



**INFORME DE LA REUNIÓN DEL GRUPO AD HOC DE LA OIE SOBRE EL REEMPLAZO
DEL PATRÓN INTERNACIONAL DE TUBERCULINA BOVINA
París, 6-8 de junio de 2017**

El Grupo *ad hoc* sobre el reemplazo del patrón internacional de tuberculina bovina (en lo sucesivo el Grupo) se reunió en la sede de la OIE del 6 al 8 de junio de 2017.

1. Apertura

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 los progresos realizados por el Grupo al seleccionar a dos donantes potenciales de tuberculinas candidatas y la importancia de la reunión actual para revisar y finalizar el protocolo para la preparación y validación de un nuevo Patrón internacional de tuberculina bovina (ISBT-2).

El Dr. Stone recordó al Grupo la importancia de su compromiso y de sus tareas. Dijo que los Países Miembros de la OIE cuentan con la prueba intradérmica para controlar y erradicar la tuberculosis bovina y que cada tuberculina estándar nacional debe ser validada con respecto a un Patrón Internacional de buena calidad. Un patrón internacional de tuberculina es una herramienta esencial para ayudar a los Países Miembros de la OIE a combatir o erradicar la tuberculosis bovina, una enfermedad prioritaria para la salud del hombre y los animales.

El Dr. Steven Edwards observó que en la reunión anterior del Grupo se había invitado a un representante de la Organización Mundial de la Salud (OMS) que había asistido. Sin embargo, el representante, el Dr. David Wood, se había jubilado recientemente y no se había designado otro representante que asistiera a la presente reunión. Consideró que, como la OMS brinda su apoyo al proyecto, la presencia de un representante tal vez no fuese estrictamente necesaria, pero que la OIE debería seguir informando a esta organización del avance del proyecto. También informó de que el Dr. Douwe Bakker se había retirado del Grupo y que sería reemplazado por el Dr. Ad Koets. El Grupo y la OIE dieron la bienvenida al Dr. Koets como nuevo miembro y agradecieron al Dr. Bakker por su contribución a esta labor.

Los Dres. Mei Mei Ho y Ad Koets no pudieron estar presentes en esta ocasión, pero la Dra. Ho pudo responder a algunas preguntas durante la reunión por correo electrónico, y el Dr. Koets se unió brevemente a la reunión por teleconferencia el 7 de junio.

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. El Grupo aprobó el temario propuesto.

Los términos de referencia del Grupo, el temario y la lista de participantes se adjuntan como apéndices I, II y III, respectivamente.

3. Términos de referencia

3.1. Examen de los progresos realizados para la adquisición de tuberculinas a granel candidatas y la formulación en ampollas de prueba para su evaluación en el laboratorio

El Dr. Glen Gifford informó de los avances del proyecto hasta el momento. Observó que había casi un año de retraso con respecto a las etapas contempladas en la reunión anterior del Grupo, debido a las dificultades para obtener la financiación. Recordó que en mayo de 2017 la OIE, en colaboración con la Dra. Ho, del instituto MHRA-NIBSC¹, había contactado con los fabricantes de tuberculina para solicitar donaciones de tuberculinas que pudiesen constituir el patrón ISBT-2. Se recibieron cuatro consultas y tres fabricantes aceptaron donar la tuberculina y entregar a la OIE un dossier completo con los datos necesarios para la evaluación. El Grupo revisó estos datos en comparación con un conjunto predeterminado de criterios validados. Las decisiones para seleccionar las tuberculinas candidatas se tomaron por teleconferencia el 18 de mayo de 2017, tal como se indica en los apéndices V, VI y VII.

El informe de este proceso de toma de decisiones se establece en el "Informe de la reunión del Grupo *ad hoc* de la OIE sobre el reemplazo del patrón internacional de tuberculina bovina: Consulta por teleconferencia el 18 de mayo de 2017". El Grupo revisó y aprobó el informe, que se adjuntará al acta de la reunión de la Comisión de Normas Biológicas de septiembre de 2017.

Se seleccionaron dos tuberculinas candidatas de los fabricantes, designados M1 y M2, para su evaluación ulterior, a reserva de que se responda satisfactoriamente a las preguntas planteadas por el Grupo. Ambos proveedores ya habían confirmado su disponibilidad para suministrar la tuberculina. Además, ambos tendrán que proporcionar información sobre la ausencia de efectos inmunológicos indeseables de los productos antes de que pasen a la etapa de pruebas de laboratorio. El Grupo observó que tal vez no hubiese muchos laboratorios capaces de ensayar el nuevo patrón usando *Mycobacterium bovis* vivo para sensibilizar a los animales de prueba.

El Grupo examinó también la idoneidad de las preparaciones actualmente disponibles de M1 y M2. La Dra. Ho confirmó que una concentración proteica del material a granel ligeramente menor podría ser aceptable, dado que el volumen de llenado podría ajustarse antes de la liofilización para obtener la concentración proteica deseada del producto final. También informó al Grupo que el fenol residual en el producto disponible de M1 (a aproximadamente el 0,03 %) es menor que la concentración de fenol en el actual patrón ISBT-1, y esta concentración no tuvo efectos adversos sobre la liofilización. Por consiguiente, el Grupo concluyó que, en vez de esperar a que M1 produzca otro lote sin fenol, teniendo en cuenta el retraso que llevaba el proyecto, el trabajo sobre el patrón internacional debería avanzar y la idoneidad de los lotes se revisaría tras la evaluación de las preparaciones de las ampollas de prueba, tal como se indica más abajo.

3.2. Identificación de posibles laboratorios colaboradores, finalización de los protocolos y calendarios para evaluar la potencia, especificidad e inocuidad del patrón ISBT candidato y redacción de informes de síntesis

El Grupo examinó y modificó el "Protocolo para la evaluación y adopción de un nuevo patrón internacional de tuberculina bovina" que figura en el apéndice III del Informe de la reunión del Grupo *ad hoc* de la OIE sobre el reemplazo del patrón internacional de tuberculina bovina, París, 24-26 de noviembre de 2015 (Informe de la reunión de 2015).² El protocolo revisado se adjunta a este informe como apéndice IV. El Grupo fundamentó estas modificaciones en las secciones pertinentes, tal como se indica más abajo.

El Grupo propuso incorporar más detalles en el "protocolo para la sensibilización de cobayas con *M. bovis* vivo", para armonizarlo con la *Farmacopea Europea*.

El Grupo resaltó la necesidad de que un experto en estadística revise los protocolos antes de empezar el trabajo, incluso la evaluación preliminar. Este punto se abordó en una teleconferencia con el Dr. Ad Koets en el curso de la reunión. El Dr. Koets se comprometió a avanzar en este aspecto del proyecto consultando el diseño experimental y los procedimientos analíticos con un experto en estadística, o un epidemiólogo, de su instituto.

¹ Medicines and Healthcare products Regulatory Agency-National Institute for Biological Standards and Control, Potters Bar, Hertfordshire EN6 3QG, Reino Unido

² Informe de la reunión del Grupo *ad hoc* de la OIE sobre el reemplazo del patrón internacional de tuberculina bovina - Anexo 5 del Informe de la reunión de la Comisión de Normas Biológicas de la OIE (http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Internationa_Standard_Setting/docs/pdf/BSC/E_BSC_Feb2016.pdf)

a) Evaluación preliminar de las tuberculinas candidatas y sensibilización de cobayas con *M. bovis* termoinactivado

El Grupo decidió que la validación preliminar del proceso de liofilización y de la idoneidad de las preparaciones seleccionadas se llevará a cabo en los dos Laboratorios de Referencia de la OIE para la tuberculosis bovina en Argentina y Francia, tal como se explica en el apéndice III de este informe, usando la cepa *M. bovis* AN5 termoinactivada. En particular, el laboratorio de referencia de la OIE en Argentina realizará los ensayos de potencia y especificidad con las preparaciones de las ampollas de prueba, mientras que el laboratorio de referencia en Francia efectuará solamente los ensayos de potencia. El Dr. Capsel informó al Grupo de que los Laboratorios de los Servicios Veterinarios Nacionales del USDA³ suministrarían el agente sensibilizante *M. bovis* AN5 termoinactivado a los laboratorios de referencia de la OIE y a los demás laboratorios participantes en el Estudio Colaborativo Internacional. El USDA ha secuenciado el genoma de la mencionada cepa *M. bovis* AN5. El Grupo tomó nota de que la inactivación de *M. bovis* AN5 se obtenía por calentamiento del agente sensibilizante a 90 °C durante 35 minutos.

El Grupo examinó el procedimiento de evaluación preliminar de las tuberculinas candidatas.

Dado que el protocolo de ensayo de potencia del USDA usaba una concentración proteica de la tuberculina relativamente alta, el Grupo recomendó que para la evaluación preliminar de las ampollas de prueba, los dos laboratorios de referencia comparen el protocolo del USDA con el procedimiento preconizado por la OIE en el Capítulo 2.4.6 sobre la tuberculosis bovina del *Manual de las pruebas de diagnóstico y de las vacunas para los animales terrestres (Manual Terrestre)* de la OIE. El objetivo será comparar el efecto de la liofilización sobre la potencia y también comparar las dos formulaciones del "agente sensibilizante", que contienen *M. bovis* AN5 mezclada con aceite mineral (método del USDA) o con un adyuvante incompleto de Freund (método de la OIE). Tras la evaluación de estos resultados, el Grupo decidirá qué protocolo final se usará para el Estudio Colaborativo Internacional. Este estudio comparativo aumentará el número de cobayas a 16 por laboratorio.

b) Evaluación de *M. bovis* termoinactivado frente a *M. bovis* vivo para la sensibilización en los estudios de potencia

El Grupo hizo hincapié en que el Estudio Colaborativo Internacional debería enfocarse en obtener el reemplazo del patrón ISBT-1 y no en la validación de *M. bovis* termoinactivado frente a *M. bovis* vivo para la sensibilización para evaluar la potencia de la tuberculina en las cobayas. Sin embargo, el Grupo reconoció que el estudio ofrecía la oportunidad de generar datos para determinar si la sensibilización con AN5 vivo se podía reemplazar por *M. bovis* AN5 inactivado.

Por lo tanto, el Grupo recomendó que se informase a la EDQM⁴ sobre los diseños de estudio. La EDQM podría identificar eventuales deficiencias que afectarían a las posibilidades de utilizar los datos para la evaluación de *M. bovis* termoinactivado para sensibilización en los estudios de potencia, y podría considerar la modificación del protocolo actual en la *Farmacopea Europea*.⁵

c) Estudio Colaborativo Internacional para evaluar la idoneidad para los fines previstos, usando solo *M. bovis* termoinactivado para sensibilización a reserva de que los resultados del estudio de evaluación previo sean satisfactorios

El Grupo observó que no sería posible formular recomendaciones al respecto mientras no se dispusiera de los datos de la evaluación preliminar y de su análisis por un experto en estadística.

4. Examen del calendario, presupuesto e informes

4.1 Calendario, plazos, resultados

El calendario provisional para la producción del patrón ISBT-2 se revisó teniendo en cuenta los progresos realizados en determinadas etapas:

- Aprobación de la propuesta de producción de un patrón ISBT-2 de tuberculina bovina, por la Comisión de Normas Biológicas: febrero de 2016 [concluida].
- Definición de criterios de selección del material a granel: febrero de 2016 [concluida].

³ Departamento de Agricultura de Estados Unidos

⁴ Dirección Europea de Calidad del Medicamento y Asistencia Sanitaria

⁵ Monografías de la *Farmacopea Europea* sobre los derivados proteínicos de la tuberculina, (Tuberculin PPD, Bovine [01/2008:0536])

- Envío por la OIE, con ayuda del NIBSC, de una solicitud a los fabricantes del material a granel invitándoles a presentar un dossier por escrito que incluya los datos técnicos, y contacto con los laboratorios de referencia para las pruebas preliminares: marzo de 2017 [concluida].
- Selección de tuberculinas candidatas a ISBT-2 mediante una teleconferencia del Grupo: mayo de 2017 [concluida].
- Revisión del protocolo, calendario y presupuesto: junio de 2017 [concluida].
- Selección del material a granel y envío al NIBSC para julio-agosto de 2017.
- Llenado preliminar de ampollas para agosto de 2017.
- Revisión por un experto en estadística del protocolo para el Estudio Colaborativo Internacional para septiembre de 2017.
- Invitación a participar en el Estudio Colaborativo Internacional (contacto con los Delegados y Puntos focales para los laboratorios de la OIE) para septiembre de 2017.
- Preparación del agente sensibilizante normalizado: cepa *M. bovis* AN5 termoinactivada para cobayas para finales de 2017.
- Evaluación del material de llenado preliminar por dos Laboratorios de Referencia de la OIE para finales de 2017.
- Llenado principal de of 5000 ampollas para mediados de 2018.
- Inicio del Estudio Colaborativo Internacional para mediados de 2018 y finalización para mediados de 2019.
- Presentación de datos para el análisis estadístico para mediados de 2019.
- Presentación de un informe escrito a la Comisión de Normas Biológicas para enero de 2020 y validación por la Asamblea Mundial para mayo de 2020.
- El NIBSC fue designado depositario del patrón ISBT-2 y garantizará su almacenamiento y distribución adecuados en condiciones seguras.
- Documento sobre la caracterización del patrón ISBT-2 revisado por expertos.

4.2 Costes previstos, financiación actual y ayuda en especie, actividades aún no financiadas

Tras examinar el presupuesto con la Dra. Emily Tagliaro, jefe de la unidad del Fondo Mundial de la OIE, el Grupo consideró que las contribuciones en especie de los Países Miembros de la OIE cubrirían parte de los costes y que la OIE tendría que buscar una financiación para el resto del presupuesto. La Dra. Tagliaro se informará de otras opciones de financiación.

4.3. Informes internos, comunicación de resultados

El Grupo recomendó que se publicase un documento sobre la caracterización del patrón ISBT-2 revisado por expertos, además del informe interno a la Comisión de Normas Biológicas.

4.4. Imprevistos

El Grupo identificó los siguientes imprevistos:

- Si no hubiese suficientes laboratorios capaces de participar en el Estudio Colaborativo Internacional, entonces debería aumentarse el número de animales de prueba en cada laboratorio participante, según la recomendación del experto en estadística.
- Si no se contase con suficientes recursos tras la ronda inicial de búsqueda de fondos, se recurriría a otros organismos de financiación.
- Si ninguno de los lotes candidatos fuese satisfactorio, la OIE tendrá que seleccionar otros lotes para evaluarlos.

5. Otros asuntos

El Grupo respondió a diversas otras preguntas planteadas por la OIE:

a) ¿El Grupo apoya la realización de un análisis genómico comparativo para caracterizar cada uno de los aislados de *M. bovis* utilizados como inóculos para producir las tuberculinas candidatas?

El Grupo aprobó esta propuesta y recomendó que los genomas de los inóculos de *M. bovis* AN5 sean secuenciados por los proveedores de las tuberculinas candidatas, o que los fabricantes proporcionen el ADN al Laboratorio de Referencia de la OIE para la tuberculosis bovina en el Reino Unido para su secuenciación.

- b) **¿El Grupo apoya la recomendación de que las autoridades reguladoras nacionales consideren la posibilidad de efectuar un análisis genómico de los aislados de *M. bovis* usados para la producción de tuberculinas bovinas?**

El Grupo apoyó esta sugerencia y recomendó además que se utilice la secuenciación genómica para caracterizar una cepa AN5 de referencia.

Para identificar la cepa de referencia, el Grupo recomendó que se pidiese a los laboratorios que participen en el Estudio Colaborativo Internacional y utilicen *M. bovis* AN5 vivo para sensibilizar a las cobayas que presenten la secuencia genómica de la cepa AN5 utilizada para la sensibilización. De lo contrario, los participantes podrían enviar el ADN genómico de estas cepas al Laboratorio de Referencia de la OIE para la tuberculosis bovina en el Reino Unido para su secuenciación.

- c) **¿El Grupo *ad hoc* apoya la realización de un análisis proteómico de los aislados de *M. bovis* AN5? ¿Hay restricciones técnicas para la realización o interpretación de los estudios proteómicos de *M. bovis* termoinactivado?**

El Grupo no recomendó el uso del análisis proteómico de los aislados de *M. bovis* AN5 dentro del marco de este estudio.

- d) **¿La OIE debería considerar la posibilidad de suministrar reactivos de referencia normalizados (por ejemplo, cultivos de inóculos de *M. bovis* AN5 y reactivos termoinactivados) para su uso por las autoridades reguladoras nacionales en la calibración de los patrones nacionales de referencia de la tuberculina bovina y los lotes de producción en función del nuevo patrón ISBT-2?**

El Grupo aprobó esta sugerencia y recomendó que se vincule esta actividad a la iniciativa del biobanco de la OIE. El Grupo recomendó que este material de referencia se conserve en los Laboratorios de Referencia de la OIE para la tuberculosis bovina y que se cobre una tasa de recuperación de los gastos por el suministro de reactivos a terceros.

El Grupo recomendó también que no se someta el inóculo *M. bovis* AN5 de trabajo a más de cinco pasajes de producción y que se revise el capítulo pertinente del *Manual Terrestre* para incluir esta recomendación.

6. Conclusiones

6.1. Comentarios y recomendaciones

1. Existe la preocupación de que los suministros del ISBT-1 se están agotando. El Grupo recomienda, por lo tanto, que se respete estrictamente el calendario del proyecto;
2. El Grupo recomienda firmemente que el Fondo Mundial de la OIE busque las opciones de financiación con carácter urgente, lo que incluye una mayor concienciación entre los Delegados de la OIE;
3. El Grupo recomienda que el patrón ISBT-2 sea considerado fundamental para la aplicación de la hoja de ruta de la Alianza Tripartita sobre la tuberculosis zoonótica, en el marco de la iniciativa "Una Sola Salud";
4. El Grupo recomienda que se revise el capítulo sobre la tuberculosis bovina del *Manual Terrestre* de la OIE, incluido el apartado sobre la tuberculina.

7. Finalización y aprobación del borrador del informe

El Grupo *ad hoc* finalizó y aprobó el borrador del informe.

.../Apéndices

**REUNIÓN DEL GRUPO *AD HOC* DE LA OIE SOBRE
EL REEMPLAZO DEL PATRÓN INTERNACIONAL DE TUBERCULINA BOVINA**

París, 6-8 de junio de 2017

Términos de referencia

- Examinar los progresos en la adquisición de las tuberculinas a granel candidatas y en la formulación de las ampollas de prueba en el NIBSC.
 - Identificar los laboratorios que posiblemente colaboren en los ensayos de las tuberculinas candidatas para el nuevo patrón ISBT.
 - Ultime los protocolos para la caracterización de las tuberculinas candidatas para el nuevo patrón ISBT, y para la evaluación de su potencia, especificidad e inocuidad.
 - Examinar el calendario, el presupuesto y los informes.
-

**REUNIÓN DEL GRUPO *AD HOC* DE LA OIE SOBRE
EL REEMPLAZO DEL PATRÓN INTERNACIONAL DE TUBERCULINA BOVINA**

París, 6-8 de junio de 2017

Temario

- 1. Apertura**
 - 2. Designación del presidente y del relator**
 - 3. Términos de referencia**
 - 3.1. Examinar los progresos realizados hasta la fecha para la adquisición de las tuberculinas a granel candidatas y la formulación de las ampollas de prueba para su evaluación en el laboratorio
 - 3.2. Identificar los laboratorios que posiblemente colaboren y ultimar los protocolos y calendarios para evaluar la potencia, especificidad e inocuidad de las tuberculinas seleccionadas para el nuevo patrón ISBT, y preparar informes de síntesis
 - 4. Examen del calendario, presupuesto e informes**
 - 4.1. Calendario, plazos, resultados.
 - 4.2. Costes previstos, financiación actual y apoyo en especie, actividades aún no financiadas.
 - 4.3. Informes internos y comunicación de resultados.
 - 4.4. Imprevistos
 - 5. Otros asuntos**
 - 6. Conclusiones**
 - 6.1. Comentarios y recomendaciones
 - 7. Finalización y aprobación del borrador del informe**
-

REUNIÓN DEL GRUPO AD HOC DE LA OIE SOBRE
EL REEMPLAZO DEL PATRÓN INTERNACIONAL DE TUBERCULINA BOVINA

París, 6-8 de junio de 2017

Lista de participantes

MIEMBROS

Dr. Steven Edwards

(Presidente)
c/o OIE 12 rue de Prony
75017 Paris, FRANCIA
Tel.: (+33-[0]1) 44.15.18.88
Fax: (+33-[0]1) 42.67.09.87
steve-oie@cabanas.waitrose.com

Dr. Bernardo Alonso

Gerencia de Laboratorios (GELAB) del
Servicio Nacional de Sanidad y
Calidad, Agroalimentaria (SENASA)
Avda A. Fleming 1653, 1640 Martínez
Pcia de Buenos Aires, ARGENTINA
Tel.: (+54-11) 48.36.19.92 / 11.73
Fax: (+54-11) 48.36.19.92
balonso@senasa.gov.ar

Dr. Ad Koets

(participó por consulta telefónica)
Central Veterinary Institute
Wageningen
PAÍSES BAJOS
ad.koets@wur.nl

Dra. María Laura Boschioli-Cara

Anses, Unité Zoonoses Bactériennes
Laboratoire de santé animale
23 avenue du Général de Gaulle
94706 Maisons-Alfort Cedex
FRANCIA
Tel.: (+33-[0]1) 49 77 13 00
Fax: (+33-[0]1) 49 77 13 44
María-laura.boschioli@anses.fr

Dra. Mei Mei Ho

(participó por consulta electrónica)
Principal Scientist,
Bacteriology Division, MHRA-
NIBSC,
Blanche Lane, South Mimms,
Potters Bar, Herts., EN6 3QG,
REINO UNIDO
Mei.Ho@nibsc.org

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
dejuan@visavet.ucm.es

Prof. Glyn Hewinson

Animal and Plant Health Agency
New Haw, Addlestone
Surrey KT15 3NB
Weybridge
REINO UNIDO
Tel.: (+44-1932) 34.11.11
Fax: (+44-1932) 34.70.46
glyn.hewinson@apha.gsi.gov.uk

Dr. David Wood

(invitado pero no pudo asistir,
jubilado)
Coordinator, Technologies Standards
and Norms (TSN) Team, Essential
Medicines and Health Products (EMP)
Department, Health Systems and
Innovation (HIS) Cluster, World Health
Organization, Avenue Appia 20, 1211
Geneva 27, SUIZA
woodd@who.int

Dr. Randal Capsel

National Veterinary Services
Laboratories, USDA, APHIS,
Veterinary Services, P.O. Box 844
Ames, Iowa 50010,
ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA
Randy.T.Capsel@aphis.usda.gov

REPRESENTANTE DE LA COMISIÓN DE NORMAS BIOLÓGICAS

Dr. Mehdi El Harrak

(Miembro)
R&D Director, MCI Santé Animale,
BP278 ZI SO, 28810 Mohammédia
MARRUECOS
Tel.: +212- 662 88.33.78
elharrak_m@hotmail.com

SEDE DE LA OIE

Dr. Matthew Stone

Director general adjunto
Normas internacionales y ciencia, OIE
12 rue de Prony
75017 Paris, FRANCIA
Tel.: (33-1) 44.15.18.88
Fax: (33-1) 42.67.09.87
m.stone@oie.int

Dra. Elisabeth Erlacher-Vindel

Jefe, Depto. de Ciencias y nuevas
tecnologías
e.erlacher-vindel@oie.int

Dra. Emily Tagliaro

Jefe, Unidad del Fondo Mundial
e.tagliaro@oie.int

Dr. Glen Gifford

Comisionado
g.gifford@oie.int

Dra. Simona Forcella

Comisionada, Depto. de Estatus
s.forcella@oie.int

Protocolo para la evaluación y adopción de un nuevo patrón internacional de tuberculina bovina (revisado en junio de 2017)

El primer patrón internacional del derivado proteínico purificado (PPD) de tuberculina bovina fue designado por la OMS ⁶ en 1986⁷ y se conserva actualmente en el Laboratorio Internacional de Patrones Biológicos de la OMS: MHRA-NIBSC ⁸, en el Reino Unido. Habida cuenta de la disminución de stocks del patrón internacional de tuberculina bovina, se ha elaborado una propuesta para la evaluación y calibración de un patrón de sustitución. El objetivo es producir un nuevo patrón internacional de tuberculina bovina para satisfacer las necesidades mundiales durante los próximos 20 años. Para esta tarea será necesario realizar ensayos con animales y, por ende, fondos para financiarlos. Se ha acordado que la OIE guíe la evaluación y designación del patrón de sustitución. Un grupo de expertos dirigirá y supervisará el estudio. Entre las instituciones asociadas al estudio, cabe destacar los Laboratorios de Referencia de la OIE para la tuberculosis bovina, otros expertos reconocidos y el MHRA-NIBSC (en calidad de depositario del patrón actual y experto en la evaluación, designación y almacenamiento de preparaciones normalizadas de referencia). El protocolo para el estudio propuesto se explica a continuación.

Los resultados y datos brutos se transmitirán al MHRA-NIBSC para el análisis estadístico y evaluación por el grupo de expertos del estudio.

1. Producción

Se invitará a los fabricantes de tuberculina a donar el material a granel candidato junto con certificados de análisis que indiquen la toxicidad, esterilidad, efecto sensibilizante, especificidad y potencia. Se seleccionarán dos materiales candidatos como mínimo para su ulterior procesamiento y evaluación usando métodos acordes a los procesos de producción reconocidos. La tuberculina se obtendrá a partir de fracciones hidrosolubles preparadas calentando en vapor libre y filtrando posteriormente cultivos de *M. bovis* de la cepa AN5 en un medio líquido sintético. La fracción activa del filtrado, consistente principalmente de proteínas, se aislará por precipitación, se lavará y se volverá a disolver en una solución amortiguadora de glucosa-fosfato sin conservante. El preparado estéril final se almacenará en el MHRA-NIBSC como material a granel en espera de la calibración del nuevo patrón. Para el análisis inicial, se producirá un pequeño número de ampollas de prueba liofilizadas, cada una de las cuales contendrá de 2 mg de proteína. Después, el stock a granel de las preparaciones seleccionadas que den resultados satisfactorios en la evaluación preliminar será liofilizado en ampollas de 2 mg. Estas se utilizarán en un Estudio Colaborativo Internacional para determinar las unidades/potencia de las preparaciones, una de las cuales será seleccionada como nuevo patrón internacional de tuberculina bovina. Se definirá en unidades internacionales mediante calibración en contraste con el patrón actual.

2. Evaluación preliminar

El objetivo de la evaluación preliminar es verificar el proceso de liofilización y la idoneidad de las preparaciones candidatas. Dos Laboratorios de Referencia de la OIE para la tuberculosis bovina llevarán a cabo una evaluación preliminar en cobayas sensibilizados con *M. bovis* termoinactivado de la cepa AN5. Se les suministrará el patrón internacional actual y las dos preparaciones candidatas prelioofilizadas y liofilizadas, que se evaluarán según se explica a continuación.

2.1. Potencia

Para cada preparación candidata, sensibilizar como mínimo ocho cobayas albinos, cada uno de los cuales debe pesar entre 300 g y 500 g, mediante una inyección intramuscular profunda de una dosis adecuada de *M. bovis* termoinactivado de la cepa AN5, suspendida en una solución amortiguadora y transformada en una emulsión con el adyuvante incompleto de Freund o un aceite mineral para comparar las posibles diferencias en la preparación. Transcurridas al menos cuatro semanas tras la sensibilización de los cobayas, afeitar los costados de los animales para disponer de espacio para un máximo de cuatro puntos de inyección en cada lado. Preparar diluciones de la tuberculina candidata que se vaya a evaluar y de la preparación normalizada

⁶ Organización Mundial de la Salud

⁷ WHO - Proposed international standard for purified protein derivative (ppd) of bovine tuberculin - THE INTERNATIONAL COLLABORATIVE ASSAY: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/78132/1/WHO_BS_86.1518_eng.pdf

⁸ Medicines and Healthcare products Regulatory Agency - National Institute for Biological Standards and Control, Potters Bar, Hertfordshire EN6 3QG, Reino Unido

de referencia utilizando una solución salina isotónica amortiguadora de fosfatos (pH 6,5-7,5) que contenga 0,005 g/l de polisorbato 80. Utilizar al menos tres dosis de la preparación normalizada y otras tantas de la preparación candidata que se vaya a evaluar. Escoger las dosis de modo que las lesiones producidas tengan un diámetro comprendido entre 8 y 25 mm. Distribuir aleatoriamente las diluciones entre los puntos valiéndose de un cuadrado latino. Inyectar cada dosis intradérmicamente a un volumen constante de 0,1 o 0,2 ml. Transcurridas entre 24 y 28 horas, medir los diámetros de las lesiones y calcular el resultado de la prueba utilizando los métodos estadísticos habituales, basándose en el supuesto de que los diámetros de las lesiones son directamente proporcionales al logaritmo de la concentración de las tuberculinas.

La prueba no será válida a menos que los límites de error (con una confianza $p = 0,95$) sean superiores al 50 % e inferiores al 200 % de la potencia calculada, la potencia declarada del estándar representa el 100 %. La potencia calculada estará entre el 66 % y el 150 % de la potencia declarada de la tuberculina. La potencia declarada será al menos igual a 30 000 UI/mg.

Para esta prueba se necesitarán 38 cobayas albinos por laboratorio.⁹

La evaluación preliminar incluirá también la prueba de un protocolo, proporcionado por el USDA, para la sensibilización de cobayas con *M. bovis* termoinactivado mezclado con aceite mineral. Para esta prueba se necesitarán 16 cobayas por laboratorio (32 en total).

2.2. Especificidad

Los estándares candidatos se analizarán, en un Laboratorio de Referencia de la OIE para la tuberculosis bovina, en comparación con el patrón de tuberculina PPD aviar mediante un ensayo de cuatro puntos en cobayas sensibilizados con *M. avium* (cepa D4ER) termoinactivado, que comprenda dos diluciones seriadas de 1/25 de cada tuberculina. Se escogen cantidades de 0,03 mg y 0,0012 mg de la tuberculina PPD aviar de prueba que corresponden a aproximadamente 1500 y 60 UI, porque estas dosis dan buenas reacciones cutáneas de fácil lectura. En un ensayo, los estándares candidatos se comparan con el patrón internacional de tuberculina bovina en ocho cobayas aplicando ocho inyecciones intradérmicas por animal, empleando un diseño equilibrado completo de cuadrado latino. La lectura de los resultados y la evaluación estadística son idénticas a las de la prueba de potencia. La respuesta al PPD bovino en los cobayas sensibilizados con *M. avium* debe ser del 10 % o menos en comparación con el PPD aviar.

Para ello, se requerirán ocho cobayas albinos.

3. Estudio colaborativo internacional

El estudio será coordinado por el MHRA-NIBSC, bajo la dirección del grupo de expertos del estudio y bajo la supervisión de la Comisión de Normas Biológicas de la OIE. El MHRA-NIBSC enviará un cuestionario a los participantes potenciales, con preguntas, por ejemplo, sobre el ensayo de potencia que pueden realizar utilizando cobayas o bovinos, la sensibilización usando *M. bovis* vivo o termoinactivado y, en el caso de los bovinos, con reactores naturales o infectados experimentalmente. Se pedirá a los participantes que indiquen su capacidad y disposición para realizar los ensayos requeridos usando un protocolo de estudio común en un plazo concreto. El grupo de expertos del estudio elegirá a los participantes sobre la base de las respuestas. El número previsto de laboratorios participantes es el siguiente: diez para los cobayas sensibilizados con *M. bovis* vivo, diez para los cobayas sensibilizados con *M. bovis* termoinactivado de la cepa AN5, cinco para los bovinos reactores sensibilizados naturalmente y cuatro para los bovinos sensibilizados por infección experimental. Si no se alcanza los números previstos, el grupo de expertos del estudio revisará el diseño del estudio.

3.1 Sensibilización de cobayas con *M. bovis* termoinactivado

El protocolo propuesto se completará una vez se hayan terminado las evaluaciones preliminares y los análisis estadísticos.

Se pedirá a cada participante que pruebe cada una de las preparaciones candidatas en tres experimentos separados. Se utilizarán en total 10 cobayas por cada preparación candidata por experimento. Se producirá un stock estándar de agente sensibilizante (AN5 termoinactivado) en una suspensión acuosa a una concentración de 50 mg (peso húmedo) de AN5 termoinactivado por ml de solución amortiguadora acuosa. Cada laboratorio participante elaborará una preparación de trabajo con AN5 termoinactivado en aceite mineral a partir de los reactivos de stock suministrados. Combinar 2 ml de agente sensibilizante del stock con 3 ml de adyuvante de aceite mineral ligero (Fisher Scientific Sigma Chemical Company o un proveedor equivalente, número MDL: MFCD00131661) para una concentración final de 20 mg/ml.

⁹ El número de animales propuestos incluirá animales de reserva para imprevistos.

Para cada preparación candidata, sensibilizar como mínimo ocho cobayas albinos, cada uno de los cuales debe pesar entre 300 g y 500 g, y utilizar los dos cobayas adicionales no sensibilizados para los controles.

Calentar y mantener la preparación del stock de trabajo a aproximadamente 45° C y extraer con una jeringa el agente sensibilizante calentado. Inyectar a 8 cobayas mediante inyección intramuscular profunda con 0,05 ml de agente sensibilizante en cada pata trasera (el volumen total por animal es igual 0,1 ml).

Inyectar a los cobayas no sensibilizados mediante inyección intramuscular (0,5 ml por pata trasera) con 0,1 ml de solución salina estéril calentada previamente 45 °C.

Treinta y cinco (+/- 2) días después de la sensibilización, esquilarse el abdomen y los costados de cada cobaya y dejarlos descansar en sus jaulas un mínimo de cuatro horas antes de administrar las inyecciones de tuberculina. Preparar diluciones de las tuberculinas candidatas que se vayan a evaluar y del preparado de referencia utilizando una solución salina isotónica amortiguadora de fosfatos (pH 6,5-7,5) que contenga 0,005 g/l de polisorbato 80 para contener 50, 10, 2 y 0,4 µg de proteína/ml, esto corresponde a 1625 UI/ml, 325 UI/ml, 65 UI/ml y 13 UI/ml respectivamente. Distribuir aleatoriamente las diluciones entre los puntos de inyección valiéndose de un cuadrado latino. Con el cobaya en posición lateral, inyectar cada dosis intradérmicamente a un volumen constante 0,1 ml. Administrar cuatro inyecciones en cada costado de cada cobaya. Asimismo, inyectar las cuatro diluciones de las tuberculinas de referencia y candidatas en los cobayos no sensibilizados de control. Transcurridas entre 24 y 28 horas, medir los diámetros de las lesiones con calibres y entre 48 y 52 horas después de la inyección, medir de nuevo los diámetros. Registrar los dos diámetros perpendiculares del eritema de cada punto de inyección. Calcular el resultado de la prueba utilizando los métodos estadísticos habituales, basándose en el supuesto de que los diámetros de las lesiones son directamente proporcionales al logaritmo de la concentración de las tuberculinas.

Esta prueba requerirá un total de 60 cobayas por laboratorio.

3.2 Sensibilización de cobayas con *M. bovis* vivo

Se pedirá a cada participante que pruebe cada una de las tuberculinas candidatas en tres experimentos separados. Para cada tuberculina candidata, sensibilizar a ocho cobayas, de un peso de entre 400 g a 600 g, mediante la inyección intramuscular profunda de 0,0001 mg de masa húmeda *M. bovis* vivo de la cepa AN5 suspendido en 0,5 ml de una solución de 9 g/l cloruro de sodio para la sensibilización de cobayas con *M. bovis* vivo. Cuatro semanas después de la sensibilización, afeitar los costados de los animales para disponer de espacio para un máximo de cuatro puntos de inyección en cada lado. Preparar diluciones (40, 20, 10 y 5 UI/ml) de la tuberculina candidata que se vaya a evaluar y de la tuberculina de referencia usando una solución salina isotónica amortiguadora de fosfatos (pH 6,5-7,5) que contenga 0,005 g/l de polisorbato 80. Distribuir aleatoriamente las diluciones entre los puntos valiéndose de un cuadrado latino. Inyectar cada dosis intradérmicamente a un volumen constante de 0,2 ml. Transcurridas 24 horas, medir los diámetros de las lesiones usando calibres y calcular los resultados de la prueba utilizando los métodos estadísticos habituales, basándose en el supuesto de que los diámetros de las lesiones son directamente proporcionales al logaritmo de la concentración de las tuberculinas inyectadas.

Esta prueba requerirá un total de 50 cobayas por laboratorio.

3.3 Bovinos reactivos

Conforme a lo estipulado en el *Manual Terrestre* de la OIE, los bovinos deben proceder de rebaños infectados que contengan casos de campo confirmados que hayan reaccionado positivamente entre 3 y 15 mm en la prueba cutánea de tuberculina y de preferencia también positivamente en el ensayo de liberación del interferón gamma. Los bovinos infectados deben permanecer aislados durante 8 semanas como mínimo. Las tuberculinas candidatas son evaluadas en contraste con el patrón internacional de tuberculina bovina mediante un ensayo de cuatro puntos usando dos diluciones seriadas de 1/5 de cada tuberculina candidata. Para el estándar, se inyectan 0,1 y 0,02 mg de tuberculina PPD, ya que estos volúmenes corresponden a aproximadamente 3250 y 650 UI. Las tuberculinas candidatas se diluyen de tal manera que se apliquen los mismos pesos de proteínas. El volumen de la inyección es de 0,1 ml, y la distancia entre los puntos de inyección de la zona cervical media es de entre 15 y 20 cm. En un ensayo, las tuberculinas candidatas se comparan con el patrón internacional de tuberculina bovina en ocho bovinos reactivos, aplicando ocho inyecciones intradérmicas por animal a ambos lados del cuello y empleando un diseño equilibrado completo de cuadrado latino. El espesor cutáneo en cada punto de cada inyección se mide en décimas de milímetro con calibradores, del modo más exacto posible, antes de la inyección y transcurridas 72 horas después de la inyección.

Los resultados se evalúan estadísticamente usando los mismos métodos normalizados para ensayos de líneas paralelas empleados en las pruebas de potencia en cobayas.

Se pedirá a cada participante que pruebe cada una de las preparaciones candidatas en tres experimentos separados. Esta prueba requerirá al menos 24 bovinos reactivos de 6 meses de edad como mínimo.

3.4 Ganado bovino infectado experimentalmente

Se pedirá a los participantes que propongan su método de infección experimental, incluida la dosis y cepa de *M. bovis* que se utilizará para la sensibilización. Transcurridas 6 semanas como mínimo tras la infección, se llevará a cabo la prueba de la tuberculina tal como se indica más arriba. Para ello, se requerirán al menos 8 animales de 6 meses de edad como mínimo.

Se pedirá a cada participante que pruebe cada una de las tuberculinas candidatas en tres experimentos separados. Esta prueba requerirá al menos 24 bovinos de 6 meses de edad como mínimo.

3.5 Pruebas de estabilidad

El MHRA-NIBSC preparará muestras para la prueba de estabilidad térmica. Las ampollas de las preparaciones de llenado definitivo se incubarán a varias temperaturas (es decir, -20 °C, 4 °C y 37 °C) durante diferentes periodos de tiempo (es decir, 3, 6, 12 y 24 meses). Esas muestras solo tendrán que ser analizadas una vez por un Laboratorio de Referencia que utilice cobayas sensibilizadas con AN5 termoinactivada. Dependiendo del avance del estudio colaborativo internacional, es posible que la prueba de estabilidad de duración más larga no se haya completado cuando todos los demás datos en apoyo de la adopción del nuevo patrón estén listos. En este caso, tras la adopción del patrón, se podrán analizar muestras de otros momentos en el tiempo y la fecha de expiración podrá ajustarse en función de los resultados (esta es una práctica común para otros estándares).

Una prueba de estabilidad con dos preparaciones candidatas, usando tres temperaturas y cuatro momentos en el tiempo requerirá un total de 144 cobayas, comparando muestras de dos temperaturas de incubación (4 °C o 37 °C) con la muestra almacenada a -20 °C.

4. Informe del estudio colaborativo internacional

El grupo de expertos del estudio preparará un borrador del informe, se enviará a cada participante una copia del borrador y el código usado para identificar su propio laboratorio. Los participantes deben confirmar que:

- i) Sus datos han sido interpretados correctamente en el análisis;
- ii) El material propuesto es adecuado para ser utilizado como patrón de referencia a los efectos definidos y
- iii) La cantidad de unidades propuesta es adecuada.

El informe final se presentará a la Comisión de Normas Biológicas de la OIE.

Se redactará un manuscrito para su publicación, previa revisión por expertos, en una revista internacional apropiada.

**INFORME DE LA REUNIÓN DEL GRUPO AD HOC DE LA OIE SOBRE EL REEMPLAZO
DEL PATRÓN INTERNACIONAL DE TUBERCULINA BOVINA
Consulta por teleconferencia el 18 de mayo de 2017**

El Grupo *ad hoc* de la OIE sobre el reemplazo del patrón internacional de tuberculina bovina (en lo sucesivo, el Grupo) evaluó los dosieres presentados por tres fabricantes, donantes potenciales de las tuberculinas candidatas para la producción del nuevo Patrón internacional de tuberculina bovina (ISBT-2).

La Comisión de Normas Biológicas (en lo sucesivo, la Comisión), decidió que esta evaluación podría realizarse por correspondencia entre los expertos del Grupo. La secretaria de la OIE facilitó la comunicación, que se llevó a cabo por vía electrónica. Se organizó una teleconferencia el 18 de mayo de 2017 para facilitar las deliberaciones y preparar el informe.

Los miembros del Grupo habían analizado previamente los dosieres. Los expertos presentaron sus principales conclusiones a los demás participantes del Grupo, en un inicio por vía electrónica y después durante la conferencia. El Grupo evaluó exhaustivamente si los proveedores potenciales de la tuberculina a granel satisfacían los criterios de selección definidos en la primera reunión en noviembre de 2015.

Antes de la teleconferencia, el Grupo había pedido información adicional a los donantes potenciales y había recibido precisiones de parte de dos de ellos.

1. Apertura

La Dra. Simona Forcella, del departamento de Estatus, y el Dr. Glen Gifford, del departamento de Ciencias y nuevas tecnologías, dieron la bienvenida al Grupo, en nombre de la Dra. Monique Éloit, Directora general de la OIE, y le agradecieron su compromiso con la labor de la OIE y su apoyo. La Dra. Forcella reconoció el trabajo efectuado, no solo durante la reunión, sino también antes con la revisión de los dosieres presentados por los donantes potenciales.

La Dra. Forcella recordó el objetivo de la teleconferencia e insistió en la importancia de reemplazar rápidamente el actual patrón ISBT (ISBT-1), antes de que se agoten los stocks actuales. Asimismo recordó a los participantes la importancia de mantener la confidencialidad sobre las cuestiones sensibles abordadas en la reunión y resaltó que el informe de esta reunión debería ser transparente, cada decisión debería estar fundamentada científicamente y claramente documentada a fin de poder comunicarla a la Comisión de Normas Biológicas y, por último, a los Países Miembros de la OIE.

2. Aprobación del temario y designación del presidente y del redactor del informe

El Dr. Steven Edwards presidió la reunión y el Prof. Glyn Hewinson se encargó de redactar el informe, con el apoyo de la Secretaría de la OIE. El Grupo aprobó el temario propuesto.

Los términos de referencia del Grupo el temario se presentan en el [apéndice I](#) y la lista de participantes se presentan en el [apéndice II](#).

3. Examen de los términos de referencia

3.1. Antecedentes y términos de referencia

El Grupo fue convocado por primera vez por la OIE del 24 al 26 de noviembre de 2015. El principal objetivo en dicha ocasión era desarrollar un protocolo para producir un nuevo patrón ISBT (ISBT-2), en la medida en que las existencias del actual patrón ISBT-1 se están agotando.

En su reunión de febrero de 2017, la Comisión aprobó la propuesta de que el National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC) contactase con los proveedores potenciales de tuberculina a granel en nombre de la OIE. Posteriormente, se contactaron a varios fabricantes y se han identificado tres donantes potenciales de la tuberculina de sustitución.

Según el calendario del protocolo elaborado por el Grupo en noviembre de 2015, la criba inicial de tuberculinas candidatas debía efectuarse sobre la base de los documentos de síntesis presentados por los donantes potenciales. Se necesitaba una teleconferencia del Grupo *ad hoc* para deliberar sobre los dosieres de los donantes potenciales de tuberculinas a granel candidatas y seleccionar dos tuberculinas para su evaluación ulterior.

El objetivo de la teleconferencia era examinar la documentación y los resultados de las pruebas presentados por los donantes potenciales de las tuberculinas a granel candidatas y seleccionar dos tuberculinas para su formulación en ampollas de prueba en el NIBSC. Estas tuberculinas candidatas serán evaluadas posteriormente en estudios de laboratorio que se efectuarán en los Laboratorios de Referencia de la OIE para la tuberculosis bovina y en laboratorios colaboradores.

3.2. Resumen de los procedimientos empleados para contactar con los fabricantes de tuberculinas bovinas y solicitar donaciones de tuberculinas a granel candidatas

El Dr. Glen Gifford resumió los procedimientos seguidos para contactar con los fabricantes de tuberculinas bovinas y solicitar donaciones de tuberculinas a granel candidatas.

Informó al Grupo de que se había contactado a 18 fabricantes donantes explicándoles el proyecto, los requisitos de información sobre el material potencial donado y el proceso de decisión, incluida la hoja de puntuación que el Grupo usaría para la evaluación. La OIE recibió las respuestas de cuatro donantes potenciales, y tres de ellos presentaron los documentos requeridos. Fueron identificados como Fabricante 1, Fabricante 2 y Fabricante 3 para proteger su confidencialidad. Los expertos examinaron los dosieres, y los resúmenes de sus conclusiones se comunicaron al Grupo.

4. Discusión de las evaluaciones por el Grupo *ad hoc* de la documentación y los resultados de las pruebas presentados por los donantes potenciales

El Grupo debatió y evaluó cada uno de los documentos presentados por los tres donantes potenciales, para demostrar su cumplimiento con los criterios de selección del material a granel.

1) Descripción del protocolo de fabricación y del sistema de control de calidad para la producción del derivado proteínico purificado de la tuberculina bovina

El Grupo consideró que el fabricante 1 (M1) había presentado una documentación muy pormenorizada y clara que acreditaba un protocolo claro y un buen registro de seguimiento.

El fabricante 2 (M2) había presentado una descripción breve pero suficientemente clara para demostrar un buen protocolo.

El fabricante 3 (M3) había presentado una información pormenorizada y clara. Sin embargo, el Grupo observó que este fabricante ya no utilizaba métodos de precipitación química como, por ejemplo, sulfato de amonio o ácido tricloroacético, sino concentrados por ultrafiltración, usando una membrana (20 kDa). La disminución del peso molecular de la ultrafiltración es importante, ya que las proteínas de menor peso molecular son altamente inmunogénicas (por ejemplo, ESAT-6 y CFP10, de aproximadamente 10 kDa). El Grupo comentó que si la reducción era excesiva, el fabricante podría perder estos importantes antígenos de bajo peso molecular. El Grupo determinó que un patrón internacional debe ser producido con un procedimiento normalizado, y que el procedimiento adoptado por M3 no era aún un procedimiento aceptado, aunque podría serlo en el futuro. El Grupo lamentó que M3 no hubiese proporcionado la información adicional, incluyendo las especificaciones de la reducción del peso molecular.

El Grupo reconoció que todos los fabricantes habían declarado cumplir las normas de la *Farmacopea Europea* para la fabricación de la tuberculina bovina, tal como lo demostraron las referencias citadas en los dosieres.

2) Resumen que demuestra un historial de producción consecuente a largo plazo con el uso del producto en los programas de control de la tuberculosis bovina (bTB)

El Grupo reconoció que los tres fabricantes poseían un historial de producción de larga data: M1 desde 1982 y M2 desde 1996. M3 también poseía un historial de producción de larga data; sin embargo, utilizaba la nueva metodología de ultrafiltración para la producción de tuberculina solo desde 2005 y tenía un nuevo inóculo original desde 2013.

3) Resumen del uso a gran escala o en un número significativo de animales.

El Grupo reconoció que los tres fabricantes cumplían los requisitos, y que cada uno había suministrado la tuberculina bovina utilizada en millones de animales.

4) Supervisión reglamentaria de los productos comercializados incluyendo: criterios de comercialización e identificación de la autoridad reguladora responsable.

El Grupo reconoció que los tres fabricantes cumplían los requisitos, y que estaban inscritos legalmente en los registros de las autoridades competentes.

5) A efectos de continuidad de los criterios de calidad, el nuevo patrón internacional de tuberculina estándar 2 (ISBT-2) debe tener características de rendimiento en lo posible similares a las del actual patrón internacional de tuberculina bovina 1 (ISBT-1).

El Grupo consideró que el ISBT-1 tenía una potencia de 32 500 UI/mg y observó que M1 tenía una tuberculina con características de rendimiento similares a las del ISBT-1. M2 tenía un producto normalizado de menor potencia (25 000 UI/mg); sin embargo, M2 informó al Grupo de que, en caso de ser seleccionado, produciría un lote de tuberculina de una potencia similar a la del ISBT-1. La caracterización de la tuberculina producida por M3 en comparación con el ISBT-1 no quedaba clara. El Grupo observó que M3 producía una tuberculina de potencia superior (50 000 UI/mg).

6) Certificado de análisis. Debe incluir datos sobre la toxicidad, esterilidad, efecto sensibilizante, especificidad y potencia que cumplan los requisitos para el derivado proteínico purificado de la tuberculina previstos en la *Farmacopea Europea*, monografía para bovinos (01/2008:0536) o su equivalente en otras normas reglamentarias.

El Grupo convino en que el dossier presentado era conforme al formato del cuestionario del Artículo 1.6.7.

El Grupo determinó que las características críticas más importantes eran la esterilidad, especificidad y potencia, y que dos de los tres donantes potenciales de las tuberculinas a granel candidatas habían proporcionado una información pormenorizada. M3 no proporcionó información sobre la especificidad.

7) Cantidad por producción de un solo lote. Las tuberculinas a granel deben tener un contenido de proteínas en el rango de 10-12 g; con una concentración adecuada para la dilución ulterior en una solución amortiguadora de glucosa-fosfato (pH 6,5-7,5) para el llenado a 2 mg/1 ml/ ampolla.

El Grupo observó que, de acuerdo con la información proporcionada, M1 y M2 podrían alcanzar un contenido de proteínas en un rango de 10-12 g; con una concentración adecuada para la dilución ulterior en una solución amortiguadora de glucosa-fosfato (pH 6,5-7,5) para el llenado a 2 mg/1 ml/ ampolla. El Grupo observó que M3 había informado de que la concentración de proteínas de su producto era variable en función del lote producido. El Grupo convino en que el contenido proteínico de un patrón internacional debería ser constante.

8) Uniformidad. El material a granel debe ser suficiente para llenar entre 5000 y 6000 ampollas. El producto debe ser presentado como producto único a granel homogéneo o en forma de ampollas de vidrio transparente o neutro. Toda la documentación y etiquetado deben ser en inglés.

El Grupo convino en que según la información suministrada por M1 y M2, sus productos cumplirían los requisitos. El Grupo observó que M3 había respondido que este requisito no se aplicaba y que no lo cumplía.

- 9) **Potencia. La potencia estimada por mg debería ser en lo posible similar a la del actual patrón ISBT-1, \pm 32 500 unidades internacionales (UI) por mg según los cálculos en cobayas.**

El Grupo observó que la potencia de las preparaciones de campo actualmente utilizadas, dependiendo de la legislación local, es variable: B2000 (la dosis mínima requerida), B2500 y B3000 contienen 2000, 2500 y 3000 UI por dosis de 0,1 ml, respectivamente. Para una especificidad óptima, siempre se ha recomendado una concentración de 1 mg por ml. De ahí que, una potencia de 32 500 UI/mg sería solo ligeramente superior a, por ejemplo, B3000, lo que permitiría una mejor comparación en el ensayo de líneas paralelas. El contenido de cada ampolla debe ser de \pm 2 mg, lo que permitiría conservar los esquemas de dilución actuales.

El Grupo convino en que todos los fabricantes cumplieran con las normas de la *Farmacopea Europea*.

- 10) **Especificidad. La especificidad debe cumplir los requisitos estipulados en el Capítulo 2.4.6, «Tuberculosis bovina» del *Manual de las pruebas de diagnóstico y de las vacunas para los animales terrestres (Manual Terrestre)*.**

El Grupo convino en que el patrón internacional debería estar normalizado en este aspecto. El Grupo observó que ninguno de los fabricantes cumplía este requisito de la OIE para las pruebas de especificidad, por lo que decidió pedirles que realizaran las pruebas de especificidad para la tuberculina bovina en el caso de que fuesen seleccionados para la evaluación ulterior.

- 11) **Liofilización. Para la liofilización, el material a granel no debe contener fenol. Tradicionalmente, el material a granel suele almacenarse a +4 °C en presencia de fenol, utilizado como conservante. Se reconoce que las empresas tal vez tengan que adaptar los procedimientos específicamente para suministrar material a granel sin fenol.**

El Grupo observó que M1 suministraría la tuberculina a granel con una baja concentración de fenol y que había declarado que esto no afectaría a la liofilización. Según esta declaración, si M1 fuese seleccionado, se le pediría que fundamentase por escrito que el nivel de fenol no afectaría a la liofilización o que produjese un lote sin fenol. M2 y M3 informaron de que podían suministrar un lote sin fenol.

El Grupo consideró que debería precisarse el calendario para el suministro por cada proveedor de lotes sin fenol, y que el NIBSC debería determinar basándose en fundamentos científicos si se podía aceptar un producto con baja concentración en fenol.

- 12) **Cepa de producción. *Mycobacterium bovis* (M. bovis) AN5:**

El Grupo acordó que todos los fabricantes usaran una cepa viva AN5 de *Mycobacterium bovis*, adecuadamente referenciada.

- 13) **Establecimiento de un sistema de lote de inóculos certificados para garantizar la continuidad del patrón ISBT-2 en el futuro.**

El Grupo observó que los tres fabricantes tenían establecido un sistema de lotes de inóculos certificados.

- 14) **La cepa de producción del PPD bovino debe ser secuenciada.**

El Grupo consideró que ninguno de los tres fabricantes había secuenciado *M. bovis*, pero que debía exigirse la secuenciación para las tuberculinas candidatas seleccionadas para la evaluación en el laboratorio, de manera que la secuencia de la cepa utilizada para producir el patrón ISBT-2 esté bien definida. El Grupo propuso profundizar el debate sobre esta cuestión en la siguiente reunión especial que se celebrará del 6 al 8 de junio de 2017, en la sede de la OIE. El Grupo convino en que también discutiría si se pondría a disposición una cepa normalizada para la producción de tuberculina y los reactivos correspondientes para las pruebas de potencia

- 15) **Se debe presentar el historial de origen y tránsito de M. bovis AN5.**

El Grupo consideró que este tema ya se trataba exhaustivamente en el punto 12.

16) Se deben explicar los pormenores de los métodos de producción.

El Grupo observó que de los tres fabricantes, M1 y M2 habían presentado una descripción pormenorizada y satisfactoria de los protocolos de producción; mientras que M3 había presentado una descripción incompleta y, por lo tanto, habría que solicitarle más información.

17) La realización de los ensayos con cobayas debe ser conforme a las directrices básicas contempladas en el *Manual Terrestre de la OIE*.

El Grupo convino en que M1 y M2 habían realizado los ensayos de potencia en cobayas y que habían explicado los pormenores satisfactoriamente.

M3 no dio información sobre este tema; sin embargo, señaló que cumplía con lo estipulado en la *Farmacopea Europea*.

En este sentido, el Grupo observó que la *Farmacopea Europea* exigía que las pruebas de potencia se realizaran utilizando *M. bovis* vivo para sensibilizar a las cobayas; mientras que el *Manual Terrestre* de la OIE acepta las pruebas de potencia usando *M. bovis* vivo o inactivado para sensibilizar a los animales y el título 9 del Código de Regulaciones Federales (9 CFR) exige la sensibilización con *M. Bovis* inactivado. Un estudio diseñado por el Grupo *ad hoc* determinará qué método es aceptable. El Grupo apreció que la *Farmacopea Europea* esté al tanto del proyecto de la OIE de reemplazar el actual patrón internacional de tuberculina bovina, y que esté dispuesta a examinar las conclusiones del estudio colaborativo internacional, supervisado por el Grupo, para actualizar sus requisitos en consecuencia.

18) Descripción pormenorizada de los ensayos con cobayas.

El Grupo observó que M1 y M2 habían suministrado información adicional para describir el ensayo con cobayas.

5. Selección de dos fabricantes que donarán las tuberculinas candidatas que el NIBSC formulará en ampollas de prueba para la evaluación de laboratorio.

El Grupo decidió que, aunque el producto de M3 tenía varios puntos fuertes, era la tuberculina candidata que, por los motivos arriba mencionados, no cumplía todas las características exigidas. La cuestión esencial es que el patrón internacional debe ser producido de manera normalizada (es decir, usando los métodos de fabricación generalmente aceptados). El Grupo lamentó que el producto M3 no cumpliera este requisito, y que no hubiese aportado la información complementaria solicitada sobre la caracterización de la tuberculina.

Con respecto a M1, aunque parece ser un buen candidato, un problema importante es la inclusión de fenol en el lote. El Grupo decidió pedir pruebas con fundamentos científicos sobre el impacto del fenol. El Grupo decidió que, basándose en las pruebas aportadas, el producto de M2 parecer ser un candidato idóneo, pero hay algunos puntos que necesitan ser precisados.

El Grupo decidió por unanimidad que se deberían seleccionar los productos de M1 y M2, a reserva de que se den respuestas complementarias satisfactorias a las cuestiones que se abordarán en la próxima reunión en junio de 2017.

6. Otros asuntos

El Grupo se reunirá de nuevo en la sede de la OIE en París del 6 al 8 de junio de 2017 para finalizar la selección de los donantes potenciales.

7. Aprobación del informe

El Grupo decidió difundir el informe para su finalización.

**REUNIÓN DEL GRUPO AD HOC DE LA OIE SOBRE EL REEMPLAZO
DEL PATRÓN INTERNACIONAL DE TUBERCULINA BOVINA
Consulta por teleconferencia el 18 de mayo de 2017**

Antecedentes

Se requiere organizar una teleconferencia del Grupo *ad hoc* para discutir los dosieres de los donantes potenciales de tuberculinas a granel candidatas y seleccionar dos que serán evaluadas ulteriormente.

Términos de referencia

1. El objetivo de la teleconferencia es revisar la documentación y los resultados de las pruebas presentados por los donantes potenciales de las tuberculinas a granel candidatas y seleccionar dos que se enviarán al National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC), donde se formularán en ampollas de prueba. Estas tuberculinas candidatas se evaluarán posteriormente mediante estudios en los Laboratorios de Referencia de la OIE para la tuberculosis bovina y en los laboratorios colaboradores.
-

Temario provisional

1. Apertura
 2. Designación del presidente y del redactor del informe
 3. Aprobación del temario
 4. Examen de los términos de referencia
 - 4.1 Resumir brevemente los procedimientos seguidos para contactar con los fabricantes de tuberculina bovina y solicitar donaciones de tuberculinas a granel candidatas.
 - 4.2 Discutir las evaluaciones efectuadas por el Grupo *ad hoc* de la documentación y los resultados de las pruebas presentados por los donantes potenciales.
 - 4.3 Seleccionar dos fabricantes que donarán las tuberculinas candidatas que serán formuladas en ampollas de prueba en el NIBSC para la evaluación de laboratorio.
 5. Otros asuntos
 6. Aprobación del informe
-

**REUNIÓN DEL GRUPO AD HOC DE LA OIE SOBRE EL REEMPLAZO
DEL PATRÓN INTERNACIONAL DE TUBERCULINA BOVINA
Consulta por teleconferencia el 18 de mayo de 2017**

Lista de participantes

MIEMBROS

Dr. Steven Edwards

(Presidente)

c/o OIE 12 rue de Prony

75017 Paris, FRANCIA

Tel.: (+33-[0]1) 44.15.18.88

Fax: (+33-[0]1) 42.67.09.87

steve-oie@cabanas.waitrose.com

Dra. María Laura Boschioli-Cara

Anses, Unité Zoonoses Bactériennes

Laboratoire de santé animale

23 avenue du Général de Gaulle

94706 Maisons-Alfort Cedex

FRANCIA

Tel.: (+33-[0]1) 49 77 13 00

Fax: (+33-[0]1) 49 77 13 44

Maria-laura.boschioli@anses.fr

Prof. Glyn Hewinson

Animal and Plant Health Agency

New Haw, Addlestone

Surrey KT15 3NB

Weybridge

REINO UNIDO

Tel.: (+44-1932) 34.11.11

Fax: (+44-1932) 34.70.46

glyn.hewinson@apha.gsi.gov.uk

Dr. Bernardo Alonso

Gerencia de Laboratorios (GELAB) del
Servicio Nacional de Sanidad y

Calidad, Agroalimentaria (SENASA)

Avda A. Fleming 1653, 1640 Martínez

Pcia de Buenos Aires, ARGENTINA

Tel.: (+54-11) 48.36.19.92 / 11.73

Fax: (+54-11) 48.36.19.92

balonso@senasa.gov.ar

Dra. Mei Mei Ho

(invitada pero no pudo asistir)

Principal Scientist,

Bacteriology Division, MHRA-

NIBSC,

Blanche Lane, South Mimms,

Potters Bar, Herts., EN6 3QG,

REINO UNIDO

Mei.Ho@nibsc.org

Dra. Lucía de Juan Ferré

Laboratorio de Referencia de la Unión

Europea para la Tuberculosis bovina,

Centro de Vigilancia Sanitaria

Veterinaria VISAVET, Universidad

Complutense de Madrid, Avda. Puerta

de Hierro s/n, 28040 Madrid, ESPAÑA

dejuan@visavet.ucm.es

Dr. Randal Capsel

National Veterinary Services

Laboratories, USDA, APHIS,

Veterinary Services, P.O. Box 844

Ames, Iowa 50010,

ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA

Randy.T.Capsel@aphis.usda.gov

REPRESENTANTE DE LA COMISIÓN DE NORMAS BIOLÓGICAS

Dr. Mehdi El Harrak

(Miembro)

R&D Director, MCI Santé Animale,

BP278 ZI SO, 28810 Mohammedia

MOROCCO

elharrak_m@hotmail.com

Nota: El Dr. El Harrak no participó en la teleconferencia para evaluar los datos de los fabricantes de las tuberculinas candidatas.

SEDE DE LA OIE

Dr. Glen Gifford

Comisionado

Departamento de Ciencias y nuevas
tecnologías

g.gifford@oie.int

Dra. Simona Forcella

Comisionada,

Departamento de Estatus

s.forcella@oie.int

