

TDK DOLGOZAT

Csiki Boglárka Bianka

2023

ÁLLATORVOSTUDOMÁNYI EGYETEM

Gyógyszertani és Méregtani Tanszék



Trichomonas gallinae nitroimidazol és protonpumpa-gátló hatóanyagokkal szembeni érzékenységének vizsgálata

Készítette:

Csiki Boglárka Bianka

4. évf. ao. hallgató

Témavezetők:

Dr. Kerek Ádám

ÁTE, Gyógyszertani és Méregtani Tanszék, egyetemi tanársegéd

Dr. Mag Patrik

ÁTE, Gyógyszertani és Méregtani Tanszék, egyetemi tanársegéd

Budapest

2023

Tartalomjegyzék

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE.....	3
1. Bevezetés.....	4
2. Irodalmi áttekintés.....	5
2.1. A <i>Trichomonas</i> fajok jelentősége.....	5
2.2. A <i>Trichomonas</i> fajok okozta fertőzések kezelésének lehetőségei	9
2.3. Mellékhatások és a rezisztencia.....	12
2.4. A protonpumpa-gátlók és egyéb alternatív kezelési lehetőségek.....	13
3. Célkitűzések	16
4. Anyag és módszer.....	17
4.1. A vizsgált paraziták és a hatóanyagok eredete	17
4.2. A paraziták fenntartása, szaporítása	17
4.3. A paraziták mennyiségi meghatározása	17
4.4. A nitroimidazol és protonpumpa-gátló hatóanyagokkal történő vizsgálat.....	18
5. Eredmények.....	22
6. Következtetések.....	29
7. Összefoglalás.....	32
8. Summary.....	33
9. Irodalomjegyzék	34
10. Köszönetnyilvánítás	39

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

CPLM	<i>Trichomonas Cysteine peptone liver infusion medium</i>
DMSO	Dimetil-szulfoxid
DNS	Dezoxiribonukleinsav
HIV	Humán immundeficiencia vírus
<i>T. gallinae</i>	<i>Trichomonas gallinae</i>
<i>T. foetus</i>	<i>Tritrichomonas foetus</i>
<i>T. vaginalis</i>	<i>Trichomonas vaginalis</i>
WHO	Egészségügyi Világszervezet (<i>World Health Organisation</i>)

1. BEVEZETÉS

Az antimikrobiális rezisztencia terjedése napjaink egyik legjelentősebb közegészségügyi problémája. A rezisztencia terjedése nemcsak a baktériumok között figyelhető meg a nem megfelelő, és olykor indokolatlan hatóanyag használat következményeként, hanem a paraziták fertőzések kezelésében is feltörekvő problémaként jelentkezik. Ezen hatóanyagok alternatív módszerekkel történő kiváltása jelentős mértékben csökkentheti nemcsak az antimikrobiális szerek felhasználását, hanem ezáltal közvetve a rezisztencia kialakulását és terjedését is. Szakirodalmi adatokra alapozva az egysejtű paraziták kezelése során egy protonpumpa-gátló hatóanyag esetén írták le annak parazitaellenes hatását. Erre alapozva tűztük ki célul, hogy protonpumpa-gátlók hatékonyságát teszteljük és összehasonlítsuk eredményeinket a protozoák kezelésében széles körben használt nitroimidazol hatóanyagokkal.

Választásunk a madarak körében, azon belül is elsősorban a galambok között komoly egészségügyi problémát okozó egysejtű parazitára, a *Trichomonas gallinae* protozoára esett.

Hazánkban a húsgalambok száma megközelítőleg 180 000 egyedre tehető, és ezen felül több ezer posta-, és díszgalamb tenyésztő is hozzájárul a hazai galambállomány méretéhez. Magyarországon egyetlen galambokra engedélyezett nitroimidazol antibiotikum hatóanyag érhető el protozoás fertőzések kezelésére, a ronidazol, a vele szembeni rezisztencia mértéke pedig folyamatosan nő. Több szakirodalom szerint a haszonállatok közül a húsgalambok az egyik legjelentősebb rezervoárjai az antimikrobiális rezisztenciának. Ezenfelül a postagalambok a versenyeztetés során több száz kilométert megtéve jelentősen hozzájárulnak a rezisztens törzsek terjesztéséhez.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A *Trichomonas* fajok jelentősége

A humán megbetegedést okozó *Trichomonas vaginalis* (*T. vaginalis*) egysejtű parazitát a leggyakoribb nem vírus eredetű, nemi úton terjedő betegséget okozó protozoaként tartják számon, azonban ennek ellenére nem tartozik a bejelentési kötelezettséggel járó megbetegedések közé [1]. Az Egészségügyi Világszervezet (WHO) adatai alapján a szexuális úton terjedő betegségek a leggyakoribb fertőző megbetegedések közé tartoznak. Ezek közül a négy leggyakrabban előforduló gyógyítható megbetegedés, a gonorrhea, a szifilisz és a klamídia mellett a *T. vaginalis* okozta trichomoniázis globális elterjedését is rendszeresen vizsgálják. A 2009 és 2018 között megjelent cikkek adatai alapján készült felmérés szerint a szexuális úton terjedő betegségek száma növekvő tendenciát mutat. Nők körében a fentebb említett betegségek mindegyikének gyakorisága emelkedett, míg férfiak között csak a szifilisz és a trichomoniázis eseteinek száma nőtt. Számítások szerint 2016-ban körülbelül 376,4 millió új fertőzöttet azonosítottak a 15-49 évesek körében, amely átlagosan napi több, mint egymillió fertőzést jelent világszerte. Megállapították, hogy az alacsony jövedelmű, ún. „low-income” országokban gyakoribb a trichomoniázis jelenléte, leggyakrabban pedig az afrikai régióban fordul elő a fertőzés [2].

A *T. vaginalis* egy obligát parazita, öt flagellával rendelkezik, amelyből négy elől, egy pedig az unduláló membránban helyezkedik el. Mitokondriumot nem tartalmaz, sajátos energiatermelő, kettős membránnal ellátott organelluma a hidrogenoszóma. Nőkben a vagina, férfiakban a prosztatata epiteliális sejtjeiben telepszik meg [3]. A parazita alapvetően nemi úton, azaz szexuális együttlét során terjed, azonban mivel hozzávetőleg három órán keresztül képes nedves környezetben, szervezeten kívül is életben maradni, feltételezik, hogy más módon is – például fürdővízzel – képes lehet terjedni. Az erre irányuló kutatások, azonban minden esetben személyes beszámolókra épülnek, amelyek megbízhatósága sokszor kétséges, így jelenleg ez csak egy hipotézis [4]. A fertőzés során, miután a *T. vaginalis* érintkezett a sejtekkel, az ún. trofozoita (flagellával rendelkező) alakjából vékonyabb, hosszúkás amőboid formává változik, ami növeli az adhézióra alkalmas felületet, illetve olyan kémiai anyagokat szabadít fel, amelyek még több parazitát vonzanak a fertőzés helyszínére [5, 6]. Az adhéziót követően a parazita képes elpusztítani a laktobacillusokat és fagocitálni a vagina epiteliális sejtjeit, majd intracelluláris emésztés során hasznosítani annak anyagait [3]. A *T. vaginalis* azonban érzékeny a környezeti tényezőkre, többek között a hőmérséklet és a pH változására, illetve a szervezet

immunválaszára is [6]. Így annak ellenére, hogy a betegség könnyen diagnosztizálható és kezelhető, gyakran a tünetmentesség miatt nem kerül felderítésre, ami krónikus fertőzéshez vezet és növeli a terjedés kockázatát is [7].

Egy kutatás során 400 16-65 év közötti nőt vizsgáltak, és az esetek 32,75%-ában azonosítottak trichomoniázist. A betegek között a leggyakoribb tünet a hüvelyfolyás volt, azonban a vizsgált alanyok közel fele (44%) nem mutatott ilyen tünetet [8]. A hüvelyfolyás minőségét tekintve többnyire fehér (*leukorrhea*) és habos, ritkábban nem habos vagy más színű. Emellett előfordult vizeelési nehézség (*dysuria*) a betegek 14%-ában, hüvelyviszketés, irritáció, ödéma és gyulladásos kipurultság. Jelenléte a vaginában gyakran hüvelygyulladás (vagy *vaginitis*) vezet, férfiakban a fertőzés szinte kivétel nélkül tünetmentes, ritkább esetben okozhat húgycsőgyulladást (*urethritis*) [7, 8].

A trichomoniázist a nemi betegségek között sokáig viszonylag alacsony rizikójú megbetegedésként tartották számon, nem tulajdonítottak nagy jelentőséget neki, azonban az elmúlt években számos kutatás jelent meg, amelyek összefüggésbe hozták különböző súlyos következményekkel [9]. Jackson és mtsai. [10] kutatásuk során a *T. vaginalis* és a humán immundeficiencia vírus (HIV) fertőzések összefüggését vizsgálták, amely során számos HIV fertőzött nőben egyidejűleg trichomoniázis fertőzöttséget is igazoltak és megállapították, hogy a parazita okozta megbetegedésnek jelentős szerepe lehet a HIV fertőzés terjedésében. Ugyanis tekintve, hogy a trichomoniázis még tünetmentes esetben is többnyire erős, helyi immunválaszt generál, leukocita beszűrődést és pontszerű bevérvázásokat okozhat a nemi utak nyálkahártyáján, ezáltal növelheti a HIV-1 vírus vérkeringésbe jutásának valószínűségét [11]. Terhes nők esetében megállapították, hogy a *T. vaginalis* által fertőzöttek körében nagyobb az előfordulási valószínűsége a korai magzatburok repedésnek, koraszülésnek, továbbá az újszülöttek születési súlya is átlagosan alacsonyabb [12]. Ezentúl a *T. vaginalis* összefüggésbe hozták a hármastípusú méhnyak epitéliális neoplázia kialakulásával [13, 14] és számos esetben a petevezeték-elzáródás okozta infertilitással is [15]. Sutcliffe és mtsai. [16] pedig arra a megállapításra jutottak, hogy fertőzött férfiak esetében a *T. vaginalis* növelheti a prosztaták kialakulásának kockázatát, illetve ezen betegségben szenvedők körében az egyidejűleg fennálló fertőzés növelheti a mortalitás valószínűségét [17].

A *Trichomonas foetus* (*T. foetus*) egy állatorvosi jelentőséggel rendelkező parazita, amely a trichomonózis megbetegedést okozza szarvasmarhában és macskában. Egyes vizsgálatok igazolták azt is, hogy a parazita sertésekben is jelen lehet, bennük azonban megbetegedést nem okoz [18]. A trichomonóziist szarvasmarha fertőzöttsége esetén a

Nemzetközi Állatjárványügyi Hivatal (WOAH, korábban OIE) listáján a bejelentési kötelezettség alá tartozó betegségek közé sorolják [19].

A *T. foetus* egy obligát parazita, amely kétéosztódással szaporodik, $10 \times 20 \mu\text{m}$ nagyságú, egy sejtmagja és négy flagellája van. A flagellák a kintoszómából indulnak ki, három a sejt elülső felén helyezkedik el, egy pedig hátrafelé fut és az unduláló membránt alkotja. Ennek a parazitának nincs ciszta formája a környezetben és vibráló mozgást végez. Mitokondriummal sem rendelkezik, helyette hidrogenoszóma látja el energiával a sejtet [20]. Felszíni fehérjéi segítik az adhéziót a gazdaszervezetben, továbbá citotoxikus és proteolitikus aktivitással rendelkezik, ami segíti a parazita invázióját a gazdasejtekbe [21]. Szarvasmarhában a *T. foetus* a *T. vaginalis*-hoz hasonlóan a nemi utakban található meg és párzás során terjed [7]. Bikákban a *preputium*, a pénisz és ritkábban a húgycsőnyílásból is izolálható a parazita, amelynek számos vizsgálat szerint kivétel nélkül tünetmentes hordozói a hím egyedek [22, 23]. Egy vizsgálat során, ahol igazoltan *T. foetus* által fertőzött bikákat boncoltak, megállapították, hogy elváltozás szabad szemmel nem érzékelhető, mikroszkópos vizsgálat során azonban néhány egyedben találtak kisebb elváltozásokat. Többek között fellelhető volt a pénisz dorzális nyálkahártyáján invagináció nyoma és sejttörmelék, máshol az epitélium eróziója és gyulladásos sejtbeszűrődés, néhány esetben pedig *ampullitis* is előfordult [23].

A bikák fertőzöttsége a tünetmentesség miatt gyakran nem kerül diagnosztizálásra, így gyakorlatilag krónikus hordozók és a betegség terjedésében játszanak szerepet, amely rendszerint a nőstény ivarú állatokban okoz súlyosabb problémákat [24]. A fertőzött fiatal üszők vemhesülését általában a kórokozó nem akadályozza, és gyakran az embrió korai fejlődését sem befolyásolja [25]. Parsonson és mtsai. [26] igazolták, hogy a limfoid sejtbeszűrődések a vagina szubepitheliális régiójában és a léziók a fertőzödést követő 60. nap után lesznek megfigyelhetőek. Találtak abortuszra utaló nyomokat is és a parazitát ki tudták mutatni a méhből, a petevezetékből, a magzati folyadékból és a placenta sejtjeiből is. A placentába jutva a *T. foetus* képes a magzatot károsítani és vetélést okozni, amely csökkenti az ellési rátát és nagy állományok esetén jelentős gazdasági kárral jár [25]. Ez kiemelt jelentőséggel bír Ausztráliában, Dél-Amerikában és Ázsiában, ahol a szarvasmarhákat mesterséges termékenyítés helyett gyakran természetes módon pároztatják [27]. Európában ezzel szemben jelentősen csökkent a trichomonózis fertőzöttség száma, számos országban sikerült mentesíteni az állományokat a mesterséges termékenyítésnek és a rutin vizsgálatoknak köszönhetően, például Svájcban [28] és Lengyelországban [18]. A betegség megelőzése szempontjából kritikus pont a bikák szűrése, a fertőzött egyedek

tenyésztésből való kivonása és ivartalanítása, illetve a megbízható és igazoltan mentes állománytól való sperma vásárlása. Továbbá fontos utánpótlásként szűz vagy igazoltan mentes állományból való üsző vásárlása és a steril, mesterséges termékenyítés alkalmazása [22].

Macskák esetében a *T. foetus* felvétele orálisan történik, fertőzött ürülékkel való direkt kontaktus során [29]. Hale és mtsai. [30] bizonyították, hogy annak ellenére, hogy a *T. foetus*-nak nincsen a környezetben ciszta formája, trofozoita formájában napokig életképes maradhat az ürülékben. A parazita kolonizálja a fertőzött egyed *ileum*-át, *caecum*-át és *colon*-ját, gyulladásos folyamatokat indít meg és károsítja a bélmikrobiomot, amelynek következtében a fertőzött egyedekben krónikus hasmenés alakul ki, néhány esetben kis mennyiségű vér is megfigyelhető a bélsárban. A betegség lefolyását súlyosbíthatja az immunszuppresszív állapot [31]. Az elmúlt években a trichomonózis fertőzöttség a macskák körében nőtt, számos esetet regisztráltak, többek között Olaszországban [32], az Egyesült Királyságban [33] és Svájcban is [34]. Az Egyesült Királyságban végzett kutatás során arra a következtetésre jutottak, hogy a fajtatiszta macskák jóval nagyobb arányban fertőzöttek, mint a különböző keverékek, így ők hajlamosabbak lehetnek a betegségekre [33]. Olaszországban egy mentett kolónia egyedeit vizsgálták, amely során megállapították, hogy további hajlamosító tényező lehet a fiatal kor és a nagy egyedsűrűség [32].

Eddig egyetlen esetben, 1998-ban izoláltak emberből *T. foetus*-t. A beteg akut mieloid leukémiában szenvedett, ami miatt allogén vérképzőszervi őssejttranszplantációs műtétet hajtottak végre rajta, amelyet követően a 20. naptól láz, fejfájás és *vertigo* jelentkezett a betegnél. A kezelések ellenére gyors mentális állapotromlást tapasztaltak, központi idegrendszeri görcsök jelentkeztek, majd a műtétet követő 40. napon a beteg elhunyt. Mintavételt követően, elektronmikroszkóppal vizsgálva *T. foetus*-t izoláltak az elhunyt páciens vizeletéből és az agy-gerincvelő folyadékából. A boncolás során további parazitákat izoláltak a *meningoencephalitis* által érintett agyi területekből is. Ennek jelentősége, hogy további fajok is fogékonyak lehetnek a parazitára, illetve immunszuppresszált humán páciensekben súlyos következményekkel is járhat a fertőződés [35].

A *Trichomonas gallinae* (*T. gallinae*) a *Trichomonatidae* rend madarakat fertőző obligát parazitája, amelynek elsődleges gazdája a közönséges galamb (*Columba livia*). Az általa okozott megbetegedés a trichomonózis, amely leggyakrabban a közös etető, itató használatával vagy fiókák etetésekor begytejjel terjed, illetve a ragadozómadarak is felvehetik táplálkozás során a prédáállatból [36]. A galambok széleskörű elterjedtségének

köszönhetően számos esetről számoltak be az elmúlt években, amely során a természetben befogott egyedekből izoláltak *T. gallinae*-t, többek között Floridában [37], az afrikai régióban [38], Iránban, [39] Magyarországon és Romániában [40]. A betegség terjedésében elsődleges szerepet tölt be a vadgerle, a kék galamb és az örvös galamb, amelyek költöző madarak, így képesek a betegséget európai országok között, illetve az európai és afrikai kontinensen is terjeszteni [41]. Albeshr és mtsai. [42] nem csak szirti galambból, hanem egyéb madárfajokban is (házityúk, vadvulyka, pásztormejnő, vadkacsa) igazolták a *T. gallinae* jelenlétét, amely összesen a minták 26,4%-ában volt jelen. A betegség számos madárfajban jelen van világszerte, leírták már sólyomfélékben [43] és pintyekben is [44]. Ezért a *T. gallinae* egyrészt gazdasági szempontból rendkívül fontos, ugyanis nagy létszámú telepeken gyorsan és könnyedén terjed, jelentős anyagi károkat okozva akár testsúlycsökkenés, akár mortalitás révén. Ugyanakkor természetvédelmi szempontból is jelentős, mert a környezetben gyorsan terjed, így akár veszélyeztetett madárfajok életét is fenyegetheti [39].

A *T. gallinae* trofozoitája 6-18 µm nagyságú, négy előre néző flagellával rendelkezik. Mozgása körkörös, bukfencező, ciszta alakja nincs a környezetben. A parazita az emésztőcsatorna felső szakaszán telepszik meg, általában a szájgarat, a nyelőcső és a begy nyálkahártyáján figyelhetők meg az elváltozások, többnyire fehéres-sárga vagy szürkés felrakódások formájában, nyálkahártya léziókkal. A *T. gallinae* által fertőzött madarak között depresszió, étvágytalanság figyelhető meg, majd ebből adódóan testsúlycsökkenés jelentkezik [20]. Mikroszkópos vizsgálat során a garat lamina propriájában gyulladós beszűrődés, a légcső hámfájában a nyálkahártya sejtek hiperpláziája figyelhető meg. Ritkább esetekben, de előfordul generalizált fertőzés, amikor az elváltozások más szervekben is megjelennek, a májban gyakran granulomák képződnek, sok többmagvú óriássejttel, a vesékben pedig *tubulointerstitialis nephritis* alakulhat ki [39]. Hepatikus forma esetén, a májban található elváltozások általában léziók, sárgás-szürke, esetenként vörös elváltozások jelentkeznek a szerv felületén [45]. Az elváltozások továbbá károsíthatják a csontokat és a porcokat, a felrakódások a nyelőcsőben akadályozhatják a táplálékfelvételt vagy a nazális területen a levegővételt, így sok esetben a fertőzés az állat elhullásával végződhet [41].

2.2. A *Trichomonas* fajok okozta fertőzések kezelésének lehetőségei

A *Trichomonatidae* rendbe tartozó fajok által okozott megbetegedések kezelésére elsősorban 5-nitroimidazol származékokat használnak a gyakorlatban. A *T. vaginalis* okozta trichomoniázis kezelésére évtizedeken keresztül egyedül a metronidazolt találták alkalmasnak [46]. A metronidazol, tudományos nevén [1-(2-hidroxietil)-2-metil-5-

nitroimidazol], egy 5-nitroimidazol származék, ahol a nitro-csoport (-NO₂) az öttagú gyűrű 5. pozíciójában helyezkedik el [47]. Shinn és mtsai. [48] 1962-ben leírták, hogy egy *T. vaginalis* által fertőzött beteget nem csak a következetes *vaginitis*-ből, de akut *gingivitis*-ből is sikerült kigyógyítani. Kizárva a véletlen egybeesés lehetőségét, további 6 beteget vizsgálva ugyanezen fertőzések fennállása mellett, minden esetben gyors fájdalomcsökkenést és objektív javulást figyeltek meg. A metronidazol, akárcsak a többi nitroimidazol-származék egy *prodrug*, amely gyorsan felszívódik a humán gastrointestinalis traktusból a keringésbe és nagyon jó megoszlása révén, szinte minden szervben megjelenik. A legmagasabb koncentrációt a májban, a húgyhólyagban, a vesékben és a vaginában képes elérni [47]. Képes átjutni a vér-agy gáton [49] és a placentán keresztül a magzatba is bejuthat [50]. A metronidazol baktériumellenes hatásmechanizmusát Müllner négy fontos fázisra osztotta. Az első a bejutás a baktérium sejtbe, ezt követi a nitrocsoport redukciója, harmadik lépésként citotoxikus melléktermékek aktivitása figyelhető meg, végül pedig inaktív végtermékek képződnek [51]. Az anaerob vagy mikroaerofil baktériumokkal szemben hatékony, ezen baktériumok sajátos anyagcsere folyamatát gátolja, a piruvát foszforoklasztikus reakciót, amely során ferredoxin redukálódik, hidrogén szabadul fel és adenzin-trifoszfát (ATP) keletkezik [52]. A reakció során a metronidazol nitro-csoportja redukálódik, majd a keletkezett toxikus metabolitok direkt károsítják elsősorban a dezoxiribonukleinsavat (DNS), vagy ribonukleinsavat (RNS), esetleg más fehérjerészeket [53]. Alkalmazható a gyakorlatban például a *Helicobacter pylori* [54], illetve különböző paraziták okozta megbetegedések kezelésére, mint a *Giardia* fajok és az *Entamoeba histolytica* okozta fertőzés [55].

A *T. vaginalis* kezelésére 1969-től kezdtek használni egy másik 5-nitroimidazolt, a tinidazolt. Szerkezete és hatásmechanizmusa a metronidazolhoz nagyon hasonló, azonban kisebb dózisban hatékony és kevesebb várható mellékhatással rendelkezik [46]. A WHO és a *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) ajánlása alapján mindkét hatóanyag 2 grammja egyszeri adagban, szájon át alkalmazandó vagy alternatív lehetőségként szedhető a metronidazol 500 mg-os adagja naponta kétszer, 7 napon keresztül [56]. A szeknidazol esetén nem áll rendelkezésre jelenleg érvényes kezelési útmutató, de klinikai teszteredmények igazolták, hogy 2 grammos adagja egyszeri kezeléssel, szájon át alkalmazva szintén hatékony lehet *T. vaginalis* okozta fertőzés esetén [57].

A *T. foetus* fertőzött szarvasmarhák kezelésével kapcsolatban kevés kutatási anyag áll rendelkezésre, a nitroimidazolok közül a metronidazol hatékonyságát sikerült *in vitro* és *in vivo* módon végzett kísérletben is igazolni [58]. Macskák fertőzöttsége esetén

kísérleteztek prednizolon, illetve nitazoxanid kezeléssel, ahol a prednizolon enyhítette a tüneteket a *Cryptosporidium*-mal keresztfertőzött egyedekben, viszont a parazitát nem eliminálta a szervezetből. Ezzel szemben a nitazoxanid hányást indukált, néhány esetben fennmaradt a hasmenés, mégis a 14 napos kezelést követően minden egyed negatív lett *T. foetus* fertőzésre, azonban az utolsó kezelést követő 10. napon ismét hasmenés jelentkezett és újra izolálható volt a parazita a bélsárból [31]. Kather és mtsai. [59] *T. foetus* fertőzött bengáli macskákból izolált parazitaminták érzékenységét vizsgálták 24 órás inkubáció után metronidazol, ronidazol, furazolidon, paromomicin és omeprazol hatóanyagokkal szemben. Az omeprazol és a paromomicin teljesen hatástalannak bizonyultak, a furazolidonnal inkubált mintában már csökkent a paraziták száma, azonban jelentős hatékonyságot csak a metronidazol és a ronidazol mutatott, amelyek közül időben a ronidazol volt a hatékonyabb. Ezzel szemben Gookin és mtsai. [60] egy *in vivo* kísérletben a ronidazol, a metronidazol és a tinidazol hatékonyságát vizsgálták, és arra az eredményre jutottak, hogy a ronidazol és a tinidazol mutatott aktivitást a parazitákkal szemben, amelyek közül a ronidazol kiemelkedően hatékonynak bizonyult, ennek feltételezésük szerint az lehet az oka, hogy az élő szervezetben magasabb aktivitást képes elérni, mint *in vitro* körülmények között. A jelenlegi álláspont szerint a ronidazol az elsődleges választás a macskák fertőzöttségének kezelésében [29].

A *T. gallinae* kezelésére az 1950-es évektől több kísérletben alkalmaztak enheptint, tudományos nevén, 2-amino-5-nitroimidazolt [61, 62]. További kísérletekben vizsgálták az *aureomicin* és *nitrofenide* hatóanyagokat, amelyek nem bizonyultak hatékonyak, a kristályos kálium-penicillin, szulfadiazin, szulfamerazin és szulfametazin (PSSS) pedig nagyon csekély hatással bírt a *T. gallinae*-val szemben [61]. Stabler és mtsai. [62] 1953-ban galambokon végzett vizsgálatok során azt találták, hogy 61 *T. gallinae* fertőzött galambból 53 negatív lett a 7 napos enheptin kúrát követően. A további 8 egyed bár fertőzött maradt, de klinikai tüneteket nem mutatott. Ezzel szemben a 28 kontroll madár, amiket kísérleti úton fertőztek *T. gallinae*-val és enheptin kezelésben nem részesültek, mind elpusztult. McLoughlin és mtsai. [63] 1966-ban a metronidazol, a dimetridazol és a nihidrazon hatóanyagok hatékonyságát vizsgálták, amelynek során megállapították, hogy a fertőzött egyedek 100%-a metronidazol és dimetridazol kezelést követően mentes lett a parazitáktól, míg a nihidrazon esetében tízből négy madárnak lett negatív az eredménye a kezelést követően. A nihidrazon 50 mg/ttkg adagja ugyanakkor toxikusnak bizonyult és a kezelés során 3 galamb elpusztult. Egyén kutatásokban az ornidazol és carnidazol kapcsán is

végeztek vizsgálatokat, ezek azonban többnyire csak néhány esetben vagy csak átmenetileg, rövid ideig voltak hatékonyak [64].

2.3. Mellékhatások és a rezisztencia

A *T. gallinae* kezelésére használt enheptin mellékhatásait több kutatási eredmény is igazolta. Robblee és mtsai. [65] kutatásuk során megvizsgálták, hogy miként változik hosszú távon a tojáshozam és a testsúly egy olyan baromfiállományban, amelynek tápjába 0,1%-ban enheptint keverték. Eredményeik alapján a kezelés jelentős testsúlycsökkenést eredményezett, illetve fokozatosan csökkent a tojástermelés, majd le is állt. Ezen felül megállapították azt is, hogy az enheptin képes gátolni a gonádok fejlődését és leállítja a petesejt érését. Egy másik kutatás során pedig a dimetridazol toxicitását figyelték meg, ahol 17 egyedből 2 galambnál ataxiát tapasztaltak 6 nap kezelés után, amennyiben ivóvízbe keverve kapták a hatóanyagot, a tünetek azonban a kezelés megszűnését követően 24 órán belül elmúltak [63].

T. foetus fertőzött macskák ronidazol kezelése során számos mellékhatást észleltek, amelyek elsősorban nyugtalanság, anorexia és a letargia voltak. Megfigyelték a végtagok remegését is, a macska testének instabilitását és több esetben is észlelték a külső ingerekkel szembeni fokozott túlérzékenységet. Viszont a gyógyszer elhagyása után nyolc nappal a tünetek teljes mértékben megszűntek és maradandó károsodást egyetlen esetben sem tapasztaltak [66].

A metronidazol a májbéli metabolizációja során keletkező hidroxilált származékai miatt erősen genotoxikus, és ezek az anyagok a kezelés alatt álló személyek vizeletéből is kimutathatók [67]. Számos *in vivo* laborvizsgálatot végeztek egereken, amelyek igazolták, hogy a metronidazol képes elváltozásokat okozni és tumoros megbetegedést indukálni a szervezetben [68, 69]. Ostrosky-Wegman és mtsai. [70] kutatásuk során a humán terápiás dózisnak megfelelő mennyiségű metronidazollal kezeltek kilenc juhot. Először nem találtak mutációra utaló jelet, viszont azt az összefüggést fedezték fel, hogy azokban az egyedekben, akiknél magasabb állandósult plazmaszint állt be, ott a mutálódott limfociták száma is nagyobb volt. Martelli és mtsai. [71] vizsgálatai pedig bizonyították, hogy *in vitro* patkány és emberi hepatocitákban is képes a metronidazol a DNS szálakban törést okozni, illetve nem várt DNS-szintézis indult meg a sejtekben. Egy másik kutatásban patkányokban igazolták azt is, hogy hímekben a hipofízis tumor, a heredaganat, míg nőstény egyedekben az emlődaganat és a májdaganat előfordulási aránya nő metronidazollal kezelt egyedek esetében [72]. Ezen és számos további kutatás eredményei alapján a Nemzetközi Rákkutató Ügynökség, a WHO rákkutatásért felelős alszervezete, állati szervezetben karcinogénnek és

potenciális humán karcinogén szernek nyilvánította a metronidazolt [73]. Ezért a metronidazolt és a teljes nitroimidazol csoportot tilos alkalmazni élelmiszertermelő állatokban. Az EU-ban rendelet tiltja (37/2010/EU) a dimetridazolt, a metronidazolt és a ronidazolt használatát haszonállatokban, továbbá tilos őket Japánban, Kínában, Brazíliában és az USA-ban is alkalmazni élelmiszertermelő állatokban [74].

Néhány évvel azután, hogy a metronidazolt elkezdték alkalmazni a *T. vaginalis* kezelésére a humán gyógyászatban, megjelentek az első beszámolók rezisztens törzsek megjelenéséről [75]. Bizonyos esetekben, a metronidazolt rezisztens *T. vaginalis* törzsek a hatóanyag dózisének növelésére reagáltak. Az emelt dózis következtében azonban számos mellékhatás jelentkezett, ezek közül leggyakrabban a rosszullét, fémes íz a szájban és a fejfájás fordult elő, de volt példa neuropátiákra is. Hiperalgéziát és paresztéziát állapítottak meg néhány esetben, amelyek közül egy páciens jelentős életminőség romlást szenvedett azáltal, hogy ezen tünetei a kezelés befejezését követő további 5 hónapon keresztül fennálltak [76]. Felhívták a figyelmet az emelt dózisok hatékonysága mellett jelentkező mellékhatásokra, bár a klinikai szempontból releváns metronidazolt rezisztens *T. vaginalis* törzsek előfordulása ritka, a rezisztencia megjelenése azonban növekvő tendenciát mutat, egy év alatt 17 új esetet regisztráltak [75]. A *T. foetus* esetén kevés klinikai adat áll rendelkezésre, metronidazolt rezisztens törzseket kísérleti úton fertőzött hörcsögökből sikerült izolálni [77].

T. gallinae esetében 1990-ben számoltak be először versenyalambokból izolált *T. gallinae* törzsekről, amelyek valószínűsíthetően szerzett gyógyszerrezisztencia következtében nem reagáltak az 5-nitroimidazol származékok közül egyik hatóanyagra sem [78]. További vizsgálatok is igazolták a rezisztencia jelenlétét mind versenyalambokban, mind pedig szabadon élő galambokban, ennek oka a háziasított és vad madarak olykor közös élőhelye, ami így közös metszéspontot biztosít az ivóvíz vagy a táplálék felvétele során [79]. Rezisztens törzseket a világ többi részén is találtak, például leírták Ausztráliában [80] és Hollandiában [81] is, ez utóbbi esetben a metronidazolt rezisztens törzsek jól reagáltak ronidazolt kezelésre.

2.4. A protonpumpa-gátlók és egyéb alternatív kezelési lehetőségek

A *Trichomonas* fajokkal szemben megjelent és terjedő rezisztencia miatt, és mivel a betegség kezelésére leghatékonyabb szerek használata világszerte tilos haszonállatok esetén, illetve többségük karcinogén és mutagén szer, potenciálisan akár emberekben is, szükségessé vált új, alternatív kezelési lehetőségek keresése [73, 82].

A benzimidazolonkat számos parazita elleni kezelés során használják a gyakorlatban, így ez a hatóanyag csoport feltételezhetően hatékony lehet *Trichomonas* fajokkal szemben is. Carvalho és mtsai. [83] kutatásukban vizsgálva a hatóanyagcsoportot, mind a tiabendazol, a mebendazol, és az albendazol esetén kimutatták azok *T. foetus* ellenes aktivitást. A mebendazol bizonyult a leghatékonyabbnak, ez a hatóanyag mutatta a legmagasabb *Trichomonas*-gátló aktivitást. Azt feltételezik, hogy a benzimidazolonk antiprotozoás aktivitását a 2, 5 és 6-os pozícióban lévő szubsztituensek határozzák meg. Lacey kutatásában a benzimidazolonk hatásmechanizmusát elsőként vizsgálta és megállapította, hogy ezen hatóanyagcsoport képes a paraziták β -tubulin monomerjének kolchicin-érzékeny receptorához kötni, ezzel gátolva a mikrotubulusok polimerizációját [84]. Ezen felül ezek a hatóanyagok gátolják a glükóz felvételét, kimerítik a glikogén raktárakat és képesek a fumarát-reduktáz gátlására és az oxidatív foszforiláció szétkapcsolására, amely a parazita pusztulásához vezet [85].

Pérez-Villanueva és mtsai. [86] más benzimidazol származékokat vontak be a vizsgálatba, annak reményében, hogy a fent említett hatóanyagokhoz hasonló hatást érhetnek el. Ezért különböző protonpumpa-gátló hatóanyagok aktivitását vizsgálták *T. vaginalis*, *Giardia intestinalis* és *Entamoeba histolytica* törzsekkel szemben. Az omeprazol, a lansoprazol, a rabeprazol és a pantoprazol is hatékonynak bizonyult mindhárom parazita esetében. Az omeprazol és a lansoprazol parazitaellenes aktivitásában nem volt jelentős különbség, annak ellenére, hogy más szubsztitúciós csoportokat tartalmaznak. Ezzel szemben a lansoprazol és a rabeprazol között látványosabb eltérést tapasztaltak, így arra következtettek, hogy a benzimidazol alapváz kettes pozíciójában elhelyezkedő szubsztituens befolyásolhatja az antiparazitikus aktivitását ezen hatóanyagok esetében. Gökmen és mtsai. [87] is igazolták, hogy a metronidazollal és ornidazollal szemben rezisztens *T. vaginalis* törzsek jól reagálnak protonpumpa-gátlókkal történő kezelésre. Kutatásukban pantoprazol és ezomeprazol hatóanyagokkal végezték a vizsgálatot és megállapították, hogy a pantoprazol esetében 200 $\mu\text{g/ml}$ vagy ennél magasabb, az ezomeprazol esetén pedig legalább 400 $\mu\text{g/ml}$ koncentrációra volt szükség az antiparazitikus hatás eléréséhez. Feltételezések szerint a protonpumpa-gátlók hatásmechanizmusának az az alapja, hogy képesek gátolni az uridin nukleozid ribohidroláz enzimet. Az itt említett *Trichomonas* fajok mindegyike obligát parazita, ami azt jelenti, hogy saját anyagai felépítéséhez külső forrásra van szüksége, így saját nukleozidjait sem képes *de novo* szintetizálni. A nukleozidokat fel tudja venni exogén úton a gazdaszervezetből, egy ún. „salvage pathway” útvonalon keresztül képes nukleotidokat alkotni, amelyek feltétlen

szükségesek a parazita DNS szintéziséhez. Az uracil előállításához szükséges az uridin nukleozid ribohidroláz enzim, ennek hiányában a parazita elpusztul [88].

Számos kutatásban vizsgáltak hétköznapi, természetes anyagokat, amelyek lehetséges antiparazitás hatással rendelkeznek. A solanidin és tomatidine, a burgonyában és a paradicsomban természetes körülmények között előforduló anyagok, hatékonyságuk alacsony, míg például a metil-jazmonát, ami a jázmin illóolaja, hatékonynak bizonyult, ám igen drága. *In vivo* vizsgálatok során *T. vaginalis* ellenes aktivitást mutatott az N-acetil-L-cisztein is. Továbbá lektin, likorin és likozinin esetében is kimutatták a parazita ellenes aktivitást [89]. A közönséges levendula (*Lavandula angustifolia*) és a közönséges gyömbér (*Zingiber officinale*) alkoholos kivonata esetén szintén biztatóak voltak az első vizsgálati eredmények [90]. Fokhagyma vizes kivonatának hatékonyságát is vizsgálták *in vitro* és *in vivo* metronidazzal összehasonlítva. Míg az *in vitro* kísérletekben a metronidazol mutatott alacsonyabb minimális ölő koncentráció (MLC) értékeket, addig a fertőzött galambokon végzett *in vivo* kísérlet során a fokhagyma kivonata mutatta a legmagasabb *Trichomonas*-ellenes aktivitást, és sikeresen meggyógyította a fertőzött egyeket, így megállapították, hogy ez is egy alternatív lehetőség lehet a *T. gallinae* kezelésében [91].

3. CÉLKITŰZÉSEK

Jelen kutatás célja a galambok körében nagy gazdasági jelentőséggel bíró *T. gallinae* egysejtű parazita kezelésében alternatív lehetőségek keresése. A kutatás során különböző protonpumpa-gátlók hatékonyságát vizsgáltuk, valamint összehasonlítottuk a kezelésben klasszikus módon használt nitroimidazol származékok hatékonyságával. Ehhez városi galambokból gyűjtött *T. gallinae* törzseket használtunk fel, három párhuzamos mérés során, a hatóanyagok kettes alapú hígítási sorát alkalmazva, hogy ezáltal megtaláljuk az egyes hatóanyagok minimális gátló koncentrációját (MIC). Mindezek mellett vizsgáltuk a hatóanyagok oldószereinek hatását is, hogy ki tudjuk zárni azok befolyásoló szerepét. Vizsgálataink célja, hogy alternatív kezelési lehetőséget találjunk a *T. gallinae* okozta parazitás fertőzésre, mivel a hagyományos nitroimidazol hatóanyagokkal szemben a rezisztencia fokozódik, és ezen hatóanyagok alkalmazása a galamb, mint élelmiszertermelő haszonállat esetén nem is lehetséges.

4. ANYAG ÉS MÓDSZER

4.1. A vizsgált paraziták és a hatóanyagok eredete

A *T. gallinae* egysejtű parazitákat városi galambokból, steril Amies-típusú (Biolab Zrt., Budapest, Magyarország), szén nélküli, normál alumínium pálcás mintavevő pálca segítségével gyűjtöttük légszűrőből, erre engedéllyel rendelkező szakember segítségével; majd a fenntartáshoz és szaporításhoz is használt, speciális táplevesben, 37 °C-os temperált hőmérsékleten szállítottuk be őket a Gyógyszertani és Méregtani Tanszék Antimikrobiális Rezisztencia Laboratóriumába. A vizsgálatokhoz szükséges hatóanyag standardokat (Merck KGaA, Darmstadt, Németország) vásároltuk.

4.2. A paraziták fenntartása, szaporítása

A beérkező tamponmintákat tartalmazó tápleves, valamint a parazita szaporításához is használt speciális tápleves az alábbi összetevőket tartalmazta:

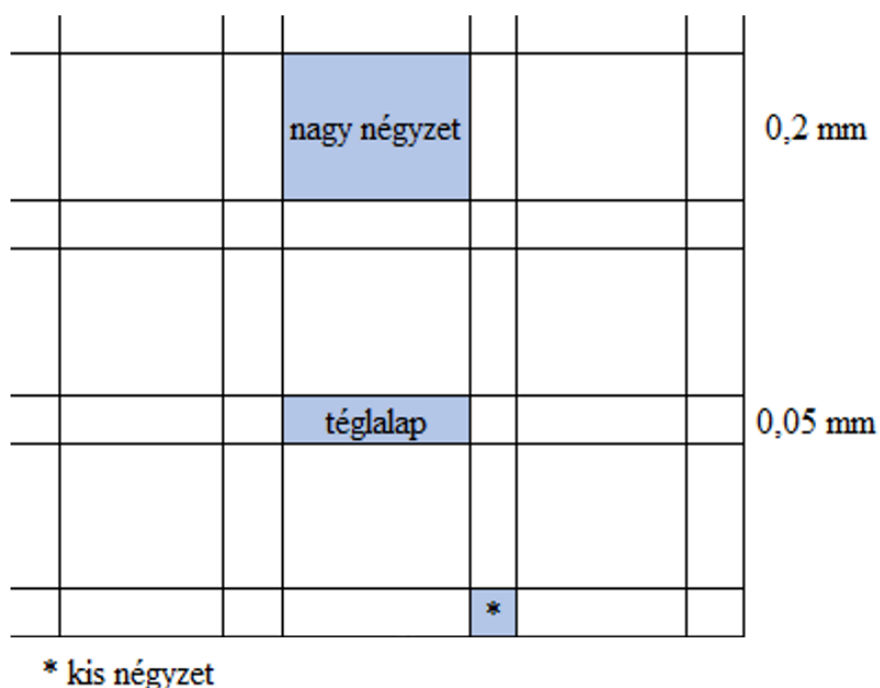
1. *Trichomonas Cysteine peptone liver infusion medium* (CPLM) táptalaj alap – módosított, 425 ml mennyiségben
2. *Trichomonas* szelektív kiegészítő, 1 fiola 4 ml steril ioncserélt vízben feloldva
3. Steril, inaktivált (56 °C-on 30 percig) pH 6-ra beállított lószérum, 70 ml mennyiségben

4.3. A paraziták mennyiségi meghatározása

Az élő trofozoita mennyiségének meghatározását (db/ml) Bürker-kamra (**1. ábra**) segítségével végeztük, a sejtszámláláshoz használt képlet segítségével. Az első számolást a beérkezést követő 24 órás inkubáció után végeztük, majd addig folytattuk az inkubációt, amíg a kezelésekhez szükséges trofozoita fel nem szaporodott megfelelő mennyiségre (10^6 sejt/ml).

A sejtszámláláshoz használt képlet szerint a **nagy négyzetekhez** tartozó átlagos sejtszámot vettük alapul, 25 nagy négyzetben megszámlálva a trofozoiták számát, majd átlagoltuk azt, végül megszoroztuk a hígítás mértékével és végül szorzófaktorként $2,5 \times 10^5$ -el szoroztuk azt.

$$\text{SEJTSZÁM} * \text{HÍGÍTÁS FOKA} * 2,5 \times 10^5$$



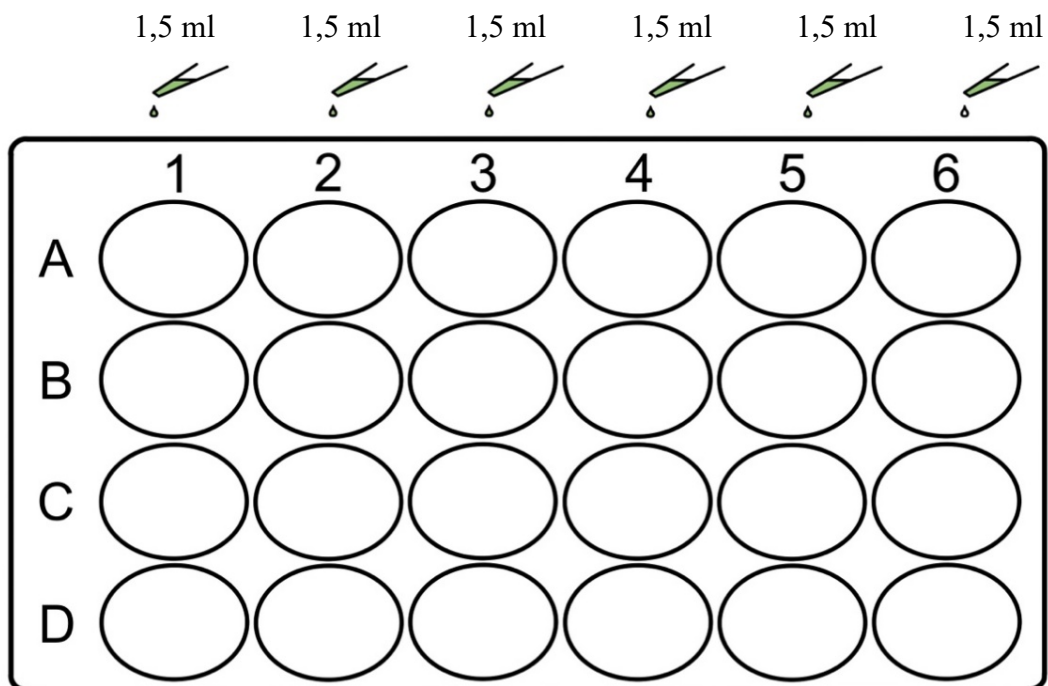
1. ábra A sejtszámoláshoz használt Bürker-kamra felosztása.

4.4. A nitroimidazol és protonpumpa-gátló hatóanyagokkal történő vizsgálat

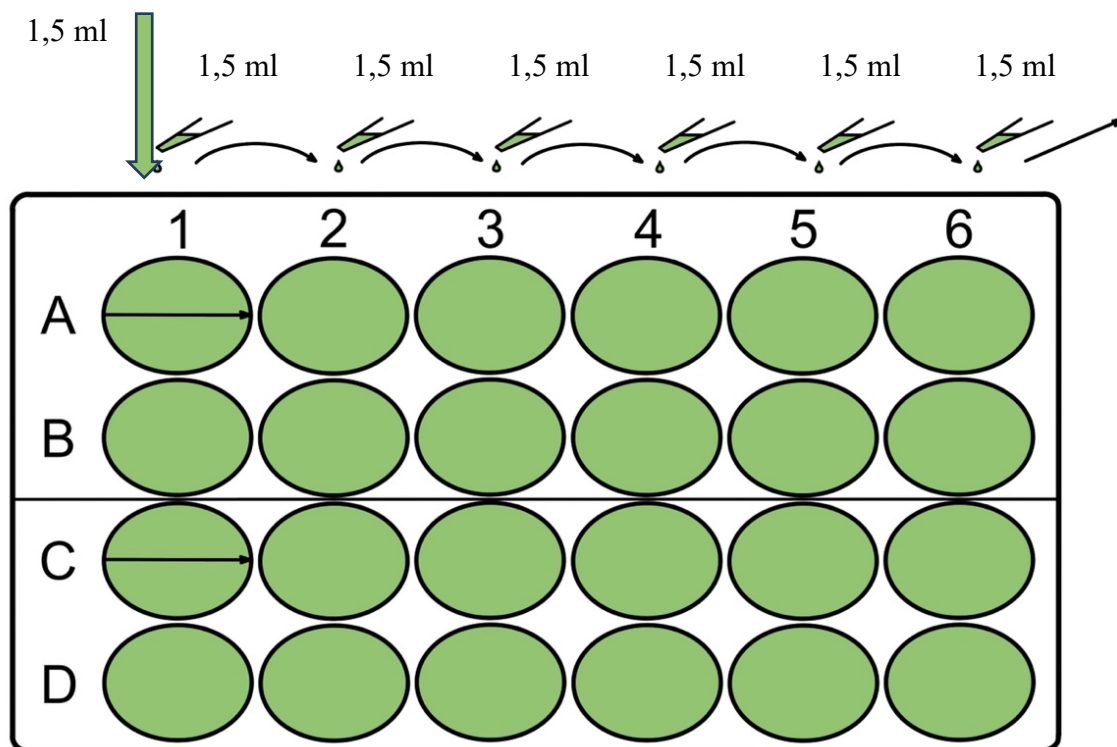
A nitroimidazolok közül ronidazol, metronidazol, tinidazol és szeknidazol hatóanyagokból (Merck KGaA, Darmstadt, Németország) 1024 µg/ml koncentrációjú törzsoldatot készítettünk 4,3 ml dimetil-szulfoxid (DMSO), 25 ml desztillált víz és 30 mg hatóanyag segítségével, így a törzsoldatban 14 V/V%-ban volt jelen a DMSO.

A protonpumpa-gátlók közül a pantoprazol és a rabeprazol hatóanyagokból történő törzsoldat készítése desztillált vízben, az omeprazol, az ezomeprazol és a lanzoprazol hatóanyagokból (Merck KGaA, Darmstadt, Németország) történő törzsoldat készítése 96%-os etanol felhasználásával történt, ezekből 8000 µg/ml koncentrációjú törzsoldatokat készítettünk úgy, hogy a törzsoldatok 24 V/V%-os etanolt tartalmaztak.

A paraziták kezeléséhez 24-es sejtenyésző lemezt (VWR International, LLC., Debrecen, Magyarország) használtunk, amit 1,5 ml CPLM táplevelessel töltöttünk fel, annak első oszlopának első lyukába a tömény törzsoldat 2X hígítását készítettük el (**2. ábra**), majd ezt kettes alapon végig hígítottuk az első két sorban (**3. ábra**), alatta pedig a hatóanyag beoldásához használt oldószer azonos koncentrációjának hígítását végeztük el hasonlóképpen, hogy el tudjuk dönteni, hogy ha van hatása a kezelésnek, az a hatóanyagnak, vagy az oldószernek tulajdonítható-e. Az utolsó hígítást tartalmazó lyukakból a felesleget a pipettahegygel együtt eldobtuk.



2. ábra Első lépésként a 24-es lemez mindegyik lyukába 1,5 ml táplevest mértünk.



3. ábra Második lépésként az első sor első lyukába (A1) 1,5 ml törzsoldatot, a harmadik sor első lyukába (C1) pedig a hozzátartozó oldószert mértünk, majd elkészítettük a kettes alapú hígítási sort, harmadik lépésként a felesleget eldobtuk.

A kettes alapú hígítási sor elkészítése során az első lyukból (A1 és C1) átmértünk 1,5 ml szuszpenziót a másodikba, majd szuszpendáltuk azt 2-3 alkalommal, végül 1,5 ml szuszpenziót tovább pipettáztunk a harmadik lyukba, szuszpendáltuk és így tovább, egészen az utolsó lyukig (B6 és D6), ahol a pipetta hegyet a felesleges 1,5 ml szuszpenzióval eldobtuk. Ezzel egy kettes alapú hígítási sort készítettünk (**1. táblázat**); az első oszlop „A” lyukból kiindulva az első két sor mindig a hatóanyag, a „C” lyukból kiindulva a harmadik és negyedik sor a hozzá tartozó megfelelő hígítású oldószer kettes alapú hígítási sorát tartalmazta (**2. táblázat**).

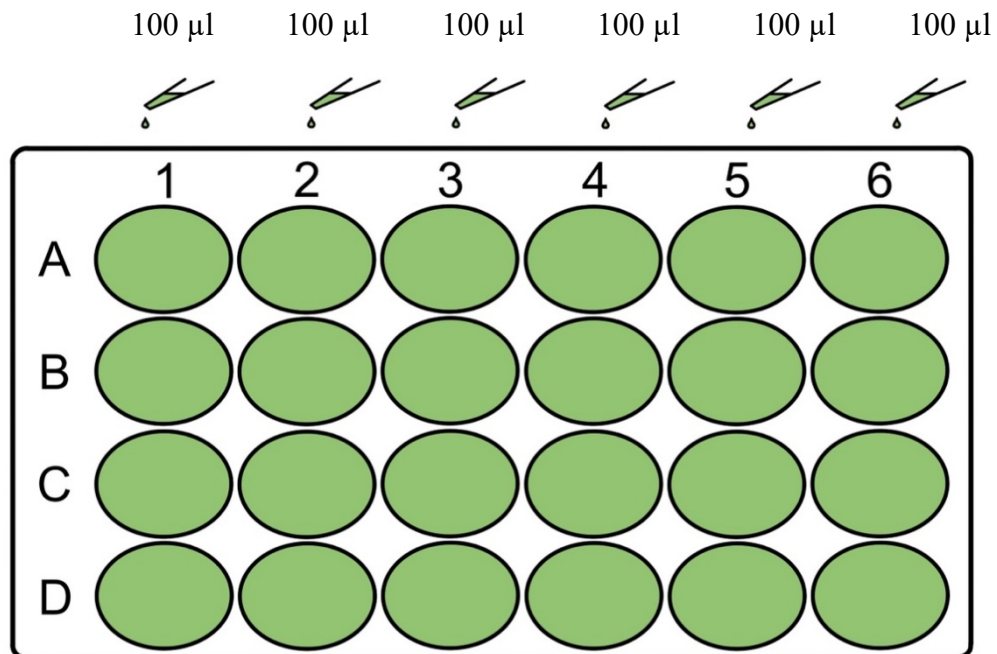
Nitroimidazol hatóanyagok	Hígítás	2x	4x	8x	16x	32x	64x
		512	256	128	64	32	16
	µg/ml						
	Hígítás	128x	256x	512x	1024x	2048x	4096x
		8	4	2	1	0,5	0,25
Protonpumpa-gátló hatóanyagok	Hígítás	2x	4x	8x	16x	32x	64x
		4000	2000	1000	500	250	125
	µg/ml						
	Hígítás	128x	256x	512x	1024x	2048x	4096x
		62,5	31,25	15,63	7,81	3,91	1,95

1. táblázat A hatóanyagok kettes alapú hígítása során kapott koncentrációk.

Nitroimidazol hatóanyagok oldásához használt DMSO	Hígítás	2x	4x	8x	16x	32x	64x
		7	3,5	1,8	0,9	0,4	0,2
	%						
	Hígítás	128x	256x	512x	1024x	2048x	4096x
		0,1	0,05	0,03	0,001	0,007	0,003
Protonpumpa-gátló hatóanyagok oldásához használt etanol	Hígítás	2x	4x	8x	16x	32x	64x
		24	12	6	3	1,5	0,8
	%						
	Hígítás	128x	256x	512x	1024x	2048x	4096x
		0,4	0,2	0,1	0,05	0,025	0,013

2. táblázat Az oldószerek kettes alapú hígítása során kapott koncentrációk

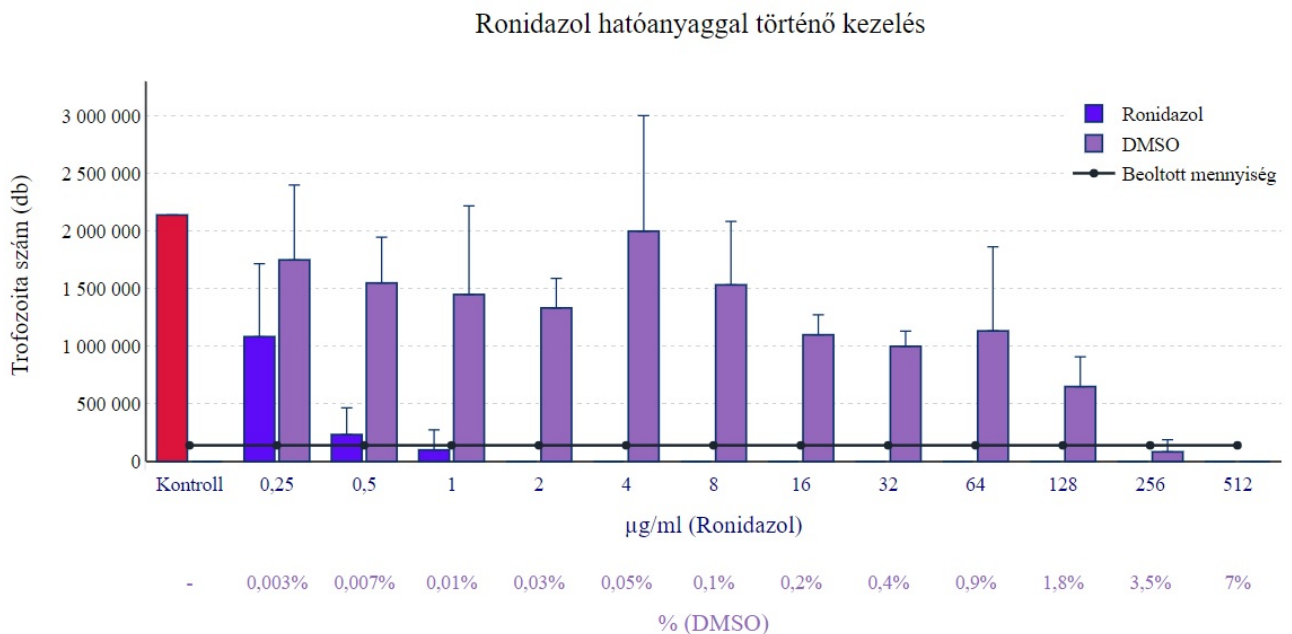
Végezetül 4. lépésként mindegyik lyukba 100 µl mennyiségű parazitát tartalmazó szuszpenziót oltottunk (4. ábra). Ezt követően a lemezeket 37 °C-os termosztátba helyeztük 5% CO₂ mellett, majd 24 órás inkubációt követően Bürker-kamra segítségével megszámoltuk a trofozoiták számát, öt nagy négyzet átlagát figyelembe véve.



4. ábra Negyedik lépésként beoltottuk a *T. gallinae* törzset 100 µl mennyiségben.

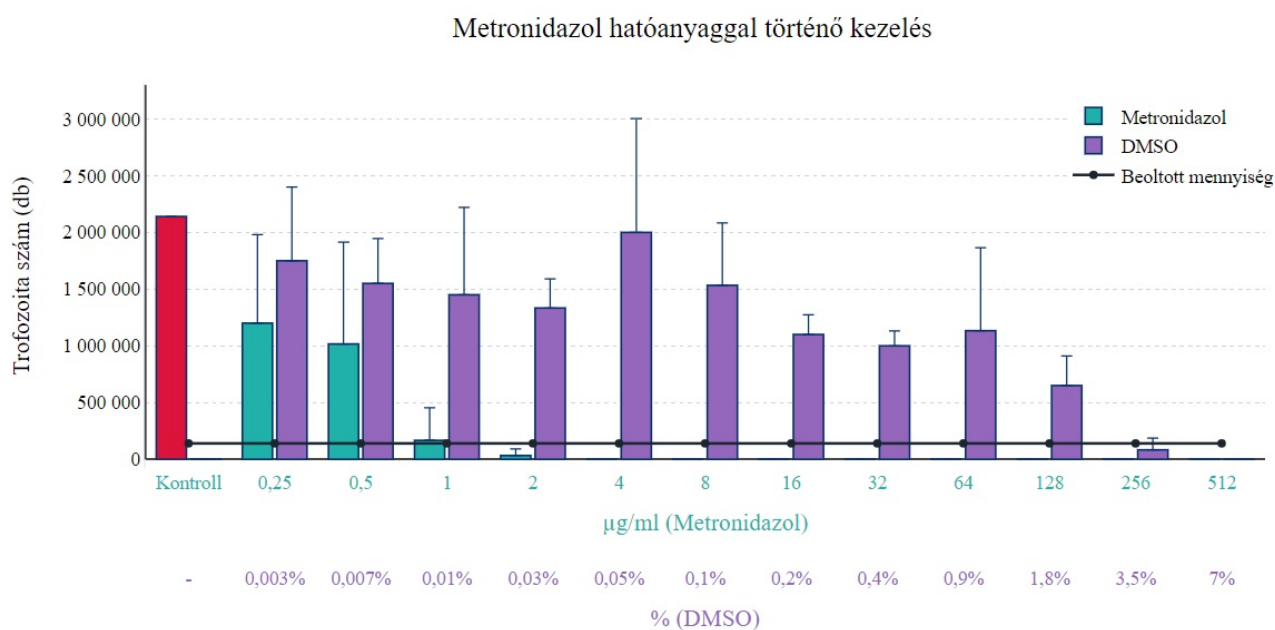
5. EREDMÉNYEK

A ronidazollal történő kezelés (5. ábra) során a paraziták teljes eradikációjához szükséges hatóanyag koncentráció 2 µg/ml volt. Jól látható, hogy a DMSO ugyanolyan koncentrációjának a hígítási sora esetén, mint amennyi oldószert tartalmazott a ronidazol törzsoldat is, a DMSO esetén csak a 7%-os koncentrációtól tapasztaltunk teljes eradikáló hatást, a 3,5%-os oldat a beoltott paraziták mennyiségét szignifikánsan csökkentette ($p < 0,001$), azok szaporodásukban gátoltak voltak. Az 1,8%-os koncentrációtól már ez a gátló hatás nem figyelhető meg, így kijelenthetjük, hogy a 2 µg/ml ronidazol koncentrációnál, amely 0,03% DMSO-t tartalmaz, a megfigyelhető hatás csak a hatóanyagnak tudható be.



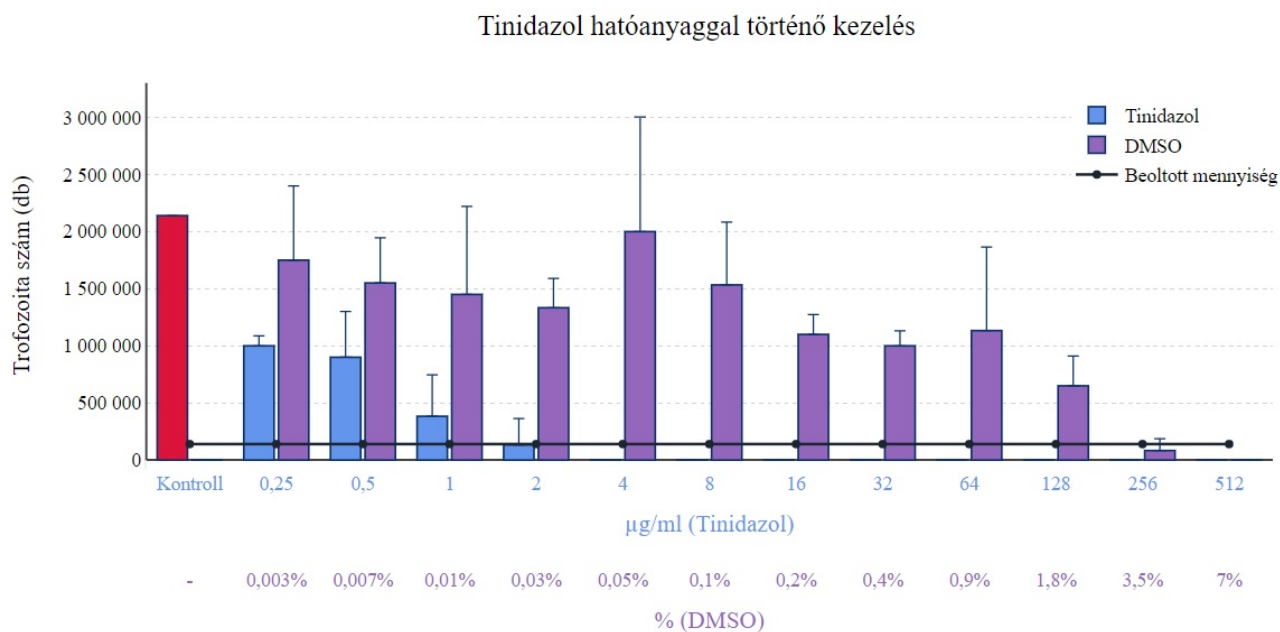
5. ábra A ronidazol hatóanyaggal történő kezelést követő 24 órás inkubációs idő utáni trofozoita szám változása.

Metronidazollal történő kezelés során (6. ábra) teljes parazita eradikációt a 4 µg/ml koncentráció esetén tapasztaltunk. A DMSO befolyásoló hatása a ronidazoléhoz hasonlóan alakult, tehát nem befolyásolta az eredményeinket. Összességében tehát a metronidazol esetén nagyobb koncentrációra volt szükség a paraziták teljes mértékű elpusztításához, tehát a ronidazol a *T. gallinae* okozta fertőzés kezelésében hatékonyabb hatóanyagnak minősül.



6. ábra A metronidazol hatóanyaggal történő kezelést követő 24 órás inkubációs idő utáni trofozoita szám változása.

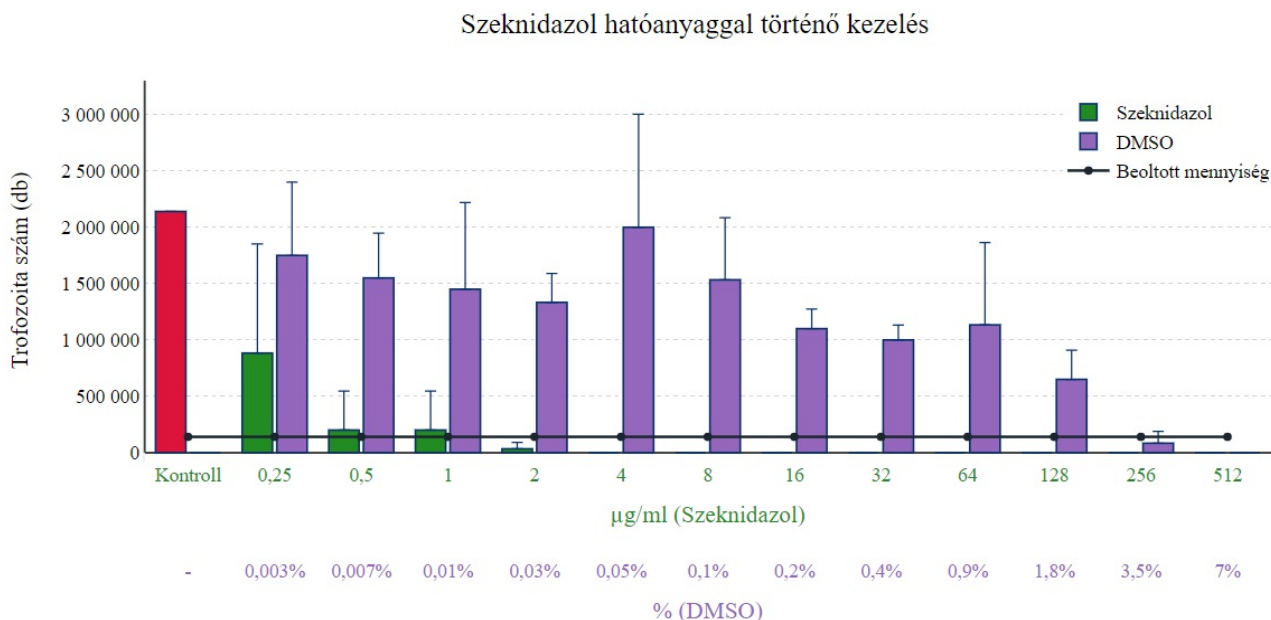
A tinidazol hatóanyag esetén (7. ábra) ugyanazt az eredményt kaptuk, mint metronidazol esetén, tehát 4 µg/ml koncentrációban teljes mértékben elpusztította a trofozoitákat. A DMSO továbbra sem befolyásolta eredményeinket.



7. ábra A tinidazol hatóanyaggal történő kezelést követő 24 órás inkubációs idő utáni trofozoita szám változása.

Szeknidazol esetén eredményeink (8. ábra) egybevágtak a metronidazol és a tinidazol esetén tapasztalt 4 µg/ml koncentrációval.

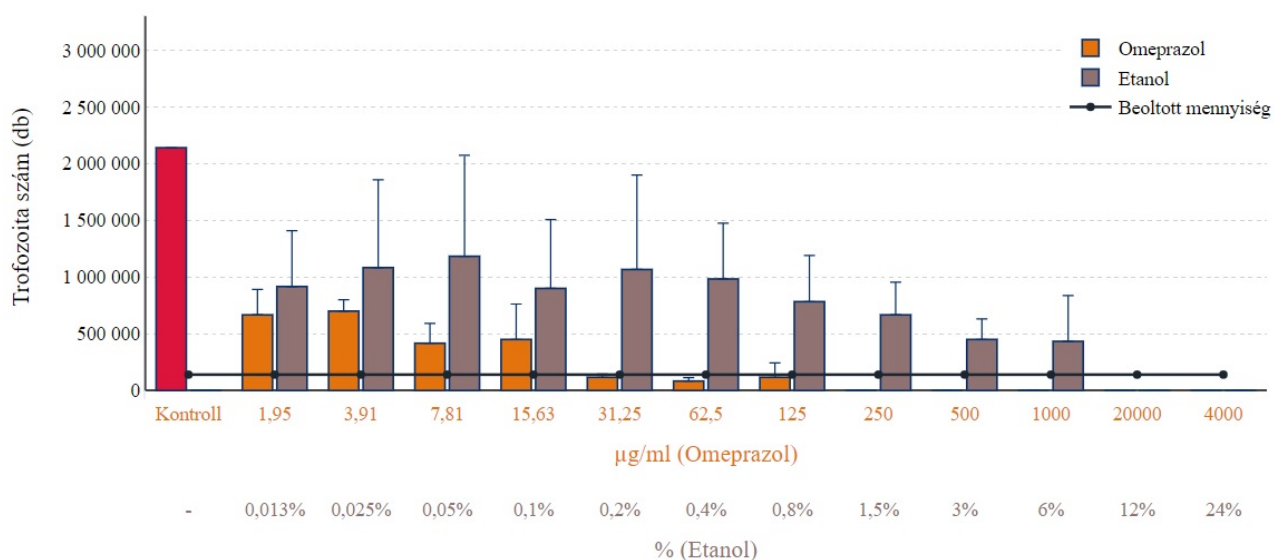
Nitroimidazol hatóanyagok esetén tehát összességében elmondhatjuk, hogy a ronidazol hatóanyag tekinthető a leghatékonyabbnak (2 µg/ml), amit azonos hatékonysággal követ a metronidazol, a tinidazol és a szeknidazol (4 µg/ml).



8. ábra A szeknidazol hatóanyaggal történő kezelést követő 24 órás inkubációs idő utáni trofozoita szám változása.

A protonpumpa-gátló hatóanyagok közül omeprazol esetén (9. ábra) 250 µg/ml koncentráció mellett a paraziták teljes eradikációját figyeltük meg. Az ez esetben oldószerként használt etanol önmagában, az adott hígítási foknak megfelelően 12 V/V% esetén pusztította el a parazitákat, hatása 3%-os koncentrációig megfigyelhető meg szignifikánsan alacsonyabb ($p < 0,001$) parazitaszám tekintetében, azonban 1,5%-os koncentráció esetén, amit a 250 µg/ml hatóanyag oldat is tartalmazott, már nincs jelentős hatása.

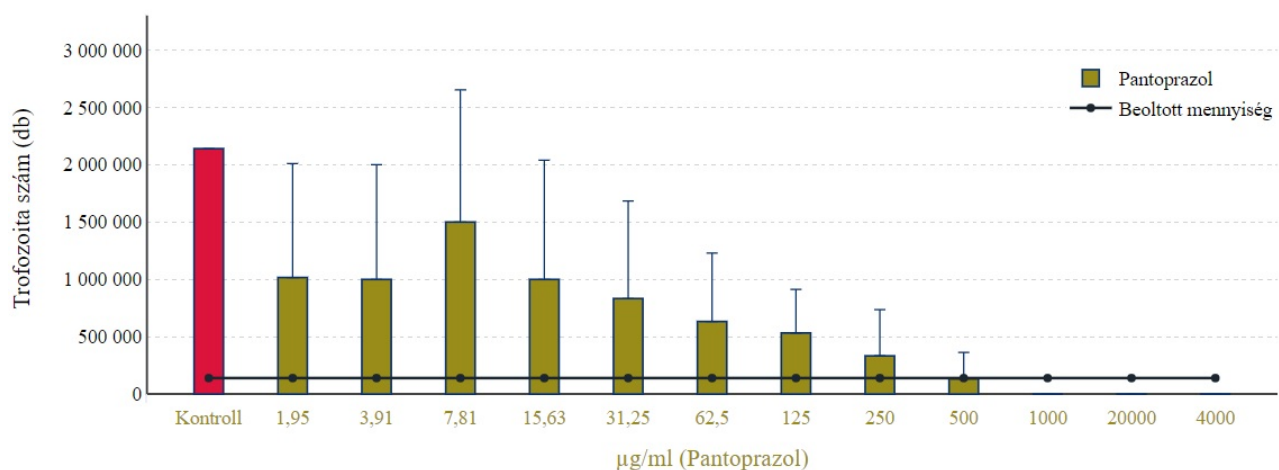
Omeprazol hatóanyaggal történő kezelés



9. ábra Az omeprazol hatóanyaggal történő kezelést követő 24 órás inkubációs idő utáni trofozoita szám változása.

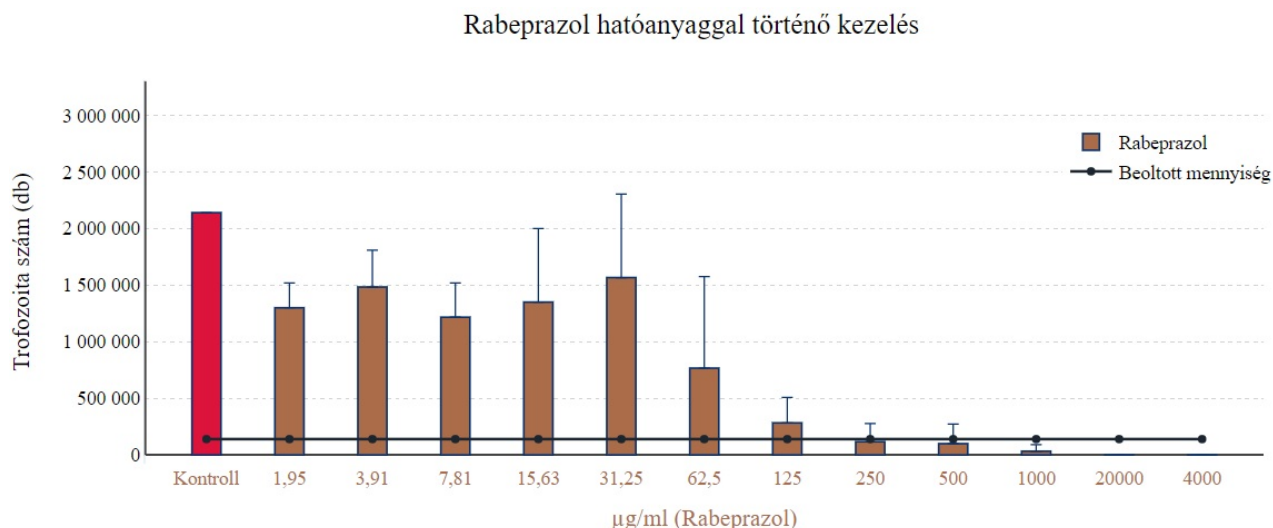
Pantoprazol esetén (**10. ábra**) a hatóanyag vízben oldható volt, így itt nem kellett számolnunk az oldószer esetleges befolyásoló hatásával. A paraziták teljes eradikációjához 1000 µg/ml koncentrációra volt szükség, azonban itt is megfigyelhettük, hogy a 250 µg/ml koncentrációig a beoltott parazitaszám kismértékben csökkent a 24 órás inkubációs idő alatt és szaporodásában gátolta a parazitákat a hatóanyag.

Pantoprazol hatóanyaggal történő kezelés



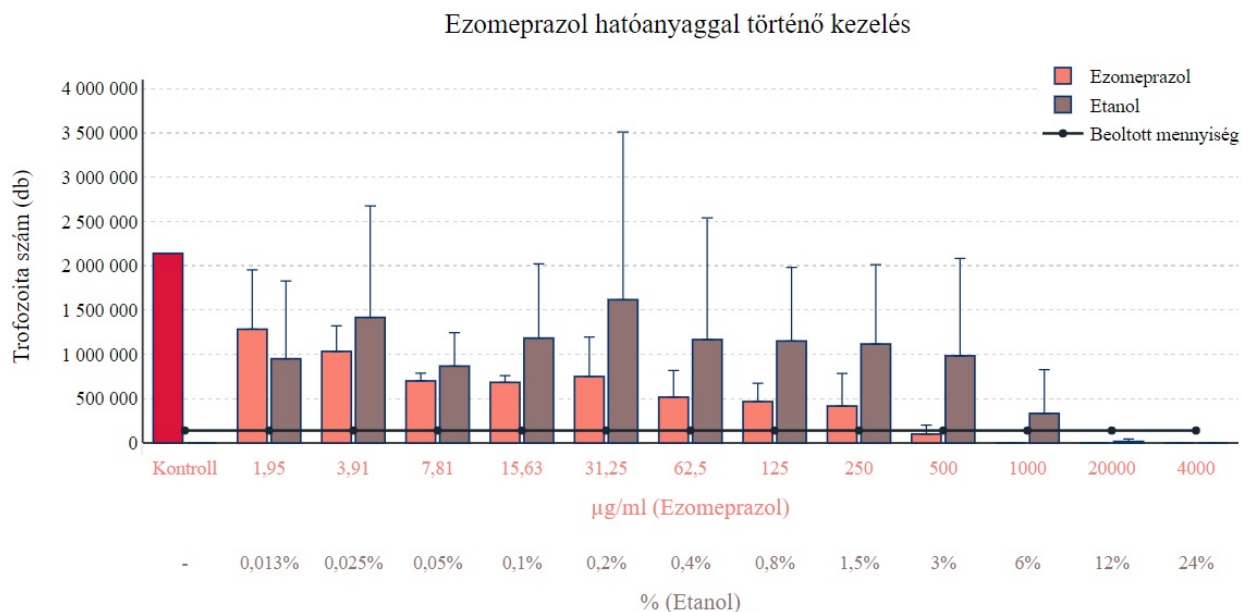
10. ábra A pantoprazol hatóanyaggal történő kezelést követő 24 órás inkubációs idő utáni trofozoita szám változása.

A rabeprazol hatékonysága (**11. ábra**) elmarad a pantoprazolhoz képest, 2000 µg/ml koncentrációra volt szükség a teljes eradikációhoz, a szaporodást gátló hatás azonban 250 µg/ml koncentrációig itt is megfigyelhető. Az oldószer itt is a víz volt, így annak befolyásoló hatásától eltekinthetünk.



11. ábra A rabeprazol hatóanyaggal történő kezelést követő 24 órás inkubációs idő utáni trofozoita szám változása.

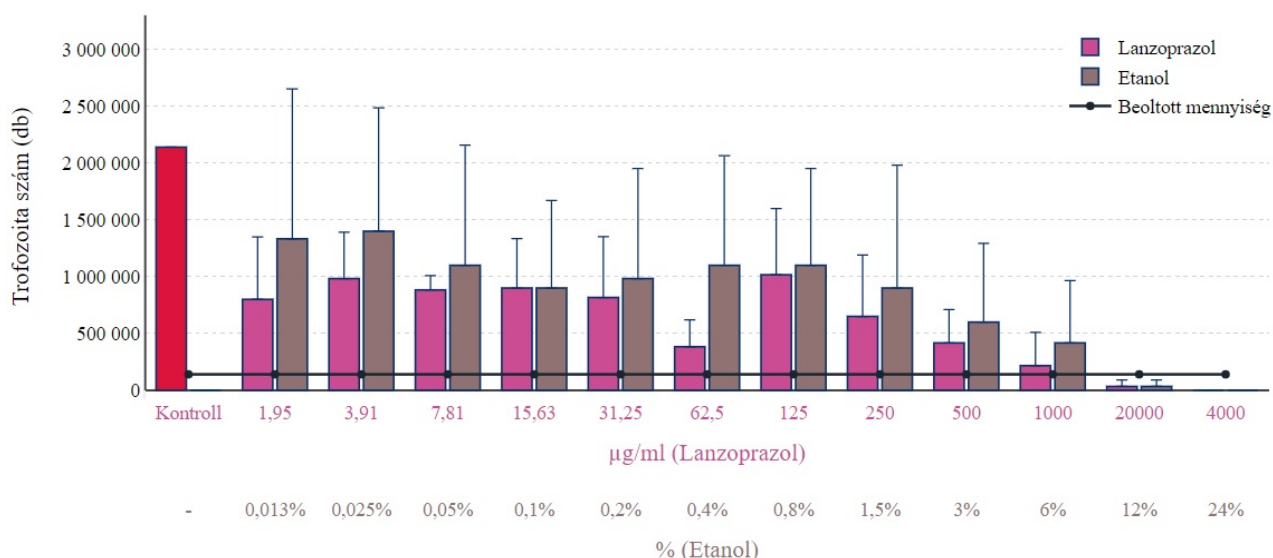
Az ezomeprazol hatékonysága (**12. ábra**) hasonlóan alakult, mint az pantoprazolé, 1000 µg/ml koncentráció volt szükséges a parazita teljes eliminációjához. Oldatba viteléhez itt már szükség volt etanolra, amelynek hatása 24%-os koncentrációnál volt teljes eradikáció, 12%-ban jelentős mértékben csökkentette a parazitaszámot és 6%-ban is kismértékben megfigyelhető volt ez a hatás, ami azonban a 3%-os koncentrációtól már megszűnt. Ezért ezomeprazol esetén az átfedés miatt a hatóanyag és az oldószer közötti szinergista hatás nem zárható ki teljes bizonyossággal.



12. ábra Az ezomeprazol hatóanyaggal történő kezelést követő 24 órás inkubációs idő utáni trofozoita szám változása.

Végül vizsgáltuk a lanzoprazol hatékonyságát is (**13. ábra**), ahol a hatóanyag 4000 µg/ml koncentrációja tudta teljes mértékben eradikálni a parazitát, amely hatás viszont a hozzá tartozó 24%-os oldószer koncentrációnál is megfigyelhető volt. A jelentős parazitaszám csökkentő és szaporodás gátló hatás szintén megfigyelhető volt hasonló mértékben a lanzoprazol 2000 µg/ml koncentrációja és a hozzá tartozó 12%-os etanol koncentráció esetén is. Ezt követően az 1000 µg/ml koncentrációnál a paraziták már felszabadulnak a szaporodásukat gátló hatás alól, amely felszabadulás mértéke egészen a 125 µg/ml koncentrációig folyamatos növekedést mutat.

Lanzoprazol hatóanyaggal történő kezelés



13. ábra A lanzoprazol hatóanyaggal történő kezelést követő 24 órás inkubációs idő utáni trofozoita szám változása.

Összességében tehát a protonpumpa-gátlók esetén vizsgált hatóanyagoknál megállapíthatjuk, hogy hatékonyak lehetnek a *T. gallinae* kezelésében. A legkifejezettséggel az omeprazol (250 µg/ml) hatóanyag rendelkezik, ahol az etanolos oldószer befolyásoló hatását is ki tudtuk zárni. Ezt követi a sorban a pantoprazol és az ezomeprazol (1000 µg/ml), amelyek esetén szintén nincs befolyásoló hatása az oldószernek. A sort a rabeprazol (2000 µg/ml) és végül a lanzoprazol (4000 µg/ml) zárja, ez utóbbi hatóanyag esetén viszont nem tudtuk teljes mértékben kizárni az oldószer befolyásoló hatását.

6. KÖVETKEZTETÉSEK

A *T. gallinae* esetén kevés összehasonlító szakirodalom áll a rendelkezésre, a legtöbb vizsgálatot az azonos nemzetségbe tartozó *T. vaginalis* protozoával végezték. A nitroimidazol hatóanyagok közül ronidazol esetén 2 µg/ml volt az a legkisebb hatóanyag koncentráció, ami teljes mértékben eradikálta a parazitát. Munoz és mtsai. [64] hasonló eredményeket kaptak, a minimális letális koncentrációt 1,9-7,8 µg/ml között határozták meg, Grabensteiner és mtsai. [92] kutatásában a vizsgált izolátumok közül több rezisztensnek bizonyult, ezek minimális letális koncentrációja >60 µg/ml volt, az érzékeny törzsek esetén 2,7-6,7 µg/ml közötti koncentrációkat határoztak meg. Rouffaer és mtsai. [79] kutatásuk során a vizsgált törzsek minimális letális koncentrációját >15,6 µg/ml értékben határozták meg. Metronidazol esetén 4 µg/ml koncentrációra volt szükség ahhoz, hogy az összes trofozoita elpusztuljon. Munoz és mtsai. [64] kutatásaik során a ronidazolhoz hasonlóan ehhez 1,9-7,8 µg/ml közötti koncentrációt határozták meg, Grabensteiner és mtsai. [92] pedig 2-28,3 µg/ml közötti értékeket írtak le. Seddiek és mtsai. [91] vizsgálataik során megállapították, hogy a metronidazol 50 µg/ml koncentrációja 24 óra alatt, 25 µg/ml koncentrációja 48 óra alatt és 12,5 µg/ml koncentrációja 72 óra alatt eliminálja a parazitát. Graves és mtsai. [93] ellenben *T. vaginalis* esetén már a 6,48 µg/ml-es koncentrációt is hatékonynak találták, Matini és mtsai. [94] pedig megállapították, hogy a legkisebb gátló koncentráció 1,95 µg/ml, a letális koncentráció pedig 2,95 µg/ml és az izolátumok 98%-át érzékenynek találták. Narcisi és mtsai. [95] szintén *T. vaginalis* vizsgálata során a rezisztensnek nem számító törzseknél <25 µg/ml, a rezisztens törzsek esetén pedig >50 µg/ml mozgott az a koncentráció, ami hatékonyan elpusztította a parazitát. Rouffaer és mtsai. [79] pedig a vizsgált törzsek minimális letális koncentrációját >15,6 µg/ml értékben határozták meg *T. gallinae* esetén. Ghosh és mtsai. [96] *T. vaginalis* esetén 1,6 µg/ml koncentrációban határozták meg a legkisebb letális koncentrációt. Augostini és mtsai. [97] 48 órás inkubációs idő alatt 2,25 µg/ml hatékony koncentrációt találtak, ami teljes mértékben eliminálta a parazitát, és a vizsgált törzsek 11%-a bizonyult rezisztensnek. Tinidazol hatóanyag esetén szintén 4 µg/ml volt az a legkisebb koncentráció kutatásunk során, ami teljes mértékben képes volt 24 óra alatt elpusztítani a parazitákat. Graves és mtsai. [93] 1,3 µg/ml koncentráció esetén tapasztalták ugyanezt *T. vaginalis* esetén, Narcisi és mtsai. [95] pedig a vizsgált törzsek 42,9%-a esetén 50 µg/ml feletti, 57,1%-a esetén pedig ez alatti koncentrációban tapasztalta a trofozoiták teljes eliminációját. Rouffaer és mtsai. [79] tinidazol esetén a vizsgált törzseknél teljes rezisztenciát állapítottak meg. Augostini és mtsai.

[97] *T. vaginalis* törzsek érzékenységét vizsgálták, ennek során a törzsek 2%-a bizonyult rezisztensnek, a hatékony eliminációs koncentráció pedig 1,11 µg/ml volt. Szeknidazol esetén szintén 4 µg/ml koncentrációban határoztuk meg azt a legkisebb koncentrációt, ami teljes mértékben elpusztította 24 óra alatt a trofozoitákat. Graves és mtsai. [93] 2,35 µg/ml koncentráció esetén már teljes eradikációt tapasztaltak, Ghosh és mtsai. [96] pedig már 1,6 µg/ml koncentrációt hatékonynak találtak *T. vaginalis* esetén, Augostini és mtsai. [97] a vizsgált törzsek 1%-a esetén tapasztaltak rezisztenciát, és 1,11 µg/ml koncentrációban határozták meg a teljes eradikációhoz szükséges hatóanyag mennyiségét.

A nitroimidazol hatóanyagok oldásához használt DMSO esetén elmondhatjuk, hogy annak 7%-os koncentrációja volt képes elpusztítani teljes mértékben a protozoákat 24 óra alatt, míg 3,5%-os koncentrációja szignifikánsan ($p < 0,001$) csökkentette a trofozoiták számát; az ennél kisebb hígítások azonban már nem befolyásolták a paraziták számát. Ez alapján kijelenthetjük, hogy az oldószer a hatóanyag hatékonysági tartományában nem befolyásolta az eredményünket.

Az omeprazol hatóanyag esetén kimagasló hatékonyságot tapasztaltunk, 24 óra alatt már 250 µg/ml koncentrációban képes volt teljes mértékben elpusztítani a parazitákat és egészen 31,25 µg/ml koncentrációig csökkentve szaporodásgátló hatása volt a parazitákra a kezelés során beoltott trofozoita szám alakulását tekintve. Pérez-Villanueva és mtsai. [86] *T. vaginalis* esetén 352 µg/ml koncentráció mellett tapasztaltak teljes eradikációt. Pantoprazol esetén már 1000 µg/ml koncentrációra volt szükség a teljes eradikációhoz, ezzel szemben Gökmen és mtsai. [87] *T. vaginalis* törzsek ellen már 200 µg/ml koncentrációnál hatékonynak találták a pantoprazolt, Pérez-Villanueva és mtsai. [86] *T. vaginalis* esetén szintén 200 µg/ml koncentráció esetén tapasztaltak teljes eradikációt. Rabeprazol esetén 2000 µg/ml koncentráció volt csak hatékony a paraziták teljes elpusztításához a vizsgálataink során, Pérez-Villanueva és mtsai. [86] *T. vaginalis* esetén viszont már 300 µg/ml koncentráció esetén teljes eradikációt tapasztaltak. Ezomeprazol vizsgálata során 1000 µg/ml koncentrációra volt szükség a protozoák teljes eliminálásához, ehhez képest Gökmen és mtsai. [87] *T. vaginalis* esetén már 400 µg/ml koncentrációban hatékonynak találták. A legkevésbé hatékonynak a lanzoprazol bizonyult, a teljes eradikációhoz 4000 µg/ml koncentrációra volt szükség, Pérez-Villanueva és mtsai. [86] *T. vaginalis* esetén már 300 µg/ml koncentráció hatékonynak bizonyult a paraziták ellen.

Az egyes protonpumpa-gátló hatóanyagok közötti hatékonyságban megfigyelt különbségek az eltérő molekulaszervezettel magyarázhatók, amely hatékonyságot a benzimidazol gyűrű szubsztitúciós csoportjai határozzák meg [86].

A protonpumpa-gátlók esetén omeprazol, ezomeprazol és lanzoprazol oldatba viteléhez etanolra volt szükség. A pantoprazol és rabeprazol hatóanyagok teljes mértékben vízben oldhatóak voltak. Az etanol esetén megállapíthatjuk, hogy 6% feletti koncentrációban pusztította el teljes mértékben a parazitákat 24 óra alatt, illetve 3%-os koncentrációja szignifikáns mértékű ($p < 0,001$) parazitaszám csökkenést okozott.

Összességében elmondhatjuk, hogy a továbbra is jelentős állategészségügyi és közegészségügyi problémát okozó protozoás megbetegedések kezelésében a benzimidazol szerkezetű anyagok fejlesztése ígéretes lehet. A protonpumpa-gátlók közül a leghatékonyabbnak az omeprazol, a pantoprazol és az ezomeprazol hatóanyagok bizonyultak, amelyek közül különösen kiemelkedik az omeprazol hatékonysága. A nitroimidazol hatóanyagok továbbra is kimagasló hatékonysággal működnek, azonban azt szem előtt kell tartani, hogy a *T. gallinae* elsősorban galambokban okoz problémát és mivel a galamb élelmiszertermelő állatnak számít, a hatóanyagcsoport nem alkalmazható a kezelésükben.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

A *Trichomonas gallinae* egy egysejtű obligát parazita, amely madarakat fertőz. Elsősorban a galambfélék terjesztik közös etető vagy itató használatával, illetve fiókák etetésekor begytejjel. A garat és a nyelőcső területén okoz leggyakrabban elváltozásokat, ezen felrakódások gátolhatják a madarakat az evésben, ivásban vagy akár a légvételben is, így a fertőzés potenciálisan halálos kimenetelű lehet. A *Trichomonas gallinae* gazdasági és természetvédelmi szempontból is nagy jelentőségű parazita, mert egyaránt haszonállatokat és szabadon élő madárfajokat is veszélyeztet. Kezelésére jelenleg 5-nitroimidazol származékokat használhatunk, amelyeket azonban élelmiszertermelő állatok esetén tilos alkalmazni, ezen felül pedig a kezelt nem élelmiszertermelő állatokban, például nagy értékű versenygalambokban már számos rezisztens törzset leírtak. Jelen kutatás célja volt, hogy alternatív kezelési lehetőségeket keressünk a fertőzéssel szemben.

A *Trichomonas gallinae* egysejtű parazitákat városi galambokból steril mintavevő pálcá segítségével gyűjtöttük, légcsőből. A mintákat a levételt követően 37 °C-on egy speciális táplevesben szállítottuk, majd tároltuk. 24 órás inkubációs idő után Bürker-kamra segítségével határoztuk meg az élő trofozoiták számát (db/ml). A hatóanyagok közül a ronidazol, metronidazol, szeknidazol és tinidazol esetén 14 V/V% dimetil-szulfoxidot (DMSO) tartalmazó törzsoldatot készítettünk. A protonpumpa-gátlók közül a pantoprazol és a rabeprazol hatóanyagokból desztillált vízzel készítettünk törzsoldatot, míg az omeprazol, ezomeprazol és lanzoprazol törzsoldata 24 V/V% etanolt tartalmazott.

Eredményeink alapján a ronidazol esetén 2 µg/ml hatóanyag koncentrációra volt szükség a paraziták teljes eradikációjához, amely egybe vág más szakirodalmi adatokkal. Ugyanehhez a metronidazol, tinidazol és szeknidazol hatóanyagok 4 µg/ml-es koncentrációjára volt szükség. A protonpumpa-gátló hatóanyagok közül az omeprazol volt a leghatékonyabb, amelynél 250 µg/ml koncentrációnál figyeltük meg a paraziták teljes eradikációját, míg a pantoprazol és ezomeprazol esetén ehhez 1000 µg/ml koncentrációra volt szükség. A rabeprazol jóval kevésbé bizonyult hatékonynak, ennek a hatóanyagnak 2000 µg/ml koncentrációjára volt szükség a paraziták teljes eradikációjához.

Összességében elmondhatjuk, hogy eredményeink alapján a protonpumpa-gátló hatóanyagok jó alternatív kezelési módszerei lehetnek a *Trichomonas gallinae* fertőzésnek, a benzimidazol szerkezetű anyagok fejlesztése pedig ígéretes lehetőséget ad a jövőben új, alternatív és biztonságosabb hatóanyagok előállítására és tesztelésére.

8. SUMMARY

Trichomonas gallinae is a unicellular obligate parasite that infects birds. It is spread mainly by pigeon species by the use of communal feeders or drinkers, and also by the feeding of chicks with breast milk. It most commonly causes lesions in the pharynx and oesophagus, and these deposits can prevent birds from eating, drinking or even breathing, making the infection potentially fatal. *Trichomonas gallinae* is a parasite of great economic and conservation importance, threatening both farmed and wild bird species. Currently, 5-nitroimidazole derivatives can be used for treatment, but these are prohibited in food producing animals and a number of resistant strains have been described in treated non-food producing animals such as high value racing pigeons. The aim of the present study was to look for alternative treatment options against infection.

Trichomonas gallinae unicellular parasites were collected from urban pigeons using a sterile sampling stick from trachea. After collection, samples were transported and stored in a special tap water at 37 °C. After 24 h of incubation, the number of live trophozoites (pc/ml) was determined using a Bürker chamber. For the active substances ronidazole, metronidazole, secnidazole and tinidazole, a stock solution containing 14 V/V% dimethylsulfoxide DMSO was prepared. For the proton pump inhibitors, pantoprazole and rabeprazole were prepared with distilled water, while omeprazole, esomeprazole and lansoprazole were prepared with 24 V/V% ethanol. Our results showed that a drug concentration of 2 µg/ml was required for complete eradication of parasites in the presence of ronidazole, which is in agreement with other literature data. For metronidazole, tinidazole and secnidazole, a concentration of 4 µg/ml was required. Among the proton pump inhibitors, omeprazole was the most effective, with complete eradication of parasites observed at 250 µg/ml, while pantoprazole and esomeprazole required a concentration of 1000 µg/ml. Rabeprazole proved to be much less effective, with a concentration of 2000 µg/ml required for complete eradication of parasites.

In summary, our results suggest that proton pump inhibitors may be good alternative treatments for *Trichomonas gallinae* infection, and the development of benzimidazole structured agents offers a promising opportunity for the production and testing of new, alternative and safer agents in the future.

9. IRODALOMJEGYZÉK

1. Gerwen OTV, Muzny CA (2019) Recent advances in the epidemiology, diagnosis, and management of *Trichomonas vaginalis* infection
2. Rowley J, Vander Hoorn S, Korenromp E, Low N, Unemo M, Abu-Raddad LJ, Chico RM, Smolak A, Newman L, Gottlieb S, Thwin SS, Broutet N, Taylor MM (2019) Chlamydia, gonorrhoea, trichomoniasis and syphilis: global prevalence and incidence estimates, 2016. *Bull World Health Organ* 97:548-562P. <https://doi.org/10.2471/BLT.18.228486>
3. Edwards T, Burke P, Smalley H, Hobbs G (2014) *Trichomonas vaginalis*: Clinical relevance, pathogenicity and diagnosis. *Critical Reviews in Microbiology* 1–12. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2014.958050>
4. Crucitti T, Jespers V, Mulenga C, Khondowe S, Vandepitte J, Buvé A (2011) Non-Sexual Transmission of *Trichomonas vaginalis* in Adolescent Girls Attending School in Ndola, Zambia. *PLOS ONE* 6:e16310. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0016310>
5. Arroyo R, González-Robles A, Martínez-Palomo A, Alderete JF (1993) Signalling of *Trichomonas vaginalis* for amoeboid transformation and adhesin synthesis follows cytoadherence. *Mol Microbiol* 7:299–309. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.1993.tb01121.x>
6. Figueroa-Angulo EE, Rendón-Gandarilla FJ, Puente-Rivera J, Calla-Choque JS, Cárdenas-Guerra RE, Ortega-López J, Quintas-Granados LI, Alvarez-Sánchez ME, Arroyo R (2012) The effects of environmental factors on the virulence of *Trichomonas vaginalis*. *Microbes and Infection* 14:1411–1427. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2012.09.004>
7. Schwebke JR, Burgess D (2004) Trichomoniasis. *Clin Microbiol Rev* 17:794–803. <https://doi.org/10.1128/CMR.17.4.794-803.2004>
8. Fouts AC, Kraus SJ (1980) *Trichomonas vaginalis*: Reevaluation of Its Clinical Presentation and Laboratory Diagnosis. *Journal of Infectious Diseases* 141:137–143. <https://doi.org/10.1093/infdis/141.2.137>
9. Lehker MW, Alderete JF (2000) Biology of trichomonosis: Current Opinion in Infectious Diseases 13:37–45. <https://doi.org/10.1097/00001432-200002000-00007>
10. Jackson DJ, Rakwar JP, Bwayo JJ, Kreiss JK, Moses S (1997) Urethral *Trichomonas vaginalis* infection and HIV-1 transmission. *Lancet* 350:1076. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)70456-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)70456-6)
11. Sorvillo F, Kerndt P (1998) *Trichomonas vaginalis* and amplification of HIV-1 transmission. *The Lancet* 351:213–214. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)78181-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)78181-2)
12. Cotch MF, Pastorek JG, Nugent RP, Hillier SL, Gibbs RS, Martin DH, Eschenbach DA, Edelman R, Carey CJ, Regan JA, Krohn MA, Klebanoff MA, Rao VA, Rhoads GG (1997) *Trichomonas vaginalis* Associated With Low Birth Weight and Preterm Delivery: Sexually Transmitted Diseases 24:353–360. <https://doi.org/10.1097/00007435-199707000-00008>
13. Gram IT, Macaluso M, Churchill J, Stalsberg H (1992) *Trichomonas vaginalis* (TV) and human papillomavirus (HPV) infection and the incidence of cervical intraepithelial neoplasia (CIN) grade III. *Cancer Causes Control* 3:231–236. <https://doi.org/10.1007/BF00124256>
14. Zhang Z-F, Begg CB (1994) Is *Trichomonas vaginalis* a Cause of Cervical Neoplasia? Results from a Combined Analysis of 24 Studies. *Int J Epidemiol* 23:682–690. <https://doi.org/10.1093/ije/23.4.682>
15. Grodstein F, Goldman MB, Cramer DW (1993) Relation of Tubal Infertility to History of Sexually Transmitted Diseases. *American Journal of Epidemiology* 137:577–584. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a116711>
16. Sutcliffe S, Giovannucci E, Alderete JF, Chang T-H, Gaydos CA, Zenilman JM, De Marzo AM, Willett WC, Platz EA (2006) Plasma Antibodies against *Trichomonas vaginalis* and Subsequent Risk of Prostate Cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 15:939–945. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-05-0781>
17. Stark JR, Judson G, Alderete JF, Mundodi V, Kucknoor AS, Giovannucci EL, Platz EA, Sutcliffe S, Fall K, Kurth T, Ma J, Stampfer MJ, Mucci LA (2009) Prospective Study of *Trichomonas vaginalis* Infection and Prostate Cancer Incidence and Mortality: Physicians' Health Study. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute* 101:1406–1411. <https://doi.org/10.1093/jnci/djp306>
18. Dąbrowska J, Karamon J, Kochanowski M, Sroka J, Skrzypek K, Zdybel J, Różycki M, Jabłoński A, Cencek T (2020) Tritrichomonas Foetus: A Study of Prevalence in Animal Hosts in Poland. *Pathogens* 9:203. <https://doi.org/10.3390/pathogens9030203>

19. OIE (2008) Trichomonosis. In: A Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. pp 1092-1106.
20. Hornok S (2014) Trichomonosisok. In: Protozoológia - Egysejtű élősködők. Budapest. 31-36.
21. Raab O, Greenwood S, Vanderstichel R, Gelens H (2016) A cross-sectional study of *Tritrichomonas foetus* infection in feral and shelter cats in Prince Edward Island, Canada. *The Canadian Veterinary Journal* 57:265
22. Rae DO, Crews JE (2006) *Tritrichomonas foetus*. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 22:595–611. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2006.07.001>
23. Parsonson IM, Clark BL, Dufty J (1974) THE PATHOGENESIS OF TRITRICHOMONAS FOETUS INFECTION IN THE BULL. *Australian Vet J* 50:421–423. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1974.tb06861.x>
24. Ondrak JD (2016) *Tritrichomonas foetus* Prevention and Control in Cattle. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 32:411–423. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2016.01.010>
25. BonDurant RH (1997) Pathogenesis, Diagnosis, and Management of Trichomoniasis in Cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 13:345–361. [https://doi.org/10.1016/S0749-0720\(15\)30346-7](https://doi.org/10.1016/S0749-0720(15)30346-7)
26. Parsonson IM, Clark BL, Dufty JH (1976) Early pathogenesis and pathology of *Tritrichomonas foetus* infection in virgin heifers. *Journal of Comparative Pathology* 86:59–66. [https://doi.org/10.1016/0021-9975\(76\)90028-1](https://doi.org/10.1016/0021-9975(76)90028-1)
27. Yao C (2013) Diagnosis of *Tritrichomonas foetus*-infected bulls, an ultimate approach to eradicate bovine trichomoniasis in US cattle? *Journal of Medical Microbiology* 62:1–9. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.047365-0>
28. Bernasconi Ch, Bodmer M, Doherr MG, Janett F, Thomann A, Spycher C, Iten C, Hentrich B, Gottstein B, Müller N, Frey CF (2014) *Tritrichomonas foetus*: Prevalence study in naturally mating bulls in Switzerland. *Veterinary Parasitology* 200:289–294. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.12.029>
29. Bastos BF, Almeida FM de, Brener B (2019) What is known about *Tritrichomonas foetus* infection in cats? *Rev Bras Parasitol Vet* 28:1–11. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612019005>
30. Hale S, Norris JM, Šlapeta J (2009) Prolonged resilience of *Tritrichomonas foetus* in cat faeces at ambient temperature. *Veterinary Parasitology* 166:60–65. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.07.032>
31. Gookin JL, Levy MG, Law JM, Papich MG, Poore MF, Breitschwerdt EB (2001) Experimental infection of cats with *Tritrichomonas foetus*. *ajvr* 62:1690–1697. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2001.62.1690>
32. Holliday M, Deni D, Gunn-Moore DA (2009) *Tritrichomonas foetus* infection in cats with diarrhoea in a rescue colony in Italy. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 11:131–134. <https://doi.org/10.1016/j.jfms.2008.06.004>
33. Gunn-Moore DA, McCann TM, Reed N, Simpson KE, Tennant B (2007) Prevalence of *Tritrichomonas foetus* infection in cats with diarrhoea in the UK. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 9:214–218. <https://doi.org/10.1016/j.jfms.2007.01.003>
34. Frey CF, Schild M, Hemphill A, Stünzi P, Müller N, Gottstein B, Burgener IA (2009) Intestinal *Tritrichomonas foetus* infection in cats in Switzerland detected by in vitro cultivation and PCR. *Parasitol Res* 104:783–788. <https://doi.org/10.1007/s00436-008-1255-2>
35. Okamoto S, Wakui M, Kobayashi H, Sato N, Ishida A, Tanabe M, Takeuchi T, Fukushima S, Yamada T, Ikeda Y (1998) *Trichomonas foetus* meningoencephalitis after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 21:89–91. <https://doi.org/10.1038/sj.bmt.1701032>
36. Stabler RM (1954) *Trichomonas gallinae*: A review. *Experimental Parasitology* 3:368–402. [https://doi.org/10.1016/0014-4894\(54\)90035-1](https://doi.org/10.1016/0014-4894(54)90035-1)
37. Spriggs MC, Purple KE, Gerhold RW (2020) Detection of *Trichomonas gallinae* in Wild Birds Admitted to a Rehabilitation Center, Florida, USA. *J Wildl Dis* 56:733–735. <https://doi.org/10.7589/2019-05-127>
38. Dunn JC, Thomas RC, Hipperson H, Sheehan DJ, Orsman C, Mallord J, Goodman SJ Evidence for strain-specific virulence of *Trichomonas gallinae* in African columbiformes. *Parasitology* 150:206–211. <https://doi.org/10.1017/S0031182022001652>
39. Borji H, Razmi GH, Movassaghi AH, Moghaddas E, Azad M (2011) Prevalence and pathological lesion of *Trichomonas gallinae* in pigeons of Iran. *J Parasit Dis* 35:186–189. <https://doi.org/10.1007/s12639-011-0047-2>

40. Tuska-Szalay B, Sipos G, Takács N, Kontschán J, Sándor AD, Péter Á, Berta K, Kerek Á, Jerzsele Á, Votýpka J, Hornok S (2022) Molecular epidemiological study of *Trichomonas gallinae* focusing on central and southeastern Europe. *Frontiers in Veterinary Science* 9:
41. Marx M, Reiner G, Willems H, Rocha G, Hillerich K, Masello JF, Mayr SL, Moussa S, Dunn JC, Thomas RC, Goodman SJ, Hamer KC, Metzger B, Cecere JG, Spina F, Koschkar S, Calderón L, Romeike T, Quillfeldt P (2017) High prevalence of *Trichomonas gallinae* in wild columbids across western and southern Europe. *Parasit Vectors* 10:242. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2170-0>
42. Albeshr MF, Alrefaei AF (2019) Isolation and Characterization of Novel *Trichomonas gallinae* Ribotypes Infecting Domestic and Wild Birds in Riyadh, Saudi Arabia. *avdi* 64:130–134. <https://doi.org/10.1637/0005-2086-64.2.130>
43. Alrefaei AF (2020) Molecular detection and genetic characterization of *Trichomonas gallinae* in falcons in Saudi Arabia. *PLOS ONE* 15:e0241411. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0241411>
44. Alrefaei AF, Low R, Hall N, Jardim R, Dávila A, Gerhold R, John S, Steinbiss S, Cunningham AA, Lawson B, Bell D, Tyler K (2019) Multilocus Analysis Resolves the European Finch Epidemic Strain of *Trichomonas gallinae* and Suggests Introgression from Divergent Trichomonads. *Genome Biol Evol* 11:2391–2402. <https://doi.org/10.1093/gbe/evz164>
45. Dinev I Diseases Of Poultry, A Colour Atlas
46. Wendel KA, Workowski KA (2007) Trichomoniasis: Challenges to Appropriate Management. *Clinical Infectious Diseases* 44:S123–S129. <https://doi.org/10.1086/511425>
47. Dingsdag SA, Hunter N (2018) Metronidazole: an update on metabolism, structure–cytotoxicity and resistance mechanisms. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 73:265–279. <https://doi.org/10.1093/jac/dkx351>
48. Shinn DLS (1962) METRONIDAZOLE IN ACUTE ULCERATIVE GINGIVITIS. *The Lancet* 279:1191. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(62\)92243-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(62)92243-2)
49. Jokipii AMM, Jokipii L (1980) Cerebrospinal fluid concentrations of metronidazole, tinidazole and ornidazole in rabbits. *Infection* 8:101–103. <https://doi.org/10.1007/BF01641471>
50. Heisterberg L (1984) Placental transfer of metronidazole in the first trimester of pregnancy. *Journal of Perinatal Medicine* 12:43–46. <https://doi.org/10.1515/jpme.1984.12.1.43>
51. Müller M (1983) Mode of action of metronidazole on anaerobic bacteria and protozoa. *Surgery* 93:165–171. <https://doi.org/10.5555/uri:pii:0039606083902957>
52. Edwards DI (1979) Mechanism of antimicrobial action of metronidazole. *J Antimicrob Chemother* 5:499–502. <https://doi.org/10.1093/jac/5.5.499>
53. Lamp KC, Freeman CD, Klutman NE, Lacy MK (1999) Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of the Nitroimidazole Antimicrobials: Clinical Pharmacokinetics 36:353–373. <https://doi.org/10.2165/00003088-199936050-00004>
54. Okuda M, Lin Y, Wang C, Kakiuchi T, Kikuchi S (2019) Metronidazole for *Helicobacter pylori* eradication therapy among children and adolescents in Japan: Overcoming controversies and concerns. *Helicobacter* 24:e12575. <https://doi.org/10.1111/hel.12575>
55. Kucik CJ, Martin GL, Sortor BV (2004) Common Intestinal Parasites. *afp* 69:1161–1169
56. Kissinger P (2015) *Trichomonas vaginalis*: a review of epidemiologic, clinical and treatment issues. *BMC Infectious Diseases* 15:307. <https://doi.org/10.1186/s12879-015-1055-0>
57. Gillis JC, Wiseman LR (1996) Secnidazole. *Drugs* 51:621–638. <https://doi.org/10.2165/00003495-199651040-00007>
58. Love D, Fajt VR, Hairgrove T, Jones M, Thompson JA (2017) Metronidazole for the treatment of *Trichomonas foetus* in bulls. *BMC Vet Res* 13:107. <https://doi.org/10.1186/s12917-017-0999-2>
59. Kather EJ, Marks SL, Kass PH (2007) Determination of the In Vitro Susceptibility of Feline *Trichomonas foetus* to 5 Antimicrobial Agents. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 21:966–970. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2007.tb03050.x>
60. Gookin JL, Copple CN, Papich MG, Poore MF, Stauffer SH, Birkenheuer AJ, Twedt DC, Levy MG (2006) Efficacy of Ronidazole for Treatment of Feline *Trichomonas foetus* Infection. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 20:536–543. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2006.tb02893.x>
61. Stabler RM, Mellentin RW (1953) Effect of 2-amino-5-nitrothiazole (Enheptin) and Other Drugs on *Trichomonas gallinae* Infection in the Domestic Pigeon. *The Journal of Parasitology* 39:637. <https://doi.org/10.2307/3274084>

62. Stabler RM, Schmittner SM, Harmon WM (1958) Success of Soluble 2-Amino-5-Nitrothiazole in the Treatment of Trichomoniasis in the Domestic Pigeon. *Poultry Science* 37:352–355. <https://doi.org/10.3382/ps.0580352>
63. McLoughlin DK (1966) Observations on the Treatment of *Trichomonas gallinae* in Pigeons. *Avian Diseases* 10:288. <https://doi.org/10.2307/1588274>
64. Munoz E, Castella J, Gutierrez JF (1998) In vivo and in vitro sensitivity of *Trichomonas gallinae* to some nitroimidazole drugs. *Veterinary Parasitology* 78:239–246. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(98\)00164-2](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(98)00164-2)
65. Robblee AR, Clandinin DR (1955) The Use of 2-Amino, 5-Nitrothiazole for the Induction of Molt in Yearling Hens. *Poultry Science* 34:991–995. <https://doi.org/10.3382/ps.0340991>
66. Rosado TW, Specht A, Marks SL (2007) Neurotoxicosis in 4 Cats Receiving Ronidazole. *J Vet Intern Med* 21:328–331. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2007.tb02968.x>
67. Connor TH, Stoeckel M, Evrard J, Legator MS The Contribution of Metronidazole and Two Metabolites to the Mutagenic Activity Detected in Urine of Treated Humans
68. Das Roy L, Giri S, Singh S, Giri A (2013) Effects of radiation and vitamin C treatment on metronidazole genotoxicity in mice. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 753:65–71. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2013.02.001>
69. Cavaliere A, Bacci M, Amorosi A, Del Gaudio M, Vitali R (1983) Induction of Lung Tumors and Lymphomas in BALB/c Mice by Metronidazole. *Tumori* 69:379–382. <https://doi.org/10.1177/030089168306900502>
70. Ostroskywegman P, Laresasseff I, Santiago P, Elizondo G, Montero R (1994) Metronidazole hprt mutation induction in sheep and the relationship with its elimination rate. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 307:253–259. [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(94\)90299-2](https://doi.org/10.1016/0027-5107(94)90299-2)
71. Martelli A, Allavena A, Robbiano L, Mattioli F, Brambilla G (1990) Comparison of the Sensitivity of Human and Rat Hepatocytes to the Genotoxic Effects of Metronidazole. *Pharmacology & Toxicology* 66:329–334. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0773.1990.tb00758.x>
72. Rustia M, Shubik P (1979) Experimental Induction of Hepatomas, Mammary Tumors, and Other Tumors With Metronidazole in Noninbred Sas:MRC(WI)BR Rats2. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute* 63:863–868. <https://doi.org/10.1093/jnci/63.3.863>
73. Humans IWG on the E of CR to (1987) METRONIDAZOLE (Group 2B). In: Overall Evaluations of Carcinogenicity: An Updating of IARC Monographs Volumes 1 to 42. International Agency for Research on Cancer
74. Granja RHMM, Nino AMM, Reche KVG, Giannotti FM, De Lima AC, Wanschel ACBA, Salerno AG (2013) Determination and confirmation of metronidazole, dimetridazole, ronidazole and their metabolites in bovine muscle by LC-MS/MS. *Food Additives & Contaminants: Part A* 30:970–976. <https://doi.org/10.1080/19440049.2013.787653>
75. Sobel JD, Nagappan V, Nyirjesy P (1999) Metronidazole-Resistant Vaginal Trichomoniasis — An Emerging Problem. *N Engl J Med* 341:292–293. <https://doi.org/10.1056/NEJM199907223410417>
76. Lossick JG, Miklos Muller BL, Gorrell TE (1986) In Vitro Drug Susceptibility and Doses of Metronidazole Required for Cure in Cases of Refractory Vaginal Trichomoniasis. *Journal of Infectious Diseases* 153:948–955. <https://doi.org/10.1093/infdis/153.5.948>
77. Actor P, Ziv DS, Pagano JF (1969) Resistance to Metronidazole by *Trichomonas foetus* in Hamsters Infected Intravaginally. *Science* 164:439–440. <https://doi.org/10.1126/science.164.3878.439>
78. Failure of nitro-imidazole drugs to control trichomoniasis in the racing pigeon (*Columba livia domestica*). <https://www.tandfonline.com/doi/epdf/10.1080/03079459008418665?needAccess=true&role=button>. Accessed 15 Aug 2023
79. Rouffaer LO, Adriaensen C, De Boeck C, Claerebout E, Martel A (2014) Racing Pigeons: A Reservoir for Nitro-Imidazole-Resistant *Trichomonas gallinae*. *Journal of Parasitology* 100:360–363. <https://doi.org/10.1645/13-359.1>
80. Mckeen T, Dunsmore J, Raidal S (1997) *Trichomonas gallinae* in budgerigars and columbid birds in Perth, Western Australia. *Australian Vet J* 75:652–655. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1997.tb15363.x>

81. Franssen FF, Lumeij JT (1992) In vitro nitroimidazole resistance of *Trichomonas gallinae* and successful therapy with an increased dosage of ronidazole in racing pigeons (*Columba livia domestica*). *J Vet Pharmacol Ther* 15:409–415. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.1992.tb01032.x>
82. Gómez-Muñoz MT, Gómez-Molinero MÁ, González F, Azami-Conesa I, Bailén M, García Piqueras M, Sansano-Maestre J (2022) Avian Oropharyngeal Trichomonosis: Treatment, Failures and Alternatives, a Systematic Review. *Microorganisms* 10:2297. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10112297>
83. Carvalho KP, Gadelha APR (2007) Effects of three benzimidazoles on growth, general morphology and ultrastructure of *Trichomonas foetus*. *FEMS Microbiology Letters* 275:292–300. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2007.00897.x>
84. Lacey E (1988) The role of the cytoskeletal protein, tubulin, in the mode of action and mechanism of drug resistance to benzimidazoles. *International Journal for Parasitology* 18:885–936. [https://doi.org/10.1016/0020-7519\(88\)90175-0](https://doi.org/10.1016/0020-7519(88)90175-0)
85. McCracken RO, Stillwell WH (1991) A possible biochemical mode of action for benzimidazole anthelmintics. *Int J Parasitol* 21:99–104. [https://doi.org/10.1016/0020-7519\(91\)90125-q](https://doi.org/10.1016/0020-7519(91)90125-q)
86. Pérez-Villanueva J, Romo-Mancillas A, Hernández-Campos A, Yépez-Mulia L, Hernández-Luis F, Castillo R (2011) Antiprotozoal activity of proton-pump inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 21:7351–7354. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2011.10.028>
87. Aksoy Gökmen A, GiRgiNkardeşler N, KiLiMciOğlu AA, ŞiRiN MC, ÖzbiLgiN A (2016) In vitro Susceptibility of *Trichomonas vaginalis* to Metronidazole, Ornidazole and Proton Pump Inhibitors Pantoprazole and Esomeprazole. *Mikrobiyol Bul* 50:133–139. <https://doi.org/10.5578/mb.10241>
88. Shea TA, Burburan PJ, Matubia VN, Ramcharan SS, Rosario I, Parkin DW, Stockman BJ (2014) Identification of proton-pump inhibitor drugs that inhibit *Trichomonas vaginalis* uridine nucleoside ribohydrolase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 24:1080–1084. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2014.01.014>
89. Friedman M, Tam CC, Cheng LW, Land KM (2020) Anti-trichomonad activities of different compounds from foods, marine products, and medicinal plants: a review. *BMC Complement Med Ther* 20:271. <https://doi.org/10.1186/s12906-020-03061-9>
90. Malekifard F, Tavassoli M, Alimoradi M (2021) In vitro assessment of anti-*Trichomonas* effects of *Zingiber officinale* and *Lavandula angustifolia* alcoholic extracts on *Trichomonas gallinae*. *Vet Res Forum* 12:. <https://doi.org/10.30466/vrf.2019.102620.2444>
91. Seddiek ShA, El-Shorbagy MM, Khater HF, Ali AM (2014) The antitrichomonal efficacy of garlic and metronidazole against *Trichomonas gallinae* infecting domestic pigeons. *Parasitol Res* 113:1319–1329. <https://doi.org/10.1007/s00436-014-3771-6>
92. Zimre-Grabensteiner E, Arshad N, Amin A, Hess M (2011) Genetically different clonal isolates of *Trichomonas gallinae*, obtained from the same bird, can vary in their drug susceptibility, an in vitro evidence. *Parasitology International* 60:213–215. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2011.02.003>
93. Graves KJ, Reily C, Tiwari HK, Srinivasasainagendra V, Secor WE, Novak J, Muzny CA (2023) Identification of *Trichomonas vaginalis* 5-Nitroimidazole Resistance Targets. *Pathogens* 12:692. <https://doi.org/10.3390/pathogens12050692>
94. MATINI M, MAGHSOOD A-H, MOHEBALI M, RABIEE S, FALLAH M, REZAEI S, REZAEIAN M (2016) In Vitro Susceptibility of Iranian Isolates of *Trichomonas vaginalis* to Metronidazole. *Iran J Parasitol* 11:46–51
95. Narcisi EM, Secor WE (1996) In vitro effect of tinidazole and furazolidone on metronidazole-resistant *Trichomonas vaginalis*. *Antimicrob Agents Chemother* 40:1121–1125
96. Ghosh AP, Aycock C, Schwebke JR (2018) In Vitro Study of the Susceptibility of Clinical Isolates of *Trichomonas vaginalis* to Metronidazole and Secnidazole. *Antimicrob Agents Chemother* 62:e02329-17. <https://doi.org/10.1128/AAC.02329-17>
97. Mtshali A, Ngcapu S, Govender K, Sturm AW, Moodley P, Joubert BC In Vitro Effect of 5-Nitroimidazole Drugs against *Trichomonas vaginalis* Clinical Isolates. *Microbiol Spectr* 10:e00912-22. <https://doi.org/10.1128/spectrum.00912-22>

10.KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Hálás köszönettel tartozom elsősorban témavezetőimnek, dr. Kerek Ádám és dr. Mag Patrik PhD hallgatóknak és egyetemi tanársegédeknek, a lehetőségért, a rengeteg segítségért és tanácsért, mellyel folyamatosan elláttak, nélkülük ez a TDK munka nem valósulhatott volna meg. Továbbá szeretném megköszönni dr. Jerzsele Ákos egyetemi docens, tanszékvezető, rektorhelyettes Úrnak, hogy lehetőséget biztosított, hogy bekapcsolódjak a tanszéken zajló kutatásokba.

Hálás vagyok a Gyógyszertani és Méregtani Tanszék minden munkatársának, akik amellett, hogy nagyon barátságos légkört biztosítottak, folyamatosan segítették a munkámat. Köszönöm a segítséget Pitó Andor, 11. féléves állatorvostan hallgatónak, aki segített a galambok mintavételezésében, amely elengedhetetlen feltétele volt, hogy a TDK munkám létrejöhessen.

Szeretném megköszönni a barátomnak, dr. Farkas Máté, PhD hallgatónak, az ÉTI kutató-elemző munkatársának, aki rengeteg tanáccsal látott el és sokat segített a vizualizálásban és a grafikonok megalkotásában. Továbbá köszönöm Wagner Flóra, másodéves hallgatónak, hogy segített az ábrák dizájnjának kialakításában. Végül, de nem utolsó sorban pedig hálásan köszönöm a családomnak és a barátaimnak, akik mindenben támogattak, meghallgattak és biztattak, ami mind hozzájárult ezen munka elkészüléséhez.

Az RRF-2.3.1-21-2022-00001 számú projekt a Helyreállítási és Ellenállóképességi Eszköz és Nemzeti Helyreállítási Alapból nyújtott támogatásával, az RRF-2.3.1-21 pályázati program finanszírozásában valósult meg.

Témavezetői nyilatkozat

Alulírott **Dr. Kerek Ádám**, mint témavezető nyilatkozom, hogy **Csiki Boglárka Bianka**, negyedik évfolyamos hallgató „*Trichomonas gallinae* nitroimidazol és protonpumpa-gátló hatóanyagokkal szembeni érzékenységének vizsgálata” című dolgozatát átolvastam és jóváhagytam, részvételét támogatom az Állatorvostudományi Egyetem 2023. évi Tudományos Diákköri Konferenciáján. Továbbá nyilatkozom, hogy a feltöltött TDK dolgozat plágiumellenőrzésen sikeresen átesett és az esetlegesen feltárt egyezőség az Egyetemi iránymutatásoknak/szabályoknak megfelel.

Budapest, 2023. október hó 03. nap.

.....

Dr. Kerek Ádám
témavezető