

Informe de la reunión del Grupo *Ad hoc* sobre la sustitución del patrón internacional de la tuberculina bovina y aviar

Original: inglés (EN)

25 de enero de 2026

Virtual



Organización Mundial
de Sanidad Animal

Departamento Científico
scientific.dept@woah.org

12, rue de Prony
75017 Paris, France

T. +33 (0)1 44 15 18 88
F. +33 (0)1 42 67 09 87
woah@woah.org
www.woah.org

Índice

1. Antecedentes	3
2. Resumen de los avances: 2015 a 2026	3
3. Hito 1: Donación de material a granel y finalización del protocolo (2015-2017)	3
4. Hito 2: Selección de candidatos y preparación del material a granel (2015-2017)	4
5. Hito 3: Evaluación preliminar (PE) (2017-2018).....	4
6. Hito 4: Estudio colaborativo internacional (ICS) (2018-2022)	4
7. Ensayos posteriores al ICS (2022-2025).....	5
7.1. Resultados de los experimentos realizados por la UKHSA y el fabricante (2022-2024)	5
7.2. Resultados de los experimentos realizados por un fabricante particular (2025)	6
8. Debate sobre enfoques alternativos a las pruebas basadas en PPD	6
9. Otros asuntos	7

Lista de anexos

Anexo 1 . Lista de participantes.....	8
---------------------------------------	---

1. Antecedentes

El patrón internacional actual de la tuberculina bovina (también denominado «estándar internacional bovino» o «BIS» o «ISBT») fue establecido en 1986 por el Comité de Expertos en Estandarización Biológica de la OMS. Fue producido originalmente en 1983 por el *Central Diergeneeskundig Instituut*, Países Bajos, y se evaluó en nombre de la OMS por el Central Veterinary Laboratory (CVL) de Weybridge (Reino Unido) mediante la coordinación de un estudio colaborativo internacional, y posteriormente adoptado y designado por la OMS. El *National Institute for Biological Standards and Control* (NIBSC) del Reino Unido es quien conserva y distribuye el ISBT, que es un centro colaborador de la OMS y laboratorio internacional. El ISBT está destinado a la calibración del «estándar interno» de tuberculina derivada de proteína purificada bovina (PPD). En 2015, se informó a la OMSA de que las existencias de ISBT eran críticamente bajas y, en base a la demanda de aquel momento, se estimó que serían suficientes hasta 2026-2028.

El Grupo *ad hoc* de la OMSA (en adelante, el Grupo) sobre la sustitución del patrón internacional de la tuberculina bovina se reunió por primera vez en [noviembre de 2015](#) con el fin de sustituir el ISBT de aquel momento mediante el establecimiento de un nuevo estándar de referencia (ISBT-2) y el desarrollo y la evaluación de pruebas de diagnóstico de «segunda generación» para la tuberculosis bovina.

El Grupo acordó que todo nuevo ISBT debía evaluarse y calibrarse mediante un estudio dirigido por la OMSA y guiado por un panel de expertos. Este enfoque contó con el apoyo de la OMS, que era miembro del Grupo. El proyecto consistió en evaluar y calibrar las tuberculinas candidatas con respecto al ISBT del momento. El Grupo se reunió en persona en [mayo de 2017](#) y [noviembre de 2019](#) y, hasta la fecha, se han organizado consultas electrónicas periódicas para planificar, ejecutar y analizar las distintas fases del proyecto. El Grupo proporcionó información actualizada periódicamente a la Comisión de Normas Biológicas (BSC, por las siglas en inglés de *Biological Standard Committee*) y sus recomendaciones se incluyen en los informes de las reuniones publicados [aquí](#).

El ISBT ya se ha eliminado del catálogo del NIBSC y se ha interrumpido su suministro.

Desde 2022, el Grupo también tiene la tarea de establecer nuevos patrones internacionales de la tuberculina aviar.

El presente informe tiene por objeto resumir la evolución, los resultados, las conclusiones y las recomendaciones de este proyecto desde noviembre de 2019 hasta 2025.

2. Resumen de los avances: 2015 a 2026.

En esta sección se ofrece una descripción exhaustiva de la planificación, la evolución metodológica, las principales conclusiones y los debates derivados de los experimentos científicos realizados por el Grupo entre 2015 y 2025 para identificar un sustituto adecuado del ISBT, que se está agotando. En el proyecto participaron el NIBSC, 15 laboratorios nacionales para la tuberculosis, institutos de investigación de todo el mundo, fabricantes de tuberculina y múltiples pruebas en experimentos con cobayas y ganado bovino.

El proyecto tuvo cinco fases importantes: donación de material a granel y finalización del protocolo, selección de candidatos y preparación de material a granel, evaluación preliminar (PE), un *International Collaborative Study* (ICS) y, finalmente, la adopción del nuevo ISBT-2. Sin embargo, a pesar de la exhaustiva evaluación, se llevaron a cabo nuevos experimentos tras la finalización del ICS en 2022. En 2026, el candidato B ha sido rechazado debido a deficiencias persistentes en su potencia en relación con el perfil objetivo del ISBT-2. La sección también destaca los retos técnicos encontrados durante los experimentos y concluye con consideraciones sobre alternativas futuras, como las tuberculinas definidas molecularmente (MDT, por las siglas en inglés de *Molecularly Defined Tuberculins*), para reforzar la estandarización global de los diagnósticos de la tuberculosis bovina.

3. Hito 1: Donación de material a granel y finalización del protocolo (2015-2017)

En 2015, el Grupo acordó inicialmente un protocolo para la evaluación del material a granel candidato a la tuberculina, de conformidad con el [Capítulo 3.1.13 del Manual Terrestre](#) de la OMSA, que recomendaba que se utilizara *M. bovis* vivo o *M. bovis* AN5 inactivado para la sensibilización de cobayas. El Grupo acordó que el material a granel debía ser suficiente para llenar 5 000 ampollas del nuevo patrón, lo que sería suficiente para satisfacer la demanda estimada para los próximos 20 años. Cada ampolla debía contener 2 mg de proteína con al menos 30 000 UI/mg, verificadas mediante un ensayo de línea paralela o respaldadas por un riguroso análisis post-hoc.

En 2017, el Grupo observó que la *Farmacopea Europea (Ph. Eur.)* solo recomienda utilizar un modelo de sensibilización con *M. bovis* AN5 vivo, mientras que el capítulo 3.1.13 recomienda modelos de sensibilización con cepas vivas e inactivas para la determinación de la potencia. El Grupo había recomendado incluir el modelo de cepa inactiva, ya que era preferible desde el punto de vista logístico y éticamente preferible. Sin embargo, reconoció que también introduce una limitación crítica, dado que las respuestas inmunitarias generadas por este método no reproducían adecuadamente las observadas en el ganado sensibilizado de forma natural, lo que reducía la comparabilidad de los ensayos y la fiabilidad de las estimaciones de potencia. A pesar de lo anterior, el Grupo señaló que la realización de ICS utilizando tanto *M. bovis* AN5 vivo como inactivado tiene un valor añadido, ya que generaría datos para determinar si la sensibilización con *M. bovis* AN5 vivo podría sustituirse por *M. bovis* AN5 inactivado. No obstante, en aras de la normalización de las pruebas de potencia, el Grupo aconsejó utilizar un reactivo sensibilizante inactivado estandarizado. El Grupo recomendó sensibilizar a las cobayas en la evaluación preliminar con *M. bovis* AN5 inactivo, mientras que para el ICS a gran escala se deberían utilizar cepas de *M. bovis* AN5 tanto vivas como inactivas. El protocolo revisado garantizaba el cumplimiento de *la Ph. Eur.* El protocolo fue aprobado por la BSC en septiembre de 2017.

4. Hito 2: Selección de candidatos y preparación de material a granel (2015-2017)

En 2015, la OMSA lanzó una convocatoria mundial para la donación de candidatos a tuberculina y, en 2017, el Grupo evaluó los candidatos tras una rigurosa revisión de los expedientes de los fabricantes en función de criterios de selección predefinidos. Tres candidatos manifestaron su interés en la donación. Sin embargo, solo dos candidatos (en lo sucesivo, «candidato A» y «candidato B») proporcionaron información suficiente al Grupo. Ambos candidatos demostraron el cumplimiento de los criterios de selección, proporcionaron protocolos de fabricación detallados e información suficiente sobre los sistemas de control de calidad, y tenían un largo historial de suministro de tuberculina para los programas nacionales de control de la tuberculosis. Utilizaban *M. bovis* con sistemas de lotes de semillas certificados, lo que garantizaba la trazabilidad y la continuidad. Podían producir suficiente material a granel para 5000-6000 ampollas por lote, cumpliendo los requisitos de uniformidad. La potencia declarada del candidato A era de aproximadamente 23 000 UI/mg, y la del candidato B era de 34 000 UI/mg, ambas dentro del rango aceptable, es decir, entre el 50% y el 200% en relación con la potencia del ISBT. Por lo tanto, el Grupo recomendó preseleccionar al candidato A y al candidato B para la liofilización/deshidratación por congelación del material a granel donado en el NIBSC, con el fin de prepararlo para su posterior evaluación preliminar y estudios internacionales.

Para obtener más información sobre los criterios de selección para preseleccionar el material a granel candidato, las cualidades técnicas del material a granel donado y el protocolo para los estudios, consulte la reunión del Grupo celebrada en [mayo de 2017](#) y el informe de la BSC [de septiembre de 2017](#).

5. Hito 3: Evaluación preliminar (EP) (2017-2018)

Dos Laboratorios de Referencia de la OMSA para la tuberculosis bovina (es decir, el SENASA y la ANSES, Francia) llevaron a cabo una EP de la tuberculina candidata utilizando un pequeño «relleno de prueba» preparado por el NIBSC. La EP se realizó en cobayas sensibilizadas con la cepa *M. bovis* AN5 inactivada, ISBT, y con preparaciones preliofilizadas y liofilizadas de las dos tuberculinas candidatas. La evaluación se llevó a cabo para valorar el impacto del proceso de liofilización en la potencia, su especificidad y la idoneidad de la candidata para la siguiente fase de estudios internacionales. Además de lo anterior, la EP también incluyó una evaluación de una formulación estandarizada de *M. bovis* inactivada por calor en aceite mineral para su posible uso como alternativa a *la M. bovis* AN5 viva para la sensibilización de cobayas. Los resultados de la EP fueron satisfactorios y se recomendó a los candidatos para el ICS en 2018.

6. Hito 4: Estudio colaborativo internacional (ICS) (2018-2022)

El ICS se inició para calibrar las tuberculinas candidatas (es decir, la candidata A y la candidata B) con respecto al ISBT del momento utilizando protocolos armonizados en múltiples laboratorios. El estudio incluyó ensayos con cobayas utilizando la cepa *M. bovis* AN5 inactivada por calor, pruebas de especificidad con *Mycobacterium avium* para confirmar la baja reactividad cruzada y ensayos de idoneidad para el ganado en animales infectados de forma natural y experimental utilizando la prueba cervical comparativa y pruebas de estabilidad para controlar la retención de potencia en la conservación a largo plazo. Los estudios concluyeron en 2019 y, basándose en estos resultados, el Grupo propuso al candidato B como sustituto preferido del ISBT, ya que su actividad biológica y fisicoquímica era la más cercana a la del ISBT. El Grupo recomendó que el candidato B se designara condicionalmente como

ISBT-2, siempre que se completaran con éxito dos estudios adicionales en ganado bovino y evaluaciones de estabilidad/vida útil. Se recomendó mantener el candidato A como posible patrón de referencia calibrado para futuros ensayos de potencia. Los detalles de estos estudios se pueden encontrar en el informe de la reunión del Grupo [de noviembre de 2019](#).

Sin embargo, en 2020, se aconsejó al Grupo que revisara el protocolo para incluir un patrón alternativo, su metodología, análisis de datos e interpretación, y que luego reevaluara la potencia del candidato B. También se aconsejó incluir otro patrón de PPD distinto del ISBT del momento para mitigar las preocupaciones relativas a la degradación que podría dar lugar a una variabilidad en la potencia del ISBT debido a la conservación a largo plazo. Además, se recomendó excluir los ensayos con cobayas inactivadas por calor, los ensayos con ganado en reactores de campo o los ensayos en anillo, ya que podrían no ser útiles para asignar potencia al ISBT-2.

En la reunión de la BSC celebrada en [febrero de 2021](#), el Grupo informó sobre la revisión del protocolo y se propuso realizar una nueva serie de experimentos basados en la metodología actualizada en el Laboratorio de Referencia de la OMSA para *el complejo Mycobacterium tuberculosis* (SENASA), Argentina. Estos ensayos se completaron en 2022 y el Grupo presentó los resultados del experimento a la BSC en su reunión [de febrero de 2022](#). El Grupo informó de que los ensayos de potencia realizados en el SENASA utilizando el protocolo revisado, incluido su patrón interno como patrón alternativo, mostraron que el candidato B tenía una potencia inferior a la esperada. Su actividad relativa se sitúa entre el 60 % y el 70 % ($\approx 21\ 000$ UI/mg), por debajo del objetivo mínimo acordado de 30 000 UI/mg. El Grupo recomendó investigar tres posibles causas de estas estimaciones de potencia baja: la degradación del ISBT, la precipitación (agregación de proteínas) del ISBT tras la reconstitución y la reducción de la patogenicidad de la cepa *M. bovis* AN5 empleada localmente.

Para abordar estas preocupaciones, el Grupo recomendó que el fabricante del candidato B lo volviera a analizar junto con el ISBT y su patrón interno en sus instalaciones. El Grupo también solicita que las pruebas de potencia del candidato B se repitan en otro lugar para confirmar los resultados anteriores del SENASA y eliminar la posible variabilidad específica del laboratorio. La *Health Security Agency* del Reino Unido (UKHSA) se unió al proyecto para realizar los experimentos, dada su experiencia en ensayos de sensibilización en cobayas y su capacidad para aplicar métodos analíticos rigurosos en condiciones controladas. Además, el Grupo aconsejó que la agregación de proteínas tanto en el ISBT como en el candidato B se evaluara utilizando un analizador de partículas antes de la inyección en cobayas, ya que la agregación podría afectar significativamente a las estimaciones de potencia y explicar las inconsistencias observadas en ensayos anteriores.

7. Ensayos posteriores al ICS (2022-2025)

Resultado de los experimentos realizados por la UKHSA y el fabricante (2022-2024)

Basándose en las recomendaciones del Grupo, dos institutos independientes llevaron a cabo experimentos entre 2022 y 2024.

El fabricante del candidato B completó el ensayo con cobayas en sus instalaciones utilizando su patrón interno, el candidato B y el ISBT. El experimento arrojó buenos resultados en cuanto a replicabilidad y baja variabilidad. Sin embargo, las estimaciones de potencia fueron significativamente inferiores a las expectativas del candidato B, el ISBT y su patrón interno. Estos resultados no pudieron explicar la reducción de la potencia del candidato B y subrayaron aún más su continua incertidumbre, lo que reforzó la idea de que no era adecuado como ISBT-2.

De manera similar, la UKHSA llevó a cabo una serie de ensayos de potencia en cobayas utilizando el ISBT, el candidato B y un patrón interno proporcionado por el fabricante del candidato B. Los viales del ISBT y del candidato B se evaluaron para detectar precipitaciones utilizando un analizador de partículas antes de su uso, con el fin de mitigar el riesgo de deterioro del ISBT o del candidato B. A lo largo de estos experimentos, se introdujeron mejoras adicionales en el protocolo para reducir la variabilidad del ensayo y mejorar la precisión de la dosis infecciosa. Esto incluyó la optimización del volumen de inoculación de 200 μ L a 50 μ L y la ampliación del intervalo entre la sensibilización y la administración de PPD a 5 semanas para mejorar las respuestas inmunitarias.

El Grupo revisó todos los resultados y presentó su evaluación en la reunión de la BSC celebrada en [septiembre de 2025](#). Tanto la BSC como el Grupo reconocieron que, a pesar de estos esfuerzos, los resultados de estos experimentos seguían siendo inconsistentes, debido principalmente a las débiles relaciones dosis-respuesta, la alta variabilidad en las mediciones de las pruebas cutáneas, las diferencias en las respuestas inmunitarias entre animales y la falta de reproducibilidad entre los estudios y las réplicas en la dosis infecciosa. Debido a estas limitaciones, no fue posible determinar de forma fiable la potencia del candidato B, a pesar de las repetidas mejoras del protocolo y los esfuerzos analíticos.

Resultados de los experimentos realizados por un fabricante particular (2025)

El Grupo recomendó realizar una última ronda de ensayos ciegos con cobayas utilizando el mismo protocolo, pero a cargo de un fabricante particular de tuberculina (distinto del proveedor del candidato B), ya que este tiene experiencia en la realización de estos ensayos a escala comercial y la probabilidad de error humano sería mínima, con una ejecución precisa de los ensayos. Dado que el enmascaramiento era un paso esencial para eliminar el sesgo inconsciente en la interpretación de las reacciones de las pruebas cutáneas, uno de los expertos del Grupo visitó las instalaciones del fabricante para realizar las lecturas de los animales.

Durante las conversaciones, el fabricante solicitó aclaraciones sobre el protocolo acordado, ya que el diseño original estaba pensado para tres PPD (ISBT, un patrón alternativo o interno y el candidato B). Por el contrario, el fabricante tenía previsto evaluar solo el ISBT y el candidato B. El Grupo revisó el protocolo del fabricante, que utiliza cuatro diluciones a la mitad (1/250, 1/500, 1/1000, 1/2000 UI) y ocho puntos de inyección (cuatro por cada costado). Este enfoque se consideró óptimo y analíticamente superior al protocolo anterior del Grupo de tres diluciones a la quinta parte (1/150, 1/750, 1/3750 UI), que se había adoptado debido a las limitaciones en el número de cobayas y el número de PPD utilizados. El Grupo señaló que el protocolo del fabricante, que consistía en utilizar un diseño de cuadrado latino de ocho por ocho con cuatro diluciones, proporcionaría una mayor potencia estadística y minimizaría el sesgo experimental. Por lo tanto, el Grupo acordó que debía proceder utilizando su propio protocolo.

El fabricante completó los ensayos ciegos finales entre octubre y noviembre de 2025 y el Grupo analizó los datos de los ensayos¹. La potencia se estimó mediante un análisis de líneas paralelas en COMBISTAT y se asignó al candidato B una potencia de entre 18 000 y 19 116 UI/mg, lo que está por debajo del requisito mínimo de 30 000 UI/mg especificado en el perfil objetivo. Los resultados fueron coherentes en todos los ensayos. El Grupo concluyó que el candidato B mostraba una potencia inferior a la esperada, probablemente debido a problemas de formulación o estabilidad, y advirtió que, dado que el ISBT ya tiene una composición antigénica mal definida, la estandarización con un producto de menor potencia comprometería la estandarización global de la tuberculina, reduciendo la comparabilidad de los resultados de la PPD entre laboratorios y lotes. En consecuencia, el Grupo recomendó rechazar el candidato B como sustituto del ISBT y que la OMSA reiniciara el proceso para identificar un nuevo candidato para la donación de material a granel.

8. Debate sobre enfoques alternativos a las pruebas basadas en PPD

El Grupo también debatió el valor de identificar un enfoque alternativo para los ensayos basados en PPD. Señaló que [los recientes avances](#) en la tuberculina definida molecularmente (MDT, por la siglas en inglés de *molecularly defined tuberculin*) habían indicado una sensibilidad y especificidad comparables a las pruebas cutáneas tradicionales basadas en PPD en ganado infectado experimentalmente. Las MDT son antígenos bien definidos que pueden ayudar a reducir la variabilidad dentro de un mismo lote, mejorar la estandarización entre regiones y mostrar una alta sensibilidad en diversas plataformas de diagnóstico. Lo más importante es que la MDT podría eliminar la necesidad de modelos biológicos complejos basados en animales y permitir métodos de control de calidad más sólidos. El Grupo consideró esta opinión y destacó la necesidad de pasar eventualmente de los patrones internacionales basados en PPD a patrones basados en MDT, independientemente del resultado de las próximas pruebas con ISBT. Sin embargo, el Grupo reconoció que la MDT es un avance científico reciente y que su producción a gran escala requeriría mucho tiempo. Otros retos son la limitada validación sobre el terreno, los posibles problemas de sensibilidad en comparación con la PPD, las complejidades normativas y logísticas, así como la necesidad de una importante inversión en I+D. El Grupo recomendó continuar los esfuerzos para identificar nuevos candidatos y relanzar el proceso utilizando los mismos criterios técnicos que se utilizaron en la primera

¹ Los datos del ensayo pueden facilitarse previa solicitud a la Secretaría de la OMSA.

convocatoria de donaciones. Al mismo tiempo, la OMSA debería avanzar gradualmente en los experimentos normativos y científicos necesarios para aceptar la MDT como solución a largo plazo.

El Grupo sugirió que la OMSA convocara a los fabricantes para fomentar el desarrollo de un antígeno de MDT disponible en el mercado como herramienta de diagnóstico de la tuberculosis bovina. La vía de validación de pruebas de diagnóstico de la OMSA, tal y como se describe en el *Manual Terrestre* de la OMSA, establece el proceso para incorporar la MDT en sus normas. La OMSA podría coordinar esta iniciativa a través de sus Laboratorios de Referencia para garantizar el rigor científico y la credibilidad. El Grupo acordó elaborar un documento conceptual sobre el proceso necesario para establecer la MDT como patrón de referencia internacional para su posible adopción en las normas de la OMSA. En su reunión de septiembre de 2025, la BSC reconoció las preocupaciones y acordó revisar la hoja de ruta del Grupo para el desarrollo de la MDT. Advirtieron que el Grupo debería tener en cuenta que, si bien la MDT se presenta como una alternativa prometedora a la PPD biológica tradicional (es decir, el ISBT), su sensibilidad es menor, mientras que su especificidad es mayor que la de las PPD en animales infectados de forma natural. Se necesita información sobre la normativa, los aspectos científicos y el trabajo de campo necesarios en diferentes entornos epidemiológicos para establecer la MDT como alternativa al ISBT en el futuro.

9. Otros asuntos

.../Anexos

Anexo 1. Lista de participantes

REUNIÓN DEL GRUPO *AD HOC* SOBRE LA SUSTITUCIÓN DEL PATRÓN INTERNACIONAL DE TUBERCULINA BOVINA Y AVIAR

Virtual, 21 de enero de 2026

MIEMBROS

Dra. María Laura Boschioli (Presidenta)

Laboratorio de Referencia de la OMSA para la Tuberculosis de los Mamíferos
ANSES, Unité Zoonoses Bactériennes
Laboratoire de santé animale
23 avenue du Général de Gaulle
94706 Maisons-Alfort Cedex,
FRANCIA

Dr. Bernardo Alonso

Laboratorio de Referencia de la OMSA para la Tuberculosis de los Mamíferos
Dirección General de Laboratorios y Control
Técnico del Servicio Nacional de Sanidad y Calidad, Agroalimentaria (SENASA)
Avda. Talcahuano 1660, 1640 Martínez
Provincia de Buenos Aires,
ARGENTINA

Dr. Mark Chambers

Laboratorio de Referencia de la OMSA para la Tuberculosis de los Mamíferos
Animal and Plant Health Agency (APHA),
Weybridge, Woodham Lane, New Haw, Addlestone,
KT15 3NB
REINO UNIDO

Prof. Vivek Kapur

Universidad Estatal de Pensilvania
University Park, Pensilvania, 16802
ESTADOS UNIDOS

Dra. Beatriz Romero Martínez

Laboratorio de Referencia de la OMSA para la Tuberculosis de los Mamíferos
Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET)
Universidad Complutense de Madrid
ESPAÑA

PARTICIPANTES DE LA OMSA

Dr. Gregorio Torres

Jefe del Departamento Científico

Dra. Monal Daptardar

Coordinadora científica
Departamento Científico