

## اثر ضد لیشمانیایی ذرات نقره بر روی لیشمانیا تروپیکا در شرایط برون تنی

احمد خسروی<sup>۱</sup>، ایرج شریفی<sup>۲</sup>، محمد براتی<sup>۳</sup>، مهدی زارعان<sup>۴</sup>، مریم حکیمی پاریزی<sup>۵</sup>

۱. دانشجوی MPH و دکتری حرفه‌ای دامپزشکی، مرکز تحقیقات بیماری‌های پوست و لیشمانیوز، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان

۲. استاد انگل شناسی، مرکز تحقیقات بیماری‌های پوست و لیشمانیوز، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان

۳. دانشجوی PhD انگل شناسی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران، دانشکده بهداشت

۴. مربی انگل شناسی، مرکز تحقیقات بیماری‌های پوست و لیشمانیوز، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان

۵. مربی حشره شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات بیماری‌های پوست و لیشمانیوز، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان

تاریخ دریافت مقاله: ۸۹/۴/۱۳

تاریخ پذیرش مقاله: ۹۰/۱/۲۱

### چکیده

**زمینه و هدف:** در حال حاضر در علم نانو تکنولوژی از ذرات نقره جهت از بین بردن طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها استفاده می‌شود. هدف از این تحقیق تعیین اثر ضد لیشمانیایی ذرات نقره در مقایسه با ترکیب ۳ ظرفیتی آنتی‌موان بروی پروماستیگوت‌های لیشمانیا تروپیکا با استفاده از روش رنگ‌سنجی می‌باشد.

**مواد و روش کار:** در این مطالعه تجربی پروماستیگوت‌های لیشمانیا تروپیکا (*Leishmania tropica*) در محیط کشت RPMI-1640 حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گوساله (FCS) و آنتی‌بیوتیک در دمای  $24 \pm 1^\circ\text{C}$  کشت داده شدند و با استفاده از روش رنگ‌سنجی MTT، تاثیر غلظت‌های مختلف نانو سیلور در مقایسه با ترکیب ۳ ظرفیتی آنتی‌موان (تار تارامیتیک)، مورد بررسی قرار گرفت. میزان جذب نوری رنگ حاصله از احیاء نمک تترازولیوم (MTT) به محصول رنگی فورمازان توسط انگل، به وسیله دستگاه الیزا ریدر، سنجیده شد و مقدار IC50 (۵۰ درصد غلظت مهارکننده) محاسبه گردید.

**یافته‌ها:** ذرات نقره و داروی تار تارامیتیک هر دو رشد پروماستیگوت‌های لیشمانیا تروپیکا را در شرایط آزمایشگاهی مهار کردند. ذرات نانو سیلور اثرات نسبتاً خوب ضد لیشمانیایی از خود نشان دادند که البته در مقایسه با داروی کنترل کمتر می‌باشد ( $p < 0/001$ ). هم‌چنین میزان IC50 تار تارامیتیک برابر با  $5/3 \mu\text{g/ml}$  و نانو سیلور  $14/9 \mu\text{g/ml}$  محاسبه شد.

**نتیجه گیری:** از آنجایی که ذرات نقره به صورت برون‌تنی اثرات ضد لیشمانیایی خوبی از خود نشان دادند، لزوم انجام آزمایشات بیشتری برای ارزیابی تاثیر این دارو بر روی انگل لیشمانیا در مدل حیوانی و یا انسان‌های داوطلب، احساس می‌شود. [م ت ع پ ز، ۱۳۹۰؛ ۱۳(۲): ۱۲-۸]

**کلیدواژه‌ها:** لیشمانیا تروپیکا، ذرات نقره، روش رنگ‌سنجی

### مقدمه

لیشمانیوز یکی از ۶ بیماری مهم عفونی در جهان معرفی شده است که توسط گونه‌های مختلف جنس لیشمانیا ایجاد می‌گردد.<sup>۱</sup> این بیماری توسط نیش پشه خاکی از جنس فلیبوتوموس به انسان انتقال می‌یابد و سبب تشکیل فرم‌های بالینی؛ پوستی، مخاطی و یا احشایی می‌گردد.<sup>۲</sup> گونه‌های لیشمانیا در ۸۸ کشور جهان از آن جمله ۲۲ کشور در دنیای جدید و ۶۶ کشور در دنیای قدیم اندمیک هستند که جمعیتی معادل ۱۲ میلیون نفر را آلوده نموده‌اند.<sup>۱۳</sup> مطالعات متعدد نشان داده است که لیشمانیوز پوستی در ایران و جهان رو به افزایش است. هم‌چنین در سال‌های اخیر به دلیل ظهور مقاومت بر علیه داروهای استاندارد که عمدتاً ترکیبات پنج ظرفیتی آنتی‌موان می‌باشند، درمان لیشمانیوز با دشواری‌های فراوانی مواجه شده است. گزارشات پزشکان معالج حاکی از عود، عدم بهبودی و یا تاثیر نامناسب داروها در بیماران می‌باشد، به طوری که مطالعه‌ی Lamidi و همکاران بر روی بیمارانی که به آمریکای لاتین برگشته بودند، نشان داد با وجود مراقبت ویژه و درمان با سدیم استیوگلوکانات میزان عود بیماری حداقل ۲۵ درصد است.<sup>۴</sup> در بیشتر نقاط جهان مگلو مین آنتی‌مونات (گلو کانتیم) و سدیم استیوگلوکانات (پنتوستام) به عنوان داروهای انتخابی اول مصرف می‌شوند اما طی چند سال اخیر اثربخشی این داروها به میزان ۵۰-۲۰ درصد کاهش یافته است و در حال حاضر ظهور فرم‌های مقاوم یکی از مضللات اصلی درمان به شمار می‌رود.<sup>۵،۶</sup> پیدایش سویه‌های مقاوم منجر به معرفی عوامل ضد لیشمانیایی جدید نظیر

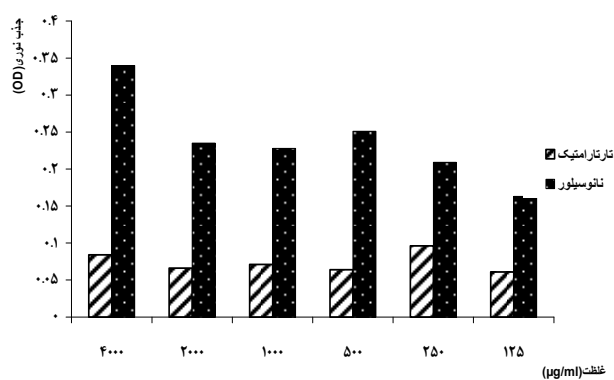
میلتوفوسین، آمفوتریسین B، کتوکنازول، پاروموماسین و سایر ترکیبات شیمیایی شده است. در عین حال هیچ کدام از این داروها بدون اثرات جانبی نیستند.<sup>۷</sup> هم‌چنین سمیت این عوامل و پایداری اثرات جانبی‌شان حتی بعد از اصلاح میزان دوز و درمان طولانی مدت از جمله نقایص آن‌ها می‌باشد. از طرفی این درمان‌ها به ویژه در مناطق روستایی به دلیل هزینه‌های سنگین و عدم دسترسی به آن مناسب نمی‌باشد.<sup>۴</sup> بنابراین استفاده از ترکیبات جدید که فاقد این معایب می‌باشند، ضروری به نظر می‌رسد. نانو سیلورها یک سری اجزاء فلزی با خواص و اندازه‌های متفاوت می‌باشند.<sup>۸</sup> در حال حاضر در علم نانو تکنولوژی از ذرات نقره جهت از بین بردن طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها از جمله باکتری‌ها و قارچ‌ها استفاده می‌شود.<sup>۹،۱۰</sup> هم‌چنین اخیراً اثر این ذرات بر روی پروماستیگوت‌های لیشمانیا مکزیکانا (*L. mexicana*) مورد بررسی قرار گرفته است.<sup>۱۱</sup> در ایران نیز تاثیر ذرات نقره در درمان لیشمانیوز پوستی بومی ایجاد شده توسط *L. major* بررسی شده است.<sup>۱۲</sup> بر خلاف روش شمارش مستقیم که وقت گیر و پر زحمت است و امکان خطا در شمارش انگل در زیر میکروسکوپ وجود دارد،<sup>۱۳</sup> روش‌های رنگ‌سنجی (colorimetry) که جهت بررسی رشد و زنده بودن سلول بر روی پلیت‌های میکروتیترا انجام می‌شوند، فواید زیادی دارند از جمله این که این روش‌ها، علاوه بر سهولت انجام و ارزانی، سریع و قابل اعتماد می‌باشند و هم‌چنین فاقد هرگونه ماده رادیو ایزوتوپ هستند، از این رو بی‌خطر و مطمئن

تهیه محلول نانوسیلور: نانوسیلور به وسیله کارخانه نانوسید ایران با اندازه ذرات ۹۰-۱۱۰ نانومتر تولید و در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفت.

اضافه کردن داروی نانوسیلور به پلیت: از نانوسیلور و داروی کنترل که به ترتیب در غلظت‌های ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۴۰۰۰  $\mu\text{g/ml}$  تهیه شده بودند، به میزان ۱۰  $\mu\text{l}$  به چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه‌ای به صورت مضاعف اضافه گردید. علاوه بر این از شاهد (بلانک) نیز استفاده شد. به این صورت که در یک چاهک پلیت، فقط ۱۰۰  $\mu\text{l}$  محیط کشت فاقد پروماستیگوت و یا دارو اضافه گردید. هم‌چنین به دو چاهک دیگر فقط پروماستیگوت‌های انگل به عنوان کنترل اضافه شد و بعد از ۷۲ ساعت انکوباسیون، پلیت‌ها خارج شده و به میزان ۱۰ درصد حجم هر چاهک از محلول ذخیره MTT ( $5\text{mg/ml}$ ) که قبلاً تهیه شده بود، ریخته شد. چاهک کنترل منفی حاوی ۱۰۰  $\mu\text{l}$  محیط کشت و فقط ۱۰  $\mu\text{l}$  از محلول MTT می‌باشد. پلیت‌ها به مدت ۳-۴ ساعت در دمای  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  انکوبه شدند، سپس پلیت‌ها از انکوباسیون بیرون و کریستال‌های فورمازان با حجمی معادل محیط کشت اولیه یعنی ۱۰۰  $\mu\text{l}$  به هر چاهک از محلول ایزوپروپانل اسیدی (اسید کلریدریک ۱ درصد نرمال در ایزوپروپانل خالص) جهت حل کردن رنگ، افزوده و رنگ حاصله در طول موج ۴۹۰-۶۳۰ با استفاده از دستگاه الیزا ریدر قرائت شد و جذب نوری به دست آمده برای تعیین میزان ( $50\% \text{ Inhibitory Concentration}$ )  $IC_{50}$ ، معادل غلظتی از عصاره که از رشد ۵۰ درصد ارگانسیم جلوگیری می‌کند، محاسبه گردید.<sup>۲۱</sup> هم‌چنین با استفاده از دستگاه الیزا ریدر و جذب نوری (OD)، میزان  $IC_{50}$  محاسبه گردید. در این بررسی از آزمون آماری Two-way ANOVA برای مقایسه میانگین جذب نوری، سطح معنی‌داری  $p < 0.05$  و فاصله اطمینان (CI) ۹۵ درصد استفاده شد. نرم افزار Minitab-15 برای تجزیه و تحلیل داده‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

### یافته‌ها

در این مطالعه اثر ضد لیشمانیایی ذرات نقره در مقایسه با داروی تارتارامیتیک به عنوان کنترل بررسی شد. تغییرات جذب نوری در نمودار ۱ نشان داده شد.



نمودار ۱- مقایسه میانگین جذب نوری ذرات نقره و داروی کنترل بر روی پروماستیگوت‌های لیشمانیا تروپیکا

هستند.<sup>۱۶-۱۷</sup> روش رنگ‌سنجی (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) یک روش نیمه خودکار است که اولین بار در سال ۱۹۸۳ توسط Mosmann معرفی شد.<sup>۱۴</sup> این روش به‌طور وسیعی جهت بررسی رشد و زنده بودن پروماستیگوت‌های لیشمانیا به کار می‌رود.<sup>۱۷</sup> لذا تعیین اثر ضد لیشمانیایی ذرات نقره بر روی پروماستیگوت‌های لیشمانیا تروپیکا در شرایط In-vitro به عنوان هدف اصلی این پژوهش مد نظر قرار گرفت.

### روش کار

این تحقیق به روش تجربی بر روی انگل لیشمانیا تروپیکا تهیه شده از مرکز آموزش و پژوهش بیماری‌های پوست و جذام وابسته به دانشگاه علوم پزشکی تهران، انجام شد.

تهیه و آماده‌سازی انگل: پروماستیگوت‌های لیشمانیا تروپیکا به فلاسک ۲۵ میلی‌لیتری دارای محیط کشت RPMI-۱۶۴۰ (Gibco-BRL) حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاوی (Gibco-BRL) که قبلاً کمپلمان آن در دمای  $56^\circ\text{C}$  به مدت ۳۰ دقیقه غیر فعال شده و حاوی  $100 \text{ IU/ml}$  پنی‌سیلین و  $100 \mu\text{g/ml}$  استرپتومایسین (Gibco-BRL) بود منتقل و در دمای  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  کشت داده شد.

شمارش انگل: با استفاده از لام نوبار تعداد پروماستیگوت‌هایی که در محیط کشت RPMI-1640 به فاز ثابت رشد (stationary-phase) رسیدند در زیر میکروسکوپ شمارش و به تعداد  $5 \times 10^5$  سلول تنظیم گردید.

داروی کنترل: در این بررسی همانند مطالعات مشابه از داروی تارتارامیتیک (Tartar emetic) به عنوان کنترل به دلیل تاثیر فوق‌العاده آن بر روی پروماستیگوت‌های لیشمانیا تروپیکا در محیط کشت، استفاده شد.<sup>۱۸،۱۹</sup> این دارو یک آنتیموان ۳ ظرفیتی است که به صورت پودر از شرکت Merck آلمان تهیه شده و دارای فرمول زیر می‌باشد:

(Potassium antimony(III) oxide tartrate  $\text{C}_4\text{yH}_4\text{KO}_7\text{Sb}_2\text{O}_{10} \cdot 5\text{H}_2\text{O} \cdot 99\% \text{ hemihydrates}$ )

روش MTT: برای ارزیابی اثرات نانوسیلور و داروی کنترل بر روی پروماستیگوت‌های انگل لیشمانیا تروپیکا از روش MTT استفاده شد. این روش یک روش رنگ‌سنجی است که طی آن نمک ترازولیوم MTT (Tetrazolium salt) به یک محصول رنگی فورمازان نامحلول تبدیل می‌شود.<sup>۱۵،۱۷</sup> این واکنش احیاء، توسط فعالیت آنزیم سوکسینات دهیدروژناز میتوکندریایی انگل انجام می‌شود<sup>۲۰،۲۱</sup> که به عنوان شاخص رشد و زنده بودن پروماستیگوت در برابر پاسخ دارویی به کار می‌رود.<sup>۱۳</sup> برای تهیه محلول MTT مقدار  $5 \text{ mg}$  پودر MTT در  $1 \text{ ml}$  محلول PBS استریل ( $5 \text{ mg/ml}$ ) حل و مورد استفاده قرار می‌گیرد. اضافه کردن پروماستیگوت‌ها به پلیت: از پروماستیگوت‌های لیشمانیا تروپیکا موجود در محیط کشت RPMI-1640 در فاز ثابت رشد Stationary phase به میزان  $100 \mu\text{l}$  برداشته و به هر چاهک پلیت به صورت مضاعف اضافه شد به نحوی که در هر چاهک  $5 \times 10^5$  پروماستیگوت قرار گرفت.

داروی نانوسیلور در مقایسه با داروی کنترل نشان داد که میانگین جذب نوری این عصاره و داروی کنترل از نظر آماری معنی دار است ( $p < 0.001$ ). هم چنین در روش MTT، IC50 نانوسیلور و داروی کنترل بر روی پروماستیگوت های انگل لیشمانیا تروپیکا، به ترتیب  $14/9$  و  $5/3$   $\mu\text{g/ml}$  به دست آمد که نشان دهنده تاثیر کمتر نانوسیلور نسبت به داروی کنترل می باشد. انتخاب داروی تارتارامیتیک به عنوان داروی کنترل در این مطالعه بسیار سخت گیرانه بوده است و در مقایسه با اغلب ترکیبات آنتی موان از تاثیر بیشتری برخوردار است.<sup>۳</sup> استفاده تارتارامیتیک در درمان لیشمانیوز به دلیل عوارض جانبی شدید محدود می باشد. از طرفی یکی از محدود مطالعات انجام شده در خصوص اثر ذرات نقره بر روی لیشمانیا ماژور به صورت برون تنی بوده است<sup>۱۲</sup> و یافته های حاصل از مطالعه مذکور نشان می دهد که ذرات نقره تاثیر قابل ملاحظه آماری بر روی مراحل مختلف ارگانیزم از خود نشان نداده است. از سویی نتایج مطالعه حاضر به لحاظ استفاده از محیط کشت های حاوی پروماستیگوت قابل قیاس با نتایج کار فوق الذکر نمی باشد. از آنجا که ذرات نقره به صورت برون تنی اثرات ضد لیشمانیایی خوبی از خود نشان داده است، لزوم انجام آزمایشات بیشتری برای ارزیابی تاثیر این دارو بر روی انگل لیشمانیا در مدل حیوانی و انسان های داوطلب، احساس می شود.

### سپاسگزاری

بدین وسیله از حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمان به دلیل تامین اعتبار این طرح به شماره ۸۷/۱۷۵ تشکر و قدردانی می شود.

### References

1. WHO /Leishmaniasis. 2004. Available at: <http://www.who.int/emc/disease/leish/leish.html>.
2. Sharifi I, Fekri A, Aflatonian MR, et al. Cutaneous leishmaniasis in primary school children in the south-eastern, Iranian city of Bam, 1994-95. Bull World Health Organ 1998; 76(3): 289-93.
3. Desjeux P. Leishmaniasis: Current situation and new perspectives. Comp Immunol Microbiol Infect Dis 2004; 27(5): 305-18.
4. Lamidi M, Digiorio C, Delmas F, et al. In-vitro cytotoxic, antileishmanial and antifungal activities of ethnopharmacologically selected Gabonese plants. J Ethnopharmacol 2005; 102(2):185-90.
5. Lobo IM, Soares MB, Correia TM, et al. Heat therapy for cutaneous leishmaniasis elicits a systemic cytokine response similar to that of antimonial (Glucantime) therapy. Trans R Soc Trop Med Hyg 2006; 100(7): 642-9.
6. Murray HW, Berman JD, Davies CR and Saravia NG. Advances in leishmaniasis. Lancet 2005; 366(9496): 1561-77.
7. Denizot F, Lang R. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival. Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. J Immunol Methods 1986; 89(2): 271-7.
8. Chen X, Schluesener HJ. Nanosilver: A nanoparticle in medical application. Toxicol Lett 2008; 176(1): 1-12.
9. Silver S, Phung le T, Silver G. Silver biocides in burn

وقت های مختلف نانوسیلورها رشد پروماستیگوت های لیشمانیا تروپیکا را مختل نمود، به طوری که در غلظت های بالاتر اثر قوی تری از خود نشان داد، گرچه هیچ گونه اختلاف معنی داری بین آن ها مشاهده نگردد ولی میانگین جذب نوری ذرات نقره و داروی کنترل از نظر آماری معنی دار است ( $p < 0.001$ ). هم چنین در روش MTT، IC50 نانوسیلور و داروی کنترل بر روی پروماستیگوت های انگل لیشمانیا تروپیکا به ترتیب  $14/9$  و  $5/3$   $\mu\text{g/ml}$  به دست آمد.

### بحث

یافته های این مطالعه نشان داد که ذرات نقره دارای اثرات ضد لیشمانیایی به صورت برون تنی می باشد. نانوسیلورها یک سری اجزای فلزی با اندازه های متفاوت می باشند.<sup>۸</sup> امروزه از ذرات نقره جهت از بین بردن طیف وسیعی از میکروارگانیزم ها استفاده می شود.<sup>۹،۱۰</sup> آزمایش هایی که در حال حاضر جهت بررسی داروهای لیشمانیایی به کار برده می شوند، دارای محدودیت های فراوانی از جمله، خطرناک و وقت گیر بودن آن ها می باشند.<sup>۱۱</sup> برای تعیین زنده بودن (viability) پروماستیگوت های لیشمانیا تاکنون چندین روش ابداع و معرفی شده است که شامل: شمارش سلول های زنده، اندازه گیری فعالیت آنزیمی و واکنش احیای نمک تترازولیموم می باشد.<sup>۱۲</sup> هم چنین نشان داده شده است که پتاسیم آنتیموان تارتارات (تارتارامیتیک) که فرم ۳ ظرفیتی آنتی موان است نسبت به مگلو مین آنتی مونات (گلو کانتیم) بر روی مراحل پروماستیگوت و آماستیگوت موثرتر می باشد.<sup>۱۸،۱۹</sup> غلظت  $2 \mu\text{g/ml}$  داروهای کنترل که بهترین پایش را در مهار رشد انگل لیشمانیا تروپیکا از خود نشان داد، به عنوان ملاک مقایسه انتخاب گردید. بررسی تاثیر

- and wound dressings and bacterial resistance to silver compounds. J Ind Microbiol Biotechnol 2006; 33(7): 627-634.
10. Yan J, Cheng J. Nanosilver-containing antibacterial and antifungal granules and methods for preparing and the same. United State Patent. 2001; Available at: [www.freepatentonline.com/6379712.html](http://www.freepatentonline.com/6379712.html). accessed April 30, 2002.
  11. Navarro M, Cisneros-Fajardo EJ, Marchan E. [New silver polypyridyl complexes: Synthesis, characterization and biological activity on *Leishmania Mexicana*] Venezuela [abstract]. Arzneimittelforschung 2006; 56(8): 600-4.
  12. Mohebbi M, Rezayat MM, Gilani K, et al. [Nanosilver in the treatment of localized cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania major* (MRHO/IR/75/ER): An in-vitro and in vivo study] Persian. Daru 2009; 17(4): 285-289.
  13. Fumarola L, Spinelli R, Brandonisio O. In-vitro assays for evaluation of drug activity against *Leishmania spp*. Res Microbiol 2004; 155(4): 224-30.
  14. Dutta A, Bandyopadhyay S, Mandal C and Chatterjee M. Development of a modified MTT assay for screening antimonial resistant field isolates of Indian visceral leishmaniasis. Parasitol Int 2005; 54(2): 119-22.
  15. Berg K, Zhai L, Chen M, et al. The use of a water-soluble formazan complex to quantifies the cell number

- and mitochondrial function of *Leishmania major* promastigotes. Parasitol Res 1994; 80(3): 235-9.
16. Mikus J, Steverding D. A simple colorimetric method to screen drug cytotoxicity against *Leishmania* using the dye Alomar Blue. Parasitol Int 2000; 48(3): 265-9.
  17. Williams C, Espinosa OA, Montenegro H, et al. Hydrosoluble formazan XTT: Its application to natural products drug discovery for *Leishmania*. J Microbiol Methods 2003; 55(3): 813-6.
  18. Roberts WL, Berman JD, Rainey PM. In-vitro antileishmanial properties of tri- and pentavalent antimonial preparations. Antimicrob Agents Chemother 1995; 39(6): 1234-9.
  19. Sereno D, Lemesre JL. Anemically cultured amastigote forms as an in-vitro model for investigation of antileishmanial agents. Antimicrob Agents Chemother 1997; 41(5): 972-6.
  20. WHO. Control of the *Leishmania*: Technical report series. W.H.O, 1990; 793.
  21. Neubig RR, Spedding M, Kenakin T, et al. International union of pharmacology committee on receptor nomenclature and drug classification. XXXVIII. Update on terms and symbols in quantitative pharmacology. Pharmacol Rev 2003; 55(4): 597-606.
  22. Ganguly S, Bandyopadhyay S, Sarkar A and Chatterjee M. Development of a semi-automated colorimetric assay for screening anti-leishmanial agents. J Microbiol Methods 2006; 66(1): 79-86.

## ***Anti-leishmanial effect of nanosilver solutions on *Leishmania tropica* promastigotes by in-vitro assay***

Ahmad Khosravi,<sup>1</sup> **Iraj Sharifi,**<sup>2</sup> Mohammad Barati,<sup>3</sup> Mahdi Zarean,<sup>4</sup> Marayam Hakimi-Parizi<sup>5</sup>

Received: 4/Jul/2011

Accepted: 10/Apr/2011

**Background:** At present, nanosilver particles are used against a broad spectrum of microbial agents. The objective of this study was to evaluate the anti-leishmanial effect of nanosilver solutions on *L. tropica* promastigotes as compared with the trivalent antimony compound by colorimetric assay.

**Materials and Method:** Promastigotes of *L. tropica* were cultured in RPMI-1640 consisting of 10% fetal calf serum (FCS) and antibiotics at 24±1°C. The effect of various concentrations of nanosilver solutions was evaluated in comparison with tartar emetic. Optical density as the result of tetrazolium salts (MTT) reduction by the promastigotes into a formozan product and it was calculated by Elisa reader and IC<sub>50</sub> (50% inhibitory concentration), subsequently.

**Results:** Both, nanosilver particles and tartar emetic inhibited the growth of *L. tropica* promastigotes. The IC<sub>50</sub> for nanosilver solutions was significantly higher (14.9 µg/mL) than the corresponding value (5.3 µg/mL) for the control drug ( $p<0.001$ ).

**Conclusion:** Since nanosilver particles showed an effective anti-leishmanial activity, further works are required to evaluate the effect in animal model or human volunteers. [ZJRMS, 2011; 13(7): 8-12]

**Keywords:** *Leishmania tropica*, nanosilver particles, colorimetric assay

1. MPH student & DVM, Dermatology & Leishmaniasis Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran.
2. Professor of Parasitology, Dermatology & Leishmaniasis Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran.
3. PhD student of Parasitology, School of Hygiene, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
4. Instructor of Parasitology, Dermatology & Leishmaniasis Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran.
5. Instructor of Medical Entomology, Dermatology & Leishmaniasis Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran.

*Please cite this article as:* Khosravi A, Sharifi I, Barati M, Zarean M, Hakimi-Parizi M. Anti-leishmanial effect of nanosilver solutions on *Leishmania tropica* promastigotes by in vitro assay. *Zahedan J Res Med Sci (ZJRMS)* 2011; 13(7): 8-12.