



UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE CUENCA

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

UNIDAD ACADÉMICA DE SALUD Y BIENESTAR

CARRERA DE ODONTOLOGÍA

**PROTOCOLOS PARA LA TOMA DE MUESTRA DE FLUIDO
CREVICULAR GINGIVAL PARA REALIZAR LA PRUEBA
DE BIOMARCADORES (ELISA). REVISIÓN DE
LITERATURA**

**PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE ODONTÓLOGA**

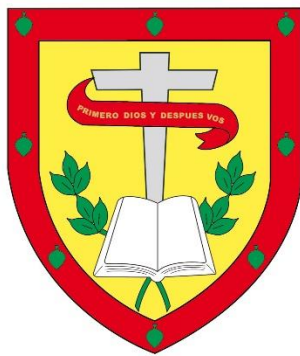
AUTOR: SOFIA NATALY SIGUENZA BARROS.

DIRECTOR: OD. ESP. ANDREA PAOLA PÉREZ MORA.

CUENCA - ECUADOR

2025

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

UNIDAD ACADÉMICA DE SALUD Y BIENESTAR

CARRERA DE ODONTOLOGÍA

PROTOCOLOS PARA LA TOMA DE MUESTRA DE FLUIDO
CREVICULAR GINGIVAL PARA REALIZAR LA PRUEBA DE
BIOMARCADORES (ELISA). REVISIÓN DE LITERATURA

**PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE ODONTÓLOGA**

AUTOR: SOFIA NATALY SIGUENZA BARROS.

DIRECTOR: OD. ESP. ANDREA PAOLA PÉREZ MORA.

CUENCA - ECUADOR

2025

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO

Protocolos para la toma de muestra de fluido crevicular gingival para realizar la prueba de biomarcadores (ELISA). Revisión de literatura

Resumen

Introducción: El fluido crevicular gingival (GCF) es una matriz diagnóstica valiosa, reflejando directamente los procesos inflamatorios y de remodelación en tejidos periodontales y periimplantarios. La cuantificación de biomarcadores mediante ELISA ofrece alta sensibilidad y especificidad; sin embargo, la variabilidad en los métodos de recolección limita la comparabilidad entre estudios y su aplicación clínica.

Objetivo: Analizar críticamente los protocolos de recolección de GCF en estudios con ELISA, identificando factores que afectan la calidad, reproducibilidad y utilidad clínica de los resultados.

Metodología: Se realizó una revisión narrativa de artículos publicados entre 2015 y 2025 en bases de datos internacionales, seleccionando únicamente aquellos con descripción detallada de los procedimientos de recolección de GCF para ELISA.

Discusión: El GCF es accesible, específico del sitio y mínimamente invasivo. ELISA es confiable para evaluar inflamación y actividad ósea. Sin embargo, la gran variabilidad metodológica en aspectos como material absorbente, tiempo de recolección, control de contaminación y almacenamiento genera inconsistencias que comprometen la reproducibilidad, constituyendo la principal barrera para su uso clínico estandarizado.

Conclusiones: El GCF analizado mediante ELISA tiene un alto potencial como biomarcador diagnóstico y pronóstico de enfermedades periodontales y sistémicas. El desafío central sigue siendo la ausencia de lineamientos metodológicos estandarizados. Unificar estos procedimientos es esencial para validar sus ventajas y trasladar sus beneficios a la práctica profesional.

Palabras clave: Biomarcadores, Líquido del Surco Gingival, Ensayo de Inmunoadsorción Enzimática, Protocolo de Ensayo Clínico

Abstract

Introduction: Gingival crevicular fluid (GCF) is a valuable diagnostic matrix, directly reflecting inflammatory and remodeling processes in periodontal and peri-implant tissues. The quantification of biomarkers using ELISA offers high sensitivity and specificity; however, variability in collection methods limits comparability across studies and clinical applicability.

Objective: To critically analyze GCF collection protocols in ELISA studies, identifying factors that affect the quality, reproducibility, and clinical utility of the results.

Methodology: A narrative literature review of articles published between 2015 and 2025 in international databases was conducted, selecting only those with a detailed description of GCF collection procedures for ELISA.

Discussion: GCF is accessible, site-specific, and minimally invasive. ELISA is reliable for assessing inflammation and bone activity. However, the wide methodological variability in aspects such as absorbent material, collection time, contamination control, and storage generates inconsistencies that compromise reproducibility, constituting the main barrier to its standardized clinical use.

Conclusions: GCF analyzed by ELISA has high potential as a diagnostic and prognostic biomarker for periodontal and systemic diseases. The central challenge remains the absence of standardized methodological guidelines. Standardizing these procedures is essential to validate their advantages and implement their benefits in professional practice.

Keywords: Biomarkers, Gingival Crevice Fluid, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, Clinical Trial Protocol

1. INTRODUCCIÓN

El fluido crevicular gingival (GCF, por sus siglas en inglés) es una exudación específica del sitio que refleja el proceso inflamatorio local, lo cual permite caracterizar molecularmente los tejidos periodontales más allá de los parámetros clínicos convencionales (1). Debido a su proximidad con la unión epitelial, el GCF ha sido utilizado como medio diagnóstico en periodoncia para identificar tanto el estado de salud como las fases activas de la enfermedad (2). En este contexto, el análisis inmunoenzimático tipo

ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) se ha posicionado cómo una técnica altamente sensible y específica para la detección de biomarcadores presentes en el GCF (3).

Sin embargo, la precisión de los resultados de ELISA depende críticamente de los protocolos empleados para la toma, conservación y procesamiento de las muestras de GCF (3). Pese a que múltiples estudios han validado la eficacia del ELISA para detectar citoquinas cómo IL-1 β , IL-6 o MMP-8 en GCF, las condiciones preanalíticas varían ampliamente entre investigaciones, lo cual introduce sesgos de cuantificación y limita la comparabilidad de resultados (4). Esto se acentúa en estudios donde la recolección se realiza sin aislamiento adecuado del sitio o con papeles absorbentes no estandarizados, comprometiendo la validez de los hallazgos (3).

A pesar de los avances metodológicos, la literatura evidencia una notable heterogeneidad técnica en los protocolos de muestreo para ELISA, donde factores cómo la duración del contacto con el papel absorbente, la selección del sitio de muestreo, la técnica de aislamiento y las condiciones de transporte pueden influir significativamente en la estabilidad de las proteínas detectadas, lo que plantea dudas metodológicas relevantes en torno a su implementación cómo herramienta diagnóstica de uso clínico rutinario (2,5).

Esta falta de estandarización impide la comparación entre estudios y compromete la reproducibilidad de los hallazgos. En consecuencia, no solo se dificulta la implementación clínica del GCF cómo medio diagnóstico, sino que también se ve afectada la validez de biomarcadores propuestos para enfermedades periodontales y sistémicas (6).

En este sentido, estudios cómo el de Dolińska et al. han demostrado que la aplicación de técnicas quirúrgicas mínimamente invasivas, combinadas o no con el uso de láser, puede afectar la concentración de proteínas proinflamatorias cómo la MMP-9 y la IL-8 en el GCF, lo que subraya la necesidad de considerar el contexto clínico al momento del muestreo (7). Asimismo, se resalta la importancia de GCF no solo en enfermedades periodontales, sino también cómo fuente diagnóstica potencial en patologías relacionadas con el recambio óseo de la mandíbula, lo que requiere validar su comportamiento en distintas condiciones fisiológicas (8).

Por otro lado, la sensibilidad de biomarcadores en GCF puede variar cuando se compara con otras matrices cómo la saliva u enjuague oral, lo que refuerza la importancia de establecer parámetros específicos para su uso (9). Las diferencias documentadas en la expresión de proteínas inmunorreguladoras cómo IL-1RA y MMP-9 en dientes temporales en

proceso de resorción, destacan que incluso la etapa del desarrollo dental puede influir en los resultados del análisis (10).

El propósito de esta revisión fue analizar críticamente los protocolos utilizados para la toma de muestra de fluido crevicular gingival en estudios que emplean la técnica ELISA para la detección de biomarcadores, con el fin de identificar los criterios metodológicos clave que afectan la calidad, reproducibilidad y utilidad clínica de los resultados. Para ello se identificaron los métodos de recolección de fluido crevicular gingival (GCF) más empleados en investigaciones basadas en ELISA, describiendo sus principales características técnicas. Asimismo, se evaluaron las variaciones relacionadas con el tipo de papel absorbente, el tiempo de contacto y los criterios de exclusión de muestras presentes en los estudios revisados. Finalmente, se analizaron las condiciones de almacenamiento y conservación del GCF previo al análisis por ELISA, considerando su impacto en la estabilidad de los biomarcadores.

2. METODOLOGÍA

Para orientar la revisión, se formuló la pregunta de investigación siguiendo la estrategia PICO (Paciente/Problema, Intervención, Comparación, Outcome). Se incluyeron estudios realizados en pacientes con enfermedad periodontal, en algunos casos contrastados con sujetos sanos o con condiciones sistémicas asociadas. La intervención de interés correspondió a la toma de muestras de fluido crevicular gingival (GCF) mediante tiras o conos absorbentes y su posterior análisis por ensayos inmunoenzimáticos (ELISA). Cuando estuvo disponible, se consideró cómo comparación tanto a los controles sanos cómo a otros métodos de análisis, tales cómo técnicas proteómicas, microarrays o ELISA multiplex. El desenlace principal fue la detección y cuantificación de biomarcadores inflamatorios y óseos en el fluido crevicular gingival, con el fin de establecer su utilidad diagnóstica, pronóstica y de monitoreo clínico en la enfermedad periodontal.

Esta investigación mantiene un enfoque cualitativo, es una revisión de la literatura, cuyo objetivo es analizar y sintetizar críticamente los protocolos utilizados para la recolección de fluido crevicular gingival (GCF) en investigaciones que emplean la técnica ELISA para la detección de biomarcadores, valorando su validez metodológica, consistencia y aplicabilidad clínica, la búsqueda se realizó desde el mes de mayo hasta julio. Como limitación, no se realizó el registro en PROSPERO.

La búsqueda bibliográfica se llevó a cabo en bases de datos científicas reconocidas y de alto impacto cómo PubMed, Scopus, SciELO, Elsevier y Web of Science. Se utilizó una estrategia de búsqueda estructurada, combinando descriptores en inglés mediante operadores booleanos:

("gingival crevicular fluid" OR "GCF") AND ("ELISA") AND ("collection" OR "sampling" OR "protocol" OR "methodology") AND ("biomarkers").

Criterios de inclusión:

- Estudios originales y revisiones sistemáticas publicados entre 2015 y 2025.
- Estudios que describieran explícitamente el protocolo de recolección de GCF con fines analíticos mediante ELISA.
- Publicaciones en inglés, español o ruso indexadas en revistas clasificadas en los cuartiles Q1 a Q4 del *Journal Citation Reports* (JCR) o el *Scimago Journal Rank* (SJR).

Se excluyeron:

- Resúmenes de congresos, comunicaciones breves, reportes técnicos y artículos duplicados.
- Estudios que utilizaran matrices distintas al GCF para el análisis de biomarcadores mediante ELISA.
- Artículos que no fuesen en inglés, ruso ni español.

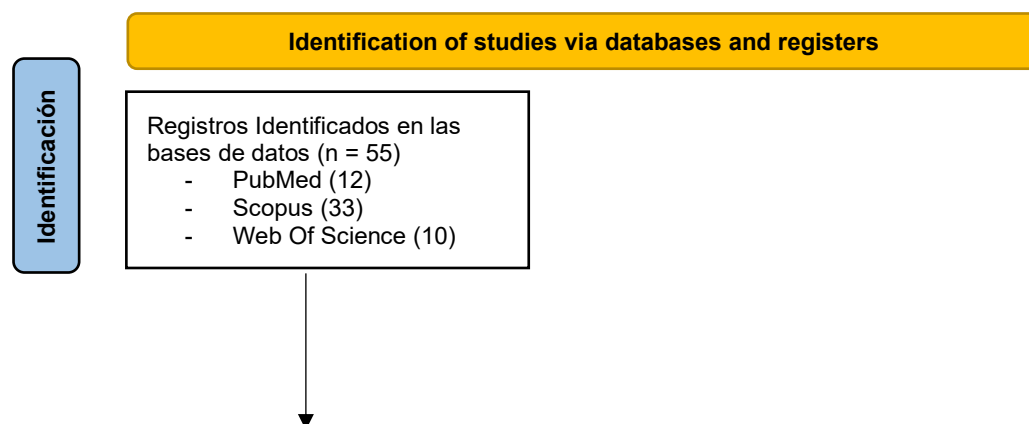
Tras aplicar los filtros por título y resumen, se realizó una lectura crítica del texto completo de los documentos seleccionados. Se identificaron inicialmente 55 artículos, de los cuales 11 cumplieron con los criterios de inclusión y fueron utilizados para la síntesis cualitativa.

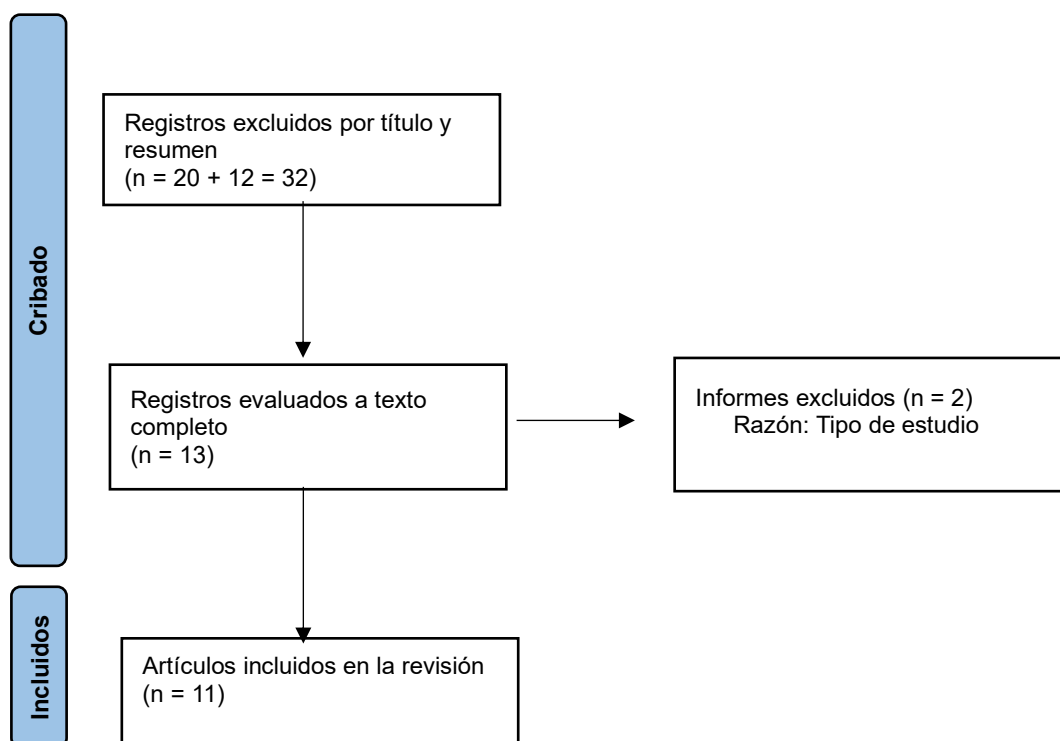
En la extracción de datos se analizaron aspectos clave como:

- Tipo de papel absorbente utilizado para recolectar el GCF.
- Tiempo de muestreo.
- Condiciones de aislamiento del sitio.
- Almacenamiento de la muestra antes del análisis.
- Biomarcadores evaluados y reproducibilidad metodológica.

Los resultados fueron organizados en una matriz comparativa (Tabla 1a y Tabla 1b) y se discutieron a la luz de los principios de validez interna, reproducibilidad y utilidad diagnóstica del GCF como fuente de biomarcadores analizados mediante ELISA.

Figura 1. Diagrama PRISMA





3. RESULTADOS

Tabla 1a. Características generales de los estudios incluidos en la revisión.

Nº	Título	Autor(es) y año	País	Diseño del estudio	Tipo población de	Biomarcadores analizados	DOI	Referencia
1	Biomarkers from Peri-Implant Crevicular Fluid	Delucchi et al., 2023	Italia	Revisión sistemática	Pacientes con implantes dentales	IL-1β, MMP-8, procalcitonina, colagenasas...	10.3390/ijms24043202	(12)
2	Biomarkers in Oral Fluids as Diagnostic Tool for Psoriasis	Jiménez et al., 2022	Chile	Revisión narrativa	Pacientes con psoriasis y controles	S100A8, IL-18, sE-selectina...	10.3390/life12040501	(13)
3	Oral and Gingival Crevicular Fluid Biomarkers for Jawbone Turnover Diseases...	Fadli et al., 2024	Malasia	Scoping Review	Pacientes con enfermedades periodontales y óseas	IL-1β, IL-17, IL-18, TNF-α, MMP-2, MMP-9, OPG...	10.3390/diagnostics14192184	(8)
4	Characterization of the Internal Working-Life Exposome	Verschuere et al., 2023	Multinacional (Europa)	Revisión narrativa con pilotaje	Población ocupacional	IL-35, PAF, cathepsina B, ICTP	10.1016/j.envres.2023.117001	(18)
5	Analysis of Gingival Crevicular Fluid Biomarkers in Patients with	Nibali et al., 2022	Italia y Reino Unido	Estudio observacional analítico	Pacientes con síndrome metabólico y periodontitis	Aggrecan, CCL-2, IL-11, IL-6, IL-8, MMP-8, Resistin...	10.1016/j.jdent.2022.104065	(14)

	Metabolic Syndrome							
6	GUM Fluid Biomarkers in Personalized Diagnostics of Inflammatory Periodontal Diseases	Ostrovskaya et al., 2021	Rusia	Estudio observacional diagnóstico	Pacientes con gingivitis o periodontitis y controles	IL-1 β , IL-6, IL-17, TNF- α , IL-8, MCP-1, IL-1RA, VEGF	10.35630/2199-885X/2021/11/4.30	(17)
7	Immunoassay Analysis of Proteins in Gingival Crevicular Fluid Samples from Resorbing Teeth	Rody Jr. et al., 2016	Estados Unidos	Estudio clínico (split-mouth)	Pacientes con dientes deciduos en reabsorción	IL-1 β , IL-1RA, RANKL, OPG, MMP-9, DSP	10.2319/032415-195.1	(10)
8	Utility of Gingival Crevicular Fluid Components for Periodontal Diagnosis	Buduneli et al., 2024	EE. UU. y Europa	Revisión sistemática	Pacientes con enfermedad periodontal	L-plastin, IL-1 β , MMP-8, IL-6, IFN- γ	10.1111/prd.12595	(15)
9	The Potential Role of the Gingival Crevicular Fluid Biomarkers in the Prediction of Pregnancy Complications	Abouzaid, M et al., 2023	Emiratos Árabes Unidos	Revisión sistemática	Mujeres embarazadas con o sin complicaciones	IL-1 β , IL-6, TNF- α , IFN- γ , IL-4, IL-10, IL-1ra, PIGF, sFlt-1...	10.3389/fmed.2023.116862	(6)
10	Osteogenic markers in peri-implant crevicular fluid in immediate and delayed-loaded dental implants	Rastogi, S et al., 2023	India	Ensayo clínico aleatorizado	Pacientes con implantes dentales	Osteocalcina (OCN), MMP-8, Catepsina K (CatK)	10.1111/cid.13199	(16)
11	The Potential of Gingival Crevicular Fluid as a Tool for Molecular Diagnosis: A Systematic Review	Cuevas-González et al., 2024	México	Revisión sistemática	Pacientes con condiciones sistémicas y orales	IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α , IL-18, MMP-8, resistina...	10.1155/2024/5560866	(11)

Tabla comparativa que sintetiza las características principales de los 11 estudios seleccionados, incluyendo el título, autor(es) y año de publicación, país de origen, diseño del estudio y el tipo de población analizada.

Tabla 2b. Aspectos técnicos de la recolección y análisis de GCF en los estudios incluidos.

Nº	Método de recolección de GCF	Tipo de papel absorbente	Tiempo de muestreo	Criterios de exclusión de muestra	Condiciones de almacenamiento	Reproducibilidad / Observaciones Técnicas	Referencia
----	------------------------------	--------------------------	--------------------	-----------------------------------	-------------------------------	---	------------

1	Inserción de tiras o conos de papel	Tiras o conos de papel específicos para PICF	30 segundos a 1 minuto	Contaminación con sangre o saliva	Congelación inmediata a -20°C o -80°C	Técnica no invasiva, específica del sitio, permite mediciones repetidas.	(12)
2	Inserción de tiras de papel	Papel filtro o tiras específicas para GCF	30 segundos a 1 minuto	No especificado explícitamente	Congelación a -80°C	Se menciona que evita contaminación salival y permite muestra representativa.	(13)
3	Inserción de papel absorbente	Papel filtro o PerioPaper	30 segundos a 1 minuto (estimado)	No especificado	Congelación a -20°C o -80°C	Técnica permite medir biomarcadores con precisión, útil para diagnóstico.	(8)
4	Recolección con micropipetas volumétricas	No aplica	No especificado	No especificado	Congelación a -80°C (implícito)	Método mínimamente invasivo de bajo volumen; enfoque piloto para estandarización.	(18)
5	Inserción de tiras PerioPaper	PerioPaper (OraFlow, Inc.)	60 segundos	Evitar contaminación: se retiró placa, se aisló y se recolectó antes del sondaje	Tubo Eppendorf, congeladas a -80°C	Protocolo estandarizado y cuidadoso; favorece reproducibilidad y precisión.	(14)
6	Inserción secuencial de puntas de papel	Absorbent Paper Points No. 25 (de endodoncia)	No especificado (estimado 15-30 s por punta)	No especificado	Tubos Eppendorf con NaCl 0.155 M + ProClin 300, congeladas a -40°C	Protocolo detallado con limpieza previa y control de contaminación.	(17)
7	Inserción de tiras Periopaper	Periopaper (Oraflow Inc.)	40 segundos	Se descartaron tiras contaminadas con saliva o sangre	Tubos sellados, congelación a -80°C	Protocolo estandarizado con control de contaminantes, elución en PBS.	(10)
8	Inserción de tiras de papel filtro	Tiras de papel filtro específicas para GCF	30 a 60 segundos	No especificado	Congelación a -20°C o -80°C	Se describe un protocolo estandarizado: limpieza, absorción controlada y almacenamiento adecuado.	(15)
9	Inserción de tiras de papel absorbente	Tiras de papel filtro especiales para GCF	30 a 60 segundos	No especificado	-20 °C o -80°C	Se destaca la utilidad de las tiras por ser método eficiente y no invasivo.	(6)
10	Inserción de tiras Periopaper	Periopaper (Oraflow Inc., USA)	No especificado	No especificado	Tubos con PBS + inhibidores de proteasas, congelación a -80°C	Protocolo controlado y estandarizado con medidas precisas para asegurar integridad.	(16)
11	Inserción de tiras de papel o conos estériles	Papel filtro	10 a 30 segundos	No especificado	Congelación a -20°C o -80°C según protocolo de cada estudio	ELISA fue la técnica más usada; se destaca como método sensible, específico y no invasivo.	(11)

Tabla que detalla los parámetros técnicos críticos empleados en los 11 estudios seleccionados para la recolección y análisis del fluido crevicular gingival (GCF).

Incluye el método de recolección, el tipo de papel absorbente utilizado, el tiempo de muestreo reportado, los criterios de exclusión de muestras y las condiciones de almacenamiento.

Características del fluido crevicular gingival

El fluido crevicular gingival (GCF) y su análogo periimplantario (PICF) es un exudado que contiene una amplia variedad de moléculas derivadas de procesos inflamatorios y de remodelado tisular. Entre los componentes más reportados se encuentran citocinas proinflamatorias como IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-17 y TNF- α , así como citocinas reguladoras como IL-1RA e IL-10, y factores relacionados con la angiogénesis como VEGF y PIGF (6,10,11).

También se han identificado metaloproteinasas de matriz (MMP-8, MMP-9, MMP-13), osteocalcina, osteoprotegerina (OPG), RANKL y 9atepsina K, todos ellos vinculados con la degradación de tejidos y el remodelado óseo (11–13). Adicionalmente, diversos estudios han descrito la presencia de proteínas de matriz extracelular, adipocinas como resistina, moléculas de adhesión como E-selectina, y microARNs, lo que refleja la complejidad y potencial del GCF como fuente diagnóstica de procesos tanto locales como sistémicos (8,13,14).

En cuanto a su función, el GCF actúa como un reflejo directo de la actividad metabólica e inmunológica de los tejidos periodontales y periimplantarios, ya que concentra biomarcadores locales de inflamación y remodelado óseo (8,11,12,15).

La importancia clínica de este fluido radica en que constituye una matriz de fácil acceso, no invasiva, específica del sitio y repetible en el tiempo. Ello lo convierte en una herramienta prometedora para el diagnóstico temprano, la valoración pronóstica y el monitoreo de la respuesta terapéutica en la enfermedad periodontal y periimplantaria (6,10,11).

Tabla 2. Protocolos de toma de muestra

Métodos de recolección de fluido crevicular gingival	La técnica más utilizada fue la inserción de tiras de papel absorbente (PerioPaper o papel filtro) en el surco gingival o periimplantario (6,8,16). De manera menos frecuente, se emplearon puntas absorbentes de endodoncia (n.º 25) como alternativa para obtener el fluido (17). En un estudio piloto enfocado en biomarcadores ocupacionales se usaron micropipetas volumétricas, aunque sin detallar un protocolo clínico estandarizado (18).
Tiempo de recolección y	El tiempo osciló entre 10 y 60 segundos dependiendo del protocolo empleado. Los estudios de tipo clínico u observacional reportaron

condiciones clínicas	intervalos de 30 a 60 segundos, mientras que otros mencionaron tiempos más cortos, alrededor de 10 a 30 segundos (6,12,14,15). La toma de muestra se realizó bajo condiciones controladas, con aislamiento mediante rollos de algodón, eliminación previa de placa supragingival y secado suave de la zona para evitar contaminación(10,14,16).
Control de contaminación	De manera consistente, los artículos indicaron la exclusión de tiras contaminadas con saliva o sangre, las cuales fueron descartadas para asegurar la validez de las muestras (6,14,15). Algunos estudios añadieron criterios de exclusión relacionados con enfermedades sistémicas graves o medicación antiinflamatoria, que pudieran interferir en los niveles de biomarcadores detectados (17).

Tabla que resume las prácticas de recolección de GCF encontradas en la literatura revisada, destacando que el método más utilizado.

Tabla 3. Conservación y procesamiento de la muestra

Almacenamiento y transporte	La estrategia considerada el estándar para preservar la integridad del fluido crevicular fue la congelación inmediata a -80°C (8,12,16). Se reportaron el uso de -20°C como alternativa para almacenamiento a corto plazo, mientras que en un estudio se empleó -40°C con dilución en solución salina y biocida (6,13,17). La utilización de estas bajas temperaturas permite mantener estables las moléculas bioactivas hasta el análisis.
Procesamiento previo a ELISA	En la mayoría de protocolos, las tiras o puntas absorbentes fueron eluidas en PBS u otros buffers, en ocasiones con adición de inhibidores de proteasas para evitar la degradación de proteínas sensibles (10,14,16). Posteriormente se sometieron a centrifugación para eliminar detritos celulares obteniendo un sobrenadante apto para análisis inmunoenzimático (14,16). En algunos casos se aplicaron diluciones específicas según el biomarcador de interés para adecuar la concentración a los límites de detección de los kits comerciales (14).
Consideraciones	Aunque la congelación y el uso de buffers son prácticas relativamente estandarizadas, persisten diferencias en el tiempo transcurrido entre la recolección y el análisis, así como en la inclusión o no de inhibidores de proteasas, lo que contribuye a la heterogeneidad de los resultados y dificulta la comparabilidad entre estudios (8,11,17).

Tabla que describe las estrategias estandarizadas para preservar la integridad de las muestras de GCF antes del análisis ELISA.

Aplicación de la técnica ELISA

- Tipos de ELISA utilizados.

El método más empleado fue el ELISA tipo sándwich, utilizado para la detección de citocinas y metaloproteinasas en el GCF/PICF (10–12). Varios estudios incorporaron además ELISA multiplex basados en tecnología Luminex, que permiten la cuantificación simultánea de

múltiples analitos en una sola muestra (6,8,11,12,14). Finalmente, algunos reportaron el uso de microarrays inmunológicos como alternativa para aumentar la sensibilidad en la detección de biomarcadores menos abundantes (8,10,11).

- Biomarcadores más estudiados a nivel periodontal.

Los biomarcadores con mayor respaldo científico en enfermedad periodontal y periimplantaria incluyen:

- Citocinas proinflamatorias: IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-17, TNF- α (8,11,12).
- Citocinas antiinflamatorias/reguladoras: IL-1RA, IL-10 (6,11).
- Marcadores de remodelado óseo: osteocalcina, osteoprotegerina (OPG), RANKL, cathepsina K (8,16).
- Metaloproteinasas: principalmente MMP-8 y MMP-9, asociadas a degradación tisular (8,10,12).
- Otros biomarcadores emergentes: resistina, calprotectina, microARNs, moléculas de adhesión como E-selectina y factores angiogénicos como VEGF y PlGF (6,11,12,14).

- Sensibilidad, especificidad y ventajas.

Los estudios muestran que algunos biomarcadores, como MMP-8, alcanzan una sensibilidad del 77% y especificidad del 92% para el diagnóstico de periodontitis, con valores aún más altos cuando se combinan con IL-1 β e IL-6 (15). El uso de combinaciones de biomarcadores mejora notablemente la precisión diagnóstica, con sensibilidades y especificidades superiores al 90% (15). Asimismo, se reportaron valores de detección bajos en kits comerciales, como 31.25 pg/mL para osteocalcina y 6.9 pg/mL para MMP-8 (16). La principal ventaja de ELISA es que constituye un método sensible, específico, no invasivo, repetible y aplicable al sitio de interés clínico, lo que lo hace útil tanto para la práctica clínica como para investigación longitudinal (6,12,15). Sin embargo, la heterogeneidad en la estandarización preanalítica limita la comparación directa entre estudios.

Comparación entre estudios

- Método de recolección.

Predominaron las tiras/papel absorbente (PerioPaper o papel filtro) insertadas de forma atraumática en el surco/bolsa; también se usaron puntas endodónticas n.º 25 en menor medida y, de forma puntual, micropipetas en un enfoque de pilotaje para exposoma (10,13,16).

- Tiempo de muestreo.

El tiempo de exposición del papel varió entre 10 y 60 s, con reportes de 10–30 s en revisiones y procedimientos estándar, 40 s en un estudio clínico, y 60 s por sitio en un observacional (8,11,14).

- Condiciones clínicas y control de contaminación.

Se repitieron prácticas de aislamiento con rollos de algodón, retiro de placa supragingival y secado suave, junto con la exclusión de tiras contaminadas con sangre o saliva, para reducir sesgos preanalíticos (6,11,12,16).

- Almacenamiento.

La congelación inmediata a -80°C fue la práctica más común; algunos estudios admitieron -20°C para corto plazo y un protocolo aislado usó -40°C con solución salina/biocida (6,10,12,16).

- Procesamiento previo a ELISA.

Se describieron con frecuencia la elución en PBS, la adición de inhibidores de proteasas y la centrifugación para depurar el sobrenadante; varios trabajos ajustaron diluciones específicas según analito y kit (14,16,17),

- Tipos de ensayo.

Predominó ELISA sándwich; varios trabajos usaron ELISA multiplex (Luminex) y algunos microarrays para ampliar cobertura o sensibilidad (6,11,14).

- Biomarcadores y patrones.

Los marcadores más consistentes fueron IL-1 β y MMP-8 en inflamación activa; en remodelado óseo destacaron OPG/RANKL, osteocalcina y cathepsina K, especialmente en contextos periimplantarios (10–12,16). En patologías sistémicas asociadas como en el caso de la psoriasis y en el embarazo se evaluaron paneles ampliados (citocinas, MMPs, factores angiogénicos), manteniendo el GCF como matriz factible para perfiles multimarcador (6,13).

- Desempeño diagnóstico.

Se reportó MMP-8 con sensibilidad 77 % y especificidad 92 %; combinaciones con IL-1 β e IL-6 elevaron la precisión diagnóstica por encima del 90 % (15). En un ensayo periimplentario se informaron límites de detección bajos para OCN (31.25 pg/mL), MMP-8 (6.9 pg/mL) y CatK (7.8 pg/mL) (16).

- Heterogeneidad y limitaciones.

La variabilidad en método de toma (tipo de absorbente), tiempos de muestreo, temperaturas de almacenamiento y detalles de procesamiento (uso de no de inhibidores, diluciones) dificulta la comparabilidad y limita meta-análisis; además, varias revisiones y estudios no sistemáticos o con muestras pequeñas incrementan el riesgo de sesgo (6,11,12,15). En un estudio clínico se evidenciaron limitaciones analíticas para DSP con ELISA tradicional, sugiriéndose métodos más sensibles para ciertos analitos (10).

- Implicación general.

A pesar de la heterogeneidad, la evidencia converge en que el GCF/PICF es no invasivo, específico de sitio y útil para seguimiento, con ELISA (convencional o multiplex) cómo plataforma accesible; la estandarización de tiempos, absorbentes, almacenamiento y preparación es prioritaria para robustecer la validez externa y la reproducibilidad (10,12).

En conjunto, la evidencia converge en el valor intrínseco del GCF y la robustez analítica de ELISA. No obstante, la heterogeneidad en el tipo de absorbente, tiempos de muestreo, condiciones de almacenamiento y detalles de procesamiento constituye la principal limitación para la realización de meta-análisis y, lo que es más importante, para la traslación a la práctica clínica rutinaria (6,10,12,16). La estandarización rigurosa de todos los pasos preanalíticos se erige, por tanto, como un requisito indispensable para consolidar al GCF como una herramienta diagnóstica fiable y reproducible.

4. DISCUSIÓN

La presente revisión confirma que la técnica de elección para la recolección de GCF es la inserción de tiras de papel absorbente, siendo PerioPaper® (Oraflow Inc.) la marca más citada, por su equilibrio entre eficiencia, mínima invasividad y especificidad del sitio (10,14,16). Asimismo, se constata que el ELISA es la plataforma analítica predominante, valorada por su sensibilidad y aplicabilidad tanto en investigación como en contextos clínicos potenciales (11,15).

En los estudios incluidos se identificó que la técnica más frecuentemente empleada para recolectar GCF es la inserción de tiras de papel absorbente en el surco gingival o periimplantario, este método destaca por ser mínimamente invasivo, específico del sitio de interés y clínicamente aplicable (11). Cuevas-González et al. señalaron que 34 estudios incluidos en su revisión emplearon ELISA cómo herramienta principal para el diagnóstico molecular, subrayando su utilidad tanto en condiciones orales cómo sistémicas (11). Esta observación coincide con los hallazgos de Buduneli et al., quienes destacan la capacidad de ELISA para cuantificar

mediadores inflamatorios relevantes en la progresión de la enfermedad periodontal (15).

Sin embargo, detrás de esta aparente homogeneidad subyace una heterogeneidad metodológica crítica que compromete la validez externa de los hallazgos. Si bien existen consensos prácticos, como un tiempo de muestreo entre 30-60 segundos y la conservación inmediata a -80 °C, este análisis revela inconsistencias fundamentales (6,8,12,13). La falta de especificación en parámetros clave como los criterios de exclusión de muestras contaminadas o el tiempo exacto de muestreo en varios estudios (Tabla 1b) no son meras omisiones, sino síntoma de una carencia de protocolos estandarizados. Esta variabilidad preanalítica introduce un sesgo de cuantificación que dificulta la comparación directa de concentraciones de biomarcadores entre estudios, como los niveles de IL-1 β y MMP-8, ampliamente reportados por su papel en la inflamación periodontal (8,12,15,17).

El potencial traslacional del GCF se ve así limitado. Aunque los biomarcadores demuestran una alta utilidad diagnóstica *dentro* de estudios individuales y existen aplicaciones prometedoras más allá de la periodoncia, como en el monitoreo de implantes (osteocalcina, catepsina K) o la predicción de complicaciones sistémicas como las del embarazo, la ausencia de un procedimiento unificado impide la creación de puntos de corte universales y la implementación rutinaria en la práctica clínica (6,16). La reproducibilidad interlaboratorio y la fiabilidad de los resultados dependen de una estandarización rigurosa que, hasta la fecha, es insuficiente.

Se ha observado que la detección de biomarcadores en el GCF se puede ver influenciada por factores preanalíticos y metodológicos que pueden comprometer la estabilidad de las moléculas. Además, la falta de protocolos estandarizados para la recolección y el procesamiento de muestras limita su aplicación clínica y resalta la necesidad de directrices uniformes (19,20)

Fortalezas y Limitaciones de la Revisión

Entre las fortalezas de este trabajo se encuentra la estrategia de búsqueda sistemática y amplia en múltiples bases de datos de alto impacto, lo que permitió una captura comprehensiva de la literatura reciente. No obstante, esta revisión presenta limitaciones inherentes a su enfoque narrativo. La marcada heterogeneidad metodológica de los estudios primarios identificada, precisamente como hallazgo central, imposibilitó la realización de un meta-análisis cuantitativo. Además, la exclusión de literatura gris y artículos en idiomas distintos al inglés,

español o ruso pudo omitir evidencia relevante. A pesar de estas limitaciones, la revisión logra sintetizar críticamente la evidencia disponible y señalar de manera clara la principal barrera para la adopción clínica del GCF.

5. CONCLUSIONES

El análisis de biomarcadores en el fluido crevicular gingival (GCF) mediante ELISA se ha consolidado como una técnica sensible, eficaz y no invasiva para el diagnóstico y la monitorización de enfermedades periodontales y condiciones sistémicas. Los estudios revisados comparten similitudes metodológicas, como el uso de tiras absorbentes especiales (p. ej., Periopaper), tiempos de muestreo de 30 a 60 segundos y el almacenamiento de las muestras a -20 °C o -80 °C, lo que aumenta la fiabilidad de los resultados. Sin embargo, persisten diferencias en los protocolos, lo que dificulta las comparaciones entre estudios y limita su aplicación clínica. Los biomarcadores más frecuentemente estudiados, como IL-1 β , IL-6, TNF- α y MMP-8, presentan un alto valor diagnóstico y pronóstico, aunque su plena utilización depende de la estandarización de los criterios de recogida y procesamiento. En conjunto, los hallazgos sugieren que la validación del GCF como herramienta diagnóstica de rutina requiere la estandarización de parámetros técnicos que garanticen resultados consistentes y comparables.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Teles F, Martin L, Patel M, Hu W, Bitteringer K, Kallan MJ, et al. Gingival crevicular fluid biomarkers during periodontitis progression and after periodontal treatment. *J Clin Periodontol.* enero de 2025;52(1):40–55.
2. Sharma H, Tomar N, Nazar Rana M, Kaushik M. Gingival crevicular fluid (GCF): A diagnostic tool for the detection of periodontal health and diseases: A review. *International Journal of Scientific Engineering and Research.* el 27 de marzo de 2022;10(3):40–3.
3. Collection, storage and protein extraction method of gingival crevicular fluid for proteomic analysis. *Baghdad Sci J [Internet].* el 1 de abril de 2022;19(2). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.21123/bsj.2022.19.2.0368>
4. Blanco-Pintos T, Regueira-Iglesias A, Seijo-Porto I, Balsa-Castro C, Castelo-Baz P, Nibali L, et al. Accuracy of periodontitis diagnosis obtained using multiple molecular biomarkers in oral fluids: A

systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol*. noviembre de 2023;50(11):1420–43.

5. Baima G, Corana M, Iaderosa G, Romano F, Citterio F, Meoni G, et al. Metabolomics of gingival crevicular fluid to identify biomarkers for periodontitis: A systematic review with meta-analysis. *J Periodontal Res*. agosto de 2021;56(4):633–45.
6. Abouzaid M, Howidi N, Badran Z, Mohammed G, Mousa NA. The potential role of the gingival crevicular fluid biomarkers in the prediction of pregnancy complications. *Front Med (Lausanne)*. el 5 de junio de 2023;10:1168625.
7. Dolińska E, Skurska A, Dymicka-Piekarska V, Milewski R, Pietruska M. Matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) and interleukin-8 (IL-8) in gingival crevicular fluid after minimally invasive periodontal surgery with or without Er:YAG and Nd:YAG laser application. *Antibiotics (Basel)*. el 27 de julio de 2024;13(8):704.
8. Fadli NA, Abdul Rahman M, Karsani SA, Ramli R. Oral and gingival crevicular fluid biomarkers for jawbone turnover diseases: A scoping review. *Diagnostics (Basel)*. el 30 de septiembre de 2024;14(19):2184.
9. Katsiki P, Nazmi K, Loos BG, Laine ML, Schaap K, Hepdenizli E, et al. Comparing periodontitis biomarkers in saliva, oral rinse and gingival crevicular fluid: A pilot study. *J Clin Periodontol*. septiembre de 2021;48(9):1250–9.
10. Rody WJ Jr, Wijegunasinghe M, Holliday LS, McHugh KP, Wallet SM. Immunoassay analysis of proteins in gingival crevicular fluid samples from resorbing teeth. *Angle Orthod*. marzo de 2016;86(2):187–92.
11. Cuevas-González MV, Cuevas-González JC, Espinosa-Cristóbal LF, Tovar-Carrillo KL, Saucedo-Acuña RA, García-Calderón AG, et al. The potential of gingival crevicular fluid as a tool for molecular Diagnosis: A systematic review. *Biomed Res Int*. el 15 de octubre de 2024;2024:5560866.
12. Delucchi F, Canepa C, Canullo L, Pesce P, Isola G, Menini M. Biomarkers from Peri-implant crevicular fluid (PICF) as predictors of Peri-implant bone loss: A systematic review. *Int J Mol Sci [Internet]*. el 6 de febrero de 2023;24(4). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms24043202>

13. Jiménez C, Bordagaray MJ, Villarroel JL, Flores T, Benadof D, Fernández A, et al. Biomarkers in oral fluids as diagnostic tool for psoriasis. *Life (Basel)*. el 29 de marzo de 2022;12(4):501.
14. Nibali L, Stephen A, Hagi-Pavli E, Allaker R, Pino AD, Terranova V, et al. Analysis of gingival crevicular fluid biomarkers in patients with metabolic syndrome. *J Dent*. marzo de 2022;118(104065):104065.
15. Buduneli N, Bıyikoğlu B, Kinane DF. Utility of gingival crevicular fluid components for periodontal diagnosis. *Periodontol 2000*. junio de 2024;95(1):156–75.
16. Rastogi S, Rani K, Sharma V, Bharti PS, Deo K, Jain V, et al. Osteogenic markers in peri-implant crevicular fluid in immediate and delayed-loaded dental implants: A randomized controlled trial. *Clin Implant Dent Relat Res*. junio de 2023;25(3):540–8.
17. Ostrovskaya L, Eremin O, Zakharova N, Katkhanova L, Parfenov A, Kobzeva J, et al. Gum fluid biomarkers in personalized diagnostics of inflammatory and periodontal diseases. *ArveMED*. el 30 de septiembre de 2021;11(4):130–5.
18. Verscheure E, Stierum R, Schlünssen V, Lund Würtz AM, Vanneste D, Kogevinas M, et al. Characterization of the internal working-life exposome using minimally and non-invasive sampling methods - a narrative review. *Environ Res*. el 1 de diciembre de 2023;238(Pt 1):117001.
19. Wadhwa R, Prakash A, Wadhwa R, Jatava S, Tiwari A. Role of biomarkers in periodontal disease diagnosis. *J Pharm Bioallied Sci*. 2020;12(2):154–9. doi:10.4103/jpbs.JPBS_56_19.
20. Silva L, Costa A, Pereira R, Souza M. Protocolos metodológicos en la recolección de fluido crevicular gingival: revisión de literatura. *Res Soc Dev*. 2021;10(13):e20756. doi:10.33448/rsd-v10i13.20756