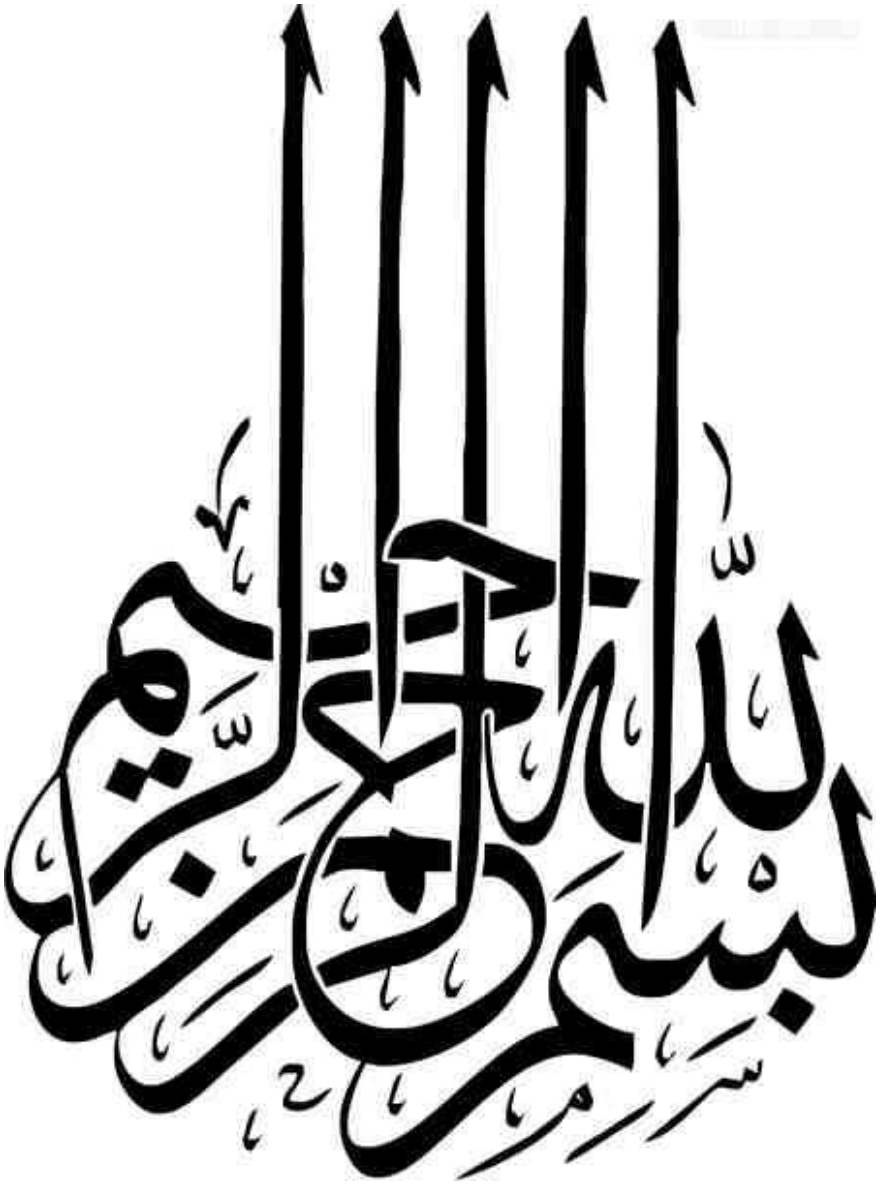
بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه علوم پزشکی کرمان

مرکز تحقیقات بیماری‌های دهان و دندان دانشکده دندانپزشکی

پایان نامه مقطع دکترای پژوهش محور مواد دندانی

عنوان:

اثر پلاسمای سرد اتمسفری و محصولات گیاهی-دارویی بر میکروارگانیسم های موجود در پالپ دندان، بیوفیلم و توبول‌های عاجی

نگارنده:

سیده فاطمه پیروموسوی جلالی

اساتید راهنما:

دکتر علی اسکندری زاده

دکتر علیرضا گنجویی

دکتر علیرضا سعیدی

استاد مشاور:

دکتر مریم راد

شماره پایان نامه: ۷ **سال تحصیلی: ۱۴۰۱-۱۴۰۰**

اظهارنامه فارسی

بدین‌و سیله اعلام مي‌نمایم که این پایان‌نامه حا صل کار تحقیقاتي اینجانب **سیده فاطمه پیروموسوی جلالی**، دانشـجوي مقطع دکتری رشـته مواد دندانی در گروه مواد دندانی(مرکز تحقیقات بیماری‌های دهان و دندان) دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکي کرمان می باشد و در هیچ دانشگاه یا مرکز تحقیقاتي و آموزشي دیگري براي دریافت مدرك علمي ارایه نگردیده است.

اطلاعات علمي که از نتایج تحقیقات چاپ‌شـده یا چاپ‌نشـده دیگران اخذ شـده اسـت، با ذکر منبع، در متن پایان‌نامه و در فهرست منابع آورده شده است.

کلیه حقوق اعم از چاپ، تکثیر، نسخه‌برداري، ترجمه، اقتباس و ... از نتایج این پایان‌نامه، براي دانشگاه علوم پزشکي کرمان محفوظ است. استناد به مطالب یا نقد آنها، با ذکر مأخذ بلامانع است.

نام و نام خانوادگی دانشجو: سیده فاطمه پیروموسوی

تاریخ و امضا

Declaration

Hereby I declare that the present thesis is exclusively my own work, based on my research for Ph.D. degree in department of Dentistry faculty Oral and Dental Diseases Research Center Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran.

I also declare that no part of this thesis has been submitted in this form to any other University or Institution of higher education for an academic degree. Information delivered from the published or unpublished work of others has been acknowledged in the text and a list of references is given.

All the rights including printing, duplication, translation, adoption, etc., of the results of this thesis is reserved for the Kerman University of Medical Sciences. Criticism by mentioning the source is allowed.

Student's Name: Seyedeh Fatemeh Peyro Mousavi

Date and Signature

فهرست مطالب

فهرست جداول ..... ی

فهرست تصاویر و نمودارها ..... ک

فهرست ضمائم و پیوست ها ..... س

فهرست کوتاه نوشته ها ..... ع

چکیده .....

فصل اول: مقدمه و اهداف ۱

۱-۱مقدمه..... ۲

۱-۲ تقسیم بندی پلاسما..... ٤

۱-۲-۱ پلاسمای گرم..... ٥

۱-۲-۲ پلاسمای سرد..... ٦

۱-۳ مزایای پلاسما..... ۷

۱-٤ نحوه تولید پلاسما سرد..... ۸

۱-٥ ویژگی‌های پلاسما..... ۸

۱-٦ تولید پلاسما با تخلیه الکتریکی..... ۹

۱-٦-۱ تولید پلاسمای سرد به روش تخلیه سد دی الکتریک(DBD) ۱۱

۱-۷-۱ نمایشگرهای پلاسما..... ۱۲

۱-۷-۲ جت پلاسما..... ۱۳

۱-۸ کاربردهای پلاسما..... ۱۳

۱-۹ کاربرد پلاسمای سرد در پزشکی و دندانپزشکی ۱٤

۱-۹-۱ از بین بردن میکروارگانیسم های مختلف با استفاده از پلاسمای سرد اتمسفری ۱۵

۱-۹-۲ زاویه تماس و خشونت سطحی..... ۱٦

۱-۹-۳ سفید کردن یا بلیچینگ ۱۷

۱-۱۰ ایمپلنت های دندانی ۱۸

۱-۱۱ اثر NAPP بر سلول‌های بنیادی ۲۰

۱-۱۲ اثر پلاسمای سرد بر دمینرالیزاسیون مینای دندان ۲۱

۱-۱۳خمیردندان ضد حساسیت گیاهی ۲۳

۱-۱٤دهان شویه ضدباکتری گیاهی-داروئی ۲۹

۱-۱۵هدف کلي طرح ۳۱

۱-۱٦اهداف اختصاصي یا ویژه طرح ۳۱

۱-۱۷اهداف کاربردي طرح ۳۲

۱-۱۸فرضیات یا سؤالات پژوهش ۳۲

فصل دوم: بررسی متون ۳۳

فصل سوم: مواد و روشها ۴۷

۳-۱دستگاه جت پلاسما..... ٤۸

۳-۲ جداسازي و کشت سلول بنیادي پالپ دندان انسان ٤۹

۳-۳ پاساژ سلول‌هاي بنیادي پالپ دندان..... ۵۰

۳-٤تست هاي سنجش بقاي سلولي ۵۱

۳-٤-۱ MTT assay ۵۱

۳-٤-۲ طیف سنجی انتشار نوری ۵۵

۳-۴-۳آنالیز آماری ٥٦
۳-۵ بررسی اثر پلاسما بر پوسیدگی دندان‌های ارتودنسی شده ۵۶
۳-۵-۱ دستگاه تولید پلاسمای سرد اتمسفری ٥٦
۳-۵-۲ آماده سازی نمونه های دندانی ۵۷
۳-۶ ساخت محیط کشت و اتصال دندان‌ها ۵۸
۳-٦-۱ کشت میکروارگانیسم ۵۹
۳-۷ تهیه محیط کشت اصلی آزمایش جهت القاء پوسیدگی در دندان‌ها ۵۹
۳-۸ خصوصیات سطحی ٦۱
۳-۸-۱ آنالیز OES..... ٦۱
۳-۹تولید خمیردندان ٦۱
۳-۹-۱ تهیه عصاره گیاه دم اسب (Equisetum arvense L.) ٦۱
۳-۹- ۲تهیه عصاره پوست انار(Pomegranate or Punica granatum) ٦۲
۳-۱۰ آزمایش ضد میکروبی عصاره گیاه دم اسب و عصاره پوست انار علیه *استرپتوکوک موتانس* و *انتروکوک فکالیس* ٦۳
۳-۱۱ مراحل ساخت خمیردندان گیاهی-دارویی ٦٤
۳-۱۲ بررسی اثر ضدحساسیتی خمیر دندان گیاهی-دارویی ٦۵
۳-۱۳ بررسی اثر ضدمیکروبی خمیر دندان گیاهی-دارویی ٦۷
۳-۱٤ آنالیز SEM..... ٦۸
۳-۱۵ دهانشویه گیاهی ضدباکتری ٦۹
۳-۱۵-۱تهیه عصاره گیاه شاخ بزی ٦۹
۳-۱٦ آزمایش ضدمیکروبی عصاره اتانولی گیاه شاخ بزی علیه *استرپتوکوک موتانس* ٦۹
۳-۱۷ تهیه دهان شویه ۷۰

۳-۱۸ آزمایش ضدمیکروبی دهانشویه ضدباکتری گیاهی-داروئی ساخته شده ۷۱
۳-۱۸-۱ساخت محیط کشت ۷۱
۳-۱۸-۲تهیه محلول نیم مک فارلند ۷۱
۳-۱۸-آزمایش ضدمیکروبی دهانشویه ضدباکتری گیاهی-داروئی حاوی عصاره اتانولی گیاه شاخ بزی علیه باکتری *استرپتوکوک موتانس* ۷۲
۳-۱۸-٤شمارش کلونی های باکتری موتانس (Colony Count)..... ۷۳
۳-۱۸-۵آزمایش ضدمیکروبی دهانشویه ضدباکتری گیاهی-داروئی حاوی عصاره اتانولی گیاه شاخ بزی علیه باکتری *انترکوک فیکالیس* ۷۳
فصل چهارم: یافته ها ۷۵
٤-۱ یافته های اثر پلاسمای سرد بر سلول‌های بنیادی پالپ دندان ۷٦
۴-۱-۱ بقای سلولها ۷۸
۴-۱-۲ آنالیز OES ۸۱
۴-۲ یافته های دمینرالیزاسیون اطراف براکت های ارتودنسی ۸۵
٤-۳ یافته های خمیردندان ضدحساسیت گیاهی ۸۷
٤-٤ یافته های دهانشویه گیاهی ضدباکتری ۹۱
٤-٤-۱ آزمایش ضدمیکروبی عصاره اتانولی گیاه شاخ بزی علیه *استرپتوکوک موتانس* ۹۱
٤-٤-۲ آزمایش ضدمیکروبی دهانشویه ضدباکتری گیاهی-داروئی حاوی عصاره اتانولی گیاه شاخ بزی علیه باکتری *استرپتوکوک موتانس* ۹۲
٤-٤-۳ شمارش کلونی های باکتری *موتانس* (Colony Count)..... ۹۲
٤-٤-٤ آزمایش ضدمیکروبی دهانشویه ضدباکتری گیاهی-داروئی حاوی عصاره اتانولی گیاه شاخ بزی علیه باکتری *انترکوک فکالیس* ۹۳

فصل پنجم: بحث و نتیجه گیری ۹۴

۵-۱ تعداد سلول های پالپ زنده ۹۵

۵-۲ عمق دمینرالیزاسیون دندان‌های تحت درمان ارتودنسی ۹۸

۵-۳ تعداد توبول‌های مسدود شده بعد از استفاده از خمیردندان ضد حساسیت گیاهی ... ۱۰۱

۵-۴ اثر دهانشویه گیاهی ضدباکتری بر باکتری های دهان ۱۰۵

فهرست منابع ۱۰۸

فهرست جداول

جدول 1-3: فرمولاسیون دهان شویه ضد باکتری گیاهی-داروئی حاوی گیاه شاخ بزی..... ۷۰

جدول 1-4: میانگین و انحراف استاندارد برای میانگین تعداد سلول‌های زنده‌مانده در فرکانس‌های مختلف و گروه کنترل..... ۷۹

جدول 2-4: پارامترهای طیفی خطوط انتشار مشاهده شده برای پلاسمای آرگون در (NIST atomic database)..... ۸٤

جدول 3-4: شرح کامل مواد تشکیل دهنده خمیر دندان در گروه 2..... ۸۸

فهرست تصاویر و نمودارها

شکل 1-1: چهار حالت ماده..... ۳

شکل 2-1: تشکیل تخلیه الکتریکی..... ۱۰

شکل 3-1 : انواع تخلیه سد دی الکتریک..... ۱۲

شکل 4-1: انواع جت DBD..... ۱۳

شکل 1-3: (a) شماتیک دستگاه جت پلاسمای پیشرفته (b) عکس از جت پلاسمای توسعه یافته در آزمایشگاه (c) پلوم پلاسما..... ۴۹

شکل 2-3: توليد فورمازان توسط انزيم هاي ميتوكندريايي..... ۵۲

شکل 3-3: فلوچارت آزمایشهای انجام شده..... ۵۴

شکل 4-3: (a) شماتیک جت پلاسمای آزمایشگاهی (b) عکس دندان‌های ارتودنسی شده در حین درمان با پلوم پلاسما در آزمایشگاه..... ۵۷

شکل 5-3: محلول خارج شده از بطری ها کشت داده شده در پلیت حاوی محیط کشت آگار..... ۶۰

شکل 6-3: (a) تهیه عصاره اتانولی پوست انار پودر شده (b) استفاده از دستگاه میز مسواک برای مسواک زدن نمونه های دندانی با خمیر دندان ساخته شده..... ۶۳

شکل 7-3: (a) میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) و دستگاه آنالیز پراش اشعه ایکس (EDX) (b) پوشاندن نمونه ها با لایه ای از طلا برای عکسبرداری SEM و EDX..... ۶۸

شکل 8-3 : مراحل تهیه عصاره گیاه شاخ بزی..... ۶۹

شکل 9-3: رقیق سازی دهانشویه ضد باکتری تهیه شده از عصاره گیاه شاخ بزی..... ۷۳

شکل 1-4: (a) سلول‌های بنیادی پالپ دندان انسان (b) سلول‌های بنیادی پالپ دندان در فرکانس 10kHz و بعد از گذشت زمان 1 دقیقه. (c) سلول‌های بنیادی پالپ دندان در فرکانس 40kHz و بعد از گذشت زمان 1 دقیقه. (d) سلول‌های بنیادی پالپ دندان در گروه کنترل و بعد از گذشت زمان 1 دقیقه. (e) تعداد سلول‌های

زنده مانده بعنوان تابعی از فرکانس در جت پلاسمای پالسی آرگون در سه زمان مختلف مورد آزمایش و گروه کنترل بدون درمان ۷۷

شکل 2-4: (a)سلول‌های بنیادی پالپ دندان انسان (b) سلول های بنیادی پالپ دندان تحت درمان با فرکانس اعمالی 20 kHz برای مدت زمان 1 دقیقه c) تعداد سلول‌های زنده مانده بعنوان تابعی از فرکانس برای جت پلاسمای پالسی Ar/O_2 برای سه مدت زمان مختلف درمان با پلاسما و گروه کنترل بدون درمان ۷۸

شکل 3-4: (a) مقایسه بین تعداد سلول‌های زنده مانده بعنوان تابعی از فرکانس در سه زمان مختلف و گروه کنترل بدون درمان. پلاسما توسط دو گاز Ar و Ar/O_2 با استفاده از منبع تغذیه پالسی تولید شده است. (b) مقایسه میانگین تعداد سلول‌های زنده به عنوان تابعی از فرکانس در سه مدت زمان مختلف قرار گرفتن در معرض پلاسما و گروه کنترل بدون درمان. پلاسما توسط دو گاز Ar و Ar/O_2 با استفاده از منبع تغذیه پالسی تولید شد ۸۰

شکل 4-4: (a) سلول‌های بنیادی پالپ دندان انسان (b) سلول های بنیادی پالپ دندان تحت درمان با ولتاژ اعمالی 5 kV برای مدت زمان 2 دقیقه (c) تعداد سلول‌های زنده مانده برای پلاسمای آرگون بعنوان تابعی از ولتاژ در منبع تغذیه AC ($P < 0.001$*) و نیز گروه کنترل بدون درمان ۸۱

شکل 5-4: طیف های بدست آمده از جت پلاسمای پالسی با گاز Ar و Ar/O_2 در دو فرکانس متفاوت. (a,c) ν=10 kHz (b,d) ν=50 kHz..... ۸۲

شکل 6-4: (a and b) پیکهای طیف های اتم آرگون خنثی بعنوان تابعی از فرکانس برای گاز آرگون..... ۸۲

شکل 7-4: دمای برانگیختگی بعنوان تابعی از فرکانس اعمال شده برای جت های پلاسمای پالسی Ar و Ar/O_2. علاوه بر این، یافته های Jin و همکاران برای جت های پلاسمای Ar و Ar/O_2 در شکل قرار داده شده است..... ۸۳

شکل 8-4: (a) دمای ارتعاشی و (b) دمای چرخشی بعنوان تابعی از فرکانس اعمال شده به جت پلاسمای پالسی با هر دو گاز Ar و Ar/O_2..... ۸۴

شکل 9-4 : میانگین عمق دمینرالیزاسیون در اطراف براکت های ارتودنسی در هر گروه..... ۸۵

شکل4-10: بررسی بافت شناسی عمق دمینرالیزاسیون مینای دندان در سه نقطه زیر میکروسکوپ نوری پلاریزه، (a) گروه 1، گروه کنترل منفی (b) گروه 2 مسواک زدن روزانه، (c) گروه 5,4,3 مسواک زدن روزانه همراه با درمان پلاسمایی بمیزان دو بار در هفته..... ۸۶

شکل4-11: (a,b) دندان‌های ارتودنسی شده مربوط به گروههای 5,4,3 که هر روز مسواک زده شدند و دو بار در هفته تحت درمان با پلاسما قرار گرفتند. علائم دمینرالیزاسیون مشاهده نشد. (c) علائم دمینرالیزه شدن مینای دندان در اطراف براکتهای ارتودنسی ۸۶

شکل 4-12 : طیف های بدست آمده از پلاسمای پالسی Ar در فرکانس 50 kHz..... ۸۷

شکل 4-13: میانگین توبول‌های مسدود شده برای گروه 1 و 2 قبل و بعد از فرایند غوطه وری در اسید و همچنین گروه کنترل..... ۸۹

شکل 4-14: نمونه میکروگراف های الکترونی روبشی (SEM) از میزان انسداد لوله ها. (a) نمونه های دندانی پالیش شده (b) نمونه درمان شده با خمیردندان در گروه 1 (حاوی 10% استات استرنسیم باضافه 5% عصاره اتانولی پوست انار). (c) نمونه درمان شده با خمیردندان گروه 2 (حاوی 5% استات استرنسیم، 5% عصاره اتانولی پوست انار و 5% عصاره اتانولی دم اسبی). (d) گروه کنترل. (e) گروه 1 بعد از 1 دقیقه چالش اسیدی. (f) گروه 2 بعد از 1 دقیقه چالش اسیدی..... ۹۰

شکل 4-15: آنالیز EDXS گروه 1 (10% استات استرانسیم باضافه 5% عصاره اتانولی پوست انار) که رسوب استرانسیم بر روی توبول‌ها را نشان میدهد..... ۹۰

شکل 4-16: آنالیز EDXS گروه 2 (5% استات استرانسیم، 5% عصاره اتانولی پوست انار و 5% عصاره اتانولی دم اسبی) که رسوب استرانسیم و سیلیس را بر روی توبول‌ها نشان میدهد..... ۹۱

شکل 4-17: آنالیز EDXS گروه 2 (5% استات استرانسیم، 5% عصاره اتانولی پوست انار و 5% عصاره اتانولی دم اسبی) بعد از 1 دقیقه غوطه وری در اسید، که رسوب استرانسیم و سیلیس را بر روی توبول‌ها نشان میدهد.....۹۱

شکل 15-4: کلونی های باکتری *موتانس* (a) پلیت کنترل (b)پلیت مربوط به چاهک شماره 9 دهانشویه تولید شده از گیاه شاخ بزی..... ۹۳

فهرست ضمائم و پیوست ها

پیوست شماره ۱: گواهی نامه ثبت اختراع خمیردندان ضدحساسیت گیاهی دارویی بر پایه عصاره گیاه دم اسبی و عصاره پوست انار ۱۱۳

پیوست شماره ۲: گواهی نامه ثبت اختراع دهانشویه ضدباکتری گیاهی-داروئی بر پایه عصاره گیاه شاخ بزی ۱۱۴

Abbreviations :

Ar : Argon

BHI : Brain-heart infusion

CFU : Colony Forming Unit

CLSI : Clinical and laboratory Standards Institute

CMC : Carboxymethyl cellulose

DBD : Dielectric Barrier Discharge

DC : Direct Current

DH : Dentine Hypersensitivity

DMEM : Dulbecco's Modified Eagle Medium

DMFT : Decay, Missing, Filling, Teeth

DMSO : Dimethyl sulfoxide

DNA : Deoxyribonucleic Acid

DPSCs : Dental Pulp Stem Cells

E. arvense L : Equisetum arvense L

E. faecalis : Enterococcus faecalis

EDTA : Ethylene diamine tetra acetic acid

EDX : Energy-dispersive X-ray spectroscopy

Fe : Iron

He : Helium

HP : Hydrogen Peroxide

HVAC : High Voltage Alternating Current

LTE : Local thermodynamic equilibrium

MBC : Minimum Bactericidal Concentration

MEMα : Minimum Essential Medium

MIC : Minimum Inhibitory Concentration

MTT assay : dye 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide

N : Nitrogen

NAPP : Non-thermal Atmospheric Pressure Plasma

NIST : National Institute of Standards and Technology

NTP : Non local thermodynamic equilibrium

O : Oxygen

OES : Optical Emission Spectroscopy

·OH : Hydroxyl Radical

PBS : Phosphate Buffer Saline

PC : pulp caping

PDL-MSCs : human mesenchymal stem cells isolated from periodontal ligament

PLTE : Partial Local Thermodynamics Equilibrium

RNS : Reactive Nitrogen Species

ROS : Reactive Oxygen Species

S. mutans : Streptococcus mutans

SEM : Scanning Electron Microscope

Slm : Standard liter/minute

SLS : Sodium Laurylether Sulfate

Ti : Titanium

UV : Ultraviolet

WHO : World Health Organization

XPS : X-Ray Photoemission spectroscopy

چکیده فارسی

مقدمه و اهداف: بهداشت دهان و دندان امری ضروری است به طوری که عدم رعایت ان مشکلات جدی به وجود می آورد. بهداشت خوب یعنی مراقبت کامل از دندان ها از طریق استفاده از مسواک، درست مسواک زدن، خمیر دندان مناسب و همچنین نخ دندان و گاهی دهانشویه. بنابراین در این مطالعه سعی شد با استفاده از پلاسمای سرد اتمسفری از دمینرالیزاسیون و تخریب بافت پالپ دندان جلوگیری شود سپس با تولید خمیردندان و دهانشویه گیاهی ضدباکتری به بهداشت دهان و دندان، پیشگیری از پوسیدگی دندان‌ها و کاهش حساسیت آنها کمک کنیم.

روش تحقیق: در مطالعه حاضر، در مرحله اول برای پلاسمای پالسی آرگون در یک حالت و پلاسمای آرگون-اکسیژن(98%آرگون + 2%اکسیژن) در حالت دوم، فرکانس‌های مختلف از 10 تا 50 کیلوهرتز در ده گروه مختلف در نظر گرفته شد. گروه کنترل در هر دو حالت تحت درمان با گاز مورد نظر بدون پلاسما قرار گرفت. همچنین مدت زمان مواجهه با پلاسما و گاز در این گروهها 3,2,1 دقیقه در هر گروه در نظر گرفته شد. در حالت سوم برای پلاسمای آرگون مستقیم AC، سیزده گروه از ولتاژ 5.5 تا 16.05 ولت در نظر گرفته شد. در این حالت نیز گروه کنترل فقط تحت درمان با گاز آرگون بدون پلاسما قرار گرفت. در این مرحله از روش MTT برای شمارش تعداد سلول های زنده مانده بعد از درمان سلول‌های پالپ با پلاسمای آرگون و آرگون-اکسیژن استفاده شد.

در مرحله دوم 50 دندان سالم کشیده شده بواسطه درمآنهای ارتودنسی که شکستگی نداشته باشند، جمع آوری شدند. دندان‌ها بصورت تصادفی به پنج دسته تقسیم شدند و بصورت گروههای 10 تایی تحت درمان ارتودنسی قرار گرفتند و به یکدیگر فیکس شدند. برای هر گروه بصورت جداگانه بطری‌های 100 میلی لیتری حاوی محیط کشت BHI همراه با 2% گلوکز و مقدار 1.5×10^8سلول *استرپتوکوک موتانس*، در نظر گرفته شد. سه گروه تحت درمان در این مرحله بصورت زیر میباشند: گروه 1، بعنوان گروه کنترل. گروه 2 شامل گروهی هستند که روزانه در دو نوبت و هر بار بمدت 3 دقیقه در دستگاه میز مسواک با خمیردندان و مسواک معمولی،

مسواک زده می‌شدند. گروه سوم، چهارم و پنجم گروههایی هستند که روزانه در دو نوبت و هر بار بمدت 3 دقیقه در دستگاه میز مسواک با خمیردندان و مسواک معمولی، مسواک زده می‌شدند و نیز دو بار در هفته بمدت 3,2,1دقیقه بترتیب، تحت درمان با پلاسمای سرد آرگون قرار می‌گرفتند. در نهایت براکت ها از سطح دندان‌ها جدا شده و دندان‌ها بصورت باکولینگوال برش داده شدند و با استریومیکروسکوپ در چهار ناحیه و سه نقطه در هر ناحیه، برای تعیین عمق پوسیدگی مورد عکسبرداری قرار گرفتند. در تمامی آزمایشات بالا از آنالیز OES برای تعیین دمای پلاسمای تولید شده استفاده شد.

برای تولید خمیردندان گیاهی، از اختلاط عصاره دم اسب و پوست انار بهمراه استات استرانسیم در ترکیب با سایر مواد استفاده شد. در این مطالعه آزمایشگاهی تعداد 24 نمونه از ناحیه میانی عاج تاج به ضخامت 3میلیمتر از دندان های انسانی پس از آماده سازی بطور تصادفی به 2 گروه(n=12) تقسیم شدند: گروه اول حاوی 10% استات استرانسیم بعلاوه 5% پوست انار و گروه دوم شامل 5% استات استرانسیم بعلاوه 5% دم اسب و 5% پوست انار بود. در دستگاه میز مسواک به اندازه مدت زمان شش ماه مسواک زده شدند و سپس نیمی از نمونه های هر گروه تحت حمله اسیدی با آب لیمو قرار گرفتند و سپس از تمامی نمونه ها بااستفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی چهارتصویر گرفته شد. سپس متخصص ترمیمی بصورت blind تصاویر را بررسی کرده و تعداد توبول های باز ثبت شدند، نهایتا داده ها در تمام آزمایشات با آنالیز اماری بررسی شد. $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد.

در نهایت برای تولید دهانشویه گیاهی ضد باکتری، ابتدا عصاره اتانولی گیاه شاخ بزی تهیه شد و آزمایش ضدمیکروبی این عصاره علیه *استرپتوکوک موتانس* انجام شد. بعد از تعیین مقادیر MIC و MBC عصاره و اختلاط با سایر مواد، دهانشویه ضدباکتری تهیه شد. مجددا آزمایشات ضدمیکروبی علیه باکتری های *موتانس* و *فکالیس* برای دهانشویه نیز تکرار شد.

یافته ها: نتایج مربوط به جت پلاسمای آرگون که با منبع تغذیه پالسی تغذیه شد نشان دادند که در مدت زمان‌های مختلف، تعداد سلول‌های زنده مانده برای فرکانس‌های پایین تر، بیشتر بود($P < 0.05$). همچنین میانگین سلول های زنده مانده برای پلاسمای آرگون-اکسیژن کمتر از میانگین سلول های پلاسمای آرگون

بود($P< 0.01$). از طرف دیگر برای دندان های ارتودنسی شده عمق دمنرالیزاسیون در گروه‌های 3,4,5 کمتر از گروه 2 ($P< 0.05$) و گروه کنترل ($P< 0.001$) بود. همچنین نتایج حاصل از آنالیز خمیردندان‌ها نشان داد بعد از استفاده از خمیردندان‌ها، تعداد توبول‌های باز بصورت معنی داری کاهش یافت ($P< 0.001$).همچنین اختلاف معنی داری بین تعداد توبول ها قبل و بعد از چالش اسیدی مشاهده شد ($P< 0.001$).

بحث و نتیجه گیری: در نهایت مشخص شد که جت پلاسمای پالسی توسعه یافته که در فرکانس های پایین عمل می کند احتمالا گزینه مناسبی برای استفاده در درمان پالپ کپ میباشد و اثر منفی بر سلول‌های زنده پالپ ندارد.از طرف دیگر برای نتایج حاصل از عمق دمینرالیزاسیون مشخص شد که پیشرفت عمق پوسیدگی در گروههای تحت درمان با پلاسما بسیار کندتر از گروههای بدون درمان پلاسمایی بود بطوریکه در این گروهها میزان عمق دمینرالیزه شده کمترین مقدار و گاهی به میزان صفر بود.

استفاده از خمیردندان ضد حساسیت نشان داد که بسته شدن توبول‌ها وابسته به عناصر فعال موجود در خمیردندان‌هاست. نتایج نشان دادند که توانایی خمیردندان حاوی استرانسیم و گیاه دم اسبی در مسدود کردن توبول‌ها بیشتر از خمیردندانی بود که فقط حاوی استات استرانسیم بود. از طرف دیگر با توجه به اهمیت بهداشت دهان و دندان، استفاده از دهانشویه ضدباکتری گیاهی-داروئی تولید شده که حاوی عصاره اتانولی گیاه شاخ بزی است ثابت کرد که در غلظت 0.25% مهار رشد باکتری *استرپتوکوک موتانس* توسط این دهانشویه مانند مهار رشد باکتری توسط دهانشویه کلرهگزیدین 0.2% بود.

فهرست منابع:

.۱ Fridman A. Plasma chemistry: Cambridge university press; 2008.
.۲ Hojnik N, Cvelbar U, Tavcar-Kalcher G, Walsh J, Križaj I. Mycotoxin Decontamination of Food: Cold Atmospheric Pressure Plasma versus “Classic” Decontamination. Toxins. 2017;9:151.
.۳ Afshari R, Hosseini H. Non-thermal plasma as a new food preservation method, its present and future prospect. Archives of Advances in Biosciences. 2014;5(1).
.٤ Becker KH, Kogelschatz U, Schoenbach K, Barker R. Non-equilibrium air plasmas at atmospheric pressure. 1st ed: CRC press; 2004. 700 p.
.٥ Dobslaw C, Glocker B. Plasma Technology and Its Relevance in Waste Air and Waste Gas Treatment. Sustainability. 2020;12(21):8981.
.٦ Kogelschatz U. Atmospheric-pressure plasma technology. Plasma Physics and Controlled Fusion. 2004;46(12B):B63.
.۷ Mehmood F, Kamal T, Ashraf U. Generation and applications of plasma (an academic review). 2018.
.۸ Pankaj SK, Keener KM. Cold plasma: Background, applications and current trends. Current Opinion in Food Science. 2017;16:49.٥٢-
.۹ Talab A, Yahia A, Saudy M, Elsayed M. Characterization of a New DC-Glow Discharge Plasma Set-Up to Enhance the Electronic Circuits Performance. Journal of Modern Physics. 2020;11(7):1044-57.
.۱۰ Weltmann K-D, Metelmann H-R, Von Woedtke T. Low temperature plasma applications in medicine. Europhysics News. 2016;47(5-6):39-42.
.۱۱ Brandenburg R. Dielectric barrier discharges: progress on plasma sources and on the understanding of regimes and single filaments. Plasma Sources Science and Technology. 20.٠٥٣٠٠١:(٥)٢٦;١٧
.۱۲ Gibalov VI, Pietsch GJ. Dynamics of dielectric barrier discharges in different arrangements. Plasma Sources Science and Technology. 2012;21(2):024010.
.۱۳ Weber LF. History of the plasma display panel. IEEE transactions on plasma science. 2006;34(2):268-78.
.۱٤ Chen Y-Q, Cheng J-H, Sun D-W. Chemical, physical and physiological quality attributes of fruit and vegetables induced by cold plasma treatment: Mechanisms and application advances. Critical Reviews in Food Science and Nutrition.٩٠-٢٦٧٦:(١٦)٦٠;٢٠٢٠ .
.۱٥ Ucar Y, Ceylan Z, Durmus M, Tomar O, Cetinkaya T. Application of cold plasma technology in the food industry and its combination with other emerging technologies. Trends in Food Science & Technology. 2021;114:355-71.
.۱٦ Pankaj SK, Wan Z, Keener KM. Effects of cold plasma on food quality: A review. Foods. 2018;7(1):4.
.۱۷ Bernhardt T, Semmler ML, Schäfer M, Bekeschus S, Emmert S, Boeckmann L. Plasma Medicine: Applications of Cold Atmospheric Pressure Plasma in Dermatology. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2019;2019:3873928.
.۱۸ Mance D. Plasma applications in medicine and dentistry. Medicina fluminensis. 2017;53:179-90.
.۱۹ Liu Y, Liu Q, Yu Q, Wang Y. Nonthermal atmospheric plasmas in dental restoration. Journal of dental research. 2016;95(5):496-505.
.۲۰ Zhang Y, Yu Q, Wang Y. Non-thermal atmospheric plasmas in dental restoration: Improved resin adhesive penetration. Journal of dentistry. 2014;42(8):1033-42.
.۲۱ Tanaka H, Hori M. Medical applications of non-thermal atmospheric pressure plasma. Journal of clinical biochemistry and nutrition. 2017:16-67.
.۲۲ Guo J, Huang K, Wang J. Bactericidal effect of various non-thermal plasma agents and the influence of experimental conditions in microbial inactivation: A review. Food Control. 2015;50:482-90.
.۲۳ Moradi A, Hasani Tabatabaei M, Hashemi Kamangar S, Valizadeh S. Effect of dentin surface treatment using a non-thermal argon plasma brush on the bond strength of a self-adhesive resin composite. Journal of Islamic Dental Association of Iran. 2019;31(1):1-7.
.۲٤ Awad MM, Alhalabi F, Alshehri A, Aljeaidi Z, Alrahlah A, Özcan M, et al. Effect of Non-Thermal Atmospheric Plasma on Micro-Tensile Bond Strength at Adhesive/Dentin Interface: A Systematic Review. Materials. 2021;14(.١٠٢٦:(٤
.۲٥ Dong X, Li H, Chen M, Wang Y, Yu Q. Plasma treatment of dentin surfaces for improving self-etching adhesive/dentin interface bonding. Clinical plasma medicine. 2015;3(1):10-6.
.۲٦ Street CS, Thiesen KPPR, Schmitt VL, de Souza MDB, Giannini M, Naufel FS. Effect of non-thermal atmospheric plasma, acid etching, and aging on the bond strength of a universal adhesive to dental enamel. International Journal of Development Research. 2021;11(03):45702-5.
.۲۷ Coutinho DS, Silveira L, Nicolau RA, Zanin F, Brugnera A. Comparison of temperature increase in in vitro human tooth pulp by different light sources in the dental whitening process. Lasers in medical science. 2009;24(2):179-85.

.٢٨ Gurgan S, Cakir FY, Yazici E. Different light-activated in-office bleaching systems: a clinical evaluation. Lasers in medical science. 2010;25(6):817-22.
.٢٩ Luk K, Tam L, Hubert M. Effect of light energy on peroxide tooth bleaching. The Journal of the American Dental Association. 2004;135(2):194-201.
.٣٠ Papathanasiou A, Kastali S, Perry RD, Kugel G. Clinical evaluation of a 35% hydrogen peroxide in-office whitening system. Compendium of continuing education in dentistry (Jamesburg, NJ: 1995). 2002;23(4):335-8.
.٣١ Nam SH, Lee HW, Cho SH, Lee JK, Jeon YC, Kim GC. High-efficiency tooth bleaching using non-thermal atmospheric pressure plasma with low concentration of hydrogen peroxide. Journal of applied oral science. 2013;21:265-70.
.٣٢ Chouirfa H, Bouloussa H, Migonney V, Falentin-Daudré C. Review of titanium surface modification techniques and coatings for antibacterial applications. Acta biomaterialia. 2019;83:37-54.
.٣٣ Mussano F, Genova T, Falzacappa EV, Scopece P, Munaron L, Rivolo P, et al. In vitro characterization of two different atmospheric plasma jet chemical functionalizations of titanium surfaces. Applied Surface Science. 2017;409:314-24.
.٣٤ Ranjan R, Krishnamraju P, Shankar T, Gowd S. Nonthermal plasma in dentistry: an update. Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry. 2017;7(.٧١:(٣
.٣٥ Miletić M, Mojsilović S, Đorđević IO, Maletić D, Puač N, Lazović S, et al. Effects of non-thermal atmospheric plasma on human periodontal ligament mesenchymal stem cells. Journal of physics D: Applied physics. 2013;46(34):345401.
.٣٦ Stockton LW. Vital pulp capping: a worthwhile procedure. Journal (Canadian Dental Association). 1999;65(6):328-31.
.٣٧ Tan F, Fang Y, Zhu L, Al-Rubeai M. Controlling stem cell fate using cold atmospheric plasma. Stem Cell Research & Therapy. 2020;11(1):1-10.
.٣٨ Banas JA, Drake DR. Are the mutans streptococci still considered relevant to understanding the microbial etiology of dental caries? BMC oral health. 2018;18(1):1-8.
.٣٩ Fejerskov O. Changing paradigms in concepts on dental caries: consequences for oral health care. Caries research. 2004;38(3):182-91.
.٤٠ Metin-Gürsoy G, Uzuner FD. The relationship between orthodontic treatment and dental caries. Dental caries–diagnostics, prevention and management London: Intech Open Ltd. 2018:55-77.
.٤١ Andrucioli MCD, Nelson-Filho P, Matsumoto MAN, Saraiva MCP, Feres M, De Figueiredo LC, et al. Molecular detection of in-vivo microbial contamination of metallic orthodontic brackets by checkerboard DNA-DNA hybridization. American journal of orthodontics and dentofacial orthopedics. 2012;141(1):24-9.
.٤٢ Gizani S, Petsi G, Twetman S, Caroni C, Makou M, Papagianoulis L. Effect of the probiotic bacterium Lactobacillus reuteri on white spot lesion development in orthodontic patients. European journal of orthodontics. 2016;38(1).٩-٨٥:
.٤٣ Miura KK, Ito IY, Enoki C, Elias AM, Matsumoto MAN. Anticariogenic effect of fluoride-releasing elastomers in orthodontic patients. Brazilian oral research. 2007;21:228-33.
.٤٤ Benson PE, Parkin N, Dyer F, Millett DT, Furness S, Germain P. Fluorides for the prevention of early tooth decay (demineralised white lesions) during fixed brace treatment. Cochrane Database of Systematic Reviews. 2013;2013(12):Art. No.: CD003809.
.٤٥ Lee M-J, Kwon J-S, Jiang HB, Choi EH, Park G, Kim K-M. The antibacterial effect of non-thermal atmospheric pressure plasma treatment of titanium surfaces according to the bacterial wall structure. Scientific reports. 2019;9(1):1-13.
.٤٦ Saeki K, Marshall GW, Gansky SA, Parkinson CR, Marshall SJ. Strontium effects on root dentin tubule occlusion and nanomechanical properties. Dental Materials. 2016;32(2):240-51.
.٤٧ West N, Addy M, Jackson R, Ridge D. Dentine hypersensitivity and the placebo response: a comparison of the effect of strontium acetate, potassium nitrate and fluoride toothpastes. Journal of clinical periodontology. 1997;24(4):209-15.
.٤٨ Gojkov-Vukelic M, Hadzic S, Zukanovic A, Pasic E, Pavlic V. Application of diode laser in the treatment of dentine hypersensitivity. Medical Archives. 2016;70(6):466.
.٤٩ Absi E ,Addy M, Adams D. Dentine hypersensitivity: a study of the patency of dentinal tubules in sensitive and non-sensitive cervical dentine. Journal of clinical periodontology. 1987;14(5):280-4.
.٥٠ Hu M-L, Zheng G, Zhang Y-D, Yan X, Li X-C, Lin H. Effect of desensitizing toothpastes on dentine hypersensitivity: A systematic review and meta-analysis. Journal of dentistry. 2018;75:12-21.
.٥١ de Oliveira JR, de Castro VC, Vilela PdGF, Camargo SEA, Carvalho CAT, Jorge AOC, et al. Cytotoxicity of Brazilian plant extracts against oral microorganisms of interest to dentistry. BMC complementary and alternative medicine. 2013;13(1):1-7.
.٥٢ Virdi M. Emerging Trends in Oral Health Sciences and Dentistry: BoD–Books on Demand; 2015.

.٥٣ Deepa K, Jose M, Prabhu V. ETHNOMEDICINAL PRACTICES FOR ORAL HEALTH AND HYGIENE OF TRIBAL POPULATION OF WAYANAD, KERALA. International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy. 2011;2(4).
.٥٤ Massey FP, Ennos AR, Hartley SE. Herbivore specific induction of silica-based plant defences. Oecologia. 2007;152(4):677-83.
.٥٥ Labun P, Grulova D, Salamon I, Serseň F. Calculating the silicon in horsetail (Equisetum arvense L.) during the vegetation season. Food and Nutrition Sciences. 2013;4(5):510-4.
.٥٦ Osman M, Magdy A, El-Sayed M, Walaa M, Emad A. Study of antimicrobial efficacy of some plant extracts against oral pathogens and comparative analysis of their efficiency against commercially available toothpastes and mouth rinses. J der Pharmazie Forschung. 2014;2(4):6-19.
.٥٧ Dani S, Prabhu A ,Chaitra K, Desai N, Patil SR, Rajeev R. Assessment of Streptococcus mutans in healthy versus gingivitis and chronic periodontitis: A clinico-microbiological study. Contemporary clinical dentistry. 2016;7(4):529.
.٥٨ Contardo M, Díaz N, Lobos O, Padilla C, Giacaman R. Oral colonization by Streptococcus mutans and its association with the severity of periodontal disease in adults. Revista clínica de periodoncia, implantología y rehabilitación oral. 2011;4(1):9-12.
.٥٩ Forssten SD, Björklund M, Ouwehand AC .Streptococcus mutans, caries and simulation models. Nutrients. 2010;2(3):290-8.
.٦٠ Hughes N, Mason S, Jeffery P, Welton H, Tobin M, O'Shea C, et al. A comparative clinical study investigating the efficacy of a test dentifrice containing 8% strontium acetate and 1040 ppm sodium fluoride versus a marketed control dentifrice containing 8% arginine, calcium carbonate, and 1450 ppm sodium monofluorophosphate in reducing dentinal hypersensitivity. The Journal of clinical dentistry. 2010;21(2):49-55.
.٦١ Van der Weijden G, Hioe K. A systematic review of the effectiveness of self-performed mechanical plaque removal in adults with gingivitis using a manual toothbrush. Journal of clinical Periodontology. 2005;32:214-28.
.٦٢ Osso D, Kanani N. Antiseptic mouth rinses: an update on comparative effectiveness, risks and recommendations. American Dental Hygienists' Association. 2013;87(1):10-8.
.٦٣ Fine DH. Chemical agents to prevent and regulate plaque development. Periodontology 2000. 1995;8(1):87-107.
.٦٤ James P, Worthington HV, Parnell C, Harding M, Lamont T, Cheung A, et al. Chlorhexidine mouthrinse as an adjunctive treatment for gingival health. Cochrane Database of Systematic Reviews. 2017(3):Art. No.: CD008676.
.٦٥ Lorenz K, Bruhn G, Heumann C, Netuschil L, Brecx M, Hoffmann T. Effect of two new chlorhexidine mouthrinses on the development of dental plaque, gingivitis, and discolouration. A randomized, investigator-blind, placebo-controlled, 3-week experimental gingivitis study. Journal of clinical periodontology. 2006;33(8):561-7.
.٦٦ Gupta R, Ingle NA, Kaur N, Yadav P, Ingle E, Charania Z. Ayurveda in dentistry: a review. Journal of international oral health: JIOH. 2015;7(8):141.
.٦٧ Surathu N, Kurumathur AV. Traditional therapies in the management of periodontal disease in India and China. Periodontology 2000. 2011;56(1):14-24.
.٦٨ Taheri JB, Azimi S, Rafieian N, Zanjani HA. Herbs in dentistry. International dental journal. 2011;61(6):287-96.
.٦٩ Cronin M, Gordon J, Fernandez P. Two independent clinical trials comparing pre-brush mouthrinse formulations in reducing supragingival plaque. Journal (Canadian Dental Association). 1997;63(5):347-55.
.٧٠ Rodrigues ISC, de Oliveira DB, de Menezes PCB, da Costa FN, Carlos MX, da Silva Pereira SL. Effect of Lippia sidoides in mouthrinses on de novo plaque formation: A double-blind clinical study in humans. Indian Journal of Dental Research. 2013;24(5):533.
.٧١ Jenabian N, Moghadamnia AA, Karami E, Mir A PB. The effect of Camellia Sinensis (green tea) mouthwash on plaque-induced gingivitis: a single-blinded randomized controlled clinical trial. DARU Journal of Pharmaceutical Sciences. 2012;20(1):1-6.
.٧٢ Khairnar MS, Pawar B, Marawar PP, Mani A. Evaluation of Calendula officinalis as an anti-plaque and anti-gingivitis agent. Journal of Indian Society of Periodontology. 2013;17(6):741.
.٧٣ Cai H, Chen J, Panagodage Perera NK, Liang X. Effects of herbal mouthwashes on plaque and inflammation control for patients with gingivitis: A systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2020;2020:16.
.٧٤ Stancampiano A, Gallingani T, Gherardi M, Machala Z, Maguire P, Colombo V, et al. Plasma and aerosols: Challenges, opportunities and perspectives. Applied Sciences. 2019;9(18):3861.
.٧٥ Baniya HB, Guragain RP, Baniya B, Subedi DP. Cold atmospheric pressure plasma jet for the improvement of wettability of polypropylene. International Journal of Polymer Science. 2020;2020:ID 3860259.

.٧٦ Chen M, Zhang Y, Driver MS, Caruso AN, Yu Q, Wang Y. Surface modification of several dental substrates by non-thermal, atmospheric plasma brush. Dental Materials. 2013;29(8):871-80.
.٧٧ Zhu X-M, Zhou J-F, Guo H, Zhang X-F, Liu X-Q, Li H-P, et al. Effects of a modified cold atmospheric plasma jet treatment on resin-dentin bonding. Dental materials journal. 2018:2017-314.
.٧٨ Guragain RP, Baniya H, Dhungana S, Gautam S, Pandey BP, Joshi U, et al. Characterization of dielectric barrier discharge (DBD) produced in air at atmospheric pressure and its application in surface modification of high-density polyethylene (HDPE). The Journal of Technological and Space Plasmas. 2020;1(1):27-35.
.٧٩ González-Blanco C, Rizo-Gorrita M, Luna-Oliva I, Serrera-Figallo M-Á, Torres-Lagares D, Gutiérrez-Pérez J-L. Human osteoblast cell behaviour on titanium discs treated with argon plasma. Materials. 2019;12(11):1735.
.٨٠ Choi S-H, Jeong W-S, Cha J-Y, Lee J-H, Yu H-S, Choi E-H, et al. Time-dependent effects of ultraviolet and nonthermal atmospheric pressure plasma on the biological activity of titanium. Scientific reports. 2016;6(1):1-12.
.٨١ Ao X-G, Chen W-C. Research progress on the osseointegration of titanium implants promoted by cold atmospheric plasma. Hua xi kou Qiang yi xue za zhi= Huaxi Kouqiang Yixue Zazhi= West China Journal of Stomatology. 2020;38(5):566-70.
.٨٢ Lee HW, Kim GJ, Kim JM, Park JK, Lee JK, Kim GC. Tooth bleaching with nonthermal atmospheric pressure plasma. Journal of endodontics. 2009;35(4):587-91.
.٨٣ Nishime T, Borges A, Koga-Ito C, Machida M, Hein L, Kostov K. Non-thermal atmospheric pressure plasma jet applied to inactivation of different microorganisms. Surface and Coatings Technology. 2017;312:19-24.
.٨٤ Pan J, Sun K, Liang Y, Sun P, Yang X, Wang J, et al. Cold plasma therapy of a tooth root canal infected with Enterococcus faecalis biofilms in vitro. Journal of endodontics. 2013;39(1):105-10.
.٨٥ Lu X, Cao Y, Yang P, Xiong Q, Xiong Z, Xian Y, et al. An $ RC $ plasma device for sterilization of root canal of teeth. IEEE transactions on Plasma Science. 2009;37(5):668-73.
.٨٦ Sladek R, Stoffels E. Deactivation of Escherichia coli by the plasma needle. Journal of Physics D: Applied Physics. 2005;38(11):1716.
.٨٧ Morris AD, LeMaster M, McCombs GB, Laroussi M, Hynes WL, Darby M, et al., editors. Low temperature atmospheric pressure plasma applications in dentistry: Two independent studies. 2010 Abstracts IEEE International Conference on Plasma Science; 2010: IEEE.
.٨٨ Rupf S, Lehmann A, Hannig M, Schäfer B, Schubert A ,Feldmann U, et al. Killing of adherent oral microbes by a non-thermal atmospheric plasma jet. Journal of medical microbiology. 2010;59(2):206-12.
.٨٩ Delben JA, Zago CE, Tyhovych N, Duarte S, Vergani CE. Effect of atmospheric-pressure cold plasma on pathogenic oral biofilms and in vitro reconstituted oral epithelium. PloS one. 2016;11(5):e0155427.
.٩٠ Yang B, Chen J, Yu Q, Li H, Lin M, Mustapha A, et al. Oral bacterial deactivation using a low-temperature atmospheric argon plasma brush. Journal of dentistry. 2011;39(1):48-56.
.٩١ Gronthos S, Brahim J, Li W, Fisher L, Cherman N, Boyde A, et al. Stem cell properties of human dental pulp stem cells. Journal of dental research. 2002;81(8):531-5.
.٩٢ Habib M, Hottel TL, Hong L. Antimicrobial effects of non-thermal atmospheric plasma as a novel root canal disinfectant. Clinical Plasma Medicine. 2014;2(1):17-21.
.٩٣ Jiang C, Chen M-T, Schaudinn C, Gorur A, Vernier PT, Costerton JW, et al. Pulsed Atmospheric-Pressure Cold Plasma for Endodontic Disinfection $^{\ast} $. IEEE Transactions on Plasma Science. 2009;37(7):1190-5.
.٩٤ Çolak H, Dülgergil ÇT, Dalli M, Hamidi MM. Early childhood caries update: A review of causes, diagnoses, and treatments. Journal of natural science, biology, and medicine. 2013;4(1):29.
.٩٥ Borges AC, Kostov KG, Pessoa RS, de Abreu G, Lima GdM, Figueira LW, et al. Applications of Cold Atmospheric Pressure Plasma in Dentistry. Applied Sciences. 2021;11(5):1975.
.٩٦ Hong Q, Dong X, Chen M, Xu Y, Sun H, Hong L, et al. Disinfection of Streptococcus mutans biofilm by a non-thermal atmospheric plasma brush. Japanese Journal of Applied Physics. 2016;55(7S2):07LG2.
.٩٧ Omar S, Dawjee SM. Enamel demineralisation as an iatrogenic effect of Orthodontic treatment: a clinical review. South African Dental Journal. 2018;73(9):563-70.
.٩٨ Arnold W, Prange M, Naumova E. Effectiveness of various toothpastes on dentine tubule occlusion. Journal of dentistry. 2015;43(4):440-9.
.٩٩ Arrais CAG, Micheloni CD, Giannini M, Chan DC. Occluding effect of dentifrices on dentinal tubules. Journal of dentistry. 2003;31(8):577-84.
.١٠٠ Nirola A, Gupta M, Singla K, Kaur M. Comparative efficacy of application of three different desensitizing agents with iontophoresis in the treatment of hypersensitive teeth. Journal of the International Clinical Dental Research Organization. 2016;8(1):51.

.١٠١ Liu H, Hu D. Efficacy of a commercial dentifrice containing 2% strontium chloride and 5% potassium nitrate for dentin hypersensitivity: a 3-day clinical study in adults in China. Clinical therapeutics. 2012;34(3):614-22.
.١٠٢ Kukrić Z, Topalić-Trivunović L, Pavičić S, Žabić M, Matoš S, Davidović A. Total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activity of Equisetum arvense L. Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly/CICEQ. 2013;19(1):37-43.
.١٠٣ Abdollahzadeh S, Mashouf R, Mortazavi H, Moghaddam M, Roozbahani N, Vahedi M. Antibacterial and antifungal activities of Punica granatum peel extracts against oral pathogens. Journal of Dentistry (Tehran, Iran). 2011;8(1).٦-١:
.١٠٤ Ferrazzano GF, Scioscia E, Sateriale D, Pastore G, Colicchio R, Pagliuca C, et al. In vitro antibacterial activity of pomegranate juice and peel extracts on cariogenic bacteria. BioMed research international. 2017;2017:7.
.١٠٥ Smida I, Pentelescu C, Pentelescu O, Sweidan A, Oliviero N, Meuric V, et al. Benefits of sea buckthorn (Hippophae rhamnoides) pulp oil-based mouthwash on oral health. Journal of applied microbiology. 2019;126(5):1594-605.
.١٠٦ Preethi D. Herbal Mouthwashes. European Journal of Molecular & Clinical Medicine. 2020;7(2):6655-61.
.١٠٧ Jeddy N, Ravi S, Radhika T, Lakshmi LS. Comparison of the efficacy of herbal mouth rinse with commercially available mouth rinses: A clinical trial. Journal of oral and maxillofacial pathology: JOMFP. 2018;22(3):332.
.١٠٨ Barkhordari A, Ganjovi A, Mirzaei I, Falahat A. Study of the physical discharge properties of a Ar/O 2 DC plasma jet. Indian Journal of Physics. 2018;92(9):1177-86.
.١٠٩ Raoof M, Yaghoobi MM, Derakhshani A, Kamal-Abadi AM, Ebrahimi B, Abbasnejad M, et al. A modified efficient method for dental pulp stem cell isolation. Dental research journal. 2014;11(2):244.
.١١٠ Chang Y-T, Chen G. Oral bacterial inactivation using a novel low-temperature atmospheric-pressure plasma device. Journal of dental sciences. 2016;11(1):65-71.
.١١١ Ying J, Chunsheng R, Liang Y, Jialiang Z, Dezhen W. Atmospheric pressure plasma jet in ar and O2/Ar mixtures: Properties and high performance for surface cleaning. Plasma Science and Technology. 2013;15(12).١٢٠٣:
.١١٢ Pandhija S, Rai A. In situ multielemental monitoring in coral skeleton by CF-LIBS. Applied Physics B. 2009;94(3):545-52.
.١١٣ Burt BA, Eklund SA. Dentistry, dental practice, and the community-E-book: Elsevier Health Sciences; 2005.
.١١٤ Ahmadi-Motamayel F, Rezaei-Soufi L, Kiani L, Alikhani MY, Poorolajal J, Moghadam M. Effects of honey, glucose, and fructose on the enamel demineralization depth. Journal of Dental Sciences. 2013;8(2):147-50.
.١١٥ Van Der Veen MH, Attin R, Schwestka-Polly R, Wiechmann D. Caries outcomes after orthodontic treatment with fixed appliances: do lingual brackets make a difference? European Journal of Oral Sciences. 2010;118(3):298-303.
.١١٦ Veloz JJ, Alvear M, Salazar LA. Antimicrobial and antibiofilm activity against Streptococcus mutans of individual and mixtures of the main polyphenolic compounds found in Chilean propolis. BioMed research international. 2019;2019.
.١١٧ Oliveira RVDd, Albuquerque YE, Spolidorio DMP, Koga-Ito CY, Giro EMA, Brighenti FL. Effect of dietary sugars on dual-species biofilms of Streptococcus mutans and Streptococcus sobrinus–a pilot study. Revista de Odontologia da UNESP. 2016;45:90-6.
.١١٨ Pallag A, Filip GA, Olteanu D, Clichici S, Baldea I, Jurca T, et al. Equisetum arvense L. extract induces antibacterial activity and modulates oxidative stress, inflammation, and apoptosis in endothelial vascular cells exposed to hyperosmotic stress. Oxidative medicine and cellular longevity. 2018;2018:14.
.١١٩ Hajifattahi F, Moravej-Salehi E, Taheri M, Mahboubi A, Kamalinejad M. Antibacterial effect of hydroalcoholic extract of Punica granatum Linn. Petal on common oral microorganisms. International journal of biomaterials. 2016;2016:6.
.١٢٠ Farkas A, Pap B, Kondorosi É, Maróti G. Antimicrobial activity of NCR plant peptides strongly depends on the test assays. Frontiers in microbiology. 2018;9:2600.
.١٢١ Moharamzadeh K. Biocompatibility of oral care products. Biocompatibility of dental biomaterials: Elsevier; 2017. p. 113-29.
.١٢٢ Bizhang M, Schmidt I, Chun Y-HP, Arnold WH, Zimmer S. Toothbrush abrasivity in a long-term simulation on human dentin depends on brushing mode and bristle arrangement. PloS one. 2017;12(2):e0172060.
.١٢٣ Davies M, Paice EM, Jones SB, Leary S, Curtis AR, West NX. Efficacy of desensitizing dentifrices to occlude dentinal tubules. European journal of oral sciences. 2011;119(6):497-503.

.١٢٤ Raoof M, Khaleghi M, Siasar N, Mohannadalizadeh S, Haghani J, Amanpour S. Antimicrobial Activity of Methanolic Extracts of Myrtus Communis L. and Eucalyptus Galbie and their Combination with Calcium Hydroxide Powder against Enterococcus Faecalis. J Dent (Shiraz). 2019;20(3):195-202.
.١٢٥ Jablonowski L, Koban I, Berg MH, Kindel E, Duske K, Schroeder K, et al. Elimination of E. Faecalis by a New Non-Thermal Atmospheric Pressure Plasma Handheld Device for Endodontic Treatment. A Preliminary Investigation. Plasma Processes and Polymers. 2013;10(6):499-505.
.١٢٦ Goree J, Liu B, Drake D, Stoffels E. Killing of S. mutans Bacteria Using a Plasma Needle at Atmospheric Pressure. IEEE Transactions on Plasma Science. 2006;34(4):1317-24.
.١٢٧ Xiong Z, Du T, Lu X, Cao Y, Pan Y. How deep can plasma penetrate into a biofilm? Applied Physics Letters. 2011;98(22):221503.
.١٢٨ West N, Hughes J, Addy M. Dentine hypersensitivity: the effects of brushing toothpaste on etched and unetched dentine in vitro. Journal of oral rehabilitation. 2002;29(2):167-74.
.١٢٩ Olley RC, Pilecki P, Hughes N, Jeffery P, Austin RS, Moazzez R, et al. An in situ study investigating dentine tubule occlusion of dentifrices following acid challenge. Journal of Dentistry. 2012;40(7):585-93.
.١٣٠ Subramaniam P, Dwivedi S, Uma E, Babu KG. Effect of pomegranate and aloe vera extract on streptococcus mutans: An in vitro study. Dental Hypotheses. 2012;3(3):99.
.١٣١ Abu-Gharbia M. M El-Maghraby O, El-Sayed MS, Abd El-Raheem WM, Emad AS., Study of antimicrobial efficacy of some plant extracts against oral pathogens and comparative analysis of their efficiency against commercially available toothpastes and mouth rinses. J der Pharmazie Forschung. 2014;2(4):6-19.
.١٣٢ Earl J, Ward M, Langford R. Investigation of dentinal tubule occlusion using FIB-SEM milling and EDX. The Journal of clinical dentistry. 2010;21(2):37-41.
.١٣٣ García-Gaytán V, Bojórquez-Quintal E, Hernández-Mendoza F, Tiwari DK, Corona-Morales N, Moradi-Shakoorian Z. POLYMERIZED SILICON (SiO2·nH2O) IN EQUISETUM ARVENSE: POTENTIAL NANOPARTICLE IN CROPS. Journal of the Chilean Chemical Society. 2019;64:4298-302.
.١٣٤ dos Santos Alves CF, Bonez PC, de Souza MdE, da Cruz RC, Boligon AA, Piana M, et al. Antimicrobial, antitrypanosomal and antibiofilm activity of Equisetum hyemale. Microbial Pathogenesis. 2016;101:119-25.
.١٣٥ Addy M, Mostafa P. Dentine hypersensitivity. II. Effects produced by the uptake in vitro of toothpastes onto dentine. Journal of Oral Rehabilitation. 1989;16(1):35-48.
.١٣٦ Kaur J, Paul R, Rathee K, Arora G. Dentinal tubule occluding effect of a herbal tooth paste–An invitro scanning electron microscopy analysis. International Journal of Oral Health Dentistry. 2020;6(2):107-9.
.١٣٧ Kumari M, Naik SB, Martande SS, Pradeep AR, Singh P. Comparative efficacy of a herbal and a non-herbal dentifrice on dentinal hypersensitivity: a randomized, controlled clinical trial. Journal of investigative and clinical dentistry. 2016;7(1):46-52.
.١٣٨ Vajrabhaya L-o, Korsuwannawong S, Harnirattisai C, Teinchai C. Changes in the permeability and morphology of dentine surfaces after brushing with a Thai herbal toothpaste: A preliminary study. European journal of dentistry. 2016;10(02):239-44.

Abstract

Background and Objectives: Dental and oral health is an essential part of your overall health and well-being. Poor oral hygiene can lead to dental cavities and gum disease and has also been linked to heart disease, cancer, and diabetes. Good oral hygiene is necessary to keep teeth and gums healthy by brushing the teeth, suitable toothpaste, flossing teeth, and sometimes mouthwash. Therefore, in this study, we tried to prevent enamel demineralization and destruction of dental pulp tissue by using atmospheric cold plasma. Effective efforts for oral health, preventing tooth decay, and reducing their sensitivity, were done. These were made by producing antibacterial toothpaste and herbal mouthwash.

Methods: Firstly, Using MTT assay, the number of survived hDPSCs after plasma jet exposure for the time duration of 1, 2, and 3 minutes, were counted. Firstly, for pulsed plasma jet, the frequency was varied from 10 to 50 kHz for 5 groups with Ar and 5 groups with Ar/O2 plasma jet. Later on, with the Alternating Current (AC) plasma jet, the voltage was changed between 5.5 and 16.05 kV for 13 groups. Moreover, the cells in the control group were only exposed to Ar and Ar/O2 gases. Secondly, 50 extracted caries-free human premolars were divided randomly into five groups and, then, they bonded with the orthodontic brackets. For each group, bottles of 100 ml BHI medium containing 2% glucose with 1.5×10^{8} cells of *Streptococcus mutans* were used. Moreover, 10 mL of medium culture was replaced by 10 mL of a previously prepared solution with 2% glucose for 21 days. Group (1) is the control group. Group (2) were brushed in a tooth brushing machine with the ordinary toothpaste and toothbrush. Groups (3, 4, 5) were exposed twice a week with argon plasma jet for 1, 2, and 3 minutes, respectively, along with brushing in the tooth brushing machine. Finally, teeth were sectioned buccolingually and

demineralization depth was measured. To control the thermal damage effects on hDPSCs, the optical emission spectroscopy technique was used. Then, the tubule occlusion of two newly developed herbal toothpastes was examined. They were prepared based on the mixture of pomegranate peel and Equisetum arvense extracts with strontium acetate. Then, 30 mid-coronal dentin discs from the human third molars were etched for 30 s with the lemon juice (pH = 2.4). The specimens were divided into three groups. Group 1 brushed with toothpaste containing 10% strontium acetate and 5% hydroalcoholic extracts of pomegranate peel, and Group 2 brushed with 5% strontium acetate, 5% hydroalcoholic extracts of E. arvense, and 5% hydroalcoholic extracts of pomegranate peel. Brushing was simulated for 6 months. Then, 50% of discs in each group were immersed in lemon juice for 1 min. Finally, all 30 discs were analyzed using SEM and EDXS. The occluded dentin tubules were counted and statistically evaluated. At last, an antibacterial mouthwash was prepared based on the Proboscidea jussieui extracts. The antimicrobial activity of P. jussieui was determined using MIC and MBC. Moreover, the antibacterial effects of herbal mouthwash against *S. mutans* and *E. faecalis* were investigated.

Results: For the Ar plasma jet operating with the pulsed power generator at different time durations, at the lower applied frequencies, the number of surviving pulp cells is much higher ($P < 0.05$). Moreover, the average number of survived cells for the Ar/O_2 gaseous mixture was lower than that for Ar plasma ($P < 0.01$). On the other hand, the mean demineralization depth in groups (3, 4, 5) was less than group (2) ($P < 0.05$) and control one ($P < 0.001$). For the number of occlude tubules, it was found that the number of open dentin tubules decreases significantly after brushing with both tested toothpastes compared with control group ($P < 0.001$). Moreover,

a significant difference was observed between two toothpastes before and after acid immersion process ($P < 0.001$).

Conclusions: Since cold plasma disinfection keeps hDPSCs alive, it can be helpful in the teeth surviving and durability for pulp capping in clinical treatments. Moreover, NAPP is a suitable tool for the reduction of cariogenic bacterial species for a 1 min plasma exposure time duration. The average demineralization depth was decreased in groups with plasma treatment. Moreover, the demineralization was not completely observed in 20 positions in these groups.

On the other hand, The SEM micrographs confirmed the dentin tubule occlusion of both herbal dentifrices but the efficiency of E. arvense paste (Group 2) in the occlusion of the dentinal tubules was higher than that of the paste based on strontium acetate. Besides, EDXS analysis approved the strontium and silica presence on the dentin tubules for the toothpaste which was based on E. arvense.

Keywords

Human dental pulp stem cells, MTT assay, Non-thermal atmospheric plasma, Pulp capping, Orthodontic Bracket; Enamel Demineralization Depth, Equisetum arvense, herbal toothpaste and mouthwash, tubule occlusion

Kerman University of Medical Sciences

Oral and Dental Diseases Research Center

In Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of

Doctor of Philosophy in Dental Materials

Title

Investigation of non-thermal atmospheric pressure plasma and herbal-medicinal products on microorganisms in dental pulp, biofilms and tubules

By

Seyedeh Fatemeh Peyro Mousavi Jalali

Supervisors

Dr. Ali Ekandarizadeh, Dr. Alireza Ganjovi, Dr. Ali Reza Saidi

Advisor

Dr. Maryam Rad

Thesis No : 7 Year : December 2021

دانشگاه علوم پزشکی کرمان

دانشکده دندانپزشکی

« صورتجلسه دفاع از پایان نامه تحصیلی »

با تاییدات خداوند متعال جلسه دفاع از پایان نامه خانم سیده فاطمه پیروموسی جلالی برای دریافت درجه **دکترای تخصصی رشته مواد دندانی** تحت عنوان" **اثر پلاسمای سرد اتمسفری و محصولات گیاهی دارویی بر میکروارگانیسم های موجود در پالپ دندان،بیوفیلم و توبولهای عاجی** "در دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی به تاریخ ۱۴۰۰/۹/۲۸ برگزار گردید. هیات داوران که قبلا پایان نامه ایشان را مطالعه نموده اند، پس از شنیدن دفاعیات و پرسشهای لازم از ایشان نتیجه را به شرح زیر اعلام می کنند . پایان نامه در وضعیت فعلی مورد قبول است و نامبرده نمره **۱۹/۸۳**با امتیاز عالی را دریافت نموده است.

هیات داوران		**امضاء**
استاد راهنما	دکتر علی اسکندری زاده	
استاد راهنما	دکتر علیرضا گنجویی	
استاد راهنما	دکتر علیرضا سعیدی	
استاد مشاور	دکتر مریم راد	
نماینده سرپرست تخصصی دانشکده	دکتر فاطمه السادات سجادی	
معاون آموزشی	دکتر مریم السادات هاشمی پور	
معاون پژوهشی	دکتر ملوک ترابی	

استاد مدعو :

دکتر داوود کلانتر

دکتر مسعود پریرخ

دکتر آرش شهروان

دکتر مریم السادات هاشمی پور

دکتر شهلا کاکویی

مراتب فوق مورد تایید است .

دکتر علی اسکندری زاده

رئیس دانشکده دندانپزشکی

دانشگاه علوم پزشکی کرمان
دانشکده دندانپزشکی