

*Artigo Original de Pesquisa*  
*Original Research Article*

# Análise do DNA genômico por espectrofotometria de amostras de saliva de crianças

## Analysis of genomic DNA by spectrophotometry in saliva samples from children

Gabriel Souza Ramalho<sup>1</sup>  
Gabriella Rodovalho Paiva<sup>1</sup>  
Camilla Beatriz da Silva Melo<sup>2</sup>  
Érika Calvano Küchler<sup>3, 4</sup>  
Cesar Penazzo Lepri<sup>1</sup>  
Maria Angélica Hueb de Menezes Oliveira<sup>1</sup>

**Autor para correspondência:**

Maria Angélica Hueb de Menezes Oliveira  
Universidade de Uberaba  
Faculdade de Odontologia – Departamento de Biomateriais  
Av. Nenê Sabino, 1801 / 2D06 – Universitário  
CEP 38055-500 – Uberaba – MG – Brasil  
E-mail: angelicahueb@hotmail.com

<sup>1</sup> Departamento de Biomateriais, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade de Uberaba – Uberaba – MG – Brasil.

<sup>2</sup> Laboratório de Biologia Molecular e Celular, Universidade de Uberaba – Uberaba – MG – Brasil.

<sup>3</sup> Departamento de Ortodontia, Universidade Hospital Bonn, Faculdade de Medicina – Bonn – Alemanha.

<sup>4</sup> Faculdade de Odontologia, Universidade Tuiuti do Paraná – Curitiba – PR – Brasil.

**Data de recebimento: 17 nov. 2025. Data de aceite: 17 nov. 2025.**

**Palavras-chave:**

crianças; DNA;  
genética; saliva.

### Resumo

**Introdução:** A saliva tem se consolidado como uma importante fonte de material genético para estudos biomoleculares, graças à sua coleta não invasiva e à facilidade de manejo. **Objetivo:** Avaliar a eficácia do método de bochecho para a coleta de saliva em crianças, de modo a estabelecer uma abordagem segura e viável para pesquisas genéticas nessa população. **Material e métodos:** Foram recrutadas crianças com idades entre 4 e 13 anos, mediante consentimento informado dos pais ou responsáveis. As amostras de saliva foram obtidas por bochecho vigoroso utilizando 5 ml de solução salina estéril, assegurando a padronização do procedimento. O DNA foi extraído de acordo com o protocolo estabelecido por Küchler *et al.* [15], e o rendimento foi quantificado por espectrofotometria. Avaliou-se a pureza do material genético pelas razões de absorbância A260/280 e A260/230, parâmetros fundamentais para garantir a qualidade

do DNA para análises subsequentes. Para a análise estatística, foram realizadas comparações entre os sexos e idade utilizando dados não paramétricos. **Resultados:** Os resultados evidenciaram que as amostras apresentaram rendimento satisfatório, variando de 0,5 até 46,3 ng/ $\mu$ l, e pureza adequada para análises genéticas, confirmando a confiabilidade do método. Observou-se que a técnica de bochecho, além de não invasiva, é segura, de fácil execução e economicamente viável, características especialmente relevantes em populações pediátricas. **Conclusão:** A coleta de saliva por bochecho constitui uma estratégia eficiente para obtenção de DNA em crianças, podendo contribuir significativamente para o avanço de estudos genéticos e biomoleculares nessa faixa etária. A validação do método abre perspectivas para pesquisas futuras, promovendo maior adesão ao estudo e reduzindo o desconforto associado a procedimentos invasivos, consolidando-se como ferramenta robusta em investigações científicas na área de genética pediátrica.

**Keywords:**

children; DNA;  
genetics; saliva.

**Abstract**

**Introduction:** Saliva has become an important source of genetic material for biomolecular studies due to its non-invasive collection and ease of handling. **Objective:** To evaluate the effectiveness of the mouth-rinse method for saliva collection in children, in order to establish a safe and feasible approach for genetic research in this population. **Material and methods:** Children aged 4 to 13 years were recruited after obtaining informed consent from parents or legal guardians. Saliva samples were collected by vigorous mouth rinsing with 5 ml of sterile saline solution, ensuring standardization of the procedure. DNA extraction followed the protocol established by Küchler *et al.* [15], and yield was quantified by spectrophotometry. The purity of the genetic material was assessed using the A260/280 and A260/230 absorbance ratios, key parameters to ensure DNA quality for subsequent analyses. Analyses were performed using 10% of the total volume of each sample. For statistical analysis, comparisons by sex and age were conducted using non-parametric data. **Results:** The results showed that the samples presented satisfactory DNA yield, ranging from 0.5 to 46.3 ng/ $\mu$ L, and adequate purity for genetic analyses, confirming the reliability of the method. The mouth-rinse technique proved to be non-invasive, safe, easy to perform, and cost-effective, features especially relevant in pediatric populations. **Conclusion:** Saliva collection by mouth rinse is an efficient strategy for obtaining DNA in children and may significantly contribute to the advancement of genetic and biomolecular studies in this age group. Validation of this method opens new perspectives for future research, promoting greater participant adherence and reducing discomfort associated with invasive procedures, thus establishing itself as a robust tool for scientific investigations in pediatric genetics.

## Introdução

A saliva tem sido amplamente reconhecida como um fluido biológico de grande potencial diagnóstico, uma vez que reflete, de forma não invasiva, processos fisiológicos e patológicos do organismo humano [17]. Diversos estudos destacam que sua composição, rica em biomoléculas com funções protetoras, antimicrobianas e regenerativas, a torna um meio eficaz para rastreamento de doenças e monitoramento clínico em diferentes faixas etárias, inclusive em crianças, em que métodos como a absorção e a sucção são mais indicados para evitar desconforto durante a coleta [9, 17]. A simplicidade do procedimento, aliada à ampla aplicabilidade, reforça o papel da saliva como ferramenta diagnóstica de baixo custo e alta tolerabilidade [21].

Nos últimos anos, a análise do microbioma salivar consolidou-se como um campo promissor, especialmente na interface entre saúde bucal e condições sistêmicas. Estudos como o de Armstrong *et al.* [3] demonstraram que a coleta de saliva com conservante proporciona maior estabilidade e consistência na mensuração da diversidade microbiana, sem comprometer a acurácia dos resultados de sequenciamento. Essa padronização metodológica é essencial, posto que variações nos métodos de coleta podem interferir na reprodutibilidade dos achados clínicos e laboratoriais, tornando o controle das condições pré-analíticas um desafio central nas pesquisas com saliva [4, 9].

Além dos aspectos microbiológicos, a saliva tem sido investigada como veículo para biomarcadores imunológicos, pois a detecção de autoanticorpos salivares representa uma alternativa viável aos testes séricos tradicionais, sobretudo em populações vulneráveis, como idosos e crianças [10]. A correspondência entre resultados salivares e séricos, observada em mais da metade dos estudos revisados, reforça a validade da saliva como matriz biológica para o diagnóstico de doenças autoimunes [19]. Essa aplicabilidade expande os horizontes da saliva como marcador local e como refletora de condições sistêmicas [18].

O estudo de Mortazavi *et al.* [18] sistematizou diferentes métodos de coleta, transporte e armazenamento, identificando o “*passive drooling*” e o uso do dispositivo Salivette® como os métodos mais empregados e eficazes. Os autores observaram que o manuseio inadequado pode alterar parâmetros bioquímicos e hormonais, afetando a validade dos biomarcadores analisados. A padronização

das condições de amostragem e armazenamento – como a centrifugação e o congelamento a -80°C – é, portanto, determinante para a preservação da integridade das amostras e a confiabilidade dos resultados.

Em contrapartida, estudos focados na população infantil revelam desafios específicos. Cornejo *et al.* [6] compararam dois métodos de coleta em lactentes – o uso de *swab* e a aspiração –, demonstrando que a técnica com hisopo apresenta maior eficiência na recuperação de microrganismos sem interferir na detecção molecular de *Streptococcus mutans*. Esses achados estão em consonância com os de Fey *et al.* [9], que também apontam a importância de adaptar o método à idade e à colaboração da criança. Assim, a escolha da técnica deve equilibrar conforto, eficácia microbiológica e padronização laboratorial.

Por fim, a integração dos achados de diferentes autores evidencia que a saliva representa um campo multidimensional de pesquisa diagnóstica, reunindo potencial para análises microbiológicas, imunológicas e genéticas [1]. A diversidade de protocolos e resultados encontrados nas revisões sistemáticas revela a necessidade urgente de padronização global das metodologias de coleta e processamento [10, 18, 22]. Dessa forma, a saliva se consolida como uma ferramenta diagnóstica promissora, desde que acompanhada por rigor metodológico e integração interdisciplinar entre Odontologia, Medicina e Biotecnologia.

Diante do exposto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a eficácia do método de coleta de saliva por bochecho em crianças, verificando o rendimento e a pureza do ácido desoxirribonucleico (DNA) obtido por meio de espectrofotometria, com base nas razões de absorbância A260/280 e A260/230, a fim de validar essa técnica como alternativa não invasiva, segura e viável para pesquisas genéticas em populações pediátricas.

## Material e métodos

Este estudo transversal incluiu crianças clinicamente saudáveis, de ambos os sexos, com idade entre 6 e 12 anos. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Uberaba (CAAE: 69181023.7.0000.5145) e de acordo com as diretrizes mais recentes da Declaração de Helsinque. Todos os participantes foram incluídos no estudo somente após responsáveis fornecerem o consentimento informado por escrito (TCLE) e o assentimento pelos participantes.

## Coleta de material biológico

As amostras de saliva foram coletadas de acordo com o protocolo descrito por Kuchler *et al.* [15]. Os participantes realizaram um bochecho com 5 ml de solução salina a 5%, durante 1 minuto. Todo o volume do bochecho foi coletado e acondicionado em tubos Falcon de 15 ml (Corning Inc., Corning, NY, EUA) e identificados individualmente. As amostras foram armazenadas em *freezer* -80°C até a etapa de extração do DNA genômico.

## Extração e purificação do DNA

A extração do DNA genômico foi realizada utilizando o protocolo descrito por Kuchler *et al.* [15], com adaptações específicas para as amostras pediátricas deste estudo. O processo iniciou-se com a centrifugação das amostras para sedimentação das células epiteliais bucais, seguida da lise celular em solução de Tris-HCl (10 mM, pH 7,8) contendo EDTA (5 mM) e SDS (0,5%), suplementada com proteinase K (100 ng/ml) para digestão proteica. Após incubação por 24 horas, as proteínas não digeridas foram removidas por adição de acetato de amônio (10 M), com subsequente centrifugação a 12.000 xg por 15 minutos. O DNA presente no sobrenadante foi precipitado com isopropanol a -20°C, lavado com etanol 70% e seco em temperatura ambiente. O pellet resultante foi ressuscitado em 1000 µL de tampão TE (Tris 10 mM; EDTA 1 mM) e armazenado a -20°C até as etapas de quantificação e análise.

## Quantificação e avaliação de pureza

A quantificação e a análise de pureza do DNA foram realizadas por espectrofotometria utilizando o equipamento NanoDrop™ One (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, EUA), com 2 µL do produto da extração. As mensurações foram feitas nos comprimentos de onda de 260 e 280 nm, e as razões A260/280 e A260/230 foram utilizadas como indicadores de pureza. Todas as amostras apresentaram valores médios de A260/280 próximos a 1,8 e A260/230 dentro do intervalo considerado ideal, indicando ausência de contaminantes proteicos ou orgânicos e confirmando a eficiência do protocolo de extração. O DNA obtido mostrou-se de alta integridade e adequado para análises genéticas subsequentes.

## Análise dos dados

A avaliação da distribuição das variáveis quantitativas (concentração de DNA e idade cronológica) foi conduzida por meio do teste de Shapiro-Wilk, a fim de verificar a aderência à distribuição normal. Os dados apresentaram distribuição não normal ( $p < 0,05$ ), justificando o emprego de métodos estatísticos não paramétricos.

Para a comparação das concentrações de DNA entre os sexos, recorreu-se ao teste Mann-Whitney U, apropriado para amostras independentes na ausência de distribuição normal dos dados.

A associação entre a concentração de DNA e a idade cronológica foi examinada por meio do coeficiente de correlação Spearman ( $\rho$ ), adequado para investigar relações monotônicas entre variáveis contínuas não paramétricas.

Todas as análises estatísticas e a elaboração dos gráficos ocorreram no *software* GraphPad Prism®, versão 9 (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA).

Adotou-se nível de significância de  $\alpha = 0,05$  para todas as inferências estatísticas.

## Resultados

Foram analisadas 110 amostras no total. A concentração de DNA em ng/µL variou de 0,5 até 258 ng/µL, com uma média de 8,54 (desvio padrão de 28,1). O teste de Shapiro-Wilk demonstrou que a distribuição das amostras não era normal, com  $W=0,219$  e  $p<0,0001$ .

A figura 1 apresenta a distribuição de acordo com o sexo removendo os dois *outliers* (feminino = 258 ng/µL e masculino = 144,2 ng/µL). Na tabela I está a distribuição das diferenças entre os gêneros feminino e masculino; não foi observada diferença estatisticamente significativa na distribuição das médias de concentração de DNA entre os gêneros ( $p = 0,7988$ ), o que pode ser visto também na figura 2.

A idade cronológica dos pacientes variou de 4 até 13 anos de idade, sendo a média de 8,4 anos, com desvio padrão de 2,1 anos. A correlação entre idade e concentração de DNA está na figura 3. Não houve correlação entre idade e concentração de DNA, de acordo com o teste de Spearman, o  $r$  foi de 0,0301 (intervalo de confiança 95% de -0,165 – 0,223) e o  $p$ -valor foi de 0,757.

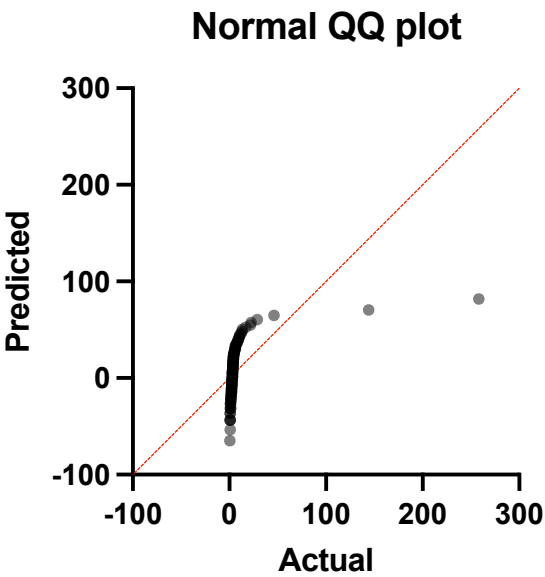


Figura 1 – QQ *plot* da distribuição da normalidade da amostra

Tabela I – Distribuição das diferenças entre os gêneros feminino e masculino

| Valores             | Feminino | Masculino | p-valor |
|---------------------|----------|-----------|---------|
| Número de pacientes | 60       | 50        |         |
| Mínimo              | 0,50     | 0,70      |         |
| 25% percentil       | 2,00     | 2,40      |         |
| Mediana             | 3,45     | 3,35      |         |
| 75% percentil       | 5,72     | 5,25      | 0,7844  |
| Máximo              | 258,0    | 144,2     |         |
| Variação            | 257,5    | 143,5     |         |
| Média               | 9,75     | 7,09      |         |
| Desvio padrão       | 33,42    | 20,11     |         |

Nota: Mann-Whitney teste foi usado para comparar a distribuição das médias

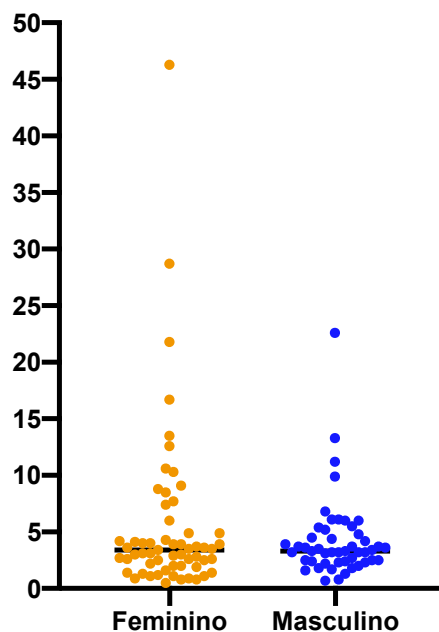


Figura 2 - Dot plot mostrando a distribuição da concentração entre os sexos

Nota: Eixo Y concentração de DNA e eixo X grupo categórico (gênero)

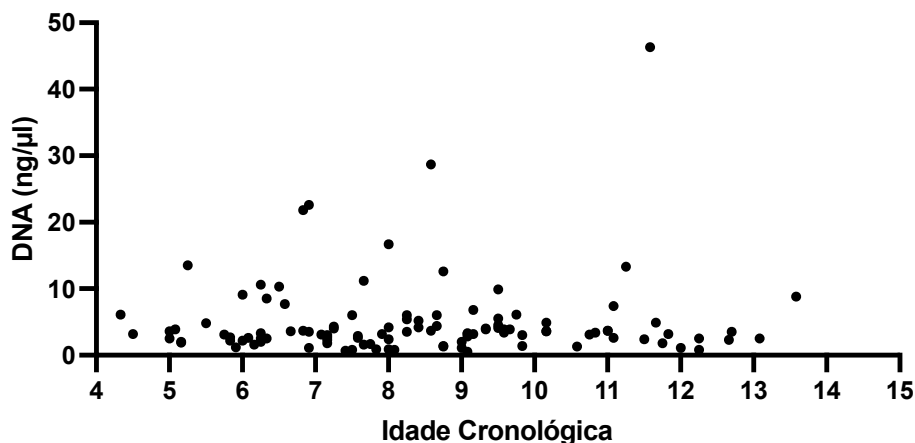


Figura 3 - Gráfico de correlação entre idade cronológica e a concentração de DNA

## Discussão

A utilização da saliva como matriz biológica para obtenção de DNA genômico tem se destacado por oferecer uma alternativa não invasiva, segura e economicamente viável, especialmente em populações pediátricas [5, 14].

Estudos prévios demonstram que o DNA obtido da saliva apresenta qualidade comparável ao do sangue, quando são observadas condições padronizadas de coleta e armazenamento [5, 24]. Além de eliminar o desconforto e o risco associados à punção venosa, a saliva reduz custos logísticos

e favorece maior adesão dos participantes, fatores fundamentais em pesquisas genéticas envolvendo crianças [13, 18]. Assim, a escolha desse fluido biológico é justificada por sua viabilidade técnica e pela qualidade adequada do DNA para análises moleculares subsequentes, conforme evidenciado pela pureza  $A_{260}/A_{280} \approx 1,8$ .

O método utilizado neste trabalho mostrou-se eficaz para obtenção de amostras padronizadas, minimizando variações de volume e tempo de coleta. Pesquisas indicam que a saliva total obtida por bochecho possui rendimento superior à obtida por métodos com esponjas ou *swabs*, por conter



maior número de células epiteliais esfoliadas [14, 20]. A extração baseada na digestão enzimática com proteinase K, seguida de precipitação alcoólica, está entre os protocolos mais consistentes para amostras pediátricas, proporcionando DNA íntegro e livre de contaminantes [2, 18]. O presente estudo confirma a eficiência desse procedimento, conseguindo amostras com pureza conforme os padrões ideais ( $A_{260}/_{280} \approx 1,8$ ;  $A_{260}/_{230} \approx 2,0$ ), sem evidência de degradação ou interferentes orgânicos.

Não houve diferença significativa entre os gêneros quanto à concentração de DNA salivar, resultado que se alinha a investigações prévias conduzidas em populações pediátricas e adultas [11, 12]. Embora fatores fisiológicos – como fluxo salivar e composição celular – possam teoricamente influenciar o rendimento, a literatura indica que a variação intraindividual supera eventuais diferenças relacionadas ao sexo [14]. Dessa forma, a homogeneidade entre os grupos masculino e feminino observada no presente estudo reforça a consistência do protocolo de coleta e sugere que, sob condições padronizadas, o gênero não constitui variável determinante para a obtenção de DNA salivar de boa qualidade.

A ausência de correlação entre idade cronológica e concentração de DNA observada nas análises do presente estudo está em consonância com trabalhos que relatam influência mínima dessa variável em coletas controladas [8, 16]. Em contrapartida, algumas pesquisas que encontraram variação etária significativa frequentemente utilizaram métodos de coleta heterogêneos ou amostras com pequeno controle de fatores, como jejum e estímulo salivar [11]. A manutenção de um protocolo uniforme – tempo fixo de bochecho, volume padronizado e armazenamento controlado – parece eliminar diferenças atribuíveis à idade, reforçando que o fator determinante para a qualidade do DNA é a padronização metodológica, e não a maturidade fisiológica das glândulas salivares [7].

As amostras analisadas apresentaram concentrações variando de 0,5 a 258 ng/ $\mu$ L, com pureza dentro dos limites aceitáveis para análises moleculares e amplificação positiva em 100% dos testes. Tais resultados confirmam que a concentração obtida foi suficiente para aplicações genéticas e biomoleculares, conforme indicado em estudos semelhantes [12, 13].

De acordo com a literatura, a integridade e a pureza do DNA são mais determinantes do que o volume absoluto para o sucesso de técnicas *downstream*, como reação em cadeia da polimerase (PCR) e genotipagem [24]. Assim, mesmo com variação individual nas concentrações, o DNA extraído demonstrou qualidade adequada,

evidenciada pelas razões de absorbância e pela ausência de degradação. Esses achados confirmam a robustez do protocolo adotado e sua capacidade de gerar DNA amplificável e estável.

Os resultados obtidos consolidam o método de coleta por bochecho salino como estratégia viável, padronizável e reprodutível para extração de DNA genômico em crianças. A pureza e a integridade observadas nas amostras indicam que o procedimento atende aos critérios de qualidade descritos na literatura para análises moleculares [18, 20]. A ausência de diferenças entre gêneros e faixas etárias reforça a aplicabilidade do método em populações heterogêneas, sem a necessidade de ajustes específicos. Assim, o presente estudo contribui para a consolidação da saliva como uma ferramenta diagnóstica e de pesquisa robusta na área da genética odontológica, oferecendo uma alternativa ética, segura e eficaz para coletas em pacientes pediátricos.

## Conclusão

O presente estudo demonstrou que o método de coleta salivar por bochecho com solução salina é uma abordagem eficaz, segura e não invasiva para a obtenção de DNA genômico em crianças. As amostras apresentaram pureza adequada, comprovando a eficiência do protocolo empregado. A ausência de diferenças significativas entre gênero e faixa etária reforça a reprodutibilidade do método e sua aplicabilidade em populações pediátricas heterogêneas. Além disso, a padronização da coleta e do armazenamento assegurou rendimentos satisfatórios, suficientes para análises moleculares e genéticas.

Assim, conclui-se que a saliva representa uma matriz biológica viável e promissora para estudos genéticos na Odontologia, contribuindo para o avanço de investigações biomoleculares com maior conforto e adesão dos participantes.

## Referências

1. Al Habobe H, Haverkort EB, Nazmi K, Van Splunter AP, Pieters RHH, Bikker FJ. The impact of saliva collection methods on measured salivary biomarker levels. *Clin Chim Acta*. 2024;552:117628.
2. Anzai-Kanto E, Hirata MH, Hirata RD, Nunes FD, Melani RF, Oliveira RN. DNA extraction from human saliva deposited on skin and its use in forensic identification procedures. *Braz Oral Res*. 2005;19(3):216-22.

3. Armstrong AJS, Parmar V, Blaser MJ. Assessing saliva microbiome collection and processing methods. *NPJ Biofilms Microbiomes*. 2021;7(1):81.
4. Bang E, Oh S, Ju U, Chang HE, Hong JS, Baek HJ et al. Factors influencing oral microbiome analysis: from saliva sampling methods to next-generation sequencing platforms. *Sci Rep*. 2023;13(1):10086.
5. Bruinsma FJ, Joo JE, Wong EM, Giles GG, Southey MC. The utility of DNA extracted from saliva for genome-wide molecular research platforms. *BMC Res Notes*. 2018;11(1):8.
6. Cornejo CF, Salgado PA, Molgatini SL, Gliosca LA, Squassi AF. Saliva sampling methods. Cariogenic streptococci count using two different methods of saliva collection in children. *Acta Odontol Latinoam*. 2022;35(1):51-7.
7. Emmett J, David R, McDaniel J, McDaniel S, Kingsley K. Comparison of DNA Extracted from pediatric saliva, gingival crevicular fluid and site-specific biofilm samples. *Methods Protoc*. 2020;3(3):48.
8. Escobar LM, Bendahan Z, Abril D, Díaz-Baez D, Paternina A, González-Martínez F et al. Influence of age, sex, and presence of cleft lip and palate on the quantity and quality of saliva-derived DNA. *J Oral Biol Craniofac Res*. 2025;15(2):246-9.
9. Fey JMH, Bikker FJ, Hesse D. Saliva collection methods among children and adolescents: a scoping review. *Mol Diagn Ther*. 2024;28(1):15-26.
10. Foddai SG, Radin M, Barinotti A, Cecchi I, Rubini E, Arbrile M et al. New frontiers in autoimmune diagnostics: a systematic review on saliva testing. *Int J Environ Res Public Health*. 2023;20(10):5782.
11. Gassó P, Pagerols M, Flamarique I, Castro-Fornieles J, Rodríguez N, Mas S et al. The effect of age on DNA concentration from whole saliva: implications for the standard isolation method. *Am J Hum Biol*. 2014;26(6):859-62.
12. Gudiseva HV, Hansen M, Gutierrez L, Collins DW, He J, Verkuil LD et al. Saliva DNA quality and genotyping efficiency in a predominantly elderly population. *BMC Med Genomics*. 2016; 9:17.
13. Hu Y, Ehli EA, Nelson K, Bohlen K, Lynch C, Huizenga P et al. Genotyping performance between saliva and blood-derived genomic DNAs on the DMET array: a comparison. *PLoS One*. 2012;7(3): e33968.
14. Koni AC, Scott RA, Wang G, Bailey ME, Peplies J, Bammann K et al. DNA yield and quality of saliva samples and suitability for large-scale epidemiological studies in children. *Int J Obes (Lond)*. 2011;35 Suppl 1:S113-8.
15. Küchler EC, Tannure PN, Falagan-Lotsch P, Lopes TS, Granjeiro JM, Amorim LM. Buccal cells DNA extraction to obtain high quality human genomic DNA suitable for polymorphism genotyping by PCR-RFLP and Real-Time PCR. *J Appl Oral Sci*. 2012;20(4):467-71.
16. Middleton LYM, Dou J, Fisher J, Heiss JA, Nguyen VK, Just AC et al. Saliva cell type DNA methylation reference panel for epidemiological studies in children. *Epigenetics*. 2022;17(2):161-77.
17. Min H, Zhu S, Safi L, Alkourdi M, Nguyen BH, Upadhyay A et al. Salivary diagnostics in pediatrics and the status of saliva-based biosensors. *Biosensors (Basel)*. 2023;13(2):206.
18. Mortazavi H, Yousefi-Koma AA, Yousefi-Koma H. Extensive comparison of salivary collection, transportation, preparation, and storage methods: a systematic review. *BMC Oral Health*. 2024;24(1):168.
19. Ortazewska M, Nijakowski K, Kolasińska J, Gruszczyński D, Ruchała MA, Lehmann A et al. Salivary alterations in autoimmune thyroid diseases: a systematic review. *Int J Environ Res Public Health*. 2023;20(6):4849.
20. Rogers NL, Cole SA, Lan HC, Crossa A, Demerath EW. New saliva DNA collection method compared to buccal cell collection techniques for epidemiological studies. *Am J Hum Biol*. 2007;19(3):319-26.
21. Spinola MDS, Ribeiro DV, Nery GB, Fischer DD, Damé-Teixeira N, Heller D. Saliva biobanking: a scoping review of collection, processing, and storage practices to enhance diagnostic potential. *Biopreserv Biobank*. 2025.
22. Tvarijonavičiute A, Martínez-Lozano N, Rios R, Marcilla de Teruel MC, Garaulet M, Cerón JJ. Saliva as a non-invasive tool for assessment of metabolic and inflammatory biomarkers in children. *Clin Nutr*. 2020;39(8):2471-8.
23. Vats R, Yadav P, Bano A, Wadhwa S, Bhardwaj R. Salivary biomarkers in non-invasive oral cancer diagnostics: a comprehensive review. *J Appl Oral Sci*. 2024;32:e20240151.
24. Yao RA, Akinrinade O, Chaix M, Mital S. Quality of whole genome sequencing from blood versus saliva derived DNA in cardiac patients. *BMC Med Genomics*. 2020;13(1):11.