

DETECTION ON CAMPYLOBACTER FETUS IN SHEEPING NORTH AREA OF SYRIA

M.ELEWE* and Y.AL-YASENO**

* Dept. of infectious Diseases, Fac.Vet. Med. AL-Baath University.

** Dept. of infectious Diseases, Fac.Vet. Med. AL-Baath University.

Email: mhmadelewe@hotmail.com

ABSTRACT

Received at: 30/6/2014

Accepted: 10/9/2014

This study has been carried out on 202 aborted ewes in 15 sheep flocks in 4 Syrian provinces (Aleppo – Alraqa- Alhasaka- Der alzor). Then the bacterial and biochemical tests have been carried out 202 samples. The samples were taken from the aborted ewes and its fetuses. The samples of aborted ewes are (gall-bladder, placenta, vaginal swabs) and the samples of fetuses are (liver, spleen, kidney, stomach contents). It has been proved that 15 isolates have shown positive results for campylobacter fetus which equals 7.4%. The highest percentage of abortions caused by campylobacter in Aleppo was 10.5%, whereas it was 6.9% in Alraqa, the percentage was 5.4% in Der alzor. No positive results have been recorded in Alhasaka. Most of positive isolates from ewes managed in concentrated system.

Key words: *Campylobacter, abortion, fetus.*

الكشف عن المقوسة الجينية في المنطقة الشمالية من سورية

محمد العليوي ، ياسين الياسينو

Email: mhmadelewe@hotmail.com

أجريت الدراسة على ٢٠٢ نعجة أخذت من ١٥ قطع أغنام من أربع محافظات سورية (حلب – الرقة – الحسكة – دير الزور). ثم أجريت الاختبارات الجرثومية والكيميائية على ٢٠٢ عينة من الأغنام المجهضة وأجنحتها وكانت عينات الأغنام المجهضة هي من (المرارة، المشيمة، المسحات المهبلية) وعينات الأجنة المجهضة من (الكبد، الطحال، الكلية، محتويات المعدة). وقد تبين أن ١٥ عزولة أبدت نتائج ايجابية للمقوسة الجينية أي بنسبة ٧.٤%. حيث سجلت أعلى نسبة للإجهاض بالمقوسة الجينية في محافظة حلب ١٠.٥%، بينما بلغت نسبة الإجهاض بالمقوسة الجينية في محافظة الرقة ٦.٩%، أما في محافظة دير الزور فقد كانت النسبة ٥.٤%، في حين لم يسجل في محافظة الحسكة أي حالة ايجابية ووجد أن معظم العزولات الايجابية للمقوسة الجينية كانت من الأغنام المرباة بطريقة مكثفة.

INTRODUCTION

المقدمة

أول من كتب عن المقوسة الجينية تحت نوع الجينية كان العالم *Escherich*، حيث كتب مقالة علمية تضمنت وصف لجراثيم لولبية أخذت من الأطفال الذين ماتوا بما يسمى كوليرا الأطفال '*cholera infantum*' (Friedman *et al.*, 2000 ; Dasti,2007). عزلت الجراثيم المعروفة الآن بالمقوسة الجينية تحت نوع الجينية بنجاح في بداية هذا القرن في بريطانيا حيث عزل العالمان *McFadyean and Stockman* هذه الجراثيم من أجنة الأغنام المجهضة ولاحظ أنها تشبه الضمات *related vibrio* (McFadyean and Stockman,1913). اكتشف العالم *Smith* جراثيم لولبية في أجنة الأبقار المجهضة واستنتج أن هذه الجراثيم والجراثيم الشبيهة بالضمات *related vibrio* تنتمي إلى نفس النوع (Smith,1918). وبسبب شكلها الذي يشبه الضمة أطلق اسم الضمات الجينية "*Vibrio fetus*" على هذه الجراثيم وسمي المرض الذي تسببه هذه الجراثيم الإجهاض الضمي "*vibriotic abortion*" (Skirrow, 1977; Fox, 1982; Butzler, 1984; Franco, 1988). اسم المقوسات مشتق من الكلمتين اليونانيتين *kampylos* (kampus) وتعني المقوسة و *baktron* (baktron) وتعني العصا (Sebald and Veron, 1963). تحصل العدوى عن طريق تناول الأغنام للعلف والماء الملوثن بالعامل المسبب (Dyre,2008). تنتقل المقوسة الجينية تحت نوع الجينية عن طريق تناول الأغنام الحوامل الأنسجة الجنينية المخموجة وبعد أن يحدث الإجهاض الأول المقوسة الجينية تحت نوع الجينية تتعرض أغنام حوامل أخرى لأعداد كبيرة من الجراثيم بسبب تناولها مخلفات الإجهاض وبالتالي ينتج عنها إجهاضات أكثر (Jensen *et al.*, 1961). أما العرض الأساسي للمقوسة الجينية تحت نوع الجينية هو الإجهاض في الأسابيع الست الأخيرة من الحمل أو ولادة حملان ضعيفة (Mearns, 2007). إذا حدثت العدوى أثناء الحمل المبكر فلن يحدث الإجهاض بسبب امتصاص الجنين، وإذا حدثت العدوى في منتصف الحمل فسبب الإجهاض بعد 10-20 يوم، وإذا حدثت في آخر الحمل سينتج ولادة حملان ضعيفة أو ميتة (Justin and Luther,2006). ولا يوجد عادة علامات تسبق الإجهاض، لكن أحياناً يحدث سيلان مهلي قبل الإجهاض ويحدث احتباس مشيمة عند عدد كبير من الأغنام المجهضة ويترافق هذا الاحتباس بسوء حالة الحيوان العامة نتيجة التهاب الطرق التناسلية بسبب العدوى الثانوية (Hum *et al.*, 2009). كما أن وقت العدوى له أهمية في تحديد نسبة الإجهاض حيث أنه في العدوى التجريبية عند اليوم 105 من الحمل تجهض 100% من الإناث الحوامل، وإذا حدثت العدوى بعد 3 أسابيع من ذلك تنخفض نسبة الإجهاض إلى 20% وهذا ربما يعكس زيادة المناعة عند الجنين (Grogono-Thomas *et al.*,

(2000). يمكن عزل المقوسة الجينية تحت نوع الجينية من المشيمة والدم ومحتويات الأمعاء والمرارة والإفرازات المهبلية من الأغنام المخموجة ومن محتويات المعدة والقلب والدم والكبد والرئة من الجنين المجهض.
يهدف البحث إلى الكشف عن المقوسة الجينية في المنطقة الشمالية من سورية.

MATERIALS and METHODS

مواد وطرائق البحث

جمع العينات: تم جمع / 202 / عينة من أربع محافظات في سورية وهي: / حلب ، الرقة ، دير الزور ، الحسكة /، حيث جمعت العينات من الأغنام المجهضة وهي (المرارة ، المشيمة ، الإفرازات المهبلية). وأيضاً أخذت عينات من الأجنة المجهضة (الكبد ، الطحال ، الرئة ، الكلية ، محتويات معدة الجنين). ثم نقلت العينات بشروط صحية عقيمة في حافظات تحوي على الجليد ، وتم حفظها في درجة حرارة -20م (Hum et al., 2009) ، حتى إجراء الاختبارات اللازمة عليها وقد تم إجراء البحث في مخابر كلية الطب البيطري ومخابر دائرة الصحة الحيوانية في محافظة حلب.

الأجهزة المستخدمة :

- Autoclave الصاد الموصل
- Incubator الحاضنة
- Refrigerator ثلاجة
- Microscope مجهر

الأدوات المستخدمة:

- جرة لاهوائيات Anaerobic Jar
- ورق ترشيح Filter Paper
- ميزان دقيق Scale
- سلك زرع Wire

البيئات الزرعية الجرثومية:

- ١- وسط سكيرو أغار الخاص بالكامبيلوباكتر: Skirrow's Campylobacter selective medium
- ٢- مرق الثيوغلكولات: Thioglycollate broth
- ٣- أغار الحديد والسكر الثلاثي (Triple Sugar Iron) T.S.I

المحاليل المستخدمة لإجراء الاختبارات الكيمياحيوية :

- ١- كاشف حلمة الهيبيورات: Hippurate hydrolysis testing reagent
- ٢- كاشف الأوكسيداز: Oxidase Discs
- ٣- محلول بيروكسيد الهيدروجين 3% : 3% Hydrogen peroxide solution (H₂O₂)
- ٤- صبغة غرام Gram stain

طريقة العمل :

تحضير وزرع العينات: تم زرع العينات بعد أخذها بشكل عقيم على الأوساط الانتقائية وحضنت تحت ظروف دقيه الهواء (5% أوكسجين -10% غاز الكربون -85% نيتروجين) في جرة الزرع اللاهوائي باستخدام عيوب الزرع اللاهوائي أو باستخدام بالشمعة وحضنت على الدرجة 37م لمدة 5 أيام.

التعرف على المقوسة الجينية

- ١- **الصفات المزرعية:** تم فحص جميع المستعمرات النامية على المنبت الانتقائي حيث ظهرت المقوسات الجينية تحت نوع الجينية في العزل الأولي على شكل مستعمرات : صغيرة ، نصف شفافة ، مدورة ، ناعمة وتنتشر على طول اتجاه التخطيط. وقد زرعت المستعمرات المشكوك بها مرة أخرى على نفس المنبت بغرض التنقية (Bryner et al., 1964).
- ٢- **صبغة غرام Gram stain:** تمت الصباغة بصبغة غرام ولم تتقبل هذه الجراثيم الصبغة ،حيث ظهرت بلون وردي وهو لون الصبغة البديلة مما يدل على أنها جراثيم سلبية الغرام وعند فحصها بالمجهر ظهرت على شكل الضمة أو شكل حرف S أو الشكل اللولبي (Smibert, 1974).
- ٣- **اختبار الحركة Motility of bacteria:** أجري هذا الاختبار على المستعمرات النامية على المنابت الحديثة حيث نقلت نقطة صغيرة من المستعمرة الجرثومية حديثة النمو إلى وسط شريحة وعلقت بنقطتين من المحلول الفيزيولوجي ثم وضع عليها ساترة زجاجية وفحصت بالتكبير المتوسط مع تقليل الإضاءة وحيث لوحظ أن هذه الجراثيم تتحرك بحركة سهمية سريعة اندفاعية (Crock screw) تميز هذه الجراثيم (Kudirkiene et al., 2008).
- ٤- **الاختبارات الكيمياحيوية Biochemical Tests:** تهدف الاختبارات الكيمياحيوية للتمييز بين المقوسة الجينية تحت نوع الجينية والمقوسة الصائمية لأنهما أهم المقوسات المسببة للإجهاض عند الأغنام.

- اختبار الكاتلاز *Catalase activity Test*: تم إجراء هذا الاختبار على المستعمرات الحديثة ، حيث وضعت مستعمرة جرثومية على شريحة زجاجية وأضيف إليها الماء الاوكسجيني 3% وقد لوحظ وجود الفقاعات الغازية مباشرة وهذا دليل على ايجابية الاختبار (Kudirkiene et al., 2008).
- اختبار الاوكسيداز *Oxidase Test* : أخذنا قرص من أقراص الكاشف الجاهزة فرشنا المستعمرة الجرثومية بواسطة سلك الزرع على القرص فلاحظنا تغير اللون إلى بنفسجي خلال 10 دقائق (Kudirkiene et al., 2008).
- اختبار إنتاج كبريت الهيدروجين *Hydrogen sulphide production H₂S*: زرعت المستعمرات في وسط أغار الحديد والسكر الثلاثي T.S.I ثم حضنت بدرجة حرارة 37 م° لمدة 48 ساعة ضمن شروط دقيقة الهواء ، ولم نلاحظ ظهور اللون الأسود وهذا دليل على سلبية الاختبار (Park et al., 1984).
- حلمة الهيبورات *Hippurate Hydrolysis Test*: أخذنا أنبوب يحتوي على 0.4 مل من كاشف هيبورات الصوديوم (1%) وزرعنا المستعمرة الجرثومية وحضنت لمدة ساعتين في حمام مائي ثم أضفنا كاشف النهدرين 0.2 مل وحضنت لمدة 15 دقيقة ، ولم نلاحظ ظهور اللون البنفسجي دليل على سلبية الاختبار (Baron et al., 1994).
- النمو على وسط الغليسين *Glycin tolerance Test*: تم تحضير وسط الثيوغليكولات غليسين حيث أخذ 1 غ غليسين و100 مل مرق ثيوغليكولات وتم تحضير المستعمرة الجرثومية بدرجة حرارة 37 لمدة 5 أيام تحت شروط لاهوائية ، ثم فحصت الحركة تحت المجهر ، فلوحظ أن هذه الجراثيم تتحرك بحركتها السهمية المميزة (Park et al., 1984).

RESULTS

النتائج

أظهرت الدراسة وجود 15 عزولة ايجابية (7.4%) للمقوسة الجينية تحت نوع الجينية من 202 عينة تم دراستها. وكانت نسبة العزولات الإيجابية في محافظة حلب 11 عزولة من أصل 105 نعجة مجهزة تم دراستها أي بنسبة 10.5%، كما كانت نسبة العزولات الإيجابية في محافظة الرقة عزولتين من أصل 29 نعجة مجهزة تم دراستها أي بنسبة 6.9% ، في حين لم نجد في محافظة الحسكة أي عزولة ايجابية من 31 نعجة. أما في دير الزور فقد وجد عزولتين ايجابيتين من أصل 37 نعجة مجهزة تم دراستها أي بنسبة 5.4% و تبين من خلال مقارنة النتائج مع ظروف التربية أن 4 عزولات ايجابية عزلت من الأغنام المرباة بشكل طليق أي بنسبة 26.66% ، 11 عزولة ايجابية عزلت من الأغنام المرباة تربية مكثفة أي بنسبة 73.33%.

التحليل الاحصائي:

حسبت الفروقات المعنوية باستخدام اختبار بيرسون مربع كاي (Pearson's chi square) وقد تم التحليل الإحصائي باستخدام نظم التحليل الأمريكي. ولم تكن هناك فروقات معنوية بين معدل الإجهاض الذي تشترك به المقوسة الجينية تحت نوع الجينية في كل من حلب والرقة ودير الزور بينما كانت هناك فروقات معنوية واضحة بين كل من حلب والحسكة (p=0.00000) وبين الرقة والحسكة (p=0.00003) أما بين الحسكة ودير الزور كانت هناك فروقات بسيطة (p=0.0011). كما وجد فروقات معنوية واضحة بين العزولات الإيجابية المسجلة في قطعان التربية الطليقة (السرحية) والتربية المكثفة (p=0.00000).

DISCUSSION

المناقشة

تبين أن ١٥ عزولة أبدت نتائج ايجابية للمقوسة الجينية من أصل ٢٠٢ عينة أي بنسبة ٧.٤%. وقد كانت نتائج الدراسة متوافقة مع الدراسة التي أجريت في المنطقة الجنوبية من تركيا حيث وجد أنه من أصل 100 عينة جنين مجهض كان هناك 7 عزولات ايجابية للمقوسة الجينية تحت نوع الجينية أي بنسبة 7% (Yesilmen and Gul, 2007). وقد توافقت نتائج هذه الدراسة مع نتائج الدراسة الحالية نظراً لقرب مناطق الدراسة من بعضها. ولم تتوافق نتائج الدراسة مع الدراسة التي أظهرت أنه من أصل 124 عينة جنين مجهض كان هناك 15 عزولة ايجابية للمقوسة الجينية تحت نوع الجينية أي بنسبة 12% (Diker, 1985). وتوافقت نتائج الدراسة مع الدراسة التي بينت انه من أصل 303 عينات لأجنة مجهزة كان هناك 20 عزولة ايجابية للمقوسة الجينية تحت نوع الجينية أي بنسبة 6.6% (Kenar et al., 1990). كما توافقت نتائج الدراسة مع الدراسة التي وجدت أن مخاطر الإجهاض الناتج عن المقوسة الجينية تحت نوع الجينية في الولايات المتحدة يتراوح بين 5-17% (Hansen et al., 1990). ولم تتوافق نتائج الدراسة مع الدراسة التي وجدت أنه من أصل 110 عينات لأجنة مجهزة وجد أن هناك 5 عزولات ايجابية للمقوسة الجينية تحت نوع الجينية أي بنسبة 4.5% (Muz et al., 1999). ولم تتوافق مع الدراسة التي تم فيها فحص 35 جنين مجهض ووجد 5 عزولات ايجابية للمقوسة الجينية تحت نوع الجينية أي بنسبة 14.2% (Kenar and Erganis, 1990). ولم تتوافق مع الدراسة التي تم فيها عزل 4 عزولات ايجابية للمقوسة الجينية تحت نوع الجينية من أصل 145 عينة جنين مجهض أي بنسبة 2.7% (Erdogan et al., 1993). كما أن نتائج الدراسة لم تتوافق مع الدراسة التي وجدت أن معدل الإجهاض الناتج عن المقوسة الجينية تحت نوع الجينية كانت 15.2% (Latinoviç et al., 1985). وقد تبين من خلال الدراسة وجود 4 عزولات ايجابية كانت من الأغنام المرباة بشكل طليق من أصل ١٥ عزولة ايجابية أي بنسبة 26.66% ، بينما كان هناك 11 عزولة ايجابية من الأغنام المرباة تربية مكثفة من أصل ١٥ عزولة ايجابية أي بنسبة 73.33%. وقد كانت نتائج الدراسة متوافقة مع بحث أجري في بريطانيا وأثبت أن المرض يكون أكثر سوءاً عندما تكون التربية عالية الكثافة (Mearns, 2007). كما اتفقت مع الدراسة التي وجدت أن تربية الأغنام بشكل مركز يؤدي إلى تلوث الحظائر أثناء مراحل الحمل المتأخرة وبالتالي يزيد فرصة الإصابة بالمقوسة الجينية تحت نوع الجينية (Scott, 2010). واتفقت مع الدراسة التي أجريت في نيوزيلندا والتي أكدت أن الكثافة العالية للقطعان تساهم في ارتفاع معدلات إجهاض المقوسة الجينية تحت نوع الجينية أكثر من القطعان ذات الكثافة المنخفضة (Quinlivan and Jopp, 1982).

CONCLUSIONS

الاستنتاجات

1- أن النسبة العامة للعزولات الايجابية للمقوسة الجنينية تحت نوع الجنينية في هذه الدراسة بلغت / 7.4 % / حيث أن نسبة العزولات الايجابية في محافظة حلب كانت /10.5% / ، وفي محافظة الرقة /6.9% / ، وفي محافظة دير الزور / 5.4% / ، في حين لم تسجل في محافظة الحسكة أي نتيجة ايجابية .

2 - سجلت أغلب العزولات الايجابية للمقوسة الجنينية تحت نوع الجنينية في الأغنام المرباة بطريقة التربية المكثفة.

REFERENCES

المراجع

- Baron, E.J.; Peterson, L.R. and Finegold, B.M. (1994):* Baily and scott's Diagnostic Microbiology.9th Ed. Mosby, St. Louis Baltimore.
- Bryner, J.H.; O'Berry, P.A. and Frank, A.H. (1964):* Vibrio infection of the digestive organs of cattle .Am. J. Vet. Res., 25: 1048-1050.
- Butzler, J. (1984):* Campylobacter Infection in Man and Animals. CRC Press, Inc. Boca Raton, FL.
- Dasti, J.I. (2007):* Identification and characterization of campylobacter jejuni factors relevant for the infection process ph.D. Thesis, George August University, Germany.
- Diker, K.S. (1985):* Studies on the identification of Campylobacter species isolated from sheep and cattle. Doga Bilim. Derg. 9, 232-240.
- Dyre, N.W. (2008):* Diagnosis of Ovine Abortion – Getting the Most Out of Your Diagnostic Laboratory. Sheep Research Report: 13-14.
- Erdogan, I.; Gurel, A.; Tekin, C.; Uyanyk, F. and Bitgel, A. (1993):* The determination and distribution of bacterial abortus in goats, cow and sheep in Thrace region. J. Pendik Vet. Microbiol. 24, 23-35.
- Fox, J.G. (1982):* Campylobacteriosis: a “new” disease in laboratory animals. Lab Anim Sci, 32: 625–637.
- Franco, D.A. (1988):* Campylobacter species: considerations for controlling a foodborne pathogen. J. Food. Prot. 51: 145–153.
- Friedman, C.R.; Neimann, J.; Wegener, H.G. and Tauxe, R.V. (2000):* Epidemiology of Campylobacter jejuni infections in the United States and other industrialized nations. In: Nachamkin I., Blaser M. J. Campylobacter. Washington: ASM Press; p. 121–39.
- Grogono-Thomas, R.; Dworkin, J.; Blaser, M.J. and Newell, D.G. (2000):* Roles of the surface layer proteins of Campylobacter fetus subsp. fetus in ovine abortion. Infect Immun .68: 1687-1691.
- Hansen, D.E.; Hedstrom, O.R.; Sonn, R.J. and Synder, P.S. (1990):* Efficacy of a vaccine to prevent Chlamydia or Campylobacter induced abortions in ewes. JAVMA, 196, 731-734.
- Hum, S.; Hornitzky, M. and Berg, T. (2009):* Ovine Campylobacteriosis. Elizabeth Macarthur Agricultural Institute. Australia: 1-8.
- Jensen, R.; Miller, V.A. and Molello, J.A. (1961):* Placental pathology of sheep with vibriosis. American journal of veterinary Research22 (87)169-185.
- Justin, S. and Luther, Ph.D. (2006):* Abortions in Sheep Causes, Control and Prevention. NDSU Extension Sheep Specialis, AS-1317.
- Kenar, B. and Erganis, O. (1990):* Isolation and antibiotic susceptibility of Campylobacter spp. in aborted ovine fetuses in the central Black Sea. Veterinarium .5, 4-11.
- Kenar, B.; Erganis O.; Kaya O. and Guler L. (1990):* Bacteriological and serological survey on brucella, campylobacter, salmonella and chlamydia infections caused to sheep abortion in Konya region (central Anatolia) in Turkey. Veterinarium, 1, 17-20 (in Turkish).
- Kudirkiene, A.; Malakauskas, A.; Serniene, L. and Malakauskas, M. (2008):* Isolation and identifaction of thermophilic Campylobacter ssp. by PCR-RFLP in broiler flocks. Veterinarija IR Zootechnik, A. 42(64): 44-46.
- Latinović, V.; Popovic, M. and Nevjestic, A. (1985):* Privi slucajevi izolacije bakterija roda Campylobacter kod goveda i ovaca u Srbich. Veterinaria, Sarajevo. 34, 367-375.
- Mc fadyean, J. and Stockman, S. (1913):* Report of the Departmental committee appointed by the board of the Agriculture and Fisheries to inquire into Epizootic Abortion.part3.Abortion in sheep. London: HMSO.
- Mearns, R. (2007):* Campylobateriosis. pages131-132 In: Diseases of sheep ed, I. D. Aitken. Blackwell publishing, Oxford, U.K.
- Muz, A.; Ertas, H.B.; Ongor, H.; Gulcu, H.B.; Ozer, H.; Eroksuz, H.; Dabak, M.; Basbug, O. and Kalender, H. (1999):* Bacteriologic, serologic and pathologic studies on aborted cases of goats and sheep in Elazýð and it.s vicinity. Tr. J. Vet. Anim. Sci., 23, 177-188.

- Park, C.E.; Smibert, R.M.; Blaser, M.J.; Vanderzant, C.; Stern, N. (1984):* Campylobacter in: "Compendium of methods for the Microbiological examination of food "2nd Ed. Speck. M(ed) American public Health Association, Washington, D.C.
- Quinliven, T.D. and Jopp, A.J. (1982):* A survey on the incidence and cause of ovine abortion in Hawkes Bay. Newzealand veterinary journal 30(5)65-68.
- Scott, ph. (2010):* Abortion in ewes. the National Animal Disease Information Service (Nadis). [Internet]. Available at: www.nadis.org. UK.
- Sebald, M. and Veron, M. (1963):* Teneur en bases de l'ADN et classification des vibrions. Ann. Inst. Pasteur (Paris) 105: 897-910.
- Skirrow, M.B. (1977):* Campylobacter enteritis: a "new" disease. Br. Med. J. 2: 9-11. Smith, T.; Orcutt, M.L. (1927). Vibrios from calves and their serological relation to Vibrio fetus. J. Exp. Med. 45: 391-397.
- Smibert, R.M. (1974):* Genus II. Campylobacter Sebald and Veron 1963, 907, p. 207-212. In R. E. Buchanan and N. E. Gibbons (ed.), Bergey's manual of determinative bacteriology, 8th ed. The Williams & Wilkins Co., Baltimore.
- Smith, T. (1918):* Spirilla associated with disease of the fetal membranes in cattle (infectious abortion). J. Exp. Med. 28:701-719.
- Yesilmen, S. and Gul, K. (2007):* Isolation, identification and antibiotic susceptibility of campylobacter ssp. in aborted sheep fetuses medycyna wet. 63 (10).