

호흡기질환 환자에서 분리한 *Mycoplasma pneumoniae*의 Quinolone계와 Macrolide계 항생물질에 대한 다제 저항성

전성곤 · 장명웅*

고신대학교 의과대학 미생물학교실

Received February 15, 2007 / Accepted March 15, 2007

Multi-drug Resistance of *Mycoplasma pneumoniae* Isolates from Patients with Respiratory Diseases against Quinolone and Macrolide. Sung-Gon Jun and Myung-Woong Chang*. *Department of Microbiology, Kosin University College of Medicine, Busan, Korea.* – Antimicrobial susceptibility test of the 116 strains of *Mycoplasma pneumoniae* isolates were performed by a broth micro-dilution method against to moxifloxacin, levofloxacin, sparfloxacin, ofloxacin, ciprofloxacin, clarithromycin, minocycline, erythromycin, josamycin, and tetracycline. The initial-minimum inhibitory concentration (I-MIC) was evaluated as the lowest concentration of antimicrobial agents that prevented a color change in the medium at that time when the drug-free growth control, about 7 days after incubation, and the final-minimum inhibitory concentration (F-MIC) was defined a color change about 14 days after incubation. The evaluation to the drug-resistant *M. pneumoniae* isolates were determined the $MIC \geq 1.0 \mu\text{g/ml}$ of each antimicrobial agent. According to the I-MIC, single drug-resistant *M. pneumoniae* strains to ciprofloxacin, ofloxacin, clarithromycin and erythromycin were 79.3, 53.5, 10.3, and 7.8%, respectively. Two kinds of drug-resistant *M. pneumoniae* strains to ofloxacin and ciprofloxacin, or ciprofloxacin and clarithromycin were 42.2 and 9.5%. Three kinds of drug-resistant *M. pneumoniae* strains to erythromycin, ofloxacin, and ciprofloxacin, or ofloxacin, ciprofloxacin and clarithromycin were 6.9 and 6.0%. According to the F-MIC, single drug-resistant *M. pneumoniae* strains to tetracycline, ciprofloxacin, ofloxacin, minocycline, erythromycin, josamycin, clarithromycin and sparfloxacin were 91.4, 91.4, 91.4, 89.7, 68.1, 52.6, 28.5, and 11.2%, respectively. The incidence of two kinds of drug-resistant *M. pneumoniae* strains were from 20.7% to 91.4%, three kinds of drug-resistant *M. pneumoniae* strains were from 28.5% to 89.7%, four kinds of drug-resistant *M. pneumoniae* strains were 2.6%, five kinds of drug-resistant *M. pneumoniae* strains were from 2.6% to 21.6%, six kinds of drug-resistant *M. pneumoniae* strains were from 0.9% to 24.1%, seven kinds of drug-resistant *M. pneumoniae* strains were from 0.9% to 2.6%, and eight kinds of drug-resistant *M. pneumoniae* strains were 1.7%. These results suggest that sparfloxacin, moxifloxacin and levofloxacin might be promising antimicrobial agents for the treatment of *M. pneumoniae* infection in Korea. However, most strains of *M. pneumoniae* isolates were single or multi-resistance pattern to the other tested antimicrobial agents. Therefore, tetracycline, minocycline, erythromycin, clarithromycin, and second-generation quinolones are more carefully used to patients with *M. pneumoniae* infection in Korea.

Key words – *Mycoplasma pneumoniae*, Multi-Drug Resistance, Quinolone, Macrolide

서 론

마이코플라스마는 인공배지에서 자기증식을 할 수 있는 가장 작은 세균으로 일반 세균과는 달리 세포벽이 없으므로 형태가 일정치 않은 다형태성이며[16], penicillin 계와 같은 세균의 세포벽합성을 저해하는 항생물질에는 강한 저항성을 나타내지만, tetracycline이나 macrolides계의 항생물질에는 감수성이다[2,3,27]. 그러므로 *M. pneumoniae* 감염에 의한 원발성 이형폐렴의 치료에는 이들 항생물질이 이용되어 왔다 [16,27,30]. 그러나 1974년에 tetracycline에 저항성인 유레아

플라스마가 분리된[11] 이후 tetracycline에 저항성인 마이코플라스마도 분리 되었으며[24,26], 한편, tetracycline은 소아 특히 신생아나 유아에서 설사, 대천문의 팽윤, 뼈의 발육장애, 황치 등의 부작용이 있으므로[13] tetracycline계열의 약제보다는 erythromycin, clarithromycin 등의 macrolide계열이나 quinolone 계열의 약제를 사용하는 것이 일반적이었다 [18,20,27,30]. 국내에서도 tetracycline에 저항성인 *M. hominis*, *U. urealyticum* 균주가 Park 등[22]에 의하여 분리 보고 되었으며, 1995년 Chang 등[5]은 폐렴 환자에서 분리된 *M. pneumoniae* 균주의 6%가 tetracycline에 저항성이었으나, erythromycin에 저항성인 *M. pneumoniae* 균주는 분리되지 않았다고 보고 하였다. 그러나 최근에 외국에서 erythromycin에 저항성인 *M. pneumoniae*가 분리보고 되고 있으며[23,29],

*Corresponding author

Tel : +82-51-990-6421, Fax : +82-51-990-3081

E-mail : mchang@ns.kosinmed.or.kr

일본에서도 *M. pneumoniae* 균주의 20%가 erythromycin에 저항성이었다고 보고 되었고[17,19,21], 국내에서도 2002년도 이후에 분리된 *M. pneumoniae* 균주 중에서 erythromycin이나 tetracycline에 저항성인 균이 40% 이상이었다고 보고 되었다[8].

최근에 erythromycin이나 macrolides계 항생제에 저항성인 *M. pneumoniae* 균주에 의한 감염증의 치료에는 clarithromycin, azithromycin, ciprofloxacin, sparfloxacin, moxifloxacin, levofloxacin 등이 많이 이용되고 있으나[8,12,26], 국내에서 분리된 erythromycin이나 tetracycline에 저항성인 *M. pneumoniae* 균주에 대한 이 항생제들의 감수성 여부와 이 약제들에 대한 다제 저항성에 관한 연구 보고는 찾아보기 어렵다.

이에 본 연구에서는 호흡기질환 환자에서 분리된 *M. pneumoniae* 균주의 quinolone 계와 macrolides계 항생제에 대한 감수성 검사를 실시하고, 이들 약제에 대한 *M. pneumoniae*의 다제내성 양상을 밝힘으로서 *M. pneumoniae*에 의한 감염증에 적절한 치료제의 선택을 위한 기초 자료를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

사용균주

부산시내 종합병원 3곳의 내과와 소아과 및 소아과 의원과 가정의학과 의원 3곳에 내원하는 호흡기 질환자의 상기도도말물로부터 *M. pneumoniae*로 분리 동정된 116 균주와 *M. pneumoniae* (ATCC 29342) 표준균주를 사용하였다[5,6].

사용된 항생물질

항생물질은 sparfloxacin (SF; Cheil Food & Chem. Co., Seoul), ofloxacin (OF; Cheil Food & Chem. Co., Seoul), ciprofloxacin (CF; Bayer Korea), moxifloxacin (MF; Bayer Korea), levofloxacin (LF; Jeil Pharm. Co, Seoul), clarithromycin (CM; Daiichi Pharm. Co., Korea), erythromycin (EM; Sigma, USA), tetracycline (TC; Sigma, USA), minocycline (MC; Cheil Food & Chem. Cd., Seoul), josamycin (JM; Yamaguchi Pharm. Co., Tokyo)를 사용하였다.

분리된 *Mycoplasma pneumoniae* 균주의 각 항생물질에 대한 감수성 검사

환자로부터 분리 동정된 *M. pneumoniae* 116 균주를 각각 10 ml의 Chanock's glucose 배지에 3 일간 배양하여 균수가 1x10⁶ (Color Changing Unit (CCU)/ml)되도록 조정 한 후에 각 농도의 항생물질이 함유된 배지 2.0 ml에 각각의 균액 20 µl씩을 접종하여 2 주간 균의 증식 유무를 배지의 색깔 변화에 따라 육안적으로 확인하였다. Clarithromycin과 levo-

floxacin은 각 배지에는 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.12, 1.56, 0.78, 0.39, 0.19, 0.09 µg/ml 되도록 첨가하였다. Erythromycin, tetracycline, minocycline, josamycin, moxifloxacin, sparfloxacin, ciprofloxacin, ofloxacin 각 배지에 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0.5, 0.25, 0.125, 0.06, 0.03 µg/ml 되도록 첨가하였다. 각 항생물질의 최저발육저지농도(minimum inhibitory concentration: MIC)의 판정은 항생물질이 들어있지 않는 대조군 계열에서 균의 증식이 확인된 시기(배양 7일 전후)에 항생물질 희석 계열에서 균의 증식이 억제되는 최저 항생물질 농도를 초기 MIC(I-MIC)로 판정하였다. 이후 1주일간 관찰하여 더 이상 균의 증식이 일어나지 않은 농도를 최종 MIC (F-MIC)로 판정하였다[14,25,30]. 각 항생물질에 대한 저항성의 기준은 MIC ≥ 1.0 µg/ml 이상으로 하여 각 균주의 다제 저항성 유무를 검토하였다.

PCR 법에 의한 tetM과 erythromycin 저항성 변이 균주의 확인 방법

국내에서 분리한 *M. pneumoniae* 123 균주를 Chanock's glucose 배지 5 ml에 배양한 후 12,000 rpm으로 15 분간 원심한 다음 인산완충액(PBS)으로 2번 세척하였다. 침전물의 최종 부피를 50 µl로 조정하여 110°C에서 10 분간 가열한 후 12,000 rpm으로 15 분간 원심하여 그 상층액을 PCR 반응의 template로 사용하였다. Template DNA가 들어 있는 용액에 Taq polymerase (TaKaRa Taq, Japan)와 10X PCR buffer, deoxyribonucleotide triphosphates, 1.5 mM MgCl₂를 첨가하고, 해당 primer를 각각 가한 후 MiniCycler (MJ research, USA)에서 반응 시켰다(Table 1). 먼저 94°C 10 분간 전 처리한 후 94°C에서 1 분, 60°C(erythromycin 저항성 균은 55°C)에서 1분, 72°C에서 1 분의 시간으로 40회 반복 반응시키고

Table 1. Oligonucleotides used in this study

Primer and name	Primer sequence(5'-3')	Size (bp)
tetM		
tet-F	CAGTATGAGAGCTCGGTTTC	508
tet-R	TCCGACTATTTGGACGACGG	
23S rRNA domain II		
Mp23S II-F	CGTGCCTTTTGAAGTATGAG	327
Mp23S II-R	TGGCGCCATCATAATTCAG	
23S rRNA domain V		
MP23S V-F	TAATAAACCAGTCTAAGG	852
Mp23S V-R	ACACTTAGATGCTTTCAGCG	
Ribosomal protein L4		
MPL4-F	GAACCAAGTAAACTAAGCCC	420
MPL4-R	TTTGTCCAAGAGCTTGGCAC	
Ribosomal protein L22		
MPL22-F	CCGTGTGAGAATCTCACCCC	404
MPL22-R	CTGCTTTTGTGACGTGCCA	

마지막에 72°C에서 10 분간 연장 반응시켰다. Erythromycin 저항성 균주의 경우에는 annealing 온도만 55°C에서 1 분간 반응시킨 것이 이외에는 위와 동일한 방법으로 반응시켰다. 이들 산물을 1.5% agarose gel에서 전기영동한 후 ethidium bromide에서 염색하여 결과를 관찰하였다. 결과가 확인 된 산물은 자동염기분석기인 ABI 377 DNA Sequencer (Perkin-Elmer Biosystem, USA)의 유전자 염기서열을 분석하였다 [21]. 각 primer 부위의 PCR 산물의 유전자 염기서열을 분석하여 erythromycin에 감수성인 *M. pneumoniae* M129 균주와 비교분석하여 돌연변이 부위를 확인하였다[17,21,22,29]. 분리된 *M. pneumoniae* 123 균주에서 Chang 등[7,8]이 tetracycline에 저항성인 tetM 유전자의 존재 유무와 23S rRNA의 V 영역에서 erythromycin 에 대한 저항성 변이가 일어났는지를 PCR법으로 확인한 결과에 따라 tetracycline에만 저항성을 가진 36 균주, erythromycin에만 저항성을 가진 39 균주, tetracycline과 erythromycin에 모두 저항성을 가진 21 균, tetracycline과 erythromycin에 모두 감수성인 27 균주들의 다제 저항성 유무를 검토하였다

결 과

분리된 *Mycoplasma pneumoniae* 균주의 항생물질에 대한 초기 MIC

환자로부터 분리된 *M. pneumoniae* 균주의 erythromycin, tetracycline, minocycline, josamycin, ofloxacin, ciprofloxacin, sparfloxacin, moxifloxacin에 대한 초기 MIC의 범위는 각각 0.03-1.0, 0.03-0.25, 0.03-0.12, 0.03-0.12, 1.0-2.0, 1.0-2.0, 0.12-0.25, 0.03-0.06 $\mu\text{g/ml}$ 이었으며, MIC₉₀은 각각 0.5, 0.25, 0.12, 0.03, 2.0, 2.0, 0.12, 0.06 $\mu\text{g/ml}$ 이었다(Fig. 1).

분리된 *Mycoplasma pneumoniae* 균주의 항생물질에 대한 최종 MIC

환자로부터 분리된 *M. pneumoniae* 균주의 erythromycin, tetracycline, minocycline, josamycin, ofloxacin, ciprofloxacin, sparfloxacin, moxifloxacin에 대한 최종 MIC의 범위는 각각 0.03-64.0, 0.01-1.0, 1.0-2.0, 0.03-16.0, 2.0-4.0, 2.0-4.0, 0.25-1.0, 0.03-0.12 $\mu\text{g/ml}$ 이었으며, 분리균주의 90%가 증식이 억제되는 농도인 MIC₉₀은 각각 64, 1.0, 2.0, 16.0, 4.0, 4.0, 1.0, 0.12 $\mu\text{g/ml}$ 이었다(Fig. 2).

분리된 *Mycoplasma pneumoniae* 균주의 clarithromycin과 levofloxacin에 대한 초기 및 최종 MIC

환자로부터 분리된 *M. pneumoniae* 균주의 clarithromycin 와 levofloxacin에 대한 초기 MIC의 범위는 각각 0.09-100.0, 0.09-0.39 $\mu\text{g/ml}$ 이었으며, 최종 MIC 범위는 각각 0.09-100.0, 0.39-0.78 $\mu\text{g/ml}$ 이었다(Fig. 3). 또한 초기 MIC₉₀은 각각 25.0,

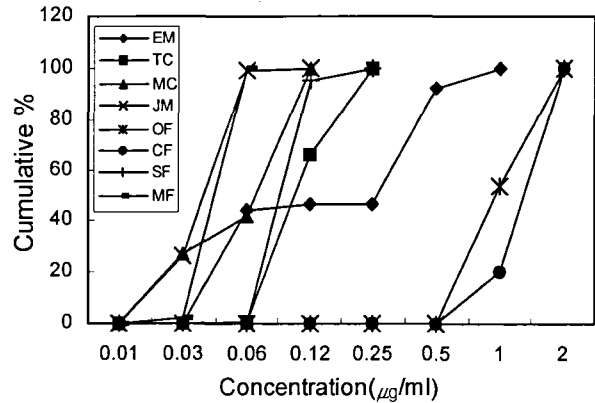


Fig. 1. Cumulative % of initial MIC for antimicrobial agents against *M. pneumoniae* isolates. EM: erythromycin, TC: tetracycline, MC: minocycline, JM: josamycin, OF: ofloxacin, CF: ciprofloxacin, SF: sparfloxacin, MF: moxifloxacin.

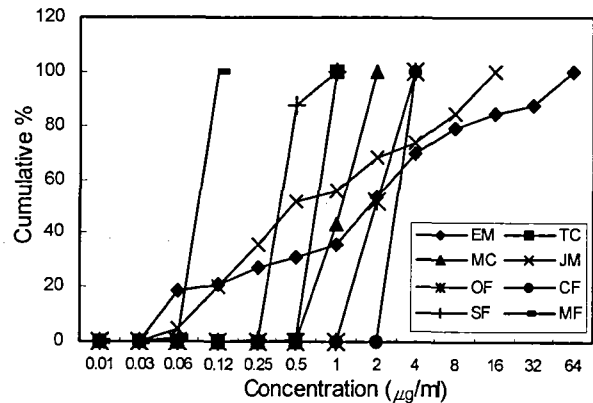


Fig. 2. Cumulative % of final MIC for antimicrobial agents against *M. pneumoniae* isolates. Legend: Same as Fig. 1.

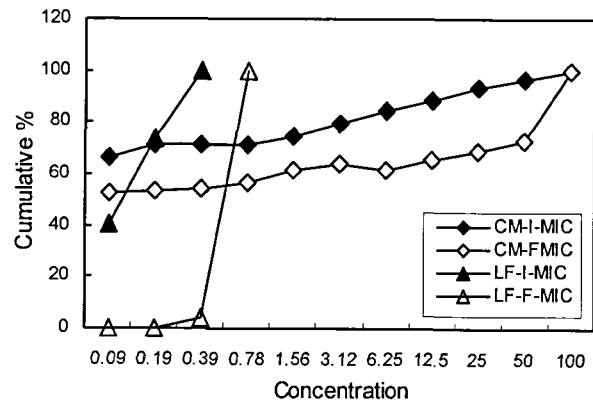


Fig. 3. Cumulative % of initial and final MIC for antimicrobial agents against *M. pneumoniae* isolates. CM-I-MIC: Initial MIC of clarithromycin, CM-F-MIC: Final MIC of clarithromycin, LF-I-MIC: Initial MIC of levofloxacin, LF-F-MIC: Final MIC of levofloxacin,

0.39 µg/ml 이었으며, 최종 MIC₉₀은 각각 100, 0.78 µg/ml 이었다(Fig. 3).

초기 MIC를 기준으로 각 항생물질에 대한 단일 저항성 균주의 분포

환자로부터 분리된 *M. pneumoniae* 균주의 수종 항생물질에 대한 저항성 균주의 분포를 초기 MIC를 기준으로 하여 보면 erythromycin에 저항성 균주가 9(7.8%), clarithromycin에 저항성 균주가 12 (10.3%), ofloxacin에 저항성 균주가 62 (53.5%), 그리고 ciprofloxacin에 저항성 균주가 92균주 (79.3%)이었으나, tetracycline, josamycin, minocycline, sparfloxacin, moxifloxacin,과 levofloxacin에는 모든 균주가 감수성이었다. Erythromycin에 저항성인 9균주 중에서 6균주 (66.7%)는 tetM 유전자를 가지고 있었으며, 5균주(55.6%)는 23S rRNA의 V영역에 erythromycin에 대한 저항성 변이가 일어난 균주였다. Clarithromycin에 저항성인 12균주 중에서 7균주(58.3%)는 tetM 유전자를 가지고 있었으며, 9균주 (75.0%)는 23SrRNA의 V영역에 erythromycin에 대한 저항성 변이가 일어난 균주였다. Ofloxacin에 저항성인 62균주 중에서 33균주(53.2%)는 tetM 유전자를 가지고 있었으며, 27균주 (43.6%)는 23SrRNA의 V영역에 erythromycin에 대한 저항성 변이가 일어난 균주였다. Ciprofloxacin에 저항성인 92균주 중에서 44균주(47.8%)는 tetM 유전자를 가지고 있었으며, 48 균주(52.2%)는 23SrRNA의 V영역에 erythromycin에 대한 저항성 변이가 일어난 균주였다(Table 2).

초기 MIC를 기준으로 각 항생물질에 대한 다제내성 균주의 분포

호흡기 질환자로부터 분리된 *M. pneumoniae* 균주의 항생 물질에 대한 다제 저항성 균주의 분포를 초기 MIC를 기준으로 하여 보면 ofloxacin과 ciprofloxacin 2종의 항생제에 저항성인 균주가 49균주(42.2%)이었으며, ciprofloxacin과 clarithromycin 2종의 항생제에 저항성인 균주가 11(9.5%)이었다. Erythromycin, ofloxacin, ciprofloxacin 3종의 항생제에 저항

성인 균주가 8(6.9%)이었으며, ofloxacin, ciprofloxacin, clarithromycin 3종의 항생제에 저항성인 균주가 7(6.0%)이었다 (Table 2). Ofloxacin과 ciprofloxacin 모두에 저항성인 49균주 중에서 32균주(65.3%)는 tetM 유전자를 가지고 있었으며, 26 균주(53.1%)는 23S rRNA의 V영역에서 erythromycin에 대한 저항성 변이가 일어난 균주였다. Ciprofloxacin과 clarithromycin 모두에 저항성인 11균주 중에서 6균주(54.6%)는 tetM 유전자를 가지고 있었으며, 9균주(81.8%)는 23S rRNA의 V영역에 erythromycin에 대한 저항성 변이가 일어난 균주였다. Erythromycin, ofloxacin과 ciprofloxacin 모두에 저항성인 8균주 중에서 4균주(50.0%)는 tetM 유전자를 가지고 있었으며, 5균주(62.5%)는 23S rRNA의 V영역에서 erythromycin에 대한 저항성 변이가 일어난 균주였다. Ofloxacin, ciprofloxacin과 clarithromycin 모두에 저항성인 7균주 중에서 3균주(42.9%)는 tetM 유전자를 가지고 있었으며, 4균주 (57.1%)는 23S rRNA의 V영역에 erythromycin에 대한 저항성 변이가 일어난 균주였다(Table 3).

최종 MIC를 기준으로 각 항생물질에 대한 저항성 균주의 분포

호흡기 질환자로부터 분리된 *M. pneumoniae* 균주의 항생 물질에 대한 저항성 균주의 분포를 최종 MIC를 기준으로 하여 보면 tetracycline, ofloxacin, ciprofloxacin에 각각 저항성인 균주는 각각 106 (91.4%), minocycline에 저항성인 균주는 104(89.7%), erythromycin에 저항성 균주는 79(68.1%), josamycin에 저항성인 균주는 61(52.6%), clarithromycin에 저항성 균주는 33(28.5%), sparfloxacin에 저항성 균주는 13(11.2%)이었으나, moxifloxacin과 levofloxacin에는 모든 균주가 감수성이었다(Table 4). Tetracycline에 저항성인 106균주 중에서 49균주(46.2%)는 tetM 유전자를 가지고 있으며, 53균주 (50.0%)는 23S rRNA의 V영역에 erythromycin에 대한 저항성 변이가 일어난 균주였다. Ofloxacin에 저항성인 106균주 중에서 33균주(31.1%)는 tetM 유전자를 가지고 있으며, 53균주(50.0%)는 23S rRNA의 V영역에 erythromycin에 대한 저항성 변이가 일어난 균주였다. Ciprofloxacin에 저항성인 106 균주 중에서 50균주(47.2%)는 tetM 유전자를 가지고 있으며, 53균주(50.0%)는 23S rRNA의 V영역에 erythromycin에 대한 저항성 변이가 일어난 균주였다. Minocycline에 저항성인

Table 2. Single drug resistant patterns of *M. pneumoniae* 116 isolates by initial MIC

Antibiotics	No. of strains (%)	tetM gene (+)	23S rRNA V mutation (+)
EM	9(7.8)	6(66.7)	5(55.6)
CM	12(10.3)	7(58.3)	9(75.0)
OF	62(53.5)	33(53.2)	27(43.6)
CF	92(79.3)	44(47.8)	48(52.2)
TC	0		
JM	0		
MC	0		
SF	0		
LF	0		
MF	0		

Table 3. Multiple drug resistant patterns of *M. pneumoniae* 116 isolates by initial MIC

Antibiotics	No. of strains (%)	tetM gene (+)	23S rRNA V mutation (+)
OF,CF	49(42.2)	32(65.3)	26(53.1)
CF,CM	11(9.5)	6(54.6)	9(81.8)
EM,OF,CF	8(6.9)	4(50.0)	5(62.5)
OF,CF,CM	7(6.0)	3(42.9)	4(57.1)

Table 4. Single drug resistant patterns of *M. pneumoniae* 116 isolates by final MIC

Antibiotics	No. of strains (%)	tetM gene (+)	23S rRNA V mutation(+)
TC	106(91.4)	49(46.2)	53(50.0)
OF	106(91.4)	33(31.1)	53(50.0)
CF	106(91.4)	50(47.2)	53(50.0)
MC	104(89.7)	52(50.0)	52(50.0)
EM	79(68.1)	40(50.6)	39(49.4)
JM	61(52.6)	28(45.9)	30(49.2)
CM	33(28.5)	13(39.4)	25(75.8)
SF	13(11.2)	6(46.2)	7(53.8)
MF	0		
LF	0		

104균주 중에서 52균주(50.0%)는 tetM 유전자를 가지고 있으며, 52균주(50.0%)는 23S rRNA의 V영역에 erythromycin에 대한 저항성 변이가 일어난 균주였다. Erythromycin에 저항성인 79균주 중에서 40균주(50.6%)는 tetM 유전자를 가지고 있으며, 39균주(49.4%)는 23S rRNA의 V영역에 erythromycin에 대한 저항성 변이가 일어난 균주였다. Josamycin에 저항성인 61균주 중에서 28균주(45.9%)는 tetM 유전자를 가지고 있었으며, 30균주(49.2%)는 23S rRNA의 V영역에 erythromycin에 대한 저항성 변이가 일어난 균주였다. Clarithromycin에 저항성인 33균주 중에서 13균주(39.4%)는 tetM 유전자를 가지고 있으며, 25균주(75.8%)는 23S rRNA의 V영역에 erythromycin에 대한 저항성 변이가 일어난 균주였다. Sparfloxacin에 저항성인 13균주 중에서 6균주(46.2%)는 tetM 유전자를 가지고 있으며, 7균주(53.8%)는 23S rRNA의 V영역에 erythromycin에 대한 저항성 변이가 일어난 균주였다(Table 4).

최종 MIC를 기준으로 각 항생물질에 대한 다제 저항성 균주의 분포

호흡기 질환자로부터 분리된 *M. pneumoniae* 균주의 항생물질에 대한 다제 저항성 균주의 분포를 최종 MIC를 기준으로 분석한 결과는 Table 5와 같다. 두 가지 항생물질에 저항성인 경우에서 ofloxacin과 ciprofloxacin에 모두 저항성인 균주가 91.4%로 가장 많았으며, 이중에 48.1%는 tetM 유전자를 가졌으며, 50.9%는 erythromycin에 대한 저항성 변이가 일어난 균주였다. Tetracycline과 minocycline에 모두 저항성인 균주가 89.7%이었으며, 이중에 50%는 tetM 유전자를 가졌으며, 51%는 erythromycin에 대한 저항성 변이가 일어난 균주였다. Josamycin과 erythromycin에 모두 저항성인 균주가 31%였으며, 이중에 55.6%는 tetM 유전자를 가졌으며, 52.8%는 erythromycin에 대한 저항성 변이가 일어난 균주였다. Erythromycin과 clarithromycin에 모두 저항성인 균주가 20.7%였으며, 이중에 37.5%는 tetM 유전자를 가졌으며, 87.5%

Table 5. Multiple drug resistant patterns of *M. pneumoniae* 116 isolates by final MIC

Antibiotics	No. of strains (%)	tetM gene (+)	23S rRNA V mutation (+)
OF,CF	106(91.4)	51(48.1)	54(50.9)
TC,MC	104(89.7)	52(50.0)	53(51.0)
JM,EM	36(31.0)	20(55.6)	19(52.8)
EM,CM	24(20.7)	9(37.5)	21(87.5)
TC,OF,CF	104(89.7)	51(49.0)	53(51.0)
MC,OF,CF	102(87.9)	50(49.0)	52(51.0)
EM,OF,CF	92(79.3)	49(53.3)	45(48.9)
JM,OF,CF	51(44.0)	29(56.9)	28(54.9)
CM,OF,CF	33(28.5)	14(42.4)	27(81.8)
TC,MC,OF,CF	3(2.6)	0(0)	2(66.7)
EM,TC,MC,OF,CF,	25(21.6)	13(52.0)	8(32.0)
TC,JM,MC,OF,CF	14(12.1)	7(50.0)	5(35.7)
TC,MC,OF,CF,CM	3(2.6)	2(66.7)	2(66.7)
EM,TC,JM,MC,OF,CF	28(24.1)	14(50.0)	8(28.6)
EM,TC,MC,OF,CF,CM	12(10.3)	4(33.3)	7(58.3)
EM,TC,MC,SF,OF,CF	4(3.5)	2(50.0)	1(25.0)
TC,JM,MC,OF,CF,CM	2(1.7)	1(50.0)	1(50.0)
TC,JM,MC,SF,OF,CF	1(0.9)	0(0)	1(100)
EM,TC,JM,MC,OF,CF,CM	3(2.6)	1(33.3)	2(66.7)
EM,TC,MC,SF,OF,CF,CM	2(1.7)	1(50.0)	1(50.0)
TC,JM,MC,SF,OF,CF,CM	1(0.9)	0(0)	0(0)
EM,TC,JM,MC,SF,OF,CF,CM	2(1.7)	0(0)	2(100)

는 erythromycin에 대한 저항성 변이가 일어난 균주였다. Tetracycline, ofloxacin과 ciprofloxacin의 3가지 약제에 모두 저항성인 균주가 89.7% 이었으며, 이중에 49%는 tetM 유전자를 가졌으며, 51%는 erythromycin에 대한 저항성 변이가 일어난 균주였다. Minocycline, ofloxacin과 ciprofloxacin의 3가지 항생제에 모두 저항성인 균주가 87.9% 이었으며, 이중에 49%는 tetM 유전자를 가졌으며, 51%는 erythromycin에 대한 저항성 변이가 일어난 균주였다. Erythromycin, ofloxacin과 ciprofloxacin의 3가지에 모두 저항성인 균주가 79.3% 이었으며, 이중에 53.3%는 tetM 유전자를 가졌으며, 48.9%는 erythromycin에 대한 저항성 변이가 일어난 균주였다. Josamycin, ofloxacin과 ciprofloxacin의 3가지에 모두 저항성인 균주가 44.0% 이었으며, 이중에 56.9%는 tetM 유전자를 가졌으며, 54.9%는 erythromycin에 대한 저항성 변이가 일어난 균주였다. Clarithromycin, ofloxacin과 ciprofloxacin의 3가지에 저항성인 균주가 28.5%, 이 중에 42.4%는 tetM 유전자를 가졌으며, 81.8%는 erythromycin에 대한 저항성 변이가 일어난 균주였다. Tetracycline, minocycline, ofloxacin과 ciprofloxacin 4종의 항생제 모두에 저항성인 균주가 3균주(2.6%)이었으며, 이 중에 tetM 유전자를 가지고 있는 균주는 없었으며, 이중 2균주(66.7%)는 23S rRNA의 V영역에 erythromycin에 대한 저항성 변이가 일어난 균주였다. Erythro-

mycin, tetracycline, minocycline, ofloxacin과 ciprofloxacin 5종의 항생제 모두에 저항성인 균주가 25(21.6%)이었으며, 이 중 13균주(52.0%)는 tetM 유전자를 가지고 있었으며, 8균주(32.0%)는 23S rRNA의 V영역에 erythromycin에 대한 저항성 변이가 일어난 균주였다. Tetracycline, josamycin, minocycline, ofloxacin, ciprofloxacin 5종의 항생제 모두에 저항성인 균주가 14(12.1%)이었으며, 이 중 tetM 유전자를 가지고 있는 균주가 7균주(50.0%)이었으며, 5균주(35.7%)는 23S rRNA의 V영역에 erythromycin에 대한 저항성 변이가 일어난 균주였다. Tetracycline, minocycline, ofloxacin, ciprofloxacin과 clarithromycin 5종의 항생제 모두에 저항성인 균주가 3(2.6%)였으며, 이 중 2균주(66.7%)는 tetM 유전자를 가지고 있었으며, 2균주(66.7%)는 23S rRNA의 V영역에 erythromycin에 대한 저항성 변이가 일어난 균주였다. Erythromycin, tetracycline, josamycin, minocycline, ofloxacin과 ciprofloxacin 6종의 항생제 모두에 저항성인 균주가 28(24.1%)이었으며, 이 중 14균주(50.0%)는 tetM 유전자를 가지고 있었으며, 8균주(28.6%)는 23S rRNA의 V영역에 erythromycin에 대한 저항성 변이가 일어난 균주였다. Erythromycin, tetracycline, minocycline, ofloxacin, ciprofloxacin과 clarithromycin 6종의 항생제 모두에 저항성인 균주는 12(10.3%)이었으며, 이 중 4균주(33.3%)는 tetM 유전자를 가지고 있었으며, 7균주(58.3%)는 23S rRNA의 V영역에 erythromycin에 대한 저항성 변이가 일어난 균주였다. Erythromycin, tetracycline, minocycline, sparfloxacin, ofloxacin과 ciprofloxacin 6종의 항생제 모두 저항성인 균주는 4균주(3.5%)이었으며, 이 중 2균주(50.0%)는 tetM 유전자를 가지고 있었으며, 1균주(25.0%)는 23S rRNA의 V영역에 erythromycin에 대한 저항성 변이가 일어난 균주였다. Tetracycline, josamycin, minocycline, ofloxacin, ciprofloxacin과 clarithromycin 6종의 항생제 모두에 저항성인 균주는 2균주(1.7%)이었으며, 이 중 1균주(50.0%)는 tetM 유전자를 가지고 있었으며, 1균주(50.0%)는 23S rRNA의 V영역에 erythromycin에 대한 저항성 변이가 일어난 균주였다. Tetracycline, josamycin, minocycline, sparfloxacin, ofloxacin, ciprofloxacin 6종의 항생제 모두에 저항성인 균주는 1균주(0.9%)이었고, tetM 유전자를 가지고 있지는 않았지만 23S rRNA의 V영역에 erythromycin에 대한 저항성 변이가 일어난 균주였다. Erythromycin, tetracycline, josamycin, minocycline, ofloxacin, ciprofloxacin, clarithromycin 7종의 항생제 모두에 저항성인 균주는 3균주(2.6%)이었으며, 이 중 tetM 유전자를 가지고 있는 균주는 1균주(33.3%)이었으며, 2균주(66.7%)는 23S rRNA의 V영역에 erythromycin에 대한 저항성 변이가 일어난 균주였다. Erythromycin, tetracycline, minocycline, sparfloxacin, ofloxacin, ciprofloxacin, clarithromycin 7종의 항생제 모두에 저항성인 균주는 2균주

(1.7%)이었으며, 이 중 tetM 유전자를 가지고 있는 균주는 1균주(50.0%)이었으며, 1균주(50.0%)는 23S rRNA의 V영역에 erythromycin에 대한 저항성 변이가 일어난 균주였다. Tetracycline, josamycin, minocycline, sparfloxacin, ofloxacin, ciprofloxacin, clarithromycin 7종의 항생제 모두에 저항성인 균주는 1균주(0.9%)이었으며, tetM 유전자를 가지고 있지 않았고, 23S rRNA의 V영역에 erythromycin에 대한 저항성 변이도 없었다. Erythromycin, tetracycline, josamycin, minocycline, sparfloxacin, ofloxacin, ciprofloxacin, clarithromycin 8종의 항생제 모두에 저항성인 균주는 2균주(1.7%)이었으며, 이 중 tetM 유전자를 가지고 있는 균주는 없었으며, 2균주(100.0%)는 23S rRNA의 V영역에 erythromycin에 대한 저항성 변이가 일어난 균주였다(Table 5).

고 찰

분리한 *M. pneumoniae* 균주의 erythromycin에 대한 저항성의 정도는 Okazaki 등[21]은 2001년에 분리된 균주의 7.2%라고 하여, 본 연구의 초기 MIC에 의한 저항성균의 분포와 유사하였으나, Matsuoka 등[17]은 2004년에 분리된 균주의 18%가 저항성 균이라고 하여 본 연구의 초기 MIC의 경우보다 높았다. 그러나 본 연구에서 최종 MIC를 기준으로 하여 보면 국내에서 분리되는 *M. pneumoniae* 균주의 MIC는 이들보다 월등히 높았으며, 분리균주의 50.0%는 16S rRNA의 V영역에 erythromycin에 대한 저항성 변이 유전자를 가지고 있는 균이었다. 환자로 부터 분리된 *M. pneumoniae* 균주의 erythromycin에 대한 초기 MIC가 0.5 µg/ml인데 비해 최종 MIC가 64.0 µg/ml로 초기 MIC 농도보다 7배수 증가하였으며, josamycin의 초기 MIC가 0.03 µg/ml인데 비하여 최종 MIC가 64.0 µg/ml로 초기 MIC보다 9배수 증가하였으며, clarithromycin의 초기 MIC가 0.09 µg/ml인데 비하여 최종 MIC가 100.0 µg/ml로 초기 MIC보다 10배수 증가하였음을 알 수 있다. 이는 항생제를 치료에 사용할 경우 항생제의 혈중농도를 MIC의 4배수 이상의 농도를 하는 것이 일반적이기 때문에 이런 관점에서 보면 위의 3가지 약제의 경우, 초기 MIC를 기준으로 항생제의 치료 농도를 정한다면 erythromycin의 혈중 농도는 16.0 µg/ml로 최종 MIC보다 낮으며, josamycin의 경우도 혈중 농도가 1.0 µg/ml로 최종 MIC보다 낮으며, clarithromycin의 경우도 혈중 농도가 1.56 µg/ml로 최종 MIC보다 낮으므로 실제로 환자를 치료하는데 어려움이 따를 수 있다고 생각된다. 따라서 국내에서 마이코플라스마 폐렴환자의 치료를 위한 이들 항생제를 선택 할 경우 항생제의 농도를 결정 할 때는 최종 MIC를 기준으로 하여 투약하여야 될 것으로 생각된다. 마이코플라스마 폐렴 환자는 진단도 어렵지만 치료에 있어서도 이와 같은문제를 고려하여 가급적이면 원인균을 분리하여 항생제 감수성 검사를 실

시한 후에 적절한 항생제를 선택하여 치료에 임하여야 할 것으로 생각된다. 분리된 *M. pneumoniae* 균주의 minocycline에 대한 초기는 MIC 0.12 $\mu\text{g/ml}$ 와 최종 MIC는 2.0 $\mu\text{g/ml}$ 로 최종 MIC가 4배수 증가하였으므로 이 약제를 치료에 이용할 때도 최종 MIC를 고려하여야 할 것으로 생각된다. 분리한 *M. pneumoniae* 균주의 tetracycline에 대한 저항성 균의 분리율은 Arai 등[1]은 분리균의 82%, Kenny 등[15]은 10%가 저항성 균주라고 하여 본 연구의 초기 MIC에서 보다 높았다. 그러나 tetracycline의 경우에는 최종 MIC가 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 이었으므로 저항성은 낮지만 분리균주의 46.2%가 tetM 유전자를 가지고 있으므로 tetracycline으로 치료를 시도 할 때도 저항성 균의 문제를 고려되어야 할 것으로 생각된다. 한편, tetracycline, ofloxacin, ciprofloxacin, sparfloxacin, moxifloxacin, levofloxacin 등은 초기 MIC와 최종 MIC의 농도차가 3배수 이하로 증가하였으므로 이 약제들로 환자의 치료시에 일반적인 항생제의 혈중농도를 MIC의 4배 이상의 농도 기준을 적용하여도 무관할 것으로 생각된다.

분리한 *M. pneumoniae* 균주의 각 항생물질에 대한 초기 MIC를 기준으로 단일 약제에 대한 저항성 균주의 분포는 ciprofloxacin이 79.3%로 가장 많았으며, 이중에 47.8%는 tetM 유전자를, 52.2%는 erythromycin에 저항성 변이 유전자를 가지고 있으며, ofloxacin에도 분리균의 53.5%가 저항성이며, 이 중에서 53.2%가 tetM 유전자를, 43.6%는 erythromycin에 저항성 변이 유전자를 가지고 있으며, clarithromycin에도 분리균주의 10.3%가 저항성이었으며, 이 중에서 58.3%는 tetM 유전자를, 75.0%는 erythromycin에 저항성 변이 유전자를 가지고 있다는 것은 중요한 문제이며, 마이코플라스마 폐렴의 치료시에는 이런 문제들이 고려되어야 할 것으로 생각된다. 분리된 *M. pneumoniae* 균주의 각 항생물질에 대한 초기 MIC를 기준으로 ofloxacin과 ciprofloxacin이나 ciprofloxacin과 clarithromycin 등의 두 약제에 저항성인 균주나, erythromycin, ofloxacin과 ciprofloxacin이나 ofloxacin, ciprofloxacin과 clarithromycin 등의 3가지 약제에 저항성인 균주가 6.0~42.2%인다는 것은 항생제의 사용에 고려하여야 할 문제점이다.

분리한 *M. pneumoniae* 균주의 각 항생물질에 대한 최종 MIC를 기준으로 단일 약제에 대한 저항성 균주의 분포는 tetracycline 91.4%, ofloxacin 91.4%, ciprofloxacin 91.4%, minocycline 89.7%, erythromycin 68.1%, josamycin 52.6%, clarithromycin 28.5%, sparfloxacin 11.2%의 순이었으며, 이들 저항성 균주의 31.1~50.6%는 tetM 유전자를 가지고 있으며, 49.2~75.8%는 erythromycin에 저항성 변이 유전자를 가지고 있었다. 따라서 국내에서 분리 되는 *M. pneumoniae* 균주는 거의 대부분이 tetracycline과 2세대 quinolone계인 ofloxacin과 ciprofloxacin에는 저항성이 높음으로 치료제로의 선택에 주의가 요망된다. 그러나 3세대 quinolone계인 moxifloxacin과 levofloxacin에는 분리된 모든 균주가 감수성

이므로 이 3세대 quinolone계 약제의 선택에도 신중을 기하여 저항성 균의 출현을 미연에 방지하는 지혜가 필요 할 것으로 생각된다.

분리한 *M. pneumoniae* 균주의 최종 MIC를 기준으로 2가지 약제에 저항성인 균주의 분포는 2세대 quinolone계 약제인 ofloxacin과 ciprofloxacin에 모두 저항성인 균주가 91.4%로 가장 많으므로 ofloxacin과 ciprofloxacin은 *M. pneumoniae* 감염증의 치료제로는 선택할 수가 없는 약제임을 알게 되었으며, 따라서 약제의 선택에 유의하여야 할 것으로 생각된다. Tetracycline과 minocycline에 모두 저항성인 균주가 89.7%였으므로 이들 약제도 국내에서 *M. pneumoniae* 감염증의 치료제의 선택에 신중을 기하여야 할 것으로 생각된다.

Josamycin과 erythromycin에 모두 저항성인 균주가 31%였으며, erythromycin과 clarithromycin에 모두 저항성인 균주도 20.7%였으므로 국내에서 *M. pneumoniae* 감염증의 치료에 있어서 macrolide계열의 약제 선택에도 신중을 기하여야 할 것으로 생각된다.

Tetracycline, ofloxacin과 ciprofloxacin의 3가지 약제에 저항성인 균주가 89.7%, minocycline, ofloxacin과 ciprofloxacin의 3가지 약제에 저항성인 균주가 87.9%, erythromycin, ofloxacin과 ciprofloxacin의 3가지 약제에 저항성인 균주가 79.3%로 국내에서 *M. pneumoniae* 감염증의 치료제로써 이들 약제를 선택하는 것은 바람직하지 않은 것으로 생각된다. 또한 josamycin, ofloxacin과 ciprofloxacin의 3가지 약제에 저항성인 균주도 44%, clarithromycin, ofloxacin과 ciprofloxacin의 3가지 약제에 저항성인 균주도 28.5%로 국내에서 *M. pneumoniae* 감염증의 치료제로써 이들 약제를 선택도 신중히 고려되어야 할 것으로 생각된다. 한편, macrolide와 2세대 quinolone의 4가지 약제에 저항성인 균주가 2.6% 있으며, macrolide와 2세대 quinolone의 5가지 약제에 저항성인 균주가 2.6~21.6%, 6가지 약제에 저항성인 균주가 0.9~24.1%, 7가지 약제에 저항성인 균주가 0.9~2.6%, 8가지 약제에 저항성인 균주가 1.7% 있었다. 이들 다제 저항성 균주의 33.3~66.7%는 tetM 유전자를 가지고 있으며, 25.0~66.7%는 erythromycin에 저항성 변이 유전자를 가지고 있는 균이었다. 따라서 국내에서 분리되는 *M. pneumoniae* 균주는 tetracycline, minocycline, erythromycin 등의 macrolide계 항생제와 ofloxacin과 ciprofloxacin 과 같은 2세대 quinolone 등의 약제에는 이미 80% 이상의 균주가 저항성을 획득한 균주들이며, josamycin과 clarithromycin이나 3세대 quinolone인 sparfloxacin에도 저항성 균이 상당히 존재하는 것으로 보아 이들 항생제의 사용에도 신중을 기하여야 할 것으로 생각된다.

이와 같이 국내에서 분리된 *M. pneumoniae*는 본 연구에 사용한 항생제 중에서 moxifloxacin과 levofloxacin을 제외한 항생물질에는 대부분의 균주가 저항성이므로 *M. pneumoniae*에 의한 마이코플라스마 폐렴환자의 치료시에는 가능하면

원인균의 배양 및 감수성 검사를 실시한 후에 신중하게 항생 물질을 선택하는 것이 좋을 것으로 생각된다.

요 약

호흡기질환 환자의 상기도 도말물로 부터 분리 동정된 *M. pneumoniae* 116균주의 moxifloxacin, levofloxacin, spar-floxacin, ofloxacin, ciprofloxacin, clarithromycin minocycline, erythromycin, josamycin, and tetracycline에 대한 감수 성 검사를 실시하였다. 각 항생물질에 대한 저항성 균주의 기 준은 MIC \geq 1.0 μ g/ml 로 하였으며, 초기 MIC와 최종 MIC를 구분하여 다제 저항성 균주의 분포를 분석하였다. 초기 MIC 의 결과로 분리된 균주의 단일 약제에 대한 저항성은 cipro-floxacin이 79.3%, ofloxacin이 53.5%, clarithromycin이 10.3%, erythromycin이 7.8%이었으며, 2가지 약제에 저항성 은 ofloxacin과 ciprofloxacin이 42.2%, ciprofloxacin과 clarithromycin이 9.5%이었으며, 3가지 약제에 저항성은 erythromycin, ofloxacin과 ciprofloxacin이 6.9%, ofloxacin, cipro-floxacin과 clarithromycin이 6.0%이었다. 최종 MIC의 결과로 분리균의 단일 약제에 대한 저항성은 tetracycline, cipro-floxacin, ofloxacin이 각각 91.4%, minocycline이 89.7%, erythromycin이 68.1%, josamycin이 52.6%, clarithromycin이 28.5%, sparfloxacin이 11.2%이었으며, 2가지 약제에 저항성 인 균의 분포는 20.7~91.4%, 3가지약제에 저항성인 균의 분 포는 28.5~89.7%, 4가지 약제에 저항성인 균의 분포는 2.6%, 5 가지 약제에 저항성인 균은 2.6~21.6%, 6 가지 약제에 저항 성인 균은 0.9~24.1%이었으며, 7가지 약제에 저항성인 균은 0.9~2.6%이었으며, 8종류 약제에 저항성인 균도 1.7%있었다.

이상의 결과로 국내에서 분리된 *M. pneumoniae* 균주는 적 게는 1-4 종류의 항생제에, 많게는 5-8 종류의 항생제에 저항 성인 균주가 있으므로 마이코플라스마페렴 환자를 치료할 때는 macrolide계나 quinolone계의 항생제 선택에 신중을 기하여야 하며, 가급적이면 항생제 감수성 검사를 실시하여 적절한 항생제를 선택함으로써 저항성균의 출현율을 줄일 수 있고 효율적인 치료도 할 수 있도록 하여야 할 것으로 생 각된다.

감사의 글

본 연구는 보건복지부 보건의료기술연구개발사업(01-PJ10 -PG6-01GM03-0002)의 지원과 고신대학교 의과대학 교수연 구비의 일부 지원으로 이루어진 것임.

참 고 문 헌

1. Arai, S., Y. Gohara, K. Kuwano and T. Kawashima. 1992.

Antimycoplasmal activities of new quinolones, tetracyclines, and macrolides against *Mycoplasma pneumoniae*. *Antimicrobial Agents Chemother.* **36**, 1322-1324.

2. Blanchard, A. and C. Bebear. 2002. *Mycoplasmas of human*, Molecular biology and pathogenicity of mycoplasma, pp 45-71, In Razin S, and Hermann R(1st ed), New York, Kluwer Academic Press, New York.

3. Cassell, G. H., W. A. Clyde and J. K. Davis. 1985. The *Mycoplasmas*, Mycoplasmal respiratory infections, pp 65-106, Vol. IV, S. Razin and M. F. Barile (1st ed), Academic Press, New York.

4. Cedillo-Ramirez, L., C. Gil, I. Zago, A. Yanez and S. Giono. 2000. Association of *M. hominis* and *Ureaplasma urealyticum* with some indicators of nonspecific vaginitis. *Rev. Latinoam. Microbiol.* **42**, 1-6.

5. Chang, M. W., K. H. Kim, I. D. Park and M. H. Joh. 1995. Detection of *Mycoplasma pneumoniae* in clinical specimens of patients by polymerase chain reaction and culture method. *J. Korean Soc. Microbiol.* **30**, 517-525.

6. Chang, M. W., K. H. Kim, I. D. Park, K. H. Kang, E. H. Kong, M. H. Joh, K. E. Kim and S.Y. Park. 2003. Rapid detection of *Mycoplasma pneumoniae* and antimicrobial susceptibilities of the *M. pneumoniae* isolates. *J. Bacteriol. Virol.* **33**, 183-191.

7. Chang, M. W., K. H. Kim, I. D. Park, G. Y. Song, S. W. Kim and C.E. Choi. 2005. Isolation of *Mycoplasma pneumoniae* and antimicrobial susceptibilities of the isolaters(III). *J. Life Sci.* **15**, 479-485.

8. Chang, M. W., I. D. Park, K. H. Kim, G. Y. Song and S. W. Kim. 2005. Tetracycline and erythromycin resistant mutans of the *Mycoplasma pneumoniae* isolated from patients with reaspiratory diseases. *J. Life Sci.* **15**, 863-870.

9. Duffy, L. B., D. M. Crabb, X. Bing and K. B. Waites. 2003. Bactericidal activity of levofloxacin against *Mycoplasma pneumoniae*. *J. Antimicrob. Chemother.* **52**, 527-528.

10. Dular, R., R. Kajioka and S. Kasatiya. 1988. Comparison of gene-probe commercial kit and culture technique for the diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* infection. *J. Clin. Microbiol.* **26**, 1068-1069.

11. Ford, O. K. and J. R. Smith. 1974. Nonspecific urethritis associated with a tetracycline-resistant T-mycoplasama. *Br. J. Vener. Dis.* **50**, 373-377.

12. Kaku, M., K. Ishida, K. Irifune, R. Mizukane, H. Takemura, R. Yoshida, H. Tanaka, T. Usui, K. Tomono, N. Suyama, H. Koga, S. Kohno and K. Hara. 1994. In vitro activities of sparfloxacin against *M. pneumoniae*. *Antimicrobil. Agents Chemother.* **38**, 738-741.

13. Kapusinik-Uner, J. E. and M. A. Sande. 1996. Chambers HF: Antimicrobial agents, tetracycline, chloramphenicol, erythromycin, and miscellaneous antimicrobial agents. pp 1123-1153, In Goodman & Gilman's The pharmacological basis of therapeutics, McGraw-Hill, New York, 9th (ed).

14. Kenny, G. E. and F. D. Cartwright. 1994. Susceptibilities of *Mycoplasma hominis*, *M. pneumoniae*, and *Ureaplasma urealyticum* to new glycyacyclines in comparison with those to older tetracyclines. *Antimicrob. Agents Chemother.* **38**,

- 2628-2632.
15. Kenny, G. E. and F. D. Cartwright. 1996. Susceptibilities of *M. pneumoniae*, *Mycoplasma hominis*, and *Ureaplasma urealyticum* to new quinolone, trovafloxacin(CP-99219). *Antimicrob. Agents Chemother.* **40**, 1048-1049.
 16. Krause, D. C. and D. Taylor-Robinson. 1992. Mycoplasma which infect humans. pp 417-444, In Maniloff J. (ed), *Mycoplasmas*, ASM, Washington.
 17. Matsuoka, M., M. Narita, N. Okazaki, H. Ohya, T. Yamazaki, K. Ouchi, I. Suzuki, T. Andoh, T. Kenri, Y. Sasaki and T. Sasaki. 2004. Characterization and molecular analysis of macrolide-resistant *M. pneumoniae* clinical isolates obtained in Japan. *Antimicrob. Agents Chemother.* **48**, 4624-4630.
 18. Meloni, F., E. Paschetto, P. Mangiarotti, D. I. Crepal, M. Morosini, M. Bulgheroni and A. Fietta. 2004. Acute Chlamydia pneumoniae and Mycoplasma pneumoniae infections in community-acquired pneumonia and exacerbations of COPD or asthma: therapeutic considerations. *J. Chemother.* **16(1)**, 70-76.
 19. Morozumi, M., A. Ito, S.Y. Murayama, K. Hasegawa, R. Kobayashi and K. Ubukata. 2006. Assessment of real-time PCR for diagnosis of *M. pneumoniae* pneumonia in pediatric patients. *Can. J. Microbiol.* **52(2)**, 125-129.
 20. Morozumi, M., K. Hasegawa, R. Kobayashi, N. Inoue, S. Iwata, H. Kuroki, N. Kawamura, E. Nakayama, T. Tajima, K. Shimizu and K. Ubukata. 2005. Emergence of macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae* with a 23S rRNA gene mutation. *Antimicrob. Agents Chemother.* **49**, 2302-2306.
 21. Okazaki, N., M. Narita, S. Yamada, K. Izumikawa, M. Umetsu, T. Kenri, Y. Sasaki, Y. Arakawa and T. Sasaki. 2001. Characteristics of macrolide-resistant *M. pneumoniae* strains isolated from patients and induced with erythromycin in vitro. *Microbiol. Immunol.* **45**, 617-620.
 22. Park, I. D., K. H. Kim, M. W. Chang and H. S. Park. 1992. Distribution of tetM gene in the tetracycline resistant Bacteria, *J. Korean Soc. Microbiol.* **27**, 59-72.
 23. Pereyre, S., P. Gonzalez, B. de Barbeyrac, A. Darnige, H. Renaudin, A. Charron, S. Raheison and C. M. Bebear. 2002. Mutation in 23S rRNA account for intrinsic resistance to macrolides in *M. hominis* and *M. fermentans* and for acquired resistance to macrolides in *M. hominis*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **46**, 3142-3150.
 24. Pereyre, S., C. Guyot, H. Renaudin, A. Charron, C. Bebear and C. M. Bebear. 2004. In vitro selection and characterization of resistance to macrolides and related antibiotics in *M. pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **48**, 460-465.
 25. Roberts, M. C., L. A. Koutsky, K. K. Holmes, D. J. LeBlanc and G. E. Kenny. 1985. Tetracycline-resistant *Mycoplasma hominis* strains contain streptococcal tetM sequences. *Antimicrob. Agents Chemother.* **28**, 141-143.
 26. Smith, R. P., A. L. Baltch, W. J. Ritz, A. N. Carpenter, T. A. Halse and L. H. Bopp. 2004. In vitro activities of gar-enoxacin and levofloxacin against Chlamydia pneumoniae are not affected by presence of Mycoplasma DNA. *Antimicrob. Agents Chemother.* **48**, 2081-2084.
 27. Suyama, N., K. Ishida, M. Kaku, K. Izumikawa and K. Hara. 1995. Therapeutic activities of macrolides against *M. pneumoniae* infection. *Jap. J. Mycoplasmol.* **21**, 39-40.
 28. Tully, J. G. and D. L. Rose. 1979. Enhanced isolation of *Mycoplasma pneumoniae* from throat washings with a newly modified culture medium. *J. Infect Dis.* **139**, 478-482.
 29. Vester, B. and S. Douthwaite. 2001. Macrolide resistance conferred by base substitution in 23S rRNA. *Antimicrob. Agents Chemother.* **45**, 1-12.
 30. Waites, K. B., L. B. Duffy, T. Schmid, D. Carb, M. S. Pate and G. H. Cassell. 1991. In vitro susceptibilities of *Mycoplasma pneumoniae*, *M. hominis*, and *Ureaplasma urealyticum* to sparfloxacin and PD 127391. *Antimicrobial. Agents Chemother.* **35**, 1181-1185.