

NEPHROCHECK® Test Kit Package Insert



Manufactured for
Astute Medical, Inc.
3550 General Atomics Ct.
Building 2
San Diego, CA 92121
USA

Intended Use

The Astute Medical NEPHROCHECK® Test System is intended to be used in conjunction with clinical evaluation in patients who currently have or have had within the past 24 hours acute cardiovascular and/or respiratory compromise and are ICU patients as an aid in the risk assessment for moderate or severe acute kidney injury (AKI) within 12 hours of patient assessment. The NEPHROCHECK® Test System is intended to be used in patients 21 years of age or older.

Summary and Explanation of the Test

Insulin-like Growth Factor Binding Protein 7 (IGFBP-7) is a soluble protein of about 26K Dalton molecular weight that is expressed in kidney and other tissues.¹ IGFBP-7 is thought to be involved or induced in several types of processes that have been associated with cellular injury.²⁻⁸ Tissue Inhibitor of Metalloproteinase 2 (TIMP-2) is a soluble protein of about 22K Dalton molecular weight that is expressed in kidney and other tissues.⁹ TIMP-2 binds to and inhibits the activity of various metalloproteinases (MMPs).¹⁰ TIMP-2 also activates MMP2. Through its action on the MMPs, TIMP-2 is thought to be involved or induced in several processes associated with leukocyte infiltration, cellular injury and disruption of cell contacts.¹¹⁻¹⁶ TIMP-2 and IGFBP-7 are also both involved with the phenomenon of G1 cell cycle arrest during the very early phases of cell injury.¹⁷⁻²⁰

AKI engages a series of extremely complex cellular and molecular pathways involving endothelial, epithelial, inflammatory, and interstitial cells. These mechanisms include cell cycle, immunity, inflammation, and apoptosis pathways. Recently, it has been shown that, similar to other epithelia, renal tubular cells enter a short period of G1 cell-cycle arrest following injury from experimental sepsis² or ischemia.²¹ It is believed that this prevents cells from dividing when the DNA may be damaged and arrests the process of cell division until the damage can be repaired lest resulting in the cell's demise or senescence.¹⁸ TIMP-2 and IGFBP-7 are also known to be involved in the response to a wide variety of insults (inflammation, oxidative stress, ultraviolet radiation, drugs, and toxins).^{19,20,22} This may help explain why they correspond to risk of AKI.

Studies to evaluate the combination of TIMP-2 and IGFBP-7 for risk assessment of human AKI are now entering the literature. In one publication²³, two multicenter observational studies in the intended use patients were performed. The first study enrolled 522 adults in three distinct cohorts (including patients with sepsis, shock, major surgery, and trauma) and examined over 300 potential AKI markers. The second study enrolled 744 adult subjects with critical illness and without evidence of AKI at enrollment; the final analysis cohort was a heterogeneous sample of 728 intended use patients. The primary endpoint was moderate to severe AKI within 12 hours of sample collection. The study revealed that urinary IGFBP-7 and TIMP-2, together, demonstrated an AUC of 0.80. Furthermore, [TIMP-2]:[IGFBP-7] significantly improved risk stratification when added to a nine-variable clinical model when analyzed using Cox proportional hazards model, generalized estimating equation, integrated discrimination improvement or net reclassification improvement.

AKI is one of the more prevalent and serious morbidities in hospitalized patients and is associated with a multitude of acute and chronic conditions.²⁴⁻²⁹ The economic and public health burden of AKI is staggering with substantially increased mortality, morbidity, length of ICU stay and in-hospital costs, as well as longer term health consequences.³⁰⁻³⁶ Tests to assess AKI provide important information to physicians and, in conjunction with other available clinical information, can aid physicians in optimizing patient management.^{27,36-38}

Principles of the NEPHROCHECK® Test Procedure

The NEPHROCHECK® Test is a single-use cartridge comprised of assays for two protein biomarkers, TIMP-2, tissue-inhibitor of Metalloproteinase 2, and IGFBP-7, insulin-like growth factor-binding protein 7, on a membrane test strip enclosed in a plastic housing that employs a sandwich immunoassay technique. The test procedure involves the operator applying a fresh or thawed (i.e. previously frozen) clinical urine sample (mixed with labeled fluorescent conjugate) to the NEPHROCHECK® Test cartridge, and then inserting the Test cartridge into the ASTUTE140® Meter for incubation, reading, result calculation, and result display. The ASTUTE140® Meter is a bench-top/table-top analyzer that converts the fluorescent signal from each of the two immunoassays, TIMP-2 and IGFBP-7, contained within the NEPHROCHECK® Test cartridge into a single numerical result that is called the AKIRISK® Score. For more information on the AKIRISK® Score, please refer to "Results" and "Interpretation of Results".

Materials Provided

The NEPHROCHECK® Test cartridge and NEPHROCHECK® Test Kit contain all the reagents needed for the generation of NEPHROCHECK® Test results in human adult urine specimens.

The NEPHROCHECK® Test cartridge and NEPHROCHECK® Test Conjugate Vial contain:

- Murine monoclonal and goat polyclonal antibodies against TIMP-2
- Murine monoclonal and goat polyclonal antibodies against IGFBP-7
- Fluorescent dye
- Stabilizers
- Excipients

The NEPHROCHECK® Test Kit (Part Number 500011) contains:

- NEPHROCHECK® Test25
- NEPHROCHECK® Test Conjugate Vial CONJUGATE VIAL25
- NEPHROCHECK® Test RFID Card RFID NEPHROCHECK 1
- NEPHROCHECK® Test Buffer (2 x 5 mL) BUFFER VIAL1
- NEPHROCHECK® Test Kit Package Insert 1

Materials Required But Not Provided

- ASTUTE140® Meter (PN 500017)
- NEPHROCHECK® Liquid Control Kit (PN 500013)
- NEPHROCHECK® Calibration Verification Kit (PN 500009) (Available in the United States only)
- NEPHROCHECK® Electronic Quality Control (PN 400016)
- Calibrated precision pipette, capable of dispensing 100 µL

Warnings and Precautions

- The NEPHROCHECK® Test should not be used as a “standalone test”. The NEPHROCHECK® Test result must be evaluated with other clinical and laboratory test information.
- The operator should use Standard Precautions when performing the NEPHROCHECK® Test or operating the ASTUTE140® Meter.
- For *in vitro* diagnostic use.
- The NEPHROCHECK® Test is intended for use in clinical laboratories and not for use in point-of-care settings.
- NEPHROCHECK® Test results should be interpreted within 12 hours of patient assessment for risk of AKI.
- Do not use the NEPHROCHECK® Test Kit beyond the expiration date printed on the outside of the box.
- Carefully follow the instructions and procedures described in this insert.
- Keep the NEPHROCHECK® Test cartridge and NEPHROCHECK® Conjugate Vial in the sealed pouch until ready for immediate use.
- Patient specimens, used NEPHROCHECK® Test cartridges and used pipette tips may be potentially infectious. Proper handling and disposal methods in compliance with federal and local regulations should be established.
- The NEPHROCHECK® Test is to be used only with the ASTUTE140® Meter, the NEPHROCHECK® Liquid Control Kit, and the NEPHROCHECK® Calibration Verification (Cal Vers) Kit (Available in the United States only).
- The NEPHROCHECK® Test Conjugate Vials contained in the NEPHROCHECK® Test Kit are to be used only with the NEPHROCHECK® Test cartridges contained in the same kit box. The NEPHROCHECK® Test Conjugate Vials are not to be used with cartridges that are contained in other boxes or provided with other products.
- The NEPHROCHECK® Test Kit requires the use of calibrated precision pipette(s). It is recommended that users review the proper procedures for the use of these devices in order to ensure accurate dispensing of volumes.
- In order to minimize contamination, pipette tips are to be discarded and a new one used for each new specimen.
- Patient identification schemes (i.e. IDs) that contain the following special characters “+”, “&” or “@” should be entered into the ASTUTE140® Meter only with a barcode scanner—these characters should not be manually entered into the ASTUTE140® Meter using an external keyboard.

- Caution: Federal law restricts this device to sale by or on the order of a physician or other practitioner licensed by the law of the State in which he practices, to use or order the use of the device.

Storage and Handling Requirements

- Prior to using the NEPHROCHECK® Test Kit, inspect the kit components for damage. Do not use the NEPHROCHECK® Test Kit if any components are damaged.
- The NEPHROCHECK® Test Conjugate Vial material is lyophilized.
- The unopened NEPHROCHECK® Test Kit components are stable until the expiration date printed on the box when stored at 2–8°C (35.6–46.4°F).
- The opened NEPHROCHECK® Test cartridge is stable for 60 minutes at 22.9–24.8°C (73.2–76.6°F).
- The opened NEPHROCHECK® Test Buffer is stable to the expiration date printed on the bottle label or until 18 weeks after initial opening of the bottle (whichever occurs first) when the unused portion is properly stored at 2–8°C (35.6–46.4°F).
- Each NEPHROCHECK® Test cartridge and NEPHROCHECK® Test Conjugate Vial is intended for single use only.
- After completion of all tests included in the kit box, dispose of any remaining NEPHROCHECK® Test Buffer in accordance with local regulations.
- After removal of the NEPHROCHECK® Test Kit components from 2–8°C storage, allow the Test cartridge to reach operating temperature of 18–25°C (64–77°F) before opening the foil pouch.
- Ensure that the NEPHROCHECK® Test is run at the operating humidity range of 30–50% RH.

Getting Started

Using the supplied RFID card, each NEPHROCHECK® Test lot must be registered into the ASTUTE140® Meter prior to first use.

Configure the ASTUTE140® Meter and run ASTUTE140® Electronic Quality Control (EQC) and NEPHROCHECK® Liquid Quality Control (LQC) procedures. (See “Installation” and “ASTUTE140® Meter Operation” in the ASTUTE140® Meter User Manual for detailed instructions.)

RFID Cards and Lot Registration

Each new ASTUTE140® Electronic Quality Control (EQC) Device, NEPHROCHECK® Liquid Control Kit and NEPHROCHECK® Test Kit is supplied with one or more RFID cards. These RFID cards contain lot specific product information such as product lot numbers, expiration dates, and calibration information. RFID cards must be used to transfer (or register) lot specific information for each new kit to the ASTUTE140® Meter prior to first use. To register a Kit or Device lot, locate the RFID card(s) included with the Kit or Device and perform the steps below. (See “ASTUTE140® Meter Operation” in the ASTUTE140® Meter User Manual for detailed instructions.)

NOTE: The NEPHROCHECK® Liquid Control Kit is supplied with two RFID cards, one card is for each level of control. The liquid control registration process must be carried out for each level of control.

How to Register RFID Cards with the ASTUTE140® Meter (Transfer Lot Specific Information)

1. From the **Main Menu**, use the navigation (arrow) keys to highlight and select the **Operator Menu** icon.
2. Press the right soft key to display the **Manage Lots** screen.
3. Use the soft key to select **Manage Test Lots** or use the arrow keys to highlight and select **Manage LQC Lots** or **Manage EQC Devices**.
4. A **Registered** screen will appear showing any lots previously registered (**Test Lots**, **LQC** or **EQC Devices**), press **Options** using the right soft key.
5. When the **Options** pop-up menu is displayed, use the arrow keys to highlight **Register Lot** (or **Device** for EQC) and press the right soft key to **Select**.
6. When prompted, hold the RFID card against the numeric keypad to register the information and press the right soft key to select **OK**.
7. If registered correctly, a screen indicating that the lot number (or Device) was successfully read from the RFID card will appear. Press the right soft key to select **Accept**. The lot or Device that was just registered should now appear in the list of registered lots or Devices.
8. If registered incorrectly, an error message will appear. Press the right soft key to select **OK** to close the error message. Repeat steps above. If registered incorrectly a second time, contact Astute Technical Support.
9. After use, return the RFID card to its sleeve and store it together with the lot number with which it arrived.

10. To register a second liquid control in a set or to register another Lot or Device, use the arrow keys to select **Register Lot** or **Device** from the **Options** pop-up menu and repeat the steps above.

Specimen Collection and Preparation

The NEPHROCHECK® Test is intended for use with adult human urine specimens only. Other specimen types have not been characterized.

Non-Frozen / Non-Refrigerated Samples

1. Collect a fresh urine sample of approximately 10 mL in a clean specimen collection cup without additives. For patients with indwelling bladder catheters, the collection bag should first be emptied and then a fresh sample of urine should be collected. Alternatively, the sample may be collected from an urometer, if present. Transport the urine sample to the laboratory that will run the NEPHROCHECK® Test.

NOTE: Samples should be transferred to the laboratory and centrifuged within one hour of sample collection.

2. Thoroughly mix the urine in the specimen collection cup by inverting the container 8–10 times. Transfer the urine sample from the specimen collection cup to a clean centrifuge tube. Centrifuge the urine sample for approximately 10 minutes in refrigerated centrifuge set to an rcf of 1000 x g and temperature of 4°C (39.2°F). After centrifuging the sample, transfer the supernatant to a clean receptacle. Allow supernatant to reach room temperature and test the supernatant within 5 hours of sample collection. If testing cannot be completed within 5 hours of sample collection, supernatants may be refrigerated immediately after centrifugation and tested within 20 hours of sample collection.

Frozen / Refrigerated Samples

1. To test frozen or refrigerated samples, thaw or warm urine supernatants in a room temperature (18–25°C; 64.4–77°F) water bath until thawed and warmed to room temperature but no longer than 20 minutes.
2. Once the supernatant is thawed and/or warmed to room temperature, gently invert the sample tube 1–2 times to mix sample. Ensure supernatant is well-mixed before testing. Test the supernatant immediately after mixing.

NOTE: Precipitates may be present in supernatant tube. Always invert the sample tube 1–2 times to ensure sample is well mixed before testing to ensure accurate measurement results.

3. Supernatants must be loaded into a NEPHROCHECK® Test cartridge within one hour of placing the supernatant into the water bath.
4. Avoid repeated freezing and thawing of the supernatant.

NEPHROCHECK® Test Procedure

- The Test procedure requires the use of a calibrated precision pipette for the following:
 - Addition of NEPHROCHECK® Test Buffer Solution and urine sample into the NEPHROCHECK® Test Conjugate Vial
 - Introduction of sample into the NEPHROCHECK® Test cartridge

To perform the NEPHROCHECK® Test, follow these steps:

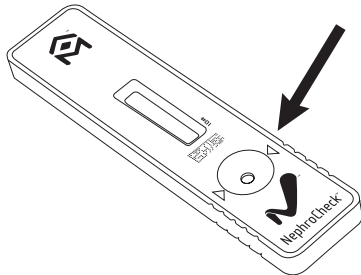
1. Preparation:
 - a. Highlight and select Run Patient on the ASTUTE140® Meter Main Menu.
 - b. Manually enter the Patient ID or scan the Patient ID into the ASTUTE140® Meter using a barcode scanner (if connected). After confirming that the correct Patient ID and/or Sample ID have been entered, select **Run Patient**. The ASTUTE140® Meter drawer will automatically open. (NOTE: Patient identification schemes (i.e. IDs) that contain the following special characters “+”, “&” or “@” should be entered into the ASTUTE140® Meter only with a barcode scanner—these characters should not be entered into the ASTUTE140® Meter using an external keyboard.)
 - c. Remove the NEPHROCHECK® Test Kit components from 2–8°C storage and allow the Test cartridge to reach the operating temperature of 18–25°C (64–77°F).
 - d. Remove the new NEPHROCHECK® Test cartridge from the foil pouch and place on a flat surface.
 - e. Remove the NEPHROCHECK® Test Conjugate Vial from the pouch.
 - f. Each NEPHROCHECK® Test Conjugate Vial contains a single conjugate bead. Remove the cap from the NEPHROCHECK® Test Conjugate Vial. Visually inspect the cap and vial to ensure that the conjugate bead has not adhered to the cap and is present in the vial. If the bead has adhered to the cap, place the cap on the vial and tap three times. Repeat if necessary until the bead drops into the vial. Do not touch the bead or attempt to remove the bead from the cap by any other means.

- g. Pipette 100 µL of the NEPHROCHECK® Test Buffer Solution into the NEPHROCHECK® Test Conjugate Vial containing the conjugate bead. This will result in reconstitution of the conjugate bead into solution. Discard the pipette tip in accordance with local regulations.

NOTE: The conjugate liquid in the vial is to be used as soon as it is reconstituted.

NOTE: Each bottle of NEPHROCHECK® Test Buffer Solution contains enough buffer solution to run all of the tests supplied in the NEPHROCHECK® Test Kit. Do not discard the buffer solution until all tests supplied in the NEPHROCHECK® Test Kit have been used. Store the unused portion of the buffer at 2–8°C (35.6–46.4°F).

- h. Using a new pipette tip, add 100 µL of centrifuged urine supernatant or liquid control sample to the NEPHROCHECK® Test Conjugate Vial that now contains the reconstituted conjugate bead solution. Mix thoroughly (mix at least three times using the pipette tip).
- i. Pipette 100 µL of mixed sample/conjugate solution onto the sample port on the NEPHROCHECK® Test cartridge. Avoid introducing bubbles into the sample port when adding the sample / conjugate solution into the NEPHROCHECK® Test cartridge. Wait approximately one minute for the sample to be absorbed into the round well.



2. Run the NEPHROCHECK® Test:

- Holding the NEPHROCHECK® Test cartridge by the grips on the sides of the cartridge, place the cartridge in the ASTUTE140® Meter drawer with the Astute Medical logo towards the inside of the meter drawer. Keep the NEPHROCHECK® Test cartridge horizontal and avoid tipping the test cartridge during placement into the ASTUTE140® Meter drawer.
- Close the ASTUTE140® Meter drawer. In approximately 20 minutes, a single numerical test result will be displayed.
- Eject the ASTUTE140® Meter drawer. Remove the NEPHROCHECK® Test cartridge and discard it and the conjugate vial in accordance with local regulations.

3. Review the NEPHROCHECK® Test Results:

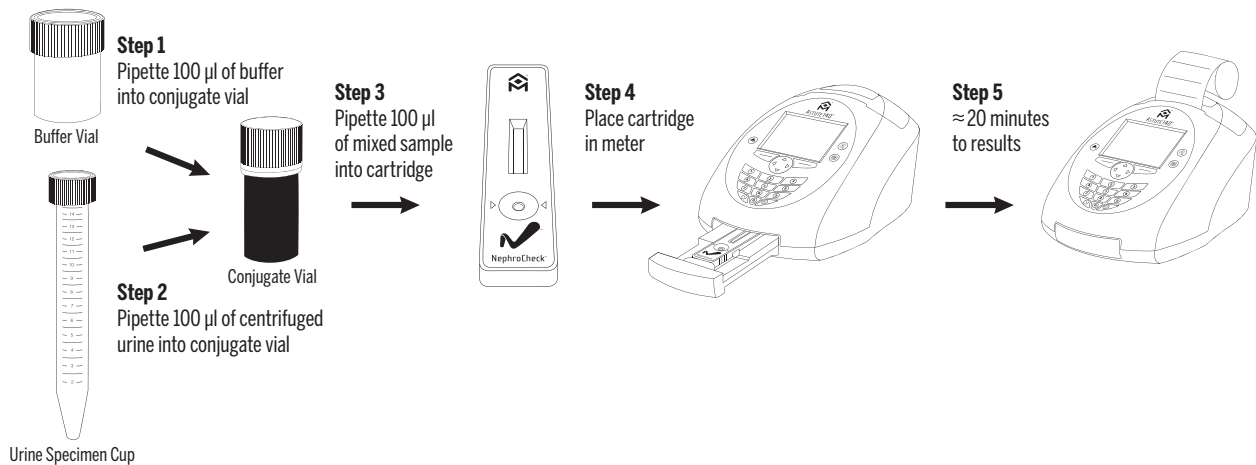
Upon completion of running the test, follow instructions in the ASTUTE140® Meter User Manual to print results (if desired) or upload results to the Laboratory Information System (LIS).

If the NEPHROCHECK® Test should fail, a Meter error message will indicate that the result is invalid and that a new cartridge should be run. If the procedure fails a second time, contact Astute Technical Support (See "Ordering and Contact Information").

The ASTUTE140® Meter converts the fluorescent signal from each of the two immunoassays (TIMP-2 and IGFBP-7) contained within the NEPHROCHECK® Test cartridge into a single numerical result. The NEPHROCHECK® Test result (AKIRISK® Score) is calculated by the ASTUTE140® Meter as the product of the measured concentrations of the two biomarkers, TIMP-2 and IGFBP-7 (measured as ng/mL), divided by 1000:

$$\text{NEPHROCHECK® Test Result (AKIRISK® Score)} = \frac{[\text{TIMP-2}] \times [\text{IGFBP-7}]}{1000} \quad (\text{units} = (\text{ng/mL})^2/1000)$$

NEPHROCHECK® Test Preparation Process



Results

The AKIRISK® Score is displayed on the ASTUTE140® Meter screen after the NEPHROCHECK® Test procedure is completed. Results for the individual markers are not displayed. The Test result is displayed without units. Refer to the “Interpretation of Results” and “Reference Range” discussions for further information.

Interpretation of Results

A single cutoff of AKIRISK® Score > 0.3 for the NEPHROCHECK® Test has been established based on the results from clinical studies to achieve high sensitivity while preserving acceptable specificity to identify the majority of subjects who will manifest moderate or severe AKI within 12 hours. Based upon results from clinical testing, intended use patients with AKIRISK® Scores ≤ 0.3 are at lower risk of developing moderate to severe AKI within 12 hours of assessment than intended use patients with AKIRISK® Scores > 0.3.

The AKIRISK® Score reference range for apparently healthy subjects was 0.04 to 2.25 and for subjects with stable chronic morbidities was 0.05 to 2.20 (Refer to the “Reference Range” section for further information about these patient populations). In clinical studies (Study A and B) performed to validate the test in the intended use population, the following AKIRISK® Scores were observed. In Study A, for the 408 intended use patients, the range (Central 95%) in AKIRISK® Scores for subjects that did not have AKI was 0.04 to 2.62, while that for intended use patients with AKI was significantly elevated at 0.10 to 8.47. In Study B, for the 126 intended use patients, the range (Central 95%) in AKIRISK® Scores for subjects that did not have AKI was 0.03 to 6.36, while the range for subjects with AKI was significantly elevated at 0.08 to 13.33. (Refer to the “Clinical Performance” section for further information regarding the clinical studies). Because the distributions of AKIRISK® Scores for apparently healthy subjects, subjects with stable chronic morbidities (without acute illness), and intended use patients without AKI show overlap with the distribution of AKIRISK® Scores for intended use patients with AKI, the NEPHROCHECK® Test results cannot be used as standalone results, and, based on the low positive predictive value (PPV), a result of an AKIRISK® Score > 0.3 is not necessarily predictive of developing moderate to severe AKI within a specific time frame.

Standardization

Concentration results for each of the assays in the NEPHROCHECK® Test are traceable to reference standard solutions that contain defined mass (concentration) of TIMP-2 and IGFBP-7 proteins in accordance with EN ISO 17511.³⁹ The NEPHROCHECK® Test and NEPHROCHECK® Liquid Controls are traceable to the same reference standard solutions.

Quality Control Considerations

Each NEPHROCHECK® Test cartridge contains two detection zones used as procedural controls (one positive and one negative control) that indicate that the NEPHROCHECK® Test procedure was performed correctly. These positive and negative controls are run automatically with every sample. If the automatic check of these procedural controls shows that the control value results are not within pre-defined limits, the Meter will display an error message and the Test result will not be reported. These procedural controls are in addition to the external NEPHROCHECK® Liquid Controls and the ASTUTE140® Electronic Quality Control (EQC) Device.

Good Laboratory Practice suggests that external NEPHROCHECK® Liquid Controls be tested:

- Every 30 days
- With each new lot number of NEPHROCHECK® Test Kits
- With each new shipment of the NEPHROCHECK® Test Kits
- After ASTUTE140® Meter maintenance or servicing
- In accordance with your local, state, and/or federal regulations or accreditation requirements and standard quality control procedures

Good Laboratory Practice suggests that ASTUTE140® Electronic Quality Control (EQC) Device be tested:

- Daily
- After ASTUTE140® Meter maintenance or servicing
- In accordance with your local, state, and/or federal regulations or accreditation requirements and standard quality control procedures

Limitations of the NEPHROCHECK® Test Procedure

The NEPHROCHECK® Test result must be evaluated with other clinical and laboratory test information. The NEPHROCHECK® Test should not be used as a “standalone test”.

Urinary albumin at concentrations above 125 mg/dL interfere with the NEPHROCHECK® Test results. Urinary albumin at concentrations above 3000 mg/dL cause an invalid test result. Urinary bilirubin at concentrations above 7.2 mg/dL interfere with the NEPHROCHECK® Test results. Use caution in interpreting NEPHROCHECK® Test results in patients with significant proteinuria or severe hyperbilirubinuria.

Methylene blue at concentrations above 0.49 mg/L interferes with NEPHROCHECK® Test results.

Caution: Federal law restricts this device to sale by or on the order of a physician or other practitioner licensed by the law of the State in which he practices, to use or order the use of the device.

Performance Characteristics

Analytical Sensitivity

Limit of Blank (LoB)

The NEPHROCHECK® Test has a Limit of Blank (LoB) of an AKIRISK® Score of 0.0002. The LoB was determined using a protocol that followed the recommendations of CLSI EP17-A2.⁴⁰

Limit of Detection (LoD)

The NEPHROCHECK® Test has a Limit of Detection (LoD) of an AKIRISK® Score of 0.002. The LoD was determined using a protocol that followed the recommendations of CLSI EP17-A2.⁴⁰

Limit of Quantitation (LoQ)

The NEPHROCHECK® Test has a Limit of Quantitation (LoQ) of an AKIRISK® Score of 0.002. The LoQ was defined using a Total Error goal of 20 percent for each of the two biomarkers, TIMP-2 and IGFBP-7. The LoQ was determined using a protocol that followed the recommendations of CLSI EP17-A2.⁴⁰

The LoB, LoD, and LoQ values for the AKIRISK® Score are reported below in **Table 1**.

Table 1. Analytical Sensitivity

NEPHROCHECK® Test Result	Limit of Blank	Limit of Detection	Limit of Quantitation
AKIRISK® Score	0.0002	0.002	0.002

Linearity

The reportable range of the NEPHROCHECK® Test AKIRISK® Score is 0.04–10.00. The TIMP-2 and IGFBP7 markers used to derive the AKIRISK® Score were assessed and found to be linear within the reportable range of the AKIRISK® Score. However, the AKIRISK® Score itself is not expected to be linear.

AKIRISK® Scores that are outside the above reportable range are reported as either < 0.04 or > 10.00 by the ASTUTE140® Meter. If the AKIRISK® Score is > 10.00, the specimen should not be diluted for retesting.

Precision

The reproducibility of the AKIRISK® Score was determined in accordance with the methods provided in CLSI guideline EP5-A2.⁴² As shown in **Table 2**, the AKIRISK® Score exhibited a Total CV of 10.4% at the cutoff of > 0.3 and ranged between 9.1% and 18.0% across the reportable range.

The reproducibility of results was determined at three testing sites under intended use conditions using three NEPHROCHECK® Test Kit lots. Each site tested six urine samples (S2 – S7) spanning the measurable range of the NEPHROCHECK® Test. Samples S3, S4 and S5 (around the cutoff) exhibited the following AKIRISK® Scores (mean result): 0.14, 0.3, and 0.56, respectively and observed precision (Total CV) of 11.0%, 10.4%, and 10.9%, respectively. Samples S2, S6 and S7 (designed to span the high and low ends of the AKIRISK® Score's reportable range) exhibited the following AKIRISK® Scores (mean results) of 0.04, 4.61 and 8.55, respectively and observed precision (Total CV) of 18.0%, 9.1% and 11.7%, respectively. Each site used a different test kit lot, set of ASTUTE140® Meters, and operators. Each urine sample was tested for at least 20 days, 2 test runs per day, 2 replicates per test run. The statistical analysis methods described in EP5-A2 were applied to the testing data to determine within-run, between run, between day, and total coefficient of variation values (CV's) across all three testing sites. These CV's are presented below in **Table 2**.

The NEPHROCHECK® Test is designed and manufactured so that each of the biomarker assays in the NEPHROCHECK® Test has imprecision of ≤15% within-run CV. The representative performance of the NEPHROCHECK® Test with regard to precision and reproducibility was characterized as described below.

Table 2. Precision

		S2	S3	S4	S5	S6	S7
AKIRISK® Score	Mean Result	0.04	0.14	0.30	0.56	4.61	8.55
	Within Run SD	0.01	0.01	0.03	0.05	0.34	0.84
	Within Run CV	15.1%	8.1%	9.0%	8.5%	7.3%	9.9%
	Between Run SD	0.00	0.00	0.01	0.00	0.21	0.22
	Between Run CV	0.0%	3.2%	1.8%	0.0%	4.5%	2.5%
	Between Day SD	0.00	0.01	0.01	0.04	0.14	0.49
	Between Day CV	9.8%	6.8%	4.9%	6.9%	3.1%	5.8%
	Total SD	0.01	0.02	0.03	0.06	0.42	1.00
	Total CV	18.0%	11.0%	10.4%	10.9%	9.1%	11.7%

Interference Testing

Interfering Conditions

The effect of urine sample pH was evaluated for the NEPHROCHECK® Test. Two human urine pools were adjusted to target multiple pH values between approximately pH 4.2 and 9.9. One urine pool was prepared to have an AKIRISK® Score of 0.26. The second urine pool was prepared to have an AKIRISK® Score of 7.0. None of the urine pools or pH values tested exhibited significant interference. The recommended pH range for samples is 4.2 – 9.9.

The effect of urine specific gravity was evaluated for the NEPHROCHECK® Test. Two human urine pools were adjusted to target multiple specific gravity values between approximately 0.998 and 1.038. One urine pool was prepared to have an AKIRISK® Score of 0.32. The second urine pool was prepared to have an AKIRISK® Score of 6.9. None of the urine pools or specific gravity values tested exhibited significant interference. The recommended specific gravity range for samples is 0.998 – 1.038.

Interfering Substances

The substances listed below in **Table 3** and in the subsequent section entitled “Substances that Exhibited Interference” were evaluated for interference with the AKIRISK® Score. Each substance was evaluated at multiple test concentrations in accordance with CLSI guideline EP7-A2.⁴³ Each substance was added to a human urine pool collected from apparently healthy donors was prepared to have an AKIRISK® Score of approximately 0.28 – 0.36. This urine sample was then evaluated with 32 or more NEPHROCHECK® Tests. None of the substances listed in **Table 3** exhibited significant interference with AKIRISK® Score at the maximum test concentrations listed below. However, the substances discussed in the section entitled “Substances that Exhibited Interference” did cause significant interference when added to urine as described below. The impact of these interferences on the AKIRISK® Score is discussed below in the section entitled “Substances that Exhibited Interference”. A bias exceeding 10% is considered a significant interference.

Table 3. Substances with No Significant Interference

Substance	Test Conc. mg/L	Substance	Test Conc. mg/L
Dextran 40	22	Lansoprazole	90
Pentastarch	9	Linezolid	48
Hetastarch	6	Lisinopril	0.3
Visipaque (Iodixanol)	4941	Lorazepam	1
Omniscan (Gadodiamide)	177	Low Molecular Weight Heparin	30
Omnipaque (Iohexol)	14085	Mannitol	600
Magnevist (Gadopentate Dimeglumine)	422	Metformin	40
Optiray (Ioversol)	4944	Metolazone	60
Acetaminophen	201	Metoprolol	5
Acetone	697	Metronidazole	120
Acetylcysteine	1665	Midazolam	1
Aspirin	652	Morphine	1
Acyclovir	52	Moxifloxacin	1200
Albuterol	0.4	Nitroglycerin	0.02
Amiodarone	6	Norepinephrine	204
Ammonia	1000	Omeprazole	6
Amoxicillin	75	Ondanesteron	0.1
Amphotericin	82	Pancuronium	8
Ascorbic acid	30	Pantoprazole (Protonix)	85
Atorvastatin	80	Phenobarbital	100
Bicarbonates	2940	Phenylephrine	30
Bumetanide	30	Pravastatin	80
Caffeine	60	Prednisone (Prednisolone)	3
Caspofungin	86	Propofol	16
Cefepime	9	Ranitidine	6
Ceftriaxone	810	Riboflavin	12
Cephalexin	117	Rocuronium	126
Ciprofloxacin	10	Theophylline	40
Clopidogrel	225	Tobramycin	24
Dexmedetomidine (Precedex)	0.2	Torsemide	12
Diltiazem (Cardizem)	43	Urobilinogen	12
Dopamine	1	Valproic Acid (Valproate)	499
Doripenem	1050	Vancomycin	100
Epinephrine	6	Vasopressin	5
Ethacrynic acid	19	Vecuronium	21
Ethanol	4000	Warfarin (Coumadin)	10
Fenoldopam	484	Cystatin C	3
Fentanyl	100	Interleukin-18 (IL-18)	0.001
Fluconazole	75	Kidney Injury Molecule 1 (KIM 1)	0.02
Fluvastatin	80	Liver Type Fatty Acid Binding Protein (L-FABP)	1
Furosemide	60	N-acetyl-β-D-glucosaminidase (NAG)	0.00004
Gentamicin	10	Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin (NGAL)	3
Glucose	9909	Pi-Glutathione s-transferase (p-GST)	0.1
Hemoglobin	2000	Calcium	600
Heparin	21	Chloride	5600
Hydralazine	600	Creatinine	1800
Hydrochlorothiazide	6	Magnesium	240
Hydrocodone	0.2	Phosphate	2800
Hydrocortisone	720	Potassium	4000
Ibuprofen	500	Sodium	3600
Insulin	0.003	Sulfate	4800
Ketorolac	166	Urea	32000
Myoglobin	5	Uric Acid	700

Substances that Exhibited Interference

Urinary albumin at concentrations above 125 mg/dL interfere with the NEPHROCHECK® Test results. Urinary albumin at concentrations above 3000 mg/dL cause an invalid test result. Urinary bilirubin at concentrations above 7.2 mg/dL interfere with the NEPHROCHECK® Test results. Use caution in interpreting NEPHROCHECK® Test results in patients with significant proteinuria or severe hyperbilirubinuria.

Methylene blue at concentrations above 0.49 mg/L interferes with NEPHROCHECK® Test results.

Potential Cross-Reactants

The AKIRISK® Score was evaluated for cross-reactivity with the following proteins related to the biomarker assays in the NEPHROCHECK® Test (**Table 4**). These related proteins were evaluated at concentrations exceeding physiologically relevant levels. A test sample was prepared for each potentially cross-reacting protein by adding the protein of interest to a human urine pool was prepared to have an AKIRISK® Score of approximately 0.28 – 0.36. For comparison, the same human urine pool that was used to prepare each test sample was used as a control sample. Each test and control sample was evaluated with 32 or more NEPHROCHECK® Tests. The biomarker concentration results for each test and control sample were compared to determine the percent cross-reactivity (percent cross-reactivity = (measured concentration in test sample – measured concentration in control sample) * 100 / cross reactant concentration) associated with each potentially cross-reacting protein. The results from this testing demonstrated that none of the potential cross-reactants presented below in **Table 4** exhibited significant cross-reactivity.

Table 4. Cross-Reactivity with Related Proteins

Potential Cross-Reactant	Cross-Reactant Concentration (mg/L)	Potential Cross-Reactant	Cross-Reactant Concentration (mg/L)
IGFBP-1	0.1	Aggrin	1.2
IGFBP-2	0.25	HTRA1	1.2
IGFBP-3	1.2	IGFBPL1	1.2
IGFBP-4	1.2	TIMP-1	3
IGFBP-5	1.2	TIMP-3	2.5
IGFBP-6	1.2	TIMP-4	0.6
IGF-1	1.5	MMP-2	0.03
IGF-2	1.5	MMP-9	0.03
CRIM1	1.2		

Reference Ranges

Reference ranges were determined for two adult (at least 21 years of age) cohorts, apparently healthy subjects and subjects with stable chronic morbidities (without acute illness), and are shown in **Table 5**. Demographic and other information for the two cohorts is shown in **Table 6**. To determine the reference ranges, a urine specimen from each subject was measured with the NEPHROCHECK® Test at three independent laboratories and the results were analyzed independently for each laboratory. Results were comparable across the three laboratories. A wide range in the values of AKIRISK® Scores was observed in the apparently healthy subjects and subjects with stable chronic morbidities (without acute illness). Because the distributions of AKIRISK® Scores for apparently healthy subjects, subjects with stable chronic morbidities (without acute illness), and for intended use patients without AKI show overlap with the distribution of AKIRISK® Scores for intended use patients with AKI, the NEPHROCHECK® Test results cannot be used as standalone results (Refer to the “Clinical Performance” section for further information about the intended use patients cohort). The reference range was defined by the central 95% of AKIRISK® Scores as described in CLSI guideline C28-A3.⁴⁴ The overall reference range for apparently healthy subjects was 0.04 to 2.25 and for subjects with stable chronic morbidities was 0.05 to 2.20 when the results from all three laboratories were combined. The reference ranges were comparable for apparently healthy subjects and subjects with stable chronic morbidities, and for males and females. Each laboratory should establish a reference range that is representative of the patient population to be evaluated.

Table 5. Reference Ranges for Apparently Healthy Subjects and Subjects with Stable Chronic Morbidities by Testing Laboratory for Each of Three Testing Laboratories

Cohort	Gender	Laboratory 1		Laboratory 2		Laboratory 3	
		Number of Subjects	AKIRISK® Score Range*	Number of Subjects	AKIRISK® Score Range*	Number of Subjects	AKIRISK® Score Range*
Apparently Healthy Subjects	Female	191	0.04 – 2.42	191	0.04 – 2.17	191	0.04 – 2.58
	Male	185	0.04 – 2.33	187	0.04 – 2.10	187	0.05 – 2.35
	All	376	0.04 – 2.33	378	0.04 – 2.10	378	0.04 – 2.35
Subjects with Stable Chronic Morbidities	Female	191	0.04 – 2.20	191	0.04 – 1.93	191	0.04 – 2.28
	Male	179	0.06 – 2.23	181	0.06 – 2.13	181	0.06 – 2.36
	All	370	0.05 – 2.20	372	0.04 – 1.98	372	0.04 – 2.28

*Based on central 95%

Table 6. Demographic Characteristics of Apparently Healthy and Stable Chronic Morbidity Subjects

	Apparently Healthy Cohort Total N=378		Stable Chronic Morbidity Cohort Total N=372	
	N, Mean, or Median	%, SD, or IQR*	N, Mean, or Median	%, SD, or IQR*
Sex				
Female	191	(50.5)	191	(51.3)
Male	187	(49.5)	181	(48.7)
Race				
American Indian[†]	3	(0.8)	6	(1.6)
Asian	9	(2.4)	10	(2.7)
Black/African Amer.	43	(11.4)	43	(11.6)
Native Hawaiian*	1	(0.3)	3	(0.8)
Caucasian	313	(82.8)	300	(80.6)
Other	9	(2.4)	10	(2.7)
Ethnicity				
Hispanic	43	(11.4)	33	(8.9)
Non-Hispanic	335	(88.6)	339	(91.1)
Age (years)				
Mean (SD)	54	(17.3)	63	(14.7)
Median (IQR)	56	(40–68)	65	(53–75)
BMI (kg/m²)				
Mean (SD)	27.5	(5.87)	30.8	(7.02)
Median (IQR)	26.8	(23.3–29.8)	29.8	(26.2–34.5)

[†]Includes Alaskan Native

*Includes Other Pacific Islander

*IQR; interquartile range (central 50%)

Clinical Performance

The clinical performance of the NEPHROCHECK® Test was evaluated in two clinical studies: Study A with a cohort of 408 intended use patients and Study B with a cohort of 126 intended use patients. The results from each of the two studies are presented in greater detail below, including a comparison of the results between the two studies.

Study A (n = 408 Intended Use Patients)

Clinical performance was evaluated in Study A with a cohort of 408 intended use patients. Adult subjects were prospectively enrolled at 23 geographically diverse hospitals in the United States. Patients with known moderate or severe acute kidney injury were excluded from enrollment. A urine specimen for measurement by the NEPHROCHECK® Test was collected at enrollment, frozen and stored at $\leq -70^{\circ}\text{C}$ until measurement. A urine specimen from each subject was measured with the NEPHROCHECK® Test at three independent laboratories.

Each subject in the intended use patient cohort was adjudicated by a Clinical Adjudication Committee (CAC). Of the 408 intended use patients, 337 (82.6%) were adjudicated as No AKI and 71 (17.4%) were adjudicated as AKI.

The results from the study demonstrate intended use patients with AKIRISK® Scores ≤ 0.3 are at lower risk of developing moderate to severe AKI within 12 hours of assessment, and intended use patients with AKIRISK® Scores > 0.3 are at greater risk of developing moderate to severe AKI within 12 hours of assessment.

Study B (n = 126 Intended Use Patients)

Clinical performance was also validated in a second study, Study B (n = 126 intended use patients). Adult subjects were prospectively enrolled at 6 geographically diverse hospitals in the United States. A urine specimen was collected at enrollment, aliquoted, and the aliquots subjected to different processing conditions and then measured with the NEPHROCHECK® Test System to assess the effects of these various conditions on NEPHROCHECK® Test results.

In a retrospective analysis, each subject in the study was adjudicated by a Clinical Adjudication Committee (CAC) as No AKI or AKI. Of the 126 subjects, 97 (77.0%) were adjudicated as No AKI and 29 (23.0%) were adjudicated as AKI.

Table 7 shows the distribution of AKIRISK® Scores > 0.3 versus ≤ 0.3 by CAC classification in a 2x2 table for Study A by laboratory and Study B.

Table 7. Comparison of AKIRISK® Score (> 0.3 and ≤ 0.3) with AKI Status for (A) Laboratory 1 from Study A, (B) Laboratory 2 from Study A, (C) Laboratory 3 from Study A, and (D) Study B. Each laboratory in Study A is missing an AKIRISK® Score from one subject (a different subject at each site). All 3 subjects without an AKIRISK® Score had an AKI Status of No AKI, resulting in 336 No AKI subjects with AKIRISK® Scores and 407 total subjects with AKIRISK® Scores from each laboratory.

(A) Laboratory 1, Study A	AKI Status		Total Number of NEPHROCHECK® Test Results
	AKI	No AKI	
AKIRISK® Score > 0.3	65 (16.0%) TP	182 (44.7%) FP	247
AKIRISK® Score ≤ 0.3	6 (1.5%) FN	154 (37.8%) TN	160
Total Number of NEPHROCHECK® Test Results	71	336	407

(B) Laboratory 2, Study A	AKI Status		Total Number of NEPHROCHECK® Test Results
	AKI	No AKI	
AKIRISK® Score > 0.3	64 (15.7%) TP	172 (42.3%) FP	236
AKIRISK® Score ≤ 0.3	7 (1.7%) FN	164 (40.3%) TN	171
Total Number of NEPHROCHECK® Test Results	71	336	407

(C) Laboratory 3, Study A	AKI Status		Total Number of NEPHROCHECK® Test Results
	AKI	No AKI	
AKIRISK® Score > 0.3	66 (16.2%) TP	186 (45.7%) FP	252
AKIRISK® Score ≤ 0.3	5 (1.2%) FN	150 (36.9%) TN	155
Total Number of NEPHROCHECK® Test Results	71	336	407

(D) Study B	AKI Status		Total Number of NEPHROCHECK® Test Results
	AKI	No AKI	
AKIRISK® Score > 0.3	22 (17.5%) TP	48 (38.1%) FP	70
AKIRISK® Score ≤ 0.3	7 (5.6%) FN	49 (38.9%) TN	56
Total Number of NEPHROCHECK® Test Results	29	97	126

The data in **Table 8** show that the NEPHROCHECK® Test performance, including high Test sensitivity at the cutoff of > 0.3, was validated in Study A. The data in **Table 8** show a sensitivity (which is the same as true positive rate or TPR), of 90–93%. This means that the AKIRISK® Score was > 0.3 for 90–93% of the patients who manifested moderate to severe AKI within 12 hours of patient assessment for risk of AKI. The high sensitivity shows that the NEPHROCHECK® Test captured the majority of the AKI (positive) cases. **Table 8** also shows a false negative rate (FNR; equivalent to 1-sensitivity) of 7–10%, indicating that the AKIRISK® Score was ≤ 0.3 for 7–10% of the patients who manifested moderate to severe AKI within 12 hours of patient assessment for risk of AKI. The data also show a specificity (equivalent to true negative rate or TNR) of 45–49%. This means that the AKIRISK® Score was ≤ 0.3 for 45–49% of the patients who *did not* manifest moderate to severe AKI within 12 hours of patient assessment for risk of AKI. The data also show a false positive rate (FPR; equivalent to 1 – specificity) of 51–55%, indicating that the AKIRISK® Score was > 0.3 for 51–55% of the patients (approximately 1 out of every 2 patients) who did *not* manifest moderate to severe AKI within 12 hours of patient assessment for risk of AKI. Therefore an AKIRISK® Score of > 0.3 may not be predictive of developing moderate to severe AKI within 12 hours of patient assessment.

Table 8. NEPHROCHECK® Test Operating Characteristics (Study A)

Statistic	Laboratory 1		Laboratory 2		Laboratory 3	
	Value	95% CI	Value	95% CI	Value	95% CI
Sensitivity (TPR)	0.92	0.85, 0.98	0.90	0.83, 0.97	0.93	0.87, 0.99
Specificity (TNR)	0.46	0.40, 0.51	0.49	0.43, 0.54	0.45	0.39, 0.50
FPR (1-Specificity)	0.54	0.49, 0.60	0.51	0.46, 0.57	0.55	0.50, 0.61
FNR (1- Sensitivity)	0.08	0.02, 0.15	0.10	0.03, 0.17	0.07	0.01, 0.13
Negative Predictive Value (NPV)	0.96	0.93, 0.99	0.96	0.93, 0.99	0.97	0.94, 1.00
Positive Predictive Value (PPV)	0.26	0.21, 0.32	0.27	0.21, 0.33	0.26	0.21, 0.32

The data in **Table 9** show the NEPHROCHECK® Test performance at the cutoff of AKIRISK® Score > 0.3 in Study B.

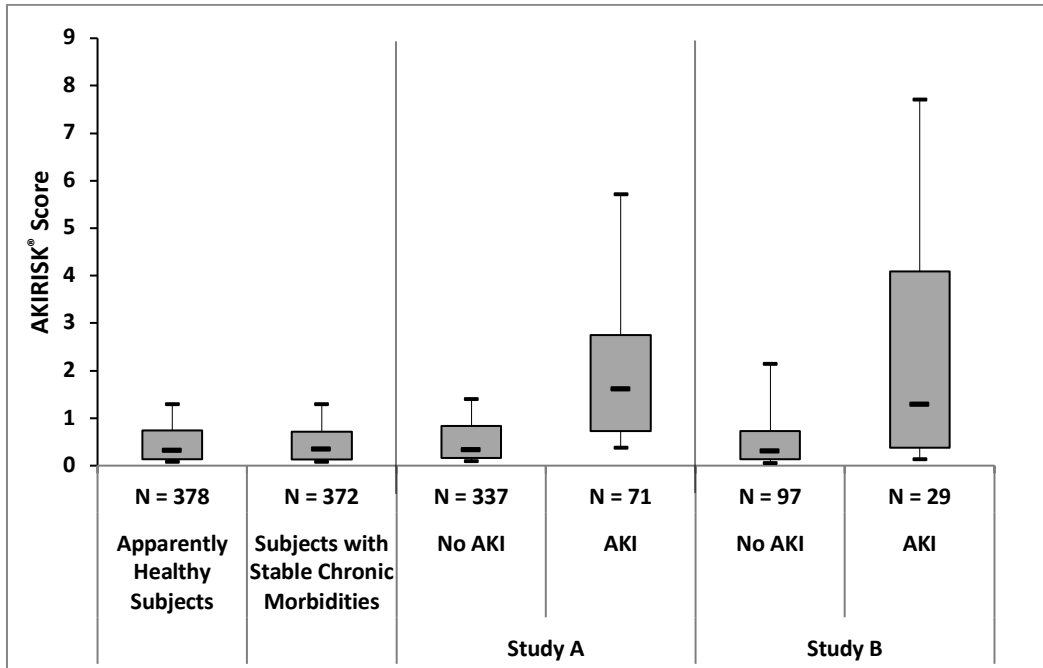
Table 9. NEPHROCHECK® Test Operating Characteristics (Study B)

Statistic	Value	95% CI
Sensitivity (TPR)	0.76	0.60, 0.91
Specificity (TNR)	0.51	0.41, 0.60
FPR (1-Specificity)	0.49	0.40, 0.59
FNR (1- Sensitivity)	0.24	0.09, 0.40
Negative Predictive Value (NPV)	0.88	0.79, 0.96
Positive Predictive Value (PPV)	0.31	0.21, 0.42

In Study A, the range of observed values of AKIRISK® Scores was wider for Caucasians than for non-Caucasians for each cohort (apparently healthy subjects; subjects with stable chronic morbidities, but without acute illness; and for intended use patients). Logistic covariate analysis was performed to investigate whether race (Caucasian, non-Caucasian) or any of the following additional covariates: sex, age (≤65, >65) or BMI (≤28.3, >28.3), substantially affected the ability of the NEPHROCHECK® Test to discriminate AKI from No AKI. None of the four covariates had a statistically significant main effect, whereas the NEPHROCHECK® Test was highly significant in all four models ($p < 0.0001$), therefore showing the NEPHROCHECK® Test performance is robust with respect to these covariates.

The distributions of AKIRISK® Scores for the intended use patients from Study A and Study B that were No AKI and AKI are shown in **Figure 1**. Distributions of NEPHROCHECK® Test results for subjects in the apparently healthy and stable chronic morbidity cohorts (described in the Reference Range section) are also shown in **Figure 1** for comparison. Boxes and whiskers show interquartile ranges and 10th to 90th percentiles, respectively. The distributions are comparable for all groups without AKI, i.e. apparently healthy, stable chronic morbidities and No AKI intended use patients from Study A and Study B. These data show that AKIRISK® Scores are not elevated (relative to results for apparently healthy subjects) for subjects with chronic comorbidities or for intended use patients without AKI. Conversely, AKIRISK® Scores are substantially elevated for intended use patients with AKI.

Figure 1. AKIRISK® Scores by Cohort



AKIRISK® Scores from AKI subjects were significantly greater than those from No AKI subjects in both Studies A and B ($p < 0.0001$), showing the AKIRISK® Score has significant ability to discriminate AKI from No AKI in both studies. AKIRISK® Scores in Study B were not significantly different from those in Study A ($p > 0.05$ for AKI and for No AKI), showing the AKIRISK® Scores were not statistically different between the two studies. For No AKI subjects, the variability in AKIRISK® Scores observed in Study B was slightly smaller than in Study A, as indicated by the slightly smaller interquartile range (25th–75th percentile) in Study B. This smaller variability is associated with a higher numerical point estimate for specificity in Study B compared with Study A (**Tables 8 and 9**). For AKI subjects, the variability in AKIRISK® Scores observed in Study B is larger than in Study A, as indicated by the larger interquartile range (25th–75th percentile) in Study B. This larger variability is associated with a lower numerical point estimate for sensitivity in Study B compared with Study A (**Tables 8 and 9**).

Point estimates from both Studies (A and B) demonstrate that the NEPHROCHECK® Test identifies the majority of intended use patients at risk for AKI: 76% (sensitivity from Study B) to 90–93% (sensitivity from Study A).

Demographic and other baseline information for the intended use patients for Study A is shown in **Table 10** for all subjects and for AKI and No AKI subjects. The intended use patient cohort represents a diverse and heterogeneous population that is demographically comparable to ICU patient populations in the United States as reported in the literature.⁴⁵

Table 10. Demographic Characteristics of Intended Use Patients for Study A by AKI Classification

	All Total N=408		No AKI Total N=337		AKI Total N=71	
	N, Mean, or Median	%, SD, or IQR*	N, Mean, or Median	%, SD, or IQR*	N, Mean, or Median	%, SD, or IQR*
Sex						
Female	189	(46.3)	153	(45.4)	36	(50.7)
Male	219	(53.7)	184	(54.6)	35	(49.3)
Race						
Asian	2	(0.5)	1	(0.3)	1	(1.4)
Black/African Amer.	56	(13.7)	47	(13.9)	9	(12.7)
Caucasian	339	(83.1)	280	(83.1)	59	(83.1)
Unknown	6	(1.5)	6	(1.8)	0	(0.0)
Other	5	(1.2)	3	(0.9)	2	(2.8)
Ethnicity						
Hispanic	15	(3.7)	11	(3.3)	4	(5.6)
Non-Hispanic	356	(87.3)	295	(87.5)	61	(85.9)
Unknown	37	(9.1)	31	(9.2)	6	(8.5)
Age (years)						
Mean (SD)	63	(16.6)	63	(16.6)	62	(16.4)
Median (IQR)	65	(54–76)	65	(54–76)	64	(54–76)
BMI (kg/m²)						
Mean (SD)	30.7	(9.22)	29.9	(8.66)	34.1	(10.87)
Median (IQR)	28.3	(24.8–34.4)	27.7	(24.3–33.5)	31.2	(25.8–37.9)
Reason for Hospital Admission[‡]						
Cardiovascular	146	(35.8)	117	(34.7)	29	(40.8)
Cerebrovascular	47	(11.5)	44	(13.1)	3	(4.2)
Sepsis	77	(18.9)	61	(18.1)	16	(22.5)
Respiratory/Pulmonary	171	(41.9)	142	(42.1)	29	(40.8)
Trauma	46	(11.3)	39	(11.6)	7	(9.9)
Surgery (Any)	120	(29.4)	107	(31.8)	13	(18.3)
Surgery (Emergency)	55	(13.5)	51	(15.1)	4	(5.6)
Surgery (Elective)	65	(15.9)	56	(16.6)	9	(12.7)
Gastrointestinal	49	(12.0)	40	(11.9)	9	(12.7)
Other	125	(30.6)	101	(30.0)	24	(33.8)
Reason for ICU Admission[‡]						
Cardiovascular	165	(40.4)	133	(39.5)	32	(45.1)
Cerebrovascular	52	(12.7)	48	(14.2)	4	(5.6)
Sepsis	97	(23.8)	75	(22.3)	22	(31.0)
Respiratory	206	(50.5)	170	(50.4)	36	(50.7)
Trauma	44	(10.8)	37	(11.0)	7	(9.9)
Surgery / Post-Op	128	(31.4)	112	(33.2)	16	(22.5)
Other	120	(29.4)	95	(28.2)	25	(35.2)
Type of ICU						
Medical	180	(44.9)	149	(45.0)	31	(44.3)
Surgical	70	(17.5)	59	(17.8)	11	(15.7)
Neurological	14	(3.5)	11	(3.3)	3	(4.3)
Trauma	27	(6.7)	20	(6.0)	7	(10.0)
Coronary Care Unit	10	(2.5)	7	(2.1)	3	(4.3)
Cardiac Surgery	38	(9.5)	33	(10.0)	5	(7.1)
Combined ICU	62	(15.5)	52	(15.7)	10	(14.3)



















[‡]Subjects may have multiple reasons for admission; *IQR; interquartile range (central 50%).

Literature References

1. Degeorges, A., Wang, F., Frierson, H. F., Jr., Seth, A., and Sikes, R. A. (2000) Distribution of IGFBP-rP1 in normal human tissues. *J. Histochem. Cytochem.* 48, 747–754.
2. Yang, Q. H., Liu, D. W., Long, Y., Liu, H. Z., Chai, W. Z., and Wang, X. T. (2009) Acute renal failure during sepsis: potential role of cell cycle regulation. *J. Infect.* 58, 459–464.
3. Burger, A. M., Leyland-Jones, B., Banerjee, K., Spyropoulos, D. D., and Seth, A. K. (2005) Essential roles of IGFBP-3 and IGFBP-rP1 in breast cancer. *Eur. J. Cancer* 41, 1515–1527.
4. Ahmed, S., Yamamoto, K., Sato, Y., Ogawa, T., Herrmann, A., Higashi, S., and Miyazaki, K. (2003) Proteolytic processing of IGFBP-related protein-1 (TAF/angiomodulin/mac25) modulates its biological activity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 310, 612–618.
5. Sato, Y., Chen, Z., and Miyazaki, K. (2007) Strong suppression of tumor growth by insulin-like growth factor-binding protein-related protein 1/tumor-derived cell adhesion factor/mac25. *Cancer Sci.* 98, 1055–1063.
6. Usui, T., Murai, T., Tanaka, T., Yamaguchi, K., Nagakubo, D., Lee, C. M., Kiyomi, M., Tamura, S., Matsuzawa, Y., and Miyasaka, M. (2002) Characterization of mac25/angiomodulin expression by high endothelial venule cells in lymphoid tissues and its identification as an inducible marker for activated endothelial cells. *Int. Immunol.* 14, 1273–1282.
7. Sprenger, C. C., Vail, M. E., Evans, K., Simurdak, J., and Plymate, S. R. (2002) Over-expression of insulin-like growth factor binding protein-related protein-1(IGFBP-rP1/mac25) in the M12 prostate cancer cell line alters tumor growth by a delay in G1 and cyclin A associated apoptosis. *Oncogene* 21, 140–147.
8. Nousbeck, J., Sarig, O., Avidan, N., Indelman, M., Bergman, R., Ramon, M., Enk, C. D., and Sprecher, E. (2010) Insulin-like growth factor-binding protein 7 regulates keratinocyte proliferation, differentiation and apoptosis. *J. Invest Dermatol.* 130, 378–387.
9. Unigene, National Center for Biotechnology Information; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/UniGene/ESTProfileViewer.cgi?uglist=Hs.633514>.
10. Protein Knowledgebase, UniProtKB/Swiss-Prot; <http://www.uniprot.org/uniprot/P16035>.
11. Covington, M. D., Burghardt, R. C., and Parrish, A. R. (2006) Ischemia-induced cleavage of cadherins in NRK cells requires MT1-MMP (MMP-14). *Am. J. Physiol Renal Physiol* 290, F43–F51.
12. Caron, A., Desrosiers, R. R., and Beliveau, R. (2005) Ischemia injury alters endothelial cell properties of kidney cortex: stimulation of MMP-9. *Exp. Cell Res.* 310, 105–116.
13. Mannello, F., Luchetti, F., Falcieri, E., and Papa, S. (2005) Multiple roles of matrix metalloproteinases during apoptosis. *Apoptosis.* 10, 19–24.
14. Le, N. T., Xue, M., Castelnoble, L. A., and Jackson, C. J. (2007) The dual personalities of matrix metalloproteinases in inflammation. *Front Biosci.* 12, 1475–1487.
15. Catania, J. M., Chen, G., and Parrish, A. R. (2007) Role of matrix metalloproteinases in renal pathophysiologies. *Am. J. Physiol Renal Physiol* 292, F905–F911.
16. Stetler-Stevenson, W. G. (2008) Tissue inhibitors of metalloproteinases in cell signaling: metalloproteinase-independent biological activities. *Sci. Signal.* 1, re6.
17. Devarajan, P. (2006) Update on mechanisms of ischemic acute kidney injury. *J Am Soc Nephrol.* 17, 1503–20.
18. Rodier, F., Campisi, J., Bhaumik, D. (2007) Two faces of p53: aging and tumor suppression. *Nucleic Acids Res.* 35, 7475–84.
19. Boonstra, J., Post, J.A. (2004) Molecular events associated with reactive oxygen species and cell cycle progression in mammalian cells. *Gene.* 337, 1–13.
20. Seo, D.W., Li, H., Qu, C.K., Oh, J., Kim, Y.S., Diaz, T., Wei, B., Han, J.W., Stetler-Stevenson, W.G. (2006) Shp-1 mediates the antiproliferative activity of tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in human microvascular endothelial cells. *J Biol Chem.* 281, 3711–21.
21. Witzgall, R., Brown, D., Schwarz, C., Bonventre, J.V. (1994) Localization of proliferating cell nuclear antigen, vimentin, c-Fos, and clusterin in the postischemic kidney. Evidence for a heterogenous genetic response among nephron segments, and a large pool of mitotically active and dedifferentiated cells. *J Clin Invest.* 93, 2175–88.
22. Price, P.M., Safirstein, R.L., Megyesi, J. (2009) The cell cycle and acute kidney injury. *Kidney Int.* 76, 604–13.
23. Kashani, K., Al-Khafaji, A., Ardiles, T., Artigas, A., Bagshaw, S.M., et al. (2012) Discovery and validation of cell cycle arrest biomarkers in human acute kidney injury. *Crit Care.* 17, R25. <http://ccforum.com/content/17/1/R25>
24. Uchino, S., Kellum, J. A., Bellomo, R., Doig, G. S., Morimatsu, H., Morgera, S., Schetz, M., Tan, I., Bouman, C., Macedo, E., Gibney, N., Tolwani, A., and Ronco, C. Acute renal failure in critically ill patients: a multinational, multicenter study. *JAMA* 294, 813–818 (2005).

25. Mehta, R. L., Pascual, M. T., Soroko, S., Savage, B. R., Himmelfarb, J., Ikizler, T. A., Paganini, E. P., and Chertow, G. M. Spectrum of acute renal failure in the intensive care unit: the PICARD experience. *Kidney Int.* **66**, 1613–1621 (2004).
26. Waikar, S. S., Liu, K. D., and Chertow, G. M. Diagnosis, epidemiology and outcomes of acute kidney injury. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* **3**, 844–861 (2008).
27. Kellum, J. A. Acute kidney injury. *Crit Care Med.* **36**, S141–S145 (2008).
28. Xue, J. L., Daniels, F., Star, R. A., Kimmel, P. L., Eggers, P. W., Molitoris, B. A., Himmelfarb, J., and Collins, A. J. Incidence and mortality of acute renal failure in Medicare beneficiaries, 1992 to 2001. *J. Am. Soc. Nephrol.* **17**, 1135–1142 (2006).
29. McCullough, P. A., Adam, A., Becker, C. R., Davidson, C., Lameire, N., Stacul, F., and Tumlin, J. Epidemiology and prognostic implications of contrast-induced nephropathy. *Am. J. Cardiol.* **98**, 5K–13K (2006).
30. Joannidis, M., Metnitz, B., Bauer, P., Schusterschitz, N., Moreno, R., Druml, W., and Metnitz, P. G. Acute kidney injury in critically ill patients classified by AKIN versus RIFLE using the SAPS 3 database. *Intensive Care Med.* **35**, 1692–1702 (2009).
31. Dasta, J. F., Kane-Gill, S. L., Durtschi, A. J., Pathak, D. S., and Kellum, J. A. Costs and outcomes of acute kidney injury (AKI) following cardiac surgery. *Nephrol. Dial. Transplant.* **23**, 1970–1974 (2008).
32. Bagshaw, S. M., George, C., Dinu, I., and Bellomo, R. A multi-centre evaluation of the RIFLE criteria for early acute kidney injury in critically ill patients. *Nephrol. Dial. Transplant.* **23**, 1203–1210 (2008).
33. Hoste, E. A., Clermont, G., Kersten, A., Venkataraman, R., Angus, D. C., De, B. D., and Kellum, J. A. RIFLE criteria for acute kidney injury are associated with hospital mortality in critically ill patients: a cohort analysis. *Crit Care* **10**, R73 (2006).
34. Chertow, G. M., Burdick, E., Honour, M., Bonventre, J. V., and Bates, D. W. Acute kidney injury, mortality, length of stay, and costs in hospitalized patients. *J. Am. Soc. Nephrol.* **16**, 3365–3370 (2005).
35. Amdur, R. L., Chawla, L. S., Amodeo, S., Kimmel, P. L., and Palant, C. E. Outcomes following diagnosis of acute renal failure in U.S. veterans: focus on acute tubular necrosis. *Kidney Int.* **76**, 1089–1097 (2009).
36. Ishani, A., Xue, J. L., Himmelfarb, J., Eggers, P. W., Kimmel, P. L., Molitoris, B. A., and Collins, A. J. Acute kidney injury increases risk of ESRD among elderly. *J. Am. Soc. Nephrol.* **20**, 223–228 (2009).
37. Mehta, R. L., Kellum, J. A., Shah, S. V., Molitoris, B. A., Ronco, C., Warnock, D. G., and Levin, A. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care* **11**, R31 (2007).
38. International Society of Nephrology. (2012) KDIGO Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury. *Kidney Int. Suppl.* **2**, 1–138. http://www.kdigo.org/clinical_practice_guidelines/pdf/KDIGO%20AKI%20Guideline.pdf
39. ISO 17511:2003. In vitro diagnostic medical devices-Measurement of quantities in biological samples-Metrological traceability of values assigned to calibrator and control materials. ISO, Geneva, Switzerland.
40. CLSI Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline. CLSI document EP17-A (ISBN 1-56238-551-8), 2004.
41. CLSI Protocols for Estimation of Total Analytical Error for Clinical Laboratory Methods; Approved Guideline. NCCLS Document EP21-A (ISBN 1-56238-502-X) 2003.
42. CLSI Protocols for Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline Second Edition. CLSI Document EP5-A2 (ISBN 1-56238-542-9) 2004.
43. CLSI Protocols for Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline Second Edition. CLSI Document EP7-A2 (ISBN 1-56238-584-4) 2005.
44. CLSI Protocols for Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline Third Edition. CLSI Document C28-A3 (ISBN 1-56238-682-4) 2008.
45. Lilly, C.M., Zuckerman, I.H., Badawi, O. and Riker, R.R. Benchmark Data From More Than 240,000 Adults That Reflect the Current Practice of Critical Care in the United States. *Chest* **140**;1232–1242 (2011).

Symbols Glossary

Symbol	Standard Reference	Symbol Title	Symbol Reference Number	Symbol Description as Provided by the Referenced Standard
	a	Manufacturer	5.1.1	Indicates the medical device manufacturer, as defined in EU Directives 90/385/EEC, 93/42/EEC and 98/79/EC.
	a	Consult instructions for use	5.4.3	Indicates the need for the user to consult the instructions for use.
	a	<i>In vitro</i> diagnostic medical device	5.5.1	Indicates a medical device that is intended to be used as an <i>in vitro</i> diagnostic medical device.
	a	Catalogue number	5.1.6	Indicates the manufacturer's catalogue number so that the medical device can be identified.
	a	Batch code	5.1.5	Indicates the manufacturer's batch code so that the batch or lot can be identified.
	a	Use-by date	5.1.4	Indicates the date after which the medical device is not to be used.
	a	Do not re-use	5.4.2	Indicates a medical device that is intended for one use, or for use on a single patient during a single procedure.
	a	Temperature limit	5.3.7	Indicates the temperature limits to which the medical device can be safely exposed.
	a	Biological risks	5.4.1	Indicates that there are potential biological risks associated with the medical device.
	a	Contains sufficient for <n> test	5.5.5	Indicates the total number of IVD tests that can be performed with the IVD kit reagents.
	b	Contents	—	Contents
	b	Conjugate Vial	—	Conjugate Vial
	b	Buffer Vial	—	Buffer Vial
	b	Test Buffer Solution	—	Test Buffer Solution
	b	RFID Lot	—	RFID Lot
	b	RFID Card	—	RFID Card
	b	NEPHROCHECK® RFID Card	—	NEPHROCHECK® RFID Card
	b	Test Kit	—	Test Kit

Legend for Standard Reference (designation number and title):

- a) ANSI/AAMI/ISO 15223-1 & ISO 15223-1 Medical Devices to be used with medical device labels, labeling and information to be supplied — Part 1: General requirements
- b) Symbol containing explanatory text for clarity

Ordering and Contact Information

NEPHROCHECK® Test Kit (PN 500011)

For questions regarding the use or performance of the NEPHROCHECK® Test Kit or any Astute Medical, Inc. product, please contact Astute Technical Support.

Astute Medical, Inc.
3550 General Atomics Ct.
Building 2
San Diego, CA 92121
USA

Phone: +1 (855) 317-2788 (Monday thru Friday, 8am – 5pm PST)

Email: technicalsupport@astutemedical.com

Website: www.astutemedical.com

End User License Agreement

PURCHASE AND/OR USE OF THIS PRODUCT SHALL CONSTITUTE ACKNOWLEDGMENT AND ACCEPTANCE OF THE TERMS AND CONDITIONS OF THIS END USER LICENSE AGREEMENT

Astute Medical, Inc. (together with its affiliates, "Astute") hereby grants to the purchaser/user ("you", "your") of this product the limited license to use this product solely for the purpose as specified on the approved label therefor. You hereby agree that you shall use this product solely for such purpose and for no other purpose.

If you do not agree with each of the terms and conditions set forth in this End User License Agreement, please contact Astute within ten (10) days after receipt of this product to return the unused and unopened product for a full refund.

LIMITED WARRANTY. FOR THE APPLICABLE WARRANTY PERIOD, ASTUTE WARRANTS THAT THIS PRODUCT SHALL BE (A) OF GOOD QUALITY AND FREE OF MATERIAL DEFECTS, (B) FUNCTION IN ACCORDANCE WITH THE MATERIAL SPECIFICATIONS REFERENCED IN THE PRODUCT MANUAL, AND (C) APPROVED BY THE PROPER GOVERNMENTAL AGENCIES REQUIRED FOR THE SALE OF PRODUCTS FOR THEIR INTENDED USE AS DESCRIBED IN THE APPLICABLE PRODUCT MANUAL OR INSERT THROUGHOUT THE PRINTED EXPIRATION DATE, OR IN THE CASE OF THE ASTUTE140® METER FOR A PERIOD OF TWELVE (12) MONTHS FROM THE DATE OF SHIPMENT (THE "LIMITED WARRANTY"). IF THIS PRODUCT FAILS TO MEET THE REQUIREMENTS OF THIS LIMITED WARRANTY, THEN AS YOUR SOLE REMEDY, ASTUTE SHALL EITHER REPAIR OR REPLACE, AT ASTUTE DISCRETION, THIS PRODUCT.

EXCEPT FOR THE LIMITED WARRANTY STATED IN THIS SECTION, TO THE EXTENT PERMITTED UNDER APPLICABLE LAW, ASTUTE DISCLAIMS ANY AND ALL WARRANTIES, EXPRESS OR IMPLIED, INCLUDING BUT NOT LIMITED TO, ANY WARRANTY OF MERCHANTABILITY, FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE AND NON-INFRINGEMENT REGARDING THIS PRODUCT.

ASTUTE'S MAXIMUM LIABILITY FOR ANY CUSTOMER CLAIM SHALL NOT EXCEED THE NET PRODUCT PRICE PAID THEREFOR.

NO PARTY SHALL BE LIABLE TO ANY OTHER PARTY FOR SPECIAL, INCIDENTAL OR CONSEQUENTIAL DAMAGES, OR LOSS OF BUSINESS, PROFITS, DATA OR REVENUE, EVEN IF A PARTY RECEIVES NOTICE IN ADVANCE THAT THESE KINDS OF DAMAGES MIGHT RESULT.

The Limited Warranty above shall not apply if this product has been subjected to physical abuse, misuse, abnormal use, use inconsistent with the product manual or insert, fraud, tampering, unusual physical stress, negligence or accidents.

Any warranty claim pursuant to the Limited Warranty shall be made in writing within the applicable Limited Warranty period.

You agree to use this product in strict accordance with all applicable local, state and federal laws, regulations and guidelines, and industry practices.

You further agree that you shall not resell or otherwise transfer this product to any other person or entity, without the prior express written approval of Astute Medical, Inc. Information about commercial resale or distribution of the products of Astute Medical, Inc. may be obtained by e-mailing us at info@astutemedical.com or by writing to us at Astute Medical Inc., General Atomics Court, MS 02/641, San Diego, CA, 92121, USA.

No amendment or addition to this End User License Agreement shall be binding upon the parties unless reduced to writing and signed by the respective authorized officers of the parties.

©2020 Astute Medical, Inc. Astute Medical®, the AM logo, Astute140®, NephroCheck®, the NephroCheck® logo and AKIRisk® are registered trademarks of Astute Medical, Inc. in the United States. For patents: <https://www.biomerieux-usa.com/patents>. PN 0311 Rev C 2020/01/07

Folleto del kit de prueba NEPHROCHECK®



Fabricado para
Astute Medical, Inc.
3550 General Atomics Ct.
Building 2
San Diego, CA 92121
USA

Uso indicado

El Sistema de Prueba Astute Medical NEPHROCHECK® está destinado a usarse junto con la evaluación clínica en pacientes que actualmente tienen o han tenido en las últimas 24 horas un compromiso cardiovascular o respiratorio agudo y son pacientes de la UCI como complemento en la evaluación de riesgo para lesiones renales agudas (AKI) moderadas o graves dentro de las 12 horas de la evaluación del paciente. El Sistema de Prueba NEPHROCHECK® está destinado para usarse en pacientes a partir de los 21 años.

Resumen y explicación de la prueba

La proteína ligadora del factor de crecimiento insulínico 7 (IGFBP-7) es una proteína soluble de un peso molecular de alrededor de 26,000 Daltons que se expresa en el tejido del riñón y en otros tejidos.¹ Se cree que la IGFBP-7 participa o es inducida en varios tipos de procesos que se han asociado con las lesiones celulares.²⁻⁸ El inhibidor de tejidos de la metaloproteínasa 2 (TIMP-2) es una proteína soluble con un peso molecular de alrededor de 22,000 Daltons que se expresa en el tejido del riñón y en otros tejidos.⁹ La TIMP-2 se une a e inhibe la actividad de varias metaloproteinasas (MMP).¹⁰ La TIMP-2 también activa la MMP2. Mediante su acción sobre las MMP, se cree que la TIMP-2 participa o es inducida en varios procesos asociados con la infiltración de leucocitos, la lesión celular y la interferencia con los contactos celulares.¹¹⁻¹⁶ La TIMP-2 y la IGFBP-7 también participan en el fenómeno de la detención del ciclo de las células G1 durante las etapas iniciales de la lesión celular.¹⁷⁻²⁰

El síndrome AKI participa en una serie de mecanismos celulares y moleculares extremadamente complejos que involucran células endoteliales, epiteliales, inflamatorias e intersticiales. Estos mecanismos incluyen las trayectorias del ciclo celular, inmunidad, inflamación y apoptosis. Recientemente, se ha demostrado que, de forma similar a otros epitelios, las células tubulares renales ingresan en un breve período de detención del ciclo celular G1 con posterioridad a una lesión por sepsis experimental² o isquemia.²¹ Se cree que esto impide que las células se dividan cuando el ADN puede estar dañado y detiene el proceso de división celular hasta que se pueda reparar el daño para impedir que esto resulte en la muerte o envejecimiento celular.¹⁸ También se conoce que el TIMP-2 y la IGFBP-7 participan en la respuesta a una amplia variedad de lesiones (inflamación, estrés oxidativo, radiación ultravioleta, drogas y toxinas).^{19,20,22} Esto puede ayudar a explicar por qué existe una correspondencia con el riesgo de AKI.

Actualmente se están incluyendo en la bibliografía estudios para analizar la combinación de TIMP-2 y de IGFBP-7 en la evaluación del riesgo de AKI humano. En una publicación²³, se realizaron dos estudios multicéntricos de observación en los pacientes de uso indicado. El primer estudio inscribió a 522 adultos en tres cohortes diferentes (que incluyeron pacientes con sepsis, conmoción, cirugía mayor y trauma) y examinaron más de 300 marcadores potenciales de AKI. El segundo estudio inscribió a 744 sujetos adultos con enfermedad crítica y sin evidencia de AKI en la inscripción; la cohorte de análisis final era una muestra heterogénea de 728 pacientes de uso indicado. El criterio de valoración primario fue AKI moderado a grave dentro de las 12 horas de la recolección de la muestra. El estudio reveló que la IGFBP-7 y la TIMP-2 urinaria, en conjunto, presentaron una AUC de 0.80. Asimismo, [TIMP-2]·[IGFBP-7] mejoraron significativamente la estratificación del riesgo al agregarse a un modelo clínico de nueve variables cuando se analizaron usando el modelo de riesgos proporcionales de Cox, una ecuación generalizada de estimación, una mejora integrada de discriminación o una mejora neta de reclasificación.

El AKI es una de las morbilidades más frecuentes y graves en los pacientes hospitalizados y se asocia con una variedad de afecciones agudas y crónicas.²⁴⁻²⁹ La carga económica y sobre la salud pública del síndrome AKI aumenta con una mortalidad, morbilidad, duración de la estadía en la UCI y costos de internación sustancialmente mayores, así como las consecuencias sobre la salud a más largo plazo.³⁰⁻³⁶ Las pruebas para evaluar el síndrome AKI proporcionan información importante para los médicos y, conjuntamente con otra información clínica disponible, pueden ayudar a los médicos a optimizar el manejo del paciente.^{27,36-38}

Principios del procedimiento de la prueba NEPHROCHECK®

La prueba NEPHROCHECK® es un cartucho de uso único compuesto de ensayos para dos biomarcadores de proteínas, TIMP-2, inhibidor de tejidos de la metaloproteinasa 2, e IGFBP-7, proteína ligadora del factor de crecimiento insulínico 7, en una tira reactiva de membrana rodeada por una cubierta de plástico que emplea una técnica de inmunoensayo tipo sándwich. El procedimiento de prueba consiste en que el operador aplique una muestra clínica de orina reciente o descongelada (es decir, previamente congelada), mezclada con conjugado fluorescente etiquetado, en el cartucho de prueba NEPHROCHECK®, y luego introduzca el cartucho de prueba en el ASTUTE140® Meter para realizar la incubación, obtener la lectura, y calcular y visualizar el resultado. El ASTUTE140® Meter es un analizador para colocar sobre el banco/mesa que convierte la señal fluorescente de los dos inmunoensayos, TIMP-2 e IGFBP-7, contenidos en el cartucho de prueba NEPHROCHECK® en un solo resultado numérico que se denomina Puntaje AKIRISK®. Para obtener más información sobre el Puntaje AKIRISK®, consulte “Resultados” e “Interpretación de los resultados”.




Materiales suministrados

El cartucho de prueba NEPHROCHECK® y el kit de prueba NEPHROCHECK® contienen todos los reactivos necesarios para la generación de los resultados de la prueba NEPHROCHECK® en muestras de orina de humanos adultos.

El cartucho de prueba NEPHROCHECK® y el vial del conjugado de prueba NEPHROCHECK® contienen:

- Anticuerpos monoclonales murinos y policlonales de la cabra anti TIMP-2
- Anticuerpos monoclonales murinos y policlonales de la cabra anti IGFBP-7
- Tinción fluorescente
- Estabilizadores
- Excipientes

El Kit de Prueba NEPHROCHECK® (número de pieza 500011) contiene:

- | | |
|--|----|
| ▪ Prueba NEPHROCHECK® | 25 |
| ▪ Vial del conjugado de prueba NEPHROCHECK®  | 25 |
| ▪ Tarjeta RFID de la prueba NEPHROCHECK®  | 1 |
| ▪ Solución amortiguadora para la prueba NEPHROCHECK® (2 x 5 ml)  | 1 |
| ▪ Folleto del kit de prueba NEPHROCHECK® | 1 |

Materiales necesarios pero no suministrados

- ASTUTE140® Meter (NP 500017)
- Kit de control líquido NEPHROCHECK® (NP 500013)
- Kit de verificación de calibración NEPHROCHECK® (PN 500009) **(disponible solo en los Estados Unidos)**
- Control de calidad electrónico NEPHROCHECK® (NP 400016)
- Pipeta calibrada de precisión, que puede dispensar 100 µl

Advertencias y precauciones

- La Prueba NEPHROCHECK® no debe usarse como una “prueba independiente”. El resultado de la Prueba NEPHROCHECK® debe evaluarse con otra información de pruebas clínicas y de laboratorio.
- El operador debe usar precauciones estándar al realizar la Prueba NEPHROCHECK® o al operar el ASTUTE140® Meter.
- Para uso de diagnóstico *in vitro*.
- La Prueba NEPHROCHECK® está destinada a usarse en laboratorios clínicos y no en entornos de punto de atención.
- Los resultados de la Prueba NEPHROCHECK® deben interpretarse dentro de las 12 horas de la evaluación de riesgo de AKI del paciente.
- No use el Kit de Prueba NEPHROCHECK® después de la fecha de vencimiento impresa en el exterior de la caja.
- Siga con atención las instrucciones y procedimientos que se describen en este folleto.

- Conserve el cartucho de prueba NEPHROCHECK® y el vial del conjugado NEPHROCHECK® en la bolsa sellada hasta que esté listo para el uso inmediato.
- Las muestras de pacientes, los cartuchos de prueba NEPHROCHECK® usados y las puntas de pipetas usadas pueden ser potencialmente infecciosos. Se deben establecer métodos apropiados de manipulación y desecho en cumplimiento con las reglamentaciones federales y locales.
- La prueba NEPHROCHECK® solo debe usarse con el ASTUTE140® Meter, el kit de control líquido NEPHROCHECK® y el kit de verificación de calibración (Cal Vers) NEPHROCHECK® (disponible solo en los Estados Unidos).
- Los viales del conjugado de prueba NEPHROCHECK® contenidos en el Kit de prueba NEPHROCHECK® se deben utilizar solamente con los cartuchos de prueba NEPHROCHECK® contenidos en la misma caja del kit. Los viales del conjugado de prueba NEPHROCHECK® no se deben usar con cartuchos contenidos en otras cajas o proporcionados con otros productos.
- El Kit de prueba NEPHROCHECK® requiere el uso de pipetas calibradas de precisión. Se recomienda que los usuarios revisen los procedimientos adecuados para el uso de estos dispositivos a fin de garantizar una dispensación precisa de los volúmenes.
- A fin de minimizar la contaminación, las puntas de las pipetas deben desecharse y se debe usar una nueva para cada toma de muestra nueva.
- Los protocolos de identificación de los pacientes (es decir, ID) que contienen los siguientes caracteres especiales "+", "&" o "@" deben ingresarse en el ASTUTE140® Meter solo mediante un lector de códigos de barras. Estos caracteres no deben ingresarse manualmente en el ASTUTE140® Meter con un teclado externo.
- Precaución: La ley federal restringe la venta de este dispositivo por parte de un médico o con la indicación de un médico u otro profesional con licencia por la ley del estado donde ejerce, para usar o indicar el uso del dispositivo.

Requisitos de almacenamiento y manipulación

- Antes de usar el Kit de Prueba NEPHROCHECK®, verifique que los componentes del kit no presenten daños. No use el Kit de Prueba NEPHROCHECK® si algún componente está dañado.
- El material del vial del conjugado de prueba NEPHROCHECK® está liofilizado.
- Los componentes no abiertos del Kit de Prueba NEPHROCHECK® son estables hasta la fecha de vencimiento impresa en la caja cuando se almacenan a 2–8 °C (35.6–46.4 °F).
- El cartucho de prueba NEPHROCHECK® no abierto es estable por 60 minutos a 22.9–24.8 °C (73.2–76.6 °F).
- La solución amortiguadora de prueba NEPHROCHECK® abierta es estable hasta la fecha de vencimiento impresa en la etiqueta de la botella o hasta 18 semanas después de la abertura inicial de la botella (lo que ocurra primero) cuando la porción no utilizada se almacena correctamente a 2–8 °C (35.6–46.4 °F).
- Cada cartucho de prueba NEPHROCHECK® y vial del conjugado de prueba NEPHROCHECK® es de un solo uso.
- Después de completar todas las pruebas incluidas en la caja del kit, deseche la solución amortiguadora de prueba NEPHROCHECK® restante de acuerdo con las reglamentaciones locales.
- Después de retirar los componentes del Kit de Prueba NEPHROCHECK® del almacenamiento a 2–8 °C, permita que el cartucho de prueba alcance la temperatura de operación de 18–25 °C (64–77 °F) antes de abrir la bolsa de aluminio.
- Verifique que la Prueba NEPHROCHECK® se ejecute dentro del rango de humedad de operación de 30–50 % de HR.

Primeros pasos

Con la tarjeta RFID proporcionada, cada lote de análisis NEPHROCHECK® debe registrarse en el ASTUTE140® Meter antes del primer uso.

Configure el ASTUTE140® Meter y ejecute los procedimientos del control de calidad electrónico (CCE) ASTUTE140® y del control de calidad de líquidos (CCL) NEPHROCHECK®. (Vea "Instalación" y "Funcionamiento del ASTUTE140® Meter" en el Manual del usuario del ASTUTE140® Meter para ver instrucciones detalladas).

Tarjetas RFID y registro de lotes

Cada nuevo dispositivo de control de calidad electrónico (CCE) ASTUTE140®, kit de control líquido NEPHROCHECK® y Kit de Prueba NEPHROCHECK® se entrega con una o más tarjetas RFID. Estas tarjetas RFID contienen información específica del producto, como números de lote del producto, fechas de vencimiento e información sobre la calibración. Las tarjetas RFID deben usarse para transferir (o registrar) información de lotes específicos para cada nuevo kit al ASTUTE140® Meter

antes del primer uso. Para registrar un kit o lote de dispositivos, ubique la tarjeta RFID incluida con el kit o dispositivo y realice los pasos siguientes. (Vea "Funcionamiento del ASTUTE140® Meter" en el Manual del usuario del ASTUTE140® Meter para ver instrucciones detalladas).

NOTA: El Kit de control líquido NEPHROCHECK® se suministra con dos tarjetas RFID, una tarjeta para cada nivel de control. El proceso de registro del control líquido se debe realizar para cada nivel de control.

Cómo registrar tarjetas RFID con el ASTUTE140® Meter (transferir información específica del lote)

1. Desde el **Menú principal**, use las teclas de navegación (flechas) para resaltar y seleccionar el icono **Menú del operador**.
2. Presione la tecla de acceso directo de la derecha para mostrar la pantalla **Administrar lotes**.
3. Use la tecla de acceso directo para seleccionar **Administrar lotes de análisis** o use las teclas de flecha para resaltar y seleccionar **Administrar lotes CCL** o **Administrar dispositivos de CCE**.
4. Aparecerá la pantalla **Registrado** para mostrar los lotes previamente registrados (**Lotes de análisis, CCL** o **Dispositivos CCE**), presione **Opciones** mediante la tecla de acceso directo de la derecha.
5. Cuando visualice el menú emergente de **Opciones**, use las teclas de flecha para resaltar **Registrar lote** (o **Dispositivo** para CCE) y presione la tecla de acceso directo de la derecha para **Seleccionar**.
6. Cuando se le indique, sostenga la tarjeta RFID contra el teclado numérico para registrar la información y presione la tecla de acceso directo de la derecha para seleccionar **OK**.
7. Si se registra correctamente, aparecerá una pantalla que indicará que el número de lote (o dispositivo) se leyó correctamente de la tarjeta RFID. Presione la tecla de acceso directo de la derecha y seleccione **Aceptar**. El lote o dispositivo que se acaba de registrar debe aparecer ahora en la lista de lotes o dispositivos registrados.
8. Si se registra incorrectamente, aparecerá un mensaje de error. Presione la tecla de acceso directo de la derecha para seleccionar **OK** para cerrar el mensaje de error. Repita los pasos anteriores. Si no se ha registrado correctamente por segunda vez, contacte al Soporte Técnico de Astute.
9. Después de usarla, vuelva a colocar la tarjeta RFID en su funda y almacénela con el número de lote con el que se entregó.
10. Para registrar un segundo control líquido en un conjunto o registrar otro lote o dispositivo, use las teclas de flecha para seleccionar **Registrar lote** o **Dispositivo** en el menú emergente de **Opciones** y repita los pasos anteriores.

Recolección y preparación de muestras

La Prueba NEPHROCHECK® está diseñada para utilizarse solo con muestras de orina de pacientes adultos. No se han descrito otros tipos de muestras.

Muestras no congeladas/no refrigeradas

1. Recolecte una muestra de orina reciente de aproximadamente 10 ml en un recipiente limpio para la recolección de muestras sin aditivos. Para los pacientes con sondas vesicales permanentes, la bolsa de recogida debe vaciarse primero y luego debe tomarse una muestra de orina reciente. Alternativamente, la muestra puede recolectarse de un urómetro, en caso de que haya uno presente. Transporte la muestra de orina al laboratorio que realizará la Prueba NEPHROCHECK®.

NOTA: Las muestras deben transferirse al laboratorio y centrifugarse en la hora posterior a su recogida.

2. Mezcle bien la orina en el recipiente de recolección de muestra invirtiendo el contenedor de 8 a 10 veces. Transfiera la muestra de orina del recipiente de recogida de muestras a un tubo de centrifugado limpio. Centrifugue la muestra de orina por aproximadamente 10 minutos en una centrifugadora refrigerada ajustada a un rcf de 1000 x g y una temperatura de 4 °C (39.2 °F). Después de centrifugar la muestra, transfiera el sobrenadante a un receptáculo limpio. Permita que el sobrenadante alcance la temperatura ambiente y analice el sobrenadante en las 5 horas posteriores a la recogida de la muestra. Si no se puede completar la prueba en las 5 horas posteriores a la recogida de la muestra, los sobrenadantes se pueden refrigerar inmediatamente tras la centrifugación y se pueden analizar después de 20 horas de la recogida.

Muestras congeladas/refrigeradas

1. Para analizar muestras de orina congeladas o refrigeradas, descongele o temple los sobrenadantes de orina en un baño de agua a temperatura ambiente (18–25 °C; 64.4–77 °F) hasta que se descongelen y alcancen la temperatura ambiente, pero no durante un periodo superior a los 20 minutos.
2. Cuando el sobrenadante se haya descongelado o haya alcanzado la temperatura ambiente, invierta suavemente el tubo de muestra 1–2 veces para mezclar la muestra. Asegúrese de que el sobrenadante esté bien mezclado antes del análisis. Analice el sobrenadante inmediatamente luego de mezclarlo.

NOTA: Puede haber precipitados en el tubo de sobrenadante. Invierta siempre el tubo de muestra 1–2 veces para asegurarse de que la muestra esté bien mezclada antes del análisis para garantizar resultados precisos de medición.

3. Los sobrenadantes deben cargarse en el cartucho de prueba NEPHROCHECK® en la hora posterior a la colocación del sobrenadante en un baño acuoso.
4. Evite el congelamiento y descongelamiento repetido del sobrenadante.

Procedimiento de prueba NEPHROCHECK®

- El procedimiento de prueba requiere el uso de una pipeta calibrada de precisión para lo siguiente:
 - Añadir la solución amortiguadora de prueba NEPHROCHECK® y muestra de orina en el vial del conjugado de prueba NEPHROCHECK®
 - Introducir la muestra en el cartucho de prueba NEPHROCHECK®

Para realizar la prueba NEPHROCHECK®, siga estos pasos:

1. Preparación:

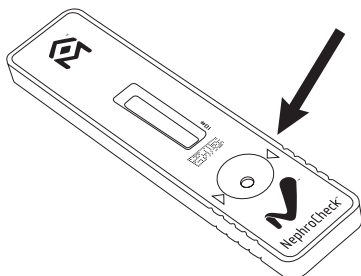
- a. Resalte y seleccione **Procesar paciente** en el **Menú principal** del ASTUTE140® Meter.
- b. Ingrese manualmente la ID del paciente o escanee la ID del paciente y transmítala al ASTUTE140® Meter con un lector de códigos de barras (si está conectado). Después de confirmar que se ha ingresado la ID del paciente o la ID de muestra correcta, seleccione **Procesar paciente**. La bandeja del ASTUTE140® Meter se abrirá automáticamente. (NOTA: Los protocolos de identificación de los pacientes (es decir, ID) que contienen los siguientes caracteres especiales “+”, “&” o “@” deben ingresarse en el ASTUTE140® Meter solo mediante un lector de códigos de barras. Estos caracteres no deben ingresarse en el ASTUTE140® Meter con un teclado externo).
- c. Retire los componentes del Kit de Prueba NEPHROCHECK® del almacenamiento a 2–8 °C, permita que el cartucho de prueba alcance la temperatura de funcionamiento de 18–25 °C (64–77 °F).
- d. Retire el cartucho de prueba NEPHROCHECK® de la bolsa de aluminio y colóquelo en una superficie plana.
- e. Retire el vial del conjugado de prueba NEPHROCHECK® de la bolsa.
- f. Cada vial del conjugado de prueba NEPHROCHECK® contiene una sola esfera de conjugado. Retire la tapa del vial del conjugado de prueba NEPHROCHECK®. Inspeccione visualmente la tapa y el vial para asegurarse de que la esfera del conjugado no se haya adherido a la tapa y esté presente en el vial. Si la esfera se ha adherido a la tapa, coloque la tapa en el vial y golpetee tres veces. Repita de ser necesario hasta que la esfera se deposite en el vial. No toque la esfera ni intente retirarla de la tapa de ningún otro modo.
- g. Con una pipeta, vierta 100 µl de solución amortiguadora de prueba NEPHROCHECK® en el vial del conjugado de la prueba NEPHROCHECK® que contiene la esfera del conjugado. Esto resultará en una reconstitución de la esfera del conjugado en una solución. Deseche la pipeta de acuerdo con las reglamentaciones locales.

NOTA: El líquido del conjugado en el vial debe usarse tan pronto como se reconstituya.

NOTA: Cada botella de la solución amortiguadora de prueba NEPHROCHECK® contiene suficiente solución amortiguadora para realizar todas las pruebas suministradas en el Kit de prueba NEPHROCHECK®. No deseche la solución amortiguadora hasta haber utilizado todas las pruebas suministradas en el Kit de prueba NEPHROCHECK®. Almacene la porción no utilizada de la solución amortiguadora a 2–8 °C (35.6–46.4 °F).

- h. Con una nueva punta de pipeta, agregue 100 µl de sobrenadante de orina centrifugado o muestra de control líquido al vial del conjugado de prueba NEPHROCHECK® que ahora contiene la solución reconstituida de la esfera de conjugado. Mezcle bien (mezcle al menos tres veces usando la punta de la pipeta).

- i. Con una pipeta, vierta 100 µl de solución mezclada de muestra/conjugado en el puerto para muestras del cartucho de prueba NEPHROCHECK®. Evite introducir burbujas en el puerto de la muestra al agregar la solución de muestra/conjugado en el cartucho de prueba NEPHROCHECK®. Espere aproximadamente un minuto para que el pocillo redondo absorba la muestra.



2. Realice la prueba NEPHROCHECK®:

- Sostenga el cartucho de prueba NEPHROCHECK® desde sus sujeciones laterales, coloque el cartucho dentro de la bandeja del ASTUTE140® Meter con el logotipo de Astute Medical apuntando hacia el interior de la bandeja del dispositivo. Mantenga el cartucho de prueba NEPHROCHECK® en posición horizontal y evite inclinar el cartucho de prueba durante la colocación en la bandeja del ASTUTE140® Meter.
- Cierre la bandeja del ASTUTE140® Meter. En aproximadamente 20 minutos, se mostrará un único resultado numérico de la prueba.
- Abra la bandeja del ASTUTE140® Meter. Retire el cartucho de prueba NEPHROCHECK® y deséchelo junto con el vial del conjugado de acuerdo con las reglamentaciones locales.

3. Revise los resultados de prueba NEPHROCHECK®:

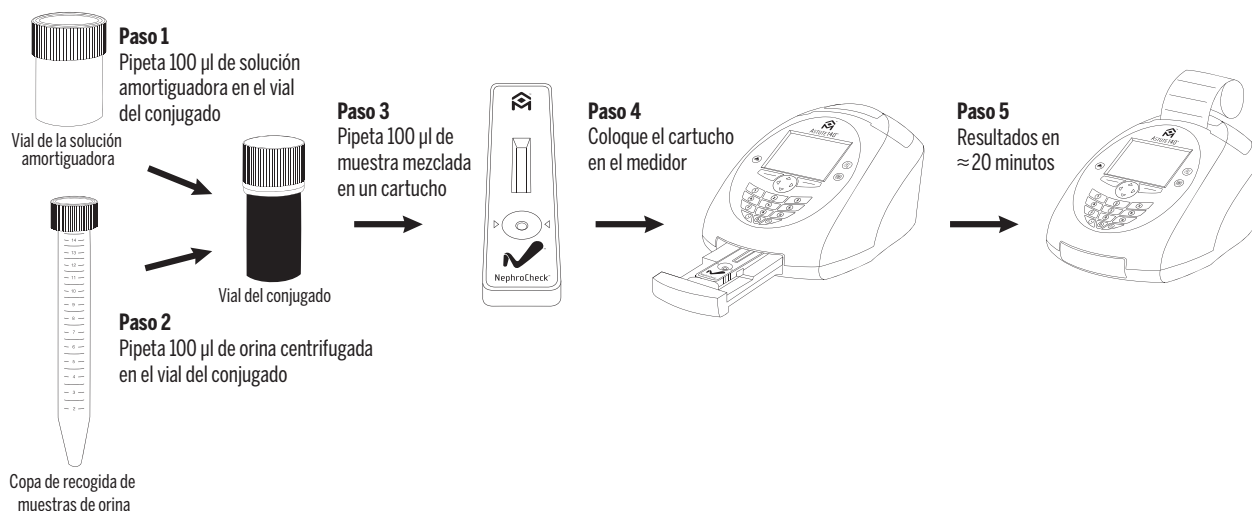
Luego de procesar la prueba, siga las instrucciones del Manual del Usuario del ASTUTE140® Meter para imprimir los resultados (si lo desea) o cargue los resultados en el sistema de información del laboratorio (SIL).

Si la prueba NEPHROCHECK® genera un fallo, un mensaje de error en el Meter indicará que el resultado es inválido y que se debe analizar un nuevo cartucho. Si el procedimiento falla por segunda vez, contacte al Soporte Técnico de Astute (Vea "Pedidos e información de contacto").

El ASTUTE140® Meter convierte la señal fluorescente de cada uno de los dos inmunoensayos (TIMP-2 e IGFBP-7) contenidos en el cartucho de prueba NEPHROCHECK® en un solo resultado numérico. El resultado de prueba NEPHROCHECK® (Puntaje AKIRISK®) se calcula con el ASTUTE140® Meter como el producto de las concentraciones medidas de los dos biomarcadores, TIMP-2 e IGFBP-7 (medidas como ng/ml), dividido por 1000:

$$\text{Resultado de prueba NEPHROCHECK® (Puntaje AKIRISK®)} = \frac{([\text{TIMP-2}] * [\text{IGFBP-7}])}{1000} \quad (\text{unidades} = (\text{ng/ml})^2 / 1000)$$

Proceso de preparación de la prueba NEPHROCHECK®



Resultados

El Puntaje AKIRISK® se visualiza en la pantalla del ASTUTE140® Meter después de que se ha completado el procedimiento de prueba NEPHROCHECK®. No se muestran los resultados de los marcadores individuales. El resultado de prueba se muestra sin unidades. Consulte las secciones “Interpretación de resultados” y “Rango de referencia” para obtener más información.

Interpretación de resultados

Se ha establecido un corte único del Puntaje AKIRISK® de >0.3 para la prueba NEPHROCHECK® en base a los resultados de los estudios clínicos para lograr una alta sensibilidad mientras se mantiene una especificidad aceptable para identificar a la mayoría de los pacientes que manifestarán AKI moderado o grave dentro de las 12 horas. Según los resultados de las pruebas clínicas, los pacientes de uso indicado con Puntajes AKIRISK® <0.3 presentan un menor riesgo de desarrollar AKI moderado a grave dentro de las 12 horas de la evaluación en comparación con los pacientes de uso indicado con Puntajes AKIRISK® >0.3 .

El rango de referencia del Puntaje AKIRISK® para sujetos aparentemente sanos fue de 0.04 a 2.25 y para sujetos con morbilidades crónicas estables fue de 0.05 a 2.20 (Consulte la sección “Rango de referencia” para ver más información sobre estas poblaciones de pacientes). En los estudios clínicos (Estudio A y B) realizados para validar la prueba en la población de uso indicado, se observaron los siguientes Puntajes AKIRISK®. En el Estudio A, para los 408 pacientes de uso indicado, el rango (95 % central) en el Puntaje AKIRISK® para los sujetos que no tenían AKI fue de 0.04 a 2.62, en tanto que para los pacientes de uso indicado con AKI, se elevó significativamente, de 0.10 a 8.47. En el Estudio B, para los 126 pacientes de uso indicado, el rango (95 % central) en el Puntaje AKIRISK® para los sujetos que no tenían AKI fue de 0.03 a 6.36, en tanto que el rango para los sujetos con AKI, se elevó significativamente, de 0.08 a 13.33. (Consulte la sección “Rendimiento clínico” para ver más información sobre los estudios clínicos). Como las distribuciones de los Puntajes AKIRISK® para sujetos aparentemente sanos, sujetos con morbilidades crónicas estables (sin enfermedad aguda), y pacientes con uso indicado sin AKI presentan una superposición con la distribución de Puntajes AKIRISK® para los pacientes de uso indicado con AKI, los resultados de la prueba NEPHROCHECK® no se pueden utilizar como resultados independientes, y, de acuerdo con el valor predictivo positivo (PPV) bajo, un resultado del Puntaje AKIRISK® >0.3 no es necesariamente predictivo del desarrollo de AKI moderado a grave dentro de un plazo específico.

Estandarización

Los resultados de la concentración para cada uno de los ensayos realizados en la prueba NEPHROCHECK® son trazables para las soluciones estándar de referencia que contienen una masa definida (concentración) de las proteínas TIMP-2 e IGFBP-7 de acuerdo con EN ISO 17511.³⁹ La prueba NEPHROCHECK® y los controles líquidos NEPHROCHECK® son trazables para las mismas soluciones estándar de referencia.

Consideraciones sobre el control de calidad

Cada cartucho de prueba NEPHROCHECK® contiene dos zonas de detección utilizadas como controles de procedimiento (un control positivo y un control negativo) que indican que el procedimiento de prueba NEPHROCHECK® se realizó correctamente. Estos controles positivos y negativos se procesan automáticamente con cada muestra. Si la comprobación automática de estos controles de procedimiento demuestra que los resultados del valor de control no se encuentran dentro

de los límites predefinidos, el Meter mostrará un mensaje de error y no se comunicará el resultado de la prueba. Estos controles de procedimiento son adicionales a los controles líquidos NEPHROCHECK® externos y al dispositivo ASTUTE140® de control de calidad electrónico (CCE).

Las buenas prácticas de laboratorio sugieren que se analicen los controles líquidos NEPHROCHECK® externos:

- Cada 30 días
- Con cada nuevo número de lote de Kits de prueba NEPHROCHECK®
- Con cada nuevo envío de Kits de prueba NEPHROCHECK®
- Después de las tareas de mantenimiento o servicio en el ASTUTE140® Meter
- De acuerdo con las reglamentaciones locales, estatales o federales o los requisitos de acreditación y procedimientos estándar de control de calidad

Las buenas prácticas de laboratorio sugieren que se evalúe el dispositivo de control de calidad electrónico (CCE) ASTUTE140®:

- A diario
- Después de las tareas de mantenimiento o servicio en el ASTUTE140® Meter
- De acuerdo con las reglamentaciones locales, estatales o federales o los requisitos de acreditación y procedimientos estándar de control de calidad

Limitaciones del procedimiento de la prueba NEPHROCHECK®

El resultado de la Prueba NEPHROCHECK® debe evaluarse con otra información de pruebas clínicas y de laboratorio. La Prueba NEPHROCHECK® no debe usarse como una "prueba independiente".

La albúmina urinaria en concentraciones superiores a 125 mg/dl interfiere con los resultados de la prueba NEPHROCHECK®. La albúmina urinaria en concentraciones superiores a 3000 mg/dl genera un resultado inválido de prueba. La bilirrubina urinaria en concentraciones superiores a 7.2 mg/dl interfiere con los resultados de la prueba NEPHROCHECK®. Tenga precaución al interpretar los resultados de la prueba NEPHROCHECK® en pacientes con proteinuria importante o hiperbilirrubinemia grave.

El azul metileno en concentraciones superiores a 0.49 mg/l interfiere con los resultados de la prueba NEPHROCHECK®.

Precaución: La ley federal restringe la venta de este dispositivo por parte de un médico o con la indicación de un médico u otro profesional con licencia por la ley del estado donde ejerce, para usar o indicar el uso del dispositivo.

Características de desempeño

Sensibilidad analítica

Límite de blanco (LoB)

La prueba NEPHROCHECK® tiene un límite de blanco (LoB) correspondiente al Puntaje AKIRISK® de 0.0002. El LoB se determinó mediante un protocolo basado en las recomendaciones de CLSI EP17-A2.⁴⁰

Límite de detección (LoD)

La prueba NEPHROCHECK® tiene un límite de detección (LoD) correspondiente al Puntaje AKIRISK® de 0.002. El LoD se determinó mediante un protocolo basado en las recomendaciones de CLSI EP17-A2.⁴⁰

Límite de cuantificación (LoQ)

La prueba NEPHROCHECK® tiene un límite de cuantificación (LoQ) correspondiente al Puntaje AKIRISK® de 0.002. El LoQ se define mediante un objetivo de error total de 20 por ciento para cada uno de los dos biomarcadores, TIMP-2 e IGFBP-7. El LoQ se determinó mediante un protocolo basado en las recomendaciones de CLSI EP17-A2.⁴⁰

Los valores de LoB, LoD y LoQ para el Puntaje AKIRISK® se informan a continuación en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Sensibilidad analítica

Resultado de la prueba NEPHROCHECK®	Límite de blanco	Límite de detección	Límite de cuantificación
Puntaje AKIRISK®	0.0002	0.002	0.002

Linealidad

El rango para informar del Puntaje AKIRISK® de la prueba NEPHROCHECK® es 0.04–10.00. Los marcadores IGFBP7 y TIMP-2 utilizados para derivar el Puntaje AKIRISK® se evaluaron y se determinaron lineales dentro del rango para informar del Puntaje AKIRISK®. Sin embargo, no se espera que el Puntaje AKIRISK® por sí solo sea lineal.

El registro de los Puntajes AKIRISK® que se encuentran fuera del rango para informar anterior es de <0.04 o >10.00 por el ASTUTE140® Meter. Si el Puntaje AKIRISK® es >10.00, la muestra no debe diluirse para una nueva prueba.

Precisión

La reproducibilidad del Puntaje AKIRISK® se determinó de acuerdo con los métodos provistos en el lineamiento CLSI EP5-A2.⁴² Tal como se muestra en la **Tabla 2**, el Puntaje AKIRISK® presentó un CV total de 10.4 % en el corte de >0.3 y osciló entre 9.1 % y 18.0 % en el rango para informar.

La reproducibilidad de los resultados se determinó en tres sitios de prueba en condiciones de uso indicado con tres lotes de kits de prueba NEPHROCHECK®. Cada sitio analizó seis muestras de orina (S2 – S7) que cubrían el rango de medición de la prueba NEPHROCHECK®. Las muestras S3, S4 y S5 (cerca del corte) presentaron los siguientes Puntajes AKIRISK® (resultado medio): 0.14, 0.3 y 0.56, respectivamente y precisión observada (CV total) de 11.0 %, 10.4 % y 10.9 %, respectivamente. Las muestras S2, S6 y S7 (diseñadas para cubrir el extremo alto y bajo del rango para informar del puntaje AKIRISK®) presentaron los siguientes Puntajes AKIRISK® (resultados medios) de 0.04, 4.61 y 8.55, respectivamente y una precisión observada (CV total) de 18.0 %, 9.1 % y 11.7 %, respectivamente. Cada sitio utilizó un lote diferente de kits de prueba, conjunto de ASTUTE140® Meters y operadores. Cada muestra de orina fue analizada por al menos 20 días, 2 ciclos de prueba por día, 2 duplicados por ciclo de prueba. Los métodos de análisis estadístico que se describen en EP5-A2 se aplicaron a los datos de prueba para determinar los valores del coeficiente de variación (CV) dentro del ciclo, entre ciclos, entre días y totales en los tres sitios de prueba. Estos CV se presentan a continuación en la **Tabla 2**.

La prueba NEPHROCHECK® está diseñada y fabricada para que cada uno de los ensayos de biomarcadores en la prueba NEPHROCHECK® tenga una precisión de CV de ≤15 % dentro del ciclo. El rendimiento representativo de la prueba NEPHROCHECK® con respecto a la precisión y reproducibilidad se clasificó tal como se describe a continuación.

Tabla 2. Precisión

		S2	S3	S4	S5	S6	S7
Puntaje AKIRISK®	Resultado medio	0.04	0.14	0.30	0.56	4.61	8.55
	Dentro de la desviación estándar del ciclo	0.01	0.01	0.03	0.05	0.34	0.84
	Dentro del CV del ciclo	15.1%	8.1%	9.0%	8.5%	7.3%	9.9%
	Desviación estándar entre ciclos	0.00	0.00	0.01	0.00	0.21	0.22
	CV entre ciclos	0.0%	3.2%	1.8%	0.0%	4.5%	2.5%
	Desviación estándar entre días	0.00	0.01	0.01	0.04	0.14	0.49
	CV entre días	9.8%	6.8%	4.9%	6.9%	3.1%	5.8%
	Desviación estándar total	0.01	0.02	0.03	0.06	0.42	1.00
	CV total	18.0%	11.0%	10.4%	10.9%	9.1%	11.7%

Pruebas de interferencia

Condiciones de interferencia

Se evaluó el efecto del pH de la muestra de orina para la prueba NEPHROCHECK®. Dos grupos de orina humana se ajustaron para cubrir múltiples valores de pH entre un pH de aproximadamente 4.2 y 9.9. Un grupo de orina se preparó para tener un Puntaje AKIRISK® de 0.26. El segundo grupo de orina se preparó para tener un Puntaje AKIRISK® de 7.0. Ninguno de los grupos de orina o valores de pH analizados presentó una interferencia significativa. El rango recomendado de pH para las muestras es de 4.2 – 9.9.

Se evaluó el efecto de la gravedad específica de la orina para la prueba NEPHROCHECK®. Dos grupos de orina humana se

ajustaron para cubrir múltiples valores de gravedad específica entre aproximadamente 0.998 y 1.038. Un grupo de orina se preparó para tener un Puntaje AKIRISK® de 0.32. El segundo grupo de orina se preparó para tener un Puntaje AKIRISK® de 6.9. Ninguno de los grupos de orina o valores de gravedad específica analizados presentó una interferencia significativa. El rango recomendado de gravedad específica para las muestras es de 0.998 – 1.038.

Sustancias que producen interferencia

Las sustancias que figuran a continuación en la **Tabla 3** y en la sección siguiente denominada “Sustancias que presentaron interferencia” se evaluaron para determinar su interferencia con el Puntaje AKIRISK®. Cada sustancia se evaluó en múltiples concentraciones de prueba de acuerdo con el lineamiento de CLSI EP7-A2.43 Cada sustancia se agregó a un grupo de orina humana recolectada de donantes aparentemente sanos y se preparó para tener un Puntaje AKIRISK® de aproximadamente 0.28 – 0.36. La muestra de orina luego se evaluó con 32 o más pruebas NEPHROCHECK®. Ninguna de las sustancias en la **Tabla 3** presentó interferencia significativa con el Puntaje AKIRISK® a la concentración máxima de prueba que se menciona a continuación. Sin embargo, las sustancias analizadas en la sección denominada “Sustancias que presentaron interferencia” ocasionaron interferencia significativa cuando se agregaron a la orina tal como se describe a continuación. El impacto de estas interferencias en el Puntaje AKIRISK® se analiza a continuación en la sección denominada “Sustancias que presentaron interferencia”. Un sesgo superior al 10 % se considera una interferencia significativa.

Tabla 3. Sustancias sin interferencia significativa

Sustancia	Conc. de prueba mg/l	Sustancia	Conc. de prueba mg/l
Dextran 40	22	Lansoprazol	90
Pentastarch	9	Linezolid	48
Hetastarch	6	Lisinopril	0.3
Visipaque (Iodixanol)	4941	Lorazepam	1
Omniscan (Gadodiamida)	177	Heparina de bajo peso molecular	30
Omnipaque (Iohexol)	14085	Mannitol	600
Magnevist (Dimeglumina Gadopentato)	422	Metformina	40
Optiray (Ioversol)	4944	Metolazona	60
Acetaminofeno	201	Metoprolol	5
Acetona	697	Metronidazol	120
Acetilcisteína	1665	Midazolam	1
Aspirina	652	Morfina	1
Aciclovir	52	Moxifloxacina	1200
Albuterol	0.4	Nitroglicerina	0.02
Amiodarona	6	Norepinefrina	204
Amoniaco	1000	Omeprazol	6
Amoxicilina	75	Ondanesteron	0.1
Amfotericina	82	Pancuronio	8
Ácido ascórbico	30	Pantoprazol (Protonix)	85
Atorvastatina	80	Fenobarbital	100
Bicarbonatos	2940	Fenilefrina	30
Bumetanida	30	Pravastatina	80
Cafeína	60	Prednisona (Prednisolona)	3
Caspofungina	86	Propofol	16
Cefepima	9	Ranitidina	6
Ceftriaxona	810	Riboflavina	12
Cefalexina	117	Rocuronio	126
Ciprofloxacina	10	Teofilina	40
Clopidogrel	225	Tobramicina	24
Dexmedetomidina (Precedex)	0.2	Torseimida	12
Diltiazem (Cardizem)	43	Urobilinogen	12
Dopamina	1	Ácido valproico (Valproato)	499
Doripenem	1050	Vancomicina	100
Epinefrina	6	Vasopresina	5
Ácido etacrínico	19	Vecuronio	21
Etanol	4000	Warfarina (Coumadin)	10
Fenoldopam	484	Cistatina C	3
Fentanil	100	Interleuquina-18 (IL-18)	0.001
Fluconazol	75	Molécula de lesión renal 1 (KIM 1)	0.02
Fluvastatina	80	Proteína ligadora de ácidos grasos de tipo hepático (L-FABP)	1
Furosemida	60	N-acetil-β-D-glucosaminidasa (NAG)	0.00004
Gentamicina	10	Lipocalina asociada con la gelatinasa de neutrófilos (NGAL)	3
Glucosa	9909	Pi-Glutationa s-transferasa (p-GST)	0.1
Hemoglobina	2000	Calcio	600
Heparina	21	Cloro	5600
Hidralazina	600	Creatinina	1800
Hidroclorotiazida	6	Magnesio	240
Hidrocodona	0.2	Fosfato	2800
Hidrocortisona	720	Potasio	4000
Ibuprofeno	500	Sodio	3600
Insulina	0.003	Sulfato	4800
Ketorolaco	166	Urea	32000
Mioglobina	5	Ácido úrico	700

Sustancias que presentaron interferencia

La albúmina urinaria en concentraciones superiores a 125 mg/dl interfiere con los resultados de la prueba NEPHROCHECK®. La albúmina urinaria en concentraciones superiores a 3000 mg/dl genera un resultado inválido de prueba. La bilirrubina urinaria en concentraciones superiores a 7.2 mg/dl interfiere con los resultados de la prueba NEPHROCHECK®. Tenga precaución al interpretar los resultados de la prueba NEPHROCHECK® en pacientes con proteinuria importante o hiperbilirrubinemia grave.

El azul metileno en concentraciones superiores a 0.49 mg/l interfiere con los resultados de la prueba NEPHROCHECK®.

Posibles reactantes cruzados

El Puntaje AKIRISK® se evaluó para detectar reactividad cruzada con las siguientes proteínas relacionadas con los ensayos de biomarcadores en la prueba NEPHROCHECK® (**Tabla 4**). Estas proteínas relacionadas se evaluaron en concentraciones que exceden los niveles fisiológicamente relevantes. Se preparó una muestra de prueba para cada proteína con posibilidad de reactividad cruzada agregando una proteína de interés a un grupo de orina humana preparada para tener un Puntaje AKIRISK® de aproximadamente 0.28 – 0.36. Para llevar a cabo una comparación, el mismo grupo de orina humana utilizado para preparar cada muestra de prueba se utilizó como muestra de control. Cada muestra de prueba y de control se evaluó con 32 o más pruebas NEPHROCHECK®. Se compararon los resultados de la concentración de biomarcadores para cada prueba y muestra de control para determinar el porcentaje de reactividad cruzada (porcentaje de reactividad cruzada = (concentración medida en la muestra de prueba – concentración medida en la muestra de control) * 100/concentración de reactante cruzado) asociada con cada proteína con posibilidad de reacción cruzada. Los resultados de estas pruebas demostraron que ninguno de los reactantes cruzados presentados a continuación en la **Tabla 4** evidenció una reactividad cruzada significativa.

Tabla 4. Reactividad cruzada con proteínas relacionadas

Posible reactante cruzado	Concentración del reactante cruzado (mg/l)	Posible reactante cruzado	Concentración del reactante cruzado (mg/l)
IGFBP-1	0.1	Agrina	1.2
IGFBP-2	0.25	HTRA1	1.2
IGFBP-3	1.2	IGFBPL1	1.2
IGFBP-4	1.2	TIMP-1	3
IGFBP-5	1.2	TIMP-3	2.5
IGFBP-6	1.2	TIMP-4	0.6
IGF-1	1.5	MMP-2	0.03
IGF-2	1.5	MMP-9	0.03
CRIM1	1.2		

Rangos de referencia

Se determinaron los rangos de referencia para dos cohortes de adultos (al menos 21 años de edad), sujetos aparentemente sanos y sujetos con morbilidades crónicas estables (sin enfermedad aguda), y se muestran en la **Tabla 5**. La información demográfica y de otro tipo para las dos cohortes se muestra en la **Tabla 6**. Para determinar los rangos de referencia, se midió una muestra de orina de cada sujeto con la prueba NEPHROCHECK® en tres laboratorios independientes y los resultados se analizaron de forma independiente para cada laboratorio. Los resultados fueron comparables en los tres laboratorios. Se observó un amplio rango en los valores de los Puntajes AKIRISK® en los sujetos aparentemente sanos y sujetos con morbilidades crónicas estables (sin enfermedad aguda). Debido a que las distribuciones de los Puntajes AKIRISK® para sujetos aparentemente sanos, sujetos con morbilidades crónicas estables (sin enfermedad aguda), y pacientes de uso indicado sin AKI presentan una superposición con la distribución de los Puntajes AKIRISK® para los pacientes de uso indicado con AKI, los resultados de la prueba NEPHROCHECK® no se pueden usar como resultados independientes (consulte la sección "Rendimiento clínico" para obtener más información sobre la cohorte de pacientes de uso indicado). El rango de referencia se definió por el 95 % central de los Puntajes AKIRISK® tal como se describe en el lineamiento CLSI C28-A3.⁴⁴ El rango de referencia general para los sujetos aparentemente sanos fue de 0.04 a 2.25 y para los sujetos con morbilidades crónicas estables fue de 0.05 a 2.20 cuando se combinaron los resultados de los tres laboratorios. Los rangos de referencia fueron comparables para los sujetos aparentemente sanos y los sujetos con morbilidades crónicas estables, y para hombres y mujeres. Cada laboratorio debería establecer un rango de referencia que sea representativo de la población de pacientes a evaluar.

Tabla 5. Rangos de referencia para sujetos aparentemente sanos y sujetos con morbilidades crónicas estables por laboratorio de prueba para cada uno de los tres laboratorios de prueba

Cohorte	Sexo	Laboratorio 1		Laboratorio 2		Laboratorio 3	
		Cantidad de sujetos	Rango del Puntaje AKIRISK®*	Cantidad de sujetos	Rango del Puntaje AKIRISK®*	Cantidad de sujetos	Rango del Puntaje AKIRISK®*
Sujetos aparentemente sanos	Femenino	191	0.04 – 2.42	191	0.04 – 2.17	191	0.04 – 2.58
	Masculino	185	0.04 – 2.33	187	0.04 – 2.10	187	0.05 – 2.35
	Todos	376	0.04 – 2.33	378	0.04 – 2.10	378	0.04 – 2.35
Sujetos con morbilidades crónicas estables	Femenino	191	0.04 – 2.20	191	0.04 – 1.93	191	0.04 – 2.28
	Masculino	179	0.06 – 2.23	181	0.06 – 2.13	181	0.06 – 2.36
	Todos	370	0.05 – 2.20	372	0.04 – 1.98	372	0.04 – 2.28

*De acuerdo con el 95 % central

Tabla 6. Características demográficas de sujetos aparentemente sanos y sujetos con morbilidad crónica estable

	Cohorte aparentemente sana Total N=378		Cohorte con morbilidad crónica estable Total N=372	
	N, Media, o Mediana	%, DE, o IQR*	N, Media, o Mediana	%, DE, o IQR*
Sexo				
Femenino	191	(50.5)	191	(51.3)
Masculino	187	(49.5)	181	(48.7)
Raza				
Indio americano [†]	3	(0.8)	6	(1.6)
Asiático	9	(2.4)	10	(2.7)
De color/Afroamericano	43	(11.4)	43	(11.6)
Nativo de Hawái [*]	1	(0.3)	3	(0.8)
Caucásico	313	(82.8)	300	(80.6)
Otro	9	(2.4)	10	(2.7)
Origen étnico				
Hispano	43	(11.4)	33	(8.9)
No hispano	335	(88.6)	339	(91.1)
Edad (años)				
Media (DE)	54	(17.3)	63	(14.7)
Mediana (IQR)	56	(40–68)	65	(53–75)
IMC (kg/m²)				
Media (DE)	27.5	(5.87)	30.8	(7.02)
Mediana (IQR)	26.8	(23.3–29.8)	29.8	(26.2–34.5)

[†]Incluye nativos de Alaska^{*}Incluye nativos de otras islas del Pacífico

*IQR; rango intercuartil (50% central)

Rendimiento clínico

El rendimiento clínico de la Prueba NEPHROCHECK® se evaluó en dos estudios clínicos: Estudio A con una cohorte de 408 pacientes de uso indicado y Estudio B con una cohorte de 126 pacientes de uso indicado. Los resultados de cada uno de los dos estudios se presentan con mayor detalle a continuación, e incluyen una comparación de los resultados entre los dos estudios.

Estudio A (n = 408 pacientes de uso indicado)

El rendimiento clínico se evaluó en el Estudio A con una cohorte de 408 pacientes de uso indicado. Los sujetos adultos se inscribieron prospectivamente en 23 hospitales de diversas ubicaciones geográficas en los Estados Unidos. Los pacientes con lesión renal aguda moderada o grave quedaron excluidos de la inscripción. Se recolectó una muestra de orina mediante la prueba NEPHROCHECK® en la inscripción, se congeló y almacenó a <-70 °C hasta la medición. Se midió una muestra de orina de cada sujeto con la Prueba NEPHROCHECK® en tres laboratorios independientes.

Cada sujeto en la cohorte de pacientes de uso indicado fue adjudicado por un Comité de Adjudicación Clínica (CAC). De los 408 pacientes de uso indicado, 337 (82.6 %) se adjudicaron a No AKI y 71 (17.4 %) se adjudicaron como AKI.

Los resultados del estudio demuestran que los pacientes de uso indicado con Puntajes AKIRISK® ≤0.3 presentan un menor riesgo de desarrollar AKI moderado a grave dentro de las 12 horas de la evaluación, y los pacientes de uso indicado con Puntajes AKIRISK® >0.3 presentan un mayor riesgo de desarrollar AKI moderado a grave dentro de las 12 horas de la evaluación.

Estudio B (n = 126 pacientes de uso indicado)

El rendimiento clínico también se validó en un segundo estudio, Estudio B (n = 126 pacientes de uso indicado). Los sujetos adultos se inscribieron prospectivamente en 6 hospitales de diversas ubicaciones geográficas en los Estados Unidos. Se recolectó una muestra de orina en la inscripción, se calculó su alícuota y las alícuotas se sometieron a diferentes condiciones de procesamiento y luego se midieron con el Sistema de Prueba NEPHROCHECK® para evaluar los efectos de estas diferentes condiciones en los resultados de la Prueba NEPHROCHECK®.

En un análisis retrospectivo, cada sujeto en el estudio fue adjudicado por un Comité de Adjudicación Clínica (CAC) como No AKI o AKI. De los 126 sujetos, 97 (77.0 %) fueron adjudicados como No AKI y 29 (23.0 %) fueron adjudicados como AKI.

La **Tabla 7** muestra la distribución de los Puntajes AKIRISK® >0.3 frente a ≤0.3 por la clasificación del CAC en una tabla 2x2 para el Estudio A por laboratorio y el Estudio B.

Tabla 7. Comparación del Puntaje AKIRISK® (>0.3 y ≤0.3) con estado AKI para el (A) laboratorio 1 del Estudio A, (B) laboratorio 2 del Estudio A, (C) laboratorio 3 del Estudio A, y (D) Estudio B. Cada laboratorio en el Estudio A omite el Puntaje AKIRISK® de un sujeto (un sujeto diferente en cada sitio). Los 3 sujetos sin un Puntaje AKIRISK® tenían un estado AKI de No AKI, lo que resultó en 336 sujetos No AKI con Puntajes AKIRISK® y 407 sujetos totales con Puntajes AKIRISK® de cada laboratorio.

(A) Laboratorio 1, Estudio A	Estado AKI		Cantidad total de resultados de la Prueba NEPHROCHECK®
	AKI	No AKI	
Puntaje AKIRISK® >0.3	65 (16.0 %) TP	182 (44.7 %) FP	247
Puntaje AKIRISK® ≤0.3	6 (1.5 %) FN	154 (37.8 %) TN	160
Cantidad total de resultados de la Prueba NEPHROCHECK®	71	336	407

(B) Laboratorio 2, Estudio A	Estado AKI		Cantidad total de resultados de la Prueba NEPHROCHECK®
	AKI	No AKI	
Puntaje AKIRISK® >0.3	64 (15.7 %) TP	172 (42.3 %) FP	236
Puntaje AKIRISK® ≤0.3	7 (1.7 %) FN	164 (40.3 %) TN	171
Cantidad total de resultados de la Prueba NEPHROCHECK®	71	336	407

(C) Laboratorio 3, Estudio A	Estado AKI		Cantidad total de resultados de la Prueba NEPHROCHECK®
	AKI	No AKI	
Puntaje AKIRISK® >0.3	66 (16.2 %) TP	186 (45.7 %) FP	252
Puntaje AKIRISK® ≤0.3	5 (1.2 %) FN	150 (36.9 %) TN	155
Cantidad total de resultados de la Prueba NEPHROCHECK®	71	336	407

(D) Estudio B	Estado AKI		Cantidad total de resultados de la Prueba NEPHROCHECK®
	AKI	No AKI	
Puntaje AKIRISK® >0.3	22 (17.5 %) TP	48 (38.1 %) FP	70
Puntaje AKIRISK® ≤0.3	7 (5.6 %) FN	49 (38.9 %) TN	56
Cantidad total de resultados de la Prueba NEPHROCHECK®	29	97	126

Los datos en la **Tabla 8** muestran que el rendimiento de la Prueba NEPHROCHECK®, incluida la alta sensibilidad de la prueba en el corte de >0.3, fue validado en el Estudio A. Los datos en la **Tabla 8** muestran una sensibilidad (que es igual a la tasa de positivos verdaderos o TPR), de 90–93 %. Esto significa que el Puntaje AKIRISK® fue de > 0.3 para el 90–93 % de los pacientes que manifestaron AKI moderado a grave dentro de las 12 horas de evaluación del paciente para determinar el riesgo de AKI. La alta sensibilidad muestra que la Prueba NEPHROCHECK® capturó la mayoría de los casos de AKI (positivos). La **Tabla 8** también muestra una tasa de negativos falsos (FNR; equivalente a sensibilidad 1) de 7–10 %, lo que indica que el Puntaje AKIRISK® fue de ≤0.3 para el 7–10 % de los pacientes que manifestaron AKI moderado a grave dentro de las 12 horas de la evaluación del paciente para determinar el riesgo de AKI. Los datos también muestran una especificidad (equivalente a una tasa de negativos verdaderos o TNR) de 45–49 %. Esto significa que el Puntaje AKIRISK® fue de ≤0.3 para el 45–49 % de los pacientes que *no* manifestaron AKI moderado a grave dentro de las 12 horas de la evaluación del paciente para determinar el riesgo de AKI. Los datos también muestran una tasa de positivos falsos (FPR; equivalente a especificidad de 1) del 51–55 %, lo que indica que el Puntaje AKIRISK® fue >0.3 para el 51–55 % de los pacientes (aproximadamente 1 de cada 2 pacientes) que *no* manifestaron AKI moderado a grave dentro de las 12 horas de la evaluación del paciente para la determinación del riesgo de AKI. En consecuencia, un Puntaje AKIRISK® de >0.3 puede no ser predictivo del desarrollo de AKI moderado a grave dentro de las 12 horas de la evaluación del paciente.

Tabla 8. Características operativas de la Prueba NEPHROCHECK® (Estudio A)

Estadística	Laboratorio 1		Laboratorio 2		Laboratorio 3	
	Valor	IC del 95%	Valor	IC del 95%	Valor	IC del 95%
Sensibilidad (TPR)	0.92	0.85, 0.98	0.90	0.83, 0.97	0.93	0.87, 0.99
Especificidad (TNR)	0.46	0.40, 0.51	0.49	0.43, 0.54	0.45	0.39, 0.50
FPR (Especificidad 1)	0.54	0.49, 0.60	0.51	0.46, 0.57	0.55	0.50, 0.61
FNR (Sensibilidad 1)	0.08	0.02, 0.15	0.10	0.03, 0.17	0.07	0.01, 0.13
Valor predictivo negativo (NPV)	0.96	0.93, 0.99	0.96	0.93, 0.99	0.97	0.94, 1.00
Valor predictivo positivo (PPV)	0.26	0.21, 0.32	0.27	0.21, 0.33	0.26	0.21, 0.32

Los datos en la **Tabla 9** muestran el rendimiento de la Prueba NEPHROCHECK® en el corte del Puntaje AKIRISK® >0.3 en el Estudio B.

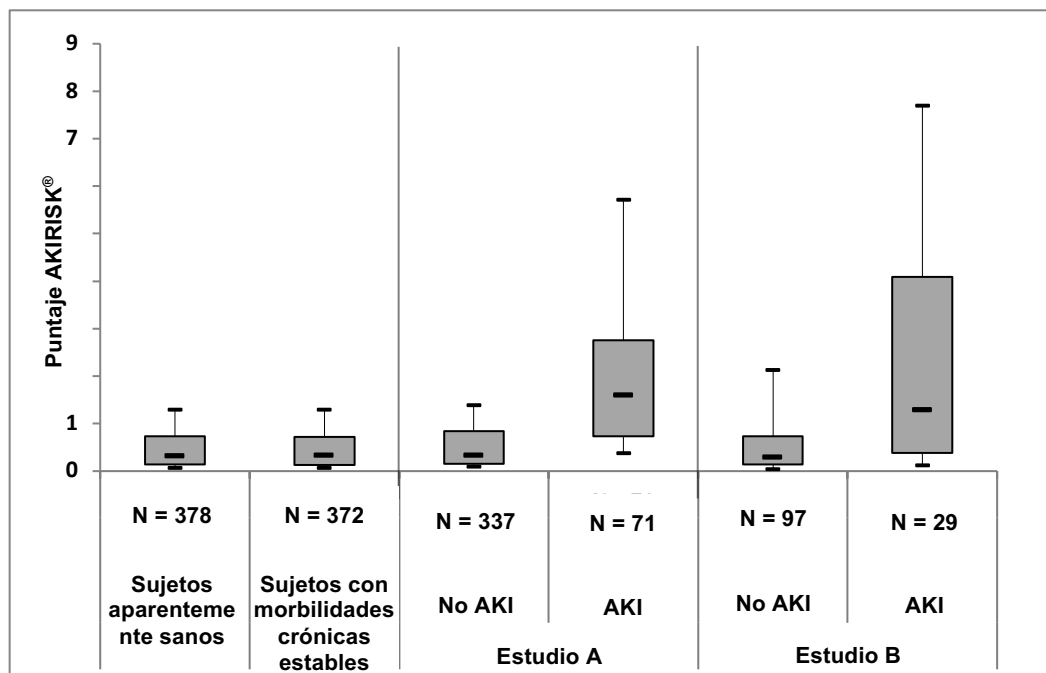
Tabla 9. Características operativas de la Prueba NEPHROCHECK® (Estudio B)

Estadística	Valor	IC del 95%
Sensibilidad (TPR)	0.76	0.60, 0.91
Especificidad (TNR)	0.51	0.41, 0.60
FPR (Especificidad 1)	0.49	0.40, 0.59
FNR (Sensibilidad 1)	0.24	0.09, 0.40
Valor predictivo negativo (NPV)	0.88	0.79, 0.96
Valor predictivo positivo (PPV)	0.31	0.21, 0.42

En el Estudio A, el rango de los valores observados de Puntajes AKIRISK® fue mayor para los caucásicos que para los no caucásicos para cada cohorte (sujetos aparentemente sanos; sujetos con morbilidades crónicas estables, pero sin enfermedad aguda; y para los pacientes de uso indicado). El análisis de covarianza logística se realizó para investigar si la raza (caucásico, no caucásico) o algunas de las siguientes covarianzas adicionales: sexo, edad (≤ 65 , > 65) o IMC (≤ 28.3 , > 28.3), afectaron sustancialmente la capacidad de la Prueba NEPHROCHECK® para discriminar AKI de No AKI. Ninguna de las cuatro covarianzas tuvo un efecto principal de importancia estadística, en tanto que la Prueba NEPHROCHECK® fue altamente significativa en los cuatro modelos ($p < 0.0001$), mostrando así que el rendimiento de la Prueba NEPHROCHECK® es robusto con respecto a estas covarianzas.

Las distribuciones de los Puntajes AKIRISK® para los pacientes de uso indicado del Estudio A y el Estudio B que era No AKI y AKI se muestran en la **Figura 1**. Las distribuciones de los resultados de la Prueba NEPHROCHECK® para los sujetos en las cohortes de sujetos aparentemente sanos y con morbilidad estable crónica (que se describen en la sección Rango de referencia) también se muestran en la **Figura 1** para su comparación. Las cajas y mezcladores muestran rangos intercuartiles y del 10.º al 90.º percentil, respectivamente. Las distribuciones son comparables para todos los grupos sin AKI, es decir, aparentemente sanos, morbilidades crónicas estables y pacientes de uso indicado No AKI del Estudio A y del Estudio B. Estos datos muestran que los Puntajes AKIRISK® no son elevados (en relación con los resultados para sujetos aparentemente sanos) para los sujetos con comorbilidades crónicas o para pacientes de uso indicado sin AKI. Por el contrario, los Puntajes AKIRISK® son sustancialmente elevados para los pacientes de uso indicado con AKI.

Figura 1. Puntajes AKIRISK® por cohorte



Los Puntajes AKIRISK® de los sujetos AKI fueron significativamente mayores al compararlos con los sujetos No AKI en el Estudio A y B ($p < 0.0001$), lo que demuestra que el Puntaje AKIRISK® tiene una capacidad significativa de discriminar AKI de No AKI en ambos estudios. Los Puntajes AKIRISK® en el Estudio B no fueron significativamente diferentes de aquellos en el Estudio A ($p > 0.05$ para AKI y para No AKI), lo que demuestra que los Puntajes AKIRISK® no fueron estadísticamente diferentes entre los dos estudios. Para sujetos No AKI, la variabilidad en los Puntajes AKIRISK® observados en el Estudio B fue levemente menor que en el Estudio A, tal como se indica por el rango intercuartil levemente menor (percentil 25–75) en el Estudio B. Esta menor variabilidad se asocia con una estimación de punto numérico mayor para la especificidad en el Estudio B en comparación con el Estudio A (Tablas 8 y 9). Para sujetos AKI, la variabilidad en los Puntajes AKIRISK® observados en el Estudio B fue mayor que en el Estudio A, tal como se indica por el rango intercuartil mayor (percentil 25–75) en el Estudio B. Esta mayor variabilidad se asocia con una estimación de punto numérico menor para la sensibilidad en el Estudio B en comparación con el Estudio A (Tablas 8 y 9).

Las estimaciones de puntos de los dos Estudios (A y B) demuestran que la Prueba NEPHROCHECK® identifica la mayoría de los pacientes de uso indicado en riesgo de AKI: 76 % (sensibilidad del Estudio B) a 90–93 % (sensibilidad del Estudio A).

La información demográfica y otra información inicial para los pacientes de uso indicado para el Estudio A se muestra en la **Tabla 10** para todos los sujetos y para sujetos AKI y No AKI. La cohorte de pacientes de uso indicado representa una población diversa y heterogénea que es demográficamente comparable con las poblaciones de pacientes en la UCI en los Estados Unidos, informadas en la literatura.⁴⁵

Tabla 10. Características demográficas de los pacientes de uso indicado para el Estudio A por clasificación de AKI

	Todos Total N=408		Total de No AKI N=337		AKI Total N=71	
	N, Media, o Mediana	%, DE, o IQR*	N, Media, o Mediana	%, DE, o IQR*	N, Media, o Mediana	%, DE, o IQR*
Sexo						
Femenino	189	(46.3)	153	(45.4)	36	(50.7)
Masculino	219	(53.7)	184	(54.6)	35	(49.3)
Raza						
Asiático	2	(0.5)	1	(0.3)	1	(1.4)
De color/Afroamericano	56	(13.7)	47	(13.9)	9	(12.7)
Caucásico	339	(83.1)	280	(83.1)	59	(83.1)
Desconocido	6	(1.5)	6	(1.8)	0	(0.0)
Otro	5	(1.2)	3	(0.9)	2	(2.8)
Origen étnico						
Hispano	15	(3.7)	11	(3.3)	4	(5.6)
No hispano	356	(87.3)	295	(87.5)	61	(85.9)
Desconocido	37	(9.1)	31	(9.2)	6	(8.5)
Edad (años)						
Media (DE)	63	(16.6)	63	(16.6)	62	(16.4)
Mediana (IQR)	65	(54–76)	65	(54–76)	64	(54–76)
IMC (kg/m²)						
Media (DE)	30.7	(9.22)	29.9	(8.66)	34.1	(10.87)
Mediana (IQR)	28.3	(24.8–34.4)	27.7	(24.3–33.5)	31.2	(25.8–37.9)
Motivo de la internación en el hospital[‡]						
Cardiovascular	146	(35.8)	117	(34.7)	29	(40.8)
Cerebrovascular	47	(11.5)	44	(13.1)	3	(4.2)
Sepsis	77	(18.9)	61	(18.1)	16	(22.5)
Respiratorio/Pulmonar	171	(41.9)	142	(42.1)	29	(40.8)
Traumatismo	46	(11.3)	39	(11.6)	7	(9.9)
Cirugía (cualquiera)	120	(29.4)	107	(31.8)	13	(18.3)
Cirugía (emergencia)	55	(13.5)	51	(15.1)	4	(5.6)
Cirugía (electiva)	65	(15.9)	56	(16.6)	9	(12.7)
Gastrointestinal	49	(12.0)	40	(11.9)	9	(12.7)
Otro	125	(30.6)	101	(30.0)	24	(33.8)
Motivo de la internación en la UCI[‡]						
Cardiovascular	165	(40.4)	133	(39.5)	32	(45.1)
Cerebrovascular	52	(12.7)	48	(14.2)	4	(5.6)
Sepsis	97	(23.8)	75	(22.3)	22	(31.0)
Respiratorio	206	(50.5)	170	(50.4)	36	(50.7)
Traumatismo	44	(10.8)	37	(11.0)	7	(9.9)
Cirugía/posoperatorio	128	(31.4)	112	(33.2)	16	(22.5)
Otro	120	(29.4)	95	(28.2)	25	(35.2)
Tipo de UCI						
Médica	180	(44.9)	149	(45.0)	31	(44.3)
Quirúrgica	70	(17.5)	59	(17.8)	11	(15.7)
Neurológica	14	(3.5)	11	(3.3)	3	(4.3)
Traumatismo	27	(6.7)	20	(6.0)	7	(10.0)
Unidad de cuidados coronarios	10	(2.5)	7	(2.1)	3	(4.3)
Cirugía cardíaca	38	(9.5)	33	(10.0)	5	(7.1)
UCI combinada	62	(15.5)	52	(15.7)	10	(14.3)

[‡]Los sujetos pueden tener múltiples razones para la internación; *IQR; rango intercuartil (50% central).

Referencias de la literatura

1. Degeorges, A., Wang, F., Frierson, H. F., Jr., Seth, A., and Sikes, R. A. (2000) Distribution of IGFBP-rP1 in normal human tissues. *J. Histochem. Cytochem.* 48, 747–754.
2. Yang, Q. H., Liu, D. W., Long, Y., Liu, H. Z., Chai, W. Z., and Wang, X. T. (2009) Acute renal failure during sepsis: potential role of cell cycle regulation. *J. Infect.* 58, 459–464.
3. Burger, A. M., Leyland-Jones, B., Banerjee, K., Spyropoulos, D. D., and Seth, A. K. (2005) Essential roles of IGFBP-3 and IGFBP-rP1 in breast cancer. *Eur. J. Cancer* 41, 1515–1527.
4. Ahmed, S., Yamamoto, K., Sato, Y., Ogawa, T., Herrmann, A., Higashi, S., and Miyazaki, K. (2003) Proteolytic processing of IGFBP-related protein-1 (TAF/angiomodulin/mac25) modulates its biological activity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 310, 612–618.
5. Sato, Y., Chen, Z., and Miyazaki, K. (2007) Strong suppression of tumor growth by insulin-like growth factor-binding protein-related protein 1/tumor-derived cell adhesion factor/mac25. *Cancer Sci.* 98, 1055–1063.
6. Usui, T., Murai, T., Tanaka, T., Yamaguchi, K., Nagakubo, D., Lee, C. M., Kiyomi, M., Tamura, S., Matsuzawa, Y., and Miyasaka, M. (2002) Characterization of mac25/angiomodulin expression by high endothelial venule cells in lymphoid tissues and its identification as an inducible marker for activated endothelial cells. *Int. Immunol.* 14, 1273–1282.
7. Sprenger, C. C., Vail, M. E., Evans, K., Simurdak, J., and Plymate, S. R. (2002) Over-expression of insulin-like growth factor binding protein-related protein-1(IGFBP-rP1/mac25) in the M12 prostate cancer cell line alters tumor growth by a delay in G1 and cyclin A associated apoptosis. *Oncogene* 21, 140–147.
8. Nousbeck, J., Sarig, O., Avidan, N., Indelman, M., Bergman, R., Ramon, M., Enk, C. D., and Sprecher, E. (2010) Insulin-like growth factor-binding protein 7 regulates keratinocyte proliferation, differentiation and apoptosis. *J. Invest Dermatol.* 130, 378–387.
9. Unigene, National Center for Biotechnology Information; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/UniGene/ESTProfileViewer.cgi?uglist=Hs.633514>.
10. Protein Knowledgebase, UniProtKB/Swiss-Prot; <http://www.uniprot.org/uniprot/P16035>.
11. Covington, M. D., Burghardt, R. C., and Parrish, A. R. (2006) Ischemia-induced cleavage of cadherins in NRK cells requires MT1-MMP (MMP-14). *Am. J. Physiol Renal Physiol* 290, F43–F51.
12. Caron, A., Desrosiers, R. R., and Beliveau, R. (2005) Ischemia injury alters endothelial cell properties of kidney cortex: stimulation of MMP-9. *Exp. Cell Res.* 310, 105–116.
13. Mannello, F., Luchetti, F., Falcieri, E., and Papa, S. (2005) Multiple roles of matrix metalloproteinases during apoptosis. *Apoptosis.* 10, 19–24.
14. Le, N. T., Xue, M., Castelnoble, L. A., and Jackson, C. J. (2007) The dual personalities of matrix metalloproteinases in inflammation. *Front Biosci.* 12, 1475–1487.
15. Catania, J. M., Chen, G., and Parrish, A. R. (2007) Role of matrix metalloproteinases in renal pathophysiologies. *Am. J. Physiol Renal Physiol* 292, F905–F911.
16. Stetler-Stevenson, W. G. (2008) Tissue inhibitors of metalloproteinases in cell signaling: metalloproteinase-independent biological activities. *Sci. Signal.* 1, re6.
17. Devarajan, P. (2006) Update on mechanisms of ischemic acute kidney injury. *J Am Soc Nephrol.* 17, 1503–20.
18. Rodier, F., Campisi, J., Bhaumik, D. (2007) Two faces of p53: aging and tumor suppression. *Nucleic Acids Res.* 35, 7475–84.
19. Boonstra, J., Post, J.A. (2004) Molecular events associated with reactive oxygen species and cell cycle progression in mammalian cells. *Gene.* 337, 1–13.
20. Seo, D.W., Li, H., Qu, C.K., Oh, J., Kim, Y.S., Diaz, T., Wei, B., Han, J.W., Stetler-Stevenson, W.G. (2006) Shp-1 mediates the antiproliferative activity of tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in human microvascular endothelial cells. *J Biol Chem.* 281, 3711–21.
21. Witzgall, R., Brown, D., Schwarz, C., Bonventre, J.V. (1994) Localization of proliferating cell nuclear antigen, vimentin, c-Fos, and clusterin in the postischemic kidney. Evidence for a heterogeneous genetic response among nephron segments, and a large pool of mitotically active and dedifferentiated cells. *J Clin Invest.* 93, 2175–88.
22. Price, P.M., Safirstein, R.L., Megyesi, J. (2009) The cell cycle and acute kidney injury. *Kidney Int.* 76, 604–13.
23. Kashani, K., Al-Khafaji, A., Ardiles, T., Artigas, A., Bagshaw, S.M., et al. (2012) Discovery and validation of cell cycle arrest biomarkers in human acute kidney injury. *Crit Care.* 17, R25. <http://ccforum.com/content/17/1/R25>
24. Uchino, S., Kellum, J. A., Bellomo, R., Doig, G. S., Morimatsu, H., Morgera, S., Schetz, M., Tan, I., Bouman, C., Macedo, E., Gibney, N., Tolwani, A., and Ronco, C. Acute renal failure in critically ill patients: a multinational, multicenter study. *JAMA* 294, 813–818 (2005).

25. Mehta, R. L., Pascual, M. T., Soroko, S., Savage, B. R., Himmelfarb, J., Ikizler, T. A., Paganini, E. P., and Chertow, G. M. Spectrum of acute renal failure in the intensive care unit: the PICARD experience. *Kidney Int.* **66**, 1613–1621 (2004).
26. Waikar, S. S., Liu, K. D., and Chertow, G. M. Diagnosis, epidemiology and outcomes of acute kidney injury. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* **3**, 844–861 (2008).
27. Kellum, J. A. Acute kidney injury. *Crit Care Med.* **36**, S141–S145 (2008).
28. Xue, J. L., Daniels, F., Star, R. A., Kimmel, P. L., Eggers, P. W., Molitoris, B. A., Himmelfarb, J., and Collins, A. J. Incidence and mortality of acute renal failure in Medicare beneficiaries, 1992 to 2001. *J. Am. Soc. Nephrol.* **17**, 1135–1142 (2006).
29. McCullough, P. A., Adam, A., Becker, C. R., Davidson, C., Lameire, N., Stacul, F., and Tumlin, J. Epidemiology and prognostic implications of contrast-induced nephropathy. *Am. J. Cardiol.* **98**, 5K–13K (2006).
30. Joannidis, M., Metnitz, B., Bauer, P., Schusterschitz, N., Moreno, R., Druml, W., and Metnitz, P. G. Acute kidney injury in critically ill patients classified by AKIN versus RIFLE using the SAPS 3 database. *Intensive Care Med.* **35**, 1692–1702 (2009).
31. Dasta, J. F., Kane-Gill, S. L., Durtschi, A. J., Pathak, D. S., and Kellum, J. A. Costs and outcomes of acute kidney injury (AKI) following cardiac surgery. *Nephrol. Dial. Transplant.* **23**, 1970–1974 (2008).
32. Bagshaw, S. M., George, C., Dinu, I., and Bellomo, R. A multi-centre evaluation of the RIFLE criteria for early acute kidney injury in critically ill patients. *Nephrol. Dial. Transplant.* **23**, 1203–1210 (2008).
33. Hoste, E. A., Clermont, G., Kersten, A., Venkataraman, R., Angus, D. C., De, B. D., and Kellum, J. A. RIFLE criteria for acute kidney injury are associated with hospital mortality in critically ill patients: a cohort analysis. *Crit Care* **10**, R73 (2006).
34. Chertow, G. M., Burdick, E., Honour, M., Bonventre, J. V., and Bates, D. W. Acute kidney injury, mortality, length of stay, and costs in hospitalized patients. *J. Am. Soc. Nephrol.* **16**, 3365–3370 (2005).
35. Amdur, R. L., Chawla, L. S., Amodeo, S., Kimmel, P. L., and Palant, C. E. Outcomes following diagnosis of acute renal failure in U.S. veterans: focus on acute tubular necrosis. *Kidney Int.* **76**, 1089–1097 (2009).
36. Ishani, A., Xue, J. L., Himmelfarb, J., Eggers, P. W., Kimmel, P. L., Molitoris, B. A., and Collins, A. J. Acute kidney injury increases risk of ESRD among elderly. *J. Am. Soc. Nephrol.* **20**, 223–228 (2009).
37. Mehta, R. L., Kellum, J. A., Shah, S. V., Molitoris, B. A., Ronco, C., Warnock, D. G., and Levin, A. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care* **11**, R31 (2007).
38. International Society of Nephrology. (2012) KDIGO Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury. *Kidney Int. Suppl.* **2**, 1–138. http://www.kdigo.org/clinical_practice_guidelines/pdf/KDIGO%20AKI%20Guideline.pdf
39. ISO 17511:2003. In vitro diagnostic medical devices-Measurement of quantities in biological samples-Metrological traceability of values assigned to calibrator and control materials. ISO, Geneva, Switzerland.
40. CLSI Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline. CLSI document EP17-A (ISBN 1-56238-551-8), 2004.
41. CLSI Protocols for Estimation of Total Analytical Error for Clinical Laboratory Methods; Approved Guideline. NCCLS Document EP21-A (ISBN 1-56238-502-X) 2003.
42. CLSI Protocols for Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline Second Edition. CLSI Document EP5-A2 (ISBN 1-56238-542-9) 2004.
43. CLSI Protocols for Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline Second Edition. CLSI Document EP7-A2 (ISBN 1-56238-584-4) 2005.
44. CLSI Protocols for Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline Third Edition. CLSI Document C28-A3 (ISBN 1-56238-682-4) 2008.
45. Lilly, C.M., Zuckerman, I.H., Badawi, O. and Riker, R.R. Benchmark Data From More Than 240,000 Adults That Reflect the Current Practice of Critical Care in the United States. *Chest* **140**;1232–1242 (2011).

Glosario de símbolos

Símbolo	Referencia estándar	Título del símbolo	Número de referencia del símbolo	Descripción del símbolo provista por el estándar de referencia
	a	Fabricante	5.1.1	Indica el fabricante del dispositivo médico, tal como se define en las Directivas de la UE 90/385/EEC, 93/42/EEC y 98/79/EC.
	a	Consultar las instrucciones de uso	5.4.3	Indica la necesidad de que el usuario consulte las instrucciones de uso.
	a	Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>	5.5.1	Indica un dispositivo médico destinado a usarse como dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i> .
	a	Número de catálogo	5.1.6	Indica el número de catálogo del fabricante de forma tal de identificar el dispositivo médico.
	a	Código de lote	5.1.5	Indica el código de lote del fabricante para poder identificar el lote.
	a	Fecha de vencimiento	5.1.4	Indica la fecha después de la que no se debe utilizar el dispositivo médico.
	a	No reutilizar	5.4.2	Indica un dispositivo médico destinado a un solo uso, o para uso en un solo paciente durante un solo procedimiento.
	a	Límite de temperatura	5.3.7	Indica los límites de temperatura a los que se puede exponer de forma segura el dispositivo médico.
	a	Riesgos biológicos	5.4.1	Indica que existen riesgos biológicos potenciales asociados con el dispositivo médico.
	a	Contiene suficiente para la prueba <n>	5.5.5	Indica el número total de pruebas IVD que se pueden realizar con los reactivos del kit IVD.
	b	Contenido	—	Contenido
	b	Vial del conjugado	—	Vial del conjugado
	b	Vial de solución amortiguadora	—	Vial de solución amortiguadora
	b	Solución amortiguadora de prueba	—	Solución amortiguadora de prueba
	b	Lote RFID	—	Lote RFID
	b	Tarjeta RFID	—	Tarjeta RFID
	b	NEPHROCHECK® Tarjeta RFID	—	Tarjeta RFID NEPHROCHECK®
	b	Kit de prueba	—	Kit de prueba

Leyenda de referencia normalizada (número de designación y título):

- a) ANSI/AAMI/ISO 15223-1 e ISO 15223-1 Dispositivos médicos a utilizar con etiquetas de dispositivos médicos, etiquetado e información a proporcionar — Parte 1: Requisitos generales
- b) Símbolo que contiene texto de explicación para una mayor claridad

Información para pedidos e información de contacto

Kit de prueba NEPHROCHECK® (NP 500011)

Si tiene preguntas sobre el uso o rendimiento del Kit de Prueba NEPHROCHECK® o algún producto de Astute Medical, Inc., contacte al Soporte Técnico de Astute.

Astute Medical, Inc.
3550 General Atomics Ct.
Building 2
San Diego, CA 92121
USA

Teléfono: +1 (855) 317-2788 (de lunes a viernes, de 8:00 a.m. a 5:00 p.m. PST)

Correo electrónico: technicalsupport@astutemedical.com

Sitio web: www.astutemedical.com

Contrato de licencia de usuario final

LA COMPRA Y/O USO DE ESTE PRODUCTO CONSTITUYE UN ACUSE DE RECIBO Y ACEPTACIÓN DE LAS CONDICIONES GENERALES DEL PRESENTE CONTRATO DE LICENCIA DE USUARIO FINAL

Astute Medical, Inc. (conjuntamente con sus filiales, "Astute") otorga por el presente al comprador o usuario de este producto ("usted", "su") la licencia de uso limitado del mismo, exclusivamente para el fin que se especifica en la etiqueta aprobada de este. Por el presente, acuerda usted en utilizar este producto exclusivamente para dicho fin y para ningún otro.

Si no acepta todas las condiciones generales que se estipulan en este Contrato de licencia de usuario final, favor de ponerse en contacto con Astute en el plazo de diez (10) días tras el recibo del producto para proceder a devolverlo, sin abrir y sin usar, y a su reembolso total.

GARANTÍA LIMITADA. DURANTE EL PERÍODO DE GARANTÍA APLICABLE, ASTUTE GARANTIZA QUE ESTE PRODUCTO SERÁ (A) DE UNA CALIDAD ADECUADA Y ESTARÁ LIBRE DE DEFECTOS MATERIALES, (B) FUNCIONARÁ DE CONFORMIDAD CON LAS ESPECIFICACIONES IMPORTANTES QUE SE MENCIONAN EN EL MANUAL DEL PRODUCTO Y (C) ESTARÁ APROBADO POR LOS ÓRGANOS ADMINISTRATIVOS PERTINENTES NECESARIOS PARA LA VENTA DE PRODUCTOS DESTINADOS AL USO QUE SE DESCRIBE EN EL MANUAL DE PRODUCTO APLICABLE O EN EL INSERTO HASTA LA FECHA DE CADUCIDAD IMPRESA, O EN EL CASO DEL ASTUTE140® METER DURANTE UN PERÍODO DE DOCE (12) MESES DESDE LA FECHA DE ENVÍO ("GARANTÍA LIMITADA"). SI ESTE PRODUCTO INCUMPLE LOS REQUISITOS DE LA PRESENTE GARANTÍA LIMITADA, EL ÚNICO RECURSO A SU DISPOSICIÓN SERÁ QUE ASTUTE, A SU DISCRECIÓN, LO REPARE O SUSTITUYA.

A EXCEPCIÓN DE LA GARANTÍA LIMITADA QUE SE INDICA EN ESTE APARTADO, EN LA MEDIDA EN QUE LO PERMITA LA LEGISLACIÓN APLICABLE, ASTUTE RENUNCIA A TODAS Y CADA UNA DE LAS GARANTÍAS, EXPRESAS O IMPLÍCITAS, LO QUE INCLUYE ENTRE OTRAS CUALQUIER GARANTÍA DE APTITUD PARA LA COMERCIALIZACIÓN Y PARA UN FIN CONCRETO Y LA INEXISTENCIA DE VIOLACIÓN RESPECTO DE ESTE PRODUCTO.

LA RESPONSABILIDAD MÁXIMA DE ASTUTE POR CUALQUIER QUEJA DE UN CLIENTE NO SUPERARÁ EL PRECIO NETO QUE SE HAYA PAGADO POR EL PRODUCTO.

NINGUNA PARTE SERÁ RESPONSABLE ANTE NINGUNA OTRA PARTE POR DAÑOS ESPECIALES, ACCESORIOS O DERIVADOS, NI POR PÉRDIDA DE NEGOCIO, BENEFICIOS, DATOS O INGRESOS, NI SIQUIERA, AUNQUE UNA PARTE RECIBA PREVIAMENTE UNA NOTIFICACIÓN DE QUE PODRÍAN PRODUCIRSE ESTOS DAÑOS.

No se aplicará la garantía limitada anterior cuando se haya sometido el producto a abusos físicos, a un mal uso, a un uso atípico, a un uso que contradiga el manual del producto o el inserto del envase, fraude, manipulación, estrés físico anormal, negligencia o accidentes.

Toda queja con arreglo a la Garantía limitada se efectuará por escrito dentro del período aplicable de dicha Garantía.

Acuerda usted utilizar este producto estrictamente de conformidad con todas las leyes, reglamentos y directrices locales, estatales y federales y con los usos aplicables de la industria.

Conviene asimismo en no revender ni transferir de otro modo este producto a ninguna otra persona ni entidad sin la expresa aprobación previa por escrito de Astute Medical, Inc. Se puede obtener información sobre la distribución o venta comercial de los productos de Astute Medical, Inc. enviando un correo electrónico a info@astutemedical.com o escribiendo a Astute Medical Inc., General Atomics Court, MS 02/641, San Diego, CA, 92121 (Estados Unidos).

Ningún cambio ni añadido al presente Contrato de licencia de usuario final será vinculante para las partes a menos que se realice por escrito y esté firmado por los respectivos responsables autorizados de las mismas.

©2020 Astute Medical, Inc. Astute Medical®, el logo AM, Astute140®, NephroCheck®, el logo NephroCheck® y AKIRisk® son marcas comerciales registradas de Astute Medical, Inc. en los Estados Unidos. Para patentes: <https://www.biomerieux-usa.com/patents>. PN 0311 Rev C 2020/01/07