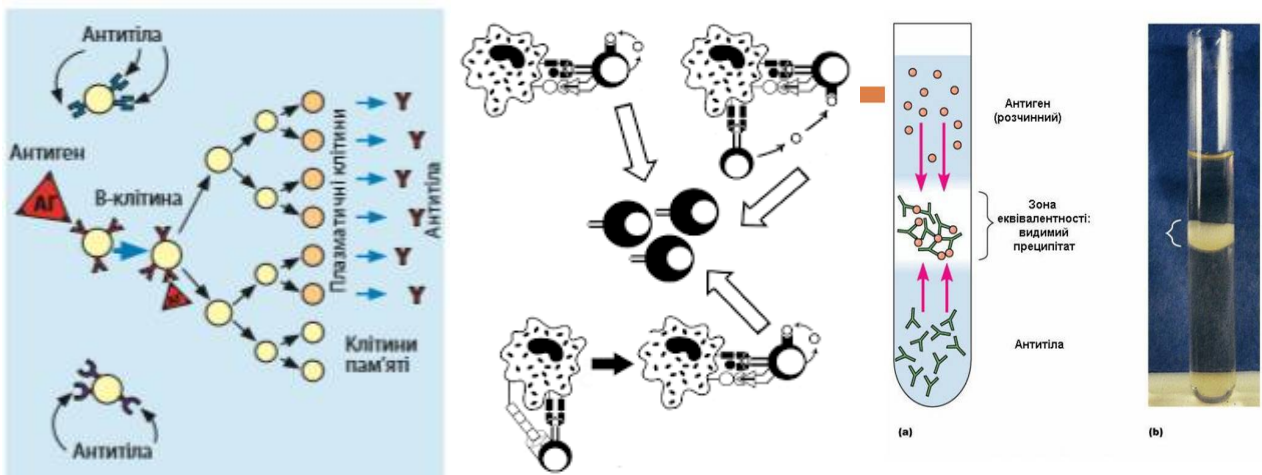


МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І  
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ  
ФАКУЛЬТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ  
КАФЕДРА ХІРУРГІЇ І ПАТОФІЗІОЛОГІЇ  
ім. акад. І. О. ПОВАЖЕНКА

# РОБОЧИЙ ЗОШИТ

## ДЛЯ ЛАБОРАТОРНИХ ЗАНЯТЬ З ДИСЦИПЛІНИ «ВЕТЕРИНАРНА ІМУНОЛОГІЯ»

*ДЛЯ СТУДЕНТІВ ОС «МАГІСТР»  
СПЕЦІАЛЬНОСТЕЙ 211 «ВЕТЕРИНАРНА МЕДИЦИНА» І  
212 «ВЕТЕРИНАРНА ГІГІЄНА, САНІТАРІЯ ТА ЕКСПЕРТИЗА»*



Студент \_\_\_\_\_ курсу \_\_\_\_\_ групи

(П.І.Б.)

КИЇВ – 2022

УДК: 619: 577.27

Викладено порядок проведення лабораторних занять із дисципліни «Ветеринарна імунологія» для студентів ОС «Магістр» із спеціальностей 211 «Ветеринарна медицина» та 212 «Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза». Робочий зошит для лабораторних робіт з дисципліни «Ветеринарна імунологія» містить необхідні відомості стосовно мети й методики проведення лабораторних занять та їх оформлення, а також найбільш доступні методи математичної обробки цифрового матеріалу.

*Розглянуто і затверджено Вченою радою факультету ветеринарної медицини Національного університету біоресурсів і природокористування України (протокол № 8 від «19» травня 2022 р.)*

**Укладачі:**

**Малюк М. О.**, доктор ветеринарних наук, професор;  
**Мазуркевич А.Й.**, доктор ветеринарних наук, професор;  
**Савчук Т. Л.**, кандидат ветеринарних наук, старший викладач;  
**Бокотько Р. Р.**, кандидат ветеринарних наук, старший викладач;  
**Харкевич Ю. О.**, кандидат ветеринарних наук, доцент.

**Рецензент:**

**Жук Юрій Васильович**, кандидат ветеринарних наук, доцент кафедри акушерства, гінекології та біотехнології відтворення тварин (Національний університет біоресурсів і природокористування України)

Навчально-методичні вказівки

**РОБОЧИЙ ЗОШИТ**

**ДЛЯ ЛАБОРАТОРНИХ ЗАНЯТЬ З ДИСЦИПЛІНИ  
«ВЕТЕРИНАРНА ІМУНОЛОГІЯ»**

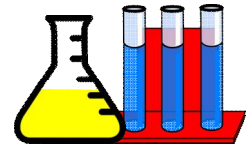
*ДЛЯ СТУДЕНТІВ ОС «МАГІСТР»*

*СПЕЦІАЛЬНОСТЕЙ 211 «ВЕТЕРИНАРНА МЕДИЦИНА» І  
212 «ВЕТЕРИНАРНА ГІГІЄНА, САНІТАРІЯ І ЕКСПЕРТИЗА»*

© **Малюк М.О., Мазуркевич А.Й.,  
Савчук Т.Л., Бокотько Р.Р.,  
Харкевич Ю.О., 2022**



## ПЕРЕДМОВА



У робочому зошиті викладений порядок проведення лабораторних занять із курсу «Ветеринарна імунологія» і він є доповненням до методичних розробок для оцінки рівня виконання студентом завдань навчальної програми дисципліни. Заповнюється особисто студентом і надається для перевірки викладачу, який веде лабораторні заняття. У ньому подані необхідні відомості стосовно мети і методики лабораторних робіт та їх оформлення.

Матеріал робочого зошита з навчальної дисципліни «Ветеринарна імунологія» побудований таким чином, щоб регламентувати самостійну роботу, на яку нині відведений значний відсоток навчальної роботи, та аудиторну її частину – лабораторне-практичне заняття з експериментом чи демонстраційним дослідом, контролем знань та умінь.

В робочому зошиті містяться методичні поради щодо виконання студентом практичних дій в лабораторних умовах (проведення експерименту з моделюванням імунологічних реакцій).

Використання методів моделювання імунологічних реакцій, де можна обійтися без використання тварин в експерименті, проводиться методом демонстрації відеороликів та комп'ютерних програм.

Використання тварин в експериментах на заняттях з «Ветеринарна імунологія» здійснюється тільки з дозволу локальної КБЕ НУБіП України, протокол № 3 від 27 лютого 2019 р.



## ПРАВИЛА ОФОРМЛЕННЯ ПРОТОКОЛІВ ЛАБОРАТОРНИХ ЗАНЯТЬ



Матеріали заняття оформляють у вигляді протоколу. В ньому потрібно вказати:

- 1) дата і номер лабораторного заняття;
- 2) назва теми;
- 3) мета заняття;
- 4) хід виконання роботи;
- 5) принцип виконання роботи;
- 6) результати лабораторної роботи та їх аналіз;
- 7) висновки;
- 8) самостійна робота: дати відповідь на поставлені питання.

З матеріалами пунктів 1—5 в зошиті, як правило, ознайомлюється під час підготовки до лабораторного заняття.

## **ПРАВИЛА РОБОТИ І ТЕХНІКА БЕЗПЕКИ В НАВЧАЛЬНІЙ ЛАБАРАТОРІЇ «ВЕТЕРИНАРНОЇ ІМУНОЛОГІЇ»**

Робота в навчальній лабораторії «Ветеринарної імунології» передбачає контакт з різними тваринами (в тому числі хворими), використання різноманітних хімічних речовин, електричних приладів.

Для створення безпечних умов роботи в навчальній лабораторії кожен здобувач вищої освіти зобов'язаний дотримуватися наступних вимог:

1. Приступати до виконання лабораторного завдання тільки після детального вивчення та усвідомлення теоретичної частини.

2. Працювати в халаті і шапочці (або косинці), а в разі потреби одягати фартух і гумові рукавиці.

3. В лабораторії заборонено приймати їжу, пити воду, палити та бешкетувати.

4. Під час роботи з лабораторними тваринами особливу увагу звертати на надійну фіксацію їх або знерухомлення.

5. Проводячи роботу на лабораторних тваринах, стежити за чистотою робочого місця і дотримуватися правил особистої гігієни. Після закінчення експерименту провести вологе прибирання робочого місця (столу, станка тощо) з використанням слабких розчинів дезінфікантів (хлораміну, вуглекислого натрію та ін.), посуд та інструменти вимити теплою водою з мийним засобом, прополоскати чистою водою і висушити. Після контакту з тваринами ретельно вимити руки.

6. Стежити за тим, щоб використовувані під час виконання лабораторних робіт хімічні речовини не потрапляли в ротову порожнину або на одяг. Піпетки індивідуального користування, дозатори-напівавтомати, бюретки використовувати після попереднього ознайомлення з інструкцією, що додається до того чи іншого дозуючого пристрою.

7. Суворо дотримуватись правил безпеки під час використання електрообладнання та приладів.

8. Запобігати прямому потраплянню сфокусованого світлового променя в око дослідника під час роботи із світловим мікроскопом.

9. Перед початком роботи в імунологічній лабораторії слід пройти інструктаж з техніки безпеки.

10. Не виходити у спецодезі за межі лабораторії.

11. У разі виникнення нещасного випадку повідомити викладача та скористатися аптечкою першої допомоги.

**З інструкцією ознайомився, студент \_\_\_ курсу, \_\_\_\_\_ групи**

---

(підпис)

---

(П.І.Б.)

## ЗМІСТ

<b>ЗАНЯТТЯ 1</b>	Ознайомлення з роботою імунологічної лабораторії та віварію, їх обладнанням і правилами безпеки.....	6
<b>ЗАНЯТТЯ 2</b>	Відібрати кров у лабораторних тварин.....	9
<b>ЗАНЯТТЯ 3</b>	Визначити стійкість антитіл і комплекта до $t 56^{\circ}\text{C}$ .....	11
<b>ЗАНЯТТЯ 4</b>	Вивчити явище адсорбції антитіл (гемолізину) на поверхні антигену (еритроцитів) (дослід Даніша).....	13
<b>ЗАНЯТТЯ 5</b>	Приготування антигенів, отримання імунних сироваток ...	15
<b>ЗАНЯТТЯ 6</b>	Фактори природної резистентності.....	18
<b>ЗАНЯТТЯ 7</b>	Визначення фракційного складу білків сироватки крові $\alpha$ -, $\beta$ -, $\gamma$ -глобулінів рефрактометричним методом.....	20
<b>ЗАНЯТТЯ 8</b>	Оцінка функціональної активності лейкоцитів крові.....	23
<b>ЗАНЯТТЯ 9</b>	Алергія.....	25
<b>ЗАНЯТТЯ 10</b>	Кількісне визначення Т- та В-лімфоцитів .....	28
<b>СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ</b> .....		30
<b>НОТАТКИ</b> .....		31



Дата « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20\_\_ р.

## ЗАНЯТТЯ № 1

### ОЗНАЙОМЛЕННЯ З РОБОТОЮ ІМУНОЛОГІЧНОЇ ЛАБОРАТОРІЇ ТА ВІВАРІЮ, ЇХ ОБЛАДНАННЯМ І ПРАВИЛАМИ БЕЗПЕКИ

**Мета роботи:** ознайомити студентів із вимогами під час роботи в імунологічній лабораторії та віварії, їх обладнанням, правилами безпеки, утримання та використання піддослідних тварин, а також принципами оцінки результатів імунологічних досліджень.

**Оснащення:** презентатор, слайди, нормативні матеріали.

#### Хід роботи

1. Ознайомити студентів з організацією імунологічної лабораторії, обладнанням та матеріалами, правила роботи в ній.
2. Види тварин, які використовуються в дослідках та експериментах.
3. Віварій та робота з тваринами (розповісти про Положення щодо утримання і використання експериментальних тварин згідно європейських норм).
4. Методи введення антигену.
5. Методи отримання крові з лабораторних тварин.
6. Евтаназія тварин.

#### Перелік обладнання імунологічної лабораторії:

1. Кабінет біологічної безпеки.
2. Центрифуга клінічна для пробірок об'ємом 5–100 мл.
3. Термостат з діапазоном робочих температур від 25 до 100 °С.
4. Набір автоматичних піпеток змінного об'єму (мінімум 3 піпетки: до 20 мкл, до 200 мкл і до 1000 мкл).
5. Одноразові поліпропіленові центрифужні пробірки з кришками, що загвинчуються або щільно закриваються, об'ємом 1–15 мл.
6. Одноразові наконечники для піпеток змінного об'єму до 20, 200 та 1000 мкл.
7. Штативи для наконечників та пробірок..
8. Холодильник з камерами, що підтримують температуру плюс 2–6 °С та мінус 18 °С (при необхідності – мінус 70 °С).
9. Ємність з дезінфекційним розчином.
10. Сушильна шафа з діапазоном робочих температур від 100 до 160 °С.
11. Лабораторний посуд.
12. Лабораторний стіл та шафа для зберігання лабораторного посуду.
13. Реактиви для імунологічних досліджень.

#### Основні вимоги до утримання лабораторних тварин

Лабораторним тваринам у віварії повинні бути забезпечені:

- ✓ повноцінні годівля та догляд;
- ✓ підтримка нормального стану здоров'я;

- ✓ утримання у відповідних для кожного виду нормативних умовах;
- ✓ можливість задоволення фізіологічних і поведінкових потреб;
- ✓ щоденний контроль умов утримання;
- ✓ швидке усунення недоліків і факторів, що можуть викликати стрес і страждання тварин.

У кожному приміщенні рекомендується утримувати тварин тільки одного виду. На кожній клітці (боксі, вольєрі) повинна бути етикетка з наведеними даними про тварину та інша спеціальна інформація. Обслуговування одним працівником тварин різного виду в розпліднику забороняється. У випадку, коли одним працівником обслуговуються невеликі групи тварин різних видів, слід дотримуватися наступної послідовності у роботі: мурчаки, миші, щури, кролі.

### Основні параметри мікроклімату для утримання лабораторних тварин у віварії

Вид тварин	Температура, °C	Відносна вологість, %	Освітленість, лк (1 м від підлоги)	Фотоперіод (світло:темрява)	Рівень шуму, дБ (не більше)	Повітрообмін, кратн. за годину	Швидкість руху повітря, м/с	Вміст аміаку, ppm	Вміст вуглекислого газу
Миші	20–24	55	200	12:12	40–50	10–15	0,3	10	0,15 %
Щури	20–24	55	200	12:12	40–50	10–15	0,3	10	–/–
Хомяки	20–24	55	200	14:10	40–50	10–15	0,3	10	–/–
Мурчаки	20–21	55	200	12:12 16:08	40–50	10–15	0,3	10	–/–
Кролі	15–21	55	200	16:08 12:12	40–50	10–15	0,3	10	–/–
Кішки	15–21	55	150	12:12	40–50	10–15	0,2	10	–/–
Собаки	15–21	55	200	12:12	40–50	8–12	0,3	10	–/–

**Висновок:** \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
 (Підпис студента про виконання лабораторної роботи)

\_\_\_\_\_  
 (Підпис викладача про виконану лабораторну роботу студентом)



## ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Які вимоги при роботі з біологічним матеріалом ? \_\_\_\_\_

---

---

---

---

---

2. Що таке імунітет? \_\_\_\_\_

---

---

---

---

---

3. Які фактори впливають на результати імунологічної лабораторної діагностики? \_\_\_\_\_

---

---

---

---

---

4. Що таке імунна реактивність? \_\_\_\_\_

---

---

---

---

---

5. Що таке адаптація? \_\_\_\_\_

---

---

---

---

---

6. Дайте визначення лейкоцитозу. Які причини виникнення лейкоцитозу ? \_\_\_\_\_

---

---

---

---

---

---

7. Що таке лейкопенія, які причини її виникнення? \_\_\_\_\_

---

---

---

---

---

---

---



Дата « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20\_\_ р.

## ЗАНЯТТЯ № 2

### ВІДБРАТИ КРОВ У ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИН

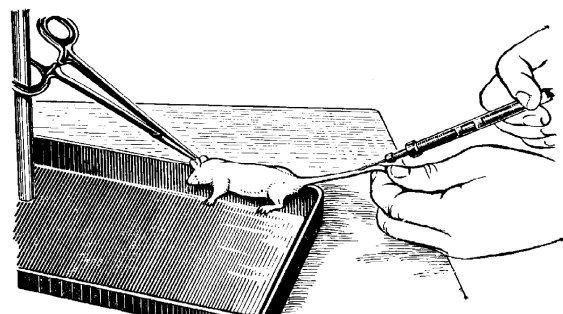
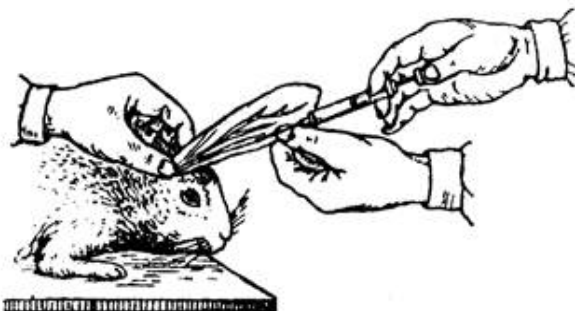
**Мета:** ознайомити студентів із технікою взяття крові у мурчаків, щурів, мишей, кролів, коней, великої і малої рогатої худоби.

**Обладнання та матеріали:** піддослідні кролі, 5 % спиртовий розчин йоду чи 70 % спирт, 3,8 % розчин лимоннокислого натрію або гепарин, спирт, штатив з пробірками, ножиці Купера, черевоподібний скальпель, голки для взяття крові, стерильні бюкси, шприци, пробірки, предметні скельця, вата.

#### Хід роботи

Перед взяттям крові тварин витримують на 12-годинній голодній дієті. Для цього необхідно:

1. Тварину надійно зафіксувати.
2. Вистригти або вибрити волосяний покрив у місці взяття крові, протерти шкіру 5 % спиртовим розчином йоду чи 70 % спиртом.
3. Для отримання стабілізованої крові у бюкс, шприц чи пробірку перед її взяттям попередньо набрати один з антикоагулянтів: 3,8 % розчин лимоннокислого натрію або гепарин з розрахунку 100–110 мкл 3,8 % розчину лимоннокислого натрію та 20 од. гепарину на 1 мл крові. Для взяття крові з метою отримання сироватки антикоагулянти не використовують.
4. Для отримання невеликої кількості крові (0,1–0,3 мл) для морфологічного аналізу у тварин з допомогою стерильної голки виконати пункцію вушної вени зовнішньої сторони вуха. Краплю свіжоотриманої крові за необхідності також можна відразу нанести на предметне скельце та зробити мазок.
5. Для одержання більшої кількості крові (1–5 мл) виконати пункцію яремної вени на межі верхньої й середньої третини шиї. Для цього великим пальцем лівої руки здавлюють вену нижче місця пункції, а потім проколюють голкою шкіру й стінку вени. Голку вводять проти току крові під кутом 45° з лівого чи правого боків. При цьому, тварину необхідно зафіксувати так, щоб голова була відведена у сторону, протилежну стороні відбору крові з яремної вени.
6. Після взяття крові місце проколу шкіри дезінфікують 5 % спиртовим розчином йоду чи 70 % спиртом.



**Висновок:** \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

(Підпис студента про виконання лабораторної роботи)

(Підпис викладача про виконану лабораторну роботу студентом)



### ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Що таке базофіли? \_\_\_\_\_

2. Що таке еозинофіли? \_\_\_\_\_

3. Що таке нейтрофіли? \_\_\_\_\_

4. Що таке моноцити? \_\_\_\_\_

5. Що таке лімфоцити? \_\_\_\_\_

6. Що відносять до факторів вродженого неспецифічного імунітету? \_\_\_\_\_

7. Яка роль природніх кілерів у неспецифічному імунному захисті організму тварин? \_\_\_\_\_



Дата « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20\_\_ р.

### ЗАНЯТТЯ № 3

## ВИЗНАЧИТИ СТІЙКІСТЬ АНТИТІЛ І КОМПЛЕМЕНТА ДО Т 56 °С

**Мета:** визначити стійкість антитіл та комплекта в імунологічній реакції гемолізу після обробки їх високою (56 °С) температурою.

Під час підготовки до заняття варто засвоїти наступні теоретичні положення: генез імунокомпетентної тканини; основні механізми формування специфічної і неспецифічної реактивності; суть імунологічних реакцій; визначення понять «антиген», «антитіло», «комплемент».

Студенту необхідно вміти: готувати посуду і реактиви для імунологічної реакції гемолізу і користуватись ними; дозувати компоненти імунологічної реакції; поводитись із термостатом, водяною серологічною банею.

**Оснащення:** гемолітична сироватка до еритроцитів барана (антитіла), 2,5 % суспензія еритроцитів крові барана у фізіологічному розчині (антиген), комплемент сироватки крові мурчака, фізіологічний розчин, штативи, пробірки, піпетки, водяна баня, термостат.

### Хід роботи

1. В пробірку № 1 до еритроцитів барана внести 0,5 мл гемолітичної сироватки, в пробірку № 2 – 0,5 мл комплекта, пробірка № 3 – контроль.

2. Перенести пробірки №№ 1 і 2 у водяну баню на 20 хв при температурі 56 °С, після чого використати у імунологічній реакції гемолізу.

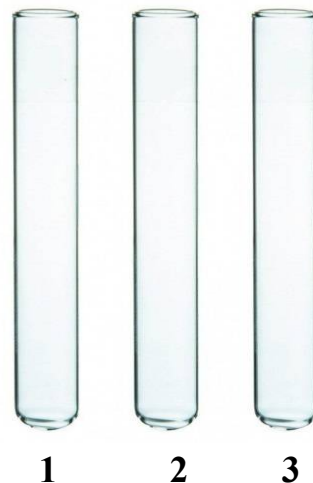
3. В усі три пробірки внести компоненти імунологічної реакції згідно таблиці:

№ пробірки	Еритроцити барана	Гемолітична сироватка	Комплемент
1	0,5 мл	0,5 мл (t 56°С)	0,5 мл
2	0,5 мл	0,5 мл	0,5 мл (t 56°С)
3	0,5 мл	0,5 мл	0,5 мл

4. Вмістиме пробірок перемішати і помістити у термостат при температурі 38 °С на 30 хв.

5. Через 30 хв прочитати реакцію. Звернути увагу на відсутність гемолізу у пробірці № 2.

6. Результати проведеної роботи занести до протоколу заняття. Проаналізувати отримані дані та зробити висновки про те, що комплемент нестійкий до нагрівання і після інкубації на водяній бані при температурі 56 °С втрачає свою біологічну активність.



**Висновок:** \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

(Підпис студента про виконання  
лабораторної роботи)



(Підпис викладача про виконану  
лабораторну роботу студентом)

### ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

**1. Що таке антиген ?** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**2. Що таке антитіло ?** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**3. Що таке аутоантигени?** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**4. Що таке імунний комплекс?** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**5. Гемолітична сироватка – це** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**6. Коротко охарактеризуйте фази серологічних реакцій.** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_



Дата « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20\_\_ р.

## ЗАНЯТТЯ № 4

### ВИВЧИТИ ЯВИЩЕ АДСОРБЦІЇ АНТИТІЛ (ГЕМОЛІЗИНІВ) НА ПОВЕРХНІ АНТИГЕНУ (ЕРИТРОЦИТІВ) (ДОСЛІД ДАНИША)

**Мета:** на прикладі імунологічної реакції гемолізу ознайомити студентів із значенням реакції адсорбції антитіл (гемолізинів) на поверхні антигену (еритроцитів) в механізмі протікання імунологічної реакції між антигеном та антитілом при додаванні антигену окремими частинами.

Під час підготовки до заняття варто засвоїти наступні теоретичні положення: генез імунокомпетентної тканини; основні механізми формування специфічної і неспецифічної реактивності; суть імунологічних реакцій; визначення понять «антиген», «антитіло», «комплемент»;

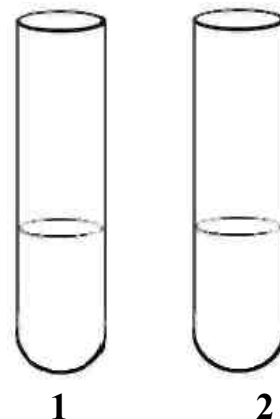
Студенту необхідно вміти: готувати посуду і реактиви для імунологічної реакції гемолізу і користуватись ними; дозувати компоненти імунологічної реакції; поводитись із термостатом, водяною серологічною банею.

**Оснащення:** гемолітична сироватка до еритроцитів барана (антитіла), 2,5 %-ва суспензія еритроцитів крові барана у фізіологічному розчині (антиген), комплемент сироватки крові мурчака, фізіологічний розчин, штативи, пробірки, піпетки, водяна баня, термостат.

#### Хід роботи

1. У пробірку № 1 внести повний набір компонентів: 2,5 % суспензію еритроцитів барана – 0,5 мл; гемолітичну сироватку – 0,5 мл; комплемент сироватки крові мурчака – 0,5 мл; в пробірку № 2: 2,5 % суспензію еритроцитів барана – 0,25 мл; гемолітичну сироватку – 0,5 мл; комплемент сироватки крові мурчака – 0,5 мл.
2. Вмістиме пробірок змішати та помістити у термостат при температурі 38 °С.
3. Через 30 хв вийняти пробірки та відмітити результати реакції.
4. У пробірку № 2 внести 0,25 мл еритроцитів барана, що залишились, і знову проби помістити у термостат при вказаній температурі.
5. Через 30 хв проби вийняти та ще раз відмітити результати реакції.
6. Результати проведеної роботи занести до протоколу заняття.

Проаналізувати отримані дані та зробити висновки, звертаючи увагу на те, що додавання антигену окремими частинами до антитіл у подальшому не викликає гемолізу, оскільки реакція являє собою складну колоїдно-хімічний процес, на першому етапі якого відбувається адсорбція антитіл на поверхні антигену і не протікає за типом кратних відношень.



**Висновок:** \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

(Підпис студента про виконання  
лабораторної роботи)



(Підпис викладача про виконану  
лабораторну роботу студентом)

### ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

**1. Що таке моноклональні антитіла?** \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**2. Що таке колостральний імунітет?** \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**3. Що таке процесинг антигену?** \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**4. У чому суть реакції зв'язування комплекменту?** \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**5. У чому полягає феномен преципітації ?** \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**6. У чому суть реакції радіальної імунодифузії ?** \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**7. Які види реакції аглютинації існують? Коротко охарактеризуйте кожну з них.** \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_



Дата « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20\_\_ р.

## ЗАНЯТТЯ № 5

### ПРИГОТУВАННЯ АНТИГЕНІВ, ОТРИМАННЯ ІМУННИХ СИРОВАТОК

**Мета:** розглянути принципи отримання корпускулярних антигенів та імунних сироваток.

Під час підготовки до заняття варто засвоїти наступні теоретичні положення: антигени, види антигенів, інактивація антигенів, принципи отримання розчинних антигенів, антитіла, імунні сироватки (анти сироватки), етапи отримання імунних сироваток.

Студенту необхідно вміти поводитись з мікробіологічними культурами, користуватись стандартами мутності, водяною банею, вміти поводитись з лабораторними тваринами, брати кров у кроля з ушної вени.

**Оснащення:** криль, добова культура *Escherichia coli* штам М-17, бактеріальні стандарти мутності, розчин NaCl (0,15 моль/л), стерильні хімічні пробірки, пастерівські піпетки, піпетки градуйовані (1 та 5 мл), скляні ампули (10 мл), металічний штатив для пробірок, водяна баня, шприци, вата, 70%-ний розчин етанолу, азид натрія, центрифуга.

#### Хід роботи

1. **Приготування бактеріальної суспензії.** В пробірку з добовою культурою кишкової палички, вирощену на скошеному м'ясо-пептонному агарі, внести 5 мл стерильного розчину NaCl та змити з поверхні середовища мікробну біомасу, перенести бактеріальну суспензію пастерівською піпеткою та тричі відмити клітини розчином NaCl шляхом центрифугування при  $5000 \text{ хв}^{-1}$  на протязі 30 хв. Перевірити чистоту отриманої бактеріальної суспензії, досліджуючи під мікроскопом мазок культури фарбованої по Граму із суспензії.

2. **Стандартизація антигену.** За допомогою стандарту мутності визначити густоту отриманої бактеріальної суспензії та приготувати із неї суміш мікробних тіл в розчині натрію хлориду ( $2 \cdot 10^8$ ,  $1 \cdot 10^9$ ,  $2 \cdot 10^9$ ,  $3 \cdot 10^9$  клітин в 1 мл) в об'ємі 10 мл. Порівнюють ступінь мутності в дослідній та еталонних пробірках помітив під пробірки цифрову таблицю.

3. **Інактивація антигену.** Стандартизовані антигени кишкової ( $2 \cdot 10^9$ ,  $3 \cdot 10^9$ ) розділити на дві частини та одну із них інактивують підігріванням на водяній бані при  $100^\circ\text{C}$  на протязі 1 год. Антигени з густотою  $2 \cdot 10^8$ ,  $1 \cdot 10^9$  дії температури не підлягають. Для перевірки стерильності одну-дві каплі інактивованого антигену засіяти в пробірку з 3-5 мл м'ясо-пептонного бульйону та інкубувати при температурі  $37^\circ\text{C}$  на протязі доби. Відсутність росту вказує на інактивацію антигену. Інактивовані антигени розлити в стерильні скляні ампули (запаяти). На етикетці вказати назву антигену, концентрацію, дату виготовлення, зберігати в холодильнику при  $4^\circ\text{C}$ . Підготовлені антигени використовують для імунізації тварин.

4. **Імунізація кроликів.** Проімунізувати кролика нативним корпускулярним антигеном кишкової палички, вводячи антиген в крайову вену вушної раковини п'ятикратно з інтервалами 6 днів по наведеній схемі (Табл.). Після введення антигену злегка зажати нижню ділянку вени та обробити місце уколу етанолом.

5. **Отримання сироватки.** Взяти кров у імунізованої тварини для отримання анти сироватки: 5-10 мл із вушної вени через 6-10 днів після закінчення курсу імунізації. Кров перенести в стерильні флакони. Пробірки становлять в термостат на 30 хв при 37°C. Відслоїти пастерівською піпеткою згусток що утворився від стінки та залишити на добу в холодильнику при 4°C. На наступний день перенести сироватку в стерильні пробірки, центрифугувати на протязі 10-15 хв. при 1000 хв<sup>-1</sup> та розлити в стерильні скляні ампули.

**Схема імунізації кролика для отримання анти сироватки до кишкової палички**

Послідовність імунізацій	Дні імунізації	Антиген	
		об'єм, мл	Кількість клітин
1	1	0,25	$2,5 \cdot 10^8$
2	7	0,5	$5 \cdot 10^8$
3	13	1,0	$1 \cdot 10^9$
4	19	2,0	$2 \cdot 10^9$
5	25	3,0	$3 \cdot 10^9$

**Висновок:** \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

(Підпис студента про виконання лабораторної роботи)

(Підпис викладача про виконану лабораторну роботу студентом)



**ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ**

1. В чому суть специфічного імунітету? \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

2. В чому суть неспецифічного імунітету? \_\_\_\_\_

---

---

---

3. Що таке гаптени? \_\_\_\_\_

---

---

---

4. У чому різниця між антигенами і гаптенами? \_\_\_\_\_

---

---

---

5. Що таке інтерферони ? \_\_\_\_\_

---

---

---

6. Що таке інтерлейкіни? \_\_\_\_\_

---

---

---

7. Що таке епітоп? \_\_\_\_\_

---

---

---

8. Що таке лізоцим? \_\_\_\_\_

---

---

---

9. Про що свідчить зниження або підвищення титру гемолізинів у сироватці крові тварин? \_\_\_\_\_

---

---

---

10. Які існують модифікації методу імунодифузії? Коротко охарактеризуйте їх. \_\_\_\_\_

---

---

---

---

---



Дата « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20\_\_ р.

## ЗАНЯТТЯ № 6

### ФАКТОРИ ПРИРОДНОЇ РЕЗИСТЕНТНОСТІ

**Мета роботи:** ознайомити студентів з методом визначення загальної кількості білку у сироватці крові клінічно здорових собак та собак з ознаками диспепсії за допомогою біуретової реакції.

Під час підготовки до заняття варто засвоїти наступні теоретичні положення: біуретова реакція.

**Оснащення:** сироватка крові від клінічно здорової собаки та собаки з ознаками диспепсії, фотоелектрокалориметр (ФЕК), стерильні пробірки, градуйовані піпетки (1, 2, 5 та 10 мл), 0,9 % розчин хлориду натрію, біуретовий реактив, кювети шириною 1 см.

#### Хід роботи

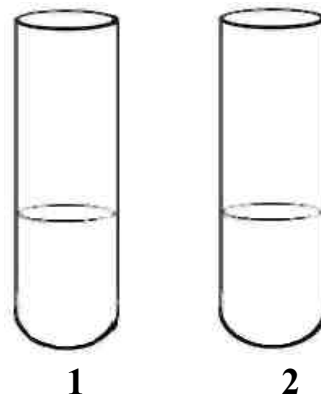
1. У дві пробірки внести по 0,1 мл сироватки крові від клінічно здорової собаки та собаки з ознаками диспепсії та додати по 5 мл робочого біуретового реактиву.

2. Вмістиме пробірок змішати, запобігаючи утворення піни та залишити на 30 хв.

3. Виміряти оптичну щільність досліджуваних сироваток крові з робочим біуретовим реактивом на ФЕК в кюветі з товщиною 1 см при довжині хвилі 540–560 нм (зелений світлофільтр), порівнюючи їх із контролем, в якому сироватку замінюють 0,1 мл 0,9 % розчину хлориду натрію.

4. Провести розрахунок результатів за каліброваним графіком.

5. Результати розрахунків занести до протоколу заняття. Проаналізувати отримані дані та зробити висновки про причини підвищеного вмісту загального білку у сироватці крові собаки з ознаками диспепсії, порівнявши отримані дані з показником вмісту загального білку у сироватці крові клінічно здорової собаки та нормою.



**Висновок:** \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

(Підпис студента про виконання лабораторної роботи)

(Підпис викладача про виконану лабораторну роботу студентом)



## ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Що таке гіперчутливість? \_\_\_\_\_

---

---

---

2. Що таке імунологічна толерантність? \_\_\_\_\_

---

---

---

3. Що таке кон'югат? \_\_\_\_\_

---

---

---

4. Що таке імуносупресія? \_\_\_\_\_

---

---

---

5. Що таке імунопатологія? \_\_\_\_\_

---

---

---

6. Що таке гуморальний імунітет? \_\_\_\_\_

---

---

---

7. Що таке клітинний імунітет? \_\_\_\_\_

---

---

---

8. Яким чином пов'язані специфічна та неспецифічна ланки імунітету? \_\_\_\_\_

---

---

---

---

---



Дата « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20\_\_ р.

## ЗАНЯТТЯ № 7

### ВИЗНАЧЕННЯ ФРАКЦІЙНОГО СКЛАДУ БІЛКІВ СИРОВАТКИ КРОВІ $\alpha$ -, $\beta$ -, $\gamma$ -ГЛОБУЛІНІВ РЕФРАКТОМЕТРИЧНИМ МЕТОДОМ

**Мета:** ознайомитися з основними методами імунохімічного аналізу, навчитися визначати загальний білок та його фракції

Під час підготовки до заняття варто засвоїти наступні теоретичні положення: імунокомпетентні клітини та їх роль у імунних реакціях, фагоцитоз.

**Оснащення:** сироватка крові, фотоелектрокалориметр (ФЕК), хімічні пробірки, піпетки градуйовані (1, 2, 5 та 10 мл), 0,9 % розчин хлориду натрію, основний фосфатний розчин, робочі фосфатні розчини №1, 2, 3, 4, штативи, біуретовий реактив, кювети шириною 1 см.

#### Хід роботи

1. Встановити у штативі 6 пробірок на кожен пробу, помітивши їх числами 1, 1, 2, 3, 4, 5.

2. У пробірку № 1 внести 10 мл дистильованої води, а в пробірки № 1, 2, 3, 4 – по 5 мл відповідних робочих фосфатних розчинів.

3. У пробірку № 6 внести 0,5 мл сироватки крові, 0,75 мл дистильованої води та 3,75 мл основного фосфатного розчину, закупорити пробкою та перемішати шляхом перевертання 5–6 разів.

4. З пробірки № 6 перенести по 0,5 мл суміші в пробірки № 2, 3, 4, 5 та 1 мл в пробірку № 1.

5. Вміст пробірок обережно перемішати, не викликаючи утворення пухирців повітря, та через 15 хвилин визначити оптичну щільність (ОЩ) розчинів в пробірках № 2, 3, 4, 5 проти контролю (№ 0) на ФЕК при червоному світофільтрі в кюветі шириною 1 см.

6. Вимірювання оптичної щільності (ОЩ) провести в зворотній послідовності: спочатку в пробірці № 5, а потім в пробірках № 4, 3, 2.

7. Розрахунок результатів провести за схемою:

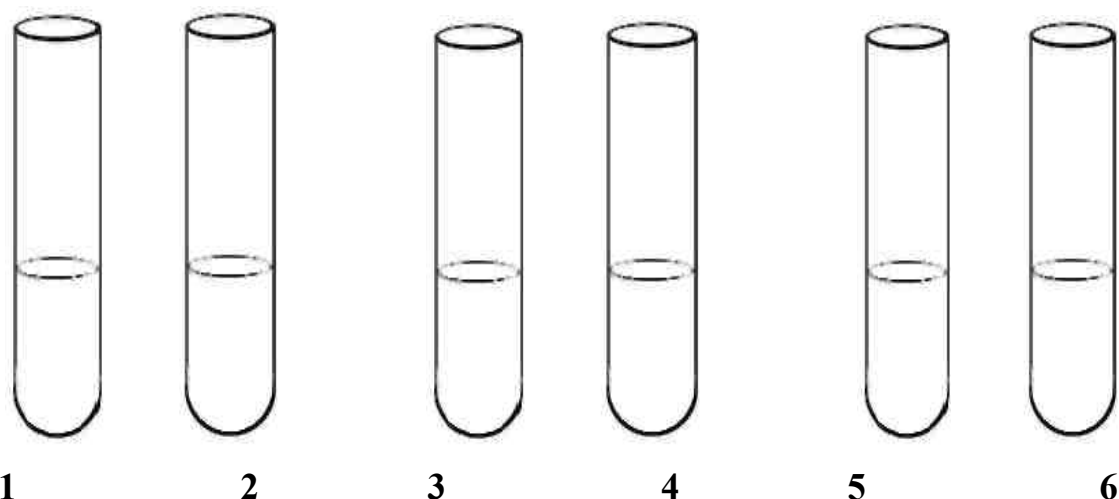
ОЩ пробірки №2 – ОЩ пробірки №3 = ОЩ альбумінів.

ОЩ пробірки №3 – ОЩ пробірки №4 = ОЩ  $\alpha$ -глобулінів.

ОЩ пробірки №4 – ОЩ пробірки №5 = ОЩ  $\beta$ -глобулінів.

ОЩ пробірки №5 = ОЩ  $\gamma$ -глобулінів.

8. Взявши суму ОЩ альбумінів та всіх глобулінових фракцій за 100 %, знайти вміст кожної фракції у відносних відсотках. Знаючи концентрацію загального білка, провести перерахунок в абсолютні величини.



**Білкові фракції сироватки крові великої рогатої худоби**

Показник	Вміст	
	%	г/л
Загальний вміст білку	100	60-80
Альбумін	30-40	20-28
Глобуліни		
$\alpha$ -глобулін	4-14	3,2-3,8
$\beta$ -глобулін	2-4	1,8-2,4
$\gamma$ -глобулін	30-35	20-24
Інші білки	20-30	14,6-20

**Висновок:** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
 (Підпис студента про виконання лабораторної роботи)

\_\_\_\_\_  
 (Підпис викладача про виконану лабораторну роботу студентом)



**ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ**

**1. Що таке фагоцити ?** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_





Дата « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20\_\_ р.

## ЗАНЯТТЯ № 8

### ОЦІНКА ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ ЛЕЙКОЦИТІВ КРОВІ

**Мета:** ознайомитись з основними методами оцінки функціональної активності лейкоцитів крові, навчитись проводити оцінку фагоцитарної активності нейтрофільних гранулоцитів.

Під час підготовки до заняття необхідно засвоїти наступні теоретичні положення: визначення понять «фагоцитоз», «імунокомпетентні клітини», «презентація антигену»; імунний статус, активність гуморального та клітинного імунітету, фактори природної резистентності.

**Оснащення:** стабілізована кров великої рогатої худоби, термостат, мікроскоп, центрифуга, пастерівські піпетки, центрифужні пробірки, предметні скельця, набір фарб для фарбування за Паппенгеймом, суміш Нікіфорова (етиловий спирт, сірчаний ефір, 1:1), культура *Staphylococcus aureus* 209-P.

#### Хід роботи

1. Стандартизують культуру *Staphylococcus aureus* 209-P, активність 1,5 млрд в 1мл використовуючи стандарти мутності.
2. В пробірку вносять 0,2 мл 1,5 млрд. 18-годинної культури стафілокока та 0,8 мл стабілізованої дослідної крові.
3. Пробірку інкубують в термостаті при 37°C на протязі 30 хвилин.
4. Після інкубації суміш центрифугують на протязі 10 хвилин при 1500 об/хв.
5. Верхній шар осаду, який складається із лейкоцитів збирають пастерівською піпеткою та на обезжирених предметних скельцях готують мазки, які фарбують за Паппенгеймом.
6. Визначають кількість бактерій, які фагоцитовані 100 нейтрофілами в декількох полях зору (фагоцитарна активність,%).
7. Вираховують фагоцитарне число, шляхом ділення загальної кількості фагоцитованих бактерій на кількість нейтрофілів (ум.од.).
8. Отримані результати порівнюють з нормою, висновки заносять в протокол заняття.

**Висновок:** \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

(Підпис студента про виконання лабораторної роботи)

(Підпис викладача про виконану лабораторну роботу студентом)



## ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Охарактеризуйте алергічну реакцію I типу. \_\_\_\_\_

---

---

---

---

---

---

---

2. Охарактеризуйте алергічну реакцію II типу. \_\_\_\_\_

---

---

---

---

---

---

---

3. Охарактеризуйте алергічну реакцію III типу. \_\_\_\_\_

---

---

---

---

---

---

---

4. Охарактеризуйте алергічну реакцію IV типу. \_\_\_\_\_

---

---

---

---

---

---

---

5. Яким способом імунізують лабораторних тварин з метою отримання клітин-гібридом? \_\_\_\_\_

---

---

---

---

---

---

---

6. Які можуть бути причини зміни показників функціональної активності нейтрофілів і макрофагів? \_\_\_\_\_

---

---

---

---

---

---

---



Дата « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20\_\_ р.

## ЗАНЯТТЯ № 2

### АЛЕРГІЯ

**Мета:** вивчити в експерименті на тваринах механізм виникнення і розвитку, основні ознаки і особливості анафілаксії. Навчитись на прикладі анафілаксії аналізувати особливості розвитку змін в організмі на різних стадіях розвитку алергічних реакцій.

Під час підготовки до заняття необхідно засвоїти наступні теоретичні положення: визначення понять «алергія», «анафілаксія», «ідіосінкразія»; види алергічних реакцій; місцевий і загальний прояв анафілаксії; стадії анафілаксії; алергічні реакції як різновид імунологічної реактивності.

**Оснащення:** морські свинки; шприці, голки, ножиці, скляна паличка, вата, спирт етиловий 60°, сироватка коняча.

#### Хід роботи

1. За три тижні до досліду сенсibiliзують морських свинок підшкірним уведенням 0,1 мл конячої сироватки.

2. В день досліду сенсibiliзований свинці вводять внутрішньовенно або безпосередньо в порожнину серця 1 мл цієї ж сироватки. Якщо сироватку ввести внутрішньочеревно в дозі 1—2 мл, то можна спостерігати чітко виражену швидкоплинну анафілактичну реакцію в легкій формі без смертельного завершення.

3. Спостерігають за розвитком основних змін в поведінці тварини. В випадку загибелі тварини роблять розтин трупа, приділяючи основну увагу стану серця і легень.

4. Результати досліду заносять в протокол заняття. Роблять висновок, що функціональні зміни органів і систем являються наслідком патобіохімічних змін, які виникають внаслідок утворення комплексу антиген — антитіло.

**Висновок:** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

(Підпис студента про виконання лабораторної роботи)

(Підпис викладача про виконану лабораторну роботу студентом)

# Анафілаксія

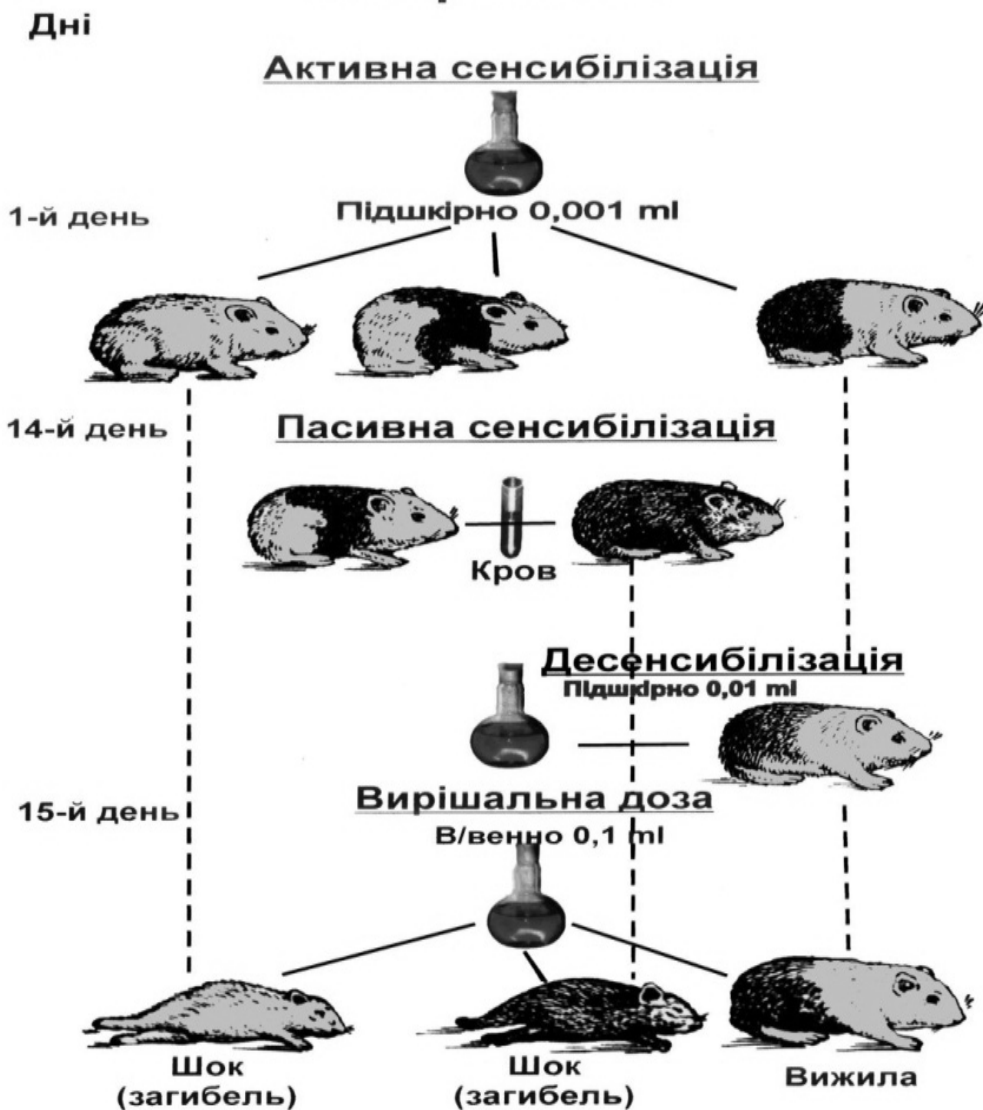


Схема проведення анафілаксії у морських свинок

## ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ



1. Що таке алергія? \_\_\_\_\_

---

---

---

---

2. Що таке анафілаксія? \_\_\_\_\_

---

---

---

---





Дата « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20\_\_ р.

## ЗАНЯТТЯ № 10

### КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ Т- ТА В-ЛІМФОЦИТІВ

**Мета:** ознайомитись з основними методами визначення Т- та В-лімфоцитів крові тварин та їх субпопуляцій, навчитись проводити оцінку стану імунної системи використовуючи дані методи.

Під час підготовки до заняття необхідно засвоїти наступні теоретичні положення: Т- та В-лімфоцити та їх роль в забезпеченні імунологічної реактивності організму, специфічні CD маркери популяцій лімфоцитів, моноклональні антитіла, методи їх отримання та застосування, визначення субпопуляцій лімфоцитів методом розеткоутворення.

**Оснащення:** стабілізована кров великої рогатої худоби, розчин фікол-уротраст (щільність 1,076-1,077), ФБР для відмивки лейкоцитів, мікроскоп, центрифуга, пастерівські піпетки, центрифужні пробірки, предметні скельця, формалін, 2% розчин метилового зеленого.

#### Хід роботи

1. Виділяють лімфоцити в градієнті щільності (фікол-уротраст).
2. Лімфоцити переносять в окрему центрифужну пробірку та відмивають ФБР тричі центрифугуванням при 1500 об/хв. на протязі 15 хвилин.
3. Стандартизують суспензію клітин до  $2 \times 10^6$  клітин в 1 мл.
4. На предметне скло наносять 10 мкл суміші лейкоцитів ( $3 \cdot 10^6$  клітин в 1 мл). Витримують в холодильнику ( $-5^\circ\text{C}$ ) на протязі 20 хв. Висушують.
5. Препарати фіксують в формаліні.
6. Вносять специфічні моноклони до маркерів (CD3, CD4, CD8, CD16, CD22).
7. Підрахунок кількості кільцеутворюючих клітин проводять під імерсією під збільшенням 900 $\times$ .
8. Отримані результати порівнюють з нормою, висновки заносять в протокол заняття.

**Висновок:** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

(Підпис студента про виконання лабораторної роботи)

(Підпис викладача про виконану лабораторну роботу студентом)



## ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Що таке Т- лімфоцити ? \_\_\_\_\_

---

---

---

2. Що таке В- лімфоцити? \_\_\_\_\_

---

---

---

3. Що таке Т-хелпери? \_\_\_\_\_

---

---

---

4. Що таке Т- кілери? \_\_\_\_\_

---

---

---

5. Що таке Т-супресори? \_\_\_\_\_

---

---

---

6. Дайте визначення CD маркерам? \_\_\_\_\_

---

---

---

7. Які класи антитіл ви знаєте? \_\_\_\_\_

---

---

---

8. Що таке макрофаг? \_\_\_\_\_

---

---

---



## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ



1. Вершигора А. Ю., Пастер Є. У., Колибо Д. В. Імунологія. Підручник. Київ. Вища школа. 2005. 599 с.
2. Галактионов В.Г. Иммунология. М.:РИЦ МДК. 2000. 488 с.
3. Гончаров А. Г., Фрейдлин И. С., Смирнов В. С. Основы клинической иммунологии и методологические подходы к оценке иммунного статуса: Практикум. Калининград. 1997. 73 с.
4. Драник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология. М. Медицинское информационное агенство. 2003. 604 с.
5. Запорожан В. М., Напханюк В. К., Горянова Н. О. Морфологія клітин крові лабораторних тварин і людини: Атлас. Одеса. 2002. 118 с.
6. Комкова О. П., Образцова А. М., Сидорова Н. А. Механизмы серологических реакций: Методические указания для студентов медицинского факультета. Петрозаводск. 2006. 223с.
7. Лебедев К.А., Понякина И.Д. Иммуная недостаточность (выявление и лечение). М. Медицинская книга. 2003. 443 с.
8. Мазуркевич А. Й., Харкевич Ю. О., Малюк М. О., Данілов В. Б., Ковпак В. В. Ветеринарна імунологія. Підручник. Київ. 2018. 331 с.
9. Мазуркевич А. Й., Скибіцький В. Г., Харкевич Ю. О., Данілов В. Б., Малюк М. О., Ковпак В. В. Ветеринарна імунологія. Практикум. Київ. «Агроосвіта» 2014. 173 с.
10. Мазуркевич А.Й., Куц Н.В. Данілов В.Б. Імунологічна (специфічна) реактивність. Методичні вказівки К. НУБіП України. 2012. 31 с.
11. Маслянко Р. Основы імунобіології. Львів, 1999. 472 с.
12. Новиков Д.К., Новикова Д.И. Оценка иммунного статуса. Москва. 1996. 228 с.
13. Путинцева О. В., Артюхов В. Г., Колтаков И. А. Иммунология практикум Часть II. Издательско-полиграфический центр Воронежского государственного университета. 2008. С. 46.
14. Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д. Иммунология. М. Мир. 2000. 592 с.
15. Ярылин А.А. Основы иммунологии: Учебник. М. Медицина. 1999. 608 с.
16. Mazurkevych A., Danilov V., Malyuk M. Basics of immunology Methodical recommendations. K. NULES of Ukraine, 2012. 41 P.
17. Saunders W.B.? Tizard Jan. Veterinary immunology: an introduction 4th ed. USA. 1992. 498 P.







**Навчально-методичні вказівки**

Микола Олексійович **МАЛЮК**  
Анатолій Йосипович **МАЗУРКЕВИЧ**  
Тарас Любомирович **САВЧУК**  
Роман Романович **БОКОТЬКО**  
Юрій Олександрович **ХАРКЕВИЧ**

**РОБОЧИЙ ЗОШИТ**  
**ДЛЯ ЛАБОРАТОРНИХ ЗАНЯТЬ З ДИСЦИПЛІНИ**  
**«ВЕТЕРИНАРНА ІМУНОЛОГІЯ»**

***ДЛЯ СТУДЕНТІВ ОС «МАГІСТР»***  
***СПЕЦІАЛЬНОСТЕЙ 211 «ВЕТЕРИНАРНА МЕДИЦИНА» і***  
***212 «ВЕТЕРИНАРНА ГІГІЄНА, САНІТАРІЯ ТА ЕКСПЕРТИЗА»***

Підписано до друку Формат 64x84/16

Ум.друк.арк. 4 Тираж 100 пр.

Віддруковано у редакційно-видавничому відділі НУБІП України  
03041, Київ, вул. Героїв Оборони, 15.