تقدير مستوى انزيمات الكبد والبيليروبين الكلي في مصل المرضى المصابين بالأكياس العدرية

إحسان مهدي الصقر نهلة غانم عبد المجيد أحلام جاسم طاهر*

* قسم علوم الحياة–كلية التربية للعلوم الصرفة (ابن الهيثم)–جامعة بغداد

المستخلص:

شملت الدراسة 46 مريضا مصابا بالأكياس المائية الكبدية تأكدت إصابتهم سريريا وجراحيا، و22 شخصا أصحاء كمجموعة سيطرة، و اعتمد حجم الأكياس في تقسيم المرضى إلى مرضى ذوي أكياس اكبر واقل من 5سم وكان عددهم 33 و13 على التوالي، كما قسموا وفقا لنوع الإصابة إلى مرضى ذو إصابة أولية وإصابة ثانوية وكان عددهم 30 و16 على التوالي. اما عن تأثير الاصابة بالأكياس المائية على وظائف الكبد فقد وجد ارتفاع معنوي في مستوى انزيمات الكبدaspartate aminotransferase(AST) و alanine aminotransferase(ALT)و Alkalinephosphatase (ALP)فضلا عن ارتفاع مستوى البيليروبين الكلي Totalserum bilirubin (TSB)في المصل لدى المرضى مقارنة بمجموعة السيطرة ، كذلك الحال بالنسبة لمرضى الاصابة الثانوية مقارنة بمرضى الاصابة الاولية . كما ظهر عند المرضى ذوي الاكياس الاكبر من 5 سم ارتفاع معنوي في مستوى هذه المعايير مقارنة بالمرضى ذوي الاكياس الاقل من 5 سم مما يشير الى حدوث خلل في وظائف الكبد ناتج عن نمو الكيس العدري فيه.

Estimation of Liver Enzymes and Total Bilirubin Level in the sera of patients infected with liver hydatid cysts

Ahlam J. Taher*Ihsan M. AL-Sugur Nahla G. Abdul-Majed

*Department of Biology, College of Education for Pure Science (Ibn-Al-Haitham), University of Baghdad.

Abstract

This study included 46 patients with liver hydatid cyst diagnosed clinically and surgically. Control group consist of 22 healthy volunteers. The patients were divided according to the size of the cysts into more and less than 5 cm diameter size, 33 and 13, respectively. Also they were divided into primary and secondary hydatid cyst infection, 30 and 16, respectively. Significant increase of GOT, GPT and ALP levels were recorded due to hydatid cyst infection and had direct effect on the liver function, beside an increase in total bilirubin in patients serum compared with the control, also the same occurred in the secondary infection compared with primary infection, patients with > 5 cm showed significant increase in the above levels compared with < 5 cm, which indicated the disturbance of the liver functions in patients whose revealed the growth of the cyst in the liver.

Keywords: Hydatid cyst, liver, liver enzymes, Total bilirubin.

المقدمة

داء المشوكات الكيسي cystic echinococcosis او الأكياس المائية Hydatid cysts من الإمراض الطفيلية المشتركة بين الانسان والحيوان parasitic zoonosis ذات الانتشار العالمي [1]، وتعد الأطوار اليرقية Larval stages للدودة الشريطية العائدة الى جنس المشوكات *Echinococcus* عائلة التينيدي Taeniidae العامل المسبب لهذا المرض في المضائف الوسطية وبضمنها الإنسان[2] والذي يصاب بصورة عرضية عند تناول الطعام والشراب الملوث ببيوض الطفيلي المتحررة مع براز المضيف النهائي المتمثل بأفراد العائلة الكلبية Canidae. [3] يستهدف الطفيلي الكبد بصورة رئيسية لكونه المرشح الاول للاجنة وتحتجز فيه اعداد كبيرة منها اذ يتم ترشيحها في جيبانيات الكبد وتصل اعداد اقل الى الرئتين وباقي اعضاء الجسم الاخرى.[4] [5].

يعد الكبد العضو الأكبر في داخل جسم الإنسان اذ يصل وزنه حوالي1- 1.5كغم وهو عضو معقد يقوم بالعديد من الوظائف الحيوية مثل الايض Metabolismوالإفراز Excretion والحماية Defense function[6]. ويتميز بالقدرة العالية على ازالة السموم [7] مما يجعله المكان الاكثر عرضة للضرر او التدمير [8] بسبب العوامل السامة وغالبا ما يترافق الضرر الكبدي مع تغيرات في مستوى بعض الانزيمات في المصل ومن ابرزها انزيم نازعة الامين الاسبارتية Aspartate Transaminase (AST) وانزيم نازعة الامين الالينية Alanine Transaminase (ALT) وانزيم الفوسفاتيز القاعدي(ALP) والبيليروبين الكلي والتي تعد من المؤشرات التي يعول عليها في تقييم الضرر اوالتنخر الحاصل في خلايا الكبد[9],[10] ،اذ يحصل ارتفاع في انزيمي ALT, AST لمختلف انواع الضرر الذي يحصل للكبد، إذ يتواجد ALT بشكل رئيسي في الكبد وهو مؤشر أكثر خصوصية لالتهاب الكبد مقارنة بإنزيم AST الذي يتواجد في أعضاءأخرى كالقلب والعضلات والدماغ والبنكرياس[9] اما ALP فهو يتواجد بصورة رئيسية في الكبد والعظام والكلى والأمعاء والمشيمة ويرتفع مستوى هذا الانزيم في حالة انسداد الصفراء او الركود الصفراوي الكبدي وإمراض الكبد الارتشاحية[11],[12]. اما البيليروبين الكلي فهو عبارة عن صبغة صفراء تنتج عن تكسير الهيمو الذي هو جزء من الهيموغلوبين الموجود في كريات الدم الحمراء ويقوم الكبد بإزالة هذه المادة من الدم لان ارتفاعها يسبب اليرقان والذي يمكن ان يكون مؤشر لعدة مشاكل منها فقر الدم الانحلالي او النزف الداخلي او تشمع الكبد والتهاب الكبد الفايروسي ويعكس ارتفاع البيلروبين في المصل الضرر الحاصل في الكبد [12].

الهدف من الدراسة:- تهدف الدراسة الى بيان تأثير الاصابة بالأكياس المائية على مستوى انزيمات الكبد والبيليروبين الكلي.

المواد وطرائق العمل

مجاميع الدراسة Study Groups

1- مجموعة المرضى Patients group : احتوت هذه المجموعة على 46 مريضاً تأكدت اصابتهم بالأكياس المائية في الكبد سريرياً وجراحياً من قبل الطبيب الاستشاري المختص و تراوحت اعمارهم ما بين 10-70سنة ، راجعوا استشارية الجراحة العامة في مستشفى الامامين الكاظمين (ع) للفترة من كانون الاول 2007 الى ايلول 2008 .وقد تم تقسيم مرضى الكبد(46 مريضا) اعتمادا على حجم الاكياس المتكونة الى مرضى ذوي الاكياس اكبر واقل من5سم وكان عددهم 33 و13 على التوالي، كما قسموا وفقا لنوع الاصابة الى مرضى ذو اصابة اولية واصابة ثانوية وكان عددهم 30 و13 على التوالي.

2-مجموعة السيطرة Control Group : تضمنت هذه المجموعة 22 شخصاً اصحاء لا يعانون من الاصابة بمرض الاكياس المائية.

جمع عينات الدم Collection of Blood Samples

تم سحب عينات الدم من الوريد بمحقنة بلاستيكية نبيذة Disposable syringe بحجم 10 مليلتر لكل فرد من مجموعتي الدراسة ، وقد قسم الدم وفق حاجة الاختبارات المدروسة وفصل المصل وحفظ لحين الاستخدام، وقد تم قياس فعالية انزيم AST والانزيم ALT بأتباع الطريقة اللونية Colorimetric وذلك باستعمال عدة خاصة بهذا الفحص مجهزة من شركة Biomeireuxالفرنسية[13]،كما تم قياس فعالية انزيمالفوسفاتيز القاعدي[14]ALPوتقدير البيليروبين الكلي في المصلTotal serum Bilirubin وذلك باستعمال عدة خاصة بهذا الفحص مجهزة من شركةBiomaghrab التونسية[15].

التحليل الاحصائي Statistical Analysis

تم اجراء التحليل الاحصائي لنتائج الدراسة الحالية باستعمال البرنامج الاحصائي الجاهز Statistical Package for Social Science (SPSS) ، فقد استخرج المعدل Mean

والخطأ القياسي Standard Error لجميع معايير الدراسة ، كما استخدم اختبار التباين بأتجاه واحد ANOVA one way ، فضلا عن استخدام اقل فرق معنوي Least Significant Difference (LSD) على مستوى احتمالية 0.05و0.01 لتقييم الفروق بين مجاميع الدراسة

النتائج

بالتحري عن نوع الاصابة بهذا المرض ضمن عينة الدراسة تبين إن 65.22 % من الاصابات هي اصابة اولية ، اما الاصابة الثانوية فقد كانت بنسبة 34.78% ، (جدول1) . وكانت نسبة اصابة الفص الايمن من الكبد 82.61% اعلى من نسبة اصابة الفص الايسر والتي كانت 17.39% ، جدول (2). اما حجم الاكياس المتكونة في الكبد فقد كانت نسبة الاكياس الاكبر من 5سم (71.74%) اعلى تكراراً مقارنة بالأكياس الاقل من 5 سم (28.26%)، (جدول3) .

وظائف الكبد Liver Functions

فعالية انزيمAST

تشير النتائج الموضحة في الجدول (4) الى وجود اختلافات معنوية (الاحتمالية < 0.05) في فعالية انزيمAST عند المرضى (15.37 ± 0.45 وحدة / لتر) مقارنة بمجموعة السيطرة (9.05 ± 0.19 وحدة / لتر)، وبين التحليل الاحصائي اختلافاً معنويا بين مرضى الاكياس الاقل من 5 سم (12.85 ± 0.63 وحدة / لتر) ومرضى الاكياس الاكبر من 5 سم عند مستوى احتمالية < 0.05 ،(جدول5)، كذلك ظهرت فروق معنوية عند مقارنة مرضى الاصابة الاولية (± 13.93 0.45 وحدة / لتر) مع مرضى الاصابة الثانوية (± 18.06 0.55 وحدة / لتر) (جدول 6) .

فعالية انزيم ALT

اظهر التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية لفعالية انزيم ALTعند المرضى (17.74 ± 0.45 وحدة / لتر) مقارنة بمجموعة السيطرة (8.09 ± 0.16 وحدة / لتر) (جدول4)، كذلك وجدت فروق معنوية لفعالية الانزيم(الاحتمالية)< 0.05عند المقارنة بين مرضى الاكياس الاقل من 5 سم (14.62 ± 0.66 وحدة / لتر) ومرضى الاكياس الاكبر من 5سم (18.97 ± 0.41 وحدة / لتر) جدول (5)، كما يشير الجدول (6)الى وجود فرق معنوي (الاحتمالية < 0.05) لفعالية الانزيم في مرضى الاصابة الاولية (16.33 ± 0.49 وحدة / لتر) مقارنة بمرضى الاصابة الثانوية (20.380.42 ± وحدة / لتر) .

فعالية انزيم ALP

تشير النتائج الموضحة في الجدول (4) الى ارتفاع مستوى ALP عند المرضى (131.91±8.51 وحدة / لتر) مقارنة بمجموعة السيطرة (61.18 ±2.51 وحدة/ لتر) وقد اكتسب الفرق دلالة احصائية عند مستوى احتمالية < 0.01 ، كما ظهرت فروق معنوية لمستوى فعالية ALP في مرضى الاكياس الاقل من 5 سم (97.46 ± 6.32 وحدة/ لتر) مقارنة بمرضى الاكياس الاكبر من 5 سم (145.48 ± 10.76 وحدة / لتر) (جدول5)، كما وجدت فروق معنوية عند مرضى الاصابة الاولية (109.30 ± 6.06 وحدة/ لتر) مقارنة بمرضى الاصابة الثانوية (174.31 ±17.54 وحدة/ لتر) (جدول 6) .

مستوى البيليروبين الكلي TSB

اوضحت النتائج المبينة في الجدول (4) ارتفاعا في مستوى TSB لدى المرضى (0.55 12.72 ±مايكرو مول/لتر) مقارنة بمجموعة السيطرة (7.36 ± 0.15 مايكرو مول/لتر) وقد اكتسب هذا الاختلاف فرقا معنويا عند مستوى احتمالية < 0.05 ، كما ظهرت فروق معنوية لدى مرضى الاكياس الاقل من 5 سم (10.31 ± 0.51 مايكرو مول/لتر) مقارنة بمرضى الاكياس الاكبر من 5 سم (13.67 ± 0.68 مايكرو مول/ لتر) (جدول5) ، وعند مقارنة مستوى TSB لدى مرضى الاصابة الاولية (0.36 ±10.67مايكرو مول/لتر) مع مرضى الاصابة الثانوية (16.56 ± 0.79 مايكرو مول/ لتر) كانت الفروق معنوية عند مستوى احتمالية < 0.05 ، كما موضح في الجدول (6) .

المناقشة

يُعد الكبد من الغدد الملحقة بالجهاز الهضمي، ويقوم بالعديد من الوظائف الحيوية في الجسم، لذلك تركزت الدراسة الحالية على الاصابة بالأكياس المائية الكبدية، إذ كانت اعلى نسبة اصابة في الكبد مقارنة بباقي الاعضاء ،

وبالتحري عن موقع الاصابة بالكبد فقد وجد ان اصابة الفص الايمن من الكبد كانت اعلى من اصابة الفص الايسر، وقد يكون ذلك بسبب كبر حجم الفص الايمن فضلا عن تجهيزه الوفير بالدم مقارنة بالفص الايسر[16]وهذه النتائج تتفق مع النتائج المسجلة من قبل [4]و [17].

يتباين معدل نمو الاكياس المائية في المضيف اذ انه يعتمد على عدة عوامل منها موقع النسيج المستهدف وطبيعته التشريحية والوظيفية فضلا عن الاستجابة المناعية للمضيف[18]. وهذا ما يفسر نتائج الدراسة الحالية في ارتفاع نسبة الاكياس الاكبر من 5 سم مقارنة بالأكياس الاقل من 5 سم وهذه النتائج تتفق مع النتائج التي حصلت عليها [19]و[20].

عند التحري عن تأثير الاصابة بالأكياس المائية في وظائف الكبد اظهرت الدراسة الحالية ارتفاعا في مستوى انزيمات الكبد ALT, AST,ALP لدى المرضى بفارق معنوي مقارنة بمجموعة السيطرة كذلك ارتفعت في مرضى الاكياس الاكبر من 5 سمو مرضى الاصابة الثانوية مقارنة بالاولية و قد يكون الارتفاع ناتجا عن نمو الكيس في نسيج الكبد وحدوث التغيرات المرضية المتمثلة بالتنخر في خلايا الكبد والذي يسبب زيادة في نفاذية اغشية الخلايا او تحطمها وبالتالي تحرر محتواها من هذه الانزيمات الى الدوران المحيطي[21]اوقد يكون ناتج عن اتساع مساحة التخريب الحاصل في خلايا الكبد كما في حالة الاكياس الاكبر من 5سم وقد جاءت نتائج هذه الدراسة مشابهة لنتائج دراسات اخرى [22]و [23].

كذلك شملت الدراسة قياس مستوى البيليروبين الكلي في المصل وقد سجلت النتائج ارتفاعا معنويا في مستوى البيليروبين الكلي عند مرضى الاكياس المائية مقارنة بمجموعة السيطرة، و مرضى الاصابة الثانوية وفي مرضى الاكياس الاكبر من 5 سموقد يكون هذا الارتفاع ناتج عن الضرر الحاصل في خلايا الكبد اوبسبب كبر حجم الكيس وبالتالي زيادة الضغط المسلط على خلايا الكبداو قد يكون بسبب قرب موقع الكيس من القنوات الصفراوية وبالتالي عدم قدرة الكبد على اداء وظائفه بكفاءة. [23]و[24].

جدول (1): توزيع مرضى الاكياس المائية الكبدية وفقاً لنوع الاصابة والجنس .

نوع الاصابة	الجنس		المجموع (%)
	الاناث العدد(%)	الذكور العدد(%)	
اصابة اولية	(70) 21	(30) 9	(65.22) 30
اصابة ثانوية	(75) 12	(25) 4	(34.78) 16
المجموع	33	13	46

جدول (2): توزيع مرضى الاكياس المائية الكبدية وفقاً لموقع الكيس في الكبد .

موقع الكيس في الكبد	الجنس		المجموع (%)
	الاناث العدد (%)	الذكور العدد (%)	
الفص الايمن	(65.79) 25	(34.21) 13	(82.61) 38
الفص الايسر	(100) 8	(0) 0	(17.39) 9
المجموع	33	13	46

جدول (3) : توزيع مرضى الاكياس المائية الكبدية وفقاً لحجم الكيس .

حجم الكيس (سم)	الجنس		المجموع (%)
	الاناث العدد (%)	الذكور العدد (%)	
اقل من 5 سم	(76.92) 10	(23.08) 3	(28.26) 13
اكبر من 5 سم	(69.70) 23	(30.30) 10	(71.74) 33
المجموع	33	13	46

جدول (4): مستوى انزيمات الكبد والبيليروبين الكلي في مصل مرضى الاكياس المائية الكبدية والسيطرة

مجاميع الدراسة	العدد	وظائف الكبد			
		*GOT وحدة/ لتر	* GPT وحدة / لتر	** ALP وحدة / لتر	*T.S.B مايكرو مول/لتر
المرضى	46	0.45±15.37	0.45± 17.74	8.51± 131.91	0.55± 12.72
السيطرة	22	0.19± 9.05	0.16± 8.09	2.51± 61.18	0.15± 7.36

*** فرق معنوي عند مستوى احتمالية < 0.05 .**

**** فرق معنوي عند مستوى احتمالية< 0.01 .**

جدول(5): مستوى انزيمات الكبد والبليروبين الكلي في مصل مرضى الاكياس المائية الكبدية اعتماداً علىحجم الكيس

حجم الأكياس	العدد	وظائف الكبد			
		*GOT وحدة / لتر	*GPT وحدة / لتر	**ALP وحدة / لتر	* T.S.B. مايكرو مول/لتر
اقل من 5 سم	13	0.63± 12.85	0.66± 14.62	6.32± 97.46	0.51± 10.31
اكبر من 5 سم	33	0.49± 16.36	0.41± 18.97	10.76± 145.48	0.68± 13.67

*** فرق معنوي عند مستوى احتمالية < 0.05 .**

**** فرق معنوي عند مستوى احتمالية< 0.01 .**

جدول (6) : مستوى انزيمات الكبد والبيليروبين الكلي في مصل مرضى الاكياس المائية الكبدية اعتماداً علىنوع الاصابة .

نوع الاصابة	العدد	وظائف الكبد			
		*GOT وحدة / لتر	*GPT وحدة / لتر	**ALP وحدة / لتر	*T.S.B مايكرو مول/لتر
الاصابة الاولية	30	0.45± 13.93	0.49± 16.33	6.06± 109.30	0.36± 10.67
الاصابة الثانوية	16	0.55± 18.06	0.42± 20.38	17.54± 174.31	0.79± 16. 56

*** فرق معنوي عند مستوى احتمالية < 0.05 .**

**** فرق معنوي عند مستوى احتمالية< 0.01 .**

المصادر

1-Casarvilla, C., Malgor, R. & Carmona, C. (2003). Characterization of carbohydrates of adult *Echinococcus granulosus* by lactic-binding analysis. J. Parasitol., 89(1): 57-61.

2-Bekçi, T.T.(2012).Diagnosis and Treatment of Human Hydatid Disease.Eur. J .Gen. Med., 9(1):15-20.

3- Cappello, E.; Cacopardo, B.; Caltabiano, E.; Volsi, S.; Chiara, R.; Sapienza,M.&Nigro,L.(2013). Epidemiology and clinical features of cystic hydatidosis in Western Sicily: A ten-year review. World J. Gastroenterol ., 19(48): 9351-9358.

4- Polat, P.; Kantarci, M.; Alper, F.; Suma, S.; Koruyucu, M. B. & Okur, A. (2003). Hydatid disease from head to toe. Radiographics, 23: 475- 494.

5- Gurbuz, M. K.; Ozudogr, E.; Caki, H.; Kabukcuoglu, S. & Dogan, N.(2006). Aretroauricular situated primary hydatid cyst: A case report. Turk. Arch. Otolaryngol. 44(4): 230-233.

6- Hyder,M.A.; Hasan, M.& Mohieldein,H.A.(2013). Comparative Levels of ALT, AST, ALP and GGT in Liver associated Diseases. Europ. J. Exper. Biol.,3(2):280-284.

7-Meganathan, M.; Madhana Gopal, K.; Sasikala, P.;Mohan,J.; Gowdhaman,N.;Balamurugan,K.; Nirmala,P.; Santhakumari, S .& Samue,V.(2011).

Evaluation of hepatoprotective effect of omega 3-fatty acid against paracetamol induced liver injury in albino rats.Glob. J . Pharmacol. 5 (1): 50-53.

8-Weremfo,A.; Asamoah,K.A.& Abassah-Oppong,S.(2011).Preliminary study on hepatoprotective activity of tomato(*solanum lycopersicum* l.) pulp against hepatic damage in rats. Advan. Biol.Res., 5 (5): 248-250.

9-Salemi, Z. & Pooya, K.S.(2012). Toxicity of margarine on liver enzymes (aspartate amino transferas and alanine amino transferase) in rats. Iran. J. Toxicol., 6(17): 655-659.

10- Antai, A. B.; Eyong, E. U.; Eteng, M.U.; Itam, E. H.; Eko, M. E.&Ita, S.O.(2009). Serum protein and enzyme levels in rats following administration of ethanolic leaf extract of *ageratum conyzoides* (goat weed). Niger. J. Physiol. Sci. 24 (2): 117 -120.

11-Mahjoub,S. & Roudsari, M. J. (2012). Quantification of liver alkaline phosphatase isoenzyme activity using heat inactivation and phenylalanine inhibition techniques: comparison of two methods. World Appl. Sci. J.,17 (8): 941-946.

12-Usunomena,U.; Ademuyiwa,A.J.; Tinuade,O.; Uduenevwo,E.; Martin, O.& Okolie, N.P.(2012).N-nitrosodimethylamine (NDMA), liver function enzymes, renal function parameters and oxidative stress parameters: a review. Brit. J. Pharmacol. Toxicol. 3(4): 165-176.

13-Reitman, S. and Frankel, S. (1957) A colorimetric determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. Am. J. Clin. Path., 28(1):56-63.

14-Kind, P.R. and King, E.G. (1954). Estimation of plasma phosphatase by

determination of hydrolysed phenol with amino antipyrine. J. Clin. Path., 7: 322 –326.

15- Walters,M.I.,Gerarde,R.W.,(1970).An ultramicromethod for determination of conjugated and total bilirubin serum or plasma. Microchem.J., 15(2): 231-243.

16-Sinner, W. N. (1997). Imaging of cystic Echinococcus. Acta Trop., 67: 67-89.

17-Azeemuddin, M.; Haq, T.; Ahsan, H. & Memon, W. A. (2005). Clinical in diagnostic imaging. Singapor Med. J., 46(2): 93-100.

18-Fahim, F. & Salamah, S. M. (2007). Cystic echinococcosis in central Sauida Arabia: A 5 years' experience. Turk. J. Gastroenterol., 18(1): 22-27.

19-Al-Qadhi, B. N. A. (2005). Study of some immunological and biochemical aspects of patients infected with hydatidosis . Ph. D. Thesis, Coll. Sci., Univ. Baghdad: 152 pp.

20 -العزي ، مهند حسن محمود (2006). بعض الجوانب المناعية لمرضى الأكياس المائية قبل الخضوع للعملية الجراحية. رسالة ماجستير ، كلية العلوم ، الجامعة المستنصرية : 110 صفحة.

21-Safioleas, M. C.; Misiakos, E. P.; Kauvaraki, M.; Stamatakos, M. K.; Manti, C. P. & Felekouras, E. S. (2006). Hydatid disease of the liver: Acontinuing surgical problem. Arch. Surg., 141: 1101-1108 .

22-Elshazly, A.; Azab, M. S.; Elbeshbishi, S. A. & Elsheikha, H. (2009). Hepatic hydatid disease: Four case reports. Case. J., 2(58): 1-4.

23-Deivanayagam, C.; Rajasekar, S.; Asokan, S.& Suganthy, K.(2010).A study of effect of lufenuron on biochemical parameters in serum of mice *Mus musculus* species.Asian J. Sci. Technol., 8:159-165.

24-Somily, A.; Robinson, J. L.; Miedzinski, L. J.; Bhargare, R. & Marrie, T. J. (2005). Echinococcal diseasein Alberta, Canada more than acakified opacity. BMC infec. Dis., 5(34): 1-7.