تحقیقی

مجله علوم آزمایشگاهی، دوره دوم(شماره۱) بهار وتابستان ۱۳۸۷

ارتباط چاقی با وضعیت آهن در زنان سنین باروری

فرشاد امیرخیزی
مربی، گروه علوم پایه، دانشگاه علوم پزشکی زابل

فریدون سیاسی
استاد، گروه تغذیه و بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

سید مهدی احمدی
مربی، گروه علوم پایه، دانشگاه علوم پزشکی زابل

محمود جلالی
استاد، گروه تغذیه و بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

سارا مینایی
کارشناس ارشد تغذیه، گروه تغذیه و بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

عباس رحیمی
استادیار، گروه آمار و اپیدمیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

نویسنده مسئول: فرشاد امیرخیزی
آدرس: استان سیستان و بلوچستان، زابل، چهارراه بهداشت، خیابان شهید رجائی، دانشکده پزشکی
تلفن: ۰۵۴۲-۲۲۵۳۵۳۷
پست الکترونیکی:
Amirkhizi.f@gmail.com

وصول مقاله:۸۷/۲/۱۸
اصلاح مقاله:۸۶/۵/۱۲
پذیرش مقاله:۸۷/۷/۷

چکیده

زمینه و هدف: *زنان در سنین باروری در معرض خطر ابتلا به کمبود آهن قرار دارند، ولی تعدادی از مطالعات، بین برخی از نمایه های تن سنجی با وضعیت آهن بدن ارتباط مشاهده کرده اند. از طرفی فزونی آهن نیز همانند کمبود آن مضر است، چون افزایش پراکسیداسیون چربیها خطر ابتلا به بیماریهای قلبی- عروقی را افزایش می دهد. لذا هدف از این مطالعه تعیین ارتباط چاقی با وضعیت آهن زنان در سنین باروری بود.*

روش بررسی: *در یک مطالعه مورد- شاهدی ارتباط بین چاقی و وضعیت آهن در ۳۵ زن چاق ($BMI \geq ۳۰Kg/m^2$) و ۳۵ زن غیر چاق ($BMI =۱۹-۲۵ Kg/m^2$) که از نظر سن جور بودند مورد مطالعه قرار گرفت. پرسشنامه حاوی اطلاعات دموگرافیک در مورد هر یک از افراد مورد بررسی تکمیل گردید و سپس وزن و قد افراد اندازه گیری و نمایه توده بدن (BMI) محاسبه گردید. سپس ۱۰ میلی لیتر خون وریدی غیرناشتا بین ساعت ۸- ۱۲صبح گرفته، غلظت فراسنجهای خونی وضعیت آهن در پلاسما اندازه گیری شد.*

یافته ها: *هر چند که بین دو گروه تفاوتی از نظر غلظت آهن پلاسما و گنجایش تام پیوستگی آهن(TIBC) وجود نداشت، غلظت هموگلوبین ($۱۳۷ \pm ۸ g/L$ ،$p<۰/۰۵$ در مقابل ۱۲۹ ± ۷)، هماتوکریت ($۰/۴۱ \pm ۰/۰۲$ ،$p<۰/۰۵$ در مقابل $۰/۳۸ \pm ۰/۰۳$) و فریتین پلاسما ($۴۹/۳ \pm ۳۲/۲ \mu g/L$ ،$p<۰/۰۰۱$ در مقابل $۲۸/۶ \pm ۱۹/۷$) در گروه زنان چاق به طور معنی داری بیشتر بود. همچنین بر اساس یافته های این مطالعه بین BMI با غلظت فریتین پلاسما ($rho=۰/۳۹$ ،$p<۰/۰۰۰۱$) و غلظت هموگلوبین ($rho=۰/۲۹$ ،$P<۰/۰۰۱$) و درصد هماتوکریت ($rho=۰/۲۸$ ،$p<۰/۰۰۱$) همبستگی آماری معنی دار وجود داشت.*

نتیجه گیری: *یافته های این مطالعه نشان داد که زنان چاق سنین باروری ذخایر آهن بیشتر دارند و کمتر در معرض خطر ابتلا به کمبود آهن قرار دارند. به عبارت دیگر برنامه های مداوم غنی سازی و مکمل یاری ممکن است خطر انباشتگی آهن را در این زنان افزایش دهد.*

واژه های کلیدی: *چاقی، وضعیت آهن، زنان سنین باروری*

مقدمه

کم خونی فقرآهن یکی از مشکلات بهداشتی در اکثر مناطق جهان بویژه کشورهای در حال توسعه است. به طوریکه طبق آمار سازمان جهانی بهداشت بیش از نیمی از زنان باردار و یک سوم زنان غیر باردار در سنین باروری ازکم خونی فقرآهن رنج می برند (۱). دریافت ناکافی آهن از طریق رژیم غذایی و دفع آهن از طریق خون قاعدگی از علل شیوع بالای کم خونی فقرآهن در زنان این گروه سنی می باشند (۲). در بسیاری از کشورهای غربی، از سالها پیش به منظور افزایش دریافت آهن و کاهش شیوع کم خونی فقرآهن در گروههای در معرض خطر، برخی از مواد غذایی مصرفی مانند آرد و غلات با آهن غنی سازی می شوند (۳). از طرفی آهن اضافی برای بدن مضر است به طوریکه با افزایش تولید رادیکالهای آزاد باعث پیشرفت پراکسیداسیون چربیها (۴) و تخریب DNA (۵) می شود که به ترتیب از عوامل مهم ایجاد بیماریهای قلبی عروقی و سرطان می باشند (۶). بر اساس یافته های مطالعه پیشین ما، با افزایش غلظت آهن پلاسما میزان پراکسیداسیون چربیها در زنان سنین باروری افزایش می یابد (۷). برخی از مطالعات اپیدمیولوژیکی و بالینی نیز ارتباط افزایش ذخایر آهن بدن با بروز بیماریهای قلبی عروقی (۸، ۹) و سرطان(۱۰) را نشان داده اند. با توجه به اینکه بیماریهای قلبی- عروقی اولین عامل میرایی در کشور ماست ، تعیین و کنترل عوامل خطرساز بروز این بیماریها از سنین پایین تر ضروری به نظر می رسد.

با وجود اینکه فقرآهن و کم خونی ناشی از آن یکی از مشکلات شایع در زنان سنین باروری محسوب می شود، یافته های برخی از مطالعات حاکی از افزایش ذخایر آهن بدن در زنان چاق است (۱۱). همچنین، بین اندازه های تن سنجی مانند قد، وزن، نمایه توده بدن (BMI) و ضخامت چربی زیر پوست با فراسنجهای خونی وضعیت آهن مانند هموگلوبین، هماتوکریت و فریتین ارتباط مشاهده شده است(۱۲). از سوی دیگر افزایش شیوع چاقی به عنوان یک مشکل بهداشتی جدی و رو به تزاید در اکثر مناطق جهان(۱۳) و از جمله کشور ما (۱۴، ۱۵) مورد توجه قرار گرفته است.

از آنجا که کمبود و فزونی آهن هر دو نامطلوب است، امید است یافته های مطالعه حاضر به تعیین دقیق تر جمعیت در معرض خطر فقرآهن و اختصاصی تر کردن برنامه های مکمل و غنی سازی آهن کمک نماید.

روش بررسی

این بررسی، یک مطالعه مورد شاهدی بود و افراد مورد بررسی از آزمایشگاه جمعیتی تحت پوشش مرکز آموزش و تحقیقات بهداشتی کرمان وابسته به انستیتو تحقیقات بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی تهران انتخاب شدند. زنان باردار و شیرده و زنانی که در ۶ ماه اخیر خون اهدا کرده بودند و یا مکمل آهن و داروهای موثر بر وضعیت آهن بدن مصرف کرده بودند از مطالعه حذف شدند. همچنین زنانی که سابقه استعمال دخانیات و یا ابتلا به بیماریهای مزمن داشتند وارد مطالعه نشدند. هیچ یک از زنان شرکت کننده در این مطالعه دچار آمنوری و بیماریهای التهابی یا عفونی نبودند و برنامه ورزشی سنگین و رژیم غذایی خاصی نداشتند. وزن و قد افراد با استفاده از ترازوی حاوی قدسنج Seca با حداقل پوشش و بدون کفش، به ترتیب با دقت ۱۰۰ گرم و ۰/۵ سانتیمتر اندازه گیری و نمایه توده بدن (BMI) از رابطه [وزن(Kg)/ قد^{۲}(m)] محاسبه گردید. در نهایت ۳۵ زن با BMI طبیعی (Kg/m^2 ۲۵-۱۹) و ۳۵ زن با $BMI \geq ۳۰\ Kg/m^2$ که از نظر سن با هم جور (match) بودند به طور تصادفی انتخاب شدند.

پس از اخذ رضایتنامه کتبی، ۱۰ میلی لیتر خون وریدی غیرناشتا بین ساعت ۸-۱۲ صبح با واکوتینر (Vacutainer) گرفته شد. پیش از جدا کردن پلاسما از گویچه های سرخ، ۲ میلی لیتر خون تام برای آزمایشهای CBC(Complete Blood Counts) جدا و با استفاده از کیسه های یخ به آزمایشگاه تشخیص طبی در شهر کرمان منتقل شد. نمونه های خون سپس با دور ۳۰۰۰ در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه در دمای $۴^{\circ}C$ سانتریفوژ شدند و بدین ترتیب پلاسما از گویچه های سرخ برای اندازه گیری غلظت فریتین، آهن پلاسما و گنجایش تام پیوستگی آهن (TIBC) جدا شد. نمونه های پلاسما تا زمان آزمایشها در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد و دور از نور نگهداری شدند. در مطالعه حاضر غلظت هموگلوبین و درصد هماتوکریت با دستگاه شمارنده سلولهای خونی (cell counter) مدل (X10) Sysmax اندازه گیری شد. غلظت آهن پلاسما با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی و غلظت TIBC به روش رنگ سنجی مستقیم با اتوآنالیزر اندازه گیری شدند. غلظت فریتین پلاسما به روش رادیوایمنواسی با کیت Spectria

ساخت شرکت Orion Diagnostica فنلاند اندازه گیری شد. درصد اشباع ترانسفرین از رابطه ۱۰۰×[TIBC/ آهن پلاسما] محاسبه گردید.

رتبهٔ داده های این مطالعه بر اساس (میانگین ± انحراف معیار)توصیف شده اند. برای مقایسه میانگین متغیرهای اندازه گیری شده بین دو گروه از آزمون ناپارامتری Mann-Whitney U و برای تعیین همبستگی بینBMIو وضعیت آهن متغیرها از ضریب همبستگی اسپیرمن (Spearman's rho)استفاده شد. در تمام تجزیه و تحلیلهای آماری p<۰/۰۵ به عنوان تفاوت آماری معنی دار تلقی شد.

یافته ها

بر اساس یافته های این مطالعه، میانگین سن، تعداد بارداری، تعداد روزهای قاعدگی و فاصله معمول بین قاعدگی در دو گروه زنان چاق و غیر چاق تفاوت معنی دار نداشت(جدول ۱).

جدول۱- مشخصات افراد مورد مطالعه

متغیرها	گروه چاق (n=۳۵)	گروه غیرچاق (n=۳۵)
سن (سال)	۳۲/۷ ± ۷/۲	۳۳/۳ ± ٦/۸
قد (cm)	۱٦۱/۳ ± ٤/۲	۱٦۲/۲ ± ٥/۳
وزن (Kg)	۸۲/٤ ± ٥/۷[a]	٥٤/٤ ± ٤/۷
نمایه توده بدن (Kg/m^2)	۳۳/٤ ± ۲/۱[a]	۲۲/۱ ± ۲/۳
تعداد روزهای قاعدگی(روز)	٥/۲ ± ۱/۲	٥/٤ ± ۱/۳
فاصله معمول بین قاعدگی(روز)	۲۸/۸ ± ٤/۲	۲۹/۲ ± ۳/٦
تعداد بارداری	۳/۸ ± ۲/٤	۳/۷ ± ۲/۷

تفاوت آماری معنی دار با گروه غیرچاق: a) p<۰/۰۰۱

در مطالعه حاضر غلظت فریتین پلاسما و غلظت هموگلوبین و درصد هماتوکریت در گروه زنان چاق بطور معنی داری بیشتر از زنان غیر چاق بود، ولی بین دو گروه از نظر غلظت آهن و TIBC پلاسما و درصد اشباع ترانسفرین تفاوت معنی دار وجود نداشت (جدول۲). همچنین در افراد مورد مطالعه بین BMI با غلظت فریتین پلاسما (p<۰/۰۰۰۱؛ rho=۰/۳۹) و غلظت هموگلوبین (P<۰/۰۰۱؛ rho=۰/۲۹)و درصد هماتوکریت (p<۰/۰۰۱؛ rho=۰/۲۸) همبستگی آماری درصد هماتوکریت (p<۰/۰۰۱؛ rho=۰/۲۸) همبستگی آماری معنی دار وجود داشت.

جدول۲- فراسنجهای خونی وضعیت آهن در زنان گروه چاق و غیر چاق

فراسنجهای خونی وضعیت آهن	گروه چاق (n=۳۵)	گروه غیرچاق (n=۳۵)
هموگلوبین (g/L)	۱۳۷ ± ۸[a]	۱۲۹ ± ۷
هماتوکریت	۰/٤۱ ± ۰/۰۲[a]	۰/۳۸ ± ۰/۰۳
آهن پلاسما (µg/dL)	۸۲ ± ٤۱	۷۹ ± ٥۲
TIBC (µg/dL)	۲۹٦ ± ۷۳	۳۰۲ ± ۸٤
اشباع ترانسفرین	۰/۱۹ ± ۰/۰٦	۰/۲۰ ± ۰/۰٤
فریتین پلاسما (µg/L)	٤۹/۳ ± ۳۲/۲[b]	۲۸/٦ ± ۱۹/۷

تفاوت آماری معنی دار با گروه غیرچاق: a) p<۰/۰٥، b) p<۰/۰۰۱

بحث

براساس یافته های این مطالعه میانگین غلظت فریتین پلاسما در زنان چاق بیشتر از زنان غیر چاق بود. اطلاعات منتشر شده در مورد میانگین غلظت فریتین زنان سنین باروری در کشورهای فرانسه (۱۶) و ایالات متحده (۱۷) نشان می دهد که میانگین غلظت فریتین زنان سنین باروری در این کشورها از میانگین غلظت فریتین زنان گروه چاق شرکت کننده در این مطالعه کمتر، ولی از میانگین غلظت فریتین زنان گروه غیر چاق بیشتر است. این در حالی است که برنامه های غنی سازی از سالها پیش در این کشورها آغاز گردیده است (۳). غلظت فریتین پلاسما یکی از بهترین نمایه های ذخایر آهن بدن است (۱۸). بنابراین یافته های مطالعه حاضر موید نظریه Fricker و همکاران است که زنان چاق را دارای ذخایر آهن بیشتری می داند (۱۹).

همچنین بر طبق یافته های این مطالعه، میانگین غلظت هموگلوبین و درصد هماتوکریت در زنان گروه چاق بیشتر از زنان گروه غیر چاق بود ولی بین دو گروه از نظرغلظت TIBC و آهن پلاسما و درصد اشباع ترانسفرین تفاوتی وجود نداشت. در مطالعه Micozzi و همکاران (۱۱) که بر روی حجم نمونه بسیار بالا (۸۲۳۴ نفر) انجام یافت، افرادی که BMI و وزن بیشتری داشتند غلظت هموگلوبین و درصد هماتوکریت نیز در آنها بیشتر بود اما از نظر درصد اشباع

ترانسفرین تفاوتی بین سطوح مختلف BMI وجود نداشت. همچنین، پاکنهاد و همکاران (۲۰) بین اندازه های تن سنجی از جمله BMI و وزن با فراسنجهای ارزیابی وضعیت آهن مانند هماتوکریت و غلظت هموگلوبین ارتباط مثبت مشاهده کردند. بنابر این یافته های مطالعه حاضر از این نظر با یافته های مطالعات مذکور همخوانی دارد.

در مطالعه حاضر با وجود تفاوت در غلظت فریتین و هموگلوبین بین دو گروه، غلظت آهن پلاسما تفاوتی نداشت که شاید به دلیل تغییرات زیاد آن در افراد باشد. برخلاف سایر فراسنجها، تغییرات غلظت آهن پلاسما در افراد (۲۱) و بویژه در زنان سنین باروری (۲۲) زیاد است، به طوریکه حتی در ساعتهای مختلف شبانه روز نیز غلظت آن تغییر می کند بنابر این نمی تواند فراسنج مناسبی برای ارزیابی وضعیت آهن بدن باشد (۲۱).

بین دو گروه از نظر تعداد روزهای قاعدگی و فاصله معمول بین قاعدگیها تفاوتی وجود ندارد (جدول۱) بنابر این بیشتر بودن ذخایر آهن در زنان چاق نمی تواند ناشی از تخلیه کمتر آهن از طریق دفع ماهانه خون در آنها باشد. هر چند در این مطالعه آهن دریافتی ارزیابی نشده است ولی مطالعات نشان داده اند که زنان چاق آهن بیشتری دریافت می کنند (۱۹، ۲۳). همچنین بین انرژی و آهن دریافتی همبستگی مثبت وجود دارد (۲، ۱۹) و زنان چاق معمولا" انرژی بیشتری دریافت می کنند (۲۴). بنابراین شاید بیشتر بودن ذخایر آهن در زنان چاق به دلیل دریافت بیشتر آهن از رژیم غذایی باشد.

به عبارت دیگر برنامه های مداوم غنی سازی با آهن ممکن است خطر انباشتگی آهن را در زنان چاق افزایش دهد.

به طور کلی، تخلیه خفیف ذخایر آهن، یکی از عوامل محافظتی زنان سنین باروری در برابر بیماریهای قلبی- عروقی شناخته شده است (۲۵) و از طرفی بسیاری از مطالعات بالینی و اپیدمیولوژیکی بین وضعیت آهن با بروز بیماریهای قلبی- عروقی (۲۶، ۲۷) و سرطان (۱۰، ۲۸) ارتباط مشاهده کرده اند.

بنابر این، علی رغم شیوع کم خونی فقر آهن در جامعه که باید برنامه هایی را برای پیشگیری از آن به مرحله اجرا درآورد، لازم است ضمن مقابله با موارد چاقی از افزایش ذخایر آهن در زنان چاق در سنین باروری نیز پیشگیری کرد. یافته های مطالعه حاضر نشان داد که زنان چاق سنین باروری ذخایر آهن بیشتری دارند و کمتر در معرض خطر ابتلا به فقر آهن هستند.

از آنجا که کمبود و فزونی آهن هر دو نامطلوب است، لذا شناسایی و تعیین دقیق جمعیت در معرض خطر کمبود آهن در اجرای برنامه های مکمل یاری و غنی سازی آهن ضروری است.

تشکرو قدردانی

بدین وسیله از تمام همکاران مرکز آموزش و تحقیقات کرمان، وابسته به انستیتو تحقیقات بهداشتی، و همچنین مسوولان محترم شبکه بهداشتی درمانی کرمان، که ما را در اجرای این پژوهش یاری کردند، سپاسگزاری می شود.

References

1- Moyo S J, Maselle S Y , Matee M I, Longeland N. *I dentification of diarregenic Esherchia Coli isolated from. Infants and children in Dar es salam , Tanzania* . BMC Infectious Diseases . 2007; 7:(92) . 1471-2334.

2- Guerrant R L, Steiner T S. *Principles and Syndromes of Enteric infection* .Chapter 89. *Gastrointestinal infection and food poisoning* . Section. Mandell GL, Benneyy JE, Dolin R: Principles and practice of infectious diseases. Vol 2. 6 thEdition. ELSEVIER Churchill Livingstone. 2005. 1215_1231.

3- Abbasi A, Yoosefi MR. *The study of effective factors on persisted diarrhea in under five year old children Gorgan and Agh-Ghala health center*. Journal of Gorgan University of Medical Scienes .2002;10(4): 41-36

4-Borjian S. *The common causes of bacterial diarrhea in children aged below 2 years in Borujen Hospital*. Shahrekord University of Medical Sciences Journal.1999; 1(1): 20-13

5- Wani SA, Pandit F, Samanta I, Bhat MA, and Buchh AS. *Molecular epidemiology of shiga toxin- producing Escherichia coli in India*.Current science Review article. 2004:Vol 87:25(10).1345- 1353

6- Feng P, Lampel K A. *Genetic analysis of uid A expression in Enterohemorrhagic Escherichia coli serotype 0157: H7*. Microbiology, 1994; 140: 2101-2107.

7- Czeczulin JR, Whittam TS, Handerson IR, NawarroGarcia F, and Nataro J P.*Phylogenetic analysis of Enteroaggregative and diffusely adherent Escherichia coli.* J Infect and Immun, 1999; 67(6) : 2692-99.

8- Huang DB, Mohanty A, DuPont H L, Okhuysen P C and Chiang T. *A review an emerging enteric pathogen : enteroaggrega - tive Escherichia coli* . Jurnal of Medicin Microbiology. 2006; 55: 1303-1311.

9- Nataro JP,Steiner T and Guerrant RL.*Enteroaggregative Escherichia coli.* Emerg Infect Dis.1998; 4(2): 251-261.

10- Sears CL and Kaper JB. *Enteric Bacterial toxins: Mechanisms of action and linkage to intestinal secretion*. Microbiol Rev 1992; 167-215.

11-Miller SA, Dykes DD, Polsky HF.*A simply salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells*. Nucleic Acid Res. 1988: 1215-16.

12- Bo S, Asa L, Erik E, Birgitta E, Kjell OH, Anders K, Sven L, Lennart S, and Andrej W. *Enteropathogens in adult patient with diarrhea and healty control subject : A 1-year prospective in Swedish for infectious diseas*.Clinical Infectious Disease. 2000; 30: 770-78.

13- Keskimaki M, Eklund M, Pesonen H, Heiskanen T, Siitonen A. *EPEC, EAEC and STEC in stool specimens: prevalence and molecular epidemiology of isolates*. Diag .Microbiol Infect Dis. 2001; 40(4): 151-6.

14- Law D, and Chart H. *Enteroaggregative Escherichia coli* (Review). Jurnal of Applied Microbiology 1998; 84: 685-697.

15-Alizadeh ،A H M, Behrouz N, Salmanzadeh S, Ranjbar M , Azimian M H , Habibi E etal. *Escherichia coli, Shigella and Salmonella species in acute diarrhoea in Hamedan, Islamic Republic of Iran*..East Mediterr Health J. ;13 (2):243-9

16- Teng LJ , Hsueh PR, Liaw S, Ho S, Tsai J. *Genetic detection of diarrheagenic Escherichia coli isolated from children with sporadic diarrhea.* J Microbiol Immunol Infect. 2004; 37: 327-334

17-Porat WL, Altwegg M, Kind C, Mirianic S, Hardegger D, Nadal D:*, Prevalence of enteroaggregative Escherichia coli among children with and without diarrher in Switzerland*. J Clin Microbiol. 2003; 41(6): 2289-93.

18-Rotchtrachenchia O A , Subpasu S , Hayashi H. *Prevalence of child hood diarrhea- associated Esherchia coli in Thailand* . Gmed Microbiol .2004.(53) : 237-243 .

19- Jafari F, Salmanzade- ahrabi S, M Aslani M, Baghbani- Arani F, Azimi-rad M, Zali MR. *Molecular epidemiology of diarrheagenic E.coli in children acute diarrhea in Tehran, Iran and the antibiotic susceptibility of isolated.* 16th Europian congress of clinical microbiology and infectious diseas , Nice , france,April 1-4 2006 .www.blackwell publishing .com/eccmid 16/abstract. Asp?id=50479.

20- Rezaie Homani M, Salmanzadeh Ahrabi S, Moez Ardalan K, Habibi E, Edalatkhah H, Jafari F, etal. *Epidemiology of bacterial-induced acute diarrhea in Varamin*. Pejouhandeh Quarterly Research Journal .2004;7(8): 474-467

21- Presterl E , Zwick RH , Reichman S , Aichelburg A , Winkler S , Kremsner PG et al . *Frequency and virulence properties of diarrheagenic Esherchia Coli in children with diarrhea in Gabon* . Am J Trop Med Hyg . 2003; 69(4) : 406-10 .

22- Mothewson JJ , Oberhelman RA , Dupont HL , Garibay EV . *Enteroadherent Esherchia coli as a cause of diarrhea among children in Mexico* . J Clin Microbiol . 1987 ; 25(10) :1917- 19 .

23– Tornieporth NG , John J , Salgado K , De Jesus P , et al . *Differentiantion of pathogenic Esherchia coli strains in Brazilian children by PCR* . J Clin Microbiol , 1995; 33(5) : 1371-4 .

24-Smith HR, Cheasty T. *Diarrheal Diseas due to E.coli and Aeromonase*. Chapter 27. In topoley and Wilson's microbiology and microbial infections. Vol3 9th edition by colher L. Balows A. Sussman M. Pub by Arnold 1998; P: 522-523.

25- Dutta S, Pal S, Chakrabarti S, Dutta P and Manna B. *Use of PCR to identify enteroaggregative Escherichia coli as in important cause of acute diarrhea among children in Calcutta, India.* J of Medicin Microbiology . 48; 11: 1011-1016.

26- Okeke IN, Lamikanra A, Czeczulin J, Dubovsky F, Kaper J B, and Nataro J P.. *Heterogenous virulence of enteroaggregative Escherichia coli strains isolated from children in south west Nigeria.* Journal Infect Dis. 2000; 181: 252-260 .

27- Huang DB, Mohanty A, DuPont H L, Okhuysen P C and Chiang T. *A review an emerging enteric pathogen : enteroaggregative Escherichia coli* . of Medicin Microbiology. 2006; 55: 1303-1311