

**VIROTECH Tetanus IgG ELISA
(Tetanus IgG ELISA)**

Nr zamówienia: EC124.00

Kod barwny: biały/przezroczysty

TYLKO DO DIAGNOSTYKI IN VITRO

**Virotech Diagnostics GmbH
Waldstrasse 23 A2
63128 Dietzenbach, Germany**

**Tel.: +49(0)6074-23698-0
Fax.: +49(0)6074-23698-900
www.goldstandarddiagnostics.com**



Treść

1. Cel zastosowania	3
2. Zasada badania	3
3. Zawartość opakowania IgG.....	3
4. Przechowywanie i okres trwałości zestawu testowego oraz gotowych do użycia odczynników	3
5. Środki ostrożności i ostrzeżenia	4
6. Materiały dodatkowe, potrzebne (niezałączone w zestawie)	4
7. Wykonanie badania.....	4
7.1 Materiał do badań	4
7.2 Przygotowanie odczynników	4
7.3 Przeprowadzenie testu VIROTECH ELISA.....	5
7.4 Zastosowanie aparatury ELISA.....	5
8. Ocena wyników badania	5
8.1 Kontrola badania.....	5
8.2 Ocena	5
8.3 Interpretacja.....	6
8.4 Ograniczenia testu	7
9. Ocena wyników badania IgG metodą 4-parametrową.....	7
9.1 Kontrola badania.....	7
9.2 Przeliczenie wyników ilościowych w jednostkach międzynarodowych na mililitr (j.m./ml).....	8
10. Literatura.....	8
11. Schemat przebiegu badania	9

1. Cel zastosowania

Test ELISA Tężec służy do ilościowego oznaczenia przeciwciał IgG przeciwko (toksoid) anatoksynom tężca w celu kontroli skuteczności szczepienia oraz ustalenia statusu poszczepiennego.

2. Zasada badania

Znakowane w surowicy ludzkiej przeciwciała tworzy razem z umieszczonym na mikropłytkę antygenem kompleks immunologiczny. Niezwiązane immunoglobuliny są usuwane w procesach płukania. Z kompleksem tym łączy się koniugat enzymu. Niezwiązane immunoglobuliny są następnie usuwane w procesach płukania. Po dodaniu roztworu substratu (TMB) w wyniku aktywności enzymów (peroksydaza) powstaje niebieski barwnik, który po dodaniu roztworu zatrzymującego reakcję zabarwia się na żółto.

3. Zawartość opakowania IgG

1. **1 mikropłytkę**, składającą się z 96 łamliwych dołków opłaszczonych antygenami, liofilizowane
2. **bufor do rozcieńczania PBS (niebieski, gotowy do użycia) 2x50 ml**, pH 7,2, zawierający środki konserwujące i Tween 20
3. **roztwór do płukania PBS (20x stężony) 50 ml**, pH 7,2, zawierający środki konserwujące i Tween 20
4. **Surowice standardowe z przeciwciałami IgG dla krzywej standardowej**, 6 buteleczek po 2 ml, gotowe do użycia, surowica ludzka ze środkami konserwującymi, 0,001IU/ml, 0,002IU/ml, 0,005IU/ml, 0,01IU/ml, 0,02IU/ml, 0,05IU/ml (IU = international units, jednostki międzynarodowe).
5. **IgG kontrola wysoce pozytywna, 2 ml**, surowica ludzka ze środkami konserwującymi, gotowa do użycia
6. **IgG kontrola słabo pozytywna, 2 ml**, surowica ludzka ze środkami konserwującymi, gotowa do użycia
7. **koniugat IgG (anty-human), 11 ml**, koniugat (owczej lub koza) peroksydazy chrzanowej ze stabilizatorami białka i środkami konserwującymi i w buforze Tris, gotowy do użycia
8. **tetrametylobenzzydina – roztwór substratu (3,3',5,5'TMB), 11ml**, gotowy do użycia
9. **roztwór zatrzymujący reakcje na bazie cytrynianu, 6 ml**, zawiera mieszaninę kwasów

4. Przechowywanie i okres trwałości zestawu testowego oraz gotowych do użycia odczynników

Zestaw testowy przechowywać w temperaturze 2-8°C. Okres trwałości poszczególnych komponentów jest zaznaczony na odpowiedniej etykiecie, okres trwałości zestawu patrz certyfikat kontroli jakości.

1. Po pobraniu wymaganych pojedynczych dołków pozostałe pojedyncze dołki/paski przechowywać w zamkniętym woreczku z osuszaczami w temperaturze 2-8°C. Odczynniki natychmiast po użyciu przechowywać ponownie w temperaturze 2-8°C.
2. Gotowy do użycia koniugat oraz roztwór substratu TMB są wrażliwe na światło i muszą być przechowywane w ciemności. Jeżeli po dostaniu się światła dojdzie do przebarwienia roztworu substratu, należy go wyrzucić.
3. Wyjąć tylko potrzebną do testu ilość gotowego do użycia koniugatu lub TMB. Nadmiar wyjętego koniugatu lub TMB nie może być z powrotem odłożony, lecz należy go usunąć.

Materiał	Stan	Przechowywanie	Trwałość
Próbki	po rozcieńczeniu	+2 do +8°C	max. 6 h
	bez rozcieńczenia	+2 do +8°C	1 tydzień
Kontrola	po otwarciu	+2 do +8°C	3 miesiące
Płytkę mikrotitracyjną	po otwarciu	+2 do +8°C (przechowywanie w dostarczonej torebce z osuszaczem)	3 miesiące
Absorbent czynnika reumatoidalnego	po otwarciu	+2 do +8°C	3 miesiące
	po rozcieńczeniu	+2 do +8°C	1 tydzień
Koniugat	po otwarciu	+2 do +8°C (chroniąc przed światłem)	3 miesiące
Tetrametylobenzzydina (TMB)	po otwarciu	+2 do +8°C (chroniąc przed światłem)	3 miesiące
Roztwór zatrzymujący reakcję	po otwarciu	+2 do +8°C	3 miesiące
Roztwór do płukania	po otwarciu	+2 do +8°C	3 miesiące
	po ostatecznym rozcieńczeniu (gotowy do użycia)	+2 do +25°C	4 tygodnie

5. Środki ostrożności i ostrzeżenia

1. Jako surowice kontrolne stosowane są tylko te surowice, które były przebadane i uzyskały wynik negatywny na HIV1-AK, HIV2-AK, HCV-AK i antygen powierzchniowy wirusa Hepatitis B. Wszystkie próbki, rozcieńczone próbki, kontrole, koniugaty i mikropaski do miareczkowania należy mimo to traktować jako materiał potencjalnie zakaźny i obchodzić się z nimi odpowiednio ostrożnie. Obowiązują odpowiednie wytyczne dotyczące prac laboratoryjnych.
2. Komponenty zawierające środki konserwujące, roztwór zatrzymujący reakcję na bazie cytrynianu i TMB podrażniają skórę, oczy i błony śluzowe. W przypadku kontaktu należy natychmiast przemyć dane miejsca ciała bieżącą wodą i ewentualnie pójść do lekarza.
3. Usuwanie zużytych materiałów następuje zgodnie z wytycznymi obowiązującymi w danym kraju.

6. Materiały dodatkowe, potrzebne (niezałączone w zestawie)

1. woda destylowana/demin.
2. pipety wielokanałowe 50µl, 100µl
3. mikropipety: 10µl, 100µl, 1000µl
4. probówki
5. chusty z masy celulozowej
6. przykrywka płytek ELISA
7. pojemnik do usuwania materiałów zakaźnych
8. ręczna płuczka ELISA lub automatyczna płuczka mikropłytek
9. spektrofotometr do odczytu mikropłytek z filtrem 450/620nm (referencyjna długość fali 620-690nm)
10. inkubator

7. Wykonanie badania

Dokładne przestrzeganie przepisów roboczych VIROTECH Diagnostics jest warunkiem uzyskania prawidłowych wyników.

7.1 Materiał do badań

Jako materiał badawczy można zastosować surowicę i osocze (przy tym nie ma znaczenia rodzaj antykoagulantów), nawet jeśli w ulotce informacyjnej wymieniona jest tylko surowica.

Próbki pacjentów można przechowywać przez 1 tydzień w temperaturze 2-8°C.

Rozcieńczone próbki od pacjentów muszą być zawsze świeże podczas zastosowania. Okres trwałości maksymalnie 6h w temperaturze 2-8°C.

W celu dłuższego przechowywania surowice muszą być zamrożone. Należy unikać wielokrotnego rozmrażania.

1. Stosować tylko świeże, niedezaktywowane surowice.
2. Nie stosować próbek hiperlipemicznych, hemolitycznych, mikrobiologicznie zanieczyszczonych oraz mętnych surowic (fałszywie pozytywne/negatywne wyniki).

7.2 Przygotowanie odczynników

Diagnostyka Systemowa VIROTECH Diagnostics oferuje duży stopień elastyczności poprzez możliwość zastosowania buforu do rozcieńczania i płukania, TMB, roztworu zatrzymującego reakcję na bazie cytrynianu oraz koniugatu niezależnie od parametrów i serii.

Surowice standardowe oraz kontrole wysoce i słabo pozytywne są przeznaczone wyłącznie do stosowanego zestawu testowego. Dlatego nie stosować w innych seriach.

1. Ustawić inkubator na temperaturę 37°C i przed rozpoczęciem inkubacji sprawdzić, czy osiągnięto daną temperaturę.
2. Wszystkie odczynniki doprowadzić do temperatury pokojowej, dopiero wtedy otworzyć opakowanie z paskami testowymi.
3. Wszystkie płynne komponenty należy dobrze wymieszać przed użyciem.
4. Koncentrat roztworu do płukania dopełnić do 1 litra wodą destylowaną/demineralizowaną (w przypadku ewentualnej krystalizacji koncentratu należy przed rozcieńczeniem doprowadzić go do temperatury pokojowej i przed użyciem dobrze wstrząsnąć).

7.3 Przeprowadzenie testu VIROTECH ELISA

1. Na jedną próbę odpipetować po 100µl gotowego do użycia buforu do rozcieńczania (ślepa próba), gotowych do użycia surowic standardowych i kontrolnych oraz rozcieńczonych surowic pacjentów. Zalecamy za każdym razem podwójne oznaczenie (ślepa próba, surowice standardowe, kontrole i surowice pacjentów), w kontroli cut-off podwójne oznaczenie jest obowiązkowo konieczne. Jeśli do oceny testu metodą 4-parametrową stosowany jest standard 0,01 j.m./ml jako kontrola kalibracji, bezwzględnie konieczne jest podwójne oznaczenie. Rozcieńczenie robocze surowic pacjentów: 1+100; np. 10µl surowicy + 1ml buforu do rozcieńczania.
2. Po pipetowaniu następuje inkubacja przez 30 min w temperaturze 37 °C (z przykryciem).
3. Zakończenie okresu inkubacji poprzez 4-krotne płukanie, każdorazowo 350-400 µl roztworu do płukania na dołek. Nie pozostawiać roztworu do płukania w dołkach, lecz usunąć pozostałości płynu poprzez wystukanie na podłoże z waty celulozowej.
4. Dodać pipetami 100µl gotowego do użycia koniugatu do wszystkich dołków.
5. Inkubacja z koniugatem: 30 min. w temperaturze 37°C (z przykryciem).
6. Zakończenie inkubacji z koniugatem poprzez 4-krotne płukanie (patrz pkt 3).
7. Dodać pipetami 100µl gotowego do użycia roztworu substratu TMB do każdego dołka.
8. Inkubacja roztworu substratu: 30 min w temperaturze 37°C (z przykryciem, w ciemności).
9. Zatrzymanie reakcji substratu: do wszystkich dołków dodać pipetami po 50µl roztworu zatrzymującego reakcję na bazie cytrynianu. Ostrożnie i dokładnie wstrząsnąć płytką, aż płyny całkowicie się wymieszają i widoczny będzie jednorodnie żółty kolor.
10. Dokonać pomiaru ekstynkcji przy 450/620nm (referencyjna długość fali 620-690nm). Ustawić tak fotometr, żeby zmierzona ślepa próba była odliczona od wszystkich pozostałych ekstynkcji. Pomiar fotometryczny powinien być przeprowadzony w ciągu godziny po dodaniu roztworu zatrzymującego reakcję.

Schemat przebiegu badania patrz ostatnia strona

7.4 Zastosowanie aparatury ELISA

Wszystkie testy VIROTECH Diagnostics ELISA mogą być przetwarzane za pomocą aparatów ELISA. Użytkownik jest zobowiązany do regularnego przeprowadzania walidacji urządzeń.

VIROTECH Diagnostics zaleca następujące postępowanie:

1. Przy nastawianiu urządzenia lub większych naprawach aparatów ELISA firma VIROTECH Diagnostics zaleca przeprowadzenie walidacji urządzenia zgodnie z wytycznymi producenta urządzenia.
2. Zaleca się następnie sprawdzenie aparatu ELISA za pomocą zestawu do walidacji (EC250.00). Regularne sprawdzanie zestawem do walidacji powinno być przeprowadzane przynajmniej raz na kwartał.
3. Podczas każdego testu muszą być spełnione zezwalające kryteria zawarte w certyfikacie kontroli jakości produktu. Takie postępowanie gwarantuje nienagane działanie aparatu ELISA i służy ponadto do zapewnienia jakości pracy laboratorium.

8. Ocena wyników badania

8.1 Kontrola badania

- a) Wartości OD (gęstości optycznej)
Wartość OD ślepej próby powinna wynosić <0,15.
Wartości OD najniższego standardu (0,001 j.m./ml) powinny być większe niż wartość OD podana w certyfikacie kontroli jakości, a wartości OD najwyższego standardu (0,050 j.m./ml) powinny być niższe niż wartość OD podana w certyfikacie kontroli jakości.
- b) Ustalone stężenie kontroli słabo i wysoce pozytywnej powinno znajdować się w przedziale referencyjnym podanym w certyfikacie kontroli jakości (IU/ml).
- c) Jeśli wymagania (OD/j.m./ml) nie są spełnione, należy powtórzyć test.

8.2 Ocena

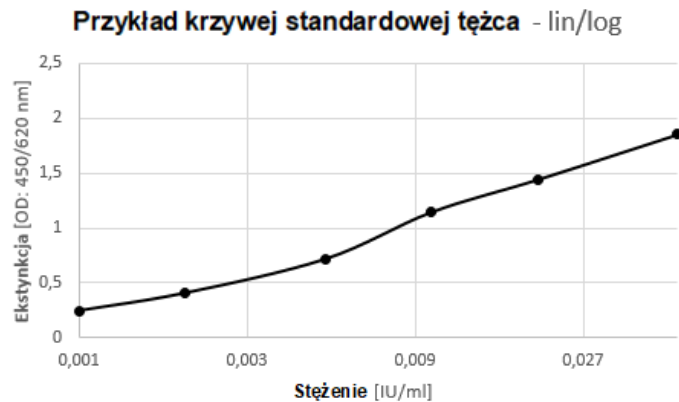
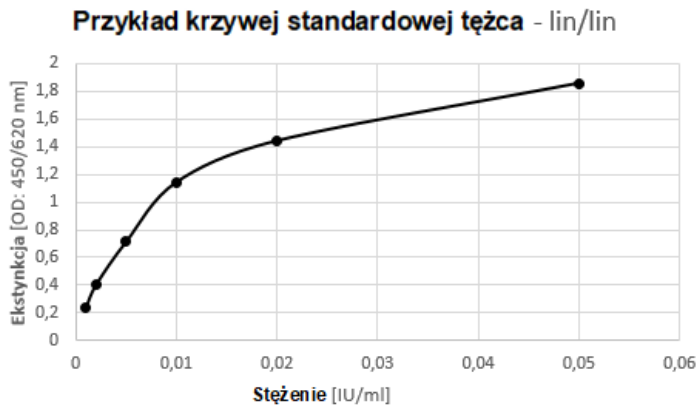
Za pomocą dostarczonych standardów sporządzana jest na załączonym półlogarytmicznym papierze milimetrowym krzywa standardowa do obliczenia zawartości przeciwciał IgG skierowanych przeciw toksynom tężca w surowicy. W tym celu należy

nanieść wartości średnie ekstynkcji podwójnie dostarczonych surowic standardowych na rzędną (oś y) oraz stężenia (IU/ml standardów gotowych do użycia) na odciętą (oś x). Należy uwzględnić, że surowice pacjentów były rozcieńczone do przeprowadzenia badania w stosunku 1:100. Z tego powodu konieczne jest pomnożenie odczytanego wyniku z diagramu przez 100. Podczas sporządzania krzywej standardowej można wybrać zarówno obliczenie krzywej od punktu do punktu, jak też obliczenie krzywej dla 4 parametrów.

Należy uwzględnić:

Próbki, których ustalone stężenia w j.m./ml wynoszą poniżej 0,1 j.m./ml, można zastosować podczas ponownej próby testowej z rozcieńczeniem 1:10. Odmienne rozcieńczenie należy uwzględnić podczas oceny.

Próbki, których wartości ekstynkcji są wyższe niż te standardu 0,05IU/ml, muszą być zastosowane w badaniu w większym rozcieńczeniu, np.: w stosunku 1:200, 1:400 itd. Przy wartościach OD powyżej 2,00 zmniejsza się dokładność pomiaru ze zwiększającą się gęstością optyczną. Z tego powodu zalecane jest stosowanie tych surowic, które przy rozcieńczeniu 1:100 uzyskują wartości OD powyżej 2,00, z większym rozcieńczeniem w teście, np. 1:200, 1:400 itd. Odbiegające rozcieńczenia muszą być uwzględnione przy ocenie.



8.3 Interpretacja

Stężenia anatoksyny (toksoid) tężca są wyrażone w oparciu o standardy WHO w Międzynarodowych Jednostkach (IU/ml). Zawartość przeciwciał IgG przeciw (toksoid) anatoksynie tężca poniżej >0,1IU/ml jest podawana jako ochrona immunologiczna (2,11) lub pewna ochrona immunologiczna (9,10). Szczepienia przypominające nie są wyświetlane przy stężeniach przeciwciał powyżej 0,5 j.m./ml (10). Poniżej chcielibyśmy zwrócić uwagę na następujące zalecenia dotyczące szczepień. Są one sporządzone na podstawie zaleceń Zespołu ds. Immunoprofilaktyki (13):

	Interpretacja i dalsze postępowanie
--	--

j.m./ml	
< 0,01	- brak ochrony poszczepiennej - w zależności od wywiadu wymagana immunizacja podstawowa lub szczepienie przypominające - kontrola serologiczna po 4-8 tygodniach
0,01 – 0,1	- ochrona poszczepienna niepewna - wymagane szczepienie przypominające - kontrola serologiczna po 4-8 tygodniach
0,11 – 0,5	- ochrona poszczepienna występuje jeszcze przez krótko - zalecane szczepienie przypominające - szczepienie przypominające prowadzi do dłuższej trwającej ochrony poszczepiennej
0,51 – 1,0	- występuje ochrona poszczepienna - zalecane szczepienie przypominające lub kontrola serologiczna po 3 latach - Wskazówka: Szczepienia przy stężeniach przeciwciał > 0,5 j.m./ml mogą prowadzić do niepożądanych działań poszczepiennych
> 1,0 – 5,0	- występuje długotrwała ochrona poszczepienna - zalecane szczepienie przypominające lub kontrola serologiczna najwcześniej po 5 latach
> 5,0 – 10,0	- występuje długotrwała ochrona poszczepienna - zalecane szczepienie przypominające lub kontrola serologiczna najwcześniej po 8 latach
> 10	- występuje długotrwała ochrona poszczepienna - zalecane szczepienie przypominające lub kontrola serologiczna najwcześniej po 10 latach

8.4 Ograniczenia testu

1. Interpretacja wyników serologicznych powinna zawsze uwzględniać obraz kliniczny, dane epidemiologiczne oraz ewentualnie dalsze będące do dyspozycji wyniki laboratoryjne.
2. Test VIROTECH ELISA Tęzec nie nadaje do diagnozy laboratoryjnej zakażenia.
3. W celu interpretacji miana antytoksyn należy powołać się na książeczkę szczepień lub informację na temat ostatniego szczepienia ochronnego przeciw tężcowi (7).
4. Interpretacja mian antytoksyn poniżej 0,1 IU/ml nie jest zalecana, ponieważ znajdują się one poniżej technicznie odtwarzalnej granicy wrażliwości przy stosowaniu systemu testów ELISA. W związku z tym należy odwołać się w indywidualnym przypadku do wywiadu dotyczącego szczepień, żeby zdecydować, czy ma być przeprowadzona immunizacja podstawowa czy szczepienie przypominające.

9. Ocena wyników badania IgG metodą 4-parametrową

Test VIROTECH ELISA tężec IgG daje możliwość przeprowadzenia oznaczenia ilościowego metodą 4-parametrową. Jako kontrola kalibracji służy tu standard 0,01 j.m./ml. Kontrola kalibracji wyrównuje wahania uwarunkowane przeprowadzeniem testu. Do obliczenia stosowane są średnie wartości OD.

9.1 Kontrola badania

a) Wartości OD

Wartość OD ślepej próby powinna wynosić <0,15.

Wartość OD kontroli kalibracji musi znajdować się w zakresie podanym w certyfikacie kontroli jakości.

b) j.m./ml

Stężenia IgG przeciwko tężec (j.m./ml) kontroli słabo pozytywnej i kontroli wysoce pozytywnej muszą znajdować się w zakresach podanych w certyfikacie kontroli jakości.

Jeśli wymagania (wartości OD, j.m./ml) nie są spełnione, należy powtórzyć test.

9.2 Przeliczenie wyników ilościowych w jednostkach międzynarodowych na mililitr (j.m./ml)

Ekstynkcja próby ślepej (450/620nm) musi być odliczona od wszystkich ekstynkcji.

Oznaczenie ilościowe surowic pacjentów następuje poprzez dostosowanie do jednostek międzynarodowych. W szczegółowych testach ustalana jest poprzez regresję nieliniową krzywa wzorcowa i opisana matematycznie następującym wzorem (12):

$$j.m./ml = \exp(-(\ln((D-A)/((OD \text{ kor})-A)-1)-B)/C)$$

Przy czym

- A: oczekiwane OD przy stężeniu IgG przeciwko tężec wynoszącym 0
B: współczynnik nachylenia
C: punkt przegięcia
D: oczekiwane OD przy nieskończenie dużym stężeniu IgG przeciwko tężec
OD kor: skorygowane OD surowicy pacjenta

W celu uwzględnienia wahań w ramach testu zmierzone OD surowicy pacjenta jest korygowane na podstawie kontroli kalibracyjnej:

$$OD_{kor} = OD \text{ surowicy pacjenta} * \frac{OD \text{ kontroli kalibracyjnej wg wytycznej}}{OD \text{ kontroli kalibracyjnej zmierzonej}}$$

Wartości parametrów A, B, C i D oraz wytyczne dla OD kontroli kalibracyjnej można znaleźć w certyfikacie.

Dla oprogramowania oceniającego niekompatybilnego z taką metodą obliczeniową w certyfikacie zdefiniowanych jest dodatkowo 6 wzorcowych par wartości, które również opisują krzywą wzorcową.

Zakres oznaczalny ilościowo wynosi od 0,01 j.m./ml do 15 j.m./ml.

Ustalenie j.m./ml

Ustalenie j.m./ml może następować za pomocą oprogramowania do nabycia od firmy VIROTECH. Alternatywnie może być udostępniony szablon do oceny do powszechnie stosowanych arkuszy kalkulacyjnych. Obliczone stężenia podają zawsze faktyczne stężenia nierozcieńczonej surowicy, gdy była rozcieńczona 1:100 w teście. Jeśli surowica była testowana w innym rozcieńczeniu, konieczne jest odpowiednie przeliczenie stężeń.

10. Literatura

1. Epidemiologisches Bulletin, 27/2002
2. Stark K, Schonfeld C, Barg J, Molz B, Vornwald A, Bienzle U, Seroprevalence and determinants of diphtheria, tetanus and poliomyelitis antibodies among adults in Berlin, Germany, Vaccine 17(7-8): 844-50 (1999)
3. Pietsch M et al., Influence of information campaigns on the vaccination immunity among the population of a small town area – seroepidemiological results of the „Wittlich Vaccination Study“, Gesundheitswesen 64 (1): 60-4 (2002)
4. Epidemiologisches Bulletin, 7/2002
5. Epidemiologisches Bulletin, 19/1999
6. Epidemiologisches Bulletin, 40/1998
7. Epidemiologisches Bulletin, 28/2001
8. Epidemiologisches Bulletin, 23/1999
9. Werner, G. T., et. al., Tetanusimmunität im Alter, Zeitschrift für Gerontologie, 16, 130-133 (1983)
10. Müller, H. E. et al., Tetanus-Schutzimpfung-Indikation und Kontraindikation, Dtsch. med. Wsch. 113 (1988), 1326-1328
11. Schröder, J. P. et al., Vermeidung hyperergischer Reaktionen bei Tetanus-Impfungen durch Einsatz eines wissensbasierten Systems bei Fragen der Impfnotwendigkeit, Klin. Lab. 1992, 38:229-233
12. Plikaytis et al., Comparisons of Standard Curve-Fitting Methods To Quantitate Neisseria meningitidis Group A Polysaccharide Antibody Levels by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, 1991, J Clin Microbiol, 29, p1439-1446
13. Arbeitskreis Immunprophylaxe, Koordinator M. Pietsch: Infektionsschutz durch Impfprophylaxe, Storch Medien & Verlag KG, Bruchsal 1999

Przygotowanie próbek pacjentów i roztworu do płukania

▼ **Roztwór do płukania:** Koncentrat dopełnić do 1 litra wodą destylowaną/demin.

▼ **Rozcieńczenie próbki IgG w stosunku 1:101**

np.:
10 µl surowicy/osocza + 1000 µl buforu do rozcieńczania
(Roztwór do rozcieńczania surowicy jest gotowy do użycia)

Wykonanie badania

Inkubacja próbek



4x płukanie



Inkubacja
koniugatu



4x płukanie



Inkubacja substratu



Zatrzymanie



Pomiar ekstynkcji

30 minut w temperaturze 37°C.

30 minut w temperaturze 37°C.

30 minut w temperaturze 37°C.

100 µl próbek pacjentów

Próba ślepa (bufor do rozcieńczania)
standardy i kontrole

400 µl roztworu do płukania

dobrze wytrząsnąć

100 µl koniugatu

IgG

400 µl roztworu do płukania

dobrze wytrząsnąć

100 µl substratu

50 µl roztworu do zatrzymania reakcji

ostrożnie wstrząsnąć

Fotometr przy 450/620nm
(referencyjna długość fali 620-690nm)