

# Online Keimzahlbestimmung für Pharmawasser



Dr. Jürgen Illerhaus (Business Development  
and Product Marketing)

Swiss Cleanroom April 2024



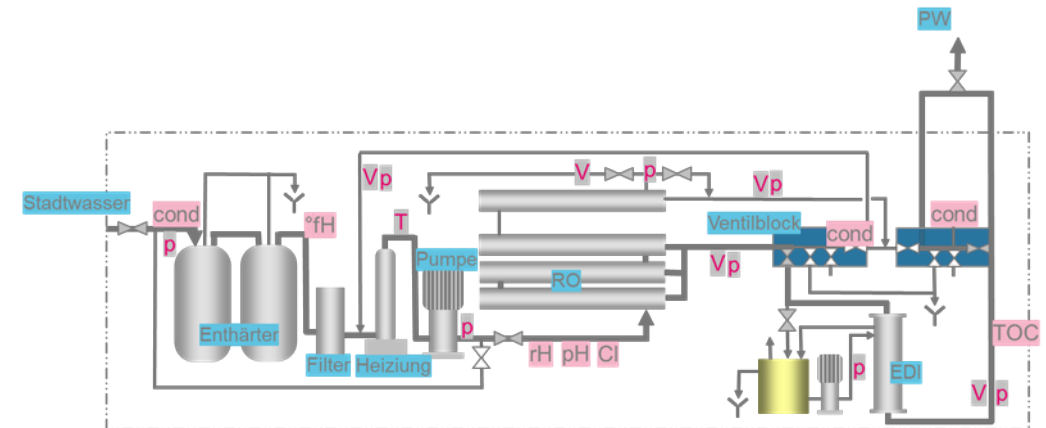
# Warum eine Schnellmethode

## I. IPC

- Automatisierung ist die Grundlage für
  - Datenintegrität
  - Vermeidung von Bedienungsfehlern
- Prozesssteuerung
- Prozessoptimierung
- Fehlersuche

## II. QK

- Schnell
- Sicher



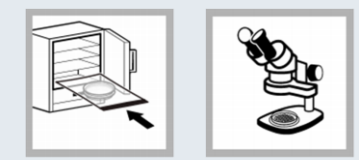
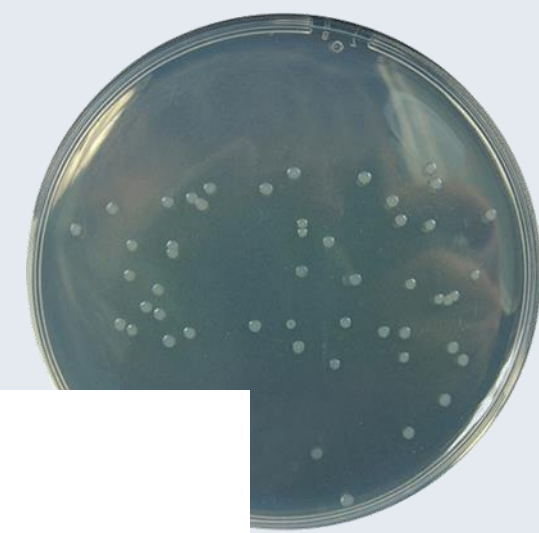
# Einschränkungen von HPC

- HPC ist heute die Methode der Wahl, aber es handelt sich nicht um eine echte Zellzahl, sondern um eine grobe Schätzung (USP)
  - **Es wird verwendet, weil es bisher die einzige Methode war... Nicht, weil es das Beste ist.**

König at al.

- In USP 1223 w... bis 1% der Ge...
- VBNC (dt. leben... sind unsichtba...  
 “Currently, the viable but non-culturable (VBNC) state is an **underappreciated niche for pathogenic bacteria** which provides a **continuous source of recurrent infections and transmissions**”

VBNC



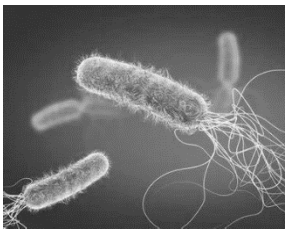
0.45µm medium 3. Incubation (≥ 5 days @ 30-35°C) 4. Enumeration



*Burkholderia cepacia*



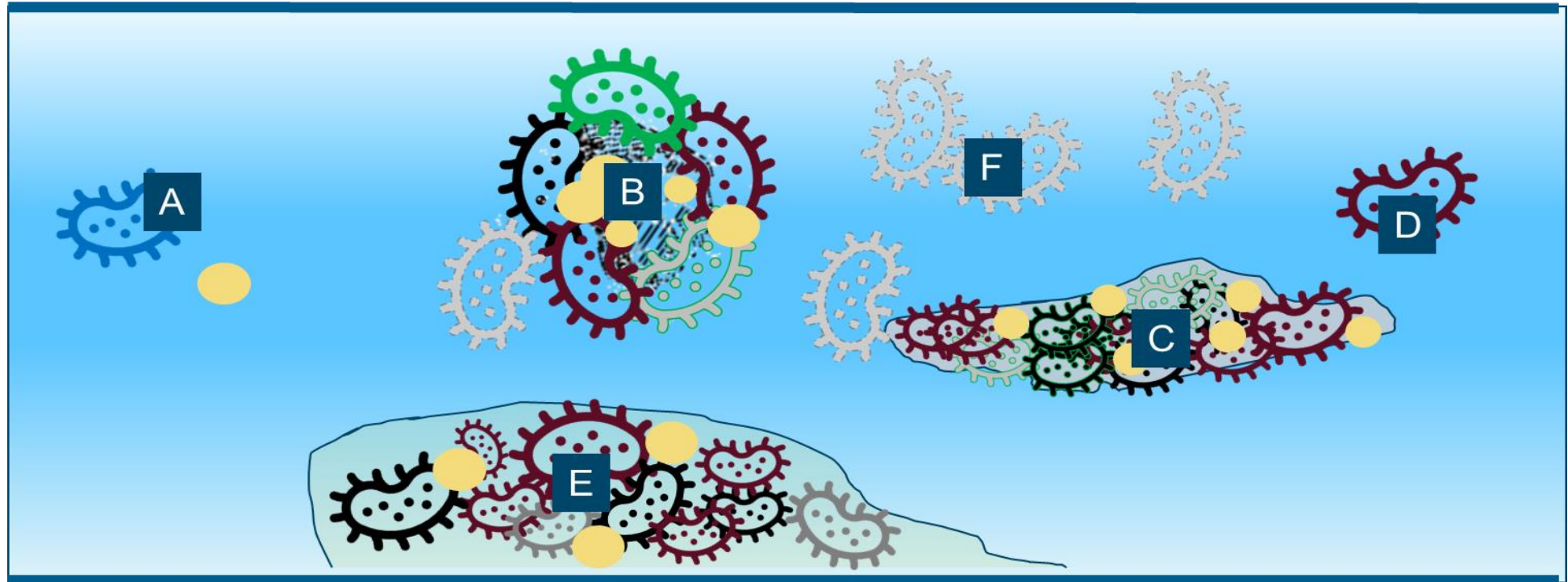
*Staphylococcus aureus*



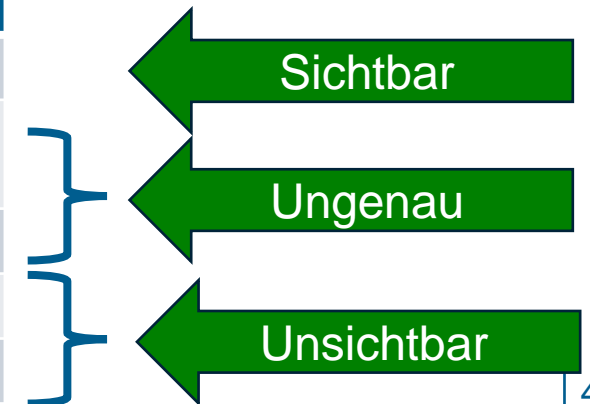
*Pseudomonas aeruginosa*



*Ralstonia picketti*



	Type	Numbers in CFU
A	Individuelle kultivierbare Organismen	1
B	Konglomerate (Partikel mit anhängenden Mikroorganismen)	0 oder 1
C	Biofilm Fragmente	0 oder 1
D	Individuelle VBNC Organismen	0
E	Anhaftender Biofilm	0



# ANNEX 1

Release Date

August 22 2022

Came into effect (legally binding)

August 2023

2.1.i ...appropriate technologies e.g. (...rapid/alternative methods and continuous monitoring systems) should be considered to increase the protection of the product from potential extraneous sources of endotoxin /pyrogen, particulate and microbial contamination.



**A Contamination Control Strategy is mandatory**

## Was bedeutet das für ein Wassererzeugungs- und Verteilungssystem?

- Wir brauchen eine **zuverlässige und schnelle Messung** zur Überwachung der **realen** mikrobiellen Belastung
- Wir müssen jeden einzelnen Schritt der Wassererzeugung überwachen (RO1, RO2, EDI, UF, Tank, Loop...)

**Nur wenn wir die Wahrheit kennen, können wir**

- **Den Prozess verstehen**
- **Das Risiko beschreiben**
- **Die richtigen Aktionen einleiten**



# Marktanalysen seit 2017

## Wir wollen die beste Lösung anbieten

Kriterien:

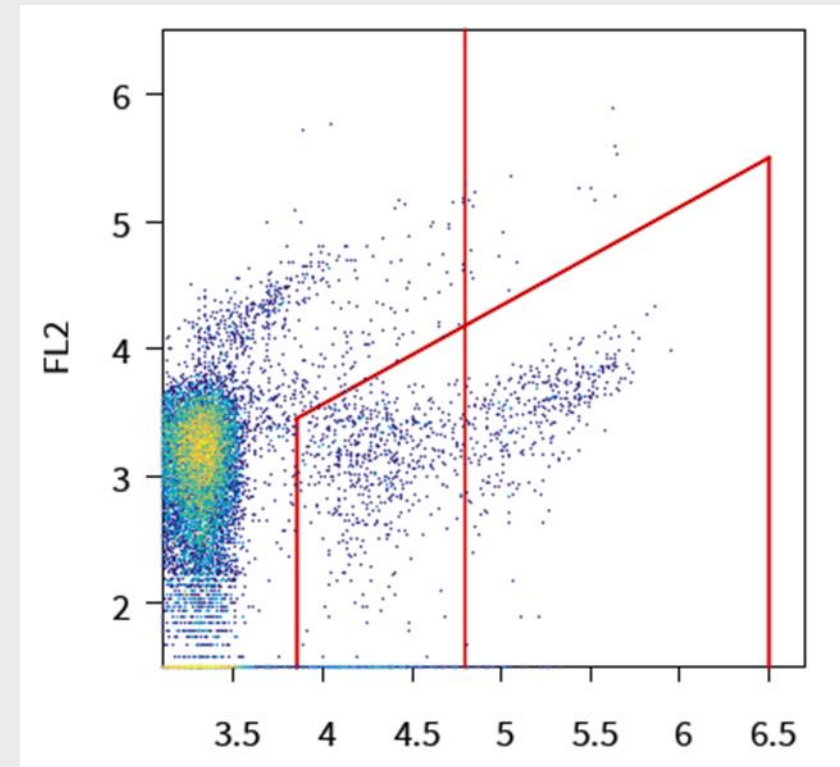
- Was ist die beste Technologie?
  - Durchflusszytometrie
  - Direkte induzierte Fluoreszenz
  - Enzymatische Aktivität
  - ...
- Anpassung der Technologie auf unsere Applikation
- Validierbarkeit



# Durchflusszytometrie

## Die beste Technologie im Markt

- **Durchflusszytometrie**
  - Spezifisch für intakte Zellen
  - Erprobte Technologie in vielen Anwendungen
  - Kein störendes Hintergrundsignal






# Durchflusszytometrie

Akzeptiert und täglich im Einsatz zur Bestimmung mikrobiologischer Verunreinigungen

## Trinkwasser

Association pour l'eau, le gaz et la chaleur  
Associazione per l'acqua, il gas e il calore  
Fachverband für Wasser, Gas und Wärme  
Association for water, gas and district heating



MW102 d Ausgabe August 2023  
**INFORMATION**  
Methode  
Bestimmung der Gesamtzellzahl in Wasserproben mittels Durchflusszytometrie

## Medizin

### Blutanalyse



## Nahrungsmittel / Getränke



**Revolutionierung der Wasser- und Lebensmittelsicherheit durch Durchflusszytometrie**  
TOP FOOD SAFETY SOLUTIONS PROVIDER IN EUROPE 2023  
Awarded by FOOD & BEVERAGE TECHNOLOGY REVIEW

[Jetzt lesen](#)

# Durchflusszytometrie



AQU@Sense MB





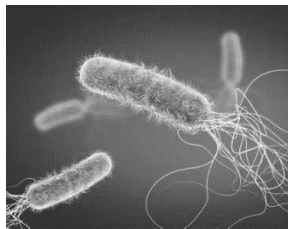
DIE IDEALE LÖSUNG  
FÜR DIE ÜBERWACHUNG  
DER KEIMBELASTUNG



*Burkholderia cepacia*



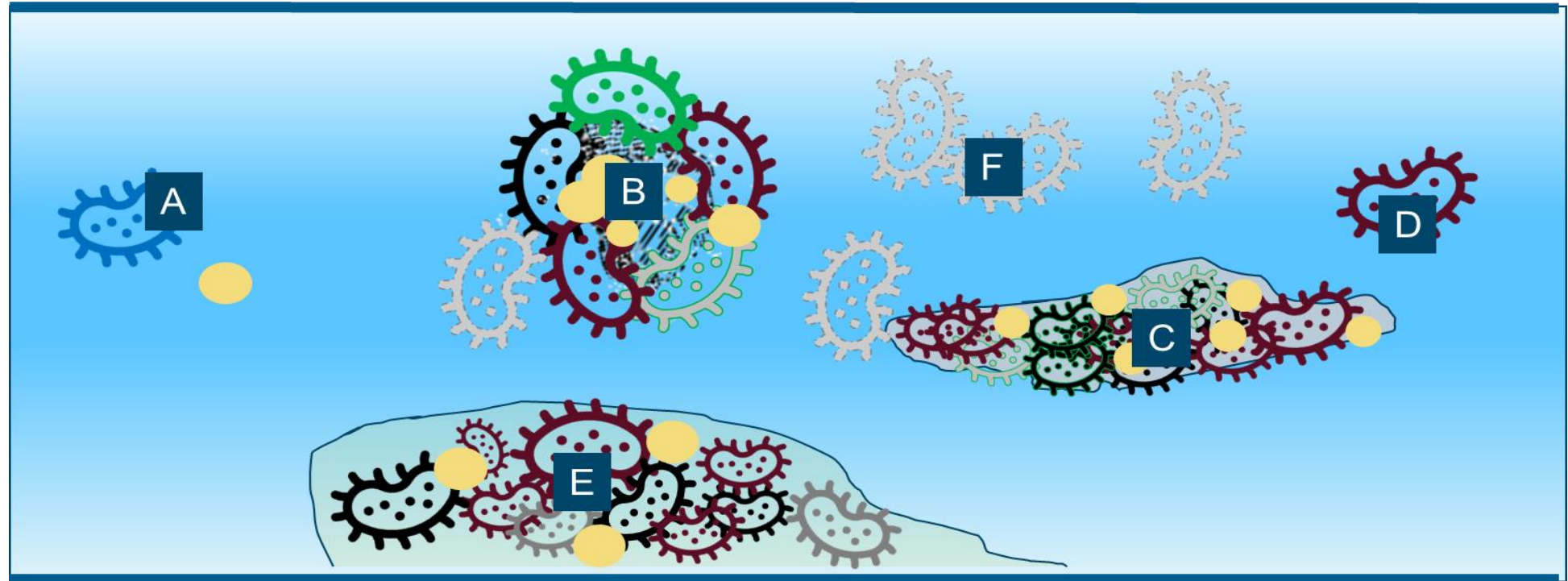
*Staphylococcus aureus*



*Pseudomonas aeruginosa*



*Ralstonia picketti*

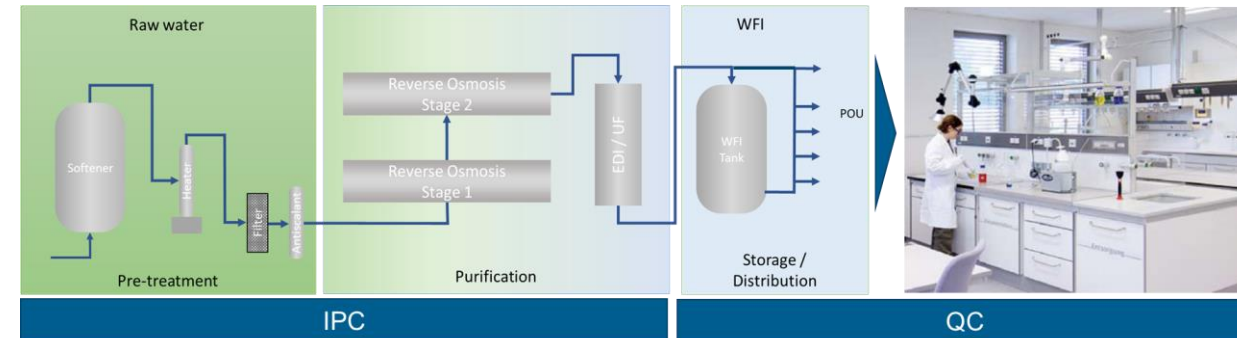


	Typ	Anzahl in CFU	Anzahl in ICC
A	Einzelne kultivierbare Organismen	1	1
B	Konglomerate (Partikel mit anhaftenden Mikroorganismen)	1	10
C	Biofilm-Fragmente	1	18
D	Einzelne VBNC-Organismen	0	1
E	Biofilm haftet an Oberflächen	0	0

# APPLICATION

In Prozess Kontrolle

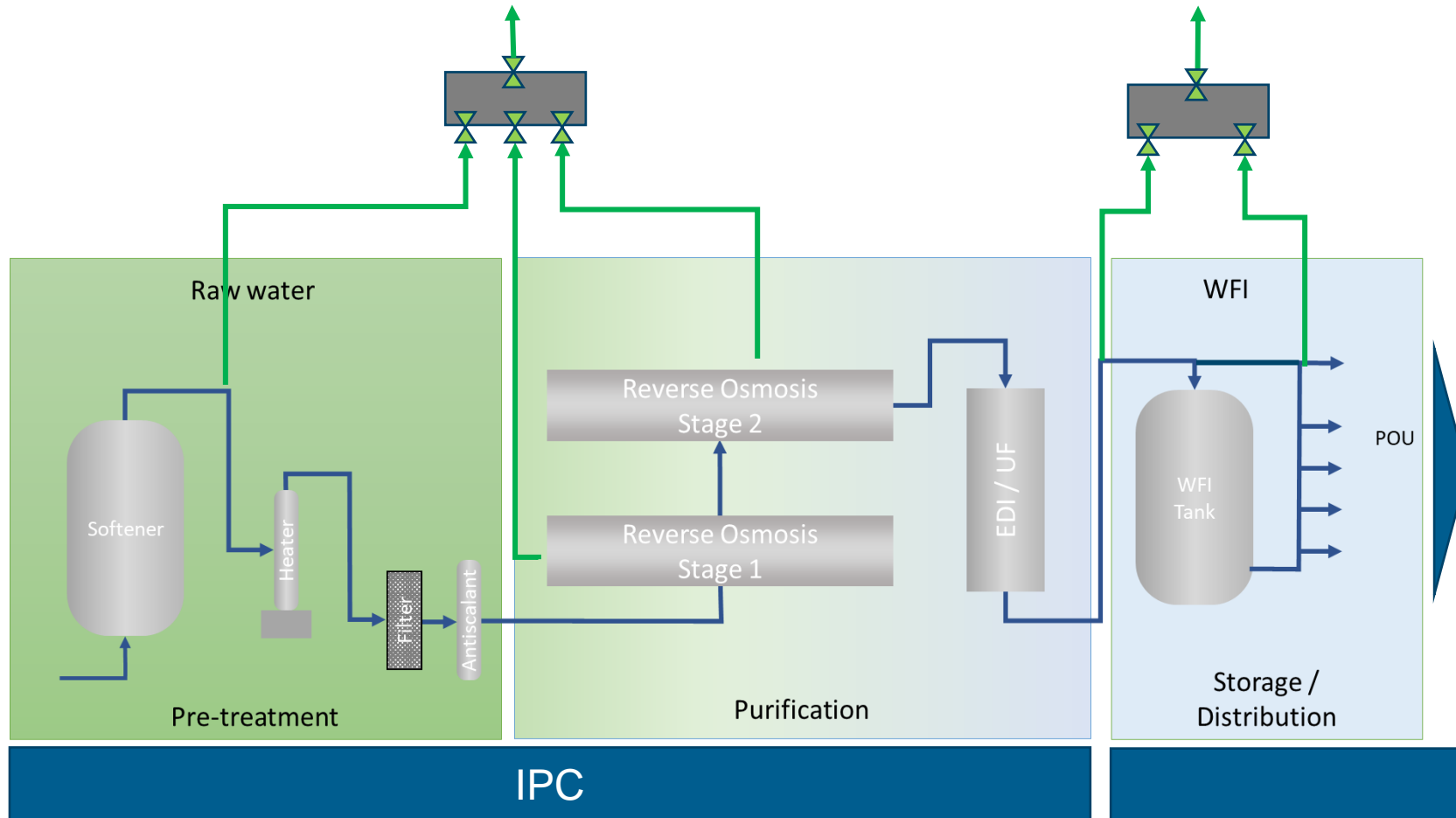
Qualitätskontrolle



Wasser für  
Injektionszwecke (WFI)  
Reinstwasser (PW)



AQU@Sense MB  
Multi



QC

Ein neuer Messwert

ICC ≠ CFU

The background features a central image of a globe surrounded by numerous water droplets of varying sizes, some in motion, creating a sense of freshness and purity. The image is overlaid with a semi-transparent blue rectangle on the left side.

# Primärvalidierung

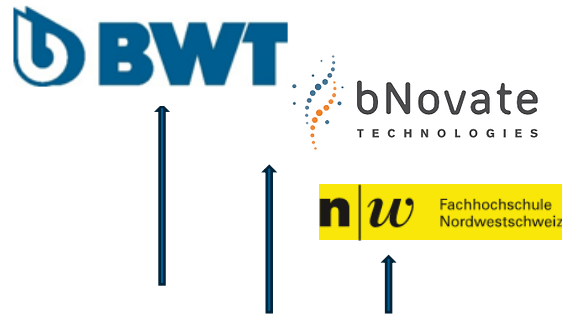


Table 5.1.6.-1 – *Tasks to be undertaken during the validation process*

Activity	Normally carried out by	
	Supplier	User
Primary validation	+	-(1)
URS (instrument, application)	-	+
Description of the technique	+	-(2)
Risk benefit analysis	-(3)	+
Design qualification (DQ)	-	+
Installation qualification (IQ)	-(4)	+
Operational qualification (OQ)	-(4)	+
Performance qualification (PQ):		
- verification of primary validation data given by the supplier;	-	+
- verification for the intended use (e.g. sterility testing, TAMC/TYMC, ...);	-	+
- method suitability test	-	+



# Primärvalidierung AQU@Sense MB



Validation Summary Report AQU@Sense MB			
Function	Name/Signature	Company	Date
Product manager	[Signature]	BWT	15 July 2021
Head of production	[Signature]	BWT	[Signature]



Validation Master Plan AQU@Sense MB			
Function	Name/Signature	Company	Date
Product manager	[Signature]	BWT	15 July 2021
Head of production	[Signature]	BWT	[Signature]
Head of research	[Signature]	BWT	27.09.2021









Test?	Argument
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	x Biofilm-forming bacteria, Gram -, can be introduced through feed water, mentioned in "all" documents
<i>Bacillus subtilis</i>	x Review of the test for Gram+, validation of RZA, formation of spores under stress
<i>Staphylococcus aureus</i>	x Infectious in clinics; Gram+
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	x USP <1231>, "microbiota in UPW", "bacteria cont. UPW", M. Rieth
<i>Ralstonia pickettii</i>	x USP <1231>, "microbiota in UPW", "bacteria cont. UPW", M. Rieth
<i>Burkholderia cepacia</i>	x USP <1231>, "microbiota in UPW" [Signature]
<i>Penicillium sp.</i>	x Review of the test for fungi
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	x Occurrence in WFI
<i>Escherichia coli</i>	x USP <1231> Hygiene Indicator, Potential Internal Contamination in Water System Gram
<i>Candida albicans</i>	x Ph. Eur. test for yeasts



TU/e



# Primärvalidierung Ergebnisse

Parameter	Resultat	Details
Genauigkeit		HPC nicht unterlegen
Präzision		RSD < 30%; HPC nicht unterlegen
Spezifität		alle Arten nachgewiesen, nur lebende Zellen, keine Interferenz mit anorganischen oder organischen Partikel
Quantifizierungsgrenze		HPC nicht unterlegen
Linearität		HPC nicht unterlegen
Bereich		HPC nicht unterlegen
Robustheit		Betriebs- und Umgebungsvariablen haben keinen Einfluss auf die Testergebnisse
Unempfindlichkeit		Unempfindlich gegenüber Vibrationen

**Die Primärvalidierung war erfolgreich**

The background features a soft-focus image of water droplets on a plant stem, with a small globe of the Earth integrated into the scene. The globe is positioned in the center-right, showing the Americas. The overall color palette is muted, with shades of blue, purple, and pink.

Vielen Dank für Ihre  
Aufmerksamkeit!