MICROCOAT
Biotechnologie GmbH

Certificate

Validation of an analytical method for the determination of endotoxin (EndoLISA®)

Study No. 11HYG01

Start of experimental phase:	05.12.2011
End of experimental phase:	09.03.2012

Sponsor

Hyglos GmbH
Am Neuland 1
82347 Bernried
Germany

Research Laboratory

MicroCoat Biotechnologie GmbH
Am Neuland 3
82347 Bernried
Germany

Statement of GLP compliance

The study number 11HYG01 was conducted in compliance with principles of Good Laboratory Practice (German Good Laboratory Practice Regulations: ChemG, Version 2. July 2008, Attachment 1 to §19a clause 1).

Study director: Dr. Alice Hellwig

6.09.12 Hellwig
Date, Signature

Study procedures were periodically inspected. The study plan and this report were audited by the quality assurance. This statement also confirms that the report reflects the raw data.

Quality Assurance: Dr. Yvonne Kerwitz

06.09.12 Y. Kerwitz
Date, Signature

Annex:
- Summary of Validation Results
- GLP Certificate

GLP

Summary of validation results

Validation item	Result	Acceptance criteria
Accuracy of LPS standard curve back-calculated concentrations (BCCs)	Run 1 mean: 102 % highest value: 112 % lowest value: 99 % Run 2 mean: 98 % highest value: 102 % lowest value: 79 % Recovery (BCC) is within +/- 25 % of the nominal concentrations	+/- 25 % of nominal concentrations
Accuracy of kit standard curve compared to RSE standard curve	Run 1 mean: 97 % highest value: 129 % lowest value: 79 % Run 2 mean: 111 % highest value: 133 % lowest value: 86 % All BBCs have an accuracy of 50-200 %	75% of BBCs have to have an accuracy of 50-200 % of nominal standard concentrations
Intra-assay accuracy (with 4 LPS quality control samples at high medium and low concentration)	mean / max / min run 1: 106 % / 145 % / 75 % run 2: 102 % / 128 % / 73 % run 3: 90 % / 142 % / 56 % run 4: 92 % / 140 % / 67 %	BCCs of LPS-QCS within 50-200 % of nominal concentrations
Intra-assay precision (with 4 LPS quality control samples at high medium and low concentration)	mean / max / min run 1: 7.3 % / 15.9 % / 2.2 % run 2: 9.2 % / 13.3 % / 2.6 % run 3: 15.0 % / 23.9 % / 5.8 % run 4: 12.9 % / 24.7 % / 5.1 %	CV ≤ 25 %
Inter-assay accuracy (with 4 LPS quality control samples at high medium and low concentration)	mean: 98 % highest value: 112 % lowest value: 81 %	BCCs of LPS-QCS within 50-200 % of nominal concentrations
Inter-assay precision (with 4 LPS quality control samples at high medium and low concentration)	mean: 22 % highest value: 37 % lowest value: 9 %	Mean CV ≤ 50 %
LOD	blank + 2xSD: no result blank + 3xSD: 0.0009 EU/ml blank + 4xSD: 0.0024 EU/ml	≤ 0.05 EU/ml
LLOQ	run 1: 0.015625 EU/ml run 2: 0.03125 EU/ml mean: 0.02344 EU/ml	≤ 0.05 EU/ml
ULOQ	Not tested, value set to highest standard concentration (500 EU/ml)	500 EU/ml
High-dose hook effect	No High-dose hook effect. rfu-signal stays at maximum at 500.000 EU/ml	no hook effect
Lot-to-Lot consistency (with 4 LPS quality control samples at high medium and low concentration)	Accuracy / CV mean: 98 % / 16 % highest value: 124 % / 39 % lowest value: 77 % / 5 %	Mean of BCCs of LPS-QCS are within 50-200 % of nominal concentrations; CV ≤ 50 %

Study director: Dr. Alice Hellwig

6.09.2012

Date, Signature

BAYERISCHES LANDESAMT
FÜR GESUNDHEIT UND LEBENSMITTELSICHERHEIT,
LANDESINSTITUT FÜR ARBEITSSCHUTZ UND PRODUKTSICHERHEIT
Pfarrstraße 3 · 80538 München · Telefon (089) 21 84-0

GLP-Bescheinigung/Statement of GLP Compliance
(gemäß/according to § 19b Abs. 1 Chemikaliengesetz)

Eine GLP-Inspektion zur Überwachung der Einhaltung der GLP-Grundsätze gemäß Chemikaliengesetz bzw. Richtlinie 2004/9/EG wurde durchgeführt in:

Assessment of conformity with GLP according to Chemikaliengesetz and Directive 2004/9/EC at:

☒ Prüfeinrichtung/Test facility ☐ Prüfstandort/Test site

Microcoat Biotechnologie GmbH
Am Neuland 3
82347 Bernried

(Unverwechselbare Bezeichnung und Adresse/Unequivocal name and address)

Prüfungen nach Kategorien/Areas of Expertise
(gemäß/according ChemVwV-GLP Nr. 5.3/OECD guidance)

9 Sonstige Prüfungen
ELISA-basierte Messungen
im Serum und Plasma
von Tieren und Menschen

Datum der Inspektion/Date of Inspection
(Tag Monat Jahr/day month year)
11./12.11.2008

Die/Der genannte Prüfeinrichtung/Prüfstandort befindet sich im nationalen GLP-Überwachungsverfahren und wird regelmäßig auf Einhaltung der GLP-Grundsätze überwacht.

The above mentioned test facility/test site is included in the national GLP Compliance Programme and is inspected on a regular basis.

Auf der Grundlage des Inspektionsberichtes wird hiermit bestätigt, dass in dieser Prüfeinrichtung/diesem Prüfstandort die oben genannten Prüfungen unter Einhaltung der GLP-Grundsätze durchgeführt werden können.

Based on the inspection report it can be confirmed, that this test facility/test site is able to conduct the aforementioned studies in compliance with the Principles of GLP.

München, 06.04.2009

Ritter
Leitender Gewerbedirektor

LS

BAYERISCHES LANDESAMT FÜR GESUNDHEIT UND LEBENSMITTELSICHERHEIT 6