



# Aktuelle Trends beim Endotoxin- und Pyrogentest



Live Online Seminar am 11./12. Juni 2024



Mit den  
Topthemen:  
Maskierung, MAT,  
Automatisierung/DI  
und rFC

## Referenten



**Jacqueline Dünisch**  
Labor LS



**Maria Gajewi**  
Microcoat Biotechnologie



**Marco Griese**  
Associates of Cape Cod Europe



**Viviane Grunert da Fonseca**  
Roche Diagnostics



**Patrick Koch**  
Thermo Fisher Scientific



**Michael Kracklauer**  
Microcoat Biotechnologie



**Dr. Holger Kühn**  
BioChem



**Carmen Marín Delgado  
de Robles**  
F. Hoffmann-La Roche



**Gunther Mieke**  
Charles River Laboratories



**Dr. Ingo Spreitzer**  
Paul-Ehrlich-Institut



**Jessica Stolzenberger**  
Boehringer Ingelheim



**Dr. Thomas Winkler**  
Lonza Cologne



**Jonas van den Berg**  
Roche Diagnostics

## Lerninhalte

- Endotoxin-Tests für die Zulassung und Routine – Regulatorische Vorgaben
- Probenvorbereitung
- Maskierungs- und Demaskierungsstrategien und Methoden
- Prüfung komplexer Probenmatrices
- Lagerfähigkeit und Stabilität von Kontrollstandards
- Depyrogenisierung
- Entfernung von Endotoxinen aus Biologika
- Alternative Testsysteme wie MAT und rekombinanter Faktor C
- Automatisierung und Data Integrity

## Zielsetzung

Dieses Live Online Seminar gibt Ihnen einen Einblick in die aktuellen Entwicklungen rund um die Endotoxin- und Pyrogen-Testung. Sie erhalten neueste Informationen über:

- Die regulatorischen Anforderungen
- Stärken und Schwächen der Testmethoden
- Die Anwendung der Testmethoden im Routineeinsatz
- Lösungen zu den Problemstellungen (Low Endotoxin Recovery, Interferenzen, Inhibitoren)
- Funktion und Anwendung alternativer Testmethoden

## Hintergrund

Der LAL-Test hat sich in den vergangenen Jahren als das bevorzugte System zur Prüfung auf Endotoxine, sowohl in der In-Prozess-Kontrolle als auch bei der Endkontrolle etabliert und ist in den Pharmakopöen verankert. Vielfach ist er die Methode der Wahl.



Darüber hinaus ergab sich aus den Anforderungen für die Prüfung neuer biopharmazeutischer Produkte, bei denen die klassische Testung Schwächen aufweist, die Notwendigkeit, alternative Testmethoden zu finden und zu etablieren. Dazu

gehören z.B. der MAT (Monocyte Activation Test), der rFC (Recombinant Factor C) und rCR (Recombinant Cascade Reagent).

Wissenschaft und Industrie haben in den vergangenen Jahren mit hohem Aufwand solche alternativen Methoden, wie den MAT, rFC und rCR, entwickelt. Diese sollen die Möglichkeit bieten, die bestehenden Lücken beim LAL- und Kaninchen-Test zu minimieren und dadurch auch die Zahl der Tierversuche und die Belastung der Pfeilschwanzkrebse als natürlich Ressource des LAL zu reduzieren.

Besonders beschäftigte die verantwortlichen Mitarbeiter in der näheren Vergangenheit das Auftreten von Maskierungseffekten bei Endotoxinen (Low Endotoxin Recovery-LER). Strategien zum Umgang mit solchen Maskierungen und Möglichkeiten der Demaskierung gelangen dabei auch zunehmend in den Fokus der Aufsichts- und Zulassungsbehörden.

## Zielgruppe

Dieses Live Online Seminar richtet sich an

- Laborleiter und Mitarbeiter der pharmazeutischen Mikrobiologie
- Mikrobiologen und Laboranten aus Auftragslaboren
- Mit dem Thema befasste Behördenvertreter
- Wissenschaftliche Mitarbeiter aus dem Bereich Pyrogentestung

## Programm

### Endotoxine und Pyrogene – Grundlagen, Eigenschaften, Wirkung

---

- Definition Pyrogene - Bakterielle Endotoxine
- Struktur und Funktion von LPS
- Aktivitäten von LPS in vivo: Fieber/Sepsis
- Endotoxin Schwellenwertdosis

### Endotoxin und Pyrogentest im Arzneibuch und weitere regulatorische Anforderungen

---

- Was ist Pyrogenität, warum messen wir nur Endotoxin?
- Rechtliche, wirtschaftliche und ethische Aspekte
- Die EU-Direktive 2010/63/EU
- Fallbeispiele MAT, rFC
- Ph. Eur., USP, JP, FDA
- Anforderungen an die Methodvalidierung

### Fallstudien mit verschiedenen Produktmatrizes und Möglichkeiten zur Reduktion der Testinterferenzen mittels spezifischer Probenvorbereitungstechniken

---

- LAL-Reaktion und Störfaktoren
- Probenvorbereitungstechniken zur Beseitigung von Störfaktoren
- Fallbeispiele (Säuren, Laugen, Komplexbildner)
- Falsch-positive Ergebnisse durch  $\beta$ -1,3-Glucane/Peptide Proteine
- Einsatz von Detergenzien
- Prüfung von zweiwertigen Ionen / Detergenzien / Komplexbildnern mittels Ultrafiltration
- Extraktion von Endotoxinen aus öligen Substanzen
- Behördenvorgaben
- Falsch-negative Ergebnisse

### Depyrogenisierung

---

- Gründe für die Depyrogenisierung/Endotoxin Limits/ Wieviel Reduktion ist notwendig
- Regulative Vorgaben
- Methoden und Anwendung
- Effektivität der Methoden
- Validierung

### Low Endotoxin Recovery: Maskierung und Demaskierung

---

- Struktur und Aktivität von Endotoxin
- Endotoxin-Maskierung - Ein kinetisch kontrollierter Prozess
- Allgemeiner Reaktionsmechanismus
- Beeinflussung von Reaktionskinetiken
- Theoretische Überlegung zur Demaskierung
- Praktische Lösungsansätze: Komponenten zur Demaskierung von Endotoxin
- Fallbeispiel: Demaskierung von Endotoxin in einem biopharmazeutischen Produkt

## Hold Times and More

---

- Planung und Implementierung von Hold-Time Studies
- Interpretation von Hold-Time Studies

## Die Auswirkungen der Endotoxin-Maskierung auf die Entfernung von Endotoxin während der Herstellung eines biopharmazeutischen Arzneimittels

---

- Antikörper Aufreinigungsprozess
- Endotoxin-Abreicherung während der Arzneimittelherstellung
- Aufbau einer Endotoxin-Abreicherungsstudie
- Einfluss der Endotoxin-Maskierung auf den Herstellungsprozess

## Erfahrung mit der Lagerfähigkeit/Stabilität des Kontrollstandards Endotoxin (KSE)“

---

- Was sind Endotoxin Kontrollstandards?
- Zweck und Durchführung
- Stabilitätsstudie
- Ergebnisse und Schlussfolgerung

## Automatisierte, effiziente Testung auf Endotoxine in „Real Time“

---

- Überblick über Kartuschentechnologie
- Ein Ansatz zur Automatisierung
- Erhöhte Effizienz durch Geschwindigkeit und Genauigkeit

## Standardisierung der BET-Assay-Ergebnisse – Automatisierung des BET-Assays unter Verwendung eines rekombinanten Kaskadenreagenzes

---

- Ein Blick auf die Vorteile des rekombinanten Kaskadenreagenzes PyroSmart NextGen® in Kombination mit der Pipettierautomatisierung durch Andrew+, einen mittelgroßen, vollautomatischen Pipettierroboter:
  - Ein einfacher Übergang von manuellen zu fehlerfreien, robotergestützten Arbeitsabläufen eliminiert die Benutzerfehler und Variabilität zwischen den Tests.
  - Verwendung eines charakterisierten Reagenzes sichert konsistente Test-zu-Test, Charge-zu-Charge und Labor-zu-Labor Ergebnisse.
- Signifikante Verbesserungen im QC-Labor.

## Die Bedeutung von Data Integrity bei der Endotoxinprüfung

---

- Grundlagen und Unternehmensstrategien
- Einführung kinetische Testung
- Data Integrity Komponenten bei WinKQCL™ Endotoxin-Detektions und Analyse-Software
- Etablierung eines risikobasierten Ansatzes für den Process Review beim Audit Trail
- Q&A

## Alternative Testmethoden – MAT und RfC

---

- MAT Entwicklungen im Arzneibuch
- MAT Methoden A/B/C
- Pros and Cons und Einsatz in der Routine
- RfC in den Pharmakopöen

## Generische Methode und spezifische Produktvalidierung des Monozyten-Aktivierungstests

---

- Ersetzung des RPT durch MAT
- Generische Methodvalidierung
- Produktspezifische Verifizierungen in Kombination mit einer generischen Methodvalidierung

## Strategie zur Methodvalidierung für Endotoxintests von Wasserproben mit rekombinantem Faktor C unter Beachtung des 3R-Prinzips für den Tierschutz

---

- Um Tierversuche zu vermeiden und einen Beitrag zu Nachhaltigkeitsinitiativen zu leisten, wurde rekombinanter Faktor C (rFC) für Endotoxin-Tests in monoklonalen Antikörpern und Wasserprobenmatrices evaluiert. Vergleichstests sowohl mit dem LAL- als auch mit dem rFC-Assay zeigten einen geeigneten Endotoxinnachweis und unterstützen die Einführung von rFC als Endotoxin-Testmethode.
- Die Strategie zur Methodvalidierung bietet einen Überblick und eine Begründung für das Design der experimentellen Studie gemäß den Leitlinien in USP <1225> und Ph. Eur. 2.6.32. Der Überblick über die Strategie der Methodvalidierung umfasst die Bewertung der folgenden Parameter: Hemmung und Verstärkung, Genauigkeit, Präzision, Spezifität, Linearität, Bereich und Bestimmungsgrenze, Robustheit, Eignung der Methode und Vergleichbarkeit.
- Das Hindernis für die Einführung der Technologie in der Industrie liegt in den Validierungsanforderungen für eine alternative Methode.
- Der Nutzen dieser Präsentation besteht darin, die Strategie der Methodvalidierung für rFC für Endotoxin-Tests in Übereinstimmung mit den EU- und US-Vorschriften zu vermitteln. Dabei wird auch erörtert, welche Aspekte der Parameter für die Methodvalidierung anhand von Stichprobentests oder anhand von Argumenten aus der wissenschaftlichen Literatur bewertet werden sollten.

## Referenten/innen



**Jacqueline Dünisch**  
Labor LS

Nach dem Masterstudium in Molecular Sciences in Erlangen-Nürnberg kam Jacqueline 2016 zu Labor LS und betreut seither den Bereich der Endotoxinprüfung.



**Maria Gajewi**  
Microcoat

Maria hat an der Technischen Universität Leipzig studiert. Nach rund 4 Jahren als Wissenschaftlerin an der Universität Regensburg und Dresden ist sie seit 2019 bei Microcoat Biotechnology tätig.



**Marco Griese**  
Associates of Cape Cod Europe GmbH

Marco hat am Institut für Molekulare Biowissenschaften in Frankfurt Biologie studiert. Anschließend war er einige Jahre im technischen Vertrieb von Mess-, Regel- und Analysentechnik tätig. 2018 hat er bei Associates of Cape Cod Europe GmbH im Technischen Service für den Bakterien Endotoxin Test (BET) begonnen und übernahm 2021 zusätzlich die Teamleitung für den Vertriebsaußendienst.



**Dr. Viviane Grunert da Fonseca**  
Roche Diagnostics

Viviane Grunert da Fonseca schloss ihr Studium der Statistik an der Universität Dortmund ab und promovierte, ebenfalls in Statistik, an der Universität Sheffield, Großbritannien. Zwischen 1999 und 2001 war sie als Postdoktorandin an der Universität der Algarve, Portugal, tätig. Von 2002 bis 2012 war sie Dozentin am Instituto Superior Dom Afonso III, Loulé, Portugal, und von 2011 bis 2014 Mitglied des Centre for Informatics and Systems der Universität Coimbra, Portugal. Im Jahr 2014 wechselte sie zur Roche Diagnostics GmbH in Penzberg, Deutschland, wo sie derzeit statistische Unterstützung für die nichtklinischen Bereiche Chemie, Herstellung und Kontrollen (CMC) leistet.



**Patrick Koch**  
Thermo Fisher Scientific

Patrick absolvierte seine Ausbildung zum Biologielaboranten in Mikrobiologie und Pharmakologie an der Schule für Biologielaboranten Sandoz-Wander in Bern. Nach diversen Tätigkeiten bei Novartis in Stein übernahm Patrick 2006 als Laborleiter das Labor Technik wo er unter anderem für die Qualifizierung von Heiz- und Kühlgeräten sowie D-Wertbestimmungen von Bioindikatoren verantwortlich war. Seit Ende 2016 ist er am neuen Biotech Produktionsstandort von Thermo Fisher Scientific in Lengnau (Kanton Bern) als Senior Scientist in der mikrobiologischen Qualitätskontrolle tätig. Dort ist er Methodenverantwortlicher für den Bakterien Endotoxintest (BET) und für die Eingangskontrolle und Auswertung von Bioindikatoren.



**Dr. Michael Kracklauer**  
Microcoat Biotechnology GmbH,

Dr. Michael Kracklauer studierte Biotechnologie und promovierte an der RWTH Aachen. Das Forschungsthema war das Gebiet der Proteinfehlfaltung und Amyloid-Erkrankungen mit dem Schwerpunkt Alzheimer-Krankheit. Er ist seit 2018 bei Microcoat in der Abteilung „Endotoxin Services“ für die Themen LER, rFC, Methodenentwicklung und Validierung zuständig.



**Dr. Holger Kühn**  
BioChem GmbH

Holger Kühn studierte Biologie an den Universitäten Heidelberg und Glasgow mit den Schwerpunkten Molekularbiologie und Biochemie. Von 2008 bis 2001 war er als Projektleiter für Mikrobiologie bei SGS Institut Fresenius in Taunusstein beschäftigt. Derzeit ist er für die BioChem in Karlsruhe tätig.



**Carmen Marin Delgado de Robles**  
F. Hoffmann-La Roche

Carmen hat in China, Deutschland, Spanien und der Schweiz gelebt und gearbeitet. Sie spricht fließend Spanisch, Englisch und Deutsch. Im Rahmen Ihrer Arbeit in der pharmazeutischen Qualitätskontrolle arbeitet sie mit alternativen Testmethoden, auch um die Nutzung von Tieren in und für die pharmazeutische Industrie zu reduzieren.



**Gunther Mieke**  
Charles River Laboratories

Gunther startete seine Karriere bei Vetter Pharma im Bereich der mikrobiologischen Validierung. 1994 kam er zu Charles River als Technical Support Specialist. Seitdem ist er in verschiedenen Positionen für Charles River Laboratories im Bereich Endotoxin/Pyrogen und Mikrobiologie bis heute tätig.



**Dr Ingo Spreitzer**  
Paul-Ehrlich-Institut

Seit 2001 arbeitet er für das Paul-Ehrlich-Institut und ist dort stellvertretender Leiter des Fachgebietes Mikrobiologische Sicherheit. Er ist seit 2012 Chair der der Working Party „Bacterial Endotoxins“ des Europäischen Arzneibuches.



**Jessica Stolzenberger**  
Boehringer Ingelheim GmbH & Co. KG

Jessica studierte an der Fachhochschule Furtwangen. 2004 begann sie bei Boehringer Ingelheim GmbH & Co. KG als technische Assistentin in der Process Science am Standort Biberach. Seit 2016 ist sie Head of Late Stage Downstream Processing 3 und entwickelt dort mit ihrem Team Aufreinigungsprozesse von biopharmazeutischen Proteinen für die Marktzulassung.



**Dr. Thomas Winkler**  
Lonza Cologne GmbH

Dr. Thomas Winkler studierte an der Universität Mainz und der Technischen Universität Hamburg, wo er im Bereich Physiologie und Biomaterialien promovierte. Nach seinem Studium arbeitete er als Sales Manager Biopharma bei der Miltenyi Biotech GmbH und als Global Product Manager für automatisierte Lösungen bei QIAGEN. Seit 2017 arbeitet er bei Lonza Cologne GmbH und ist nun Head of Business Development Europe und Export im Bereich Testing Solutions.



**Jonas van den Berg**  
Roche Diagnostics

Jonas hat einen Hintergrund in Biowissenschaften und promovierte an der Universität Groningen. In seiner Rolle als Qualitätsmanager innerhalb der globalen Qualitätskontrolle ist er an der Implementierung neuer QC-Technologien beteiligt. Er ist der Projektleiter für die Implementierung des Monozyten-Aktivierungstests sowie anderer mikrobiologischer Schnellmethoden bei Roche.

Absender

Anmeldung/Bitte vollständig ausfüllen



Aktuelle Trends beim Endotoxin- und Pyrogentest (M5),  
Live Online Seminar am 11./12. Juni 2024

Titel, Name, Vorname

Abteilung

Firma

Telefon / Fax

E-Mail ( bitte angeben)

CONCEPT HEIDELBERG  
Postfach 10 17 64  
Fax 06221/84 44 34

D-69007 Heidelberg

Allgemeine Geschäftsbedingungen  
Bei einer Stornierung der Teilnahme an der Veranstaltung berechnen wir folgende Bearbeitungsgebühr:  
- Bis 4 Wochen vor Veranstaltungsbeginn 10 % der Teilnahmegebühr.  
- Bis 3 Wochen vor Veranstaltungsbeginn 25 % der Teilnahmegebühr.  
- Bis 2 Wochen vor Veranstaltungsbeginn 50 % der Teilnahmegebühr.  
- Innerhalb 2 Wochen vor Veranstaltungsbeginn 100 % der Teilnahmegebühr.

Selbstverständlich akzeptieren wir ohne zusätzliche Kosten einen Ersatzteilnehmer. Der Veranstalter behält sich Themen- sowie Referentenänderungen vor. Muss die Veranstaltung seitens des Veranstalters aus organisatorischen oder sonstigen Gründen abgesagt werden, wird die Teilnahmegebühr in voller Höhe erstattet.  
**Zahlungsbedingungen:** Zahlbar ohne Abzug innerhalb von 10 Tagen nach Erhalt der Rechnung.

Bitte beachten Sie: Dies ist eine verbindliche Anmeldung. Stornierungen bedürfen der Schriftform. Die Stornogebühren richten sich nach dem Eingang der Stornierung. Im Falle des Nicht-Erscheinens auf der Veranstaltung ohne vorherige schriftliche Information werden die vollen Seminargebühren fällig. Die Teilnahmeberechtigung erfolgt nach Eingang der Zahlung. Der Zahlungseingang wird nicht bestätigt. (Stand Januar 2012)  
Es gilt deutsches Recht. Gerichtsstand ist Heidelberg.

**Datenschutz:** Mit meiner Anmeldung erkläre ich mich einverstanden, dass Concept Heidelberg meine Daten für die Bearbeitung dieses Auftrages nutzt und mir dazu alle relevanten Informationen übersendet. Ausschließlich zu Informationen über diese und ähnlichen Leistungen wird mich Concept Heidelberg per Email und Post kontaktieren. Meine Daten werden nicht an Dritte weiter gegeben (siehe auch Datenschutzbestimmungen unter [http://www.gmp-navigator.com/nav\\_datenschutz.html](http://www.gmp-navigator.com/nav_datenschutz.html)). Ich kann jederzeit eine Änderung oder Löschung meiner gespeicherten Daten veranlassen.



## Termin Live Online Seminar

Dienstag, 11. Juni 2024, 09.00 bis 17.30 Uhr  
Mittwoch, 12. Juni 2024, 09.00 bis 16.30 Uhr

## Technische Voraussetzungen

Wir nutzen WebEx für unsere Live Online Seminare und Webinare. Unter <https://www.gmp-navigator.com/gmp-live-online-training/so-funktioniert-es> finden Sie alle Informationen darüber, was für die Teilnahme an unseren Veranstaltungen erforderlich ist und können überprüfen, ob Ihr System die nötigen Anforderungen zur Teilnahme erfüllt. Falls die Installation von Browsererweiterungen aufgrund Ihrer Rechte im EDV System nicht möglich ist, kontaktieren Sie bitte Ihre IT Abteilung. WebEx ist heute ein Standard, und die notwendigen Einrichtungen sind schnell und einfach zu machen.

## Teilnahmegebühr

€ 1.390,- zzgl. MwSt. Zahlung nach Erhalt der Rechnung.

## Präsentationen / Zertifikat

Die Präsentationen werden Ihnen kurz vor dem Online-Seminar als PDF-Datei zur Verfügung gestellt. Alle Teilnehmer/innen erhalten im Anschluss an das Seminar ein Teilnahmezertifikat.

## Anmeldung

Per Post, Fax, E-Mail oder online im Internet unter [www.gmp-navigator.com](http://www.gmp-navigator.com). Um Falschangaben zu vermeiden, geben Sie uns bitte die genaue Adresse und den vollständigen Namen des Teilnehmers an.

## Haben Sie noch Fragen?

Zum Inhalt:

Herr Axel H. Schroeder (Fachbereichsleiter),  
Telefon +49(0)6221/84 44 10,  
E-Mail: [schroeder@concept-heidelberg.de](mailto:schroeder@concept-heidelberg.de)

Zur Organisation:

Frau Sonja Nemeč (Organisationsleitung),  
Telefon +49(0)6221/84 44 24,  
E-Mail: [nemec@concept-heidelberg.de](mailto:nemec@concept-heidelberg.de)

## Organisation

CONCEPT HEIDELBERG  
P.O. Box 10 17 64  
D-69007 Heidelberg  
Telefon +49(0)62 21/84 44-0  
Telefax +49(0)62 21/84 44 34  
E-Mail: [info@concept-heidelberg.de](mailto:info@concept-heidelberg.de)  
[www.gmp-navigator.com](http://www.gmp-navigator.com)



Immer auf dem Laufenden mit unseren GMP-Newsletters

Concept Heidelberg bietet verschiedene kostenfreie GMP-Newsletter an, die Sie ganz nach persönlichem Bedarf abonnieren können.

Zum Abonnieren scannen Sie einfach den QR-Code oder besuchen Sie [www.gmp-navigator.com/gmp-newsletter](http://www.gmp-navigator.com/gmp-newsletter)

