



**INFORME DE LA REUNIÓN DEL GRUPO AD HOC
DE LA OIE SOBRE EL REEMPLAZO DEL PATRÓN INTERNACIONAL DE TUBERCULINA BOVINA
Y MODIFICACIÓN DEL CAPÍTULO 3.4.6 SOBRE TUBERCULOSIS BOVINA DEL *MANUAL TERRESTRE*¹
París, 5–7 de noviembre de 2019**

El Grupo *ad hoc* sobre el reemplazo del patrón internacional de tuberculina bovina (*International Standard Bovine Tuberculin* - ISBT) y la modificación del Capítulo 3.4.6 sobre tuberculosis bovina del *Manual Terrestre* [1] (en lo sucesivo el Grupo) se reunió en la sede la OIE del 5 al 7 de noviembre de 2019.

El Grupo se reunió para abordar la necesidad urgente de reemplazar el actual patrón internacional de tuberculina bovina (ISBT) y de establecer un patrón de referencia que pueda utilizarse en la calibración de derivados proteínicos purificados de la tuberculina y en el desarrollo y evaluación de pruebas de diagnóstico “de segunda generación” para la tuberculosis bovina.

La reunión de noviembre de 2019 fue la quinta de una serie de reuniones y teleconferencias del Grupo convocadas por la Comisión de Normas Biológicas (BSC), en las cuales se asignaron a los Grupos las tareas de planificar y coordinar un proyecto de evaluación de posibles patrones de sustitución del actual patrón internacional de tuberculina bovina (ISBT).

El actual patrón ISBT fue designado en 1986 por el Comité de Expertos en Estandarización Biológica de la OMS una vez finalizado con éxito un Estudio Colaborativo Internacional [1,2,3,4]. A día de hoy, se conserva en el National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC) del Reino Unido [4], desde donde se distribuye a las agencias reguladoras y a fabricantes de tuberculina, los cuales lo utilizan como patrón de referencia para la calibración de derivados proteínicos purificados de la tuberculina [1,5]. Pero en este momento, se ha agotado la reserva del patrón ISBT de referencia actual y debe reponerse. El proyecto de reemplazo de patrón ISBT implicó la evaluación y calibración de dos tuberculinas candidatas con respecto al patrón internacional actual.

Los principales objetivos del Grupo fueron revisar los resultados del proyecto de reemplazo del patrón ISBT actual [4] y debatir las posibles modificaciones del Capítulo 3.4.6 sobre la tuberculosis bovina del *Manual Terrestre* de la OIE [1]. Durante la reunión, el Grupo reunió la información disponible y preparó un primer informe preliminar sobre el proyecto de reemplazo del actual patrón ISBT, partiendo de la base de que tras la reunión se debería seguir trabajando a través de comunicaciones entre los miembros del Grupo mediante correo electrónico, teléfono y videoconferencias para (a) debatir los análisis estadísticos para el Estudio Colaborativo Internacional, (b) terminar las conclusiones y las recomendaciones relativas al proyecto de reemplazo del patrón ISBT y (c) poner en común las propuestas de modificación del Capítulo 3.4.6 sobre la tuberculosis bovina del *Manual Terrestre* de la OIE hacia mediados de enero de 2020 con vistas a presentarlas a la Comisión de Normas Biológicas (BSC) en febrero de 2020.

El objetivo de este informe final para la BSC es resumir los resultados, conclusiones y recomendaciones del proyecto de reemplazo del patrón ISBT (haciendo énfasis en los resultados que se recopilaron durante y después de la reunión de noviembre de 2019 del Grupo *ad hoc*). Así, este informe se basa en los datos que pudieron revisarse en la reunión, que se celebró del 5 al 7 de noviembre de 2019, y de otros datos y análisis estadísticos que se consiguieron hasta mediados de febrero de 2020.

1. Apertura y bienvenida

El Dr. Matthew Stone, Director general adjunto para Normas internacionales y ciencia, dio la bienvenida a los participantes en nombre de la Dra. Monique Éloit, Directora general de la OIE. Agradeció a los participantes por su disponibilidad para trabajar en el proyecto antes y durante la reunión del Grupo. Reconoció el excelente trabajo de los miembros del Grupo *ad hoc* inicial para el reemplazo del patrón ISBT en cuanto a desarrollo e implementación de los protocolos para la preparación y la validación de un nuevo Patrón internacional de

¹ Nota: el informe de este grupo *ad hoc* refleja las opiniones de sus integrantes y no necesariamente las de la OIE. Deberá leerse junto con el informe de febrero de 2020 de la Comisión de normas biológicas en el que se exponen el examen y los comentarios hechos por la Comisión sobre el presente informe: <http://www.oie.int/es/normas-internacionales/comisiones-especializadas-y-grupos/comision-cientifica-y-informes/reuniones/>

tuberculina bovina (ISBT-2), tareas que implicaron contactar con fabricantes para solicitar donaciones de posibles tuberculinas de referencia, el cribado y elección de tuberculinas candidatas, y la coordinación del posterior análisis de laboratorio de dos tuberculinas candidatas utilizándolas en cobayas y en bovinos. El objetivo fue evaluar y calibrar las tuberculinas candidatas comparándolas con el actual ISBT en una evaluación preliminar (EP) y en un Estudio Colaborativo Internacional (ICS).

El Dr. Stone recordó al Grupo la importancia de su compromiso y de sus tareas inminentes destinadas a a) revisar los resultados de los estudios de evaluación de la tuberculina, preparar un informe resumen para presentar a la Comisión de Normas Biológicas y la posterior comunicación de los resultados y las recomendaciones a los Países Miembros de la OIE, y b) preparar la propuesta de modificaciones del Capítulo 3.4.6 sobre la tuberculosis bovina del *Manual Terrestre* de la OIE para incluir la actualización de la información y de la guía relativa a las pruebas de diagnóstico y las vacunas para la tuberculosis bovina.

El Dr. Stone recordó que los Países Miembros de la OIE se basan en la prueba intradérmica para los programas de control y erradicación de la enfermedad en animales domésticos, así como para determinar si se cumplen las exigencias para el comercio internacional. Así pues, el ISBT sirve como patrón de referencia internacional esencial para la calibración de los patrones de referencia nacionales de los Países Miembros, así como para la estandarización de los reactivos de trabajo que los fabricantes de tuberculina utilizan para el control interno de calidad.

2. Designación del presidente y del redactor del informe

La reunión fue presidida por el Dr. Steven Edwards, y la redacción del informe se confió al Prof. Glyn Hewinson, con el apoyo de la Secretaría de la OIE.

3. Aprobación del orden del día

El Grupo aprobó el orden del día propuesto, que se centró en el proyecto de reemplazo del ISBT, el análisis e interpretación de los resultados, la determinación de las modificaciones exigidas y la preparación de un borrador de las actualizaciones del texto del capítulo sobre la tuberculosis bovina del *Manual Terrestre*.

4. Introducción

El Dr. Edwards agradeció a los miembros de los Grupos *ad hoc* actual y anterior por sus valiosas contribuciones. Destacó que el Grupo actual es el responsable de terminar el trabajo iniciado por un Grupo que se reunió en noviembre de 2015 para planificar los estudios y elaborar un borrador de los protocolos de análisis, y por dos Grupos posteriores que habían implementado dichos planes. También destacó que algunos miembros del Grupo actual proporcionan continuidad porque también participaron en los Grupos *ad hoc* previos, más tres nuevos miembros del Grupo que participaron en el ICS. Estos tres nuevos miembros del Grupo también contribuirán a los debates inminentes sobre posibles modificaciones del capítulo sobre la tuberculosis bovina del *Manual Terrestre*.

La [Lista de participantes](#), los [Términos de referencia](#) y el [Orden del día](#) relativos al Grupo se exponen en los Apéndices [I](#), [II](#) y [III](#), respectivamente.

5. Finalización del Proyecto de Reemplazo del Patrón Internacional de Tuberculina Bovina y Preparación del Borrador del Informe para la Comisión de Normas Biológicas.

El Dr. Glen Gifford resumió brevemente la historia y los objetivos del proyecto de reemplazo del ISBT y puso a los miembros al día respecto al estado actual de los estudios con animales y el análisis de los datos. Destacó que el trabajo empezó con un Grupo *ad hoc* que se reunió en [noviembre de 2015](#). Se programaron otras reuniones del Grupo *ad hoc* para mayo de 2017 (teleconferencia), [junio de 2017](#), diciembre de 2017 (teleconferencia) y noviembre de 2019 para planificar, implementar y analizar las distintas fases del proyecto. Cada uno de los informes archivados de las reuniones del Grupo *ad hoc* también pueden consultarse en línea, así como los apéndices de los [informes de las reuniones bianuales de la BSC](#) de la OIE o como [informes de las reuniones del Grupo ad hoc de la OIE](#).

El Dr. Gifford también revisó los procesos de validación y aprobación que se siguieron cuando se designó el primer ISBT, en 1986. En resumen, a petición del Comité de Expertos en Estandarización Biológica de la Organización Mundial de la Salud, se llevó a cabo un Estudio Colaborativo Internacional para calibrar un patrón de referencia del derivado proteínico purificado (PPD) de tuberculina bovina. Los estudios se llevaron a cabo en cobayas y en bovinos con una tuberculina candidata que había sido donada por el Centraal Diergeneskundig Instituut, en los Países Bajos [\[2\]](#). A partir de los resultados obtenidos en el Estudio Colaborativo, el Comité de Expertos en Estandarización Biológica de la OMS designó el patrón internacional propuesto como Patrón Internacional del Derivado Proteínico Purificado (PPD) de Tuberculina Bovina y definió la actividad de los contenidos de cada ampolla como 58 500 unidades internacionales de Derivado Proteínico Purificado (PPD) de Tuberculina Bovina [\[3\]](#).

En 1986, la OIE todavía no había desarrollado el concepto de Laboratorios de Referencia ni había designado patrones de referencia, de tal forma que la OMS cubrió esta laguna designando ciertos materiales de referencia para la veterinaria, algunos de los cuales siguen siendo gestionados por la OMS. Con el fortalecimiento de la OIE durante los últimos años, y debido a que la OMS se centra principalmente en las enfermedades humanas (incluidos los aspectos relacionados con el concepto Una Sola Salud), el Grupo *ad hoc* de noviembre de 2015 acordó que parecía apropiado que el nuevo Patrón Internacional de Tuberculina Bovina fuera evaluado y calibrado mediante un Estudio Colaborativo Internacional liderado por la OIE y guiado por un panel de expertos en estudios que podría constituirse con miembros del Grupo *ad hoc* de noviembre de 2015. Este enfoque recibió el respaldo del Dr. David Wood, representante de la OMS y que formó parte de este Grupo inicial.

Un Grupo *ad hoc* de la OIE de expertos en tuberculosis bovina, que trabajaba para la Comisión de Normas Biológicas (BSC) de la OIE, coordinó un proyecto para evaluar posibles sustitutos para el actual Patrón Internacional de Tuberculina Bovina (ISBT). Este patrón de referencia fue designado en 1986 y ahora se ha agotado. El proyecto implicó la evaluación y la calibración de dos tuberculinas candidatas respecto al patrón internacional actual.

En el proyecto de reemplazo del patrón ISBT intervinieron participantes de la Sede de la OIE; un Grupo *ad hoc* de expertos en tuberculosis bovina (bTB) de renombre internacional, incluidos científicos de los Laboratorios de Referencia de la OIE para la bTB de Francia, Argentina y el Reino Unido, quienes planificaron y coordinaron el proyecto; el National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC) del Reino Unido, que fue responsable de la producción de preparaciones liofilizadas candidatas empleando material a granel donado por los fabricantes, así como de la conservación y la distribución de las tuberculinas; y por último, científicos colaboradores de tres Laboratorios de Referencia de la OIE para la bTB y de otros 15 laboratorios e institutos de investigación nacionales, además de un fabricante, los cuales llevaron a cabo los análisis en los cobayas y los bovinos. Los colaboradores se encontraban en Argentina, Brasil, Canadá, Etiopía, Francia, India, Italia, República de Irlanda, Países Bajos, Nueva Zelanda, Rusia, Sudáfrica, España, Reino Unido (Inglaterra e Irlanda del Norte) y Estados Unidos.

La validación de las preparaciones candidatas se llevó a cabo en tres fases: (1) un cribado inicial para determinar las posibles tuberculinas candidatas a partir de un examen de la documentación de los fabricantes y de los resultados de las pruebas, (2) una Evaluación Preliminar (EP) que se llevó a cabo en dos Laboratorios de Referencia de la OIE para la tuberculosis bovina empleando un “llenado de prueba” pequeño que se probó en cobayas para determinar la potencia y la especificidad y (3) un Estudio Colaborativo Internacional (ICS) a mayor escala en el cual se probaron muestras procedentes de un “llenado final” mayor, el cual produjo unas existencias de aproximadamente 5000 viales de cada preparación candidata, en laboratorios que contaban con las instalaciones necesarias en cuanto a cuidado de los animales y biocontención, y con pericia para llevar a cabo pruebas de potencia y de especificidad en cobayas sensibilizados de forma experimental, o pruebas de “idoneidad para los fines previstos” en bovinos sensibilizados de forma experimental o bovinos “reactores” expuestos de manera natural.

Además de la evaluación preliminar de la potencia y la especificidad, la EP también incluyó una evaluación de una formulación estandarizada de *M. bovis* termoinactivado en aceite mineral como posible alternativa a *M. bovis* de la cepa AN5 vivo para la sensibilización de cobayas.

En los debates de los miembros del Grupo que tuvieron lugar durante y después de la reunión de noviembre de 2019, se decidió que en la reunión de la BSC de febrero de 2020, los resultados, las conclusiones y las recomendaciones se presentarían a la BSC. No obstante, más adelante, la BSC recibió los resultados de otros dos estudios de “idoneidad para los fines previstos” en bovinos infectados de forma experimental, los cuales se retrasaron temporalmente a la espera de tener acceso a instalaciones de biocontención, así como de estudios de periodo de validez/estabilidad en cobayas que están en curso y que no terminarán hasta la primavera de 2021. En consecuencia, estos otros datos de pruebas de “idoneidad para los fines previstos” en bovinos infectados de forma experimental, y de pruebas de periodo de validez/estabilidad en cobayas no llegarían a tiempo de ser incluidos en el informe que debe presentarse a la BSC en febrero de 2020. No obstante, en cuanto se disponga de estos datos adicionales, se añadirán al [Apéndice VI](#) y se pondrán a disposición a través de un manuscrito para publicarse en forma de artículo revisado por expertos.

Resultados, Conclusiones y Recomendaciones

El Grupo destacó que cuando se comparó el rendimiento de las preparaciones candidatas A y B con el del actual ISBT en cobayas sensibilizados con una formulación estandarizada de *M. bovis* termoinactivado en aceite mineral o *M. bovis* vivo, ambas presentaron características de rendimiento satisfactorias. Los resultados analíticos y los análisis estadísticos se muestran en las tablas resumen del [Apéndice VI](#).

El Grupo reconoció que las respuestas desencadenadas en los cobayas que habían sido sensibilizados con *M. bovis* termoinactivado en aceite mineral no serían del todo representativas de la gama de respuestas que se dan en bovinos “reactores” sensibilizados de forma natural o en cobayas infectados de forma experimental. No obstante, a la vista de los aspectos relativos a la bioseguridad en el laboratorio y al bienestar animal relacionados con el uso de *M. bovis* vivo para la sensibilización de cobayas, y con el fin de estandarizar al máximo las pruebas, al llevar a cabo pruebas de potencia, si es necesario utilizar animales para la calibración de tuberculinas, el Grupo consideró que sería ventajoso utilizar un reactivo de sensibilización inactivado estandarizado, como el reactivo que se evaluó en este estudio.

En estudios de “idoneidad para los fines previstos” que se llevaron a cabo en bovinos, ambas preparaciones candidatas también presentaron características de rendimiento satisfactorias tanto en bovinos infectados de forma experimental como en bovinos “reactores” sensibilizados de forma natural. En los estudios de “idoneidad para los fines previstos” realizados con bovinos hasta ahora, se ha observado que tanto la preparación candidata A como la B, administradas a la dosis recomendada, detectan de manera fiable a los bovinos “reactores” que han sido expuestos de forma experimental a *M. bovis*. Las reacciones al patrón ISBT y a las tuberculinas candidatas disminuyeron moderadamente cuando se expuso a los bovinos a 1:5 de la dosis recomendada, lo cual dio lugar a una mayor proporción de reacciones “sospechosas” y “negativas”.

Dado que se observó que ambas preparaciones candidatas rendían satisfactoriamente en comparación con el patrón ISBT en las pruebas con cobayas y en las de “idoneidad para los fines previstos” en bovinos, como se explica arriba, el Grupo llegó a la conclusión de que ambas podrían considerarse apropiadas para reemplazar al actual patrón ISBT. No obstante, dado que la preparación candidata B presentó características de rendimiento satisfactorias en todos los bioensayos y que su actividad biológica y sus propiedades fisicoquímicas son más parecidas a las del actual patrón ISBT, el Grupo consideró que la preparación candidata B debe ser la escogida para convertirse en el nuevo ISBT-2. Además, la preparación candidata B se formuló a una potencia mayor que la A, y la B mostró una actividad biológica proporcionalmente mayor que la A.

Por lo tanto, el Grupo recomendó que, a reserva de que sean satisfactorios los resultados de los dos estudios que quedan de “idoneidad para los fines previstos” en bovinos infectados de forma experimental y que terminarán en primavera de 2020, y los estudios de estabilidad /periodo de validez que están en curso y que terminarán en 2021, la preparación candidata B debería designarse, de forma provisional, como sustituta del patrón ISBT.

Aunque el Grupo recomienda que la preparación candidata B sea designada como futuro patrón de sustitución del ISBT, el Grupo también recomienda que la preparación candidata A se conserve como patrón de referencia alternativo que pueda utilizarse en caso de que en el futuro se agoten las reservas de la preparación B o de que esta no pueda utilizarse por algún motivo.

Dado que el actual patrón ISBT también presentó características de rendimiento satisfactorias en estos estudios, el Grupo recomienda que el actual patrón ISBT se conserve y se utilice a reserva de que sean satisfactorios los resultados de los estudios actuales de “idoneidad para los fines previstos” y los estudios de periodo de validez/estabilidad. Una vez estos estudios hayan terminado de forma satisfactoria, las existencias del actual patrón ISBT, que se encuentran en el NIBSC, deberán ser sustituidas por la preparación candidata B.

El Grupo propuso que, en caso de que las recomendaciones relativas al reemplazo del patrón ISBT cuenten con el apoyo de la BSC, en el informe que se envíe a los Delegados de la OIE en la 88ª Sesión General de la OIE podría presentarse un breve resumen y una perspectiva general de los resultados de los estudios de validación, con el fin de respaldar una *Resolución* que recomiende la aprobación condicional de un nuevo patrón ISBT y la designación del nuevo patrón ISBT mediante el voto por parte de los Delegados de la OIE en la 88ª Sesión General de la OIE, en mayo de 2020, a reserva de que sean satisfactorios los resultados de los estudios programados, de dos años de duración, sobre periodo de validez/estabilidad que terminarán en primavera de 2021.

Así pues, si las conclusiones y recomendaciones del Grupo cuentan con el apoyo de la BSC, a reserva de que los resultados de los estudios finales de “idoneidad para los fines previstos” y de periodo de validez/estabilidad sean satisfactorios, los cuales terminarán a finales de 2020 y en 2021, respectivamente, el nuevo ISBT-2 podría presentarse para ser designado oficialmente en la Sesión General de la OIE de mayo de 2021. A continuación, el nuevo ISBT-2 podría ponerse a disposición para su distribución a las agencias reguladoras nacionales y a los fabricantes de tuberculina, que lo utilizarían para la estandarización de los materiales de referencia a nivel nacional, así como para el control de calidad de las tuberculinas bovinas fabricadas con fines comerciales.

Financiación del proyecto y ayuda en especie

El Grupo reconoció el apoyo que el proyecto de reemplazo del patrón ISBT recibió de varias procedencias, como las generosas donaciones de tuberculinas candidatas por parte de fabricantes; las contribuciones en especie de los países participantes y de los laboratorios de análisis y del NIBSC, que se financiaron a través de los gobiernos respectivos, la Fundación Bill & Melinda Gates, y la Comisión Europea, así como créditos asignados a este fin por parte de la unidad del Fondo Mundial de la OIE y del Gobierno de Suiza.

6. Modificación del capítulo sobre la tuberculosis bovina del *Manual Terrestre*

Durante de la reunión de noviembre de 2019 y los debates de seguimiento entre los miembros del Grupo, el Grupo revisó el texto del capítulo actual y preparó un borrador de capítulo con propuestas de modificación centradas en los aspectos siguientes:

- a. Epidemiología
- b. Pruebas de diagnóstico y vacunas disponibles, e idoneidad para distintas finalidades.
- c. Guía para la fabricación y el control de calidad de las pruebas de diagnóstico y las vacunas para la tuberculosis bovina.
- d. Ampliación de la guía relativa a las pruebas de diagnóstico que deben utilizarse en camélidos y en ganado caprino.

Durante estos debates, se hizo evidente que ha habido un avance científico considerable en cuanto a los métodos de diagnóstico y a las vacunas desde que este capítulo se actualizó por última vez. Además de preparar las propuestas de modificación de los apartados anteriores, el Grupo recomendó que el título del capítulo pasara de “Tuberculosis bovina” a “Tuberculosis en los mamíferos”, y que pasara a formar parte del apartado “Múltiples especies” del *Manual Terrestre*. El Grupo también aconsejó que la BSC y el equipo editorial del *Manual Terrestre* de la OIE se plantearan incluir hipervínculos a vídeos de los procedimientos analíticos básicos en futuras versiones en línea de este capítulo del *Manual Terrestre*.

Se acordó que en febrero de 2020 se presentaría a la BSC un borrador de trabajo en el que se mostrarían las modificaciones propuestas para el capítulo sobre la tuberculosis bovina, con el fin de solicitar la revisión por parte de la BSC y la aprobación preliminar del texto propuesto. Una vez tenidos en cuenta los comentarios de la BSC y tras una edición posterior, antes de la reunión de septiembre de 2020 se presentaría a la BSC una versión final con las modificaciones propuestas. A continuación, el equipo editorial del *Manual Terrestre* de la OIE comprobaría el borrador del capítulo modificado para determinar si deberían aplicarse otras modificaciones y sería añadido al ciclo de revisión 2020/2021 a la espera de posibles comentarios de los Países Miembros, con vistas a que la Asamblea Mundial lo adoptara en mayo de 2021.

7. Bibliografía

- [1] World Organisation for Animal Health (OIE). *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals Chapter 3.4.6 Bovine Tuberculosis*. (version adopted in May 2009). (2018). Available online at: https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.04.06_BOVINE_TB.pdf
- [2] Proposed international standard for purified protein derivative (PPD) of bovine tuberculin. Central Veterinary Laboratory, Weybridge, United Kingdom. WHO/BS/86.1518. World Health Organization, Expert Committee on Biological Standardization, Geneva, 1-8 1986. https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/78132/WHO_BS_86.1518_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- [3] World Health Organization Technical Report Series 760. WHO Expert Committee on Biological Standardization. Thirty-seventh report. (1987). Available online at: [http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/39159/WHO_TRS_760_\(part1\).pdf;jsessionid=BEED81733CEF6F44EF158AC2B8DFBB42](http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/39159/WHO_TRS_760_(part1).pdf;jsessionid=BEED81733CEF6F44EF158AC2B8DFBB42)
- [4] Medicines & Healthcare products Regulatory Agency - National Institute for Biological Standards and Control (MHRA-NIBSC). Purified Protein Derivative (PPD) of *Mycobacterium bovis* Tuberculin (WHO 1st International Standard). Available online at: <https://www.nibsc.org/documents/ifu/PPDBOV.pdf>
- [5] *European Pharmacopoeia* 7.0 Tuberculin purified derivative, bovine. 01/2008:0536. pp 3161-3162.
- [6] Combistats, version 6.0 ©1999-2020. European Directorate for the Quality of Medicines & Healthcare (EDQM)/Council of Europe

- [7] *European Pharmacopoeia* 6.0 Chapter 5.3 Statistical analysis of results of biological assays and tests. 01/2008:50300 pp 572-600.
 - [8] Finney DJ. *Statistical Method in Biological Assay*, 3rd ed. London: Charles Griffin & Company Limited (1978).
 - [9] Laboratory assay methods for bovine tuberculin PPD (report of the Expert Group on Veterinary Sera and Vaccines of the European Pharmacopoeia Commission). *Dev Biol Stand.* 1986;58 (Pt B):607-16. (Abstract available online at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3301464>)
 - [10] Frankena K, Jacobs L, van Dijk T, Good M, Duignan A, de Jong MCM. A new model to calibrate a reference standard for bovine tuberculin Purified Protein Derivative in the target species. *Front Vet Sci.* (2018) 5:232. doi: 10.3389/fvets.2018.00232 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6178890/pdf/fvets-05-00232.pdf>
 - [11] Dobbelaer R, O'Reilly LM, Génicot M, Haagsma J. The potency of bovine PPD tuberculin in guinea-pigs and in tuberculous cattle. *J Biol Stand.* (1983) 11:213–20. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6885827>
 - [12] Duignan A, Kenny K, Bakker D, Good M. Tuberculin PPD Potency Assays in Naturally Infected Tuberculous Cattle as a Quality Control Measure in the Irish Bovine Tuberculosis Eradication Programme. *Front. Vet. Sci.*, 01 October 2019 | <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00328>
 - [13] World Health Organization (WHO), World Organisation for Animal Health (OIE) & Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) (2017). - Roadmap for Zoonotic Tuberculosis. https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Our_scientific_expertise/docs/pdf/Tuberculosis/Roadmap_zoonotic_TB.pdf
-

**INFORME DE LA REUNIÓN DEL GRUPO AD HOC DE LA OIE S
OBRE EL REEMPLAZO DEL PATRÓN INTERNACIONAL DE TUBERCULINA BOVINA
Y MODIFICACIÓN DEL CAPÍTULO 3.4.6 SOBRE TUBERCULOSIS BOVINA DEL MANUAL TERRESTRE
París, 5–7 de noviembre de 2019**

Lista de participantes

MIEMBROS

Dr. Steven Edwards
(*Presidente*)
c/o OIE 12 rue de Prony
75017 París
FRANCIA
Tel: (+33) 1 44.15.18.88
steve-oie@cabanass.waitrose.com

Dr. Bernardo Alonso
Dirección General de Laboratorios y Control
Técnico del Servicio Nacional de Sanidad y
Calidad, Agroalimentaria (SENASA)
Avda Talcahuano 1660, 1640 Martínez
Pcia de Buenos Aires, ARGENTINA
Tel: (+54) 11 48.746731
balonso@senasa.gov.ar

Prof. Vivek Kapur
The Pennsylvania State University
University Park, Pennsylvania, 16802
ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA
Tel (Oficina): (+1) 814.865.9788
vkapur@psu.edu

Dra. María Laura Boschioli
Anses, Unité Zoonoses Bactériennes
Laboratoire de santé animale
23 avenue du Général de Gaulle
94706 Maisons-Alfort Cedex, FRANCIA
Tel: (+33) 1 49 77 13 00
Maria-laura.boschioli@anses.fr

Dra. Lucía de Juan
Laboratorio de Referencia de la Unión
Europea para la Tuberculosis bovina, Centro
de Vigilancia Sanitaria Veterinaria VISAVET,
Universidad Complutense Madrid, Avda.
Puerta de Hierro s/n, 28040 Madrid,
ESPAÑA
Tel: (+34) 91 3944033
dejuan@visavet.ucm.es

Dr. Premanshu Dandapat
Indian Council of Agricultural Research -
Indian Veterinary Research Institute (ICAR-
IVRI), Eastern Regional Station
37, Belgachia Road, Kolkata, PIN 700037,
West Bengal, INDIA
pdandapat@gmail.com

Prof. Glyn Hewinson
Aberystwyth University
IBERS, Penglais, Aberystwyth Ceredigion
SY23 3DA
REINO UNIDO
Tel: (+44) 1970 621559
glh14@aber.ac.uk

Dr. Solomon Gebredufe
(*invitado pero no pudo asistir, participó por
consulta electrónica*)
National Animal Health Diagnostic and
Investigation Center (NAHDIC), Ministry of
Livestock and Agriculture
P.O. Box 4
Sebeta
ETIOPÍA
Tel (Oficina): (+251) 113 384 134
gebredufe@yahoo.com

REPRESENTANTE DE LA COMISIÓN DE NORMAS BIOLÓGICAS

Dr. John Pasick
Formerly Canadian Food Inspection Agency,
National Centre for Foreign Animal Disease,
1015 Arlington Street, Winnipeg, Manitoba
R3E 3M4 CANADÁ
Tel: (+1) 519 7384511
jmpasick55@gmail.com

SEDE DE LA OIE

Dr. Matthew Stone
Director general adjunto
Normas internacionales y ciencia, OIE 12
rue de Prony
75017 París, FRANCIA
Tel.: (+33) 1 44151888
m.stone@oie.int

Dr. Gregorio Torres
Jefe del Departamento Científico
g.torres@oie.int

Dr. Antonino Caminiti
Comisionado, Departamento Científico
a.caminiti@oie.int

Dr. Glen Gifford
Comisionado, Departamento de
Antibioresistencia y productos veterinarios
g.gifford@oie.int

Sra. Sara Linnane
Redactora científica, Manuales de la OIE y
Gestión de la Red de Centros de Referencia
de la OIE
Departamento Científico
s.linnane@oie.int

Apéndice II

**INFORME DE LA REUNIÓN DEL GRUPO AD HOC DE LA OIE S
OBRE EL REEMPLAZO DEL PATRÓN INTERNACIONAL DE TUBERCULINA BOVINA
Y MODIFICACIÓN DEL CAPÍTULO 3.4.6 SOBRE TUBERCULOSIS BOVINA DEL MANUAL TERRESTRE
París, 5–7 de noviembre de 2019**

Términos de referencia

1. Finalizar el proyecto y preparar un borrador del informe.
 2. Revisar el texto actual del Capítulo 3.4.6 sobre la tuberculosis bovina del *Manual Terrestre* de la OIE y preparar un borrador actualizado. Las modificaciones aportarían información actualizada relativa a los siguientes aspectos, incluida una guía en cuanto a las pruebas de diagnóstico para camélidos y ganado caprino (una petición específica de la BSC):
 - a) Epidemiología
 - b) Pruebas de diagnóstico y vacunas disponibles, e idoneidad para distintas finalidades.
 - c) Guía para la fabricación y el control de calidad de las pruebas de diagnóstico y las vacunas para la tuberculosis bovina.
 - d) Ampliación de la guía relativa a las pruebas de diagnóstico que deben utilizarse en camélidos y en ganado caprino.
-

**INFORME DE LA REUNIÓN DEL GRUPO AD HOC DE LA OIE S
OBRE EL REEMPLAZO DEL PATRÓN INTERNACIONAL DE TUBERCULINA BOVINA
Y MODIFICACIÓN DEL CAPÍTULO 3.4.6 SOBRE TUBERCULOSIS BOVINA DEL MANUAL TERRESTRE
París, 5–7 de noviembre de 2019**

Orden del día

1. Designación del presidente y del redactor del informe.
 2. Aprobación del orden del día.
 3. Finalizar el proyecto de reemplazo del ISBT y preparar un borrador del informe para la Comisión de Normas Biológicas.
 4. Preparar un borrador de la versión modificada del Capítulo 3.4.6 sobre la tuberculosis bovina del *Manual de las pruebas de diagnóstico y de las vacunas para los animales terrestres*.
 5. Otros posibles asuntos.
 6. Aprobación del informe.
-

Apéndice IV

Materiales y Preparaciones de Tuberculina Candidatas

El derivado proteínico purificado (PPD) de tuberculina bovina a granel procedió de varios fabricantes². Los fabricantes formularon el material recibido a baja concentración y es estable si se conserva a 2° – 8°C. La información referente al material a granel que proporcionan los fabricantes es la siguiente:

	Preparación candidata A	Preparación candidata B
Fecha de fabricación	30 de noviembre de 2017	12 de junio de 2017
Aspecto	Solución acuosa de color amarillo claro	Solución acuosa de color amarillo claro
Volumen recibido	~ 7 litros (10 botellas)	12 litros (1 botellas)
Solución amortiguadora	PBS	Glucosa-fosfato
Contenido en fenol	0%	0,04% p/vol.
Concentración proteica	1,37 mg/ ml	1,0 mg/ ml
Concentración estimada	23 108 IU/ ml	34 630 IU/ ml
pH	6,89	7,0

Se llevaron a cabo llenados de prueba/ensayo con ambas preparaciones candidatas para determinar el proceso/condiciones de liofilización óptimos para la formulación específica de cada preparación candidata. Antes del proceso de liofilización no se utilizó ningún tampón, espesante ni estabilizador. Los llenados definitivos del material candidato se llevaron a cabo en agosto de 2018 en la Standards Processing Division del NIBSC. El líquido a granel de cada preparación candidata se removió de forma constante durante el llenado para asegurar la homogeneidad del llenado, y la temperatura se mantuvo a 4° – 8 °C; se utilizaron ampollas de cristal transparente de 5 ml. El liofilizado se llevó a cabo en condiciones controladas de limpieza (en cabina de flujo laminar) aunque no puede garantizarse que el material procesado sea estéril.

Los productos terminados se codificaron como 18/148 (Preparación candidata A) y 18/150 (Preparación candidata B) y se conservaron en condiciones de oscuridad y a -20 °C. Se liofilizaron unas cinco mil ampollas generando un único lote para cada preparación candidata. A continuación, se indican algunos de los parámetros básicos de las ampollas de llenado definitivo.

	Preparación candidata A	Preparación candidata B
Fecha de llenado definitivo	24 de agosto de 2018	30 de agosto de 2018
Número de ampollas llenadas	4471	5706
Aspecto	Torta blanca	Torta blanca
Masa de llenado media (g)	2,0143	2,0174
Peso seco medio (g)	0,0213	0,0639
Humedad residual media (%)	1,39	5,09
Media de oxígeno en el espacio de cabeza (%)	0,17	0,27

Las ampollas tienen una masa de llenado real media de 2,0 g por ampolla, y el CV objetivo de la precisión del llenado respecto a la masa de llenado es < 0,25% (de un mínimo de 150 ampollas que se pesaron y que fueron escogidas aleatoriamente). Se utilizó nitrógeno para rellenar la cámara del liofilizador al final del ciclo, logrando así el espacio de cabeza de la ampolla. Se certifica que la pureza del nitrógeno evaporado fue del 99,99%. Se llevó a cabo una evaluación microbiológica del producto antes y después del procesado, y los recuentos de bacterias, hongos y levaduras fueron indetectables tanto antes como después del llenado. Habitualmente, el NIBSC no comprueba de forma automatizada la integridad del recipiente en el 100% de las ampollas tras el cierre. Se realizan comprobaciones visuales de la calidad del cierre y de la integridad del recipiente en general en el momento del cierre, durante el etiquetado y de nuevo en el momento de escoger el material que está listo para enviar a los clientes. El NIBSC actuará como custodio de la preparación, que se conservará bajo garantía de control de la temperatura en el Institute's Centre for Biological Reference Materials, en Potters Bar, Hertfordshire, Reino Unido.

² Las tuberculinas candidatas que fueron escogidas para las pruebas de laboratorio y la validación fueron donadas por dos fabricantes comerciales: CZ Veterinaria (Porrino, España) y Thermo Fisher Scientific (Lissieu, Francia). Las tuberculinas candidatas se codificaron como preparación candidata A y preparación candidata B durante la prueba y el análisis de los datos. Los científicos colaboradores que participaron en las pruebas de laboratorio desconocían la identidad de los proveedores.

Protocol

Protocol for the Evaluation and Adoption of a Replacement International Standard Bovine Tuberculin

**Test Results and Statistical Analyses:
Preliminary Evaluation and International Collaborative Study**

Preliminary Evaluation (PE) Tabulated Results.

Table PE 1. Preliminary Evaluation, Guinea Pig Testing: Sensitising Reagents and Adjuvants

Table PE 2. Preliminary Evaluation, Guinea Pig Testing: Lyophilisation

International Collaborative Study (ICS) Tabulated Results

Table ICS 1b. International Collaborative Study (ICS) Guinea Pig Potency Test Results: Average Induration Response Following Sensitisation with a Standardised formulation of Heat-Inactivated *M. bovis* in Mineral Oil

Table ICS 2. ICS Guinea Pig Test Results – Induration Response Following Sensitisation with Live *M. bovis*

Table ICS 3. Cattle ‘Fitness for Purpose’ Testing: Tuberculin Reactions in Experimentally Infected Cattle

Table ICS 4. Cattle ‘Fitness for Purpose’ Testing: Tuberculin Reactions in Naturally Sensitised ‘Reactor’ Cattle

Statistical Analysis and Potency Estimates for Candidates A and B.

Table S1. Potency estimates for Candidate A: Heat-inactivated *M. bovis* in mineral oil sensitisation

Table S2. Potency estimates for Candidate B: Heat-inactivated *M. bovis* in mineral oil sensitisation

Table S3. Potency estimates for Candidate A: Live *M. bovis* sensitisation

Table S4. Potency estimates for Candidate B: Live *M. bovis* sensitisation

Table ICS 1b. International Collaborative Study (ICS) Guinea Pig Potency Test Results: Average Induration Responses Following Sensitisation with a Heat-Inactivated *M. bovis* in Mineral Oil

ICS Table 1b.		International Collaborative Study: Guinea Pig Potency Test Results - Induration Response							
Lab	Average Induration Diameter (mm) at each Dilution: ISBT (R) and Candidate A (CA) *								
	ISBT				Candidate A				
	1:20	1:100	1:500	1:2500	1:20	1:100	1:500	1:2500	
	R1	R2	R3	R4	CA1	CA2	CA3	CA4	
A (P1)	19.5	15.9	12.9	9.3	18.7	14.7	11.2	7.7	
B (P2)	20.4	16.9	14.9	12.2	17.7	14.7	12.0	9.1	
C (P4)	17.6	15.7	13.8	11.3	16.6	14.3	12.1	9.9	
D (P5)	17.8	15.3	13.4	11.1	16.0	14.5	12.0	8.7	
E (P10)	16.2	14.3	12.6	9.3	14.6	12.9	11.4	6.7	
F (P11)	19.4	15.4	12.1	8.1	17.5	14.0	9.9	5.9	
G (P13)	19.7	15.7	11.5	5.5	19.3	15.5	11.6	6.0	
H (P16)	17.1	15.0	12.1	9.5	14.8	12.4	9.6	6.1	
I (P17)	16.3	14.0	11.2	8.5	15.4	12.5	9.9	8.0	
J (P18)	17.9	16.0	14.2	11.9	17.3	15.0	12.5	9.6	
AVG	18.2	15.4	12.9	9.7	16.8	14.1	11.2	7.8	
STDEV	1.5	0.8	1.2	2.0	1.6	1.1	1.0	1.5	
SE	0.5	0.3	0.4	0.6	0.5	0.3	0.3	0.5	

AVG + SE	18.7	15.7	13.2	10.3	17.3	14.4	11.6	8.3
AVG	18.2	15.4	12.9	9.7	16.8	14.1	11.2	7.8
AVG - SE	17.7	15.2	12.5	9.0	16.3	13.7	10.9	7.3

Lab	Average Induration Diameter (mm) at each Dilution: ISBT (R) and Candidate B (CB) *							
	ISBT				Candidate B			
	1:20	1:100	1:500	1:2500	1:20	1:100	1:500	1:2500
	R1	R2	R3	R4	CB1	CB2	CB3	CB4
A (P1)	19.4	15.9	12.5	9.4	19.2	15.5	12.4	8.7
B (P2)	19.5	16.9	14.2	11.7	18.7	16.2	13.6	10.6
C (P4)	18.5	15.7	14.0	10.8	17.2	15.3	12.5	9.5
D (P5)	17.4	15.3	13.2	9.9	17.0	15.0	12.6	9.5
E (P10)	16.8	14.3	12.6	9.8	15.9	13.9	12.1	8.6
F (P11)	19.3	15.4	11.7	7.9	18.2	15.1	12.1	7.7
G (P13)	19.2	15.7	12.1	7.6	18.8	15.9	11.4	6.3
H (P16)	16.1	15.0	12.3	9.7	15.3	13.7	9.9	5.8
I (P17)	16.2	14.0	11.5	8.6	16.2	13.6	11.6	9.0
J (P18)	18.0	16.0	14.5	12.3	17.6	15.6	13.7	11.1
AVG	18.0	15.4	12.9	9.8	17.4	15.0	12.2	8.7
STDEV	1.3	0.8	1.1	1.5	1.3	0.9	1.1	1.7
SE	0.4	0.3	0.3	0.5	0.4	0.3	0.3	0.5

AVG + SE	18.4	15.7	13.2	10.3	17.8	15.3	12.5	9.2
AVG	18.0	15.4	12.9	9.8	17.4	15.0	12.2	8.7
AVG - SE	17.6	15.2	12.5	9.3	17.0	14.7	11.8	8.1

* Based on average of results from three studies at each site site to compare candidate A and candidate B versus ISBT.

Note: In these 'heat-map' tables included in this report, the intensity of the colour noted in each cell is proportional to the diameter of the induration response, on a graduated scale from dark red to white. Darker shades indicate larger induration diameters.

Table ICS 2. Guinea Pig Test Results – Induration Response Following Sensitisation with Live *M. bovis*

ICS Table 2.		Guinea pig assay with live <i>M. bovis</i> sensitisation P4							
Experiment 1A	Induration Diameter (mm) at each Dilution for ISBT (R), Candidate A (CA), and Candidate B (CB)								
		1:20	1:100	1:500	1:2500	1:20	1:100	1:500	1:2500
P4	R1	R2	R3	R4	CA1	CA2	CA3	CA4	
Animal A1	15.2	16.2	14.1	12.2	15.2	14.4	13.6	10.0	
Animal A2	16.3	13.9	14.7	13.3	15.2	15.7	14.5	13.2	
Animal A3	15.6	14.9	11.3	11.2	16.5	15.4	10.6	9.8	
Animal A4	15.1	13.4	11.6	12.4	15.3	15.3	13.6	9.1	
Animal A5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
Animal A6	16.6	12.2	11.3	10.9	16.1	14.7	12.8	11.2	
Animal A7	16.4	14.2	8.2	9.7	15.6	13.9	10.1	8.7	
Animal A8	14.2	13.7	13.3	10.0	12.7	12.0	10.4	8.1	
Experiment 1B	Induration diameter (mm)								
P4	R1	R2	R3	R4	CB1	CB2	CB3	CB4	
Animal B1	18.7	17.1	14.2	13.6	15.1	17.1	15.3	17.4	
Animal B2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
Animal B3	18.1	11.7	11.6	10.5	13.5	12.4	10.8	10.6	
Animal B4	16.3	14.0	12.7	12.2	15.8	14.7	10.4	10.0	
Animal B5	16.5	14.4	14.7	14.3	16.9	17.1	17.2	13.0	
Animal B6	16.1	11.4	11.1	11.0	14.8	14.5	14.1	13.0	
Animal B7	16.1	14.3	12.5	9.4	15.9	14.4	12.5	9.6	
Animal B8	16.1	15.2	14.6	9.4	13.9	11.5	13.4	13.3	
Experiment 2A	Induration diameter (mm)								
P4	R1	R2	R3	R4	CA1	CA2	CA3	CA4	
Animal A1	17.6	14.5	13.8	12.7	15.1	13.6	14.0	8.8	
Animal A2	12.6	18.5	16.6	11.2	13.3	13.4	14.3	14.4	
Animal A3	15.4	11.5	12.1	11.0	16.0	12.9	9.9	9.3	
Animal A4	13.8	12.6	10.7	12.3	11.8	11.2	10.2	9.6	
Animal A5	14.8	15.7	13.4	13.0	14.0	12.4	12.4	8.7	
Animal A6	14.9	15.8	15.0	14.9	14.6	13.7	12.3	11.3	
Animal A7	13.8	12.1	13.5	9.0	14.2	11.5	12.6	9.8	
Animal A8	14.9	14.3	12.9	10.2	15.2	11.9	11.0	13.6	
Experiment 2B	Induration diameter (mm)								
P4	R1	R2	R3	R4	CB1	CB2	CB3	CB4	
Animal B1	15.4	13.7	13.4	14.2	13.6	12.9	10.8	7.9	
Animal B2	16.8	14.1	11.5	9.8	13.5	11.6	9.3	7.1	
Animal B3	14.2	14.0	13.5	11.4	14.8	12.6	11.1	9.6	
Animal B4	15.7	14.9	12.6	8.4	12.9	11.9	8.7	6.9	
Animal B5	16.5	16.0	15.2	13.4	16.6	15.4	14.6	12.8	
Animal B6	18.5	14.7	13.4	11.1	15.5	12.4	10.7	9.0	
Animal B7	19.2	17.8	16.6	13.8	16.2	13.5	11.8	15.2	
Animal B8	17.2	15.2	13.5	11.1	ND	14.1	12.5	10.9	
Experiment 3A	Induration diameter (mm)								
P4	R1	R2	R3	R4	CA1	CA2	CA3	CA4	
Animal A1	14.1	13.3	13.4	11.9	11.7	12.1	10.5	10.3	
Animal A2	13.8	16.0	14.0	14.5	15.7	15.5	13.8	12.7	
Animal A3	16.9	17.6	15.2	14.3	16.9	16.1	12.1	12.8	
Animal A4	14.7	14.4	14.7	12.2	14.2	13.8	12.2	11.2	
Animal A5	15.0	15.8	13.5	13.6	15.5	14.5	13.8	12.8	
Animal A6	17.8	12.0	13.0	13.2	14.5	13.2	14.2	13.2	
Animal A7	13.5	11.8	10.2	9.3	15.6	14.1	10.1	10.4	
Animal A8	15.9	13.9	12.8	11.2	16.4	14.2	13.9	11.7	
Experiment 3B	Induration diameter (mm)								
P4	R1	R2	R3	R4	CB1	CB2	CB3	CB4	
Animal B1	16.3	16.4	13.9	12.7	17.3	16.3	15.3	12.6	
Animal B2	15.7	15.2	14.9	14.0	17.4	15.5	14.1	13.5	
Animal B3	17.7	14.0	13.3	13.6	16.4	14.7	13.0	10.7	
Animal B4	17.5	16.7	15.2	11.4	17.6	17.3	14.6	11.0	
Animal B5	15.8	16.7	15.7	14.7	16.9	16.8	15.5	14.3	
Animal B6	18.4	16.9	15.3	13.3	16.0	15.5	15.4	15.1	
Animal B7	17.7	15.4	12.6	10.0	15.5	11.8	13.7	9.2	
Animal B8	15.4	16.7	14.4	13.9	19.2	14.3	14.6	12.0	
Candidate A vs ISBT	Induration Diameter								
	P4	R				CA			
	1:20	1:100	1:500	1:2500	1:20	1:100	1:500	1:2500	
AVG	15.2	14.3	13.0	11.9	14.8	13.7	12.3	10.9	
STDEV	1.3	1.9	1.9	1.7	1.4	1.4	1.6	1.9	
SE	0.3	0.4	0.4	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4	
Relative Reaction Diameter (%) at Each Dilution (Candidate A vs ISBT)					97.9%	95.9%	94.5%	91.4%	
Candidate B vs ISBT	Induration Diameter								
	P4	R				CB			
	1:20	1:100	1:500	1:2500	1:20	1:100	1:500	1:2500	
AVG	16.8	15.1	13.8	12.1	15.7	14.3	13.0	11.5	
STDEV	1.3	1.6	1.4	1.9	1.6	1.9	2.2	2.7	
SE	0.3	0.3	0.3	0.4	0.3	0.4	0.5	0.6	
Relative Reaction Diameter (%) at Each Dilution (Candidate B vs ISBT)					93.5%	94.8%	94.6%	95.5%	

Table ICS 2. Guinea Pig Test Results – Induration Response Following Sensitisation with Live *M. bovis*

ICS Table 2.		Guinea pig assay with live <i>M. bovis</i> sensitisation P4							
Experiment 1A	Induration Diameter (mm) at each Dilution for ISBT (R), Candidate A (CA), and Candidate B (CB)								
	1:20	1:100	1:500	1:2500	1:20	1:100	1:500	1:2500	
P4	R1	R2	R3	R4	CA1	CA2	CA3	CA4	
Animal A1	15.2	16.2	14.1	12.2	15.2	14.4	13.6	10.0	
Animal A2	16.3	13.9	14.7	13.3	15.2	15.7	14.5	13.2	
Animal A3	15.6	14.9	11.3	11.2	16.5	15.4	10.6	9.8	
Animal A4	15.1	13.4	11.6	12.4	15.3	15.3	13.6	9.1	
Animal A5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
Animal A6	16.6	12.2	11.3	10.9	16.1	14.7	12.8	11.2	
Animal A7	16.4	14.2	8.2	9.7	15.6	13.9	10.1	8.7	
Animal A8	14.2	13.7	13.3	10.0	12.7	12.0	10.4	8.1	
Experiment 1B	Induration diameter (mm)								
	P4	R1	R2	R3	R4	CB1	CB2	CB3	CB4
Animal B1	18.7	17.1	14.2	13.6	15.1	17.1	15.3	17.4	
Animal B2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
Animal B3	18.1	11.7	11.6	10.5	13.5	12.4	10.8	10.6	
Animal B4	16.3	14.0	12.7	12.2	15.8	14.7	10.4	10.0	
Animal B5	16.5	14.4	14.7	14.3	16.9	17.1	17.2	13.0	
Animal B6	16.1	11.4	11.1	11.0	14.8	14.5	14.1	13.0	
Animal B7	16.1	14.3	12.5	9.4	15.9	14.4	12.5	9.6	
Animal B8	16.1	15.2	14.6	9.4	13.9	11.5	13.4	13.3	
Experiment 2A	Induration diameter (mm)								
	P4	R1	R2	R3	R4	CA1	CA2	CA3	CA4
Animal A1	17.6	14.5	13.8	12.7	15.1	13.6	14.0	8.8	
Animal A2	12.6	18.5	16.6	11.2	13.3	13.4	14.3	14.4	
Animal A3	15.4	11.5	12.1	11.0	16.0	12.9	9.9	9.3	
Animal A4	13.8	12.6	10.7	12.3	11.8	11.2	10.2	9.6	
Animal A5	14.8	15.7	13.4	13.0	14.0	12.4	12.4	8.7	
Animal A6	14.9	15.8	15.0	14.9	14.6	13.7	12.3	11.3	
Animal A7	13.8	12.1	13.5	9.0	14.2	11.5	12.6	9.8	
Animal A8	14.9	14.3	12.9	10.2	15.2	11.9	11.0	13.6	
Experiment 2B	Induration diameter (mm)								
	P4	R1	R2	R3	R4	CB1	CB2	CB3	CB4
Animal B1	15.4	13.7	13.4	14.2	13.6	12.9	10.8	7.9	
Animal B2	16.8	14.1	11.5	9.8	13.5	11.6	9.3	7.1	
Animal B3	14.2	14.0	13.5	11.4	14.8	12.6	11.1	9.6	
Animal B4	15.7	14.9	12.6	8.4	12.9	11.9	8.7	6.9	
Animal B5	16.5	16.0	15.2	13.4	16.6	15.4	14.6	12.8	
Animal B6	18.5	14.7	13.4	11.1	15.5	12.4	10.7	9.0	
Animal B7	19.2	17.8	16.6	13.8	16.2	13.5	11.8	15.2	
Animal B8	17.2	15.2	13.5	11.1	ND	14.1	12.5	10.9	
Experiment 3A	Induration diameter (mm)								
	P4	R1	R2	R3	R4	CA1	CA2	CA3	CA4
Animal A1	14.1	13.3	13.4	11.9	11.7	12.1	10.5	10.3	
Animal A2	13.8	16.0	14.0	14.5	15.7	15.5	13.8	12.7	
Animal A3	16.9	17.6	15.2	14.3	16.9	16.1	12.1	12.8	
Animal A4	14.7	14.4	14.7	12.2	14.2	13.8	12.2	11.2	
Animal A5	15.0	15.8	13.5	13.6	15.5	14.5	13.8	12.8	
Animal A6	17.8	12.0	13.0	13.2	14.5	13.2	14.2	13.2	
Animal A7	13.5	11.8	10.2	9.3	15.6	14.1	10.1	10.4	
Animal A8	15.9	13.9	12.8	11.2	16.4	14.2	13.9	11.7	
Experiment 3B	Induration diameter (mm)								
	P4	R1	R2	R3	R4	CB1	CB2	CB3	CB4
Animal B1	16.3	16.4	13.9	12.7	17.3	16.3	15.3	12.6	
Animal B2	15.7	15.2	14.9	14.0	17.4	15.5	14.1	13.5	
Animal B3	17.7	14.0	13.3	13.6	16.4	14.7	13.0	10.7	
Animal B4	17.5	16.7	15.2	11.4	17.6	17.3	14.6	11.0	
Animal B5	15.8	16.7	15.7	14.7	16.9	16.8	15.5	14.3	
Animal B6	18.4	16.9	15.3	13.3	16.0	15.5	15.4	15.1	
Animal B7	17.7	15.4	12.6	10.0	15.5	11.8	13.7	9.2	
Animal B8	15.4	16.7	14.4	13.9	19.2	14.3	14.6	12.0	
Candidate A vs ISBT	Induration Diameter								
	P4	R				CA			
	1:20	1:100	1:500	1:2500	1:20	1:100	1:500	1:2500	
AVG	15.2	14.3	13.0	11.9	14.8	13.7	12.3	10.9	
STDEV	1.3	1.9	1.9	1.7	1.4	1.4	1.6	1.9	
SE	0.3	0.4	0.4	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4	
Relative Reaction Diameter (%) at Each Dilution (Candidate A vs ISBT)					97.9%	95.9%	94.5%	91.4%	
Candidate B vs ISBT	Induration Diameter								
	P4	R				CB			
	1:20	1:100	1:500	1:2500	1:20	1:100	1:500	1:2500	
AVG	16.8	15.1	13.8	12.1	15.7	14.3	13.0	11.5	
STDEV	1.3	1.6	1.4	1.9	1.6	1.9	2.2	2.7	
SE	0.3	0.3	0.3	0.4	0.3	0.4	0.5	0.6	
Relative Reaction Diameter (%) at Each Dilution (Candidate B vs ISBT)					93.5%	94.8%	94.6%	95.5%	

ICS Table 2.		Guinea pig assay with live <i>M. bovis</i> sensitisation P18							
Experiment 1A	Induration Diameter (mm) at each Dilution for ISBT (R), Candidate A (CA), and Candidate B (CB)								
	1:20	1:100	1:500	1:2500	1:20	1:100	1:500	1:2500	
P18	R1	R2	R3	R4	CA1	CA2	CA3	CA4	
Animal A1	15.8	16.0	15.3	12.9	15.3	12.4	11.6	11.5	
Animal A2	16.0	16.0	14.7	13.1	15.7	14.7	12.6	11.6	
Animal A3	16.6	15.3	13.5	13.1	16.0	14.5	14.3	11.6	
Animal A4	18.0	15.9	13.2	13.2	16.9	15.3	14.5	12.9	
Animal A5	18.0	16.5	15.1	13.2	15.2	13.7	12.8	12.4	
Animal A6	19.9	17.6	15.7	15.5	14.2	14.4	13.8	13.1	
Animal A7	16.9	14.8	12.4	11.2	16.0	13.5	11.1	9.0	
Animal A8	17.0	15.6	14.1	12.2	17.8	15.6	13.6	13.7	
Experiment 1B	Induration diameter (mm)								
	P18	R1	R2	R3	R4	CB1	CB2	CB3	CB4
Animal B1	17.9	16.1	15.3	14.3	17.5	16.2	14.6	13.3	
Animal B2	17.1	16.4	14.6	12.7	17.8	15.2	13.3	11.4	
Animal B3	16.5	14.9	14.2	13.4	16.6	13.7	14.5	13.2	
Animal B4	16.3	14.5	12.7	11.4	16.0	13.8	12.5	12.0	
Animal B5	17.6	15.4	13.6	12.6	16.7	14.3	12.6	11.4	
Animal B6	17.1	15.5	14.1	13.0	17.0	16.1	14.9	13.8	
Animal B7	15.6	14.8	14.7	13.7	16.2	13.2	12.3	10.5	
Animal B8	16.8	16.3	14.9	13.0	17.1	15.1	14.2	11.0	
Experiment 2A	Induration diameter (mm)								
	P18	R1	R2	R3	R4	CA1	CA2	CA3	CA4
Animal A1	17.9	15.3	14.3	12.6	17.6	15.0	14.4	11.7	
Animal A2	16.0	13.6	12.2	10.9	15.5	14.7	13.7	11.5	
Animal A3	16.2	13.7	12.0	11.2	15.3	12.8	12.8	10.8	
Animal A4	16.9	14.7	13.2	12.8	16.1	14.4	12.8	11.3	
Animal A5	17.2	15.6	13.9	12.7	16.4	15.1	13.6	11.6	
Animal A6	16.9	15.9	14.3	12.4	15.9	14.2	13.0	10.7	
Animal A7	17.2	15.8	15.0	13.8	16.4	13.6	13.4	11.4	
Animal A8	16.6	14.3	12.6	9.7	17.2	15.7	13.7	12.4	
Experiment 2B	Induration diameter (mm)								
	P18	R1	R2	R3	R4	CB1	CB2	CB3	CB4
Animal B1	17.8	15.9	13.9	12.8	16.0	14.2	12.4	10.8	
Animal B2	17.1	15.4	14.4	13.2	17.2	15.2	13.4	13.1	
Animal B3	17.3	14.9	14.6	13.9	16.8	14.8	13.9	12.6	
Animal B4	16.6	14.9	12.9	11.1	16.6	15.4	12.7	10.2	
Animal B5	18.0	16.9	14.5	12.2	17.2	16.2	14.9	13.1	
Animal B6	17.8	16.4	15.4	12.5	16.0	15.6	15.0	14.2	
Animal B7	17.3	15.2	15.3	13.8	16.3	14.6	13.5	12.9	
Animal B8	17.4	16.5	14.9	14.9	17.4	15.7	14.6	13.3	
Experiment 3A	Induration diameter (mm)								
	P18	R1	R2	R3	R4	CA1	CA2	CA3	CA4
Animal A1	16.2	15.5	14.4	12.6	16.4	15.3	13.1	11.6	
Animal A2	15.5	14.5	13.4	13.1	15.3	15.0	13.9	11.8	
Animal A3	15.7	14.8	14.0	12.3	16.2	14.3	13.5	12.2	
Animal A4	16.8	15.3	13.6	12.6	16.3	14.9	13.1	12.2	
Animal A5	17.3	15.2	13.5	11.7	16.0	14.8	14.0	12.9	
Animal A6	16.2	15.7	13.9	12.6	15.9	15.2	14.8	13.8	
Animal A7	16.5	15.3	13.8	12.5	16.2	14.9	13.6	12.2	
Animal A8	17.5	16.2	13.8	12.4	17.1	14.9	12.6	11.3	
Experiment 3B	Induration diameter (mm)								
	P18	R1	R2	R3	R4	CB1	CB2	CB3	CB4
Animal B1	17.3	16.3	14.9	13.3	18.9	16.6	14.7	12.9	
Animal B2	17.8	15.4	14.6	13.2	17.2	15.2	14.3	13.0	
Animal B3	17.2	14.8	14.0	13.1	17.4	16.1	14.2	12.4	
Animal B4	17.7	16.3	14.6	13.3	16.8	15.3	14.1	13.3	
Animal B5	17.6	16.2	14.6	13.9	17.5	15.6	14.0	12.8	
Animal B6	17.5	15.9	14.9	13.5	17.5	15.7	14.9	13.9	
Animal B7	16.9	15.5	17.0	15.1	17.3	13.6	13.7	12.6	
Animal B8	17.5	15.8	13.8	13.8	16.6	14.9	13.4	12.8	
Candidate A vs ISBT	Induration Diameter								
	P18	R				CA			
	1:20	1:100	1:500	1:2500	1:20	1:100	1:500	1:2500	
	R1	R2	R3	R4	CA1	CA2	CA3	CA4	
AVG	16.9	15.4	13.8	12.5	16.1	14.5	13.3	11.9	
STDEV	1.0	0.9	1.0	1.1	0.8	0.8	0.9	1.0	
SE	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	
Relative Reaction Diameter (%) at Each Dilution (Candidate A vs ISBT)					95.4%	94.5%	96.4%	94.9%	
Candidate B vs ISBT	Induration Diameter								
	P18	R				CB			
	1:20	1:100	1:500	1:2500	1:20	1:100	1:500	1:2500	
	R1	R2	R3	R4	CB1	CB2	CB3	CB4	
AVG	17.2	15.7	14.5	13.2	17.0	15.1	13.9	12.5	
STDEV	0.6	0.7	0.9	0.9	0.7	0.9	0.9	1.1	
SE	0.1	0.1	0.2	0.2	0.1	0.2	0.2	0.2	
Relative Reaction Diameter (%) at Each Dilution (Candidate B vs ISBT)					98.6%	96.3%	95.5%	94.6%	

ICS Table 2.		Guinea pig assay with live <i>M. bovis</i> sensitisation P18							
Experiment 1A	Induration Diameter (mm) at each Dilution for ISBT (R), Candidate A (CA), and Candidate B (CB)								
	1:20	1:100	1:500	1:2500	1:20	1:100	1:500	1:2500	
P18	R1	R2	R3	R4	CA1	CA2	CA3	CA4	
Animal A1	15.8	16.0	15.3	12.9	15.3	12.4	11.6	11.5	
Animal A2	16.0	16.0	14.7	13.1	15.7	14.7	12.6	11.6	
Animal A3	16.6	15.3	13.5	13.1	16.0	14.5	14.3	11.6	
Animal A4	18.0	15.9	13.2	13.2	16.9	15.3	14.5	12.9	
Animal A5	18.0	16.5	15.1	13.2	15.2	13.7	12.8	12.4	
Animal A6	19.9	17.6	15.7	15.5	14.2	14.4	13.8	13.1	
Animal A7	16.9	14.8	12.4	11.2	16.0	13.5	11.1	9.0	
Animal A8	17.0	15.6	14.1	12.2	17.8	15.6	13.6	13.7	
Experiment 1B	Induration diameter (mm)								
P18	R1	R2	R3	R4	CA1	CA2	CA3	CA4	
Animal B1	17.9	16.1	15.3	14.3	17.5	16.2	14.6	13.3	
Animal B2	17.1	16.4	14.6	12.7	17.8	15.2	13.3	11.4	
Animal B3	16.5	14.9	14.2	13.4	16.6	13.7	14.5	13.2	
Animal B4	16.3	14.5	12.7	11.4	16.0	13.8	12.5	12.0	
Animal B5	17.6	15.4	13.6	12.6	16.7	14.3	12.6	11.4	
Animal B6	17.1	15.5	14.1	13.0	17.0	16.1	14.9	13.8	
Animal B7	15.6	14.8	14.7	13.7	16.2	13.2	12.3	10.5	
Animal B8	16.8	16.3	14.9	13.0	17.1	15.1	14.2	11.0	
Experiment 2A	Induration diameter (mm)								
P18	R1	R2	R3	R4	CA1	CA2	CA3	CA4	
Animal A1	17.9	15.3	14.3	12.6	17.6	15.0	14.4	11.7	
Animal A2	16.0	13.6	12.2	10.9	15.5	14.7	13.7	11.5	
Animal A3	16.2	13.7	12.0	11.2	15.3	12.8	12.8	10.8	
Animal A4	16.9	14.7	13.2	12.8	16.1	14.4	12.8	11.3	
Animal A5	17.2	15.6	13.9	12.7	16.4	15.1	13.6	11.6	
Animal A6	16.9	15.9	14.3	12.4	15.9	14.2	13.0	10.7	
Animal A7	17.2	15.8	15.0	13.8	16.4	13.6	13.4	11.4	
Animal A8	16.6	14.3	12.6	9.7	17.2	15.7	13.7	12.4	
Experiment 2B	Induration diameter (mm)								
P18	R1	R2	R3	R4	CA1	CA2	CA3	CA4	
Animal B1	17.8	15.9	13.9	12.8	16.0	14.2	12.4	10.8	
Animal B2	17.1	15.4	14.4	13.2	17.2	15.2	13.4	13.1	
Animal B3	17.3	14.9	14.6	13.9	16.8	14.8	13.9	12.6	
Animal B4	16.6	14.9	12.9	11.1	16.6	15.4	12.7	10.2	
Animal B5	18.0	16.9	14.5	12.2	17.2	16.2	14.9	13.1	
Animal B6	17.8	16.4	15.4	12.5	16.0	15.6	15.0	14.2	
Animal B7	17.3	15.2	15.3	13.8	16.3	14.6	13.5	12.9	
Animal B8	17.4	16.5	14.9	14.9	17.4	15.7	14.6	13.3	
Experiment 3A	Induration diameter (mm)								
P18	R1	R2	R3	R4	CA1	CA2	CA3	CA4	
Animal A1	16.2	15.5	14.4	12.6	16.4	15.3	13.1	11.6	
Animal A2	15.5	14.5	13.4	13.1	15.3	15.0	13.9	11.8	
Animal A3	15.7	14.8	14.0	12.3	16.2	14.3	13.5	12.2	
Animal A4	16.8	15.3	13.6	12.6	16.3	14.9	13.1	12.2	
Animal A5	17.3	15.2	13.5	11.7	16.0	14.8	14.0	12.9	
Animal A6	16.2	15.7	13.9	12.6	15.9	15.2	14.8	13.8	
Animal A7	16.5	15.3	13.8	12.5	16.2	14.9	13.6	12.2	
Animal A8	17.5	16.2	13.8	12.4	17.1	14.9	12.6	11.3	
Experiment 3B	Induration diameter (mm)								
P18	R1	R2	R3	R4	CA1	CA2	CA3	CA4	
Animal B1	17.3	16.3	14.9	13.3	18.9	16.6	14.7	12.9	
Animal B2	17.8	15.4	14.6	13.2	17.2	15.2	14.3	13.0	
Animal B3	17.2	14.8	14.0	13.1	17.4	16.1	14.2	12.4	
Animal B4	17.7	16.3	14.6	13.3	16.8	15.3	14.1	13.3	
Animal B5	17.6	16.2	14.6	13.9	17.5	15.6	14.0	12.8	
Animal B6	17.5	15.9	14.9	13.5	17.5	15.7	14.9	13.9	
Animal B7	16.9	15.5	17.0	15.1	17.3	13.6	13.7	12.6	
Animal B8	17.5	15.8	13.8	13.8	16.6	14.9	13.4	12.8	
Candidate A vs ISBT	Induration Diameter								
P18	R				CA				
	1:20	1:100	1:500	1:2500	1:20	1:100	1:500	1:2500	
	R1	R2	R3	R4	CA1	CA2	CA3	CA4	
AVG	16.9	15.4	13.8	12.5	16.1	14.5	13.3	11.9	
STDEV	1.0	0.9	1.0	1.1	0.8	0.8	0.9	1.0	
SE	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	
Relative Reaction Diameter (%) at Each Dilution (Candidate A vs ISBT)					95.4%	94.5%	96.4%	94.9%	
Candidate B vs ISBT	Induration Diameter								
P18	R				CB				
	1:20	1:100	1:500	1:2500	1:20	1:100	1:500	1:2500	
	R1	R2	R3	R4	CB1	CB2	CB3	CB4	
AVG	17.2	15.7	14.5	13.2	17.0	15.1	13.9	12.5	
STDEV	0.6	0.7	0.9	0.9	0.7	0.9	0.9	1.1	
SE	0.1	0.1	0.2	0.2	0.1	0.2	0.2	0.2	
Relative Reaction Diameter (%) at Each Dilution (Candidate B vs ISBT)					98.6%	96.3%	95.5%	94.6%	

Table ICS 3. Tuberculin Reactions in Experimentally Infected Cattle

ICS Table 3.		Tuberculin Reactions in Experimentally Infected Cattle P6					
Experiment 1	Skin Thickness Increase (mm) at each Dilution: Undilute (1:1) or Diluted (1:5) for ISBT (R), Candidate A (CA), and Candidate B (CB)						
	R		CA		CB		
	1:1	1:5	1:1	1:5	1:1	1:5	
P6	R1	R2	CA1	CA2	CB1	CB2	
Animal 1	23.0	24.0	21.0	18.0	24.0	17.0	
Animal 2	12.0	9.0	11.0	14.0	10.0	4.0	
Animal 3	19.0	11.0	28.0	18.0	22.0	13.0	
Animal 4	11.0	10.0	19.0	12.0	11.0	12.0	
Animal 5	9.0	9.0	6.0	10.0	12.0	9.0	
Animal 6	24.0	23.0	30.0	18.0	17.0	15.0	
Animal 7	18.0	12.0	20.0	10.0	21.0	10.0	
AVG	16.6	14.0	19.3	14.3	16.7	11.4	
STDEV	6.0	6.6	8.6	3.7	5.8	4.3	
SE	2.3	2.5	3.2	1.4	2.2	1.6	

Experiment 2	Summary Data: Skin Thickness Increase (mm)					
	R		CA		CB	
	1:1	1:5	1:1	1:5	1:1	1:5
P6	R1	R2	CA1	CA2	CB1	CB2
Animal 1	19.0	22.0	21.0	12.0	14.0	11.0
Animal 2	34.0	18.0	21.0	12.0	34.0	20.0
Animal 3	8.0	8.0	11.0	7.0	9.0	10.0
Animal 4	13.0	10.0	14.0	10.0	9.0	4.0
Animal 5	16.0	10.0	13.0	11.0	16.0	12.0
Animal 6	8.0	10.0	10.0	6.0	15.0	13.0
AVG	16.3	13.0	15.0	9.7	16.2	11.7
STDEV	9.7	5.6	4.9	2.6	9.2	5.2
SE	4.0	2.3	2.0	1.1	3.8	2.1

Experiment 3	Summary Data: Skin Thickness Increase (mm)					
	R		CA		CB	
	1:1	1:5	1:1	1:5	1:1	1:5
P6	R1	R2	CA1	CA2	CB1	CB2
Animal 1	19.0	12.0	22.0	11.0	11.0	10.0
Animal 2	20.0	10.0	14.0	9.0	17.0	14.0
Animal 3	10.0	13.0	18.0	14.0	13.0	10.0
Animal 4	13.0	10.0	16.0	13.0	11.0	6.0
Animal 5	17.0	10.0	10.0	14.0	17.0	13.0
Animal 6	14.0	11.0	14.0	11.0	16.0	9.0
AVG	15.5	11.0	15.7	12.0	14.2	10.3
STDEV	3.8	1.3	4.1	2.0	2.9	2.9
SE	1.6	0.5	1.7	0.8	1.2	1.2

P6	Skin Thickness Increase (mm) at each Dilution: Undilute (1:1) or Diluted (1:5) for ISBT (R), Candidate A (CA), and Candidate B (CB)					
	R		CA		CB	
	1:1	1:5	1:1	1:5	1:1	1:5
	R1	R2	CA1	CA2	CB1	CB2
AVG (3 Expts)	16.2	12.7	16.8	12.1	15.7	11.2
STDEV	6.5	5.0	6.3	3.4	6.2	4.0
SE	1.6	1.2	1.5	0.8	1.5	1.0
Total 'Positive'	19	19	19	19	19	19
Total 'Suspect'	0	0	0	0	0	0
Total 'Negative'	0	0	0	0	0	0

'Positive' : 4.0 mm or more
'Suspect' : 2.0 - 3.9 mm
'Negative' : 0.0 - 1.9 mm

Table ICS 3. Tuberculin Reactions in Experimentally Infected Cattle

ICS Table 3.		Tuberculin Reactions in Experimentally Infected Cattle P14					
Experiment 1	Skin Thickness Increase (mm) at each Dilution: Undilute (1:1) or Diluted (1:5) for ISBT (R), Candidate A (CA), and Candidate B (CB)						
	R		CA		CB		
	1:1	1:5	1:1	1:5	1:1	1:5	
P14	R1	R2	CA1	CA2	CB1	CB2	
Animal 1	15.0	6.0	14.5	8.0	7.0	8.5	
Animal 2	12.5	6.5	14.0	10.5	8.0	5.0	
Animal 3	12.0	11.0	13.5	11.0	14.5	9.5	
Animal 4	10.5	9.0	14.0	12.0	11.0	7.0	
Animal 5	13.0	9.5	13.5	11.0	12.0	9.0	
Animal 6	15.5	9.5	10.0	8.5	12.5	6.0	
AVG	13.1	8.6	13.3	10.2	10.8	7.5	
STDEV	1.9	1.9	1.6	1.6	2.8	1.8	
SE	0.8	0.8	0.7	0.6	1.2	0.7	

Experiment 2	Summary Data: Skin Thickness Increase (mm)					
	R		CA		CB	
	1:1	1:5	1:1	1:5	1:1	1:5
P14	R1	R2	CA1	CA2	CB1	CB2
Animal 1	12.5	9.5	12.5	7.5	10.0	9.0
Animal 2	9.0	10.0	10.0	9.0	7.5	6.5
Animal 3	13.0	10.5	14.0	10.0	16.0	7.0
Animal 4	13.5	5.5	9.5	9.0	9.0	7.5
Animal 5	18.0	10.5	14.5	11.5	16.5	12.5
Animal 6	5.0	5.0	7.0	3.0	7.0	5.0
AVG	11.8	8.5	11.3	8.3	11.0	7.9
STDEV	4.4	2.5	2.9	2.9	4.2	2.6
SE	1.8	1.0	1.2	1.2	1.7	1.1

Experiment 3	Summary Data: Skin Thickness Increase (mm)					
	R		CA		CB	
	1:1	1:5	1:1	1:5	1:1	1:5
P14	R1	R2	CA1	CA2	CB1	CB2
Animal 1	16.0	11.0	16.0	11.5	13.0	11.0
Animal 2	14.5	10.5	17.0	9.0	14.5	11.0
Animal 3	10.0	8.0	13.5	11.5	11.5	7.0
Animal 4	8.0	6.0	7.5	6.0	7.0	5.0
Animal 5	8.0	4.5	6.0	6.0	8.0	6.0
Animal 6	10.0	9.5	11.0	7.5	10.5	9.0
AVG	11.1	8.3	11.8	8.6	10.8	8.2
STDEV	3.4	2.6	4.5	2.5	2.9	2.6
SE	1.4	1.1	1.8	1.0	1.2	1.0

P14	Skin Thickness Increase (mm) at each Dilution: Undilute (1:1) or Diluted (1:5) for ISBT (R), Candidate A (CA), and Candidate B (CB)					
	R		CA		CB	
	1:1	1:5	1:1	1:5	1:1	1:5
	R1	R2	CA1	CA2	CB1	CB2
AVG (3 Expts)	12.0	8.4	12.1	9.0	10.9	7.9
STDEV	3.3	2.2	3.2	2.4	3.2	2.2
SE	0.8	0.5	0.7	0.6	0.7	0.5
Total 'Positive'	18	18	18	17	18	18
Total 'Suspect'	0	0	0	1	0	0
Total 'Negative'	0	0	0	0	0	0

'Positive' : 4.0 mm or more
'Suspect' : 2.0 - 3.9 mm
'Negative' : 0.0 - 1.9 mm

Table ICS 4. Tuberculin Reactions in Naturally Sensitised 'Reactor' Cattle

ICS Table 4		Tuberculin Reactions in Naturally Sensitised 'Reactor' Cattle P2				
Experiment 1	Skin Thickness Increase (mm) at each Dilution: Undilute (1:1) or Diluted (1:5) for ISBT (R), Candidate A (CA), and Candidate B (CB)					
	R		CA		CB	
	1:1	1:5	1:1	1:5	1:1	1:5
P2	R1	R2	CA1	CA2	CB1	CB2
Animal 1	9.0	6.0	6.0	4.0	5.0	5.0
Animal 2	16.0	11.0	11.0	5.0	15.0	5.0
Animal 3	15.0	7.0	19.0	5.0	10.0	4.0
Animal 4	14.0	11.0	5.0	5.0	8.0	5.0
Animal 5	11.0	9.0	15.0	12.0	15.0	7.0
Animal 6	13.0	9.0	11.0	8.0	18.0	9.0
Animal 7	13.0	7.0	4.0	5.0	7.0	2.0
Animal 8	9.0	7.0	11.0	5.0	5.0	5.0
Animal 9	13.0	8.0	11.0	4.0	8.0	8.0
Animal 10	15.0	11.0	11.0	8.0	7.0	5.0
AVG	12.8	8.6	10.4	6.1	9.8	5.5
STDEV	2.4	1.9	4.6	2.5	4.6	2.0
SE	0.8	0.6	1.4	0.8	1.5	0.6

P2	Skin Thickness Increase (mm) at each Dilution: Undilute (1:1) or Diluted (1:5) for ISBT (R), Candidate A (CA), and Candidate B (CB)					
	R		CA		CB	
	1:1	1:5	1:1	1:5	1:1	1:5
	R1	R2	CA1	CA2	CB1	CB2
AVG (3 Expts)	12.8	8.6	10.4	6.1	9.8	5.5
STDEV	2.4	1.9	4.6	2.5	4.6	2.0
SE	0.8	0.6	1.4	0.8	1.5	0.6
Total 'Positive'	10	10	10	10	10	9
Total 'Suspect'	0	0	0	0	0	1
Total 'Negative'	0	0	0	0	0	0

'Positive' : 4.0 mm or more
'Suspect' : 2.0-3.9 mm
'Negative' : 0.0-1.9 mm

Table ICS 4. Tuberculin Reactions in Naturally Sensitised 'Reactor' Cattle

ICS Table 4		Tuberculin Reactions in Naturally Sensitised 'Reactor' Cattle P3							
Experiment 1	Skin Thickness Increase (mm) at each Dilution: Undilute (1:1) or Diluted (1:5) for ISBT (R), Candidate A (CA), and Candidate B (CB)								
	R		CA		CB				
	1:1	1:5	1:1	1:5	1:1	1:5			
P3	R1	R2	CA1	CA2	CB1	CB2			
Animal 1	2.8	2.2	2.3	2.4	3.3	2.4			
Animal 2	5.8	4.9	6.2	3.6	7.3	3.8			
Animal 3	5.4	3.8	4.6	2.8	5.0	3.1			
Animal 4	13.0	9.4	11.8	7.7	5.9	6.5			
Animal 5	3.0	4.2	4.6	4.7	5.9	4.7			
Animal 6	10.0	5.6	11.9	6.5	12.6	9.3			
AVG	6.7	5.0	6.9	4.6	6.7	5.0			
STDEV	4.0	2.4	4.0	2.1	3.2	2.6			
SE	1.7	1.0	1.6	0.9	1.3	1.0			
Experiment 2	Summary Data: Skin Thickness Increase (mm)								
	R		CA		CB				
	1:1	1:5	1:1	1:5	1:1	1:5			
P3	R1	R2	CA1	CA2	CB1	CB2			
Animal 1	4.4	3.0	3.4	4.1	5.7	3.1			
Animal 2	10.0	6.9	8.8	5.5	9.4	5.4			
Animal 3	10.1	9.6	11.8	7.0	9.6	9.0			
Animal 4	7.8	5.1	7.1	4.9	5.8	2.9			
Animal 5	9.6	8.7	11.8	6.5	10.7	7.8			
Animal 6	5.4	0.6	5.4	3.7	5.1	2.0			
AVG	7.9	5.7	8.1	5.3	7.7	5.0			
STDEV	2.5	3.4	3.4	1.3	2.4	2.9			
SE	1.0	1.4	1.4	0.5	1.0	1.2			
Experiment 3	Summary Data: Skin Thickness Increase (mm)								
	R		CA		CB				
	1:1	1:5	1:1	1:5	1:1	1:5			
P3	R1	R2	CA1	CA2	CB1	CB2			
Animal 1	7.0	3.2	7.4	6.4	7.0	5.9			
Animal 2	3.5	4.7	6.2	2.4	6.6	4.7			
Animal 3	5.8	1.2	2.1	2.1	4.0	1.8			
Animal 4	6.7	5.7	4.1	5.5	5.5	1.7			
Animal 5	4.7	5.6	7.7	2.6	6.1	3.3			
Animal 6	5.5	2.6	6.0	3.1	5.8	4.6			
AVG	5.5	3.8	5.6	3.7	5.8	3.7			
STDEV	1.3	1.8	2.1	1.8	1.0	1.7			
SE	0.5	0.7	0.9	0.7	0.4	0.7			
P3	Skin Thickness Increase (mm) at each Dilution: Undilute (1:1) or Diluted (1:5) for ISBT (R), Candidate A (CA), and Candidate B (CB)								
	R		CA		CB				
	1:1	1:5	1:1	1:5	1:1	1:5			
	R1	R2	CA1	CA2	CB1	CB2			
AVG (3 Expts)	6.7	4.8	6.8	4.5	6.7	4.6			
STDEV	3.0	2.5	3.3	1.9	2.0	2.2			
SE	0.7	0.6	0.8	0.4	0.6	0.6			
Total 'Positive'	15	11	15	10	17	9			
Total 'Suspect'	3	5	3	8	1	7			
Total 'Negative'	0	2	0	0	0	2			
<table border="1"> <tr> <td>'Positive' : 4.0 mm or more</td> </tr> <tr> <td>'Suspect' : 2.0-3.9 mm</td> </tr> <tr> <td>'Negative' : 0.0-1.9 mm</td> </tr> </table>							'Positive' : 4.0 mm or more	'Suspect' : 2.0-3.9 mm	'Negative' : 0.0-1.9 mm
'Positive' : 4.0 mm or more									
'Suspect' : 2.0-3.9 mm									
'Negative' : 0.0-1.9 mm									

Table ICS 4. Tuberculin Reactions in Naturally Sensitised 'Reactor' Cattle

ICS Table 4		Tuberculin Reactions in Naturally Sensitised 'Reactor' Cattle P8					
Experiment 1	Skin Thickness Increase (mm) at each Dilution: Undilute (1:1) or Diluted (1:5) for ISBT (R), Candidate A (CA), and Candidate B (CB)						
	R		CA		CB		
	1:1	1:5	1:1	1:5	1:1	1:5	
P8	R1	R2	CA1	CA2	CB1	CB2	
Animal 1	9.0	7.0	12.0	7.0	9.0	3.0	
Animal 2	8.0	5.0	10.0	4.0	4.0	3.0	
Animal 3	6.0	5.0	7.0	3.0	7.0	5.0	
Animal 4	5.0	4.0	7.0	5.0	5.0	4.0	
Animal 5	6.0	0.0	4.0	4.0	4.0	3.0	
Animal 6	7.0	5.0	6.0	3.0	8.0	5.0	
AVG	6.8	4.3	7.7	4.3	6.2	3.8	
STDEV	1.5	2.3	2.9	1.5	2.1	1.0	
SE	0.6	1.0	1.2	0.6	0.9	0.4	

Experiment 2	Summary Data: Skin Thickness Increase (mm)					
	R		CA		CB	
	1:1	1:5	1:1	1:5	1:1	1:5
P8	R1	R2	CA1	CA2	CB1	CB2
Animal 1	8.0	4.0	8.0	5.0	7.0	2.0
Animal 2	5.0	3.0	4.0	4.0	5.0	4.0
Animal 3	6.0	5.0	8.0	4.0	7.0	4.0
Animal 4	5.0	3.0	9.0	5.0	7.0	2.0
Animal 5	13.0	6.0	11.0	7.0	13.0	6.0
Animal 6	7.0	1.0	11.0	8.0	12.0	4.0
AVG	7.3	3.7	8.5	5.5	8.5	3.7
STDEV	3.0	1.8	2.6	1.6	3.2	1.5
SE	1.2	0.7	1.1	0.7	1.3	0.6

Experiment 3	Summary Data: Skin Thickness Increase (mm)					
	R		CA		CB	
	1:1	1:5	1:1	1:5	1:1	1:5
P8	R1	R2	CA1	CA2	CB1	CB2
Animal 1	8.0	4.0	15.0	7.0	5.0	4.0
Animal 2	7.0	4.0	5.0	7.0	5.0	5.0
Animal 3	7.0	4.0	14.0	7.0	12.0	8.0
Animal 4	19.0	12.0	22.0	12.0	19.0	16.0
Animal 5	4.0	3.0	5.0	2.0	5.0	2.0
Animal 6	15.0	10.0	16.0	12.0	15.0	10.0
AVG	10.0	6.2	12.8	7.8	10.2	7.5
STDEV	5.7	3.8	6.7	3.8	6.1	5.0
SE	2.3	1.6	2.7	1.5	2.5	2.1

P8	Skin Thickness Increase (mm) at each Dilution: Undilute (1:1) or Diluted (1:5) for ISBT (R), Candidate A (CA), and Candidate B (CB)					
	R		CA		CB	
	1:1	1:5	1:1	1:5	1:1	1:5
	R1	R2	CA1	CA2	CB1	CB2
AVG (3 Expts)	8.1	4.7	9.7	5.9	8.3	5.0
STDEV	3.8	2.6	4.9	2.4	4.2	3.5
SE	0.9	0.7	1.1	0.7	1.0	0.8
Total 'Positive'	18	13	18	15	18	12
Total 'Suspect'	0	3	0	3	0	6
Total 'Negative'	0	2	0	0	0	0

'Positive' : 4.0 mm or more
'Suspect' : 2.0-3.9 mm
'Negative' : 0.0-1.9 mm

Table ICS 4. Tuberculin Reactions in Naturally Sensitised 'Reactor' Cattle

ICS Table 4		Tuberculin Reactions in Naturally Sensitised 'Reactor' Cattle P9					
Experiment 1	Skin Thickness Increase (mm) at each Dilution: Undilute (1:1) or Diluted (1:5) for ISBT (R), Candidate A (CA), and Candidate B (CB)						
	R		CA		CB		
	1:1	1:5	1:1	1:5	1:1	1:5	
P9	R1	R2	CA1	CA2	CB1	CB2	
Animal 1	5.4	3.5	5.9	3.3	5.2	4.3	
Animal 2	11.9	7.2	9.5	7.2	9.9	6.5	
Animal 3	11.0	7.1	24.0	5.8	14.4	7.8	
Animal 4	4.1	4.1	5.0	3.2	8.2	4.7	
Animal 5	4.2	3.0	3.9	2.6	4.6	3.4	
Animal 6	8.0	2.8	7.2	5.6	6.2	5.7	
AVG	7.4	4.6	9.3	4.6	8.1	5.4	
STDEV	3.4	2.0	7.5	1.8	3.7	1.6	
SE	1.4	0.8	3.1	0.8	1.5	0.7	

Experiment 2	Summary Data: Skin Thickness Increase (mm)					
	R		CA		CB	
	1:1	1:5	1:1	1:5	1:1	1:5
P9	R1	R2	CA1	CA2	CB1	CB2
Animal 1	6.2	5.4	6.2	5.2	6.2	1.0
Animal 2	2.2	1.2	4.9	0.2	1.9	1.4
Animal 3	4.4	4.2	8.7	7.2	10.8	6.7
Animal 4	9.3	4.2	9.4	4.5	6.4	5.6
Animal 5	0.4	0.3	1.5	0.7	0.9	0.2
Animal 6	8.7	7.7	6.6	5.8	12.0	6.4
AVG	5.2	3.8	6.2	3.9	6.4	3.5
STDEV	3.5	2.7	2.8	2.8	4.5	3.0
SE	1.4	1.1	1.2	1.2	1.8	1.2

Experiment 3	Summary Data: Skin Thickness Increase (mm)					
	R		CA		CB	
	1:1	1:5	1:1	1:5	1:1	1:5
P9	R1	R2	CA1	CA2	CB1	CB2
Animal 1	6.0	3.9	5.6	4.6	4.9	4.3
Animal 2	7.9	7.8	6.9	5.0	9.9	5.5
Animal 3	9.6	8.5	11.5	4.0	8.3	8.1
Animal 4	13.3	12.7	10.9	6.6	7.9	8.8
Animal 5	4.5	2.1	3.7	3.1	3.7	2.8
Animal 6	6.6	6.0	9.5	6.9	8.1	5.2
AVG	8.0	6.8	8.0	5.0	7.1	5.8
STDEV	3.1	3.8	3.1	1.5	2.3	2.3
SE	1.3	1.5	1.3	0.6	1.0	0.9

P9	Skin Thickness Increase (mm) at each Dilution: Undilute (1:1) or Diluted (1:5) for ISBT (R), Candidate A (CA), and Candidate B (CB)					
	R		CA		CB	
	1:1	1:5	1:1	1:5	1:1	1:5
	R1	R2	CA1	CA2	CB1	CB2
AVG (3 Expts)	6.9	5.1	7.8	4.5	7.2	4.9
STDEV	3.7	3.2	5.3	2.1	3.6	2.6
SE	0.8	0.7	1.1	0.5	0.8	0.6
Total 'Positive'	16	11	15	11	15	13
Total 'Suspect'	1	5	2	5	1	2
Total 'Negative'	1	2	1	2	2	3

'Positive' : 4.0 mm or more
'Suspect' : 2.0-3.9 mm
'Negative' : 0.0-1.9 mm

Table ICS 4. Tuberculin Reactions in Naturally Sensitised 'Reactor' Cattle

ICS Table 4	Tuberculin Reactions in Naturally Sensitised 'Reactor' Cattle P13								
Experiment 1	Skin Thickness Increase (mm) at each Dilution: Undilute (1:1) or Diluted (1:5) for ISBT (R), Candidate A (CA), and Candidate B (CB)								
	R		CA		CB				
	1:1	1:5	1:1	1:5	1:1	1:5			
P13	R1	R2	CA1	CA2	CB1	CB2			
Animal 1	5.0	2.0	7.0	5.0	4.0	3.0			
Animal 2	4.0	3.0	4.0	3.0	5.0	1.0			
Animal 3	0.0	0.0	2.0	2.0	2.0	2.0			
Animal 4	3.0	0.0	2.0	0.0	3.0	2.0			
Animal 5	1.5	0.5	2.5	1.5	2.5	1.5			
Animal 6	1.0	0.0	1.0	0.0	2.0	0.0			
AVG	2.4	0.9	3.1	1.9	3.1	1.6			
STDEV	1.9	1.3	2.2	1.9	1.2	1.0			
SE	0.8	0.5	0.9	0.8	0.5	0.4			
Experiment 2	Summary Data: Skin Thickness Increase (mm)								
	R		CA		CB				
	1:1	1:5	1:1	1:5	1:1	1:5			
P13	R1	R2	CA1	CA2	CB1	CB2			
Animal 1	2.0	0.0	3.0	0.0	0.0	0.0			
Animal 2	4.0	2.0	3.0	2.0	5.0	2.0			
Animal 3	4.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0			
Animal 4	4.0	3.0	4.0	4.0	4.0	3.0			
Animal 5	2.5	1.5	1.5	1.0	2.5	2.0			
Animal 6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0			
AVG	2.8	1.6	2.4	1.7	2.4	1.7			
STDEV	1.6	1.4	1.4	1.6	2.1	1.4			
SE	0.7	0.6	0.6	0.7	0.8	0.6			
Experiment 3	Summary Data: Skin Thickness Increase (mm)								
	R		CA		CB				
	1:1	1:5	1:1	1:5	1:1	1:5			
P13	R1	R2	CA1	CA2	CB1	CB2			
Animal 1	4.0	2.0	3.0	2.0	3.0	2.0			
Animal 2	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0			
Animal 3	12.0	8.0	10.0	8.0	13.0	11.0			
Animal 4	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.5			
Animal 5	3.0	2.0	1.0	1.0	3.0	1.0			
Animal 6	6.0	5.0	7.0	7.0	6.0	0.0			
AVG	4.3	3.0	3.7	3.2	4.5	2.4			
STDEV	4.3	3.0	4.0	3.4	4.5	4.3			
SE	1.8	1.2	1.6	1.4	1.9	1.7			
P13	Skin Thickness Increase (mm) at each Dilution: Undilute (1:1) or Diluted (1:5) for ISBT (R), Candidate A (CA), and Candidate B (CB)								
	R		CA		CB				
	1:1	1:5	1:1	1:5	1:1	1:5			
	R1	R2	CA1	CA2	CB1	CB2			
AVG (3 Expts)	3.2	1.8	3.1	2.3	3.3	1.9			
STDEV	2.9	2.0	2.5	2.2	3.0	2.6			
SE	0.7	0.5	0.6	0.6	0.7	0.6			
Total 'Positive'	8	2	5	4	6	1			
Total 'Suspect'	4	7	7	5	8	8			
Total 'Negative'	6	9	6	9	4	9			
<table border="1"> <tr> <td>'Positive' : 4.0 mm or more</td> </tr> <tr> <td>'Suspect' : 2.0-3.9 mm</td> </tr> <tr> <td>'Negative' : 0.0-1.9 mm</td> </tr> </table>							'Positive' : 4.0 mm or more	'Suspect' : 2.0-3.9 mm	'Negative' : 0.0-1.9 mm
'Positive' : 4.0 mm or more									
'Suspect' : 2.0-3.9 mm									
'Negative' : 0.0-1.9 mm									
<p>Note: Animals did not conform to selection criteria for testing. Data not included in summary calculations.</p>									

Table ICS 4. Tuberculin Reactions in Naturally Sensitised 'Reactor' Cattle

ICS Table 4	Tuberculin Reactions in Naturally Sensitised 'Reactor' Cattle P15								
Experiment 1	Skin Thickness Increase (mm) at each Dilution: Undilute (1:1) or Diluted (1:5) for ISBT (R), Candidate A (CA), and Candidate B (CB)								
	R		CA		CB				
	1:1	1:5	1:1	1:5	1:1	1:5			
P15	R1	R2	CA1	CA2	CB1	CB2			
Animal 1	0.5	-0.7	-0.6	-0.2	2.0	-0.3			
Animal 2	4.6	4.6	5.5	5.0	4.8	5.5			
Animal 3	6.8	4.8	6.9	3.5	6.4	5.0			
Animal 4	4.3	3.1	2.4	0.2	2.4	2.9			
Animal 5	8.8	9.8	10.3	11.7	13.6	16.9			
Animal 6	4.8	2.8	5.7	2.6	6.0	1.7			
AVG	5.0	4.1	5.0	3.8	5.9	5.3			
STDEV	2.8	3.4	3.8	4.3	4.2	6.1			
SE	1.1	1.4	1.5	1.8	1.7	2.5			
Experiment 2	Summary Data: Skin Thickness Increase (mm)								
	R		CA		CB				
	1:1	1:5	1:1	1:5	1:1	1:5			
P15	R1	R2	CA1	CA2	CB1	CB2			
Animal 1	3.8	3.1	3.9	1.7	3.8	2.1			
Animal 2	4.4	3.2	4.3	2.7	4.0	3.1			
Animal 3	0.9	6.7	12.4	5.9	9.3	7.0			
Animal 4	10.7	7.2	10.8	6.3	12.7	8.4			
Animal 5	-0.1	1.4	3.1	2.0	3.5	1.9			
Animal 6	1.6	1.7	3.8	2.4	2.6	2.9			
AVG	3.6	3.9	6.4	3.5	6.0	4.2			
STDEV	3.9	2.5	4.1	2.0	4.1	2.8			
SE	1.6	1.0	1.7	0.8	1.7	1.1			
Experiment 3	Summary Data: Skin Thickness Increase (mm)								
	R		CA		CB				
	1:1	1:5	1:1	1:5	1:1	1:5			
P15	R1	R2	CA1	CA2	CB1	CB2			
Animal 1	11.8	6.4	11.7	3.9	8.9	7.4			
Animal 2	2.8	4.0	3.8	3.5	3.9	5.2			
Animal 3	2.3	0.8	2.8	3.0	1.5	3.9			
Animal 4	6.3	3.6	5.6	3.2	17.0	4.5			
Animal 5	-0.3	0.6	0.3	-0.7	0.0	0.1			
Animal 6	5.1	2.4	4.4	2.6	6.0	2.9			
AVG	4.7	3.0	4.8	2.6	6.2	4.0			
STDEV	4.2	2.2	3.8	1.7	6.2	2.4			
SE	1.7	0.9	1.6	0.7	2.5	1.0			
P15	Skin Thickness Increase (mm) at each Dilution: Undilute (1:1) or Diluted (1:5) for ISBT (R), Candidate A (CA), and Candidate B (CB)								
	R		CA		CB				
	1:1	1:5	1:1	1:5	1:1	1:5			
	R1	R2	CA1	CA2	CB1	CB2			
AVG (3 Expts)	4.4	3.6	5.4	3.3	6.0	4.5			
STDEV	3.8	2.8	4.1	3.1	5.0	4.2			
SE	0.8	0.6	0.9	0.7	1.1	0.9			
Total 'Positive'	10	7	10	4	10	8			
Total 'Suspect'	3	6	6	10	6	6			
Total 'Negative'	5	5	2	4	2	4			
<table border="1"> <tr> <td>'Positive' : 4.0 mm or more</td> </tr> <tr> <td>'Suspect' : 2.0-3.9 mm</td> </tr> <tr> <td>'Negative' : 0.0-1.9 mm</td> </tr> </table>							'Positive' : 4.0 mm or more	'Suspect' : 2.0-3.9 mm	'Negative' : 0.0-1.9 mm
'Positive' : 4.0 mm or more									
'Suspect' : 2.0-3.9 mm									
'Negative' : 0.0-1.9 mm									

Table S1. Potency estimates for candidate A (IU/ampoule): Heat-inactivated *M. bovis* in mineral oil sensitisation

Lab code	Assay 1	Assay 2	Assay 3	GM
A	34275	36442	36656	35775
B	19910	9129	11763	12883
C	Pr	34026	27317	30488
D	19400	Pr	50047	31159
E	16510	19260	15893	17161
F	35801	22875	28803	28679
G	86530	46861	NP	63678
H	Pr	Pr	Pr	-
I	32741	31810	34667	33051
J	NP	22394	NP	22394
GM (all assays)				27136
GM (all assays; weighted)				26705
GM (of lab GM)				27873
Inter-lab GCV				58%

Table S2: Potency estimates for candidate B (IU/ampoule): Heat-inactivated *M. bovis* in mineral oil sensitisation

Lab code	Assay 1	Assay 2	Assay 3	GM
A	42309	70746	55745	55053
B	31964	48282	48308	42088
C	22295	38885	32848	30537
D	30178	46576	77918	47845
E	26911	35445	41708	34138
F	NL	51312	50205	50755
G	43297	48703	55930	49040
H	NP	Pr	NP	-
I	106436	55760	55184	68930
J	44374	NP	32493	37971
GM (all assays)				45062
GM (all assays; weighted)				44722
GM (of lab GM)				44975
Inter-lab GCV				29%

NL: Non-Linearity (p<0.01)

NP: Non-Parallelism (p<0.01)

Pr: Assay precision requirement not met

GM: Geometric Mean

GCV: Geometric Coefficient of Variation

Table S3. Potency estimates for candidate A (IU/ampoule): Live *M. bovis* sensitisation

Lab code	Assay 1	Assay 2	Assay 3	GM
C	53088	Pr	Pr	-
J	13210	42916	45152	29471
GM (all assays)				-
GM (all assays; weighted)				-
GM (of lab GM)				-
Inter-lab GCV				-

Table S4. Potency estimates for sample B (candidate B) (IU/ampoule): Live *M. bovis* sensitisation

Lab code	Assay 1	Assay 2	Assay 3	GM
C	Pr	Pr	47804	-
J	32904	32156	38898	34526
GM (all assays)				-
GM (all assays; weighted)				-
GM (of lab GM)				-
Inter-lab GCV				-

NL: Non-Linearity (p<0.01)

NP: Non-Parallelism (p<0.01)

Pr: Assay precision requirement not met

GM: Geometric Mean

GCV: Geometric Coefficient of Variation