

Trichomonas vaginalis'in Metronidazol, Ornidazol ve Proton Pompa İnhibitörleri Pantoprazol ve Esomeprazole Karşı İn Vitro Duyarlılığı*

In vitro Susceptibility of *Trichomonas vaginalis* to Metronidazole, Ornidazole and Proton Pump Inhibitors Pantoprazole and Esomeprazole

Ayşegül AKSOY GÖKMEN¹, Nogay GİRİNKARDEŞLER², Ali Ahmet KİLİMCİOĞLU², Mümtaz Cem ŞİRİN³, Ahmet ÖZBİLGİN²

¹ Katip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir.

¹ Katip Çelebi University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Izmir, Turkey.

² Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı, Manisa.

² Celal Bayar University Faculty of Medicine, Department of Medical Parasitology, Manisa, Turkey

³ Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İzmir.

³ Tepecik Training and Research Hospital, Medical Microbiology Laboratory, Izmir, Turkey.

* Bu çalışmanın ilk verileri XXXV. Türk Mikrobiyoloji Kongresi (3-7 Kasım 2012, Kuşadası)'nda sunulmuş ve poster ikincilik ödülü almıştır.

Geliş Tarihi (Received): 12.05.2015 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 17.09.2015

ÖZ

Trikomoniyazın güncel tedavisinde 5-nitroimidazol türevleri kullanılmaktadır. Metronidazol, güvenilir, ucuz ve anaerobik mikroorganizmalara ve protozoonlara karşı çok etkili olmasına rağmen, *T.vaginalis* suşlarının metronidazole karşı geliştirdiği direnç, giderek artan bir sorun haline gelmektedir. Nitroimidazoller, azomisin (2-nitroimidazol) kimyasal yapısına sahip bileşikler olup, *Streptomyces* suşundan elde edilmektedir. Proton pompa inhibitörlerinin yapısındaki benzimidazol ise, antiprotozoal aktiviteye sahip diğer bileşiklerde de bulunan ortak bir yapıdır. Bu çalışmada, *T.vaginalis*'in metronidazol, ornidazol ve benzer kimyasal yapılara sahip yeni antiprotozoal ilaçlar olarak denenilen proton pompa inhibitörleri pantoprazol ve esomeprazole karşı in vitro duyarlılığı araştırılmıştır. Bu amaçla, laboratuvarımızda önceden izole edilen ve kriyoprezervasyon yapılarak saklanan klinik bir *T.vaginalis* suşu kullanılmış ve ilaçların bu suşa karşı minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) ve minimum letal konsantrasyon (MLK) değerleri, in vitro olarak 24 kuyucuklu hücre kültürü plaklarında dilüsyon yöntemiyle belirlenmiştir. Her bir kuyucuğunda triptikaz maya özütü maltoz besiyeri, at serumu ve antibiyotik (penisilin + streptomisin)

İletişim (Correspondence): Uzm. Dr. Ayşegül Aksoy Gökmen, Katip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 35100, Karabağlar, İzmir, Türkiye. Tel (Phone): +90 232 244 4444, E-posta (E-mail): aaksoygokmen@hotmail.com

işeren plaklara, metronidazol, ornidazol, pantoprazol ve esomeprazol solüsyonları 800, 400, 200, 100, 50 ve 25 µg/ml ikiye kuyucuk olacak şekilde ilave edilmiş, daha sonra her kuyucuğa 1 ml 5×10^3 *T.vaginalis* trofozoitleri eklenmiştir. Plaklar 37°C'de inkübe edilmiş ve 24, 48 ve 72. saatlerde sayma kamerasında *T.vaginalis* trofozoitlerinin canlılığı ve hareketliliği açısından ışık mikroskopunda değerlendirilmiştir. MİK ve MLK değerleri 72. saatte metronidazol/ornidazol için sırasıyla 50 µg/ml ve 100 µg/ml; pantoprazol için sırasıyla 200 µg/ml ve 400 µg/ml; esomeprazol için ise sırasıyla 400 µg/ml ve 800 µg/ml olarak saptanmıştır. Sonuç olarak, kullandığımız *T.vaginalis* suşunun metronidazol ve ornidazole duyarlı olduğu, bununla birlikte pantoprazol ve esomeprazolün de parazite etkili olan alternatif ilaçlar olarak kullanılabileceği kanısına varılmıştır. Ancak proton pompa inhibitörlerinin antiprotozoal etkileri hakkında daha ileri in vitro ve klinik çalışmaların yapılması gerektiği açıktır. Araştırmamız, ulaşılabildiği kadarıyla literatürde esomeprazolün in vitro olarak *T.vaginalis* üzerine etkisinin araştırıldığı ilk çalışmadır.

Anahtar sözcükler: *Trichomonas vaginalis*; duyarlılık; metronidazol; ornidazol; proton pompa inhibitörleri; pantoprazol; esomeprazol.

ABSTRACT

The current treatment of trichomoniasis is based on the use of 5-nitroimidazole derivatives. Although metronidazole is reliable, inexpensive and highly effective against anaerobic microorganisms and protozoa, the development of metronidazole-resistant *T.vaginalis* strains pose to an increasing problem. Nitroimidazoles are compounds having azomycin (2-nitroimidazole) chemical structure and are obtained from *Streptomyces* strains. Benzimidazole, which is found in the structure of proton pump inhibitors, is also present in the other components that have antiprotozoal activity. In this study, the in vitro susceptibility of *T.vaginalis* against metronidazole, ornidazole, and the proton pump inhibitors which are tested recently as antiprotozoal agents; pantoprazole and esomeprazole was investigated. For this purpose a clinical *T.vaginalis* strain which was formerly isolated and stored after cryopreservation process in our laboratory was used. Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum lethal concentration (MLC) values of those agents against to this strain were determined in vitro by dilution method in 24-well cell culture plates. Trypticase yeast extract maltose medium, horse serum and antibiotic (penicillin + streptomycin) were distributed to each well of cell culture plates and after metronidazole, ornidazole, pantoprazole and esomeprazole solutions were added to two wells for each as 800, 400, 200, 100, 50 and 25 µg/ml, followed by the addition of 1 ml 5×10^3 *T.vaginalis* trophozoites into each well. Plates were incubated at 37°C, and viability and motility of the trophozoites were evaluated under light microscope at 24, 48 and 72 hours after incubation. MIC and MLC values of metronidazole/ornidazole in the 72th hour were found as 50 µg/ml and 100 µg/ml, respectively. MIC and MLC values for pantoprazole in the 72th hour were 200 µg/ml and 400 µg/ml, while the values for esomeprazole were 400 µg/ml ve 800 µg/ml, respectively. As a result, *T.vaginalis* strain used in the study was susceptible to metronidazole and ornidazole, besides, it was considered that pantoprazole and esomeprazole were also effective to the parasite and could be used as alternative drugs. However, further in vitro and clinical studies are clearly needed on the antiprotozoal effects of proton pump inhibitors. To our knowledge, this study was the first in literature, which esomeprazole's susceptibility on *T.vaginalis* was investigated in vitro.

Keywords: *Trichomonas vaginalis*; susceptibility; metronidazole; ornidazole; proton pump inhibitors; pantoprazole; esomeprazole.

GİRİŞ

Trikomoniyaz, kamçılı bir protozoon olan *Trichomonas vaginalis*'in cinsel yolla bulaşmasıyla ürogenital sistemi tutması sonucu gelişen ve dünyada 250 milyona yakın insana etkileyen önemli bir paraziter enfeksiyondur^{1,2}. *T.vaginalis* ile enfekte olan kadınların

%10-50'sinde enfeksiyon asemptomatik seyreder³. *Trichomonas* taşıyıcılığının görüldüğü ve semptomatik olgularda ise çoğunlukla vajinal akıntı, vulvovajinal ağrı ve dizürinin görülebileceği bildirilmektedir¹. Erkeklerin de trikomoniyaz yönünden genellikle asemptomatik taşıyıcı oldukları bildirilmektedir⁴.

Trikomoniyazın güncel tedavisinde 5-nitroimidazol türevleri kullanılmaktadır. Metronidazol, ucuz, güvenilir ve anaerobik mikroorganizmalara ve protozoonlara karşı çok etkili olmasına rağmen, bazı *T.vaginalis* suşlarının metronidazole karşı direnç kazandığı 1962'den beri gösterilmiştir⁵. Bugüne kadar metronidazole dirençli yaklaşık 100 farklı *T.vaginalis* suşu bildirilmiştir^{6,7}. Nitroimidazoller azomisin (2-nitroimidazol) kimyasal yapısına sahip bileşikler olup, *Streptomyces* suşundan elde edilmektedir. Proton pompa inhibitörlerinin yapısındaki benzimidazol, antiprotozoal aktiviteye sahip diğer bileşiklerde de bulunan ortak bir yapıdır. Moleküler düzeyde yapılan çalışmalarla, benzimidazol çekirdeğinin 2, 5 ve 6. pozisyonlarındaki grupların antiprotozoal aktivitede önemli rol oynadığı gösterilmiştir⁸. Bu çalışmada, *T.vaginalis* izolatlarının metronidazol, ornidazol ve benzer kimyasal yapılara sahip yeni antiprotozoal ilaçlar olarak denenen proton pompa inhibitörleri pantoprazol ve esomeprazole karşı in vitro duyarlılığının araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmada, Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Laboratuvarında önceden sıvı azot içinde kriyoprezervasyon yapılarak saklanan bir klinik *T.vaginalis* suşunun, triptikaz maya özütü maltoz (trypticase yeast extract maltose; TYM) besiyerlerine ekimle ri yapıldı. Parazitin, 48-72 saatte bir TYM besiyerine pasajlanmasıyla canlılığı sürdürüldü ve 10⁸/ml yoğunluğunda tek tip *T.vaginalis* süspansiyonları elde edildi.

TYM besiyeri; 0.5 mg L-sistein HCl, 0.1 g askorbik asit, 0.4 g K₂HPO₄, 0.4 g KH₂PO₄, 10 g triptikaz, 2.5 g maltoz ve 10 g maya özütünün 300 ml distile su içinde eritilmesiyle hazırlandı. Karışımın 90 ml alınarak içine 0.25 g bacto-agar eklendi ve pH 6'ya ayarlandı. Sonrasında 120°C'de 10 dakika sterilize edilen besiyeri, ekim amacıyla kuyucuklara 1.6 ml olacak şekilde dağıtıldı. Kullanılncaya kadar +4°C'de bekletilen her besiyeri içeren kuyucuğa, kullanım öncesi 100 IU/ml streptomisin, 100 IU/ml penisilin ve toplam hacim 2 ml olacak şekilde at serumu eklendi. *T.vaginalis* suşu; TYM, antibiyotik (penisilin + streptomisin) ve at serumu içeren besiyerinde beş kez pasaj yapıldıktan sonra, pasaj antibiyotiksiz besiyerinde üç kez sürdürüldü.

Saf kültürler elde edildikten sonra metronidazol, ornidazol, pantoprazol ve esomeprazolün *T.vaginalis*'e karşı minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) ve minimum letal konsantrasyon (MLK) değerleri, in vitro olarak 24 kuyucuklu hücre kültürü plaklarında dilüsyon yöntemiyle araştırıldı. Her kuyucuğa 2 ml besiyeri (TYM + streptomisin + penisilin + at serumu) eklendi. Hücre kültürü plaklarına metronidazol, ornidazol, pantoprazol ve esomeprazol solüsyonları 800, 400, 200, 100, 50 ve 25 µg/ml ikiye kuyucuk olacak şekilde ilave edildi; daha sonra her kuyucuğa 1 ml hacminde, sayma kamarasında sayısı 5x10³/ml olan *T.vaginalis* trofozoitleri eklendi. Plaklar 37°C'de 72 saat inkübe edildi.

Üreme kontrolü için, test edilen dört ilacı da içermeyen, *T.vaginalis* eklenmiş iki kuyucuk hazırlandı. Kontaminasyon kontrolü için ise ilaçların ve *T.vaginalis*'in eklenmediği iki kuyucuk çalışıldı. Plaklar 37°C'de inkübe edilerek, 24, 48 ve 72. saatlerde sayma kamerasında *T.vaginalis* trofozoitlerinin canlılığı ve hareketliliği açısından 400x büyütme ile ışık mikroskopunda değerlendirildi. MİK değeri, *T.vaginalis* trofozoitlerinde hareketliliğin gözlenmediği en son kuyucuktaki dilüsyon olarak kabul edildi. MLK değeri ise, hareketsiz parazitlerin bulunduğu kuyucuklardan alınan trofozoitlerin canlı olmadıklarını kanıtlamak için yeni besiyeri kuyucuğuna ekilip, 24, 48 ve 72. saatlerde üreme kontrolü yapılarak tanımlandı.

BULGULAR

İn vitro duyarlılık testinde, 24. saatteki ilk değerlendirmede metronidazol ve ornidazol eklenen tüm kuyucuklarda hareketli *T.vaginalis* trofozoitlerinin olduğu saptanmıştır. Kuyucuklardaki hareketli trofozoit sayısının, azalan ilaç dilüsyonlarına paralel olarak arttığı gözlenmiştir. 48. saatte hareketli trofozoitler en son 50 µg/ml olan kuyucukta gözlenmemiş, ancak hücre bütünlüğünün sağlam olduğu ve henüz lizisin oluşmadığı saptanmıştır. Dilüsyonun 25 µg/ml olduğu son kuyucukta, 48. saatte hareketli trofozoitlerin hala mevcut olduğu gözlenmiştir. 72. saatte ise dilüsyonun 50 µg/ml olduğu kuyucukta hücre bütünlüğünün bozulduğu ve lizisin oluştuğu belirlenmiştir (Tablo I). Buna göre 72. saat sonunda metronidazol ve ornidazol için MİK 50 µg/ml, MLK 100 µg/ml olarak değerlendirilmiştir. Saptanan MLK değerlerine göre *T.vaginalis* suşu metronidazol ve ornidazole duyarlı bulunmuştur.

Pantoprazol ve esomeprazol için ilk 24 saatlik değerlendirmede, tüm ilaç konsantrasyonlarında hareketli trofozoitlerin olduğu görülmüştür. Trofozoit sayısının, ilaç konsantrasyonları azaldıkça arttığı gözlenmiştir. 48. saatte pantoprazol için 200 µg/ml ve daha

Tablo I. *T.vaginalis*'in, Test Edilen İlaç Dilüsyonlarında Farklı Sürelerdeki Hareket ve Lizis Durumu

		Metronidazol (saat)			Ornidazol (saat)			Pantoprazol (saat)			Esomeprazol (saat)		
Dilüsyon		24.	48.	72.	24.	48.	72.	24.	48.	72.	24.	48.	72.
800 µg/ml	Hareket	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
	Lizis	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+
400 µg/ml	Hareket	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
	Lizis	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+
200 µg/ml	Hareket	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+
	Lizis	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-
100 µg/ml	Hareket	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+
	Lizis	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-
50 µg/ml	Hareket	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+
	Lizis	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-
25 µg/ml	Hareket	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Lizis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(+) hareket: hareketli; (-) hareket: hareketsiz; (+) lizis: lizis var; (-) lizis: lizis yok.

üst konsantrasyonlarda, esomeprazol için 400 µg/ml ve daha üst konsantrasyonlarda 400x büyütme ile ışık mikroskopunda hareketli trofozoitler saptanmamış, hücre yapılarının düzgün olduğu ve lizisin olmadığı görülmüştür. Daha düşük ilaç konsantrasyonlarında *T.vaginalis* trofozoitlerinin hareketli olduğu gözlenmiştir. 72. saat sonunda pantoprazol için dilüsyonun en son 200 µg/ml, esomeprazol için 400 µg/ml olduğu, hücre bütünlüğünün bozulduğu ve lizisin olduğu izlenmiştir (Tablo I). Buna göre 72. saatte pantoprazol için MİK 200 µg/ml ve MLK 400 µg/ml, esomeprazol için MİK 400 µg/ml ve MLK 800 µg/ml olarak değerlendirilmiştir.

TARTIŞMA

T.vaginalis anerobik bir protozoon olup ATP üretimi hidrogenozomlarda gerçekleşir⁹. Pirüvat, pirüvat ferredoksin oksidoredüktaz (PFOR) enzimiyle Asetil-CoA'ya yükseltgenir. Bu esnada elektronlar, ferredoksin olarak bilinen Fe-S proteini adı verilen taşıyıcı tarafından yakalanır. İndirgenmiş taşıyıcı, elektronları (Fd_{red}) moleküler hidrojeni (H₂) meydana getirmek üzere H⁺lara verir ve yeniden yükseltgenir. Moleküler hidrojen üretimi, elektron alıcılar ve 5-nitroimidazollerle inhibe edilir. Nitroimidazoller, hidrojen üretimini inhibe eden antitrikomonal ilaçlardır ve bunlar arasında en sık metronidazol kullanılmaktadır¹⁰. Anaerob koşullarda nitro grubunun indirgenmesiyle aktif forma geçen metronidazol, *T.vaginalis* DNA'sına bağlanarak, baz dizilerini, dolayısıyla çift sarmal yapıyı bozar, DNA replikasyonunu ve transkripsiyonunu engeller^{9,10}.

Metronidazole dirençli *T.vaginalis* suşlarının ortaya çıkması, tedavi başarısızlığına, persistans ve tekrarlamalara neden olmaktadır¹¹⁻¹⁴. Metronidazole direnç, sıklıkla indirgeme işlevi gören nitroredüktaz enzim aktivitesinin azalması veya hücre içine antibiyotik girişinin engellenmesiyle ortaya çıkmakta ve bu iki mekanizmanın beraber bulunduğu ifade edilmektedir¹⁰⁻¹³. Antibiyotiğin aktif pompa ile dışarı atılması veya DNA'nın hızla yenilenmesinin de ilaç direncinin gelişmesine yol açabileceği öne sürülmektedir^{11,13}. Metronidazole dirençli suşların gelişmesi ve metronidazol ve ornidazolün gebelerdeki yan etkilerinin fazla olması nedeniyle, 5-nitroimidazol türevleri dışında tedavide yeni ilaçlara gereksinim duyulmaktadır¹²⁻¹⁴.

T.vaginalis pürin ve pirimidin halkalarının yeniden sentezini yapamadığından, nükleozidler konak hücreden sağlamak zorundadır ve sonrasında nükleobazları elde etmek için yeniden kazanılma yolu (salvage pathway) enzimlerini kullanır¹⁵. Nükleozidlerin metabolize edilebilmesi, bu enzimlerin aktivitesine bağlıdır. Bu nedenle yeniden kazanılma yolu enzimleri olan üridin nükleozid ribohidrolaz (UNH), tedavide kullanılan ilaçlar için potansiyel hedef olabilir. Proton pompa inhibitörlerinin yapısındaki benzimidazol, antiprotazoal aktiviteye sahip diğer bileşiklerde de bulunan ortak bir yapıdır¹⁵.

Bu çalışmada, dört farklı ilacın aksenik ortamda aerobik koşullarda kültürde üretilen *T.vaginalis* üzerindeki in vitro MİK ve MLK değerleri araştırılmıştır. MİK ve MLK değerlerine bakıldığında, metronidazol ve ornidazolün MİK 50 µg/ml, MLK 100 µg/ml değerinde, proton pompa inhibitörlerinden ise pantaprozolün MİK 200 µg/ml, MLK 400 µg/ml, esomeprazolün MİK 400 µg/ml, MLK 800 µg/ml değerinde etkili olduğu saptanmıştır (Tablo I). Yapılan bir çalışmada, 178 *T.vaginalis* suşundan 11'inde metronidazole karşı

çok düşük düzey (50 µg/ml), üçünde düşük düzey (100 µg/ml), ikisinde orta düzey (200 µg/ml) ve birinde yüksek düzey (> 200 µg/ml) direnç saptanmıştır¹⁶. Krashin ve arkadaşları¹⁷ da, 42 *T.vaginalis* suşundan ikisini dirençli (MLK > 50 µg/ml), üçünü sınır değerde dirençli (MLK= 50 µg/ml) olarak bulmuşlardır. İzmir'de bir üniversite hastanesinde yapılan çalışmada, tek suşta 24 saatte MLK değeri metronidazol için 50 µg/ml, ornidazol için ise < 50 µg/ml olarak bildirilmiştir⁷. Müller ve arkadaşları¹⁸ 199 *T.vaginalis* suşunda metronidazol için MLK > 100 µg/ml olan suşları, Meri ve arkadaşları⁶ ornidazol için > 200 µg/ml olan suşları dirençli kabul etmişlerdir. Çalışmamızda saptadığımız MLK değerlerine göre, kullandığımız *T.vaginalis* suşu metronidazol ve ornidazole duyarlı kabul edilmiştir¹⁸.

Proton pompa inhibitörleri (PPI) olan omeprazol, lansoprazol, rabeprazol ve pantoprazolün in vitro olarak *T.vaginalis*'e karşı antiprotozoal aktiviteye sahip olduğu saptanmış, özellikle rabeprazol ve pantoprazolün in vitro nanomolar düzeyinde IC₅₀ değerleri (maksimum inhibisyonun %50'sini oluşturan ilaç konsantrasyonu) ile metronidazolden daha iyi antiprotozoal olduğu bildirilmiştir⁸. Yapılan başka bir çalışmada, ABD'de "Drug Collection Library"den elde edilen 1040 bileşik test edildiğinde, omeprazol ve rabeprazolün *T.vaginalis*'in üremesini engellemede hafif ama yine de ölçülebilecek kadar etkili olduğu gösterilmiştir¹⁹. Bu çalışmalarda antiprotozoal etkinin mekanizması bilinmemekle birlikte, 2014 yılında Shea ve arkadaşları¹⁵ tarafından yapılan çalışmada olası bir mekanizmadan bahsedilmiştir. Bu araştırmacılar, UNH aktivitesindeki azalmanın parazitin urasili elde edebilmesini kısıtlayacağını ve böylece gelişme ve çoğalmasını engelleyeceğini öne sürmüşlerdir¹⁵. Ulaşılabildiği kadarıyla, literatürde PPI'nin (omeprazol, lansoprazol, rabeprazol, pantoprazol) trikomoniyaz tedavisinde kullanımıyla ilgili iki yayın^{8,15} bulunmaktadır. Bulgularımız, PPI'nin trikomoniyaz tedavisinde alternatif bir ilaç olarak kullanılabileceği fikrini desteklemektedir. Bu nedenle bu gruptaki ilaçların antiprotozoal etkileri hakkında ileri çalışmaların yapılmasının uygun olacağı düşünülmüştür. Araştırmamız, literatürde esomeprazolün in vitro olarak *T.vaginalis* üzerine etkisinin araştırıldığı ilk çalışmadır. Eso-meprazolün diğer PPI gibi *T.vaginalis* üzerine antiprotozoal aktivitesinin olduğu, ancak pantoprazole göre daha yüksek MİK ve MLK değerlerine sahip olduğu saptanmıştır.

KAYNAKLAR

1. Kissinger P. *Trichomonas vaginalis*: a review of epidemiologic, clinical and treatment issues. BMC Infect Dis 2015; 15: 307.
2. Poole DN, McClelland RS. Global epidemiology of *Trichomonas vaginalis*. Sex Transm Infect 2013; 89(6): 418-22.
3. Upcroft JA, Upcroft P. Drug susceptibility testing of anerobic protozoa. Antimicrob Agents Chemother 2001; 45(6): 1810-4.
4. Sena AC, Miller WC, Hobbs MM, et al. *Trichomonas vaginalis* infection in male sexual partners: implications for diagnosis, treatment, and prevention. Clin Infect Dis 2007; 44(1): 13-22.
5. Sobel JD, Nagappan V, Nyirjesy P. Metronidazole-resistant vaginal trichomoniosis-an emerging problem. N Engl J Med 1999; 341(4): 292-3.
6. Meri T, Jokiranta TS, Suhonen L, Meri S. Resistance of *Trichomonas vaginalis* to metronidazole: report of the first three cases from Finland and optimization of in vitro susceptibility testing under various oxygen concentrations. J Clin Microbiol 2000; 38(2): 763-7.

7. Inceboz T, Inceboz U, Öztürk S. Comparative in vitro cytotoxic effects of ornidazole, metronidazole and ciprofloxacin against *Trichomonas vaginalis* trophozoites. J Chemother 2004; 16(5): 459-62.
8. Villanueva JP, Mancillas AR, Campos AH. Antiprotozoal activity of proton-pump inhibitors. Bioorg Med Chem Lett 2011; 21(24): 7351-4.
9. Göçmen B. Anaerobik protozoonlarda (Protista) solunum ve detoksifikasyon organeli: Hidrojenozom. Türkiye Parazit Derg 2003; 27(2): 152-60.
10. Kulda J. Trichomonads, hydrogenosomes and drug resistance. Int J Parasitol 1999; 29(2): 199-212.
11. Adagu IS, Nolder D, Warhurst DC, Rossignol JF. In vitro activity of nitazoxide and related compounds against isolates of *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica* and *Trichomonas vaginalis*. J Antimicrob Chemother 2002; 49(1): 103-11.
12. Dunne RL, Dunn LA, Upcroft P, O'Donoghue PJ, Upcroft JA. Drug resistance in the sexually transmitted protozoan *Trichomonas vaginalis*. Cell Res 2003; 13(4): 239-49.
13. Cudmore SL, Delgaty KL, Hayward-McClelland SF, Petrin DP, Garber GE. Treatment of infections caused by metronidazole-resistant *Trichomonas vaginalis*. Clin Microbiol Rev 2004; 17(4): 783-93.
14. Sena AC, Bachmann LH, Hobbs MM. Persistent and recurrent *Trichomonas vaginalis* infections: epidemiology, treatment and management considerations. Expert Rev Anti Infect Ther 2014; 12(6): 673-85.
15. Shea TA, Burburan PJ, Matubia VN, et al. Identification of proton-pump inhibitor drugs that inhibit *Trichomonas vaginalis* uridine nucleoside ribohydrolase. Bioorg Med Chem Lett 2014; 24(4): 1080-4.
16. Schwebke JR, Barrientes FJ. Prevalence of *Trichomonas vaginalis* isolates with resistance to metronidazole and tinidazole. Antimicrob Agents Chemother 2006; 50(12): 4209-10.
17. Krashin JW, Koumans EH, Bradshaw-Sydnor AC, et al. *Trichomonas vaginalis* prevalence, incidence, risk factors and antibiotic-resistance in an adolescent population. Sex Transm Dis 2010; 37(7): 440-4.
18. Müller M, Lossick JG, Gorrell TE. In vitro susceptibility of *Trichomonas vaginalis* to metronidazole and treatment outcome in vaginal trichomoniasis. Sex Transm Dis 1988; 15(1): 17-24.
19. Goodhew EB, Secor WE. Drug library screening against metronidazole-sensitive and metronidazole-resistant *Trichomonas vaginalis* isolates. Sex Transm Infect 2013; 89(6): 479-84.