

# Vectores virales en terapias génicas: revisión de estrategias regulatorias internacionales para la gestión de riesgos

Este material suplementario ha sido provisto por el autor para ofrecer información adicional relacionada con la siguiente publicación:

Martilotta A. Vectores virales en terapias génicas: revisión de estrategias regulatorias internacionales para la gestión de riesgos.  
Revista Científica ANMAT. 2026;7:e88. DOI: <https://doi.org/10.62035/rca.7.88>

## ÍNDICE

TABLA S1: GUÍAS REGULATORIAS INTERNACIONALES PARA PRODUCTOS DE TERAPIA GÉNICA (1994-2024) ..... 2

TABLA S2: PRODUCTOS DE TERAPIA GÉNICA APROBADOS. CARACTERIZACIÓN VECTORIAL Y APLICACIONES CLÍNICAS (2012-2024). ..... 6

TABLA S3: FACTORES DE RIESGO Y ESTRATEGIAS DE CONTROL EN TERAPIA GÉNICA SEGÚN ARMONIZACIÓN REGULATORIA INTERNACIONAL. .... 8

TABLA S4: PUNTOS DE CONTROL CRÍTICOS EN LA PRODUCCIÓN DE VECTORES DE TERAPIA GÉNICA. ....10

TABLA S5: TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA CARACTERIZACIÓN Y CONTROL DE CALIDAD DE VECTORES DE TERAPIA GÉNICA. ....12

**TABLA S1:** GUÍAS REGULATORIAS INTERNACIONALES PARA PRODUCTOS DE TERAPIA GÉNICA (1994-2024).

Nombre de la guía	Fecha	Descripción	Campo científico	Entidad emisora
<a href="#"><i>Gene therapy product quality aspects in the production of vectors and genetically modified somatic cells</i></a>	1994	Recomendaciones de calidad para productos de terapia génica derivados por biotecnología/tecnología avanzada y destinados para uso humano	Calidad de Productos de Terapia Génica	Agencia Europea de Medicamentos (EMA)
<a href="#"><i>Guidance for Human Somatic Cell Therapy and Gene Therapy</i></a>	1998	Actualización de la guía de 1991 sobre preocupaciones regulatorias para terapias celulares y génicas	Terapia Celular y Genética	Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA)
<a href="#"><i>Guideline on development and manufacture of lentiviral vectors (CHMP/BWP/2458/03)</i></a>	2005	Descripción de aspectos de calidad relevantes para los vectores lentivirales	Desarrollo y Manufactura	EMA
<a href="#"><i>Non-clinical testing for inadvertent germline transmission of gene transfer vectors</i></a>	2006	Orientación sobre pruebas no clínicas para la transmisión involuntaria a la línea germinal de vectores de transferencia génica	Pruebas No Clínicas	EMA
<a href="#"><i>Guideline on Human Cell-Based Medicinal Products</i></a>	2006	Directrices para productos medicinales basados en células humanas	Celular Basado en Humanos	EMA
<a href="#"><i>Non-clinical studies required before first clinical use of gene therapy medicinal products</i></a>	2008	Definición de principios científicos y orientación para estudios no clínicos requeridos antes del primer uso en sujetos humanos	Estudios No Clínicos	EMA
<a href="#"><i>Guideline on safety and efficacy follow-up and risk management of advanced therapy medicinal products.</i></a>	2008	Descripción de aspectos específicos de farmacovigilancia, planificación de gestión de riesgos y seguimiento de seguridad y eficacia de los medicamentos de terapia avanzada autorizados	Seguimiento de Seguridad y Eficacia	EMA
<a href="#"><i>Guideline on Non-Clinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals (ICH M3(R2))</i></a>	2009	Directrices para estudios de seguridad no clínicos necesarios antes de la realización de ensayos clínicos en humanos y para la autorización de comercialización de productos farmacéuticos	Estudios de Seguridad No Clínicos	International Council for Harmonisation (ICH)

<a href="#"><i>Follow-up of patients administered with gene therapy medicinal products</i></a>	2009	Abordaje de aspectos específicos del seguimiento clínico activo de pacientes tratados con productos medicinales de terapia génica	Seguimiento Clínico	EMA
<a href="#"><i>Guideline for Follow-up of Patients Administered with Gene Therapy Medicinal Products</i></a>	2009	Orientación sobre seguimiento de pacientes administrados con productos de terapia génica	Seguimiento de Pacientes	EMA
<a href="#"><i>Guideline on quality, non-clinical and clinical aspects of live recombinant viral vectored vaccines (EMA/CHMP/VWP/141697/2009)</i></a>	2010	Recomendaciones sobre calidad, estudios no clínicos y clínicos para vacunas vectorizadas viral recombinante	Calidad, Aspectos No Clínicos y Clínicos	EMA
<a href="#"><i>Potency Tests for Cellular and Gene Therapy Products.</i></a>	2011	Recomendaciones para el desarrollo de pruebas de potencia para productos de terapia génica y celular	Pruebas de Potencia	FDA
<a href="#"><i>Risk-based approach according to Annex I, part IV of Directive 2001/83/EC applied to Advanced Therapy Medicinal Products.</i></a>	2013	Aplicación de un enfoque basado en riesgos para la autorización de comercialización de medicamentos de terapia avanzada	Enfoque Basado en Riesgos	EMA
<a href="#"><i>Guideline on Risk-Based Approach According to Annex I, Part IV of Directive 2001/83/EC Applied to Advanced Therapy Medicinal Products</i></a>	2013	Enfoque basado en riesgos para medicamentos de terapia avanzada según la Directiva 2001/83/EC	Riesgo de ATMP	EMA
<a href="#"><i>Preclinical Assessment of Investigational Cellular and Gene Therapy Products.</i></a>	2013	Recomendaciones para la evaluación preclínica de productos de terapia génica y celular en investigación	Evaluación Preclínica	FDA
<a href="#"><i>Recommendations for Microbial Vectors Used for Gene Therapy</i></a>	2016	Recomendaciones para la presentación de solicitudes de nuevos fármacos en investigación (INDs) para vectores microbianos en ensayos clínicos de fase temprana	Vectores Microbianos	FDA
<a href="#"><i>Guideline on Potency Testing of Cell-Based Immunotherapy Medicinal Products for the Treatment of Cancer</i></a>	2016	Directrices sobre pruebas de potencia de productos de inmunoterapia celular para el tratamiento del cáncer	Pruebas de Potencia de Inmunoterapia	EMA
<a href="#"><i>Guideline on Quality, Non-Clinical and Clinical Aspects of Gene Therapy Medicinal Products</i></a>	2018	Orientación sobre calidad, aspectos no clínicos y clínicos de productos de terapia génica	Calidad de Terapia Génica	EMA

<a href="#"><i>Quality, preclinical and clinical aspects of gene therapy medicinal products</i></a>	2018	Directrices para el desarrollo y evaluación de productos de terapia génica	Terapia Genética	EMA
<a href="#"><i>Disposición ANMAT 179/2018</i></a>	2018	Regulación de productos medicinales de terapia avanzada, incluyendo calidad, seguridad y eficacia	Terapias Avanzadas	Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT)
<a href="#"><i>Guideline on quality, non-clinical and clinical requirements for investigational advanced therapy medicinal products in clinical trials</i></a>	2019	Requisitos de datos para ensayos clínicos con productos de terapia avanzada	Investigación en Terapia avanzada	EMA
<a href="#"><i>Chemistry, Manufacturing, and Control (CMC) Information for Human Gene Therapy Investigational New Drug Applications (INDs)</i></a>	2020	Información sobre CMC para productos de terapia génica	CMC para INDs	FDA
<a href="#"><i>Long Term Follow-up After Administration of Human Gene Therapy Products</i></a>	2020	Diseño de estudios de seguimiento a largo plazo para datos sobre eventos adversos tardíos	Seguimiento a Largo Plazo	FDA
<a href="#"><i>Testing of Retroviral Vector-Based Human Gene Therapy Products for Replication Competent Retrovirus During Product Manufacture and Patient Follow-up</i></a>	2020	Vigilancia para excluir la presencia de retrovirus competentes para la replicación en productos de terapia génica	Pruebas de Retrovirus	FDA
<a href="#"><i>ICH Q5A(R2) - Viral Safety Evaluation of Biotechnology Products Derived from Cell Lines of Human or Animal Origin</i></a>	2023	Evaluación de seguridad viral de productos biotecnológicos derivados de líneas celulares humanas o animales	Seguridad Viral en Biotecnología	ICH
<a href="#"><i>Guideline on the Quality, Safety, and Efficacy of Gene Therapy Medicinal Products (ICH S12)</i></a>	2023	Consideraciones no clínicas sobre la biodistribución de productos de terapia génica	Biodistribución en Terapia Génica	ICH

<a href="#"><i>European Pharmacopoeia - Gene Therapy Section</i></a>	2023	Sección de terapia génica en la Farmacopea Europea (Ph. Eur.)	Terapia Genética	Ph. Eur.
<a href="#"><i>Points to Consider in the Development of in vivo Gene Therapy Products with Target Specificity - Including in vivo CAR-T Development</i></a>	2024	Puntos clave para el desarrollo y evaluación de productos de terapia génica, incluyendo calidad, seguridad y eficacia	Desarrollo de Terapia Génica	<i>Pharmaceuticals and Medical Devices Agency (PMDA)</i>
<a href="#"><i>Considerations for the Development of Chimeric Antigen Receptor (CAR) T-Cell Therapies</i></a>	2024	Puntos a considerar en el desarrollo de productos de terapia génica <i>in vivo</i> con especificidad de diana	Terapias CAR-T	FDA
<a href="#"><i>Guideline on quality, non-clinical and clinical requirements for investigational advanced therapy medicinal products in clinical trials</i></a>	2024	Requerimientos clínicos y no clínicos para la investigación de medicamentos de terapia avanzada en ensayos clínicos (EMA/CAT/852292/2017)	Riesgo de ATMP	EMA

**TABLA S2: PRODUCTOS DE TERAPIA GÉNICA APROBADOS. CARACTERIZACIÓN VECTORIAL Y APLICACIONES CLÍNICAS (2012-2024).**

Nombre comercial	Año de aprobación	Tipo de vector	Mecanismo de acción	Tipo de modificación genética	Indicación de uso	Tipo de aplicación	Entidades regulatorias
Glybera	2012	Adenoasociado	Lipoproteína lipasa (LPL S447X)	Inserción de gen funcional	Deficiencia en la lipoproteína	<i>In vivo</i>	EMA
Imlygic	2015	Virus del Herpes simple tipo 1	GM-CSF, delección de ICP47 e ICP34.5	Delección de genes	Melanoma	<i>In vivo</i>	FDA, EMA, PMDA
Strimvelis	2016	Retrovirus	Adenosina desaminasa (ADA)	Inserción de gen funcional	Inmunodeficiencia Combinada Severa causada por una deficiencia en la enzima Adenosina Desaminasa	<i>Ex vivo (CD34+ cell)</i>	EMA
Kymriah	2018	Lentivirus	CD19 CAR	Inserción de CAR sintético	Leucemia linfoblástica aguda de células B	<i>Ex vivo (T cell)</i>	FDA, EMA, PMDA
Yescarta	2018	Retrovirus	CD19 CAR	Inserción de CAR sintético	Linfoma de células B grandes	<i>Ex vivo (T cell)</i>	FDA, EMA, PMDA
Luxturna	2018	Adenoasociado	RPE65	Inserción de gen funcional	Distrofia retiniana	<i>In vivo</i>	FDA, EMA, PMDA, ANMAT
Zynteglo	2019	Lentivirus	$\beta$ A-T87Q-globina	Inserción de gen funcional	$\beta$ -talasemia dependiente de transfusiones	<i>Ex vivo (CD34+ cell)</i>	EMA
Zolgensma	2020	Adenoasociado	SMN1	Inserción de gen funcional	Atrofia muscular espinal pediátrica	<i>In vivo</i>	FDA, EMA, PMDA
Tecartus	2020	Retrovirus	CD19 CAR	Inserción de CAR sintético	Linfoma de células del manto	<i>Ex vivo (T cell)</i>	FDA, EMA, PMDA
Libmeldy	2020	Lentivirus	Gen ARSA	Inserción de gen funcional	Leucodistrofia metacromática	<i>Ex vivo (CD34+ cell)</i>	EMA
Teserpaturev (o Delytact)	2021	Virus del Herpes simple tipo 1	Oncolítico (replicación selectiva + inmunoestimulación)	-	Glioma maligno	<i>In vivo</i>	PMDA
Skysona	2021	Lentivirus	Gen ABCD1	Inserción de gen funcional	Adrenoleucodistrofia cerebral	<i>Ex vivo (CD34+ cell)</i>	EMA

Abecma	2021	Lentivirus	BCMA CAR	Inserción de CAR sintético	Mieloma múltiple	<i>Ex vivo (T cell)</i>	FDA, EMA, PMDA
Breyanzi	2022	Lentivirus	CD19 CAR	Inserción de CAR sintético	Linfoma de células B grandes, linfoma folicular	<i>Ex vivo (T cell)</i>	FDA
Carvykti	2022	Lentivirus	BCMA CAR	Inserción de CAR sintético	Mieloma múltiple	<i>Ex vivo (T cell)</i>	FDA, PMDA
Upstaza	2022	Adenoasociado	AADC gene	Inserción de gen funcional	Deficiencia de AADC	<i>In vivo</i>	EMA
Roctavian	2022	Adenoasociado	Gen de factor VIII	Inserción de gen funcional	Hemofilia A	<i>In vivo</i>	FDA, EMA
Adstiladrin	2022	Adenovirus	IFN $\alpha$ 2b	Expresión de citoquinas	Cáncer de vejiga	<i>In vivo</i>	FDA
Hemgenix	2023	Adenoasociado	Factor IX	Inserción de gen funcional	Hemofilia B	<i>In vivo</i>	FDA, EMA, PMDA
Vyjuvek	2023	Virus del Herpes simple tipo 1	COL7A1	Inserción de gen funcional	Epidermólisis ampollosa distrófica	<i>In vivo</i>	FDA
Elevidys	2023	Adenoasociado	DMD	Inserción de gen funcional	Distrofia muscular de Duchenne	<i>In vivo</i>	FDA
LyfGenia	2023	Lentiviral	Inserta una copia funcional del gen $\beta$ -globina	Inserción de gen funcional	Anemia falciforme con crisis vasooclusivas	<i>Ex vivo</i>	FDA
Beqvez	2024	Adenoasociado	Introduce el gen del factor IX	Inserción de gen funcional	Hemofilia B moderada a severa	<i>In vivo</i>	FDA
Kebilidi	2024	Adenoasociado	Expresa la enzima AADC en neuronas para producir dopamina	Inserción de gen funcional	Deficiencia de AADC	<i>In vivo</i>	FDA

**TABLA S3: FACTORES DE RIESGO Y ESTRATEGIAS DE CONTROL EN TERAPIA GÉNICA SEGÚN ARMONIZACIÓN REGULATORIA INTERNACIONAL.**

Factor de riesgo	Mecanismo de riesgo	Estrategia de mitigación/control	Observaciones	Entidades regulatorias/ Armonización
Actividad Biológica	Potencial sobreexpresión de proteínas terapéuticas	Uso de elementos reguladores para modular expresión. Estudios farmacocinéticos convencionales, que incluyan como mínimo la determinación de la concentración plasmática y la vida media, para la proteína terapéutica	<p>Puede ser necesario evaluar la farmacocinética también para otros genes del vector expresados <i>in vivo</i>.</p> <p>Se debe investigar una correlación entre los niveles y duración de la expresión y la eficacia/seguridad clínica.</p> <p>Para los productos de expresión génica, como enzimas o profármacos, se deben tener en cuenta las diferencias en su cinética y eliminación en función del polimorfismo genético</p>	EMA, FDA, PMDA, ICH, Ph. Eur.
Competencia Replicativa	Posible recombinación y generación de virus replicativos	Eliminación de secuencias de replicación en diseño vectorial y uso de líneas celulares que no permitan recombinación viral. Se debe incluir una prueba para detectar virus competentes para la replicación		EMA, FDA, PMDA, ICH, Ph. Eur.
Inmunogenicidad	Respuesta inmune a proteínas de la cápside y activación del sistema inmune	Optimización de la cápside para reducir inmunogenicidad; evaluación celular y humoral de respuesta inmune y del producto transgénico	Evaluación de requerimiento de inmunosupresión de pacientes. Los resultados deben ser analizados y correlacionados con el tiempo de tratamiento para así evaluar seguridad y eficacia	EMA, FDA, PMDA, ICH, Ph. Eur.
Mutagénesis Insercional	Inserción no dirigida por el método en el genoma del huésped con riesgo de disrupción genética	Diseño de vectores con secuencias de control de integración; análisis de integración mediante secuenciación genómica. El potencial de integración del casete de expresión del transgén en el genoma del huésped debe investigarse y analizarse hasta en los casos en que no se pretende la integración y es inherente al método de expresión	La obligatoriedad de estudios de genotoxicidad de los GTMP con capacidad de integración del ADN del huésped dependerá de la forma en que se administrará el producto final (local o sistémica), a qué tejido/órgano se dirigirá el ATMP y del estado biológico de las células a las que se dirigirá	EMA, FDA, PMDA, ICH, Ph. Eur.
Neurotoxicidad	Posibles efectos adversos en células del sistema nervioso	Modificación del vector para evitar neurotoxicidad; evaluación en cultivos neuronales y modelos animales que emulen condiciones de administración y tratamiento con GTMP		EMA, FDA, PMDA, ICH, Ph. Eur.
Persistencia y Biodistribución	Acumulación en tejidos no diana, posible <i>shedding</i>	Uso de promotores específicos para controlar expresión; estudios de biodistribución y shedding en modelos animales y en condiciones en que se emule el tratamiento (ruta de administración, frecuencia y duración de estímulo)	Puede ser evaluada la vía de administración que maximice la exposición sistémica	EMA, FDA, PMDA, ICH, Ph. Eur.



Presencia de Partículas Inactivas	Reducción en la eficacia terapéutica debido a una proporción elevada de partículas virales no funcionales o vacías	Optimización del proceso de producción para maximizar partículas infectivas; uso de cromatografía de exclusión molecular (SEC), ultracentrifugación y microscopía electrónica para cuantificación de partículas completas e incompletas	Es importante caracterizar la proporción de partículas funcionales frente a no funcionales en cada lote de producción para garantizar la eficacia del producto final. Los métodos analíticos deben ser validados y comparados con estándares de referencia	EMA, FDA, PMDA, ICH, Ph. Eur.
Pureza y Concentración	Contaminación por fragmentos de ADN y carga biológica en partículas virales	Purificación con cromatografía de exclusión molecular; cuantificación de ADN residual mediante qPCR	Minimización de la presencia de contaminaciones relacionadas al producto o al proceso en el medicamento de terapia avanzada	EMA, FDA, PMDA, ICH, Ph. Eur.
Toxicidad Celular	Efectos adversos en células diana y tejidos circundantes por expresión descontrolada del transgén	Optimización de la dosis de vector y uso de promotores regulados. La toxicidad debe evaluarse para todo el GTMP y para el producto o productos transgénicos a fin de determinar las consecuencias no deseadas de la distribución y persistencia del vector, su infección/transducción/transfección, la expresión y actividad biológica del gen o genes terapéuticos y los genes del vector	Para los estudios de toxicología se deben elegir niveles de dosis, vías y métodos de administración apropiados para representar el uso clínico con márgenes de seguridad adecuados. Evaluación de viabilidad celular	EMA, FDA, PMDA, ICH, Ph. Eur.

**TABLA S4: PUNTOS DE CONTROL CRÍTICOS EN LA PRODUCCIÓN DE VECTORES DE TERAPIA GÉNICA.**

Punto de control	Objetivo	Ensayos/técnica analítica	Frecuencia de monitoreo	Criterio de aceptación	Entidades
Control de Endotoxinas	Asegurar que no haya contaminación bacteriana en el producto mediante la detección y eliminación de endotoxinas	Ensayo de endotoxinas, qPCR	Cada lote de producción	≤0.5 EU/mL de endotoxinas en cada lote de vector	EMA, Ph. Eur.
Control de Impurezas Virales y Celulares	Eliminar restos de ADN, ARN o proteínas residuales virales que puedan afectar la seguridad o eficacia del producto final	NAT (Análisis de Ácidos Nucleicos), ensayo de proteínas virales	Cada lote de producción	Eliminación de virus no deseados, control de pureza y concentración	EMA, FDA
Detección de Virus Replicantes	Detectar y asegurar la ausencia de partículas virales capaces de replicarse, minimizando riesgos de infección	Ensayos de RCV: Cultivo celular prolongado, ensayos de amplificación, PCR, ensayos de infectividad	Múltiples fases del proceso de producción	Ausencia total de partículas virales replicantes	PMDA, ICH
Genotoxicidad	Evaluar si el vector o el transgén inducen mutaciones genéticas que puedan generar efectos adversos	NGS, qPCR	Evaluación preclínica y en lotes de producción	Ausencia de mutaciones genómicas significativas y eventos de integración no deseados	FDA, EMA
Integración en el genoma	Confirmar que la integración del vector en el genoma del huésped es estable y no induce activación de oncogenes	NGS, qPCR, análisis de expresión génica	Cada lote de producción	Integración estable en células diana sin activación de oncogenes	EMA
Integridad Genómica	Verificar que el ADN del vector no haya sufrido mutaciones o reordenamientos no deseados	NGS, qPCR, análisis de expresión génica	Cada lote de producción	Secuencia genética intacta y sin mutaciones	EMA
Neurotoxicidad	Prevenir efectos adversos del vector en el sistema nervioso mediante estudios específicos en modelos neuronales	Ensayo de neurotoxicidad	Antes de cada fase de estudio clínico	Control de efectos adversos en el sistema nervioso	EMA
Potencia y actividad biológica	Evaluar que el vector mantiene su actividad biológica esperada para asegurar su eficacia terapéutica	Ensayo de potencia y actividad	Cada lote de producción	Validación de bioactividad del vector	EMA, FDA
Pureza de cápsides virales	Garantizar que las cápsides virales del vector no contengan impurezas que puedan afectar la seguridad del producto	ELISA para proteínas virales	Cada validación de proceso	Los límites de impurezas deben justificarse en relación con la seguridad clínica y la eficacia	FDA, EMA, ICH

Toxicidad Celular	Identificar posibles efectos tóxicos del vector o transgén en células diana y tejidos circundantes	Ensayo de toxicidad	Antes de cada fase de estudio clínico	Evaluación de efectos en células de administración directa	FDA, EMA
Tumorigenicidad	Determinar si la terapia génica tiene potencial de inducir tumores en el huésped debido a su integración o expresión	Ensayos de proliferación celular, estudios de integración del vector	Evaluaciones preclínicas en modelos celulares y animales	No inducción de formación tumoral en modelos animales y estudios in vitro	FDA, EMA

**TABLA S5: TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA CARACTERIZACIÓN Y CONTROL DE CALIDAD DE VECTORES DE TERAPIA GÉNICA.**

Técnica analítica	Propósito principal	Fundamento	Etapas del proceso	Condiciones de prueba	Entidades
Cromatografía de exclusión de tamaño (SEC)	Separación y cuantificación de partículas completas e incompletas	Detección de partículas llenas y vacías mediante fraccionamiento por tamaño	Purificación del vector	Condiciones térmicas a 4°C y 37°C	Ph. Eur.
ELISA	Cuantificación de cápsides virales	Detección y cuantificación de proteínas estructurales virales	Producción y monitoreo del vector	Cultivo en células permisivas por 30 días, análisis a 4°C y 37°C	EMA, ICH, Ph. Eur.
ELISA tipo sándwich	Cuantificación de proteínas residuales de células huésped	Detección mediante anticuerpos policlonales específicos	Control de calidad y liberación del producto	Uso de antígeno de referencia, detección con anticuerpos en microplacas, incubación a temperatura controlada	Ph. Eur.
Ensayo de Biodistribución	Localización y persistencia en tejidos no diana	Monitoreo de distribución en órganos diana	Estudios preclínicos	Cultivo en líneas celulares HEK293T durante 14 días, Ensayo en modelos animales	EMA, ICH, Ph. Eur.
Ensayo de Endotoxinas	Ensayo de Endotoxinas (LAL/rFC) para asegurar la ausencia de endotoxinas bacterianas	Medición de endotoxinas	Control de calidad y liberación del producto	Ensayo en condiciones controladas de purificación, Ensayo en condiciones de 37°C y humedad controlada	EMA, ICH
Ensayo de Infectividad	Determinación de la proporción infectiva frente a no infectiva	Comparación de partículas funcionales frente a inactivas	Evaluación de eficacia del vector	Cultivo en células CD34+ durante 21 días, análisis en cultivos celulares y modelos animales	EMA, ICH, Ph. Eur.
Ensayo de Inmunotoxicidad	Evaluación de respuestas inmunes adversas	Evaluación de citoquinas proinflamatorias	Estudios preclínicos	Ensayo en condiciones de 37°C y humedad controlada	FDA, PMDA, ICH, EMA
Ensayo de Integración Vectorial	Evaluar seguridad de la integración del vector en el genoma huésped	Mapeo de sitios de integración mediante NGS y PCR	Estudios preclínicos	Cultivo en células CD34+ durante 21 días	EMA, ICH, Ph. Eur.
Ensayo de Neurotoxicidad	Evaluación de neurotoxicidad en células del sistema nervioso	Pruebas en neuronas diferenciadas	Estudios preclínicos	Ensayo en células neuronales especializadas	EMA, ICH, Ph. Eur.

Ensayo de Potencia y Actividad Biológica	Evaluación de bioactividad del vector	Ensayos de transducción en células diana	Evaluación de potencia y funcionalidad	Ensayo en condiciones controladas de purificación, comparación de actividad en células modificadas	EMA, ICH
Ensayo de Proteína Viral	Detección de proteínas del virus	Cuantificación de proteínas estructurales	Control de calidad y liberación del producto	Evaluación en distintas temperaturas (4°C y 37°C) y condiciones de almacenamiento	FDA, EMA, ICH
Ensayo de Replicación Competente (RCR)	Detección de replicación en células	Ensayos de cultivo prolongado en células susceptibles	Control de calidad y liberación del producto	Evaluación en distintas temperaturas y condiciones de almacenamiento	FDA, Ph. Eur.
Ensayo de Toxicidad Celular (MTT/XTT)	Evaluación de viabilidad y toxicidad celular	Comparación de células tratadas vs. controles negativos	Estudios preclínicos	Cultivo en células humanas primarias por 48 horas	EMA, PMDA, ICH
Ensayo Microbiológico	Detección de contaminación microbiológica en preparaciones celulares	Cultivo en medios selectivos para la detección de bacterias y hongos	Detección de agentes contaminantes	Incubación en medios específicos, monitoreo del crecimiento microbiano	Ph. Eur.
Microscopía electrónica	Análisis morfológico de partículas virales y detección de agregados	Visualización directa de partículas virales y evaluación de su morfología	Control de calidad y caracterización del vector	Condiciones de fijación y contraste específicos	Ph. Eur.
<i>Next Generation Sequencing</i> (NGS)	Verificación de integridad genética	Comparación con referencia de secuencia mediante análisis bioinformático	Caracterización genética y estructura	Análisis a 4°C y 37°C, Cultivo en células diana durante 10-14 días	EMA, ICH
PCR cuantitativa (RT-qPCR)	Evaluación de expresión del transgén y monitoreo de integridad del vector	Medición de transcripción del transgén mediante amplificación específica	Control de calidad y caracterización del vector	Cultivo en células diana durante 48 horas	Ph. Eur.
qPCR ( <i>Real-Time Quantitative PCR</i> )	Cuantificación y caracterización de ADN de células huésped	Amplificación de secuencias de ADN específicas mediante PCR en tiempo real	Control de calidad y caracterización del vector	Extracción de ADN, amplificación en termociclador, análisis de curvas de amplificación	Ph. Eur., EMA

Técnicas de Amplificación de Ácidos Nucleicos (NAT)	Detección de secuencias virales o bacterianas mediante amplificación de ácidos nucleicos	Amplificación por PCR o métodos isotérmicos	Control de calidad y caracterización del vector	Extracción de ácidos nucleicos, amplificación, detección en gel o mediante sondas fluorescentes	Ph. Eur.
Ultracentrifugación	Evaluación de integridad estructural y cuantificación de partículas virales	Separación basada en gradientes de densidad	Purificación del vector	Ultracentrifugación en gradiente de densidad en condiciones controladas	Ph. Eur.