اثر ضد لیشمانیایی ذرات نقره برروی لیشمانیا تروپیکا در شرایط برون تنی

احمد خسروی،[1] ایرج شریفی،[2] محمد براتی،[3] مهدی زارعان،[4] مریم حکیمی پاریزی[5]

۱. دانشجوی MPH ودکتری 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 نانوتکنولوژی از ذرات نقره جهت از بین بردن طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها استفاده می‌شود. هدف از این تحقیق تعیین اثر ضد لیشمانیایی ذرات نقره درمقایسه با ترکیب ۳ ظرفیتی آنتی‌موان برروی پروماستیگوت‌های لیشمانیا تروپیکا با استفاده از روش رنگ‌سنجی می‌باشد.

مواد و روش‌کار: 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 $۲۴\pm۱^{o}C$ کشت داده شدند و با استفاده از روش رنگ‌سنجی MTT، تاثیر غلظت‌های مختلف نانوسیلور در مقایسه با ترکیب ۳ ظرفیتی آنتیموان (تارتارامتیک)، مورد بررسی قرارگرفت. میزان جذب نوری رنگ حاصله از احیاء نمک تترازولیوم (MTT) به محصول رنگی فورمازان توسط انگل، به‌وسیله دستگاه الایزا ریدر، سنجیده شد و مقدار IC50 (۵۰ درصد غلظت مهارکننده) محاسبه گردید.

یافته‌ها: ذرات نقره و داروی تارتارامتیک هر دو رشد پروماستیگوت‌های لیشمانیا تروپیکا را در شرایط آزمایشگاهی مهار کردند. ذرات نانوسیلور اثرات نسبتاً خوب ضد لیشمانیایی از خود نشان دادند که البته در مقایسه با داروی کنترل کمتر می‌باشد ($p<۰/۰۰۱$). هم‌چنین میزان IC50 تارتارامتیک برابر با ۵/۳ µg/ml و نانوسیلور ۱۴/۹ µg/ml محاسبه شد.

نتیجه‌گیری: 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(۷): 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.[1] این بیماری توسط نیش پشه خاکی از جنس فلبوتوموس به انسان انتقال می‌یابد و سبب تشکیل فرم‌های بالینی؛ پوستی، مخاطی و یا احشایی می‌گردد.[2] 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.[1،3]

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 استانداردکه 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 استیبوگلوکانات میزان عود بیماری حداقل ۲۵ درصد است.[4] در بیشتر نقاط جهان مگلومین آنتی‌مونات (گلوکانتیم) و سدیم استیبوگلوکانات (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 معضلات اصلی درمان به شمار می‌رود.[5،6] پیدایش سویه‌های مقاوم منجر به معرفی عوامل ضد لیشمانیایی جدید نظیر میلتفوسین، آمفوتریسین B، کتوکونازول، پاروموماسین و سایر ترکیبات شیمیایی شده است. در عین حال هیچ‌کدام از این داروها بدون اثرات جانبی نیستند.[7] 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.[4] بنابراین استفاده از ترکیبات جدید که فاقد این معایب می‌باشند، ضروری به نظرمی‌رسد. نانوسیلورها یک سری اجزاء فلزی با خواص و اندازه‌های متفاوت می‌باشند.[8] در حال حاضر در علم نانوتکنولوژی از ذرات نقره جهت از بین بردن طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها از جمله باکتری‌ها و قارچ‌ها استفاده می‌شود.[9،10] هم‌چنین اخیراً اثر این ذرات بر روی پروماستیگوت‌های لیشمانیا مکزیکانا (L.mexicana) مورد بررسی قرار گرفته است.[11] در ایران نیز تاثیر ذرات نقره در درمان لیشمانیوز پوستی بومی ایجاد شده توسط L.major بررسی شده است.[12] بر خلاف روش شمارش مستقیم که وقت‌گیر و پر زحمت است و امکان خطا در شمارش انگل در زیر میکروسکوپ وجود دارد،[13] روش‌های رنگ‌سنجی (colorimetry) که جهت بررسی رشد و زنده بودن سلول بر روی پلیت‌های میکروتیتر انجام می‌شوند، فواید زیادی دارند از جمله این‌که 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

۸ آدرس نویسنده مسئول: مرکز تحقیقات بیماریهای پوست و لیشمانیوز ، دانشگاه علوم پزشکی کرمان
email:iraj.sharifi@yahoo.com

Archive
www.SID.ir

هستند.[۷،۱۴-۱۶] روش رنگ‌سنجی MMT(tetrazolium salt)(3-(4,5-dimethylthiazol-2-y1)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) یک روش نیمه خودکار است که اولین بار در سال ۱۹۸۳ توسط Mosmann معرفی شد.[۷،۱۴] این روش به‌طور وسیعی جهت بررسی رشد و زنده بودن پروماستیگوت‌های لیشمانیا به‌کار می‌رود.[۱۷] 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.

روش‌کار

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 ۵۶°C به مدت ۳۰ دقیقه غیر فعال شده و حاوی ۱۰۰ IU/ml پنی‌سیلین و ۱۰۰ µg/ml استرپتومایسین(Gibco-BRL) بود منتقل و در دمای ۲۴±۱°C کشت داده شد.

شمارش انگل: با استفاده از لام نئوبار تعداد پروماستیگوت‌هایی که در محیط کشت RPMI-1640 به فاز ثابت رشد (stationary–phase) رسیدند در زیر میکروسکوپ شمارش و به تعداد 5×10^5/ml سلول تنظیم گردید.

داروی کنترل: در این بررسی همانند مطالعات مشابه از داروی تارتارامتیک (Tartar emetic) به عنوان کنترل به دلیل تاثیر فوق‌العاده آن بر روی پروماستیگوت‌های لیشمانیا تروپیکا در محیط کشت، استفاده شد.[۱۸،۱۹] 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 C4yH4KO7Sb 0/5H20>%99 hemihydrates)

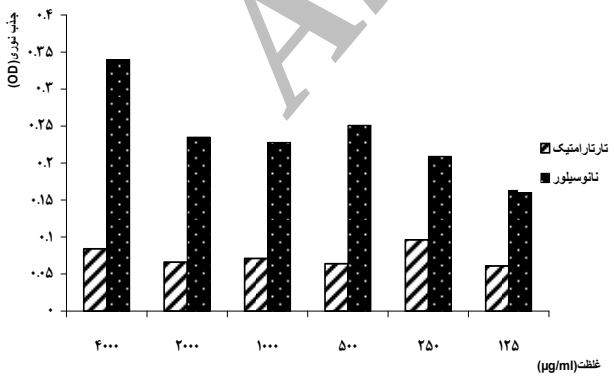
روش MTT: برای ارزیابی اثرات نانوسیلور و داروی کنترل بر روی پروماستیگوت‌های انگل لیشمانیا تروپیکا از روش MTT استفاده شد. این روش یک روش رنگ‌سنجی است که طی آن نمک تترازولیوم MTT (Tetrazolium salt) به یک محصول رنگی فورمازان نامحلول تبدیل می‌شود.[۱۳-۱۵،۱۷] این واکنش احیاء، توسط فعالیت آنزیم سوکسینات دهیدروژناز میتوکندریایی انگل انجام می‌شود[۱۳،۱۴،۲۰] که به عنوان شاخص رشد و زنده بودن پروماستیگوت در برابر پاسخ دارویی به‌کارمی‌رود.[۱۳] برای تهیه محلول MTT مقدار ۵ mg پودر MTT در ۱ ml محلول PBS استریل (۵ mg/ml) حل و مورد استفاده قرار می‌گیرد. اضافه کردن پروماستیگوت ها به پلیت: از پروماستیگوت‌های لیشمانیا تروپیکا موجود در محیط کشت RPMI-1640 در فاز ثابت رشدStationary phase به میزان ۱۰۰ µl برداشته و به هر چاهک پلیت به صورت مضاعف اضافه شد به نحوی که در هر چاهک 5×10^5 پروماستیگوت قرار گرفت.

تهیه محلول نانوسیلور: نانوسیلور به‌وسیله کارخانه نانوسید ایران با اندازه ذرات ۱۱۰-۹۰ 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 µg/ml تهیه شده بودند، به میزان ۱۰ µl به چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه‌ای به صورت مضاعف اضافه گردید. علاوه براین از شاهد (بلانک) نیز استفاده شد. به این صورت که در یک چاهک پلیت، فقط ۱۰۰ µl 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 (۵mg/ml) که قبلاًتهیه شده بود، ریخته شد. چاهک کنترل منفی حاوی ۱۰۰µl محیط کشت و فقط ۱۰ µl از محلول MTT می‌باشد. پلیت‌ها به مدت ۴-۳ ساعت در دمای ۲۴±۱°C انکوبه شدند، سپس پلیت‌ها از انکوباسیون بیرون و کریستال‌های فورمازان با حجمی معادل محیط کشت اولیه یعنی ۱۰۰ µl 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 ۶۳۰-۴۹۰ با استفاده ازدستگاه الایزاریدر قرائت شد و جذب نوری به‌دست آمده برای تعیین میزان (Inhibitory Concentration50%) IC50، معادل غلظتی از عصاره که از رشد ۵۰ درصد ارگانیسم جلوگیری می‌کند، محاسبه گردید.[۲۱] هم‌چنین با استفاده از دستگاه الایزا ریدر و جذب نوری (OD) ، میزان IC50 محاسبه گردید. در این بررسی ازآزمون آماری Two-way ANOVA برای مقایسه میانگین جذب نوری، سطح معنی‌داری $p<۰/۰۵$ و فاصله اطمینان (CI)۹۵ درصد استفاده شد. نرم افزار Minitab-15 برای تجزیه وتحلیل داده‌ها مورد استفاده قرارگرفت.

یافته‌ها

در این مطالعه اثر ضد لیشمانیایی ذرات نقره در مقایسه با داروی تارتارامتیک 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

Archive of SID
www.SID.ir

رقت‌های مختلف نانوسیلورها رشد پروماستیگوت‌های لیشمانیا تروپیکا را مختل نمود، به‌طوری‌که در غلظت‌های بالاتر اثر قوی‌تری ازخود نشان داد، گرچه هیچ گونه اختلاف معنی‌داری بین آن‌ها مشاهده نگردید ولی میانگین جذب نوری ذرات نقره و داروی کنترل از نظر آماری معنی‌دار است ($p<۰/۰۰۱$). هم‌چنین در روش MTT، IC50 نانوسیلور و داروی کنترل بر روی پروماستیگوت‌های انگل لیشمانیا تروپیکا به ترتیب ۱۴/۹ µg/ml و ۵/۳ به‌دست 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 اندازه‌های متفاوت می‌باشند.[۸] امروزه از ذرات نقره جهت از بین بردن طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها استفاده می‌شود.[۹،۱۰] آزمایش‌هایی که در حال حاضر جهت بررسی داروهای لیشمانیایی به‌کار برده می‌شوند، دارای محدودیت‌های فراوانی از جمله، خطرناک و وقت‌گیر بودن آن‌ها می‌باشند.[۲۲] برای تعیین زنده بودن (viability) پروماستیگوت‌های لیشمانیا تاکنون چندین روش ابداع و معرفی شده است که شامل: شمارش سلول‌های زنده، اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی و واکنش احیای نمک تترازولیوم می‌باشد.[۱۶] هم‌چنین نشان داده شده است که پتاسیم آنتیموان تارتارات (تارتارامتیک) که فرم ۳ ظرفیتی آنتی‌موان است نسبت به مگلومین آنتی‌مونات (گلوکانتیم) بر روی مراحل پروماستیگوت و آماستیگوت موثرتر می‌باشد.[۱۸،۱۹] غلظت ۲µg/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 داروی نانوسیلور در مقایسه با داروی کنترل نشان داد که میانگین جذب نوری این عصاره و داروی کنترل از نظر آماری معنی‌دار است ($p<۰/۰۰۱$). هم‌چنین در روش MTT، IC50 نانوسیلور و داروی کنترل بر روی پروماستیگوت‌های انگل لیشمانیا تروپیکا، به ترتیب ۱۴/۹ µg/ml و ۵/۳ به‌دست آمد که نشان دهنده تاثیر کمتر نانوسیلور نسبت به داروی کنترل می‌باشد. انتخاب داروی تارتارامتیک به عنوان داروی کنترل در این مطالعه بسیار سخت‌گیرانه بوده است و در مقایسه با اغلب ترکیبات آنتی‌موان از تاثیر بیشتری برخوردار است.[۳] استفاده تارتارامتیک در درمان لیشمانیوز به دلیل عوارض جانبی شدید محدود می‌باشد. از طرفی یکی از معدود مطالعات انجام شده در خصوص اثر ذرات نقره بر روی لیشمانیا، مطالعه محبعلی و همکاران در غلظت‌های مختلف بر روی لیشمانیا ماژور به صورت برون تنی بوده است[۱۲] و یافته‌های حاصل از مطالعه مذکور نشان می‌دهد که ذرات نقره تاثیر قابل ملاحظه آماری بر روی مراحل مختلف ارگانیسم از خود نشان نداده است. از سویی نتایج مطالعه حاضر به لحاظ استفاده از محیط کشت‌های حاوی پروماستیگوت قابل قیاس با نتایج کار فوق الذکر نمی‌باشد. 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 انسان‌های داوطلب، احساس می‌شود.

سپاسگزاری

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

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, Digiorgio 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 nanoproduct in medical application. Toxicol Lett 2008; 176(1): 1-12.
9. Silver S, Phung le T, Silver G. Silver biocides in burn 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.freepatentsonline.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. Mohebali 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 quantities the cell number

Archive of SID
www.SID.ir

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.

Archive of SID

www.SID.ir

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

Ahmad Khosravi,[1] Iraj Sharifi,[2] Mohammad Barati,[3] Mahdi Zarean,[4] Marayam Hakimi-Parizi[5]

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*:** Promastigots of *L. tropica* were cultured in RPMI-1640 consisting of 10% fetal calf serum (FCS) and antibiotics at 24 ± 1^0C. 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_{50} (50% inhibitory concentration), subsequently.

Results: Both, nanosilver particles and tartar emetic inhibited the growth of *L. tropica* promastigotes. The IC_{50} 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 tropic*a, nanosilver particles, colorimetric assay

1. **MPH student &DVM, Dermatology & Leishmaniasis Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran.**
2. **Proffesor 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.**

Archive of SID

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.

www.SID.ir