

на пищевые цели без ограничений через 21 день после последнего применения препарата.

Применение данной схемы лечения является экономически обоснованным. Так, при применении препарата «Пен-Стреп» экономический эффект составил 466400 руб., а экономическая эффективность ветеринарных мероприятий на рубль затрат составила 1,5 руб.

Заключение. В результате проведенных исследований нами установлено, что применение препарата «Пен-Стреп» подкожно в дозе 1 мл на 10 кг массы животного 1 раз в день не оказывает негативного влияния на клинические, морфологические и биохимические показатели телят, сокращает сроки лечения животных и снижает затраты на проведение ветеринарных мероприятий. Мясо может быть допущено на пищевые цели без ограничений через 21 день после последнего применения препарата.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абрамов, С.С. Бронхопневмония / Профилактика незаразных болезней молодняка / С.С. Абрамов [и др.]; под ред. И.М. Карпуця. – Минск: Ураджай, 1989. – 90 с.
2. Безбородкин, Н.С. Методика определения экономической эффективности ветеринарных мероприятий / Н.С. Безбородкин. – Витебск, 2009. – 35 с.
3. Внутренние незаразные болезни животных: учебник / И.М. Карпуць [и др.]. – Минск: Беларусь, 2006. – 679 с.
4. Сборник технических нормативных правовых актов по ветеринарно-санитарной экспертизе продукции животного происхождения / под ред. Е.А. Панковца. – Минск: Дзель-91, 2008. – 303 с.

УДК 619:616.155.194.8–053.2:615:636.4

ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОБРАЗЦА ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ НАНОЭЛЕМЕНТОВ ПРИ ЖЕЛЕЗОДЕФИЦИТНОЙ АНЕМИИ ПОРОСЯТ

М.П. Кучинский

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии
им. С.Н. Вышелесского»,
г. Минск, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 07.07.2014 г.)

Аннотация. В статье представлены результаты изучения в условиях производства экспериментального образца комплексного ветеринарного

препарата «Антианемин форте», созданного на основе наночастиц железа, меди, кобальта, предназначенного в качестве средства профилактики алиментарной железодефицитной анемии животных. Опыт был организован на поросятах-сосунах, которым в трех- и пятнадцатидневном возрасте внутримышечно вводили испытуемое лекарственное средство в разовых дозах от 1,0 до 2,5 мл. Двум группам животных, сформированным по принципу условных аналогов, в те же сроки парентерально инъецировали согласно инструкции по применению препараты, содержащие 75 мг железа в 1 мл. Установлено, что экспериментальный образец хорошо переносится, не вызывает побочных эффектов, способствует росту и развитию животных. Его эффективность в качестве средства профилактики ЖДА у поросят зависит от дозы, составляет 83,3-92,3%, не уступая при этом широко применяемым в практике ветеринарной медицины железосодержащим препаратам.

Summary. The article represents the results of studying of a complex veterinary preparation “Antianemin-forte” (experimental sample). “Antianemin-forte” is based on iron, copper and cobalt nanoparticles and intended as prevention means of alimentary iron deficiency anemia of animals. Pigs in age of 3 and 15 days received tested preparation in single doses from 1,0 to 2,5 ml intramuscularly. Two groups of animals, formed according principle of conditional analogues, received veterinary preparation, that contained 75 mg of iron in 1 ml parenterally. It was established that the experimental preparation is well borne, does not cause by-effects, assists the growth and development of animals. Its preventive efficiency for IDA at piglets depends on a dose, reaches 83,3-92,3% being not inferior to the iron-containing preparations widely used in practice of veterinary medicine.

Введение. Железодефицитная анемия (ЖДА) – широко распространенное заболевание животных, характеризующееся расстройством кроветворения, нарушением пищеварения и обмена веществ, повышенной предрасположенностью к инфекционной патологии, угнетением роста и развития молодняка, а также значительным падежом. Болеют все виды сельскохозяйственных животных, но чаще – беременные, лактирующие самки и поросята. У последних, ЖДА обусловлена малыми запасами железа при рождении (не более 50 мг), низким его содержанием в молозиве и молоке, слабой биодоступностью из-за низкой кислотности в желудке, интенсивным ростом и частыми нарушениями пищеварения [6,9]. Известно, что для нормального развития поросенка в первые дни жизни ежедневно требуется 7-10 мг железа, а с молоком свиноматки он получает лишь около 1 мг, т.е. потребность удовлетворяется только на 10-14% [4]. Следовательно, уже к концу первой недели жизни поросята могут испытывать дефицит железа. В качестве клинических симптомов ЖДА отмечают вялость, снижение подвижности, бледность кожи и видимых слизистых оболочек, грубую и ломкую щетину, отечность век, желудочно-кишечные расстройства, извращение аппетита. Больные животные зарываются в подстилку,

плохо сосут матку, отстают в росте и худеют. В крови снижается уровень гемоглобина и количество эритроцитов, а также изменяется качественный состав последних. Смертность может достигать 60-80% от заболевших [9]. Но чаще ЖДА протекает в субклинической форме без клинических признаков и гематологических изменений или с менее выраженными симптомами. Следует отметить также, что дефицит железа в организме животных сопровождается не только микроцитарной гипохромной анемией, но и нарушением функции щитовидной железы, поскольку данный элемент, наряду с йодом и селеном, необходим для полноценного синтеза тиреоидных гормонов [4, 5].

С учетом вышеизложенного, для профилактики ЖДА поросят, особенно в условиях крупных свинокомплексов, обязательным элементом ветеринарных мероприятий является парентеральное применение железосодержащих препаратов. Тем не менее, эффективность таких обработок недостаточно высокая, поскольку у 30% молодняка свиней отъемного возраста могут диагностироваться клинические признаки данной болезни [5]. В значительной степени это может быть связано с тем, что в процессах гемопоэза, кроме железа, важную роль играют и многие другие микроэлементы [4, 7, 9]. Так, медь необходима для включения железа в структуру гема, образования и созревания эритроцитов. Кобальт в составе молекулы витамина В₁₂ участвует в синтезе протопорфирина, регулирующего процесс кроветворения. Кроме того, данный витамин стимулирует образование холина, нуклеиновых кислот и ресинтез метионина в организме животных, благоприятно действует на функцию печени и нервной системы.

При разработке комплексных инъекционных препаратов на основе солей металлов или их хелатных соединений исследователи сталкиваются с рядом проблем, в том числе с высокой токсичностью составных компонентов и недостаточной их биодоступностью [7]. Что касается последних, то, как показывает мировой опыт, они могут успешно решаться с помощью современного направления науки – нанотехнологий, позволяющих получать частицы чистых элементов и их соединений с размерами до 100 нм [10]. Новые (необычные) свойства наночастиц связаны с тем, что они занимают промежуточное положение между атомно-молекулярным и конденсированным состоянием веществ. Развитая поверхность ультрадисперсных систем в сочетании с особым, возбужденным состоянием поверхностных атомов и электронов предопределяет высокую их каталитическую активность. Возможности применения наночастиц металлов для диагностики и лечения различных заболеваний ныне активно изучаются и разрабатываются в новом направлении экспериментальной медицины, получившем

название «Наномедицина» [3]. Так, показано, что коллоидные растворы железа можно использовать для внутривенного введения в качестве контрастных веществ при проведении магнитно-резонансной томографии (МРТ) с целью повышения чувствительности и специфичности данного исследования [1]. Наноразмерные частицы таких металлов как меди, железа и цинка в виде суспензий оказались эффективными при местном лечении гнойных ран за счет подавления микробной флоры и регенеративного действия. Причем наиболее выраженными эти свойства оказались у ультрадисперсной меди [2]. По данным Усманова и соавт. [8], микроудобрения на основе наноматериалов позволяют использовать микроорганизмы почв для фиксации атмосферного азота, мобилизации неусваиваемых почвенных макро- и микроэлементов, снижать объемы внесения минеральных удобрений в 1,5-2,5 раза, а также повышать урожайность кукурузы на зерно в 1,3-2,5 раза и сои на 7,5 ц/га. Микроэлементы в виде ультрадисперсных порошков уже применяются и в животноводстве, входя в состав кормовых добавок.

Цель работы – оценить в условиях производства профилактическую эффективность экспериментального образца нового комплексного инъекционного препарата на основе коллоидного раствора гидроксида железа, кобальта и меди при алиментарной железодефицитной анемии поросят-сосунов.

Материал и методика исследований. Исследования проводились в условиях СПК «Валище» Пинского района Брестской области. В опыте использовался экспериментальный образец препарата «Антианемин Форте», представляющий собой стерильную непрозрачную жидкость темно-коричневого цвета, содержащую наночастицы железа, кобальта и меди в определенном соотношении. В предварительных опытах на лабораторных животных было установлено, что согласно ГОСТ 12.1.007-76 он относится к IV классу опасности (вещества малоопасные).

Для изучения профилактической эффективности препарата при железодефицитной анемии было сформировано 6 групп поросят-сосунов, по 12-14 голов в каждой, общим количеством 75 голов.

Поросятам-сосунам 1, 2 и 3 групп на третьи сутки жизни внутримышечно вводили экспериментальный препарат «Антианемин форте» в дозах соответственно 1,0; 2,0 и 2,5 мл/гол. Животным 4 и 5 групп парентерально применяли соответственно ферроглюкин-75 и ферроглюкин-ТМ в дозе 2 мл/гол. Поросята 6 группы служили в качестве контроля, им железосодержащие препараты не применялись.

На 12 сутки опыта молодняку 1-5 групп были повторно введены те же самые препараты в дозах, указанных выше. Животным 6 группы, как и в начале опыта, препараты железа не вводились.

Профилактическую эффективность препаратов оценивали по клиническому состоянию поросят, количеству заболевших, сохранности, приросту живой массы, а также путем контроля динамики морфологических, биохимических показателей в опытных и контрольной группах. Пробы крови для анализа отбирали в утренние часы из орбитального венозного синуса на 3 сутки жизни, до применения препаратов, а в последующем на 15 и 30 сутки их жизни, стабилизируя её гепарином (2,0-2,5 ЕД/мл).

Сыворотку получали после свертывания крови, центрифугуруя её в течение 10 мин при 3000 об/мин. Содержание гемоглобина, эритроцитов и тромбоцитов определяли на автоматическом гематологическом анализаторе Medonic SA 620 (Швеция), гематокрит – по общепринятой методике с использованием микроцентрифуги МЦГ-8. Биохимические показатели крови определяли с помощью автоматического биохимического анализатора Dialab Autolayser (Австрия).

Динамику роста и развития поросят учитывали по средней живой массе, определяемой в начале, середине и конце опыта, и сохранности.

Кормление животных в период проведения опыта осуществляли по технологии, принятой в указанном выше предприятии. Поросята всех групп подвергались необходимым профилактическим обработкам (вакцинациям, дегельминтизациям, витаминизациям и т.д.).

Результаты исследований и их обсуждение. При анализе результатов гематологического исследования крови поросят (таблица 1) установлено, что до внутримышечного введения различных доз антианемина форте и других железосодержащих препаратов, гематологические показатели поросят-сосунов существенных межгрупповых различий не имели.

Таблица 1 – Гематологические показатели поросят-сосунов после внутримышечного введения различных доз препарата «Антианемин форте»

Группа	Наименование показателей и возраст поросят				
	гемоглобин, г/л	эритроциты, $10^{12}/л$	средний объём эритроцитов, фл	средняя концентрация гемоглобина в эритроците, ммоль/л	гематокрит, г/л
1	2	3	4	5	6
Двое суток (до применения препаратов)					
1	92,10±1,33	3,75±0,89	59,92±1,46	18,33±0,43	29,62±0,83
2	93,72±1,22	3,61±1,23	62,10±0,81	20,60±1,28	30,51±0,84
3	90,11±0,87	4,04±0,24	61,77±1,19	21,51±0,77	30,94±1,59
4	92,66±1,12	4,07±1,09	63,23±0,82	19,78±1,22	26,18±1,72
5	90,56±0,82	3,77±1,09	58,26±0,47	19,94±0,91	27,53±0,58
6	92,33±0,99	4,04±0,33	60,31±1,02	20,52±1,79	30,25±0,89

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4	5	6
Пятнадцать суток (после двукратного применения препаратов)					
1	99,87±0,91*	5,19±1,02*	65,51±1,31*	23,58±1,61*	27,10±1,12*
2	111,13±1,09*	5,34±0,63*	66,88±1,12*	24,71±0,72*	28,6±0,84*
3	123,10±1,24*	5,43±0,75*	63,59±0,89*	24,84±1,70*	31,73±0,45*
4	106,79±0,82*	4,47±1,04	58,19±1,18	21,35±0,42	26,6±1,54
5	118,03±0,93*	5,32±0,91*	60,08±0,73	23,4±0,93	29,5±0,31*
6	83,58±1,63	4,15±1,10	58,46±1,06	20,32±1,62	23,19±0,56
Тридцать суток (после двукратного применения препаратов)					
1	110,62±1,93*	5,88±0,64	62,29±1,27	24,81±0,76	27,13±0,71
2	133,67±1,20*	5,93±0,78*	63,31±1,03*	25,85±1,04*	30,82±1,44*
3	137,79±0,87*	6,16±0,45*	63,94±0,67*	26,70±1,16*	32,57±0,65*
4	125,81±1,73*	5,80±0,94	61,02±0,85	25,32±0,85*	30,86±0,78*
5	123,17±0,53*	6,03±1,02	63,10±1,11	25,12±1,13*	32,40±1,12*
6	87,32±0,84	4,46±0,84	57,33±0,96	21,74±1,07	23,37±1,16

Примечание – * – достоверные изменения по сравнению с животными 6 группы при P<0,05

В 15-суточном возрасте количество гемоглобина у животных 1-5 групп, содержание эритроцитов и гематокритная величина у поросят 1-3 и 5 групп были достоверно выше, чем у их контрольных сверстников из 6 группы. Отметим, что максимальные значения указанных выше показателей отмечались у поросят 2 и 3 групп, что указывает на высокую функциональную активность их органов эритропоэза.

В конце эксперимента (30-дневный возраст) поросята всех опытных групп также отличались более высокой функциональной активностью кроветворных органов, при этом все анализируемые показатели были более высокими у животных, которым инъецировали антианемин форте в дозе 2 и 2,5 мл. Что касается животных контрольной группы, то у них наблюдалась низкая гематокритная величина, олигохромемия, эритроцитопения, микроцитоз и слабая насыщенность эритроцитов гемоглобином, что характерно для железодефицитной анемии.

Результаты биохимического исследования крови поросят-сосунов после внутримышечного введения различных доз препарата «Антианемин форте» представлены в таблице 2.

Анализ данных по содержанию общего белка и альбуминов показывает, что внутримышечное введение поросятам опытных групп препаратов положительно сказывается на белоксинтезирующей функции печени. При этом у животных, которым инъецировали антианемин форте в дозах 2,0 и 2,5 мл, отмечались максимальные значения указанных выше показателей. Сравнительно низкая активность аминотранс-

фераз (АлАТ, АсАТ) свидетельствует об отсутствии поражения клеток печени, почек, сердца и мышечной ткани.

Таблица 2 – Биохимические показатели поросят-сосунов после внутримышечного введения различных доз препарата «Антианемин форте»

Группа	Наименование показателей и возраст поросят				
	общий белок, г/л	альбумины, г/л	АлАТ, мкмоль/л	АсАТ, мкмоль/л	Железо сыворотки крови, мкмоль/л
Двое суток (до применения препаратов)					
1	58,19±1,02	27,29±0,72	56,69±0,97	85,83±1,25	24,35±1,20
2	60,21±0,82	28,66±0,54	60,41±1,49	89,59±1,43	25,25±1,11
3	59,40±1,48	30,52±1,02	59,92±1,36	89,87±1,39	23,48±1,21
4	61,15±0,92	29,33±1,12	59,15±1,62	90,72±1,18	22,39±0,94
5	60,14±1,22	28,27±0,92	57,28±1,53	87,27±1,28	23,22±1,15
6	59,37±1,19	26,84±0,22	62,17±1,34	88,68±1,48	24,58±1,22
Пятнадцать суток (после однократного применения препаратов)					
1	60,37±1,10	35,61±0,72	48,27±0,38*	41,27±1,16*	26,95±1,42*
2	62,45±1,32	38,22±0,62*	50,12±1,23	50,10±0,54*	28,69±1,23*
3	63,19±1,22	41,83±1,51*	37,24±0,53*	62,29±0,58*	29,27±0,81*
4	60,98±1,25	34,44±1,01	44,10±1,33*	65,52±0,24*	27,88±1,36*
5	63,70±1,42*	37,85±1,22*	39,91±0,77*	76,31±2,01	28,57±1,21*
6	58,81±0,94	31,90±1,43	53,47±0,45	78,54±1,37	21,83±1,13
Тридцать суток (после двукратного применения препаратов)					
1	62,39±0,92*	30,29±1,14	48,13±1,32*	63,61±0,57*	26,33±1,23*
2	65,93±1,14*	33,51±0,92*	46,31±0,43*	65,52±1,28*	28,63±0,78*
3	67,90±0,72*	34,82±1,22*	44,92±0,77*	66,34±2,01*	29,10±1,41*
4	62,59±0,85*	35,1±1,72*	49,47±1,22*	79,82±1,95	27,69±0,54*
5	63,91±1,02*	31,29±0,72	53,62±0,57	81,84±1,25	27,37±1,20*
6	56,48±1,34	27,79±1,41	55,75±0,44	80,75±0,76	20,77±0,98

Примечание – * – достоверные изменения по сравнению с животными 6 группы при $P < 0,05$

Уровни железа в сыворотке крови на 15-й и 30-й дни жизни были наиболее высокими у поросят 2 и 3 опытных групп и вкладывались в пределы стандартного интервала, установленного для данного вида животных. У молодняка контрольной группы содержание данного микроэлемента в 15-дневном возрасте составило лишь 21,83±1,13 мкмоль/л, что на 19,0-25,4% ниже, чем у поросят опытных групп, обработанных препаратами железа. К концу опыта данный показатель у животных 6 группы ещё больше снизился (гипосидеремия), указывая на алиментарную железodefицитную анемию.

Результаты определения живой массы, сохранности и заболеваемости алиментарной анемией животных опытных и контрольных групп представлены в таблице 3.

Из данных таблицы 3 видно, что как в середине, так и в конце опыта, живая масса поросят, обработанных экспериментальным образ-

цом препарата (1-3 группы), несколько превышала аналогичный показатель животных, которым инъекцировали традиционные лекарственные средства (4 и 5 группы), содержащие в 1 мл 75 мг железа. Живая масса поросят контрольной группы в 15 и 30-дневном возрасте была ниже опытных сверстников соответственно на 17,9-20,3 и 28,1-29,1%.

Таблица 3 – Показатели живой массы, сохранности и заболеваемости поросят-сосунов после внутримышечного введения различных доз препарата «Антианемин форте»

Группа	Наименование показателей				
	Средняя живая масса поросят в начале опыта, кг	Средняя живая масса поросят в середине опыта, кг	Средняя живая масса поросят в конце опыта, кг	Сохранность, %	Заболеваемость алиментарной анемией, %
1	1,75±0,11	4,79±0,11	7,23±0,17	100,0	16,7
2	1,79±0,14	4,76±0,16	7,25±0,21	100,0	14,3
3	1,72±0,12	4,73±0,12	7,29±0,16	92,7	7,7
4	1,77±0,15	4,65±0,15	7,22±0,19	100,0	16,7
5	1,82±0,14	4,67±0,14	7,19±0,18	92,3	23,1
6	1,80±0,16	3,82±0,18	5,17±0,24	50,0	100,0

К концу опыта сохранность в 6 группе составила 50,0%, при этом у всех выживших животных диагностировались клинические признаки алиментарной анемии. Наиболее низкая заболеваемость алиментарной анемией (7,7%) выявлена у поросят, которым парентерально вводили антианемин форте в дозе 2,5 мл.

Заключение. Таким образом, результаты научно-производственного опыта показали, что при двукратном внутримышечном введении поросятам экспериментального антианемина форте он хорошо переносится, не вызывает побочных эффектов, способствует росту и развитию животных. Его эффективность в качестве средства профилактики ЖДА у поросят несколько зависит от дозы и составляет 83,3-92,3%, не уступая при этом широко применяемым в практике ветеринарной медицины железосодержащим препаратам.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бабич, А.В. Исследование магнитных свойств коллоидного раствора, содержащего суперпарамагнитные наночастицы сложного оксида железа, при введении его лабораторным животным / А.В. Бабич, А.А. Миронова, В.Ю. Науменко [и др.] // Нанотехника. – 2012. – № 1 (29). – 46-51 с.
2. Бабушкина, И. В. Наночастицы металлов в лечении экспериментальных гнойных ран / И.В. Бабушкина // Саратовский научно-медицинский журнал. – Т. 2, №2, 2011. – 530-533 с.
3. Егорова, Е.М. Наночастицы металлов в растворах: биохимический синтез, свойства и применение: дис. д-ра хим. наук: 03.01.06 / Е.М. Егорова. – М., 2011. – 295 с.
4. Кучинский, М.П. Биоэлементы – фактор здоровья и продуктивности животных: монография / М.П. Кучинский. – Мн.: Бизнесофсет, 2007. – 372 с.
5. Кучинский, М.П. Препараты на основе биоэлементов для терапии и профилактики болезней минеральной недостаточности сельскохозяйственных животных: дис. д-ра вет. наук: 06.02.01 и 06.02.03 / М. П. Кучинский. – Мн., 2010. – 303 с.

6. Кучинский, М.П. Методические рекомендации по применению препарата «КМП Плюс» в свиноводстве / М.П. Кучинский, Д.Н. Федотов. – Мн.: РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», 2011. – 20 с.
7. Славецкая, М.Б. Сверхмалые дозы биологически активных веществ, как основа лекарственных препаратов для ветеринарии / М.Б. Славецкая, Н.А. Капай. – М.: «Аквариум Принт», 2012. – 168 с.
8. Усманов, С.И. Агрехимическая и экономическая эффективность наноматериала – микробиодобриения МЭРС марки «Б» на посевах кукурузы при снижении нормы использования аммиачной селитры в 1,5 раза и аммофоса в 2,5 раза / С.И. Усманов [и др.] // Нанотехнологии – производству 2010: Труды Международной научно-практической конференции. – М.: Концерн «Наноиндустрия», Изд. «Янус-К», 2011. – 151-154 с.
9. Уразаев, Д.Н. Биологическая роль железа. Применение железосодержащих препаратов в ветеринарной медицине: монография / Д.Н. Уразаев, А.А. Дельцов, Л.П. Парасюк, Р.Д. Уразаева – М.: Колос, 2010. – 104 с.
10. Фиговский, О.Л. Нанотехнологии и их развитие в мире и в России как зеркала технологического будущего / О.Л. Фиговский // Нанотехника. – 2012. – № 1 (29). – 3-11 с.

УДК 619:616.72-002-022.6-097:636.5-053

ИММУНОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ОРГАНАХ ИММУНИТЕТА ЦЫПЛЯТ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ РЕОВИРУСНОГО ТЕНОСИНОВИТА

Н.О. Лазовская

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 01.07.2014 г.)

***Аннотация.** В статье приведены данные по влиянию иммунизации цыплят против реовирусного теносиновита отечественной сухой живой вакциной и вакциной-аналогом на структурные изменения в иммунокомпетентных органах молодняка. Полученные результаты свидетельствуют о том, что вакцинация птицы как отечественным, так и зарубежным биопрепаратом вызывает активизацию иммуноморфологических реакций в органах иммунитета цыплят.*

***Summary.** The article presents data on the effect of immunization of chickens against reovirus tenosynovitis by a domestic dry alive vaccine and vaccine-analogue on structural changes of immune competent organs of young growth. These results indicate that vaccination of poultry, both domestic and foreign biopreparation causes activation of immunomorphological reactions in immunity organs of chickens.*

Введение. Реовирусная инфекция (теносиновит кур, вирусный артрит) – контагиозная болезнь, проявляющаяся хромотой, связанной с воспалением сухожилий и суставов конечностей, высокой ранней смертностью, плохим ростом, снижением яйценоскости и выводимости цыплят [1, 2].