この電子添文をよく読んでから使用してください。
また、最新の電子添文を必ず確認してください。

体外診断用医薬品
承認番号 22800AMX00713000

＊＊ 2022年8月改訂（第7版）
＊ 2022年5月改訂（第6版）

カルプロテクチンキット

カルプロテクチン モチダ

CALPROTECTIN MOCHIDA

（酵素免疫測定法）

【全般的な注意】

（1） 本製品は体外診断用であり、それ以外の目的に使用しないでください。
＊＊（2） この電子添文に記載された使用方法に従って使用してください。記載された使用方法及び使用目的以外での使用については、測定値の信頼性を保証しかねます。
（3） 標準カルプロテクチンA～E、コントロールL及びHには、ヒト由来成分が含まれておりますので、ウイルス感染等危険性があるものとして、検体と同様に十分注意して取り扱ってください。なお、本製品に使用しているヒト由来成分は、HBs抗原、HIV-1/HIV-2抗体及びHCV抗体検査を行い、陰性の結果を得ています。
（4） 使用する機器の取扱説明書をよく読んでから使用してください。
（5） 本品の測定結果のみで判断を行うことは避けてください。測定結果に基づく臨床診断は、臨床症状や治療経過、他の検査結果と併せて担当医師が総合的に判断してください。

【形状・構造等（キットの構成）】

＜試薬＞

（1） 抗体結合プレート（8ウェル×12ストリップ）
（抗カルプロテクチンモノクローナル抗体（マウス）結合プレート）
（2） 免疫反応用緩衝液
（3） 酵素標識抗体液（ペルオキシダーゼ結合抗カルプロテクチンモノクローナル抗体（マウス）を含有）
（4） 発色液（3, 3', 5, 5' －テトラメチルベンジジンを含有）
（5） 停止液（硫酸を含有）
（6） 洗浄液
（7） 抽出液
（8） 標準カルプロテクチンA　4 ng/mL
（9） 標準カルプロテクチンB　12 ng/mL
（10） 標準カルプロテクチンC　40 ng/mL
（11） 標準カルプロテクチンD　120 ng/mL
（12） 標準カルプロテクチンE　240 ng/mL
（13） コントロールL※1
（14） コントロールH※1

※1 コントロールL及びコントロールHは、精度管理用として使用してください。また測定値の管理幅については、同封のコントロール値シートを参照してください。

＊【使用目的】

糞便中のカルプロテクチンの測定（炎症性腸疾患の診断補助及び病態把握の補助）

【測定原理】

本製品は、サンドイッチ酵素免疫測定法を測定原理とした検体中のカルプロテクチン測定試薬です。抗カルプロテクチンモノクローナル抗体（マウス）を結合させた抗体結合プレートに、試料中のカルプロテクチン（抗原）を反応させ、次いで酵素標識抗体となるペルオキシダーゼ結合抗カルプロテクチンモノクローナル抗体（マウス）を反応させると、「抗体結合プレート－抗原－酵素標識抗体」のサンドイッチ状の複合体が形成されます。抗体結合プレートに結合した酵素の量は抗原量に比例することから、発色液を加えて酵素反応を行い、次いで停止液を加えて反応停止させた後に吸光度を測定することにより、あらかじめ既知濃度の標準カルプロテクチンを用いて作成した検量線から試料中のカルプロテクチン濃度を求めます。得られた試料中のカルプロテクチン濃度と抽出時の検体の重量を用いて、検体中のカルプロテクチン濃度を算出します。

【操作上の注意】

＜測定試料の性質、採取法＞

（1） 検体が乾燥すると、測定値に影響を及ぼす恐れがあります。採取後の検体は速やかに密閉して保存してください。
（2） 検体を保存する場合は、－20℃以下で凍結保存してください。
（3） 凍結検体の使用に際しては素早く融解し、すぐに測定を行ってください。再測定が予想される場合はあらかじめ必要量を再測定用として小分けして凍結保存するなどし、凍結融解の繰り返しは避けてください。

＜その他＞

（1） 測定範囲の上限を超えた試料やあらかじめ高値が予想される試料については、免疫反応用緩衝液で希釈して測定してください。測定により得られた試料中のカルプロテクチン濃度に追加で行った希釈倍数を乗じて測定値とし、検体中のカルプロテクチン濃度を算出してください。

【用法・用量（操作方法）】

＜試薬の調製法＞

（1） 洗浄液：室温に戻して混和し、結晶がないことを確認してから精製水で10倍に希釈して使用してください。
（2） その他の試薬は室温に戻してから、そのまま使用してください。

＜必要な器具・器材・試料等＞

・ディスポーザブルチューブ（5～15mL程度）
・スパチュラ
・電子天秤
・マイクロピペット
・ボルテックスミキサー
・マイクロチューブ（1.5mL）
・遠心機（3,000×g）
・プレートローテーターまたはシェーカー
・プレートリーダー
・プレートシール（付属品3枚）

＜試料の調製法＞

①専用容器を使用しない場合

（1） スパチュラを用いて 60 ～ 100mg の検体をディスポーザブルチューブ（5 ～ 15mL 程度）にとり、正確に重量を量ります。
（2） 4mL の抽出液をディスポーザブルチューブ（5 ～ 15mL 程度）に加え、蓋をします。
（3） ボルテックスミキサーを用いて攪拌します。目視で検体が完全にほぐれるまで実施します。
（4） 約 1mL の懸濁液をマイクロチューブ（1.5mL）に移し、3,000×g、5 分間の遠心分離を行います。
（5） 遠心後の上清を回収します。
（6） 回収した上清を免疫反応用緩衝液で 50 倍に希釈し、試料とします。

②専用容器を使用する場合

（1） 専用容器の青色キャップを開けて 5mL の抽出液を加え、青色キャップをしっかり閉めます。
（2） 白色キャップを上にして専用容器本体を持ち、時計回りに回しながら引き上げて、白色のサンプリングピンを取り外します。
（3） サンプリングピンの先端（溝がある方）を便サンプルに刺し、ねじりながら引き抜くことで検体を付着させます。溝に検体を完全に満たすために、便サンプルの 3 ～ 5 つの異なる部位で上記手順を繰り返し、すべての溝に検体が満たされていることを確認します。なお、サンプリングピンの先端が便で覆われていても、余分な便は次のステップで取り除かれるため、問題ありません。
（4） 検体が付着したサンプリングピンを専用容器に戻し、カチッとした音がするまで白色キャップを押し込みます。
（5） 専用容器の白色キャップを下にし、ボルテックスミキサーを用いて約 30 秒間攪拌します。目視にて溝に検体が残っていないことを確認できるまで、この操作を繰り返します。
（6） 専用容器の白色キャップ側を下にして、10 分間静置させます。なお、必要に応じ、専用容器の白色キャップを下にした状態で、500 ～ 3,000 × g、5 分間の遠心分離を行うこともできます。
（7） 青色キャップを開けて、上清を回収します。
（8） 回収した上清を免疫反応用緩衝液で 5 倍に希釈し、試料とします。

＜標準操作法＞

（1） 抗体結合プレートの袋を開封し、必要数のストリップを取り出します。なお使用しないストリップは袋に入れて密閉し、冷蔵で保存してください。
（2） 抗体結合プレートの各ウェルを、350μL の洗浄液で 2 回洗浄します。
（3） ブランクとする免疫反応用緩衝液、各濃度の標準カルプロテクチン（A ～ E）、コントロール L 及び H、試料をウェルに 100μL ずつ加え、プレートシールをします。
（4） プレートローテーター等（500rpm 程度）で混和しながら、18 ～ 28℃で 30 分間（± 5 分）反応します（第 1 反応）。
（5） プレートシールをはがし、350μL の洗浄液で 3 回洗浄します（B/F 分離）。
（6） 各ウェルに 100μL の酵素標識抗体液を加え、プレートシールをします。
（7） プレートローテーター等（500rpm 程度）で混和しながら、18 ～ 28℃で 30 分間（± 5 分）反応します（第 2 反応）。
（8） プレートシールをはがし、350μL の洗浄液で 5 回洗浄します（B/F 分離）。
（9） 各ウェルに 100μL の発色液を加え、プレートシールをします。
（10） プレートローテーター等（500rpm 程度）で混和しながら、18 ～ 28℃で 15 分間（± 2 分）反応します（酵素反応）。
（11） プレートシールをはがし、各ウェルに 100μL の停止液を加えます。
（12） プレートリーダーで、速やかに波長 450nm の吸光度を測定します。



＜検体中のカルプロテクチン濃度の求め方＞

（1） 各標準カルプロテクチンの表示濃度を常用対数の横軸とし、各標準カルプロテクチンの吸光度からブランクとした免疫反応用緩衝液の吸光度を差し引いた数値を常用対数の縦軸としてプロットし、検量線を作成します。
（2） 試料の吸光度からブランクとした免疫反応用緩衝液の吸光度を差し引いた数値を検量線にあてはめて、試料中のカルプロテクチン濃度を求めます。
（3） 得られた試料のカルプロテクチン濃度を次式にあてはめて、検体中のカルプロテクチン濃度を算出します。

①専用容器を使用しない場合

$$\text{検体中のカルプロテクチン濃度（μg/g）} = \frac{\text{抽出液 4mL}}{\text{検体の重量（mg）}} \times 50 \times \text{試料中のカルプロテクチン濃度（ng/mL）}$$

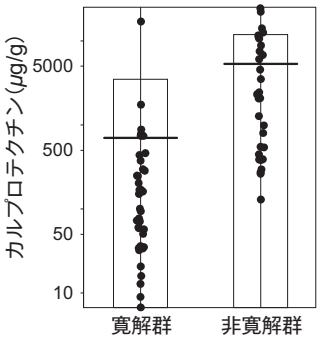
②専用容器を使用する場合

$$\text{検体中のカルプロテクチン濃度（μg/g）} = \frac{\text{抽出液 5mL}}{\text{検体 10mg}} \times 5 \times \text{試料中のカルプロテクチン濃度（ng/mL）}$$

【測定結果の判定法】

①潰瘍性大腸炎の病態把握の補助における参考基準値
240μg/g（糞便中のカルプロテクチン濃度として）

本品の臨床性能試験において Disease Activity Index（DAI）内視鏡スコア 1 以下を内視鏡的寛解としたとき、内視鏡的寛解の潰瘍性大腸炎群（寛解群）37 例と非内視鏡的寛解の潰瘍性大腸炎群（非寛解群）30 例の糞便中のカルプロテクチンを測定したところ、図 A の結果が得られました。また両群に対して ROC 解析を行ったところ曲線下面積は 0.896 が得られました。更に参考基準値を 240μg/g としたとき、感度＝0.967 及び特異度＝0.649、陽性的中率＝69.0％及び陰性的中率＝96.0％、判定一致率 79.1％の結果が得られました（表 B 及び表 C）。なお判定で不一致のみられた 14 例の内訳については、表 D の通りでした。また計 67 例に対して他の設定値を用いた場合の試験成績については、表 C の結果が得られています。



【寛解群】
n：37例
平均値：700.8μg/g、SD：2771.8

【非寛解群】
n：30例
平均値：5308.6μg/g、SD：6538.6

【Mann-Whitney検定】
p<0.001

図A：寛解群と非寛解群のカルプロテクチン値

表 B：参考基準値 240μg/g における DAI 内視鏡スコアとの一致率

		DAI 内視鏡スコア		計
		2 ～ 3	0 ～ 1	
カルプロテクチン	240μg/g 以上	29 例	13 例	42 例
	240μg/g 未満	1 例	24 例	25 例
計		30 例	37 例	67 例

判定一致率：79.1%

表 C：各設定値における診断性能（n＝67）

カルプロテクチン設定値（μg/g）	200	240	280	320	360
感度	0.967	0.967	0.900	0.867	0.867
特異度	0.622	0.649	0.703	0.757	0.757
陽性的中率	67.4%	69.0%	71.1%	74.3%	74.3%
陰性的中率	95.8%	96.0%	89.7%	87.5%	87.5%
判定一致率	77.6%	79.1%	79.1%	80.6%	80.6%

表 D：DAI 内視鏡スコアとの判定不一致例の詳細

症例	カルプロテクチン（μg/g）	DAI 内視鏡スコア	DAI スコア	Lichtiger Index	所見
1	129.0	2	6	7	左側大腸炎
2	245.9	0	3	6	全大腸炎
3	249.1	0	1	6	左側大腸炎
4	284.1	1	4	N.D.	左側大腸炎
5	296.3	1	3	4	全大腸炎
6	375.2	0	0	N.D.	直腸炎
7	436.8	0	0	4	全大腸炎
8	460.8	0	1	6	左側大腸炎
9	736.6	1	5	5	左側大腸炎
10	741.9	1	5	10	全大腸炎
11	781.5	0	1	3	全大腸炎
12	878.8	1	2	1	全大腸炎
13	1,735.4	0	0	1	全大腸炎
14	16,977.6	1	4	5	左側大腸炎

＊②クローン病の病態把握の補助における参考基準値
80μg/g 以下（糞便中のカルプロテクチン濃度として）
相関性試験に用いた FEIA 法によるクローン病の腸管炎症群と非炎症群の検討結果より、クローン病の内視鏡的非活動状態の指標として 80μg/g 以下を設定しました。
③健康人における参考値
94.0μg/g（糞便中のカルプロテクチン濃度として）
Stephane N.[(1)] らは本品と同一の仕様である BÜHLMANN Laboratories AG 社製の「Calprotectin ELISA Kit」を用いて 24 例の Healthy volunteers での検討を行ったところ、Mean＝43.0μg/g 及び SD＝26.0、また 95%予測区間にて 0 ～ 94.0μg/g の結果を得ています。

＜判定上の注意＞

（1） 大腸癌、ポリープ（5mm 以上）、憩室炎を有する例については、測定値が高めになる場合があります。
（2） NSAIDs（非ステロイド性抗炎症薬）を使用している場合は、測定値が高めになる場合があります。
（3） 内視鏡検査後 3 日以内に採便した場合は、測定値が高めになる場合があります。
（4） 検体中に非特異反応物質が存在する場合は、正しい測定結果が得られないことがありますので、測定結果の判定は他の検査や臨床症状等を考慮して担当医師が総合的に判断してください。

＊【臨床的意義】

カルプロテクチンは主に好中球より分泌されるカルシウム結合タンパクで､好中球のサイトゾルに高濃度に存在します。好中球の全タンパク質の 5%を占めるカルプロテクチンは、炎症性サイトカインや細菌産物、上皮細胞分化調節因子により調節され、上皮において発現されます。炎症性腸疾患においては、炎症を引き起こしている腸上皮に対して細菌や真菌類の侵入を防止するべく誘導された好中球の貪食殺菌作用に伴い、好中球から腸管腔へカルプロテクチンが放出されてきます。腸管腔へ放出されたカルプロテクチンは便と共に体外へ排泄されることから、検体中のカルプロテクチン濃度を把握することにより炎症性腸疾患の診断補助及び病態把握の補助として用いることができます。

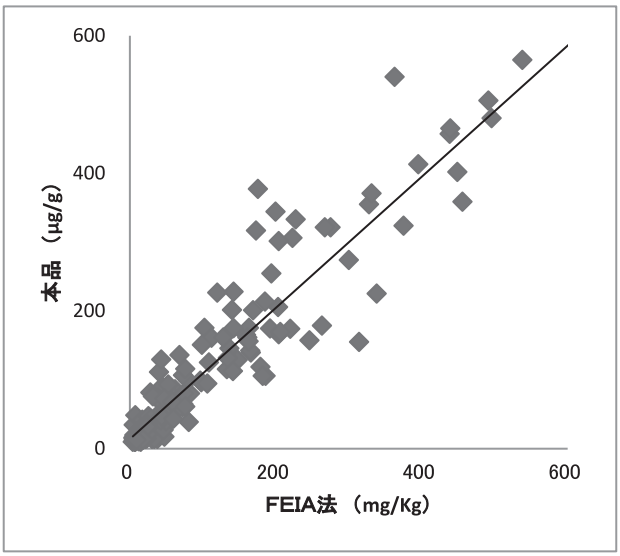
【性　能】

＜性　能＞

（1） 感度
免疫反応用緩衝液を試料として操作した場合の吸光度を A とし、240 ng/mL の標準カルプロテクチンを試料として操作した場合の吸光度を B としたとき、吸光度差（B － A）の値は 1.0 以上です。
（2） 正確性
既知濃度の管理検体を測定したとき、測定値（ng/mL）は既知濃度±20%以内にあります。
（3） 同時再現性
同一の管理検体を 5 回同時に測定したとき、測定値（ng/mL）の変動係数（CV）は 15%以下です。
（4） 測定範囲
・試料中のカルプロテクチン濃度として：4 ～ 240 ng/mL
・検体中のカルプロテクチン濃度として：10 ～ 600μg/g
（検体量が 80mg の場合）

＊＜相関性試験成績＞

潰瘍性大腸炎およびクローン病検体を用いた他法との相関



検体	糞便
相関係数	r ＝ 0.935（n=160）
回帰式	y ＝ 0.95 x ＋ 14.00
y	本品（μg/g）
x	FEIA 法（mg/kg）

＜較正用の基準物質（標準物質）＞

自社一次標準物質

【使用上又は取扱い上の注意】

＜取扱い上（危険防止）の注意＞

（1） 検体はウイルス等の感染の危険性を考慮して取り扱ってください。検査にあたっては感染の危険を避けるため使い捨て手袋を着用し、また口によるピペッティングを行わないでください。
（2） 試薬が誤って目や口に入ったり、皮膚に付着した場合には、直ちに大量の水で洗い流し、必要があれば医師の手当等を受けてください。

＜使用上の注意＞

（1） 試薬は指定された条件で保管し、使用期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
（2） 誤って凍結させた試薬は使用しないでください。正しい結果が得られないことがあります。
（3） 測定終了後に残った試薬は、密封して 2 ～ 10℃で保存してください。
（4） 本製品中の容器、付属品は他の目的に転用しないでください。
（5） ロットの異なる試薬を混合して使用しないでください。

＜廃棄上の注意＞

（1） 検体と接触した試薬及び試薬容器等は、感染の危険性がありますので、次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素濃度 1000ppm、1 時間以上浸漬）による消毒処理あるいはオートクレーブ（121℃、20 分以上）による滅菌処理を行ってから廃棄してください。
（2） 廃棄に際しては廃棄物の処理及び清掃に関する法律（廃棄物処理法）及び水質汚濁防止法等の規定に従って適切に処理してください。
（3） 検体、廃液等が飛散した場合には次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素濃度 1000ppm）、グルタルアルデヒド（2%）等の消毒液を用いてふき取ってください。

【貯蔵方法・有効期間】

＜貯蔵方法＞ 2 ～ 10 ℃保存

＜有効期間＞ 製造後 1 年間
（使用期限は外箱に記載してあります。）

【包装単位】

1 プレート（96 テスト用）

*【主要文献】

（1） Stephane N., et al : Inflamm. Bowel Dis., 19（5）, 1043（2013）
（2） Roseth A. G., et al : Scand. J. Gastroenterol., 34, 50（1999）
（3） 花井洋行 他 : 日本消化器病学会雑誌 , 100, 21（2003）
（4） Aomatsu T., et al : Dig. Dis. Sci., 56（8）, 2372（2011）
（5） Nakamura S., et al : Intest. Res., 16（4）, 554（2018）

【問い合わせ先】

持田製薬株式会社
くすり相談窓口
〒160-8515　東京都新宿区四谷 1 丁目 7 番地
TEL（03）5229-3906　0120-189-522　FAX（03）5229-3955

【製造販売元】

三洋化成工業株式会社
京都市東山区本町11丁目721番地
TEL(075)541−6318

【販 売】

MOCHIDA 持田製薬株式会社
東京都新宿区四谷1丁目7番地

【提 携】

BÜHLMANN