

아질산나트륨(sodium nitrite)이 질편모충 증식과 미세구조에 미치는 영향

류재숙*, 박중화, 민득영

한양대학교 의과대학 기생충학교실

국문초록: 이 연구에서는 방부제로 사용되는 아질산나트륨이 질편모충에 어떤 영향을 주는지 알 아보고자 *in vivo* 및 *in vitro*에서 관찰하였다. Metronidazole 감수성인 KT9 분리주 및 내성인 CDC85주의 배양배지에 아질산나트륨을 넣은 경우 10% 이하로 증식이 억제되는 농도는 KT9주에 서는 6 mM, CDC85주에서는 10 mM로 KT9 분리주가 CDC85주에 비해 아질산나트륨의 더 낮은 농도에서 증식이 억제되었다. KT9 분리주 및 CDC85주를 마우스 피하에 주사하고 마우스 체중 g 당 70 µg, 100 µg 및 130 µg의 아질산나트륨을 복강내로 주입하였을 때 농양크기가 약제를 넣지 않은 대조군에 비해 약간씩 감소하였으나 유의성은 없었다. 질편모충에 아질산나트륨을 처리하고 전자현미경으로 관찰하였을 때 약제를 넣지 않은 질편모충에 비해 공포(vacuole)수가 증가했으며, 자식성공포(autophagic vacuole)의 출현, 전자밀도가 낮은 부위(electron-translucent zone)가 관찰 되었으며, hydrogenosomal matrix의 변화와 세포막 및 핵막의 파괴가 관찰되었다. 이상의 결과로 아질산나트륨은 배양배지내에서 질편모충의 증식을 억제시키고 미세구조에 변화를 가져오나, 마우 스 질편모충 감염에 의한 농양크기를 감소시키지는 못하였다.

서 론

질편모충 감염 치료제로 metronidazole을 사용하 고 있는 것은 주지의 사실이다. 최근 여러 나라(오 스트리아, 스웨덴, 영국, 미국, 체코 등)에서 이 약 제에 내성인 질편모충 주가 보고되어 있는데 (Meingassner and Thurner, 1979; Müller *et al.*, 1980; Waitkin and Thomas, 1981; Kulda *et al.*, 1982) 국내에서는 이에 대해 연구된 바 없으며, metronidazole에 치료가 잘 안될 경우 반복치료를 하거나 장기간 부약을 시도하게 된다. 그러나 이 경우 위장장애, 두통 등 많은 부작용을 호소하게 된다.

Metronidazole이 질편모충에 작용할 때에는 hydrogenosome에서 활성화되는 것으로 알려져 있 는데(Yarlett *et al.*, 1985; Johnson, 1993) hydrogenosome은 아질산나트륨(Sodium nitrite)이

작용하는 *Clostridium*의 phosphoroclastic system 과 유사하다고 한다(Müller, 1980).

아질산나트륨은 1930년부터 cyanide 중독시 sodium thiosulfate와 병행하여 치료에 사용되어 왔 으며(Baskin *et al.*, 1992), 더 흔히 *Clostridium* sp.의 성장을 저해하기 위한 식품방부제로 사용되어 왔다. 이 약제의 *Clostridium* sp.에 대한 작용기전 에 대해서는 많은 연구가 되어있다. Payne *et al.* (1990a & b)과 Woods *et al.*(1981)은 아질산나트륨 이 직접 *Clostridium* sp.의 phosphoroclastic system의 irono-sulphur protein과 직접 작용하여 세균의 증식을 억제한다고 하였다.

아질산나트륨이 이질아메바와 말라리아 원충에서 도 세포독성이 있다고 알려져 있으며(Rockett *et al.*, 1991; Lin and Chadee, 1992) 이때의 작용기 전은 아질산나트륨이 nitric oxide를 생산하여 이것 이 직접 작용한다고 추정하였다. 그러나 질편모충에 대해서 아질산나트륨이 어떤 작용을 하는지 별로 알 려진 바가 없다.

• 논문접수 1995년 10월 21일, 게재확정 11월 13 일.

• 이 논문은 1994학년도 한양대학교 교내연구비에 의하여 연구되었음.

* 별책 요청. 저자

재료 및 방법

1. 질편모충의 배양

실험에 사용된 질편모충은 우리 나라의 질염 환자에서 분리된 KT8, KT-Kim, KT6, KT9, KT4, KT-Lee 분리주, ATCC로부터 구입한 NYH286주 및 외국에서 분리한 metronidazole 감수성인 1910주와 metronidazole 내성인 CDC85주(영국 University of Wales의 David Lloyd 교수로부터 얻음)로 Diamond의 TYM 배지(1957, pH 6.2)에서 배양하였다.

2. Metronidazole 감수성 검사

Meingassner and Thurner(1979)가 개발한 multiwell method를 수정하여 시행하였다. Flat-bottom 96 well plate에 각 well당 50 µl의 TYM 배지를 넣고 각 줄의 첫번째 well에 50 µl(250 µg/ml)의 metronidazole stock액을 넣고 multipipette으로 serial dual dilution을 하고 각 well당 early stationary phase의 질편모충 1 × 10⁴을 포함하는 150 µl의 배지를 넣는다. 각 주의 원충을 4개의 줄에 넣었는데 이중 한개의 줄에는 약제대신 TYM 배지를 넣는다. Metronidazole stock액은 TYM 배지에 2 mg/ml로 녹여서 사용하였다. 호기성 검사(aerobic test)를 위해서는 plate를 37°C 항습 항온기에 넣었고, 혐기성 검사(anaerobic test)는 anaerobic jar(Oxoid, Unipath Ltd, Hampshire, U.K.)를 사용하였는데 chamber 안에 gas generating kit(Oxoid, Unipath Ltd, Hampshire, U.K.)를 넣어 혐기성 상태로 만들었다. 24시간 후에 도립현미경으로 운동성을 확인하였고 MLC(minimal lethal concentration)는 운동성 있는 원충이 관찰되지 않는 최소의 농도로 정하였다. Müller et al(1988)의 방법에 따라 aerobic MLC의 기준은 100 µg/ml로, anaerobic MLC는 > 3.1 µg/ml로 하였으며, 이 실험의 호기성 검사에서는 CDC85를 제외한 모든 분리주들이 metronidazole에 감수성이 있었고, 혐기성 검사에서는 모든 분리주들이 metronidazole에 감수성을 보였는데 그중 앞으로의 실험에서는 metronidazole 감수성인 주로 KT9분리주(이하 감수성주)를, metronidazole 내성주로 CDC85주(이하 내성주)를 사용하였다(Table 1).

3. 아질산나트륨의 질편모충 증식 억제에 대한 효과

KT9 분리주의 경우 3.5 × 10⁴, CDC85주에서는 7.5 × 10⁴의 질편모충을 5 ml 배양 시험관내 계대하고 early log stage에 도달되는 1일후에 배지에 아질산나트륨을 4 mM, 6 mM, 8 mM, 10

Table 1. Minimal lethal concentration (MLC) of metronidazole for *T. vaginalis* isolates.

Isolates	MLC ^{a)} of Metronidazole (µg/ml)	
	Aerobic test	Anaerobic test
KT8	< 0.24	< 0.24
KT-Kim	0.98	0.24
KT6	15.6	0.487
KT9	0.125	0.125
KT4	7.8	0.24
KT-Lee	15.6	0.487
NYH 286	15.6	0.487
1910	0.487	0.487
CDC85	125	1.95

^{a)}Results are mean from 3 separate experiments.

mM 농도로 각 시험관에 넣고 37°C 항습 항온기에서 18-24시간 배양한 후에 현미경으로 운동성있는 원충수를 세었으며, 약제를 처리하지 않은 대조군의 수를 100%로 하였을 때 약제 처리한 군의 원충수의 비율을 계산하였다.

4. 마우스의 질편모충 감염에 대한 아질산나트륨의 효과

6-8주된 BALB/c 마우스의 배측 털을 제거하고 배측 피하에 KT9 및 CDC85주 질편모충 1 × 10⁶ 개를 주입하였다. 아질산나트륨을 증류수에 녹여 마우스 g당 70 µg, 100 µg 및 130 µg을 질편모충 주입직후 복강내로 주사하였다. 실험 대조군으로는 실험군과 같은 주령의 마우스로 아무 처치를 하지 않은 군, 질편모충만 주입한 군, 질편모충은 감염시키지 않고 약제만 주사한 군으로 하였다. 각 군마다 마우스는 6-7마리로 하였고 6일 후 마우스를 희생시킨 후 배측 피부를 제거하여 피하농양의 면적을 측정하였다.

5. 전자현미경 표본 제작

배양배지에서 아질산나트륨이 질편모충 형태에 어떤 영향을 미치는지 알아보기로 KT9 분리주 및 CDC85주에 대조군 수에 비해 약 50%의 원충증식을 보이는 농도인 4 mM과 6 mM을 넣었고, 또한 CDC85주에는 대조군 수에 비해 7.7%의 원충증식을 보인 9 mM을 넣어 18시간 배양한 후 원충을 모아 인산완충액으로 세척하였다. 3% glutaraldehyde로 4°C에서 2시간 고정된 후 osmium tetroxide로 실온에서 1시간 동안 후고정하였다. 알코올계로 탈수한 다음 Epon 812로 포매하고 50-70 nm두께로 절편을 만들어 uranyl acetate와 lead citrate로 염색한 다음 투과전자현미경(Hitachi H-600, Japan)으로 관찰하였다.

결 과

1. 아질산나트륨의 질편모충 증식억제 효과

질편모충 KT9 분리주에 아질산나트륨 4 mM을 넣고 18시간 배양하였을 때 약제를 넣지 않은 대조군 수의 50.7%로 증식되었고 질편모충 상태 대조군과 같이 좋았다. 그러나 6 mM, 8 mM 및 10 mM에서는 각각 6.2%, 6.1% 및 2.6%로 질편모충이 거의 증식되지 않았고 죽은 원충이 많이 관찰되었다. CDC85주의 경우 4 mM에서는 대조군수의 113.5%로 오히려 증식되었고 6 mM 및 8 mM에서는 48.1% 및 60.2%로 감소되었다가 10 mM에서는 2.7%로 증식이 억제되었다(Table 2).

2. 마우스의 질편모충에 대한 아질산나트륨의 효과

질편모충 KT9 분리주 및 CDC85주에 의한 피하 농양의 크기는 각각 $20.1 \pm 13.8 \text{ mm}^2$ 및 $15.4 \pm 9.7 \text{ mm}^2$ 로 KT9 분리주가 약간 컸으나 유의하지 않았다. KT9 분리주를 피하에 주사하고 마우스 g당 70 μg , 100 μg 및 130 μg 의 아질산나트륨을 복강내로 주입하였을 때 농양크기가 $16.1 \pm 12.8 \text{ mm}^2$, $16.6 \pm 9.9 \text{ mm}^2$ 및 $12.2 \pm 5.4 \text{ mm}^2$ 로 점차로 약간씩 감소하였으나 약제를 넣지 않은 대조군에 비해 유의하게 감소하지는 않았다. CDC85주에서도 비슷한 양상을 보여 70 μg 및 100 μg 에서는 $9.2 \pm 4.0 \text{ mm}^2$ 및 $14.2 \pm 11.7 \text{ mm}^2$ 로 약간 감소하였고 130 μg 에서는 $15.8 \pm 8.0 \text{ mm}^2$ 로 오히려 대조군보다 약간 컸다(Table 3).

3. 전자현미경적 관찰

질편모충 KT9 분리주에서는 4 mM의 아질산나트륨을 18시간 처리하였을 때 아무 처리하지 않은 정상 원충(Fig. 1)과 비교하여 핵, 골지복합체, hydrogenosome 등에서는 큰 변화가 관찰되지 않았으나, 여러 크기의 균열(fissure)이 세포질에서 관찰되고 공포수가 증가되었으며 또한 정상 질편모충의 세포질에서 관찰되는 단일 라이보솜이나 폴리솜이 없는 전자밀도가 낮은 부위(electron translucent zone, ETZ)가 자주 관찰되었다(Fig. 2).

CDC85주에서는 6 mM의 아질산나트륨을 처리하였을 때 정상 원충에 비해(Fig. 3) 공포숫자 및 크기가 증가하며 세포질내에 큰 균열이 많이 관찰되었다(Fig. 4). 광학현미경으로 죽은 원충이 많이 관찰되는 9 mM 아질산나트륨을 처리하였을 때 공처럼 부풀어져있는 원충이 관찰되기도 하였는데 이 원충의 주변부 세포질은 라이보솜이나 폴리솜으로 구성된 넓은 기질층이 있었다(Fig. 5). 또한 자식성 공포(autophagic vacuole)가 자주 관찰되었으며,

Table 2. Effect of sodium nitrite on metronidazole-sensitive KT9 isolate and metronidazole-resistant CDC85 strain of *T. vaginalis* survival in culture medium.

Concentration of NaNO ₂ (mM)	Cell yield (% of control) ^{a)}	
	KT9	CDC85
4	50.7±8.4 ^{b)}	113.5±25.02
6	6.2±5.3 ^{b)}	48.1±9.1 ^{b)}
8	6.1±4.9 ^{b)}	60.2±11.7 ^{b)}
10	2.6±2.9 ^{b)}	2.7±2.4 ^{b)}

^{a)}Results represent mean ± SD from 3 separate experiments. ^{b)}P < 0.05, compared with untreated control

Table 3. Effect of sodium nitrite against subcutaneous infection with metronidazole-sensitive KT9 isolate and metronidazole-resistant CDC85 strain of *T. vaginalis* in mice.

sodium nitrite ($\mu\text{g/g}$ body weight)	Abscess size (mm ²) ^{a)}	
	KT9	CDC85
untreated control	20.1±13.8	15.4± 9.7
70	16.1±12.8	9.2± 4.0
100	16.6± 9.9	14.2±11.7
130	12.2± 5.4	15.8±8.0

^{a)}Results represent mean ± SD from 3 separate experiments.

대부분의 hydrogenosome은 전자밀도가 균일하지 않고 몸체 일부분의 전자밀도가 높게 변화되어 있는 것이 관찰되었는데 일부의 hydrogenosome 막이 파괴되었으며 KT9 분리주에서와 같이 ETZ가 자주 관찰되었다(Fig. 6). 때로는 세포기질에 소용돌이 모양(whirl-like)의 균열이 관찰되었으며(Fig. 7) 약제의 영향을 더 많이 받은 경우 핵막 및 세포막이 부분적으로 또는 완전히 파괴되고 핵질이 소실되어 전자밀도가 낮아졌으며 또한 세포질에도 골지복합체, 라이보솜, 당과립 등이 소실되어 전자밀도가 낮았으며 공포가 관찰되었다(Fig. 8).

고 찰

Metronidazole은 질편모충을 포함한 람블편모충, 이질아메바 등의 혐기성 원충(anaerobic protozoa) 및 세균에 의한 감염의 치료에 30년간 사용되어 왔으나 내성 질편모충이 분리 보고되었으며

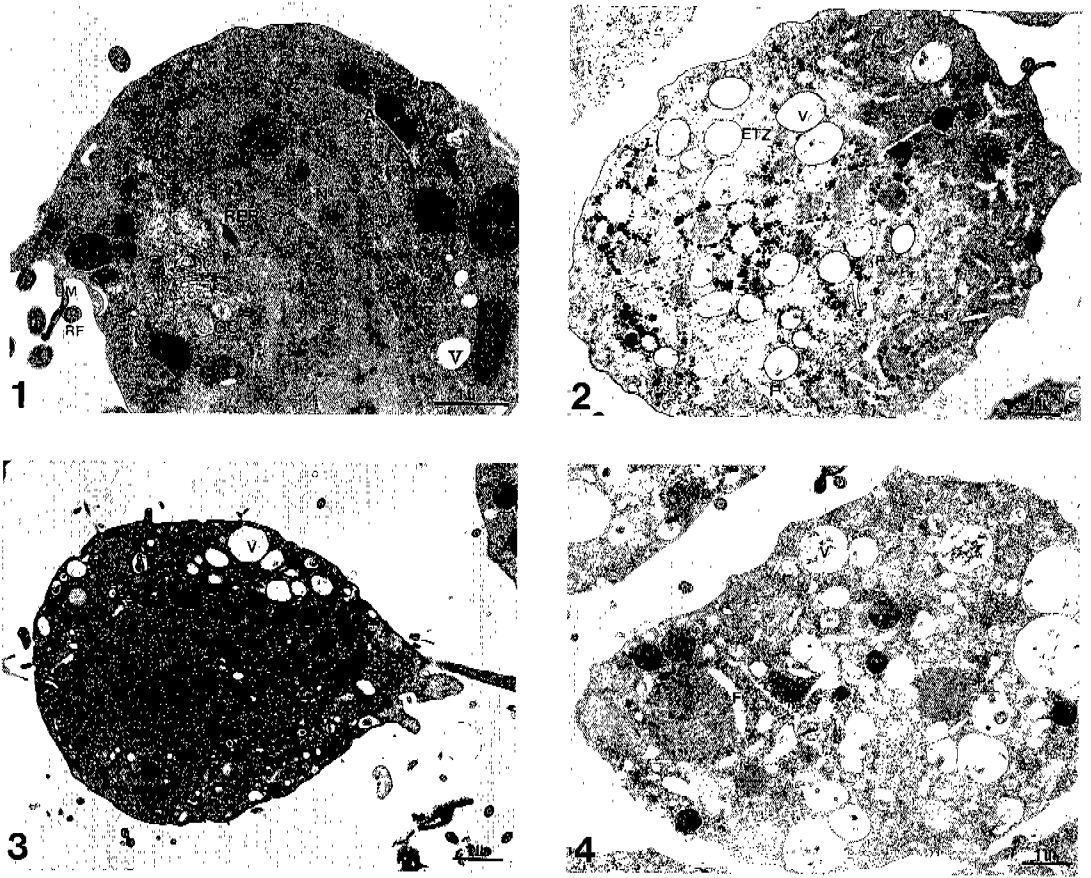


Fig. 1. A normal *T. vaginalis* KT9 with a nucleus, hydrogenosomes, Golgi complex and vacuoles are present ($\times 12,000$). **Fig. 2.** *T. vaginalis* KT9 treated with 4 mM NaNO_2 . Many vacuoles, fissions and electron-translucent zone (ETZ) are present ($\times 8,000$). **Fig. 3.** Normal *T. vaginalis* CDC85 ($\times 8,000$). **Fig. 4.** *T. vaginalis* CDC85 treated with 6 mM NaNO_2 . Many fissions and vacuoles are illustrated ($\times 8,000$).

(Meingassner and Thurner, 1979; Müller, 1980; Waitkin and Thomas, 1981), metronidazole 치료 실패율이 높지 않더라도 질염 모종의 높은 감염률을 감안할때 내성 질염모종에 의한 감염이 점차 증가되고 있다(Johnson, 1993). 또한 metronidazole을 장기간 과량 사용한 실험동물에서는 증상이 잘 생기며, 세균에서는 돌연변이를 유발할 수 있으므로(Rosenkranz and Speck, 1975; Legator et al., 1975) 새로운 약제 개발이 필요한 실정이다.

이 실험에서는 시험관내 아질산나트륨의 질염모종에 대한 세포독성을 관찰하였을 때 감수성 KT9 분리주가 내성 CDC85주 보다 더 예민하여 낮은 농도에서 증식이 억제되었다. 다른 원충에 대해서도 아질산나트륨이 독성작용이 있다고 하는데 Lin and Chadee(1992)는 이질아메바의 경우 20 mM에서 대조군에 비해 약 50% 내외의 아메바 살상작용이

있으며, NO의 scavenger인 myoglobin을 첨가하면 nitrite의 작용이 상쇄되므로 NO가 중요한 작용을 한다고 하며 또한 배양조건과 pH가 영향을 준다고 보고하였다. Rockett et al.(1991)도 열대열원충에서는 50% 증식이 억제되는 농도가 11 mM이라고 하였다. 이 실험에서 KT9 분리주에서는 6 mM, CDC85주에서는 10 mM에서 각각 6.2% 및 2.7%의 증식을 보여 이질아메바와 열대열원충보다 더 낮은 농도에서 질염모종 증식이 억제되었으나 그 이유에 대해서는 앞으로 좀 더 추구해야 될것이다. 아질산나트륨은 진균에 대해서도 독성이 있는데 Alsbaugh and Granger(1991)는 *Cryptococcus neoformans*에 대한 아질산나트륨은 증식 억제작용이 pH에 의존되며 pH 4에서는 증식이 억제되나 pH 5나 pH 6에서는 억제되지 않는다고 하였는데 이것은 산성조건하의 아질산나트륨은 NO를 생산하고 중성조건하에서는 NO를 생산하지 않는 것과 관

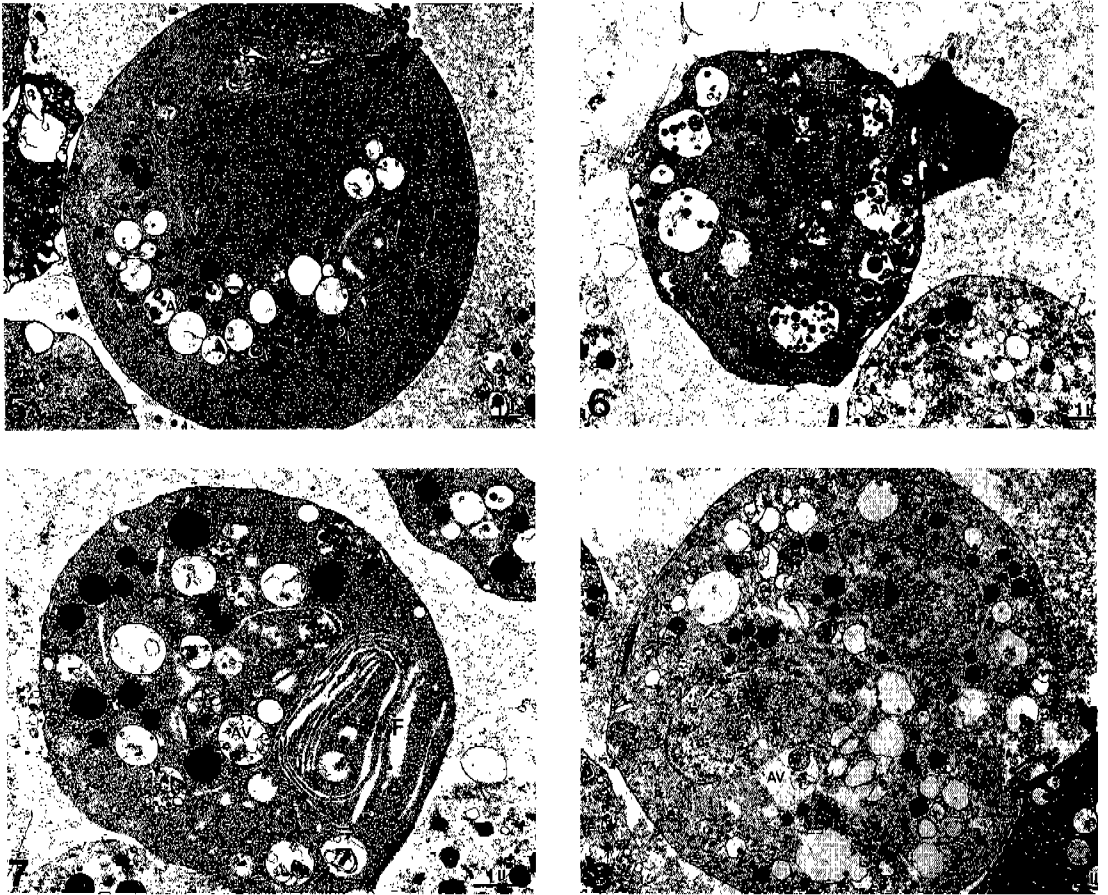


Fig. 5-Fig. 8. *T. vaginalis* CDC85 treated with 9 mM NaNO₂. **Fig. 5.** Ball-like trophozoite. Autophagic vacuoles and cytoplasmic matrix are widely present (\times 5,000). **Fig. 6.** Alteration of electron density of hydrogenosomal matrix and autophagic vacuoles are illustrated (\times 8,000). **Fig. 7.** Whirl-like fissure and many vacuoles are observed (\times 8,000). **Fig. 8.** Disrupted plasma membrane (arrow) and many autophagic vacuoles are illustrated (\times 5,000). A, axostyle; AV, autophagic vacuole; ETZ, electron-translucent zone; F, fissure; GC, Golgi complex; GV, Golgi vesicle; HG, hydrogenosome; M, cytoplasmic matrix; N, nucleus; RER, rough endoplasmic reticulum; RF, recurrent flagellum; UM, undulating membrane; V, vacuole; VE, vesicle.

런된다고 하였다. 이 실험에서는 아질산나트륨을 pH 6.2인 질편모충 배지에 넣었는데 앞으로의 실험에서 질편모충 성장에 지장을 주지 않는 산성배지에서 실험을 하면 더 낮은 아질산나트륨 농도에서 원충증식이 억제되리라고 생각된다.

실험동물인 마우스에서 질편모충 감염에 대한 약제의 효과를 관찰하기위해 원충을 피하나 복강으로 감염시키는 방법이 이용되는데(Meingassner and Thurner, 1979; Meingassner et al., 1978) Meingassner et al.(1978)은 질편모충의 피하감염은 병원성여부를 모르는 경우 복강감염보다 관찰이 용이하다는 장점이 있으나 복강감염이 더 신뢰성있다고 하였다. 이 실험에서는 아질산나트륨을 구강

내로 주입한 경우에는 질편모충에 의한 농양감소 효과가 전혀 없었으므로 복강으로 주사하였는데 아질산나트륨을 마우스 복강 내로 주입시 LD₅₀가 보고자에 따라 159-200 mg/kg 등(Paulet, 1961; Smith and Layne, 1969)으로 약간의 차이가 있어, 예비실험에서는 최대용량을 160 μ g/g으로 주사하였는데 모두 1시간 이내에 죽었으므로 낮은 농도인 마우스 체중 g당 70 μ g, 100 μ g, 130 μ g을 복강내로 주입하였다. 감수성인 KT9 분리주는 약제의 농도에 따라 농양의 크기가 약간 감소되었으나, 내성 CDC85주는 별로 감소되지 않았으므로 다음 실험에서는 NO를 생산하는 산성화된 아질산나트륨으로 시도해 보며 또한 질편모충을 복강내로 감염시켜 효

과를 측정해 보아야 할 것이다.

아질산나트륨을 *Clostridium*에 작용시킬때 활성부위인 phosphoroclastic system은 metronidazole의 질편모충에서의 작용부위인 hydrogenosome과 유사하다고 하므로(Müller, 1980) 아질산나트륨을 질편모충에 작용시킬때 hydrogenosome에 변화가 예상되는데, Ryu and Lloyd(1995)는 아질산나트륨을 질편모충에 작용시켰을때 hydrogenosomal 효소인 pyruvate: ferredoxin oxidoreductase, hydrogenase 활성이 억제되었다고 하였다. 아질산나트륨에 의한 질편모충 형태의 변화가 예상되나 이에 대한 연구가 없으므로 이 실험에서 아질산나트륨에 의한 질편모충 미세구조의 변화를 관찰하였다. 50%의 증식을 억제시키는 아질산나트륨 농도에서는 hydrogenosome에 별 변화가 없었고 농도를 높였을때 hydrogenosomal matrix의 전자밀도가 부분적으로 높게 변화되어 있거나 일부의 hydrogenosome은 막이 손상되어 이 기관에 작용하였으리라 추측되었다. 이런 hydrogenosome의 형태변화는 tinidazole을 처리한 질편모충의 hydrogenosomal matrix가 희석화(rarefaction)된 것(Carosi et al 1977)과는 다른 소견을 보여 이런 변화가 단순한 살충 후의 변화인지 아니면 약제 특이 소견인지에 대해서는 좀 더 연구되어야 된다. 또한 약제를 작용하였을때 hydrogenosome 이외에 세포질에도 변화가 관찰되었다. 큰 균열과 공포수가 증가되었으며, 자식성공포가 관찰되고 세포 기질이 확장되었다. 단일 라이보솜이나 폴리솜이 없는 전자밀도가 낮은부위(ETZ)가 관찰되므로 단백질 합성에 영향을 주었으리라 추측되나 아질산나트륨이 질편모충의 대사에 어떤 영향을 주어 이런 변화가 일어나는지에 대해서 연구되어야 할 것이다.

참고문헌

Alspaugh JA, Granger DL (1991) Inhibition of *Cryptococcus neoformans* replication by nitrogen oxides supports the role of these molecules as effectors of macrophage-mediated cytostasis. *Infect Immun* **59**(7): 2291-2296.

Baskin SI, Horowitz AM, Nealley EW (1992) The antidotal action of sodium nitrite and sodium thiosulfate against cyanide poisoning. *J Clin Pharmacol* **32**(4): 368-375.

Carosi G, Filice G, Suter F, Dei Cas A (1977) *Trichomonas vaginalis*: Effect of tinidazole on ultrastructure in Vitro. *Exp Parasitol* **43**: 315-325.

Diamond L (1957) The establishment of various trichomonads of animals and man in axenic cultures. *J Parasitol* **43**: 488-490.

Johnson PJ (1993) Metronidazole and drug resistance. *Parasitol Today* **9**: 183-186.

Kulda J, Vojtechovska M, Tachezy J, Demes P, Kunzova E (1982) Metronidazole resistance of *Trichomonas vaginalis* as a cause of treatment failure in trichomoniasis. *Br J Vener Dis* **58**: 394-399.

Legator MS, Connor TH, Stoeckel M (1975) Detection of mutagenic activity of metronidazole and niridazole in body fluids of humans and mice. *Science* **188**: 118-119.

Lin JY, Chadee K (1992) Macrophage cytotoxicity against *Entamoeba histolytica* trophozoites is mediated by nitric oxide from L-arginine. *J Immunol* **148**: 3999-4005.

Meingassner JG, Havelec L, Mieth H (1978) Studies on strain sensitivity of *Trichomonas vaginalis* to metronidazole. *Br J Vener Dis* **54**: 72-76.

Meingassner JG, Thurner J (1979) Strain of *Trichomonas vaginalis* resistant to metronidazole and other 5-nitroimidazoles. *Antimicrob Agents Chemother* **15**(2): 254-257.

Müller M (1980) The hydrogenosome. The Eukaryotic cell (Gooday G, Trinici AP & Lloyd D. eds). *Symposia Soc General Microbiol* **30**: 127-142. Cambridge University Press.

Müller M, Lossick JG, Gorrell TE (1988) In vitro susceptibility of *Trichomonas vaginalis* to metronidazole and treatment outcome in vaginal trichomoniasis. *Sex Transm Dis* **15**(1): 17-24.

Müller M, Meingassner J, Miller WA, Ledger WJ (1980) Three metronidazole-resistant strains of *Trichomonas vaginalis* from the United States. *Am J Obstet Gynecol* **138**: 808-812.

Paulet G (1961) New perspectives in the treatment of cyanide intoxication. *Arch Mal Prof* **22**: 120-127.(in French)

Payne MJ, Woods LFJ, Gibbs P, Cammack R (1990a) Electron paramagnetic resonance spectroscopic investigation of the inhibition of the phosphoroclastic system of *Clostridium sporogenes* by nitrite. *J General Microbiol* **136**: 2067-2076.

Payne MJ, Glidewell C, Cammack R (1990b) Interactions of iron-thiol-nitrosyl compounds with the phosphoroclastic system of *Clostridium sporogenes*. *J General Microbiol* **136**: 2077-2087.

Rockett KA, Awburn MM, Cowden WB, Clark IA (1991) Killing of *Plasmodium falciparum* in vitro by nitric oxide derivatives. *Infect Immun* **59**(9): 3280-3283.

- Rosenkranz HS, Speck WT (1975) Mutagenicity of metronidazole: activation by mammalian liver microsomes. *Biochem Biophys Res Commun* **66**: 520-525.
- Ryu JS, Lloyd D (1995) Cell cytotoxicity of sodium nitrite, sodium nitroprusside and Roussin's black salt against *Trichomonas vaginalis*. *FEMS Microbiol Lett* **130**: 183-188.
- Smith RP, Layne WR (1969) A comparison of the lethal effects of nitrite and hydroxylamine in the mouse. *J Pharmacol Exp Ther* **165**: 30-34.
- Waitkins S, Thomas DJ (1981) Isolation of *Trichomonas vaginalis* resistant to metronidazole. *Lancet* **ii**: 590.
- Woods LFJ, Wood, Gibbs PA (1981) The involvement of nitric oxide in the inhibition of the phosphoroclastic system in *Clostridium sporogenes* by sodium nitrite. *J General Microbiol* **125**: 399-406.
- Yarlett N, Gorrell TE, Marczak R, Müller M (1985) Reduction of nitroimidazole derivatives by hydrogenosomal extracts of *Trichomonas vaginalis*. *Mol Biochem Parasitol* **14**: 29-40.

=Abstract=

Effect of sodium nitrite on *Trichomonas vaginalis*

Jae-Sook RYU*, Joong-Wha PARK and Duk-Young MIN

Department of Parasitology, College of Medicine, Hanyang University Seoul 133-791, Korea

We have investigated the action of sodium nitrite on the growth and morphologic changes of *T. vaginalis* and on the treatment of subcutaneous abscess by trichomonad in mice. Sodium nitrite inhibited the growth of metronidazole-sensitive KT9 isolate and metronidazole-resistant CDC85 strain of *T. vaginalis* as concentration of 6 mM and 10 mM, respectively. Intraperitoneal injection of sodium nitrite (70 μ g, 100 μ g, 130 μ g/g body weight) did not reduce the size of abscess produced by subcutaneous inoculation of *T. vaginalis* in mice. *T. vaginalis*, treated with sodium nitrite at concentration giving about 50% inhibition of growth, showed fissures, many vacuoles and electron-translucent zone in the cytoplasm by transmission electron microscopy. In the case of CDC85 treated with 9 mM sodium nitrite, hydrogenosomal matrical change, destruction of hydrogenosomal membrane, autophagic vacuoles, disappearance of Golgi complex and polysome were notably observed. With above results, it is assumed that sodium nitrite inhibits the growth of metronidazole-sensitive and — resistant strains of *T. vaginalis* and induces the morphological changes of *T. vaginalis* although it does not affect in reducing of abscess size by *T. vaginalis* in mice.

Key words: *Trichomonas vaginalis*, metronidazole-sensitive KT9 isolate, metronidazole-resistant CDC85 strain, sodium nitrite

[**Korean J. Parasitol.** 33(4): 349-356, December 1995]

*Corresponding author