



# Aktuelle Trends bei Endotoxin- und Pyrogentest

04./05. Juni 2019, Karlsruhe



Topthemen:  
Maskierung, MAT,  
Automatisierung  
und  
Data Integrity

## Lerninhalte

- Endotoxin-Tests für die Zulassung und Routine
- Probenvorbereitung
- Maskierungs- und Demaskierungsstrategien und Methoden
- Prüfung bei kritischen Substanzen
- Packmittel – Prüfung und Validierung
- Depyrogenisierung
- Alternative Testsysteme wie MAT und rekombinante Faktoren
- Automatisierung
- Data Integrity

## Referenten



**Dr. Ingo Ciolkowski**  
Lonza Cologne GmbH



**Jacqueline Dünisch**  
Labor LS



**Dr. Dirk Fröde**  
Charles River Laboratories



**Christiane Höfner**  
Labor LS



**Dr. Holger Kühn**  
BioChem GmbH



**Dr. Johannes Reich**  
Microcoat Biotechnologie GmbH



**Björn Sonntag**  
Roche Diagnostics GmbH



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

## Zielsetzung

Dieser Lehrgang 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.



Wissenschaft und Industrie haben in den vergangenen Jahren mit hohem Aufwand solche Alternativen Methoden, wie den MAT 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 beschäftigt die verantwortlichen Mitarbeiter in den letzten Monaten 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

Dieser Kurs 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

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

---

- Historisches
  - Ph. Eur., USP, JP
  - FDA
  - Aide memoire
  - Anforderungen an die Methodvalidierung

### Endotoxine und Pyrogene – Grundlagen, Eigenschaftene Wirkung

---

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

### Prüfung komplexer Probenmatrices sowie Validierung und Anwendung spezieller Probenvorbereitungstechniken

---

- Prüfung auf Testinterferenzen
- Säuren
- Alkohole
- Antibiotika
- Komplexbildner
- Bivalente Kationen
- Detergenzien
- Proteine
- Toxische Substanzen
- $\beta$ -1,3-Glucane
- Probentrennung mittels Ultrafiltration
- Extraktion von Endotoxinen aus öligen Substanzen
- Behördenvorgaben
- Prüfmethode und Validierung

### Endotoxine und Packmittel

---

- Verschiedene Packmittel
- Behördenvorgaben
- Prüfmethode und Validierung
- Berechnung von Log Reduzierungen

### Depyrogenisierung

---

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

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

---

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

## Anforderungen an die Prüfung auf pyrogene Substanzen an Medizinprodukten

---

- Regulatorische Vorgaben (ANSI/AAMI ST72, USP <161>)
- Festlegung von Endotoxingrenzwerten und Musteranzahlen
- Probenextraktion
- Durchführung von Eignungsprüfungen
- Komplexe Produkte

## Die Bedeutung von Data Integrity bei der Endotoxinprüfung

---

- Grundlagen und Unternehmensstrategien
- Einführung Kinetische Testung
- Data Integrity Komponenten bei WinKQCLTM Endotoxin Detektion und Analyse Software
- Etablierung eine risikobasierten Ansatzes für den Prozess-Review beim Audit Trail
- Q&A

## Low Endotoxin Recovery: Mechanistische Prinzipien der Maskierung von Endotoxinen

---

- Struktur und Aktivität von Endotoxin
- Endotoxin Maskierung - Ein kinetisch kontrollierter Prozess
- Allgemeiner Reaktionsmechanismus
- Beeinflussung von Reaktionskinetiken

## Maskierungsstrategien/Hold Times

---

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

## Demaskierung von Endotoxinen in komplexen Proben

---

- Theoretische Überlegung zur Demaskierung
- Praktische Lösungsansätze: Komponenten zur Demaskierung von Endotoxin
- Fallbeispiel: Demaskierung von Endotoxin in einem biopharmazeutischen Produkt

## MAT – Monocyten Aktivierungs Test

---

- Validierung
- Methoden A/B/C
- Pros and Cons
- Routineeinsatz Methode B

## Erfahrungen mit dem MAT

---

- MAT – Vor- und Nachteile der jeweiligen Methoden aus Sicht eines Auftragslabor
- Auswahl geeigneter Quellen für Monozyten
- Kritische Aspekte des Tests
- Vergleich mit anderen Testverfahren

## Rekombinante Testsysteme

---

- Der Rekombinante Faktor C
- Testprinzip & Testdurchführung
- Validierungsmerkmale
- Regulatorische Aspekte zur Nutzung von rFC Methoden

## Referenten

### Dr. Ingo Ciolkowski, Lonza Cologne GmbH

Nach dem Studium an der Uni Gießen und bei Qiagen tätig. Seit 2001 ist er bei Lonza als Scientific Support Specialist für Fragen zu Endotoxinen, LAL Anwendung und Trouble Shooting verantwortlich.

### 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.

### Christiane Höfner, Labor LS

Christiane Höfner studierte Biologie an der Universität Würzburg mit Fokus auf Mikrobiologie und Zellbiologie. Danach war sie 4 Jahre an der Uniklinik in der Forschung der Unfall und plastischen Chirurgie tätig. Im Februar 2018 kam sie zu LS und betreut dort die Implementierung des Monozytenaktivierungstest

### Dr. Dirk Fröde, Charles River Laboratories

Dr. Fröde arbeitet seit 2008 für die Firma Charles River auf dem Gebiet der Endotoxintestung, mikrobiologischen Identifizierung und Etablierung von Schnellmethoden für den mikrobiologischen Belastungs- und Sterilitätstest. Seine aktuelle Position hierbei ist Account Manager.

### Dr. Holger Kühn, BioChem GmbH

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

### Dr. Johannes Reich, Microcoat Biotechnologie GmbH

Johannes Reich studierte in Regensburg Business Administration und Chemie. Derzeit ist er bei Microcoat für den Bereich Endotoxin/Low Endotoxin Recovery zuständig.

### Björn Sonntag, Roche Diagnostics GmbH

Björn Sonntag war nach dem Studium der Biologie bis 2018 bei Vetter Pharma-Fertigung GmbH & Co. KG sowohl in der mikrobiologischen QK und QS beschäftigt. Seit Mai 2018 ist Björn Sonntag als Laborleiter der mikrobiologischen Qualitätskontrolle bei Roche Diagnostics in Penzberg tätig.

### Dr Ingo Spreitzer, Paul-Ehrlich-Institut

Seit 2001 arbeitet er für das Paul-Ehrlich-Institut und wurde stellvertretender Fachgebietsleiter Mikrobielle Sicherheit und Parasitologie. Er ist Mitglied der Arbeitsgruppe „Pyrogentest“ der deutschen Arzneibuchkommission und in Arbeitsgruppen „MAT“ und Bacterial Endotoxins“ der europäischen Arzneibuchkommission.

## Aktuelle Trends bei Endotoxin- und Pyrogenrest (M5), 04./05. Juni 2019, Karlsruhe

Titel, Name, Vorname \_\_\_\_\_

Abteilung \_\_\_\_\_

Firma \_\_\_\_\_

Telefon / Fax \_\_\_\_\_

E-Mail ( bitte angeben) \_\_\_\_\_

Bitte reservieren Sie \_\_\_\_\_ EZ Anreise am \_\_\_\_\_

Abreise am \_\_\_\_\_

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 2 Wochen vor Veranstaltungsbeginn 10 % der Teilnehmergebühr.
- Bis 1 Woche vor Veranstaltungsbeginn 50 % der Teilnehmergebühr.
- Innerhalb 1 Woche vor Veranstaltungsbeginn 100 % der Teilnehmergebühr.

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 Teilnehmergebühr 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 weitergegeben (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

Dienstag 4. Juni 2019,  
09.30 bis 18.00 Uhr  
(Registrierung und Begrüßungskaffee  
09.00 bis 09.30 Uhr)  
Mittwoch, 05. Juni 2019,  
08.30 Uhr bis 16.00 Uhr

## Veranstaltungsort

Novotel Karlsruhe City  
Festplatz 2  
76137 Karlsruhe  
Telefon +49 (0)721 3526 0  
H5400@accor.com

## Teilnehmergebühr

€ 1.190,- zzgl. MwSt. schließt zwei Mittagessen sowie Getränke während der Veranstaltung und in den Pausen ein. Zahlung nach Erhalt der Rechnung.

## 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.

Zimmerreservierungen innerhalb des Zimmer-Kontingentes (sowie Änderungen und Stornierungen) nur über CONCEPT möglich. Sonderpreis: Einzelzimmer inkl. Frühstück € 129,-

## Haben Sie noch Fragen?

Zum Inhalt:

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

Zu Organisation, Hotel, etc.:

Herr Niklaus Thiel (Organisationsleitung),  
Tel. +49(0)6221/84 44 43,  
E-Mail: [thiel@concept-heidelberg.de](mailto:thiel@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)