

УДК 619:616.1/4:615.28:636.2.053

**ПРИМЕНЕНИЕ ЭЛЕКТРОАКТИВИРОВАННЫХ РАСТВОРОВ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ
ГАСТРОЭНТЕРИТА ПОРОСЯТ****Белко А.А., Петровский С.В.**УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь

Установлено снижение концентрации микотоксинов в кормах при добавлении к кормам водных растворов гипохлорита натрия. Водные растворы гипохлорита натрия обладают антимикробными свойствами в опытах *in vitro*. Выпаивание поросятам растворов гипохлорита натрия с концентрациями 50 мг/л и 100 мг/л (по активному хлору) позволило снизить их заболеваемость гастроэнтеритами, а также повысить среднесуточные приросты живой массы. **Ключевые слова:** гипохлорит натрия, поросята, антимикробный эффект, микотоксины, среднесуточные приросты живой массы.

APPLICATION OF ELECTROACTIVATED SOLUTIONS FOR PREVENTION OF GASTROENTERITIS OF PIGLETS**Belko A.A., Piatrowski S.V.**

Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

A decrease in the concentration of mycotoxins in feed was found when aqueous solutions of sodium hypochlorite were added to the feed. Aqueous solutions of sodium hypochlorite possess antimicrobial properties *in vitro* experiments. Drinking piglets with sodium hypochlorite solutions with concentrations of 50 mg/l and 100 mg/l (based on active chlorine) made it possible to reduce their incidence of gastroenteritis, as well as to increase the average daily gain in live weight. **Keywords:** sodium hypochlorite, piglets, antimicrobial effect, mycotoxins, average daily live weight gain.

Введение. Одной из основных причин, препятствующих полной реализации генетического потенциала свиней, в настоящее время рассматриваются незаразные болезни молодняка, среди которых болезни пищеварительной системы занимают лидирующее положение. Эти болезни имеют, как правило, полиэтиологическую природу. В условиях промышленных свиноводческих комплексов у поросят после отъема широко регистрируются гастроэнтериты, которые имеют как первичное, так и вторичное происхождение. Развитие у поросят-отъемышей первичных гастроэнтеритов связано с тремя «Н» кормления: недостаточным (недокормом), неполноценным (по энергии, протеину и витаминно-минеральной группе) и некачественным (кормами, содержащими экзотоксины – микотоксины, нитраты, соединения меди, цинка, пестициды и др.) кормлением. Недостаточное и неполноценное кормление ведут к извращению аппетита («лизухе»), что сопровождается повреждением слизистой оболочки желудка и кишечника [2, 3].

Важная роль в возникновении заболеваний желудочно-кишечного тракта у поросят-отъемышей принадлежит микрофлоре как неспецифической (сапрофитной, условно-патогенной), так и специфической, являющейся причиной возникновения вторичных гастроэнтеритов. В основном это нарушения условий содержания, низкого качества корма и высокая микробная нагрузка, получаемая с водой, кормами и в результате высокой микробной обсемененности помещений.

Описанные нарушения «запускают» гастроэнтериты у поросят. При этом «отправным» звеном в генезе большинства болезней желудка и кишечника, а также патогенетически связанных с ними патологий печени и поджелудочной железы, становится развитие дисбактериоза, усиление перистальтики желудка и кишечника, интоксикация и обезвоживание.

Развитие функциональных нарушений в вышеуказанных отделах пищеварительного тракта тесно связано со структурными изменениями, происходящими в слизистых оболочках желудка и кишечника – резкое уменьшение количества нейтральных гликополисахаридов, ослаблением активности сукцинатдегидрогеназы, разрушение микроворсинок каемчатого эпителия, нарушение энзиматической активности кишечника и др. Это влечет за собой нарушения процессов переваривания компонентов принятого корма с образованием токсичных для организма продуктов распада корма (эндотоксинов): индола, скатола, фенола, крезоло, аминов, аммиака и др. Следует учитывать и то, что токсический эффект на организм поросенка оказывают и всасывающиеся из пищеварительного тракта токсины кормового, а также бактериального происхождения.

И экзо-, и эндотоксины подвергаются в организме процессам детоксикации, которые обеспечиваются тремя основными системами: монооксигеназной детоксицирующей системой печени, иммунной системой и находящейся в тесной связи с ними - выделительной. В настоящее время в качестве универсальной биологической системы естественной детоксикации, присущей всем живым организмам от растений до высших животных и человека, рассматриваются преимущественно три группы реакций:

- энзиматическую биотрансформацию липофильных ксенобиотиков при участии P-450 - зависимых монооксигеназ (1-я фаза детоксикации) [4, 5, 8, 11, 12];

- конъюгацию реактивных метаболитов и гидрофильных соединений (2-я фаза детоксикации) [13];

- антиоксидантную защиту, объединяющую антирадикальные и антиперекисные механизмы [15].

Нарушение согласованного процесса детоксикации, становясь в свою очередь одним из общих механизмов токсичности, приводит к нарушению гомеостаза и развитию патологии. В то же время, в схеме комплексной терапии поросят при желудочно-кишечных болезнях антитоксической терапии уделяется недостаточное внимание. Результатом становятся частые рецидивы болезни (после клинического выздоровления), недостаточно быстрое восстановление продуктивности поросят после перенесенной болезни и, наконец, высокий отход. Все это требует совершенствования схем лечебно-профилактических мероприятий у поросят.

Недопущение широкого распространения болезней желудочно-кишечного тракта у поросят требует проведения иммунизации восприимчивого поголовья, плановых дезинфекций, применения антибактериальных препаратов, обладающих высокой антибактериальной активностью и широким спектром действия на различные виды возбудителей. Однако широкое использование антибиотиков приводит к развитию резистентности к ним со стороны микроорганизмов и влечет снижение их эффективности. Вторым моментом негативных последствий от широкого применения антибиотиков является их длительное нахождение в организме (остаточные количества), что не позволяет использовать продукцию свиноводства в течение длительного времени после применения антибиотиков. Кроме того, данные препараты не должны оказывать токсического действия на организм и обладать антитоксическим эффектом.

В этой связи, целью нашей работы стало совершенствование лечебно-профилактических мероприятий при гастроэнтеритах поросят, основанных на применении антимикробного препарата, оказывающего антитоксическое действие.

Материалы и методы исследований. В наших исследованиях в качестве такого препарата были применены водные растворы гипохлорита натрия (ГХН) с различной концентрацией. Данные растворы мы получали методом электрохимической активации раствора натрия хлорида на установке, разработанной научно-производственным предприятием «Акваприбор» (г. Гомель).

В ветеринарной практике растворы натрия гипохлорита с концентрацией 0,037-0,042% (370-420 мг/л) успешно применялись в качестве средства патогенетической терапии при диспепсии и абомазоэнтерите телят, гастроэнтерите поросят. Раствор натрия гипохлорита поросятам вводился внутривентриально, что при массовых лечебно-профилактических обработках оказалось не технологично [1-3] в связи с необходимостью фиксации поросят и возникновением стрессов.

Работа выполнялась в несколько этапов. На первом этапе в условиях микробиологической лаборатории ГУ «Витебский областной центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья» изучалась антимикробная активность раствора натрия гипохлорита в концентрации 0,04%. Данная работа проводилась совместно с сотрудниками кафедры общей гигиены и экологии УО «Витебский государственный медицинский университет» (Бурак И.И., Миклис Н.И., Корикова С.И.) [16]. Для исследования использовали раствор электрохимического натрия гипохлорита с содержанием активного хлора 0,04%. При этом изучали антимикробную активность и минимальную бактерицидную концентрацию в качественном суспензионном методе в отношении стандартных тест-культур микроорганизмов *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *P. mirabilis* ATCC 14153, *C. albicans* ATCC 10231 (стандартизованных до 10^9 КОЕ/см³) без белковой нагрузки и в присутствии 20% лошадиной сыворотки (ЛС) в течение 30 сек., 1 и 2 мин. с нейтрализатором.

На втором этапе исследований в условиях свиноводческого комплекса изучали эффективность растворов ГХН различной концентрации при выращивании поросят группы доращивания. Для этого на участке доращивания поросятам совместно с питьевой водой выпаивался раствор ГХН. Опыт проводился в четырех секторах, в которых содержались поросята группы доращивания (два сектора контрольных и два сектора опытных), в каждом из которых содержалось от 500 до 517 животных. Условия кормления и содержания, ветеринарные обработки поросят всех групп были аналогичны. Водопой поросят контрольных групп осуществлялся необработанной питьевой водой через автопоилки ниппельного типа, в которые вода поступала из бака-накопителя. Водопой поросят опытных групп также осуществлялся через автоматические поилки, но в воду поросят 1-й опытной группы добавляли раствор ГХН с концентрацией 50 мг/л, а в воду поросят 2-й опытной группы - раствор ГХН с концентрацией 100 мг/л.

Для получения раствора ГХН с концентрацией 50 мг/л был использован рабочий раствор с концентрацией 7,45 г/л или концентрацией по активному хлору не менее 7 г/л. Рабочий раствор массой 6,7 кг разводили в 1000 л питьевой воды (емкость бака-накопителя), которую подавали в поилки для поросят. Для получения раствора натрия гипохлорита с концентрацией 100 мг/л также был использован рабочий раствор с концентрацией 7,45 г/л. Рабочий раствор массой 13,4 кг разводился в 1000 л питьевой воды, которая подавалась в поилки для поросят. Рабочие растворы натрия гипохлорита были получены при электролизе гипертонического раствора поваренной соли на установке для получения гипохлорита натрия типа «Аквамед» (производство ЧНПУП «Акваприбор», г. Гомель).

Обработка воды проводилась на протяжении всего периода содержания поросят на участке до-ращивания. Растворы натрия гипохлорита добавлялись в систему водоснабжения один раз в два дня (иногда чаще, по мере освобождения баков).

С целью определения возможных механизмов профилактического эффекта раствором ГХН в отношении гастроэнтеритов поросят на третьем этапе выполнения работы изучали антитоксический эффект раствора ГХН в отношении микотоксинов кормов. Для этого контрольный материал микотоксинов TRILOGY® смешивали с растворами ГХН с концентрациями 50 и 100 мг/л в соотношении 1 к 1. Концентрацию микотоксинов в контрольном образце TRILOGY®, а также в двух опытных образцах определяли методом иммуноферментного анализа с использованием наборов производства Института биоорганической химии НАН Беларуси.

На основании полученных результатов было сделано заключение об эффективности применения растворов ГХН в свиноводстве.

Результаты исследований. В результате проведенных исследований по изучению антимикробной активности раствора натрия гипохлорита установлено, что в концентрации с содержанием активного хлора 420 мг/дм³ проявило 100% антибактериальную активность при экспозиции 1 мин и 2 мин. Фактор редукции его без белковой нагрузки при указанной экспозиции в количественном суспензионном тесте в отношении использованных музейных штаммов был в пределах 5,3-9 lg (таблица 1).

Таблица 1 - Антимикробная активность раствора электрохимического натрия гипохлорита с содержанием активного хлора 420 мг/дм³ в количественном суспензионном тесте без белковой нагрузки по отношению к типовым тест-культурам

Тест-культура	Наименование образца	Экспозиция 1 мин.			Экспозиция 2 мин.		
		КОЕ	log	RF	КОЕ	log	RF
<i>E. coli</i>	№ 3+ЛС	25	1,4	5,8	10	1	6,2
	Контроль	1,5×10 ⁷	7,2		1,5×10 ⁷	7,2	
<i>S. aureus</i>	№ 3+ЛС	50	1,7	7,3	0	0	9
	Контроль	9,5×10 ⁸	9		9,5×10 ⁸	9	
<i>P. aeruginosa</i>	№ 3+ЛС	200	2,3	6	100	2	6,3
	Контроль	2×10 ⁸	8,3		2×10 ⁸	8,3	
<i>P. mirabilis</i>	№ 3+ЛС	200	2,3	6,1	100	2	6,4
	Контроль	2,5×10 ⁸	8,4		2,5×10 ⁸	8,4	
<i>C. albicans</i>	№ 3+ЛС	0	1	7,3	0	0	8,7
	Контроль	5×10 ⁸	8,7		5×10 ⁸	8,7	

Фактор редукции (RF) раствора электрохимического натрия гипохлорита с содержанием активного хлора 420 мг/дм³ с добавлением 20% ЛС в отношении *E. coli* при экспозиции 1 мин. составил 5,8 lg, экспозиции 2 мин. – 6,2 lg, *P. aeruginosa* – 6 и 6,3 lg, *P. mirabilis* – 6,1 и 6,4 lg, *S. aureus* – 7,3 и 7,1 lg, *C. albicans* – 7 lg соответственно (таблица 2).

Таблица 2 - Антимикробная активность раствора электрохимического натрия гипохлорита с содержанием активного хлора 420 мг/дм³ в количественном суспензионном тесте в присутствии 20% лошадиной сыворотки по отношению к типовым тест-культурам

Тест-культура	Наименование образца	Экспозиция 1 мин.			Экспозиция 2 мин.		
		КОЕ	log	RF	КОЕ	log	RF
<i>E. coli</i>	№ 3	50	1,7	5,7	10	1	6,4
	Контроль	2,5×10 ⁷	7,4		2,5×10 ⁷	7,4	
<i>S. aureus</i>	№ 3	50	1,7	6,4	10	1	7,1
	Контроль	12,5×10 ⁷	8,1		12,5×10 ⁷	8,1	
<i>P. aeruginosa</i>	№ 3	100	2	6,3	50	1,7	6,6
	Контроль	2×10 ⁸	8,3		2×10 ⁸	8,3	
<i>P. mirabilis</i>	№ 3	200	2,3	6,1	100	2	6
	Контроль	2,5×10 ⁸	8,4		2,5×10 ⁸	8,4	
<i>C. albicans</i>	№ 3	5	1,7	5,3	0	-	7
	Контроль	1×10 ⁷	7		1×10 ⁷	7	

В присутствии белковой нагрузки и без нее раствор электрохимического натрия гипохлорита с содержанием активного хлора 420 мг/дм³ проявлял достаточно высокий уровень антимикробной активности с фактором редукции в среднем 6,6 lg в отношении типовых тест-культур микроорганизмов. Полученные результаты подтверждают информацию, приведенную в ряде литературных источников [7, 10, 14].

При изучении влияния растворов ГХН на организм поросят и их профилактического эффекта в отношении гастроэнтерита нами были получены следующие результаты (таблицы 3, 4).

Таблица 3 - Показатели эффективности применения водных растворов ГХН на участке дорастивания (концентрация 50 мг/л)

Показатели	Контрольная группа	Опытная группа
Количество поросят, голов	500	500
Средний возраст/вес при постановке, дней/кг	28/9,2	29/9,3
Средний возраст/вес при передаче, дней/кг	106/46,7	105/51,4
Среднесуточный прирост, г	460,6	528,4
Количество переданных поросят, голов	485	483
Сохранность по выбытию, %	97,0	96,6

Таблица 4 - Показатели эффективности применения водных растворов ГХН на участке дорастивания (концентрация 100 мг/л)

Показатели	Контрольная группа	Опытная группа
Количество поросят, голов	517	500
Средний возраст/вес при постановке, дней/кг	30/9,5	30/9,6
Средний возраст/вес при передаче, дней/кг	102/41,1	101/45,4
Среднесуточный прирост, г	433,8	491,4
Количество переданных поросят, голов	486	482
Сохранность по выбытию, %	94,0	96,4

Как следует из данных таблиц, применение водных растворов ГХН в концентрациях 50 мг/л и 100 мг/л сопровождалось повышением продуктивности поросят опытных групп. Среднесуточный прирост при применении ГХН в концентрации 50 мг/л у поросят-отъемышей опытной группы превысил показатель контрольной на 14,7%, а при концентрации 100 мг/л – на 13,3%.

Высокая продуктивность поросят объясняется их низкой заболеваемостью, прежде всего заболеваниями желудочно-кишечного тракта, их меньшей продолжительностью и более легким течением. В опытных группах были отмечены единичные случаи гастроэнтеритов, которые характеризовались легкой диареей и разжижением фекалий.

Помимо антимикробного эффекта, который был установлен при проведении исследований *in vitro*, полученный эффект мог быть достигнут за счет снижения дезактивации микотоксинов кормов растворами ГХН (таблица 5).

Таблица 5 – Концентрация микотоксинов в кормах

Микотоксин	Концентрация, мкг/кг		
	Контрольный образец	Контрольный образец + раствор ГХН (50 мг/л)	Контрольный образец + раствор ГХН (50 мг/л)
Охратоксин А	25,9	10,0	8,2
Зеароленон	385,9	65,3	<50

Как следует из данных таблицы, «вымачивание» образцов корма, содержащего микотоксины, позволило снизить концентрацию неполярных микотоксинов: охратоксина в образце - в 2,6-3,2 раза, а зеароленона – в 5,9-7,7 раза. Деконтаминирующий эффект растворов ГХН – одна из составляющих их профилактического действия в отношении гастроэнтерита поросят. Информация о возможности применения растворов ГХН как средства деконтаминации кормов приводится в некоторых литературных источниках [6, 9].

Заключение. Наши исследования позволили установить антимикробный эффект водных растворов ГХН, а также их деконтаминирующий эффект в отношении кормов, загрязненных неполярными микотоксинами. Выпаивание растворов ГХН через систему водопоеения поросятам на участке дорастивания позволило повысить продуктивность молодняка свиней и снизить их заболеваемость гастроэнтеритами. Полученные результаты свидетельствуют о высокой профилактической эффективности водных растворов ГХН при гастроэнтерите поросят.

Литература. 1. Абрамов, С. С. Применение растворов гипохлорита натрия в клинической терапии / С. Абрамов, А. А. Белко, Д. А. Столбовой // Ученые записки учреждения образования «Витебская государственная академия ветеринарной медицины»: научно-практический журнал. – Витебск: УО ВГАВМ, 2008. – Т. 44, вып. 2, ч. 2. – С. 6–9. 2. Великанов, В. В. Влияние натрия гипохлорита и энтеросорбента СВ-1 на длительность течения болезни и сохранность поросят при токсической гепатодистрофии / В. В. Великанов // Ученые записки Витебской ордена «Знак Почета» государственной академии ветеринарной медицины. - Витебск,

2002. - Т. 38, ч. 2. - С. 18-20. 3. Применение метода непрямой электрохимической детоксикации при желудочно-кишечных болезнях телят и поросят : учебно-методическое пособие для студентов факультета ветеринарной медицины, ветеринарных специалистов и слушателей ФПК / С. С. Абрамов [и др.] ; Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – Витебск : УО ВГАВМ, 2001. – 31 с. 4. Danielson, P. B. The cytochrome P450 superfamily: biochemistry, evolution and drug metabolism in humans / P. B. Danielson // *Current Drug Metabolism*. - 2002. - Vol. 3, № 6. - P. 561–597. 5. Davenport, D. M. Modulation of cytochrome P450 enzymes by organosulfur compounds from garlic / D. M. Davenport, M. J. Wargovich // *Food and Chemical Toxicology*. – 2005. – V 43 (12). – P. 1753–1762. 6. Decontamination of Mycotoxin-Contaminated Feedstuffs and Compound Feed / Radmila Colovic [et al.] // *Toxins*. - 2019. - Vol. 11. 7. Efficacy of sodium hypochlorite against multidrug-resistant Gram-negative bacteria / A. T. Köhler [et al.] // *Journal of Hospital Infection*. – 2018. - Vol. 100, Issue 3. - P. 40-46. 8. Induction of cytochrome P450 and/or detoxication enzymes by various extracts of rosemary: Description of specific patterns / P. Debersac [et al.] // *Food and Chemical Toxicology*. - 2001. - Vol. 39, № 9. - P. 907–918. 9. Frederick Fung Health Effects of Mycotoxins: A Toxicological Overview / Frederick Fung, Richard F. Clark // *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*. -2004. - Vol. 42, Issue 2. - P. 217-234. 10. Fukuzaki, S. Mechanisms of actions of sodium hypochlorite in cleaning and disinfection processes / S. Fukuzaki // *Biocontrol Science*. - 2006. - Vol. 11, № 4. - P. 147-157. 11. Hepatic and intestinal cytochrome P450 and conjugase activities in rats treated with black tea theaflavins and theaflavins / F. Catterall [et al.] // *Food and Chemical Toxicology*. - 2003. - Vol. 41, № 8. - P. 1141–1147. 12. Ioannides, C. Effect of diet and nutrition on the expression of cytochromes P450 / C. Ioannides // *Xenobiotica*. - 1999. - Vol. 29, № 2. - P. 109–154. 13. Jancova, P. Phase II drug metabolizing enzymes / P. Jancova, P. Anzenbacher, E. Anzenbacherova // *Biomedical Papers*. - 2010. - Vol. 154, № 2. - P. 103–116. 14. Mechanism of action of sodium hypochlorite / Carlos Estrela [et al.] // *Braz. Dent. J.* - 2002. - Vol. 13, № 2. 15. Lewin, G. The antioxidant system of the organism. Theoretical basis and practical consequences / G. Lewin, I. Popov // *Medical Hypotheses*. - 1994. - Vol. 42, № 4. - P. 269-275. 16. Микробиологические показатели эффективности антисептических растворов электрохимического натрия гипохлорита / С. И. Корицова, Н. И. Миклис, А. А. Белко, И. И. Бурак // *Здоровье и окружающая среда : сборник научных трудов / Республиканский научно-практический центр гигиены*. – Минск : ГУ РНМБ, 2011. – Вып. 17. – С. 77–84.

Поступила в редакцию 17.11.2020.

УДК 619:616.98-091:636.7

ПАТОМОРФОЛОГИЯ НЕКОТОРЫХ ОРГАНОВ ИММУНОГЕНЕЗА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ВОСПРОИЗВЕДЕНИИ ПАРВОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У СОБАК

Горальский Л.П., Радзиховский Н.Л., Сокульский И.Н., Дышкант О.В.
Полесский национальный университет, г. Житомир, Украина

В статье, анализируя результаты гистологических исследований, приведены данные о микроскопическом строении органов иммунной защиты – тимуса, селезенки, лимфатических узлов собак при экспериментальном заражении их возбудителем парвовирусного энтерита.

Установлено, что у собак при экспериментальном воспроизведении парвовирусного энтерита регистрируются микроскопические изменения в органах иммунной защиты. При этом наиболее выразительными изменениями в тимусе являются нарушение процессов дифференциации лимфоцитов в тимусных дольках, в лимфатических узлах - расширение и переполнение кровью кровеносных сосудов и отек коркового и мозгового вещества, в селезенке - отек пульпы и накопления в красной пульпе гранул и зерен железосодержащего пигмента – гемосидерина, в результате распада большого количества эритроцитов.

*Обнаруженный нами комплекс гистологических изменений в органах иммунной защиты при экспериментальном воспроизведении парвовируса можно считать характерным критерием патоморфологической дифференциальной диагностики парвовирусного энтерита у собак. **Ключевые слова:** парвовирусный энтерит собак, патологоанатомическое вскрытие, гистологические изменения, селезенка, тимус, лимфатические узлы.*

PATHOMORPHOLOGY OF SOME ORGANS OF IMMUNOGENESIS OF DOGS IN THE EXPERIMENTAL REPRODUCTION OF PARVOVIRIDEA

Goralskii L.P., Radsikhovskii N.L., Sokulskiy I.N., Dyshkant O.V.
Polissya National University, Zhytomyr, Ukraine

The article, analyzing the results of histological studies, provides data on the microscopic structure of the immune defense organs - thymus, spleen, lymph nodes of dogs with experimental infection with parvovirus enteritis.

It was found that in dogs with experimental reproduction of parvovirus enteritis, microscopic changes in the organs of the immune defense are recorded. At the same time, the most expressive changes in the thymus are a violation of the processes of lymphocyte differentiation in the thymus lobules, in the lymph nodes, expansion and overflow of blood vessels and edema of the cortex and medulla, pulp edema in the spleen and accumulation of granules and grains of iron-containing pigment - hemosiderin in the as a result of the breakdown of a large number of red blood cells.

*The complex of histological changes in the immune defense organs discovered by us during the experimental reproduction of parvovirus can be considered a characteristic criterion for the pathomorphological differential diagnosis of parvovirus enteritis in dogs. **Keywords:** parvovirus enteritis of dogs, pathologic anatomical autopsy, histological changes, spleen, thymus, lymph nodes.*