

### Question:

Can *Leptospira* species penetrate sterilizing-grade filters? If so, what should manufacturers keep in mind in their ongoing lifecycle risk management efforts to ensure microbial control?

Leptospira 종이 제균 등급 필터를 통과할 수 있는가? 그렇다면 미생물 관리를 위한 지속적인 라이프사이클 리스크 관리 활동을 제조업체가 어떻게 해야 하는가?

---

### Answer:

FDA is aware of a report of *Leptospira licerasiae* contamination in cell cultures (see Chen, Bergenvin, et al. 2012). There is no indication that this bacterium ultimately contaminated either the finished drug substance or drug product. This bacterium has been found to pass through 0.1 µm pore size rated sterilizing-grade membrane filters. While this specific species was the identified contaminant in this case, other *Leptospira* species also are capable of passing through 0.1 µm pore size rated filters (see Faine 1982). Compendial microbiological test methods typically used in association with upstream biotechnology and pharmaceutical production are not capable of detecting this type of bacteria. Whether this apparently rare contamination risk may be more widespread is unknown, and we are sharing this information so that manufacturers can consider whether this hazard may be relevant to their operations.

세포 배양 도중 *Leptospira licerasiae* 오염에 관한 문헌(Chen, Bergenvin, et al. 2012)이 발표되었다. 궁극적으로 최종 원료의약품이나 완제의약품이 이 세균에 오염되었다는 증거는 없다. 이 세균은 0.1 µm 크기의 제균 등급 멤브레인 필터를 통과하는 것으로 밝혀졌다. 이 경우에 확인된 오염 미생물이 이 종이였지만, 다른 *Leptospira* 종도 0.1 µm 크기의 필터를 통과할 수 있다(Faine 1982). 업스트림 생명 공학 공정 및 의약품 생산과 관련된 일반적인 공정서 수재 미생물 시험 방법으로는 이 세균을 검출하지 못한다. 이와 같이 드물게 발생하는 오염 리스크가 어느 정도일지 모르지만, 제조업체가 이 위험 요소가 제조 공정에 어떤 의미가 있는지 검토하는데 도움을 주기 위하여 관련 정보를 정리하여 공유한다.

*Leptospira* are Gram-negative aerobic spirochetes that are flexible, highly motile, and spiral-shaped with internal flagella. The bacteria measure 1 µm in diameter and 10-20 µm in length. *Leptospira* are obligate aerobes that use oxygen as the electron receptor and long-chain fatty acids as a major source of energy. While some of the *Leptospira* are harmless

fresh-water saprophytes, other species are pathogenic and can cause leptosporosis, a significant disease in humans and animals (Ricaldi, Fouts, et al. 2012; Matthias, Ricaldi, et al. 2008; Bharti, Nally, et al. 2003).

*Leptospira*는 그람 음성 호기성 스피로헤타이며, 유연하고 운동성이 뛰어나며 나선형 모양이고 내부 편모를 갖고 있다. 직경이 1  $\mu\text{m}$ 이고 길이가 10-20  $\mu\text{m}$ 이다. *Leptospira*는 절대 호기성 균으로, 산소를 전자 수용체로 사용하고 긴 체인의 지방산을 주요 에너지원으로 활용한다. 일부는 유해하지 않은 담수 부생균인 반면, 병원성인 종도 있어 사람과 동물에서 렙토스피라증을 유발할 수 있다(Ricaldi, Fouts, et al. 2012; Matthias, Ricaldi, et al. 2008; Bharti, Nally, et al. 2003).

Based on current information, *Leptospira* contamination does not appear to occur frequently, and purification steps that follow cell culture in a typical biotechnology operation would be expected to prevent carryover to the finished drug substance. Testing of bulk drug substances produced in the reported cases did not detect the *Leptospira* species, and no evidence of deleterious effects on in-process product were observed in the known case study. However, we are providing this communication to alert manufacturers that these types of bacteria can potentially:

최신 정보에 의하면 *Leptospira* 오염이 자주 발생되지 않으며, 세포 배양 이후 일반적인 생명 과학적 정제 단계가 최종 원료의약품에 이월되는 것을 방지할 수 있다고 생각된다. 보고된 사례를 살펴보면, 벌크 원료의약품 시험 시에 *Leptospira* 종이 검출되지 않았고, 공정 제품에 대한 부정적인 영향의 증거가 발견되지 않았다. 하지만 이러한 종류의 세균 때문에 다음과 같은 상황이 발생할 수 있음을 제조업체에게 알릴 필요가 있다고 생각한다.

- o Penetrate sterilizing-grade membrane filters  
제균 등급 멤브레인 필터를 통과할 수 있다.
- o Be present in the manufacturing site environment  
제조소 환경에 이 미생물이 존재할 수 있다.
- o Impact in-process production (e.g., production yields, impurity levels, process performance)  
생산 공정에 영향을 미칠 수 있다(예, 생산 수율, 불순물 수준, 공정 성능).
- o Go undetected due to the limitations of current compendial bioburden tests in detecting this microbial genus

현행 공정서 수재 바이오퍼드 시험 방법은 이 미생물 속을 검출하는데 한계가 있어, 실제로 존재해도 검출되지 않을 수 있다.

As a general principle, manufacturers should use sound risk management and be aware of unusual microbiota reported in the literature that may impact their manufacturing processes (e.g., cell culture biotechnology, conventional sterile drug manufacturing).

제조업체는 타당한 리스크 관리 방법을 활용하고, 제조 공정(예, 세포 배양 기술, 종래의 무균 의약품 제조 공정)에 영향을 미칠 가능성이 있는 참고 문헌에 언급된 특이한 미생물 군체에 주의를 기울여야 한다.

Manufacturers should assess their operations, be aware of potential risks, and apply appropriate risk management based on an understanding of possible or emerging contamination risks (see section 18.3 in ICH guidance for industry *Q7 Good Manufacturing Practice Guidance for Active Pharmaceutical Ingredients*). As appropriate, preventive measures should be implemented during the product and process lifecycle.

제조업체는 제조 공정을 평가하고 잠재 리스크를 파악하며, 가능성이 있거나 새로운 오염 리스크에 대한 이해를 바탕으로 적절한 리스크 관리 대책을 수립해 적용해야 한다(ICH 가이드 문서 "Q7 API GMP"의 섹션 18.3). 적절한 경우에는 제품/공정 라이프사이클 동안 예방 대책을 수립하여 추진한다.

To illustrate, if leptospiral contamination is considered possible, or has occurred, risk mitigation procedures and practices for this microorganism should include at least the following:

예를 들어 렙토스피라 오염이 예상되거나 실제로 발생한 경우에는, 적어도 다음과 같은 리스크 완화 절차와 대책을 수립한다.

- (1) Review of available published articles from the scientific literature and technical reports by related industry organizations that may provide further understanding on how to mitigate this contamination hazard.

관련 산업 단체가 발행한 기술 보고서와 과학 문헌에 게재된 논문을 검토하고 이 오염 위해 요소의 완화 방법에 대한 정보를 수집한다.

- (2) Use of molecular or nonconventional microbial monitoring methods at appropriate intervals to detect microbial flora that may exist in processing steps or in the immediate environment, but are not readily detected by current

routine methods. Such expanded testing should be used to modify the strategy (e.g., timing, frequency, types of tests) of detection and control in the event of newly identified risk posed by the viable, but not easily cultured, microorganism.

적절한 주기로 분자적 방법이나 새로운 미생물학적 모니터링 방법을 사용해, 공정 단계나 직접 환경에 존재할 가능성이 있으나 일반적인 현행 방법으로 용이하게 검출되지 않는 미생물 균총을 검출한다. 용이하게 배양되지 않는 활성 미생물에 의한 리스크가 새롭게 파악되는 경우에, 이런 강화 시험 방식을 채택해 검출 및 관리 전략(예, 시기, 주기, 시험 종류)을 변경한다.

Examples include:

예:

- a. Use of specialized media such as Ellinghausen McCullough Johnson Harris (EMJH) medium (Ellinghausen and McCullough 1965) or other suitable media (Rule and Alexander 1986). It should be noted that these bacteria typically grow very slowly.  
EMJH 배지(Ellinghausen and McCullough 1965)나 다른 적합한 배지(Rule and Alexander 1986) 등 특수 배지 사용. 이 세균은 매우 느리게 성장함을 생각해야 한다.
  - b. Use of validated polymerase chain reaction (PCR) methods (e.g., as an investigative tool) for rapid screening and detection of spirochete bacteria.  
벨리데이션된 PCR 방법(예, 조사 도구로 사용)을 활용하여 스피로헤타 세균을 신속하게 스크리닝하고 검출한다.
  - c. Consideration of special stain techniques or other means to identify the presence of *Leptospira* (Frank and Kohn 1973).  
*Leptospira*의 존재를 파악하기 위해 특수 염색 기법이나 기타 수단을 검토한다(Frank and Kohn 1973).
- (3) Use of conventional approaches. Firms should continue to properly employ basic, standard microbiology laboratory practices to detect contamination. For example, the laboratory should ensure that microscopic examination is part of its routine cell culture process control program, as it provides an important

means of detecting microbial contaminants that may not readily grow on conventional media.

기존 방법 활용. 기본적인 표준 미생물학 방법을 계속해서 적절하게 채택하여 오염 여부를 검사한다. 예를 들어 현미경 검사는 일반 배지에서 용이하게 자라지 않을 수 있는 오염 미생물을 검출하는 중요한 방법이므로, 세포 배양 공정 관리 프로그램의 한 부분으로 현미경 검사를 포함시킨다.

- (4) Implementing such quality risk-management measures into the initial design (i.e., preventive actions) and promptly implementing an appropriate corrective action plan in response to newly identified contamination sources, throughout the life cycle of the product.

품질 리스크 관리 대책을 초기 디자인에 반영하고(즉, 예방 조치), 제품 라이프사이클 동안 새로운 오염원이 파악되는 경우에는 적절한 시정 조치 계획을 즉시 추진한다.

### References:

- FDA Guidance for Industry, 2001, ICH Q7 Good Manufacturing Practice Guidance for Active Pharmaceutical Ingredients
- Chen, J, J Bergenvin, R Kiss, G Walker, T Battistoni, P Lufburrow, H Lam, and A Vinther, 2012, Case Study: A Novel Bacterial Contamination in Cell Culture Production—*Leptospira licerasiae*, PDA J Pharm Sci Technol, 66(6):580–591
- Faine, S (ed.), 1982, Guidelines for the Control of Leptospirosis, Geneva: World Health Organization
- Ricaldi, JN, DE Fouts, JD Selengut, DM Harkins, KP Patra, et al., 2012, Whole Genome Analysis of *Leptospira licerasiae* Provides Insight into Leptospiral Evolution and Pathogenicity, PLoS Negl Trop Dis, 6(10):e1853
- Matthias, MA, JN Ricaldi, M Cespedes, MM Diaz, RL Galloway, et al., 2008, Human Leptospirosis Caused by a New Antigenically Unique *Leptospira* Associated with a *Rattus* Species Reservoir in the Peruvian Amazon, PLoS Negl Trop Dis, 2(4):e213
- Bharti, AR, JE Nally, JN Ricaldi, MA Matthias, MM Diaz, et al., 2003, Leptospirosis: A Zoonotic Disease of Global Importance, Lancet Infect Dis, 3:757–771
- Ellinghausen, HC, and WG McCullough, 1965, Nutrition of *Leptospira pomona* and Growth of 13 Other Serotypes: Fractionation of Oleic Albumin Complex (OAC) and a Medium of Bovine Albumin and Polysorbate 80, Am J Vet, 26:45–51

## Questions and Answers on CGMP for Drugs

---

- Rule PI, and AD Alexander, 1986, Gellan Gum as a Substitute for Agar in Leptospiral Media, J Clin Microbiol, 23(3):500–504
- Frank S, and J Kohn, 1973, J Amer Med Technology, July–Aug

Date: 12/20/2012

gmpeye