با دوره کمون کوتاه است، مطالعه کوهورت آینده‌نگر مناسب‌تر است.

مزایا و معایب مطالعه کوهورت

مزایا

- ۱- اطلاعاتی در مورد بروز بیماری فراهم می‌آورد.
- ۲- رابطه تقدم و تأخر بین مواجهه و بیماری را روشن می‌کند. (اول مواجهه صورت می‌گیرد و بعد پیامد بروز می‌کند.)
- ۳- برای مطالعه روی مواجهه‌های نادر کارایی زیادی دارد.
- ۴- در مورد مواجهه‌های چندگانه (Multiple Exposure) اطلاعاتی فراهم می‌کند.
- ۵- خطر نسبی (Relative Risk) مستقیماً قابل محاسبه است.
- ۶- اطلاعاتی را در مورد چندین پیامد که از یک مواجهه ناشی می‌شوند، فراهم می‌نماید.
- ۷- تورش را به حداقل می‌رساند.
- ۸- قویترین طرح مطالعه مشاهده‌ای برای نشان دادن

رابطه است.

مطالعه می‌شود.

۵- اغلب نیازمند حجم نمونه بزرگی است.

۶- تغییرات در روشهای تشخیصی بیماریها در طی زمان

ممکن است سبب نتایج تورش‌دار شود.

معایب:

۱- نیاز به صرف وقت زیاد دارد

۲- گران است.

۳- برای مطالعه علل بیماریهای نادر کارایی ندارد.

۴- از دست دادن افراد برای پیگیری سبب کاهش اعتبار

منابع

- 1- Samet JM, Munoz A. Epidemiologic Reviews. volume 20,(1), 1998, Johns Hopkins University of Hygien and Public Health.
- 2-Last JM. A Dictionary of Epidemiology, 3rd Ed. 1995, Oxford University press.
- 3- Rothman KJ: Epidemiology, an Intraduction, 1st ed. 2002, Oxford University Press.
- 4- Polit DF, Hungler BP. Nursing Research, Principle and Methods. 5th ed. 1995; JB Lippincolf Company.
- 5- Gordis L. Epidemiology. 2000 2nd ed. Sunders.
- 6- Greenberg RS, Daniels SR, Flanders WD, Eley JW, Boring JR. Medical Epidemiology. 3rd ed. 2001; Lange Medical Books, USA.
- 7- Hennekens CH, Buring JE. Epidemiology in Medicine. 2nd Printing. 1987; Little Brown/Toronto.
- 8- Wingo PA, Higgins JE. An Epidemiological Approach Reproductine Health, 1991; CDC, FHI, WHO.
- 9-Rothman KJ. Modern Epidemiology. 2000 Littie Brown Company/Toronto.
- 10- Szklo M, Nieto FJ. Epidemiology Beyond the Basics. 2000 An ASPEN Publications, Maryland.