



Ciencia Latina
Internacional

Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar, Ciudad de México, México.
ISSN 2707-2207 / ISSN 2707-2215 (en línea), septiembre-octubre 2024,
Volumen 8, Número 5.

https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v8i5

CUANTIFICACIÓN DE AMONIO EN SALIVA DE PREESCOLARES DESPUES DEL USO DE UN DENTÍFRICO CON ARGININA

**AMMONIUM QUANTIFICATION IN THE SALIVA OF
PRESCHOOL CHILDREN AFTER THE USE OF A
TOOTHPASTE WITH ARGININE**

Cristian Dionisio Román Méndez

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla – México

Edgar Mauricio Pérez Peláez

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla - México

María del Rayo Santellán Olea

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla - México

Jade Yolanda Sánchez Sánchez

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla - México

DOI: https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v8i5.14767

Cuantificación de Amonio en saliva de preescolares después del uso de un dentífrico con Arginina

Cristian Dionisio Román Méndez¹cristian.roman@correo.buap.mx<https://orcid.org/0000-0001-5671-4609>Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
México**Edgar Mauricio Pérez Peláez**edgar.perez@correo.buap.mx<https://orcid.org/0000-0001-5868-9523>Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
México**María del Rayo Santellán Olea**maria.santellan@correo.buap.mx<https://orcid.org/0000-0002-6653-5003>Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
México**Jade Yolanda Sánchez Sánchez**jadeyolanda@hotmail.com<http://orcid.org/0000-0002-0542-1440>Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
México

RESUMEN

La saliva tiene un efecto amortiguador, que ayuda a regular el pH, a través de Arginina Deiminasa (ADS) que produce amonio generando alcalinidad en el medio bucal. Este estudio tuvo como objetivo determinar la cuantificación de amonio en el medio bucal a través de un dentífrico comercial sin/con arginina al 1.5%. Bajo un diseño de estudio comparativo, longitudinal, prolectivo y homodémico, se seleccionaron 42 preescolares, los cuales se dividieron en dos grupos aleatoriamente, un grupo se les pidió que se cepillaran con una pasta comercial con flúor a 1450 ppm y otro grupo con otra pasta comercial con flúor a 1450 ppm más arginina al 1.5%, se les pidió una muestra inicial de saliva en un tubo Eppendorf, para después volver a recolectar muestras a los 15 días, 30 días y 60 días. Se encontró que la producción de amonio en saliva se mantuvo estable a lo largo del estudio debido a las condiciones favorables de pH manteniéndolo estable o volviéndolo neutro, produciendo un impacto clínico que se relaciona con una disminución del riesgo a caries a largo plazo al realizar el uso de un dentífrico con arginina con mayores beneficios para los pacientes que se presentan a consulta.

Palabras clave: pH salival, dentífricos, arginina, amonio, preescolares

¹ Autor Principal

Correspondencia: cristian.roman@correo.buap.mx

Ammonium quantification in the saliva of preschool children after the use of a toothpaste with Arginine

ABSTRACT

Saliva has a buffering effect, which helps regulate pH, through Arginine Deiminase (ADS) that produces ammonium, generating alkalinity in the oral environment. This study aimed to determine the quantification of ammonium in the oral environment through a commercial toothpaste without/with 1.5% arginine. Under a comparative, longitudinal, prolective and homodemic study design, 42 preschoolers were selected, who were randomly divided into two groups, one group was asked to brush with a commercial paste with fluoride at 1450 ppm and another group with another paste. commercial with fluoride at 1450 ppm plus 1.5% arginine, they were asked for an initial saliva sample in an Eppendorf tube, and then collected samples again after 15 days, 30 days and 60 days. It was found that the production of ammonium in saliva remained stable throughout the study due to the favorable pH conditions, keeping it stable or making it neutral, producing a clinical impact that is related to a decrease in the risk of caries in the long term when using of a toothpaste with arginine with greater benefits for patients who present for consultation.

Keywords: salivary pH, toothpastes, arginine, ammonium, preschoolers

Artículo recibido 10 septiembre 2024
Aceptado para publicación: 12 octubre 2024



INTRODUCCIÓN

La saliva tiene un efecto amortiguador, que ayuda a regular el pH, a través de sistemas como el de Arginina Deiminasa (ADS) que produce amonio generando alcalinidad en el medio bucal. El amonio actúa como aceptor de iones de hidrógeno, lo que ayuda a mantener un pH ambiental neutro en el biofilm dental.

La producción de amonio a través del sistema arginina deiminasa juega un rol importante en la alcalinización del medio bucal, lo que se cree a largo plazo poder disminuir el riesgo a caries de los pacientes. Considerando los diferentes factores que pueden incrementar este riesgo en los niños de edad preescolar, como la ausencia de higiene, la falta de capacidad motora, la deficiencia de atención por parte de los padres, entre otras; al incorporar la arginina por medio de un dentífrico comercial en la rutina de higiene en casa, se pretende incrementar su concentración en boca y modificar un ambiente ácido a un ambiente neutro con un pH salival aumentado. El uso de dentífricos con arginina dentro de sus componentes puede implementarse como un medio preventivo fácil, sencillo y de cierta manera económico que los odontólogos pediatras pueden indicar en casos que cumplan con los criterios de un alto riesgo a caries.

El *Streptococcus sanguinis* es considerado una bacteria comensal modelo asociada con el establecimiento de biofilms dentales sanos y como un comensal arginolítico, capaz de mantener un pH alcalino dentro del microambiente bucal mediante la producción de amoníaco (NH_3) a partir de urea o arginina, utilizando el sistema arginina deiminasa activado por valores de pH ambientales ligeramente ácidos que incrementa el pH celular y el pH del biofilmoral^{1,2,3,4}. El sistema arginina deiminasa está altamente activo en *Streptococcus gordonii* y *Streptococcus sanguinis*, pero ausente en *Streptococcus* del tipo *mutans*⁵.

La saliva es una solución saturada de calcio y fosfato, la fuente de estos iones es el proceso dinámico de precipitación y disolución de la hidroxiapatita de calcio, que es el componente inorgánico esencial de los tejidos duros del diente. En un equilibrio dinámico, la sobresaturación de la saliva es una barrera contra la desmineralización y un requisito previo para el proceso de remineralización⁶.

Las diferentes proteínas salivales que se encuentran en la saliva, como las mucinas, las estaterinas, las proteínas ricas en prolina, las inmunoglobulinas y las fosfoproteínas, pueden fijar el calcio e impedir



que las sales de calcio precipiten en la saliva. Otros componentes tienen la capacidad de elevar el pH de la biopelícula, uno de estos compuestos es la sialina, un tetrapéptido con arginina que se encuentra en la saliva parotídea ⁷.

La capacidad de la saliva para eliminar y neutralizar los ácidos del biofilm, así como el metabolismo de los sustratos salivales, son mecanismos fisiológicos que pueden evitar la acidificación del medio. La hidrólisis de urea por enzimas ureasas y el metabolismo de arginina a través del sistema de la arginina deiminasa son los dos procesos principales para producir álcali y de esta forma neutralizar el pH del ambiente. La saliva contiene de 2 a 6 mmol/L de amonio, que se produce debido a estos dos procesos ⁸. La Arginina o L-arginina es un aminoácido semiesencial secretada por la saliva en concentraciones micromolares (50 µmol/L) mediante la renovación de proteínas y la síntesis de arginina de novo a partir de citrulina ⁹. También se encuentra disponible en dietas proteicas y utilizado como suplemento dietético ¹⁰.

En biofilms supragingivales, la arginina es metabolizada en amoníaco, dióxido de carbón y adenosín trifosfato (ATP) a través del sistema arginina-deiminasa ¹¹ por bacterias arginolíticas como *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus parasanguinis*, *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus australis*, *Streptococcus cristatus*, *Streptococcus salivarius*, *Lactobacillus spp* y *Actinomyces spp* ¹². En estudios *in vivo*, alta actividad del sistema arginina deiminasa es reportado en placa de individuos libres de caries, en comparación con aquellos con caries activa ^{13,14,15}. El metabolismo de la arginina produce amoníaco, que eleva el pH de la saliva y es un mecanismo de defensa utilizado por las bacterias bucales para evitar que las bacterias acidogénicas liberen protones. Este pH ambiental relativamente neutro favorece la supervivencia de las bacterias ADS-positivas (ADS+) a la vez que previene los procesos de desmineralización y el desarrollo de lesiones de caries en el esmalte ¹⁶.

Hoy en día, existe tecnología diseñada para administrar arginina para la producción de amoníaco por parte de las bacterias del biofilm; se incorporó a pastas dentales ¹⁷ para suprimir la pérdida mineral a través de un efecto amortiguador (buffer) y puede ayudar a controlar la caries dental ¹⁸.

La combinación de arginina con fluoruro de sodio presenta un efecto sinérgico frente a *S. mutans* al disminuir la proporción *S. mutans*/*S. sanguinis* hacia un consorcio predominante de *S. sanguinis* y



neutralizando la acidificación del biofilm. Este mecanismo impide la selección de *S. mutans* y favorece la hegemonía de especies productoras de álcali como *S. sanguinis* ¹⁸.

La incorporación del 2% de arginina en pastas dentales fluoradas comercialmente disponibles incrementaron significativamente sus propiedades remineralizantes, como se demostró al incrementar la ganancia de minerales, el porcentaje de remineralización y la captación de fluoruro en el esmalte ¹⁸. En México, existen presentaciones de dentífricos que dentro de sus ingredientes incluyen arginina. Estos pertenecen a la casa comercial Palmolive®; entre ellas Colgate Sensitive Pro Alivio con arginina al 8%, Colgate Máxima Protección Anticaries con arginina al 1.5% y Colgate Total 12® con arginina al 1.5% ¹⁸.

Aunque los mecanismos de acción entre arginina y fluoruro son diferentes, estos se complementan y/o tienen un efecto sinérgico. El metabolismo de la arginina afecta de manera positiva la homeostasis del pH, la ecología bacteriana y su patogenicidad, mientras que el fluoruro mejora la resistencia mineral del diente en pH bajo y reduce la producción de ácido por el biofilm oral supragingival ¹⁹.

Nuevos enfoques han sido diseñados para incrementar el efecto existente de las terapias con fluoruro en lugar de reemplazarlas, pero aquellas que no involucren fluoruro pueden ser una alternativa para aquellos pacientes que se rehúsan a su uso. Una estrategia ideal para el control de caries dental debería suprimir las bacterias cariogénicas, reducir la matriz extracelular, y proteger la superficie del diente de ataques ácidos ¹⁹.

El presente estudio busca demostrar que el incremento de uso de arginina en la higiene bucal puede mejorar el medio para mantener una baja incidencia de caries en los niños preescolares.

METODOLOGÍA

Se utilizó un enfoque cuantitativo para este tipo de estudio, con un diseño de estudio comparativo, longitudinal, prolectivo y homodémico, se seleccionaron 38 preescolares con un muestreo probabilístico por conveniencia y con un consentimiento firmado por los padres para poder participar, dichos preescolares se dividieron en dos grupos aleatoriamente, a un grupo se les pidió que se cepillaran con una pasta comercial con flúor a 1450 ppm y a otro grupo con otra pasta comercial con flúor a 1450 ppm más arginina al 1.5%, se les pidió una muestra inicial de saliva con ayuda de un embudo y vaciada en un tubo Eppendorf con etiqueta de identificación (Figura 1), para ser transportadas en 500 µl de fosfato

dipotásico (K_2HPO_4 10 mM, pH 7) en una hielera a 4°C, para su posterior almacenamiento en ultracongelador a -80° hasta su procesamiento, posteriormente se les explico a los padres como cepillar a los preescolares con las pastas asignadas, para después volver a recolectar muestras a los 15 días, 30 días y 60 días con el mismo protocolo explicado anteriormente.

Se realizó una curva de calibración de amonio, esta curva se realizó a través del método de Nessler²⁰. De acuerdo con los resultados obtenidos se obtuvo que la saliva va de 2.5 mM a 20 mM. A partir de estas concentraciones conocidas de amonio, se mezcla el sulfato de amonio $(NH_4)_2SO_4$ con 100 µl de reactivo de Nessler (KI 5%, HgCl 2,5%, KOH 16%) y agua destilada para obtener un total de 1000 µl. Posterior a la preparación, se leyó la absorbancia en el espectrofotómetro Ultrospec 1000 (Pharmacia Biotech) (Figura 2) a una longitud de onda de 395 nm, calibrada previamente con una solución blanco, libre de amonio. Con los datos obtenidos de 5 pruebas independientes se realizó una regresión lineal y se obtuvo una curva estándar de la concentración de amonio versus la absorbancia (Tabla 1). En esta curva se extrapolaron los valores de longitud de onda del amoniaco formado por la actividad de ADS de las muestras de saliva tomadas en los pacientes preescolares para obtener la concentración en mM/ml. Se descongelaron las muestras una hora antes de iniciar su procesamiento a temperatura ambiente. Se procedió a la toma de pH con un potenciómetro (HANNA®) (Figura 3).

Para determinar la producción de amonio en saliva se realiza el mismo proceso realizado para determinar la producción de amonio por enzimas arginina deiminasa y ureasa (25 µl de saliva total, 875µl de agua destilada y 100 µl de reactivo Nessler).

Se leyó la absorbancia a longitud de onda a 395 nm en el espectrofotómetro. Los resultados obtenidos de los 3 eventos independientes se promediaron y se extrapolaron en la curva de concentración de amonio previamente realizada. Luego de obtener los valores de amonio producido (mM) se expresó la actividad específica enzimática como mM/ml de saliva.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el estudio participaron 38 preescolares, 17 pertenecieron al sexo masculino y 21 al sexo femenino (Tabla 2) con una media de edad de 5.3+/- .48 (Tabla 3).

Para verificar si existe significancia en la producción de amonio, se realizó la prueba de Shapiro Wilk, considerando que los casos son menores a 50, para saber la normalidad de los datos. En las pruebas de

normalidad de las concentraciones de amonio producido en saliva son menores a 0.05, por lo que no tienen distribución normal, corroborado con la asimetría y la curtosis de la estadística descriptiva en el cual se observó que sus valores se encuentran fuera de la escala permitida (-2 a +2). Al ser un estudio longitudinal con más de dos mediciones, se realizó la prueba no paramétrica de Friedman con el paquete estadístico SPSS versión 25 (Tabla 4).

Tanto en el grupo experimental como control de la producción de amonio en saliva (mM/ml), no se observó ninguna diferencia estadísticamente significativa entre los tres tiempos de medición ($p > 0.05$) (Tabla 5 y 6)

El presente estudio se enfocó en la producción de amonio a través de arginina deiminasa en una población infantil sin caries a lo largo de 60 días al incorporar a sus hábitos de higiene dental una pasta con flúor (1450 ppm) + arginina al 1.5%.

Koopman JE y cols. realizaron un estudio con el objetivo de mejorar el conocimiento sobre el efecto de la arginina en el ecosistema bucal y sobre su potencial prebiótico. Incluyeron 9 voluntarios sanos sin caries que realizaron cepillado dental por dos semanas con pasta fluorada, cuatro semanas con pasta con arginina al 8% y nuevamente pasta fluorada. Se tomaron muestras de saliva estimulada en las que midieron la producción de amonio por espectrofotometría y observaron que la producción de amonio en saliva solo incrementó durante el periodo de uso de la pasta con arginina al 8% ($p = 0.0005$)²¹. A diferencia de los presentes resultados, que a pesar de observarse un ligero incremento de producción de amonio en saliva, a lo largo de 60 días en niños que usaron pasta con arginina al 1.5%, no era estadísticamente significativo ($p > 0.05$), lo que demuestra que la producción de amonio en saliva se mantuvo estable a lo largo del estudio debido a las condiciones favorables que propiciaba una buena técnica de cepillado, la actividad enzimática de arginina deiminasa y otras bacterias con actividad neutralizante. Se debe destacar que en el estudio de esta investigación la arginina se encontraba a un porcentaje menor (1.5%) que al incluido en el estudio de Koopman JE y cols. (8%) lo que podría explicar las variaciones en los resultados.

En un estudio realizado por Kumar V y cols. donde evaluaron la actividad ureolítica en saliva y biofilm en un grupo libre de caries y otro con caries, de 52 niños con rango de edad de 6 a 12 años, midieron la producción de amonio por ureasa al estimularla con urea al 3% y buffer fosfato con pH de 7.2. En los

resultados concluyeron que la actividad de ureasa tanto en biofilm como en saliva era mayor en los niños libres de caries que en aquellos con caries ($p=0.00$ y $p=0.01$) ²². Estos datos concuerdan con los resultados obtenidos en esta investigación, donde los niños libres de caries tuvieron una diferencia significativa de producción de amonio en saliva. Cabe mencionar que en la presente investigación se utilizó una pasta con arginina al 1.5%, para estimular a las bacterias productoras de amonio que a su vez favorecieron la producción enzimática de arginina deiminasa a lo largo de 15, 30 y 60 días.

Ilustraciones, Tablas, Figuras

Figura 1. Toma de saliva con embudo



Figura 2. Espectrofotómetro Ultrospec 1000 (Pharmacia Biotech)



Figura 3. Potenciómetro HANNA®



Tabla 1. Curva de calibración de amonio para saliva

Concentración de amonio	Absorbancia (395 nm)*
2.5 mM	0.45
7.5 mM	0.8696
15 mM	1.572
20 mM	2.1258

*Cada una de las longitudes de onda corresponde al promedio de 5 lecturas independientes.

$$y = 0.1012x + 0.0928$$

$$R^2 = 0.9927$$

Tabla 2. Sexo de los preescolares

Sexo	Frecuencia	Porcentaje
Masculino	17	44.7
Femenino	21	55.3
Total	38	100

Tabla 3. Edad de los preescolares

Edad	Frecuencia	Porcentaje	Media	Desviación estándar
5 años	25	65.8	5.34	.481
6 años	13	34.2		
Total	38	100		

Tabla 4. Producción de amonio en saliva de los preescolares

	Media	Desviación estándar	p* valor
Inicial	11.248 mM/ml	2.427	0.001
15 días	12.157 mM/ml	1.826	
30 días	12.077 mM/ml	1.963	
60 días	10.530 mM/ml	1.740	

*p=Friedman

Tabla 5. Producción de amonio en saliva de niños que usaron pasta con arginina

95% de intervalo de confianza					
Grupos	Diferencia de medias	Error estándar	Sig.	Límite inferior	Límite superior
Inicial 15 días	-.73392	.75260	.764	-2.7290	1.2611
30 días	-1.13906	.75260	.437	-3.1341	.8560
60 días	.57558	.76831	.877	-1.4611	2.6123
15 días Inicial	.73392	.75260	.764	-1.2611	2.7290
30 días	-.40514	.78818	.955	-2.4945	1.6842
60 días	1.30951	.80319	.371	-.8197	3.4387
30 días Inicial	1.13906	.75260	.437	-.8560	3.1341
15 días	.40514	.78818	.955	-1.6842	2.4945
60 días	1.71464	.80319	.155	-.4145	3.8438
60 días Inicial	-.57558	.76831	.877	-2.6123	1.4611
15 días	-1.30951	.80319	.371	-3.4387	.8197
30 días	-1.71464	.80319	.155	-3.8438	.4145

Tabla 6. Producción de amonio en saliva de niños que usaron pasta con solo flúor

95% de intervalo de confianza					
Grupos	Diferencia de medias	Error estándar	Sig.	Límite inferior	Límite superior
Inicial 15 días	- 1.30712	.79218	.359	-3.4025	.7883
30 días	-.71110	.74892	.778	-2.6921	1.2699
60 días	.59510	.74892	.857	-1.3859	2.5761
15 días Inicial	1.30712	.79218	.359	-.7883	3.4025
30 días	.59602	.80284	.880	-1.5276	2.7196
60 días	1.90222	.80284	.095	-.2214	4.0258
30 días Inicial	.71110	.74892	.778	-1.2699	2.6921
15 días	-.59602	.80284	.880	-2.7196	1.5276
60 días	1.30620	.76018	.324	-.7046	3.3170
60 días Inicial	-.59510	.74892	.857	-2.5761	1.3859
15 días	-1.90222	.80284	.095	-4.0258	.2214
30 días	-1.30620	.76018	.324	-3.3170	.7046

CONCLUSIONES

Los niños que realizaron cepillado dental con arginina al 1.5%, tuvieron un mayor incremento de producción de amonio por arginina deiminasa desde el inicio del estudio, a los 15, 30 y 60 días.

Los niños que realizaron cepillado dental con solo flúor 1450 ppm tuvieron un incremento de producción de amonio a los 30 y 60 días.

Los niños que realizaron cepillado dental con pasta con arginina y pasta con solo flúor no tuvieron producción de amonio por ureasa de manera significativa a lo largo del estudio.

En saliva, la producción de amonio tanto en niños que realizaron el cepillado con arginina como con solo flúor no tuvieron una producción de amonio significativa comparando la toma inicial hasta los dos meses que duró el estudio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Lozano CP, Díaz-Garrido N, Kreth J, Giacaman RA. *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis* Expression of Competition-Related Genes, under Sucrose. *Caries Res.* 2019 Feb 1;53(2):194–203.
- Bijle MNA, Ekambaram M, Lo ECM, Yiu CKY. The combined antimicrobial effect of arginine and fluoride toothpaste. *Sci Rep.* 2019 Dec 1;9(1).
- Huang X, Browngardt CM, Jiang M, Ahn SJ, Burne RA, Nascimento MM. Diversity in antagonistic interactions between commensal oral streptococci and streptococcus mutans. In: *caries research*. S. Karger AG; 2018. p. 88– 101.
- Berto LA, Lauener A, Carvalho TS, Lussi A, Eick S. In vitro effects of arginine-containing toothpastes on cariogenic biofilms. *Oral Health Prev Dent* [Internet]. 2019 Jun 14;1– Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31204391>
- Surdilovic D, Ille T. Correlation between the pH value of stimulated and unstimulated saliva and the caries risk in children. Vol. 9, *European Journal of Pharmaceutical and Medical Research* www.ejpmr.com | . 2022.
- Miranda ML, Silva BNS, Salomão KB, de Oliveira AB, Gabbai-Armelin PR, Brighenti FL. Effect of arginine on microorganisms involved in dental caries: a systematic literature review of in vitro studies. *Biofouling.* 2020 Aug 4;36(6):696–709.



- Nascimento M. Potential uses of arginine in dentistry. *Adv Dent Res*. 2018;29(1):98–103.
- Thepchuay Y, Mesquita RBR, Nacaprigha D, Rangel AOSS. Micro-PAD card for measuring total ammonia nitrogen in saliva. *Anal Bioanal Chem*. 2020 May 1;412(13):3167–76.
- Zaura E, Twetman S. Critical appraisal of oral pre- and probiotics for caries prevention and care. Vol. 53, *Caries Research*. S. Karger AG; 2019. p. 514–26.
- Nascimento MM, Alvarez AJ, Huang X, Hanway S, Perry S, Luce A, et al. Arginine metabolism in supragingival oral biofilms as a potential predictor of caries risk. *JDR Clin Trans Res*. 2019 Jul 1;4(3):262–70.
- Sanchez AY, de Oliveira CL, Negrini TC, Hashizume LN, Hara AT, Maltz M, et al. In situ effect of arginine-containing dentifrice on plaque composition and on enamel demineralization under distinct cariogenic conditions. *Caries Res*. 2018 Nov 1;52(6):588–97.
- Nascimento M. Potential uses of arginine in dentistry. *Adv Dent Res*. 2018;29(1):98–103.
- Berto LA, Lauener A, Carvalho TS, Lussi A, Eick S. In vitro effects of arginine-containing toothpastes on cariogenic biofilms. *Oral Health Prev Dent* [Internet]. 2019 Jun 14;1–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31204391>
- Nascimento MM, Browngardt C, Xiaohui X, Klepac-Ceraj V, Paster BJ, Burne RA. The effect of arginine on oral biofilm communities. *Mol Oral Microbiol*. 2014 Feb;29(1):45–54.
- Nascimento MM, Gordan V V., Garvan CW, Browngardt CM, Burne RA. Correlations of oral bacterial arginine and urea catabolism with caries experience. *Oral Microbiol Immunol*. 2009 Apr;24(2):89–95.
- Thepchuay Y, Mesquita RBR, Nacaprigha D, Rangel AOSS. Micro-PAD card for measuring total ammonia nitrogen in saliva. *Anal Bioanal Chem*. 2020 May 1;412(13):3167–76.
- Bijle MN, Tsoi J, Ekambaram M, Lo ECM, Carey CM, Yiu CKY. Enhanced fluoride bioavailability with incorporation of arginine in child dentifrices. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*. 2020 Nov 12;44(5):332–41.
- Cabral Oliveira PH, Cabral Oliveira MR, Cabral Oliveira LH, Sfalcin RA, Pinto MM, Rosa EP, et al. Evaluation of different dentifrice compositions for increasing the hardness of demineralized enamel: An in vitro study. *Dent J (Basel)*. 2019 Mar 1;7(1).



- Vaziriamjad S, Solgi M, Kamarehei F, Nouri F, Taheri M. Evaluation of l- arginine supplement on the growth rate, biofilm formation, and antibiotic susceptibility in *Streptococcus mutans*. *Eur J Med Res*. 2022 Dec 1;27(1).
- Miyares-Estrada M, Torres-Idavoy D, Padrón-Morales S, Valdés-Hernández J, Díaz-Martínez M, Mildrey Bonilla-Hernández R. Aplicación del reactivo de Neesler en la cuantificación de amonio para las fermentaciones de productos biotecnológicos [Internet]. Vol. 24, *VacciMonitor*. 2015. Available from: www.finlay.sld.cu/vaccimonitor.html
- Koopman JE, Hoogenkamp MA, Buijs MJ, Brandt BW, Keijser BJJ, Crielaard W, et al. Changes in the oral ecosystem induced by the use of 8% arginine toothpaste. *Arch Oral Biol*. 2017 Jan 1;73:79–87.
- Kumar V, Nanda A, Harish Bhat K, Ashrit P, Babu A, Shakir MK. Urease activity in saliva and plaque as endogenous protection against dental caries in institutionalized blind children. *J Nat Sci Biol Med*. 2021 Jan 1;12(1):109–12.

