

**Aseguramiento de la calidad de los resultados en ensayos de control de la vacuna Candid #1****Quality assurance of the results of quality control tests of Candid #1 vaccine**Julieta Chale<sup>1</sup>Alejandro Javier Bottale<sup>2</sup>Sebastián Fossa<sup>3</sup>Andrea Maiza<sup>4</sup>Laura Marisa Riera<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Pergamino "Ing. Agr. Walter Kugler". Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup>Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas "Dr. Julio I. Maiztegui" INEVH - ANLIS, Planta de producción de vacunas virales de uso humano, Departamento de Control y Aseguramiento de Calidad INEVH. Buenos Aires, Argentina.

<sup>3</sup>Departamento Control y Aseguramiento de Calidad, Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas "Dr. Julio I. Maiztegui" INEVH - ANLIS Farmacéutico. Buenos Aires, Argentina.

<sup>4</sup>Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas "Dr. Julio I. Maiztegui" INEVH - ANLIS. Buenos Aires, Argentina.

<sup>5</sup>Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires (UNNOBA), Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas "Dr. Julio I. Maiztegui" (INEVH), Departamento de Control y Aseguramiento de la Calidad. Buenos Aires, Argentina.

---

**RESUMEN**

**Introducción:** Candid #1 es una vacuna eficaz para prevenir la fiebre hemorrágica argentina (FHA). Se produce en las instalaciones habilitadas del Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas "Dr. Julio I. Maiztegui". Con la introducción de la vacuna, la incidencia de la FHA ha disminuido significativamente. Por poseer un reservorio

distinto al humano, no es posible su erradicación y resulta imprescindible sostener la vacunación en el área endémica.

**Objetivo:** Garantizar la calidad de los resultados de los ensayos de liberación por control de calidad, de la vacuna a virus vivo atenuado Candid #1, mediante el cumplimiento de los requisitos regulatorios establecidos en metodologías validadas o verificadas.

**Métodos:** Mediante la utilización de herramientas de calidad, se analizaron las variables que impactan sobre los resultados de los ensayos de liberación de la vacuna Candid #1.

**Resultados:** Se obtuvo la incertidumbre expandida (U) asociada a la expresión del resultado en los ensayos cuantitativos (potencia,  $U=0,32$ ; humedad residual,  $U=0,58$ ; osmolalidad,  $U=12,6$ ; pH,  $U=0,18$ ). En los ensayos cualitativos se realizaron revalidaciones y verificaciones.

**Conclusiones:** La incertidumbre se utilizará para establecer límites internos en los ensayos de liberación y para evaluar la consistencia de la producción. Los datos generados permiten establecer un material de referencia para consideración de la autoridad regulatoria nacional. Finalmente, el conocimiento exhaustivo de los parámetros de calidad que caracterizan a cada lote de vacuna aporta significativamente a garantizar su seguridad y eficacia.

**Palabras clave:** vacuna; validación; control de calidad de vacunas; incertidumbre.

---

## ABSTRACT

**Introduction:** Candid #1 is an effective vaccine to prevent Argentinian hemorrhagic fever (AHF). It is produced in specific facilities at the Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas "Dr. Julio I. Maiztegui". With the introduction of the vaccine, the incidence of AHF has decreased significantly. It is not possible to eradicate AHF because it has a reservoir outside the human being, for this reason it is essential to hold vaccination in the endemic area.

**Objective:** To guarantee the quality of the results of the quality control release tests of the Candid #1 live attenuated virus vaccine, by complying with the regulatory requirements through validated or verified methodologies.

**Methods:** The analysis of the parameters that plays a key role in the quality of Candid #1 for assays of batch release using quality tools.

**Results:** The expanded uncertainty (U) associated with the expression of the result in all the quantitative assays (Potency,  $U=0.32$ ; Residual moisture,  $U=0.58$ ; Osmolality,  $U=12.6$ ; pH,  $U=0.18$ ) was obtained. Revalidations and verifications were also done in the qualitative assays.

**Conclusion:** The calculated uncertainty will be used to set internal limits on release assays and to assess the consistency of production. Furthermore, the data generated in this study would allow having a potential reference material for consideration by the national regulatory authority. Finally, the in depth knowledge of the quality parameters properties of each batch of vaccine significantly contributes to ensuring the safety and efficacy of the product.

**Keywords:** vaccine, vaccine quality control, validation, uncertainty.

---

## INTRODUCCIÓN

La fiebre hemorrágica argentina (FHA) es una enfermedad endemoepidémica grave que emergió en la región pampeana a principios de la década del 50, cuyo agente etiológico es el virus Junín (JUNV), un virus ARN de la familia Arenaviridae.<sup>1-5</sup> El reservorio natural del JUNV es el roedor *Calomys musculinus*. La infección humana resulta del contacto directo o indirecto de un individuo susceptible con roedores infectados y/o sus excretas.<sup>6-9</sup>

El Ministerio de Salud de la Nación delegó en el actual Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas "Dr. Julio I. Maiztegui" (INEVH) el proyecto de producción nacional de la vacuna de virus Junín vivo atenuado Candid #1. A partir del 3 de enero de 2007, se incorporó al Programa Nacional de Inmunizaciones con carácter gratuito y obligatorio en poblaciones de riesgo.<sup>9,10</sup>

La calidad de las vacunas es evaluada por ensayos del producto terminado (PT) y los requisitos que deben cumplir son establecidos por la ANR.<sup>11</sup> La vacuna debe llegar a la población de una forma segura y efectiva, por este motivo se debe garantizar la calidad y trazabilidad de los lotes.<sup>12-16</sup> Es responsabilidad del productor buscar estrategias para estudiar y conocer las limitaciones de los ensayos para la liberación de la vacuna como PT, principalmente en los métodos que no se encuentran compendiados en la bibliografía, en los cuales se requiere un conocimiento exhaustivo del comportamiento y limitaciones según requisitos regulatorios, científicos y técnicos de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), de acuerdo a la Disposición 705/2005 en el marco de especialidades medicinales.<sup>17</sup>

El objetivo principal de este trabajo fue garantizar la calidad de los resultados de los ensayos de liberación por control de calidad, de la vacuna a virus vivo atenuado Candid #1, mediante el cumplimiento de los requisitos regulatorios establecidos en metodologías validadas o verificadas, para abastecer en forma segura la demanda de vacuna a la población.

## **MÉTODOS**

El estudio fue realizado en los laboratorios del Departamento Control y Aseguramiento de Calidad del INEVH de la República Argentina durante el período 2015 - 2016. Se analizaron los factores que contribuyen a la calidad de los resultados de los ensayos de liberación de la vacuna.

### **MATERIALES**

Vacuna Candid #1, Cepa Candid #1 de Virus Junín vivo atenuado, polvo liofilizado para diez dosis inyectables.

El virus de referencia (VR) se prepara en las instalaciones del Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas "Dr. Julio I. Maiztegui", a partir de vacuna liberada.

### **HERRAMIENTAS DE CALIDAD**

Mediante la utilización de herramientas de calidad, se identifican las categorías donde se deben aplicar acciones de mejora y se diseñan estas para las categorías seleccionadas como garantía de su implementación.

## **Lluvia de ideas**

Se utilizó para obtener diversas ideas a partir de la experiencia y conocimiento del equipo de trabajo de Control y Aseguramiento de Calidad.<sup>18</sup>

## **Diagrama de Ishikawa**

Fueron identificadas cinco categorías: Equipo-Máquina, Materia Prima-Materiales, Método-Validación-Incertidumbre, Personal y Ambiente.<sup>18,19</sup>

## **5W+2H**

Se categorizaron las causas en riesgo alto y riesgo bajo teniendo en cuenta las exigencias de la normativa vigente. Las causas de riesgo alto se analizaron con el método 5W+2H.<sup>20,21</sup>

## **ENSAYOS**

### **Potencia**

Ensayo biológico *in vitro*. Titulación del virus en células mediante formación de Unidades Formadoras de Placa (UFP) bajo agarosa.<sup>22-24</sup> El criterio de aceptación para Candid #1 es entre  $1 \times 10^4$  y  $9 \times 10^5$  UFP/ml.

### **Diseño del ensayo de validación**

Precisión y Sensibilidad

Precisión intermedia

Robustez. Se evaluó el ensayo de potencia en tres condiciones diferentes:

- Condición I: Hidratación de tres viales de PT con agua para inyectables (API): 5,0 ml, 5,5 ml y 6,0 ml. Como control se realizó la determinación del VR.
- Condición II: Se incubaron las muestras (VR) a 36 °C con distintas concentraciones de CO<sub>2</sub>: 2,5 %, 5,0 % y 7,5 %.
- Condición III: Se incubaron las muestras (VR) a una concentración del 5 % de CO<sub>2</sub> a distintas temperaturas: 34 °C, 36 °C y 38 °C.

### **Humedad Residual**

Se utilizó el método Karl Fischer.<sup>25,26</sup> El criterio de aceptación para vacunas liofilizadas es menor al 3 % de humedad.

#### *Diseño del ensayo de validación*

Precisión y Sensibilidad

Precisión intermedia

· Precisión intermedia: Influencia de la temperatura y la humedad relativa del ambiente.

### **Osmolalidad**

Se utilizó el método de depresión en el punto de congelamiento. El criterio de aceptación se encuentra en el rango 260 - 330 mOsm/Kg.

### *Diseño del ensayo de validación*

Precisión y Sensibilidad

Precisión intermedia

### **pH**

*Método Potenciométrico.*<sup>27,28</sup> El criterio de aceptación para Candid #1 está en el rango 6,50 - 7,50 unidades de pH.

### *Diseño del ensayo de validación*

Precisión y Exactitud

Precisión intermedia

Para todos los ensayos se realizó una evaluación estadística de la incertidumbre, basada en datos experimentales (Tipo A). Se calculó la incertidumbre expandida a partir del desvío estándar obtenido en el ensayo de precisión intermedia, asociada al resultado de la medición caracterizada por la dispersión de los valores que podrían ser razonablemente asignados al mensurado.

Fórmula para el cálculo de incertidumbre expandida:

$$U = k u(y)$$

Donde:

U (incertidumbre expandida),

u (desvío estándar),

k (factor de cobertura),

y (resultado obtenido de cada determinación).

## **RESULTADOS**

### DIAGRAMA DE ISHIKAWA

El diagrama de Ishikawa surgió de la lluvia de ideas realizada. Se identificaron cinco categorías: Equipo/ Máquina, Materia Prima/ Materiales, Método/ Validación/ Incertidumbre, Personal y Ambiente.

### 5W+2H

Las categorías de riesgo bajo se encontraron dentro de control, al cumplir con los estándares de calidad. La categoría Método/ Validación/ Incertidumbre se consideró para abordar en el plan de mejora para los métodos: potencia, humedad residual, pH y osmolalidad.

### ENSAYO DE POTENCIA

Los resultados obtenidos en UFP se transformaron logarítmicamente de modo de normalizar la variable y calcular los parámetros. (Tabla 1)

La sensibilidad demostró un comportamiento lineal ( $R^2 = 0,9496$ ).

Incertidumbre expandida (U) = 0,32.

**Tabla 1. Ensayo de potencia. Parámetros estadísticos**

Prueba	Precisión	Precisión intermedia	Robustez (Hidratación)	Robustez (CO2)	Robustez (Temperatura)
Promedio	4,5	4,3	4,2	4,4	4,3
SD	0,058	0,16	0,16	0,23	0,11
Promedio+SD	4,5	4,4	4,4	4,6	4,4
Promedio+2D	4,6	4,6	4,5	4,9	4,5
Promedio-SD	4,4	4,1	4,1	4,2	4,2
Promedio-2SD	4,4	4,0	3,9	3,9	4,1
CV	1,3	3,7	3,8	5,3	2,6
Varianza	0,0033	0,025	0,025	0,054	0,013

SD: Desvío estándar, CV: Coeficiente de variación.

#### HUMEDAD RESIDUAL

En la Tabla 2 se muestran los parámetros obtenidos.

Incertidumbre expandida (U) = 0,58

**Tabla 2. Determinación de humedad residual. Parámetros estadísticos**

Prueba	Precisión	Exactitud	Precisión intermedia (Producto Terminado)	Precisión intermedia (Patrón Primario) Temperatura 22,1- 23,1 °C Humedad relativa 35,6 - 58,9 %
Promedio	16	16	2,3	16
SD	0,34	0,38	0,29	0,52
Promedio+SD	16	16	2,6	16
Promedio+2D	16	17	2,9	17
Promedio-SD	15	15	2,0	15
Promedio-2SD	15	15	1,8	15
CV	2,2	2,4	12	3,2
Varianza	0,12	0,15	0,085	0,27

SD: Desvío estándar, CV: Coeficiente de variación.

#### ENSAYO DE OSMOLALIDAD

Los parámetros obtenidos se muestran en la Tabla 3.

Incertidumbre expandida (U)= 12,56.

**Tabla 3. Ensayo de Osmolalidad. Parámetros estadísticos**

Prueba	Precisión 100 mOsm/kg	Precisión 1500 mOsm/kg	Exactitud 100 mOsm/kg	Exactitud 1500 mOsm/kg	Precisión intermedia
Promedio	100	1483	100	1483	280
SD	1,25	14,61	1,25	14,61	6,28
Promedio+SD	102	1497	102	1497	286
Promedio+2D	103	1512	103	1512	292
Promedio-SD	99,0	1468	99,0	1468	274
Promedio-2SD	97,8	1453	97,8	1453	268
CV	1,25	0,9853	1,25	0,9853	2,24
Varianza	1,57	213,4	1,57	213,4	39,4

SD: Desvío estándar, CV: Coeficiente de variación.

#### ENSAYO DE PH

Los parámetros obtenidos se muestran en la Tabla 4.

Incertidumbre expandida (U)= 0,176.

**Tabla 4. Ensayo de pH. Parámetros estadísticos**

Prueba	Precisión	Exactitud	Precisión intermedia
Promedio	7,0	7,0	6,9
SD	0,018	0,018	0,088
Promedio+SD	7,0	7,0	7,0
Promedio+2D	7,1	7,1	7,1
Promedio-SD	7,0	7,0	6,8
Promedio-2SD	7,0	7,0	6,7
CV	0,26	0,26	1,3
Varianza	0,00034	0,00034	0,0077

SD: Desvío estándar, CV: Coeficiente de variación.

## DISCUSIÓN

Se analizaron los factores que contribuyen a la calidad en los resultados de los ensayos mediante la utilización de herramientas propias del sistema de gestión de la calidad, principalmente, el diagrama de Ishikawa. El estudio evidenció la necesidad de aplicar e implementar mejoras en la categoría "Método".

Con respecto al ensayo de potencia, se demostró que la metodología es robusta para las distintas condiciones de ensayo probadas, en las que se obtuvieron valores promedios que se encuentran +/- 1 SD del ensayo de precisión intermedia. El parámetro exactitud no pudo establecerse debido a que se carece de un material de referencia certificado y no se cuenta con laboratorios para la ejecución de ensayos de aptitud. El ensayo demostró ser sensible, en cuyo proceso se detectó virus hasta la mayor dilución probada del VR y donde se presentó además un comportamiento lineal.

Se calculó la incertidumbre expandida (U) asociada a la expresión del resultado utilizando VR. Al realizar los ensayos de liberación de lote, la potencia se determina por triplicado y se informa el valor promedio. El desvío estándar de las determinaciones se comparó con la U calculada. Por otra parte, en el límite inferior de la especificación  $1 \times 10^4$  UFP/ml (4 unidades logarítmicas), y donde se sabe que:

U para el ensayo de potencia es 0,32,

la potencia obtenida deberá ser mayor a  $2,1 \times 10^4$  UFP/ml ( $4 + 0,32 = 4,32$ ;  $\text{antilog}_{10} 4,32 = 2,09 \times 10^4$ ).

Durante la realización de la validación de esta metodología en el ensayo de humedad residual, se presentó la dificultad de que en el mercado no existe disponibilidad de un patrón con un contenido de agua similar al de la vacuna en una matriz semejante. Con la aplicación de t de Student, se determinó la exactitud de la metodología, al realizar la comparación entre el resultado promedio obtenido y el valor asignado al patrón ( $p > 0,05$ ). Se determinó la U de la metodología a partir de los resultados obtenidos del ensayo de precisión intermedia con PT, por ser el mayor aporte de variabilidad en la determinación. El ensayo incorpora la variabilidad dada por la utilización de distintos viales provenientes de distintas corridas de

lío-filización. Esta variabilidad está incorporada al cálculo de la incertidumbre. La especificación de la vacuna Candid #1 en su contenido de humedad residual es menor a 3 % por lo que, al considerar la U calculada, será deseable obtener valores menores a 2,42 % [(3-U) % = (3 - 0,58) % = 2,42 %].

Con respecto a la validación del ensayo de osmolalidad, se calculó el coeficiente de variación a partir de la prueba de precisión. Se determinó la exactitud de la metodología al comparar el resultado promedio obtenido con el calibrador de 100 mOsm/kg y el valor asignado mediante t de Student ( $p > 0,05$ ).

Se calculó la U asociada al resultado de la medición a partir del ensayo de precisión intermedia por ser el que aporta mayor variabilidad a la determinación. La vacuna Candid #1 debe poseer una osmolalidad entre (260 y 330) mOsm/kg, por lo que al considerar la U calculada (12,6), será deseable obtener valores mayores a [(260 + U) mOsm/kg = (260 + 12,6) mOsm/kg = 273 mOsm/kg] y menores a [(330 - U) mOsm/kg = (330 - 12,6) mOsm/kg = 317 mOsm/kg].

En el ensayo de validación de pH se calculó el coeficiente de variación de la prueba de precisión, siendo este ensayo el de mayor homogeneidad al compararlo con el resto de las metodologías. Se determinó la exactitud, con la aplicación de t de Student y luego de compararlo con el resultado promedio obtenido y el valor asignado a la solución de calibración de pH 7 ( $p > 0,05$ ).

La vacuna Candid #1 debe poseer un pH entre 6,5 y 7,5 por lo que, al considerar la U calculada, será deseable obtener valores mayores a (6,5 + U) = (6,5 + 0,18) = 6,7 y menores a (7,5 - U) = (7,5 - 0,18) = 7,3.

Si bien el cálculo de incertidumbre realizado en el presente trabajo no es requisito obligatorio, su conocimiento permite establecer límites internos en los ensayos de liberación de la vacuna y evaluar estadísticamente la consistencia de los lotes de producción.

En conclusión, se han incorporado mejoras vinculadas a los ensayos de liberación por control de calidad de la vacuna a virus vivo atenuado Candid #1 contra la fiebre hemorrágica argentina a través de estudios de validación y/o verificación, según requisitos regulatorios, científicos y técnicos de ANMAT, además de los requisitos de la OMS y el *Code of Federal Regulations* (CFR21). El conocimiento exhaustivo de los parámetros que caracterizan a la vacuna aporta significativamente a la garantía de su calidad y de ese modo al abastecimiento seguro a la población.

## **Conflicto de interés**

Los autores declaran que no presentan conflicto de interés.

## **REFERENCIAS**

1. Arribalzaga RA. Una nueva enfermedad epidémica a germen desconocido: Hipertermia nefrotóxica, leucopénica y enantémica. *Día Médico*. 1955;27:1204.

2. Pirotsky I, Zuccarini J, Molinelli E, Di Pietro A, Martini P, Ferreyra B, et al. Virosis Hemorrágica del noroeste bonaerense: Endemoepidémica, febril, exantemática y leucopénica. En: Pirotsky I. La primera inoculación experimental al hombre. Buenos Aires: Instituto Nacional de Microbiología; 1959.p. 743-4.
3. Parodi AS, Greenway DJ, Rugiero HR, Frigerio M, de La Barrera JM, Mettler N, et al. Sobre la etiología del brote epidémico de Junín. *Dia Med.* 4 sep 1958;30(62):2300-01.
4. Delgado S, Erickson BR, Agudo R, Blair PJ, Vallejo E, Albariño CG, et al. Chapare virus, a newly discovered arenavirus isolated from a fatal hemorrhagic fever case in Bolivia. *PLoS Pathog.* 2008 [cited 2017 May 22];4(4):e1000047. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000047>
5. Enria D, Garcia Franco S, Ambrosio A, Vallejos D, Levis S, Maiztegui J. Current status of the treatment of Argentine hemorrhagic fever. *Med Microbiol Immunol.* 1986;175:169-72.
6. Maiztegui JI, Sabattini MS. Extensión progresiva del área endémica de fiebre hemorrágica argentina. *Medicina (Buenos Aires).* 1977;37:62-166.
7. Enria DA, Briggiler AM, Feuillade MR. An overview of the epidemiological, ecological and preventive hallmarks of Argentine Hemorrhagic Fever (Junin virus). *Bull Inst Pasteur.* 1998;96:103-14.
8. Guerrero LB. Vacunas experimentales contra la fiebre hemorrágica argentina. *Medicina (Buenos Aires).* 1977;37:252-9.
9. Barrera Oro JG, Mc Kee KTJr. Hacia una vacuna contra la fiebre hemorrágica argentina. *Bol Of Sanit Panam.* 1992;112:296-305.
10. Resolución ANMAT 498/08, Normas Nacionales de Vacunación (2008).
11. Organización Panamericana de la Salud. Requisitos armonizados para el registro de vacunas en la Región de las Américas y Guía para la preparación de una solicitud de registro sanitario Red PARF; 2010. Documento Técnico No.: 1.
12. Farmacopea Argentina. 7a. ed. Buenos Aires: Ministerio de Salud de la Nación Argentina; 2013.
13. World Health Organization. Vaccine Supply and Quality Unit. Manual of laboratory methods for testing of vaccines used in the WHO Expanded Programme on Immunization. Geneva: World Health Organization; 1997 [cited 2017 May 22]. Available from: <http://www.who.int/iris/handle/10665/63576>
14. Disposición ANMAT 3827/18. Lineamientos generales de Buenas Prácticas de Fabricación para Elaboradores, Importadores/Exportadores de medicamentos. Buenos Aires: Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica; 2018.
15. Saavedra MC, Riera LM, Bottale AJ, Mariani MA, Maiza AS, Ambrosio AM. Estabilidad de la vacuna Candid#1 para prevenir la fiebre hemorrágica argentina. *Medicina (B. Aires).* Oct 2017 [citado 18 nov 2018];77(5):353-7. Disponible en: [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0025-76802017000500001&lng=es](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0025-76802017000500001&lng=es)

16. Chale J, Maiza AS, Gamboa GS, Riera LM. Immunobiological assay for determines identity of junin virus vaccine, Candid #1. Hyderabad, India: Research & Reviews; 2017 [cited 2018 Nov 18]. Available from: <http://www.rroj.com/open-access/standardization-of-immunobiological-assay-for-determines-identityof-junin-virus-vaccine-candid-1-.php?aid=86107>
17. Disposición ANMAT 705/2005. Requisitos para la inscripción de vacunas, Presentación de la documentación técnica, Establecimientos elaboradores, Información Preclínica-Clínica, Formularios. Buenos Aires: Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica; 2005.
18. Normas DGQ Deutsche Gesellschaft fur Qualitat. Gestión de la Calidad Enfocada en los Procesos II. Frankfurt; 2007.
19. Matus C. Estrategia y plan: Los supuestos básicos de la concepción interna de la planificación. México: Siglo XXI Editores; 1981.
20. Bose Tapan K. Total Quality of Management. New Delhi: Editorial Pearson; 2011.
21. Meireles M. Ferramentas Administrativas Para Identificar Observar y Analisar Problemas. São Paulo: Editora Arte & Ciencia; 2001.
22. JCGM Joint Committee for Guides in Metrology. GUM Guide to the expression of uncertainty in measurement. Paris: JCGM 100; 2008.
23. NIST. Guide to the SI, Appendix B, Conversion Factors, B.7.1 Rounding numbers. Gaithersburg: National Institute of Standards and Technology; 2009 [cited 2018 Nov 18]. Available from: <http://physics.nist.gov/Pubs/SP811/appenB.html>
24. Rhim JS. Growth of Junin virus, the etiological agent of argentinian hemorrhagic fever, in cell cultures. Archiv für die gesamte Virusforschung. 1967;21:243-52.
25. Farmacopea Argentina. Cap. 120: Determinación de agua. 7a. ed. Buenos Aires: Ministerio de Salud de la Nación Argentina; 2013. p.118-22.
26. Mettler Toledo. Manual de instrucciones Tituladores KF DL31/DL38. Switzerland: Mettler Toledo; 1998.
27. Ministerio de Salud de la Nación Argentina. Cap. 250: Determinación del pH. En: Farmacopea Argentina. 7a. ed. Buenos Aires: Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica; 2013. p.144-145.
28. Farmacopea de los Estados Unidos de América, USP 37 <791> pH. Baltimore: United States Pharmacopeia; 2014.

Recibido: 28 de noviembre de 2018.

Aprobado: 26 de enero de 2019.

*Alejandro Javier Bottale*

Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas "Dr. Julio I. Maiztegui" INEVH - ANLIS, Planta de producción de vacunas virales de uso humano, Departamento de Control y Aseguramiento de Calidad INEVH. Buenos Aires, Argentina.

Correo electrónico: [abottale@anlis.gov.ar](mailto:abottale@anlis.gov.ar)